Федеральное государственное автономное образовательное высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Тимурзиева Алина Борисовна

ДИАГНОСТИКА ПАТОЛОГИИ ЛОР-ОРГАНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

3.1.3. Оториноларингология

Диссертация на соискание

ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант

доктор медицинских наук,
профессор

Попадюк Валентин Иванович

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ..... 6

Глава 1. ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И ОПУХОЛЕВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛОР-ОРГАНОВ. РАЗРАБОТКА МЕТОДА РАННЕЙ НЕИНВАЗИВНОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ..... 18

1.1. Распространенность и современное состояние вопроса 18

1.2. Методы исследования в оториноларингологии 22

1.3. Ранняя диагностика..... 23

1.4. Оптические методы и ранняя диагностика рака 25

1.5. Флюоресценция в диагностике..... 29

1.6. Спектроскопия комбинационного рассеяния света (СКРС) и дифференциальная диагностика заболеваний 31

1.7. Диагностические возможности метода..... 41

1.8. Метаболомика и СКРС 42

1.9. Машинное обучение и искусственный интеллект..... 45

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ, ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ..... 48

2.1. Объем исследования. Общая характеристика объектов исследования..... 48

2.2. Этапы выполнения исследования..... 56

2.3. Характеристики используемых аппаратно-программных комплексов и клиническое применение информативных показателей метода СКРСФ 59

2.3.1. Алгоритмы и методы исследования при использовании СКРСФ 59

2.3.2. Подбор оптимальных параметров измерений при использовании СКРСФ в диагностике заболеваний ЛОР-органов..... 62

2.3.3. Информативные показатели, используемые при оценке спектральных характеристик тканей ЛОР-органов, и их клиническое применение 66

2.4. Статистическая обработка результатов исследования..... 68

Глава 3. РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДОЛОГИИ 79

3.1. Апробация методик измерений при использовании СКРСФ в диагностике заболеваний ЛОР-органов (органов головы и шеи) 79

3.2. Разработка методологии ранней неинвазивной экспресс-диагностики заболеваний головы и шеи и спектрально-метаболомный анализ..... 88
3.3. Исследование диапазона применения метода СКРСФ и перспективы его использования в клинике 95
Глава 4. СПЕКТРОСКОПИЯ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОР-ОРГАНОВ 100
4.1. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний полости носа и околоносовых пазух..... 101
4.2. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний глотки 132
4.3. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний гортани 167
4.4. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний уха 179
Глава 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМОВ ДЛЯ РАННЕЙ НЕИНВАЗИВНОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОР-ОРГАНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ..... 188
5.1. Разработка алгоритмов диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием СКРСФ..... 188
5.2. Разработка алгоритмов диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием спектрально-метаболомного анализа 191
Глава 6. ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ ГОЛОВЫ И ШЕИ 195
6.1. Диапазон клинического использования СКРСФ в диагностике заболеваний

головы и шеи 195
6.2. Междисциплинарный подход при использовании алгоритмов диагностики патологии ЛОР-органов с применением СКРСФ 203
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 205
ВЫВОДЫ 228
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 230
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 231
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 235
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА 283
ПРИЛОЖЕНИЯ 294
Приложение А 294
Таблица А.1 – Распределение пациентов по клиническому диагнозу, полу и возрасту с 95% доверительными интервалами (половозрастные показатели внутри различных нозологий) 294
Таблица А.1.1 – Распределение пациентов по полу и возрасту в сравниваемых группах 295
Таблица А.1.2 – Статистическая оценка сопоставимости клинически сравниваемых групп по полу и возрасту 296
Таблица А.1.3 – Попарная проверка сопоставимости нозологий по полу и возрасту 297
Таблица А.1.4 – Параметрическая оценка сопоставимости возраста по сгруппированным данным: ANOVA и Welch ANOVA 299
Таблица А.2 – Сравнительная характеристика приборов и аппаратно-программных комплексов 300
Таблица А.3 – Стадии опухолевого процесса по классификации ВОЗ 301
Таблица А.4 – Чувствительность и специфичность метода СКРС, согласно данным мировой литературы 302
Таблица А.5 – Итоговые показатели чувствительности и специфичности метода 303
Приложение Б 304

Таблица Б.1 – Алгоритм диагностики патологии полости носа и околоносовых пазух с использованием СКРСФ 304
Таблица Б.2 – Алгоритм диагностики патологии глотки с использованием СКРСФ..... 305
Таблица Б.3 – Алгоритм диагностики патологии гортани с использованием СКРСФ..... 306
Таблица Б.4 – Алгоритм диагностики патологии уха с использованием СКРСФ 307
Таблица Б.5 – Дифференциально-диагностические критерии и показатели спектрального анализа при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов 308
Приложение В..... 309
Патент на изобретение Российской Федерации от 13 марта 2020 г. № 2716593 «Способ экспресс-диагностики воспалительных заболеваний глотки с использованием флюоресцентной спектрометрии и специального алгоритма для оценки морфометрических, метаболических, функциональных изменений тканей в динамике» 309
Патент на изобретение Российской Федерации от 8 июля 2020 г. № 2726062 «Способ дифференциальной и ранней диагностики заболеваний ЛОР-органов воспалительной и опухолевой этиологии с использованием раман-флюоресцентной спектрометрии» 310
Патент на изобретение Российской Федерации от 9 июня 2020 г. № 2723139 «Способ дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита с использованием раман-флюоресцентной спектроскопии» 311
Патент на изобретение Российской Федерации от 26 мая 2026 г. № 2862795 «Способ ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики полипозного риносинусита с использованием комбинационного рассеяния света» 312

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Заболевания ЛОР-органов сохраняют высокую медико-социальную значимость, поскольку являются широко распространенными в общей популяции, нередко характеризуются рецидивирующим течением, снижением качества жизни пациентов, а также высокими показателями заболеваемости и смертности [10, 13, 14, 20, 21, 23, 35-37, 63, 67-70, 76, 95, 99-101, 106, 134, 159, 171, 184, 321, 349]. Данная проблема является драйвером к развитию стратегических направлений общественного здоровья и здравоохранения, ориентированных на максимально раннее выявление данной патологии [83, 84]. Для решения поставленной задачи необходимы разработка и внедрение высокотехнологичных экспресс-методов диагностики, способных обеспечивать высокие показатели чувствительности, специфичности и общей диагностической точности при быстром и неинвазивном исследовании биологических тканей, а также не требующих проведения специальной пробоподготовки [148, 174, 226]. В данном аспекте особый интерес представляет собой рассмотрение методологии с использованием комбинационного рассеяния света и флюоресценции (КРСФ), которая может быть отнесена к перспективным инструментам диагностики воспалительного и опухолевого процесса различной локализации при разработке специальных алгоритмов экспресс-анализа патоморфологических, физиологических, микробиологических, метаболических и иных характеристик исследуемых биологических тканей в норме и при патологии, ex vivo и in vivo. Подобные технологии, сочетающие в себе многоволновой анализ спектральных характеристик тканей, при разработке специальных алгоритмов могут рассматриваться как мощный инструмент диагностики в дополнение к существующим методам раннего выявления воспалительных и опухолевых заболеваний. Предметом рассмотрения является диапазон клинического применения спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ), а также возможность ее использования в качестве скринингового метода

и перспектив разработки специализированных алгоритмов диагностики патологии ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза. Разработка и широкое внедрение в клиническую практику метода может способствовать повышению качества организации медицинской помощи, своевременной маршрутизации и рациональному лечению пациента за счет раннего выявления заболеваний [90]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), опухолевые заболевания, в частности, опухоли предстательной железы, легкого, желудка, толстой кишки, кожи и другие формы злокачественных новообразований являются одной из ведущих причин смертности, при этом заболеваемость ежегодно только растет [159]. Соответственно, перед организаторами здравоохранения стоит сложная задача – определение стратегических направлений общественного здоровья, направленных на снижение данного бремени. Одними из важнейших в данном вопросе являются разработка и внедрение методов ранней неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных, предопухолевых и опухолевых изменений тканей при заболеваниях ЛОР-органов. Раннее выявление злокачественных новообразований и предракового состояния создает возможность своевременного начала лечения, повышает вероятность благоприятного исхода заболевания и поэтому относится к числу наиболее актуальных задач клинической медицины и современного здравоохранения [158, 228]. Как мы знаем, качество медицинской помощи характеризуется такими критериями, как непрерывность, преемственность, доступность, пациентоориентированность, безопасность, своевременность и определенный научно-технический уровень [42]; метод спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ) в дифференциации воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов при разработке специальных алгоритмов диагностики и внедрении их в широкую клиническую практику может считаться соответствующим этим критериям.

Степень разработанности темы исследования

В клинической практике диагностика заболеваний ЛОР-органов основывается на комплексном применении взаимодополняющих методов,

включающих в себя сбор анамнеза и клиническое обследование, молекулярно-биологические, эндоскопические и другие методы исследования, а также лучевую визуализацию и, при подозрении на опухолевый процесс, морфологическую верификацию диагноза [184, 209, 257]. При этом основная сложность заключается в ограниченных возможностях идентификации изменений, происходящих в тканях, на стадии инициации патологического процесса. Для повышения качества организации медицинской помощи необходима разработка высокотехнологичных медицинских вмешательств, способствующих решению задачи проведения ранней диагностики. В зависимости от показаний комплекс применяющихся взаимодополняющих методов может включать в себя общеклинические и биохимические исследования, микробиологический анализ, полимеразную цепную реакцию, патоморфологическое и иммуногистохимическое, ультразвуковое исследования, компьютерную и магнитно-резонансную томографию и др. [154, 184, 189, 192, 240, 252, 293, 323], однако патогистологическая верификация на сегодняшний день относится к одной из наиболее прецизионных [356]. Несмотря на высокую точность и специфичность гистологического метода, часто он занимает длительное время и требует использования дополнительных реактивов и пробоподготовки, помимо этого, его использование в значительной мере зависит от профессиональных навыков специалиста. Соответственно, представляется целесообразным разработать метод ускоренной ранней экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний. Значимый потенциал использования оптических технологий в клинической медицине, включая спектроскопию комбинационного рассеяния света и флюоресценции, продемонстрирован в литературе [226, 247, 341]. Разработка специальных алгоритмов ранней диагностики, основанных на применении комбинационного рассеяния света и флюоресценции в совокупности с методами машинного обучения и искусственного интеллекта, может рассматриваться как перспективное направление общественного здоровья и инструмент повышения качества медицинской помощи в различных областях клинической практики [84, 85, 92, 145-147, 178, 241, 242, 290, 341, 362, 363], включая оториноларингологию. Несмотря на наличие большого

количества источников литературы по использованию спектроскопии комбинационного рассеяния света в диагностике патологии опухолевого генеза, мы отметили недостаточное количество данных по применению метода в диагностике воспалительных заболеваний ЛОР-органов, а также практически полное отсутствие данных литературы в отношении проведения многоволновой диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов, что и явилось предрасполагающим фактором к выполнению настоящей работы. Учитывая значимые диагностические характеристики метода, такие как высокие уровни скорости, точности, чувствительности и специфичности, отсутствие необходимости использования дополнительных реактивов, а также неразработанность на сегодняшний день алгоритмов диагностики заболеваний ЛОР-органов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции, была определена цель исследования.

Цель: разработать метод неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ).

Задачи исследования:

1. Обосновать информативность использования спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции в разработке метода дифференциальной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов.

2. Апробировать метод спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции для проведения дифференциальной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов in vivo и ex vivo.

3. Оценить диапазон клинического использования метода спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ) в диагностике заболеваний ЛОР-органов.

4. Разработать диагностические критерии и показатели для идентификации патологии ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза с использованием

метода СКРСФ.

5. Определить диагностическую ценность спектрально-метаболомного анализа при заболеваниях ЛОР-органов и разработать метод ранней неинвазивной многоволновой их экспресс-диагностики на основе индивидуальных спектральных характеристик тканей.

6. Разработать алгоритмы экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа и околоносовых пазух, глотки, гортани, уха с использованием СКРСФ ex vivo и in vivo.

7. Обосновать диагностическую значимость метода экспресс-анализа воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи с использованием СКРСФ и определить его перспективы в разработке методики ранней неинвазивной диагностики.

Научная новизна работы

1. Впервые были продемонстрированы информативность и диапазон клинического применения комбинированного метода СКРСФ для ранней неинвазивной идентификации патологии ЛОР-органов с использованием специальных критериев и показателей.

2. Впервые была проанализирована информативность использования многоволнового спектрально-метаболомного анализа в ранней неинвазивной диагностике заболеваний ЛОР-органов.

3. Впервые были предложены критерии и показатели для проведения ранней многоволновой неинвазивной дифференциальной диагностики заболеваний ЛОР-органов с использованием метода СКРСФ.

4. Впервые были разработаны алгоритмы экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа, околоносовых пазух, глотки, гортани и уха с использованием СКРСФ in vivo и ex vivo.

5. Впервые продемонстрирован диапазон клинического применения метода СКРСФ в ранней неинвазивной диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи с использованием специальных алгоритмов диагностики

и комбинированной методики in vivo и ex vivo в качестве перспективы его использования в клинической практике врача.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе проведенной научно-исследовательской работы была разработана и апробирована методика использования СКРСФ в корреляции с метаболомным анализом и многоволновой диагностикой для ранней неинвазивной идентификации патологии головы и шеи (ЛОР-органов) воспалительного и опухолевого генеза; продемонстрирован диапазон ее клинического применения. Далее были приведены алгоритмы ранней неинвазивной экспресс-идентификации воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа и околоносовых пазух, глотки, гортани, уха с использованием СКРСФ. Также разработаны алгоритмы экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи с использованием СКРСФ, что в перспективе позволит осуществлять диагностику патологического процесса на ранней его стадии, определять степень поражения и проникновения в ткани, границы резекции опухолевой ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный процесс. Разработанную методику ранней неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний можно отнести к первичной скрининговой диагностике в клинической практике врача, так как она позволяет своевременно направить пациента на рациональное лечение, существенно повысив качество его жизни и эффективность системы здравоохранения.

Методология, пациенты и методы исследования

Научно-исследовательская работа проведена в несколько этапов. На первом этапе был проведен подбор оптимальных условий для проведения измерений и регистрации спектральных характеристик с последующим определением метаболомных маркеров при патологии ЛОР-органов ex vivo. На втором этапе была выполнена разработка и апробация методологии спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции при различных заболеваниях головы и шеи

воспалительного и опухолевого генеза. Исследования проводились ex vivo и in vivo. В серии экспериментов были продемонстрированы чувствительность и специфичность метода при различных заболеваниях ЛОР-органов. На третьем этапе проводились исследования для оценки морфологических, функциональных и метаболических параметров тканей ЛОР-органов в норме и при патологии ex vivo, анализировались спектры в норме и при заболеваниях ЛОР-органов, проводилось определение метаболомных характеристик тканей в корреляции с гистологическим исследованием. На четвертом этапе оценивались спектральные характеристики тканей ЛОР-органов в норме и при патологии in vivo с последующей обработкой спектров методами Савицкого-Голея, линейного дискриминантного анализа, принципа наименьших квадратов, главных компонент, случайного леса с последующим построением матриц неточностей и ROC-кривых и расчетом чувствительности и специфичности метода. На пятом и шестом этапах разрабатывались дифференциально-диагностические алгоритмы при патологии ЛОР-органов воспалительной и опухолевой природы и были обоснованы перспективы использования метода.

Положения, выносимые на защиту

1. Метод спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ) является информативным в ранней неинвазивной экспресс-диагностике заболеваний ЛОР-органов, поскольку продемонстрировал высокие уровни чувствительности, специфичности и скорости в дифференциации патологии воспалительного и опухолевого генеза от интактной области.

2. Разработанные алгоритмы диагностики с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ) могут применяться как ex vivo, так и in vivo для проведения оптической биопсии и скрининга патологии воспалительного и опухолевого генеза при патологии ЛОР-органов.

3. Разработанный метод экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием СКРСФ и спектрально-метаболомного анализа является информативным в дифференциации

патоморфологических и метаболических характеристик тканей интактной области от тканей, вовлеченных в патологический процесс.

4. Применение различных длин волн при использовании алгоритмов ранней неинвазивной экспресс-диагностики заболеваний ЛОР-органов (органов головы и шеи) позволяет получить максимально полную информацию о заболевании: типе патологического процесса, стадии заболевания, вероятности его рецидива, оценки границ резекции и скрининге данной патологии в перспективе.

Степень достоверности результатов исследования

Продемонстрированные результаты исследования показали высокий уровень достоверности данных с использованием многопараметрического анализа, при этом чувствительность и специфичность метода приближается к 100% при дифференциации интактных тканей и тканей, вовлеченных в воспалительный, опухолевый процесс при патологии ЛОР-органов. Группы пациентов, участвовавших в исследовании на всех его этапах, были сопоставимы по полу и возрасту, а размер выборки был рассчитан по общепринятым формулам и превышал минимальный. Для исключения системной ошибки при проведении исследований четко соблюдался алгоритм соответствия клинических наблюдений критериям включения и исключения, а также устранялись все факторы, которые прямо или косвенно могли повлиять на проведение исследования. В ходе исследования применялся многофакторный анализ данных, в том числе с использованием метода главных компонент (Principal Component Analysis, PCA), линейного дискриминантного анализа (Linear Discriminant Analysis, LDA), частичных наименьших квадратов, случайного леса (Random Forest, RF), Савицкого-Голея и их комбинации (PCA → LDA/PLS-DA → Random Forest → ROC-анализ) с последующим представлением матриц неточностей для проведения дифференциальной диагностики патологии ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза, что продемонстрировало информативность метода СКРСФ в идентификации заболеваний воспалительной и опухолевой природы ex vivo и in vivo.

Внедрение результатов в практику

Результаты исследования внедрены в практическую работу ООО «Клинический госпиталь на Яузе», «АСТ-Медикал», «Медицинский центр высоких технологий «ЛазерВита», «Онколинн», ГБУЗ «Центр общественного здоровья и медицинской профилактики г. Сочи», АО «Медицинские услуги». Материалы диссертации внедрены в учебно-педагогический процесс кафедры оториноларингологии, а также лечебно-диагностический и учебный процесс кафедры эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии факультета непрерывного медицинского образования медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.1.3. Оториноларингология, а именно п. 2 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики ЛОР-заболеваний».

Апробация исследования

Материалы научной работы представлены на научных конференциях: IV Международной научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов «Здоровье населения и развитие» («Population, Public Health and Development») (Москва, 20-21 апреля 2018 г.); Научно-практической конференции «Клиническая диагностика и персонализированная медицина» (Москва, 16-17 ноября 2022 г.); «Басовские чтения» в отделении квантовой радиофизики им. Н.Г. Басова на базе Физического института им. П.Н. Лебедева РАН (Москва, 2023 г., премия имени Н.Г. Басова), «Перспективы использования эффектов флюоресценции и комбинационного рассеяния света в диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи» (Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва, 2023 г.); VIII Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Н.В. Донских (Новосибирск,

2023 г.); I Конгрессе Международного общества клинической физиологии и патологии (ISCPP2023) (Москва, 13-14 октября 2023 г.); SIBS-2023 VII Сеченовском международном биомедицинском саммите (Москва, 8-9 ноября 2023 г.); I Всероссийском Форуме молодых ученых «Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра» (Москва, 18-19 апреля 2024 г., почетная грамота РАН); Научно-практической конференции «Клиническая диагностика и персонализированная медицина» (Москва, 10-11 сентября 2024 г.); Втором Гомельском международном конгрессе «Инфекционные болезни, микробиология и иммунология» (Беларусь, Гомель, 12-13 сентября 2024 г.); VII Школе-конференции молодых ученых «Прохоровские недели» (Москва, 22-24 октября 2024); SIBS-2024 VIII Сеченовском международном биомедицинском саммите (Москва, 6-7 ноября 2024 г.; Всероссийской научно-практической конференция с международным участием «Актуальные вопросы здоровья населения и развития здравоохранения на уровне субъекта Российской Федерации», посвященной 100-летию кафедры общественного здоровья и здравоохранения ИГМУ (Иркутск, 6 декабря 2024 г.); Всероссийском научно-образовательном конгрессе с международным участием «Онкорадиология» (Москва, 13-15 февраля 2025 г.); Второй научно-практической конференции с международным участием «Университетская медицина в оториноларингологии: междисциплинарные вопросы». К 125-летию кафедры оториноларингологии с клиникой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (Санкт-Петербург, 27-28 марта 2025 г.); III Конгрессе Международного общества клинической физиологии и патологии (ISCPP 2025) (Москва, 12-14 мая 2025 г.); Научно-практической конференции «Скобелкинские чтения. Лазерные технологии в медицине» (Москва, 4 июня 2025 г); Всероссийском форуме оториноларингологов с международным участием «Актуальные вопросы оториноларингологии: от истории к современным исследованиям», посвященном 100-летию профессора В.Ю. Шахова (Нижний Новгород, 20-21 июня 2025 г.); IX International Conference on Ultrafast Optical Science UltrafastLight-2025 (Moscow, September 29-October 2 2025); Научно-практической конференции с международным участием «Здоровье – стратегический ресурс России» (Москва,

3 декабря 2025 г.); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы здоровья населения и развития здравоохранения на уровне субъекта Российской Федерации», посвященной 80-летию Победы в Великой Отечественной войне и 105-летию факультетских клиник ФГБОУ ВО ИГМУ (Иркутск, 4 декабря 2025 г.); II Всероссийском Форуме молодых ученых «Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра» (Москва, 16-17 апреля 2026 г., почетная грамота РАН); XV Петербургском форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 28-30 апреля 2026 г.); Научно-практической междисциплинарной конференции «За гранью оториноларингологии» (Москва, 21-22 мая 2026 г.); XXIV Московской научно-практической конференции с международным участием «Оториноларингология: традиции и современность. Итоги первой четверти столетия» (Москва, 27-28 мая 2026 г.); Научно-практической конференции «Скобелкинские чтения. Лазерные технологии в медицине» (Москва, 5 июня 2026 г.) и др. Апробация диссертации проведена на заседании кафедры оториноларингологии медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», протокол № 2 от 16 сентября 2026 г.

Публикации по теме исследования

По результатам исследования опубликованы 53 научные работы: 13 статей – в журналах международных баз цитирования (SCOPUS), 19 статей в журналах базы цитирования RSCI, 1 статья в научных изданиях ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 1 статья в других журналах и 15 тезисов в сборниках научно-практических конференций. Получены 4 патента на изобретение Российской Федерации.

Личный вклад автора в результаты исследования

Автор работы лично внесла вклад в каждый из этапов научного исследования. Автором проведен анализ источников отечественной и зарубежной литературы, включая нормативно-правовые документы, сформулированы

основная идея, цель и задачи исследования, разработан дизайн исследования, выполнен представленный объем исследования, разработана методология исследования, проведены сбор, анализ, обработка данных. Автор проводила обследование пациентов, включенных в исследование, а также измерения спектров, создавала базу данных спектральных характеристик тканей в норме и при патологии, разрабатывала дифференциально-диагностические алгоритмы при патологии ЛОР-органов с использованием описанной методологии, представляла результаты проведенного исследования в виде различных научных трудов, включая патенты, статьи, участие в конференциях и других мероприятиях, по итогам которых сформировала научно-исследовательскую работу, согласно установленным критериям.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 312 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 таблицами, 122 рисунком, 3 приложениями. Список литературы включает источников: отечественных – 108; зарубежных – 255.

Глава 1. ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И ОПУХОЛЕВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛОР-ОРГАНОВ. РАЗРАБОТКА МЕТОДА РАННЕЙ НЕИНВАЗИВНОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ

1.1. Распространенность и современное состояние вопроса

Воспалительные заболевания ЛОР-органов, включая острый и хронический риносинусит, тонзиллит, фарингит, средний отит и другие, широко распространены среди населения и характеризуются значительным медико-социальным бременем [16, 28, 36, 37, 43, 53, 63, 74, 80, 81, 99-101]. В частности, риносинусит остается одной из актуальных проблем современной оториноларингологии и занимает значимое место в структуре воспалительных заболеваний ЛОР-органов [36, 74, 184]. Так, среди пациентов, проходящих лечение в специализированных оториноларингологических стационарах, доля пациентов с патологией околоносовых пазух может варьировать от 15 до 36% [37]. Однако, учитывая возрастающее количество ежегодно возникающих эпизодов острого риносинусита, пристального внимания заслуживает хронический риносинусит (ХРС) у взрослых и детей, который относится к гетерогенному заболеванию, может развиваться с формированием полипов и без их развития, при этом пациенты с хроническим риносинуситом без полипов в полости носа относятся к большинству в общей популяции [25, 74, 116, 128, 136, 184]. ХРС сопровождается воспалительным процессом слизистой оболочки носа и околоносовых пазух длительностью не менее 12 недель. По данным EPOS 2020 (The European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps), распространенность острого риносинусита составляет 6-15%, а хронического риносинусита – 5-12% в общей популяции и характеризуется значительным снижением качества жизни пациентов и большими экономическими потерями в здравоохранении [24, 184]. Описано, что различными формами риносинусита страдает до 15% взрослого населения, в то время как дети болеют им еще чаще [43]. Что касается хронического риносинусита, внимания заслуживает полипозный процесс в проекции околоносовых пазух, который является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний полости

носа и околоносовых пазух, при этом данная патология рецидивирует, и не существует универсальных методов терапии, использование которых позволило бы радикально устранить патологический процесс [50, 105, 106]. Среди заболеваний околоносовых пазух нередко регистрируются кисты [8, 64]. Наиболее часто встречаются кисты верхнечелюстных пазух (89,5-92,7% всех кист, локализованных в проекции околоносовых пазух) [193, 270, 271]. На сегодняшний день не разработана единая концепция формирования причинно-следственной связи формирования кист и риносинусита. В некоторых источниках научной литературы описывается точка зрения, что риносинусит может быть предрасполагающим фактором к развитию кисты [132, 204], однако для понимания патогенеза данных заболеваний необходимо изучение патоморфологического и метаболомного анализа тканей.

Известно, что хронический риносинусит – заболевание, которое сопровождается изменениями воспалительного характера в области верхних дыхательных путей и может формироваться с наличием полипов в полости носа и околоносовых пазухах и без них, при этом патогенез в каждом из этих случаев отличается. Является актуальным изучение звеньев иммунологического патогенеза данного заболевания и различных его форм [40], в том числе с применением новых технологий. Полипозный риносинусит является широко распространенным гетерогенным мультифакторным заболеванием, характеризующимся хроническим воспалением слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух [39, 78]. Несмотря на то, что полипозная ткань сама по себе является доброкачественной, заболевание склонно к рецидивированию и тяжелому течению [111], поэтому важно заподозрить его на ранней стадии. Определение биомаркеров данного заболевания относится к одной из важнейших задач, стоящих перед клиницистами и учеными, поскольку позволит в будущем подобрать наиболее рациональное лечение. Другим распространенным заболеванием является хронический тонзиллит. По данным В.Т. Пальчуна, данной патологией в России страдает от 5 до 37% населения, при этом отмечается высокая частота ее встречаемости и отсутствие тенденции к ее снижению [16, 76, 171, 213]. Аденоидные вегетации не

только у детей, но и у взрослых также являются отдельной темой для обсуждения. Согласно одному из метаанализов, распространенность аденоидных вегетаций составляет 49,70%, однако описывается, что в различных выборках она может варьировать от 42% до 70% [283]. Помимо остальных воспалительных заболеваний, немаловажное значение приобретает хронический гнойный средний отит (ХГСО), который является одним из распространенных заболеваний в оториноларингологии, при этом холестеатома развивается при наиболее агрессивном типе хронического среднего отита (ХСО); ХСО как с холестеатомой, так и без нее может приводить к сенсоневральной тугоухости [325]. По данным некоторых авторов, одно из ведущих мест среди патологии ЛОР-органов у взрослого и детского населения, когда требуется стационарное лечение, занимают острые синуситы, средние отиты и паратонзиллярные абсцессы, составляющие в структуре ургентных состояний 19,4, 9,1 и 9,4%, соответственно [55]. Помимо хронических воспалительных заболеваний ЛОР-органов, особого внимания заслуживает изучение патогенеза доброкачественной опухоли слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух – инвертированной папилломы, которая может разрушать своим ростом стенки околоносовых пазух. Инвертированная папиллома характеризуется высоким риском агрессивного роста и может малигнизироваться [30]. Помимо воспалительных заболеваний ЛОР-органов, пристального внимания заслуживает изучение показателей общественного здоровья, связанных с онкологическими заболеваниями. Так, в настоящее время рак относится к одной из ведущих причин смерти во всем мире и к одной из наиболее сложных проблем в медицинской практике [134, 349]. Наблюдается рост заболеваемости опухолевой патологией у молодого населения, в связи с чем актуальным остается вопрос профилактики и ранней ее диагностики. По данным Globocan, согласно прогнозу на 2045 год, ожидается, что количество случаев злокачественных новообразований у мужчин и женщин в возрасте 20-44 года повысится на 14 % по сравнению с 2022 годом [20]. За последние годы наблюдается тенденция роста числа онкологических заболеваний ЛОР-органов [47]. Разрабатываются меры для снижения смертности и заболеваемости злокачественными новообразованиями в России. Основную роль в

этом аспекте играет проведение профилактики. Использование для проведения ранней диагностики современных высокочувствительных технологий, позволяющих идентифицировать патологический процесс на его ранней стадии, является важной составляющей снижения смертности от опухолевых заболеваний [21]. Из наиболее распространенных видов опухолей следует упомянуть плоскоклеточный рак головы и шеи (ПКРГШ), который склонен к агрессивному течению и формированию отдаленных метастазов [356]. Существенного снижения заболеваемости и смертности от опухолевой патологии можно достичь за счет ранней диагностики и своевременного лечения [244]. В связи с высокой частотой возникновения рака органов головы и шеи для эффективной диагностики на ранних стадиях необходима разработка неинвазивных и высокоточных методов его идентификации [178]. В основном высокие цифры заболеваемости данной патологией связаны с поздней диагностикой и отсутствием надежных маркеров для прогнозирования прогрессирования заболевания при наличии злокачественного процесса [202]. Так, рак гортани является одним из наиболее часто встречающихся злокачественных заболеваний и составляет 5-7% всех злокачественных опухолей [14]. В свою очередь, рак ротоглотки составляет 0,48% в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями населения России и занимает 4-е место среди опухолей головы и шеи [35]. Онкологические заболевания околоносовых пазух приводят к инвалидизации и высокой смертности населения и составляют 20-30% в общей структуре онкологической заболеваемости опухолей головы и шеи [95]. Встречаются и более редкие виды патологии ЛОР-органов, в частности синоназальная карцинома [82]. В свою очередь, рак носоглотки встречается не так часто [48], однако, как известно, ежегодно в мире регистрируется 80 тысяч новых случаев заболевания раком носоглотки и около 50 тысяч человек ежегодно умирают от этой патологии [284]. В России рак носоглотки встречается в 0,26% случаев всех злокачественных опухолей (у 0,19% мужчин и 0,07% женщин) и в 2% злокачественных опухолей головы и шеи [23]. Среди опухолей носоглотки также встречается диффузная В-крупноклеточная лимфома [49]. Опухолевые заболевания уха регистрируются относительно редко, однако значительно

снижают качество жизни пациентов и приводят к инвалидизации [298].

Таким образом, патология ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза является широко распространенной. Позднее ее выявление и высокий уровень заболеваемости приводят к значительному снижению качества жизни пациентов и необходимости применения сложных видов лечения, а также к значительному экономическому бремени в здравоохранении.

1.2. Методы исследования в оториноларингологии

Ранняя идентификация патологии ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза относится к важнейшим задачам здравоохранения. На сегодняшний день применяется множество методов диагностики [17, 26, 142, 176, 277, 308]. В оториноларингологии эффективно применяются эндоскопические технологии [22], в том числе диагностические [19], которые непрерывно совершенствуются [27]. Помимо эндоскопических методов исследования в клинической оториноларингологической практике информативна компьютерная томография (КТ), которая позволяет не только визуализировать состояние околоносовых пазух, но и оценить изменения прилегающих к ним анатомических структур [29]. Магнитно-резонансная томография также применяется в практике врача, в частности, для определения глубины инвазии, обладает высокими уровнями чувствительности и специфичности. Тем не менее, представляется целесообразным изучить и другие методы визуализации, такие как двухэнергетическая КТ и другие [9]. Эндоскопическое исследование полости носа и носоглотки, компьютерная и магнитно-резонансная томография позволяют идентифицировать патологию [34], однако определить тип клеток на сегодняшний день представляется возможным с использованием гистологического исследования, которое занимает длительное время, требует дополнительной пробоподготовки и использования специальных реактивов. Учитывая, что пациенты с опухолевыми заболеваниями могут не иметь характерных лабораторных изменений в начале заболевания, а также то, что для верификации используется инцизионная биопсия слизистой оболочки полости носа и других

органов [7], требуется разработка неинвазивных методов экспресс-идентификации опухолевого процесса на стадии его инициации. Так, при раке гортани применяемые методы, такие как фиброларингоскопия, непрямая ларингоскопия дают много информации о биообъекте, однако не всегда представляется возможным дифференцировать злокачественное перерождение клеток при длительно протекающем хроническом заболевании от интактной слизистой оболочки [14]. Помимо перечисленных выше, при заболеваниях ЛОР-органов эффективными зарекомендовали себя такие методы диагностики, как полимеразная цепная реакция (ПЦР), микробиологический, цитологический, биохимический, иммуногистохимический, однако на сегодняшний день наиболее точные характеристики о биологическом объекте на уровне его морфологических параметров дает гистологическое исследование [115, 276, 323], поскольку позволяет не только идентифицировать различные формы рака, но и охарактеризовать процесс дисплазии на ранней стадии заболевания [182]. Так, диагностика рака основана на проведении биопсии с последующим гистопатологическим исследованием. В данном случае важным является максимально полное удаление опухоли и улучшение качества жизни пациентов [356]. Помимо морфометрических и морфологических параметров ткани важное значение в патогенезе заболеваний приобретает микробный фактор [194, 209].

В зависимости от конкретных условий реализации методы диагностики могут быть длительными, дорогостоящими, технически сложными, требовать использования крупногабаритного оборудования и дополнительных реактивов, либо давать преимущественно косвенное представление о патологических процессах, происходящих в организме, что является пусковым фактором развития неинвазивных, высокочувствительных и высокоспецифичных экспресс-методов диагностики в оториноларингологии.

1.3. Ранняя диагностика

Вопросы раннего выявления патологии ЛОР-органов заслуживают пристального внимания [64, 301, 344], а разработка методов ее ранней

неинвазивной экспресс-идентификации является важным аспектом практического здравоохранения. В частности, в связи с высокой частотой рака головы и шеи и недостаточной диагностикой на ранних стадиях, в клинической практике необходимо применять неинвазивные и высокоточные диагностические тесты для его выявления. Спектроскопия комбинационного рассеяния света (СКРС) продемонстрировала многообещающие результаты по уровням чувствительности и специфичности в диагностике рака. В частности, рак на ранней стадии может быть выявлен с помощью СКРС образцов жидкостной биопсии. Методика может применяться также in vivo с прямым исследованием слизистой оболочки с помощью волоконно-оптической спектроскопии. Согласно одному из исследований, наиболее значимыми маркерами наличия злокачественного новообразования были увеличение интенсивности сигнала СКР при регистрации содержания белков, нуклеиновых кислот и воды, и уменьшение – для липидов. Эти признаки, позволяющие дифференцировать рак, были обнаружены, в том числе в диапазоне высоких волновых чисел. Флюоресцентная визуализация позволяет идентифицировать биологические процессы, происходящие на ранних стадиях канцерогенеза, и, следовательно, может обеспечить обнаружение онкологического процесса на стадии инициации [338]. Спектроскопия возбуждения-излучения флюоресценции может рассматриваться как быстрый и точный аналитический метод для разработки предварительной модели раннего скрининга рака. Спектроскопия возбуждения-излучения-флюоресценции – это аналитический метод 3D-сканирования, сопровождающийся построением матрицы зависимости интенсивности свечения от длины волны возбуждения и длины волны эмиссии. При этом создается уникальный «молекулярный отпечаток» образца. Хемометрические модели продемонстрировали корреляцию между содержанием некоторых флюорофоров и состоянием заболевания [273].

Поиск неинвазивного диагностического метода с достаточной диагностической мощностью имеет решающее значение для раннего выявления злокачественных новообразований. Например, с данной целью могут применяться флюоресцентная спектроскопия и высокоэффективная жидкостная хроматография

в сочетании с методами машинного обучения (логистическая регрессия, OPLS-DA-Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis (дискриминантный анализ с использованием ортогональных проекций на латентные структуры), а также сверточные нейронные сети, при этом точность метода достигает 95,3% для обучающей модели при анализе биологических жидкостей пациента при раке и в норме [337]. Таким образом, рост онкологической заболеваемости у молодого населения является пусковым механизмом к разработке методов профилактики и ранней диагностики данной патологии [20]. Для снижения заболеваемости и смертности от отдельных форм злокачественных новообразований разрабатываются предложения и меры для профилактики и раннего выявления данной нозологии [21]. Использование с этой целью современных высокочувствительных технологий, которые позволяют выявить признаки заболевания на стадии инициации патологического процесса, могут применяться для проведения скрининга и профилактики онкологических заболеваний. Особого внимания заслуживает исследование биомаркеров [328]. Остановимся на данных методах подробнее.

1.4. Оптические методы и ранняя диагностика рака

Использование оптических технологий в медицине описано во многих научных трудах [4, 6, 31, 44, 45, 52, 56-60, 65, 73, 83-92, 102, 107, 124, 151, 168, 185, 224, 278, 290, 295, 296, 302, 322, 329, 333]. В современной науке и медицине применяются инновационные оптические методы диагностики, которые позволяют неинвазивно оценить состояние биологического объекта [46, 104]. Диагностика плоскоклеточного рака головы и шеи (ПКРГШ) как одной из наиболее распространенных групп онкологических заболеваний, в настоящее время основывается на проведении биопсии и гистопатологического исследования. Однако ввиду особенностей соотношения анатомии и границ резекции опухоли очень сложно дифференцировать ткани, подлежащие удалению, без значительного влияния на качество жизни пациента. В данном случае может быть полезна оптическая визуализация. Оптические технологии обладают уникальными

возможностями для проведения ранней предоперационной диагностики, интраоперационной визуализации границ опухоли в режиме реального времени, проведения биопсии сторожевых лимфатических узлов и др. Для визуализации плоскоклеточного рака головы и шеи применяются такие методы, как флюоресцентная визуализация, узкополосная визуализация, СКРС, оптическая когерентная томография, гиперспектральная визуализация и фотоакустическая визуализация. Метод СКРС применяется для дифференциации интактной и опухолевой ткани на молекулярном уровне, тогда как флюоресцентная визуализация чаще используется для обнаружения границ резекции опухоли и проведения навигации во время операции [356]. Интраоперационная оценка краев резекции опухоли может значительно улучшить результаты хирургического лечения. Однако существующие методы трудоемки, субъективны и сложны в исполнении. В связи с этим рассматривается возможность применения с данной целью высокочастотной спектроскопической технологии на основе комбинационного рассеяния света (КРС) для быстрого и объективного интраоперационного определения краев резекции [109]. Ранняя диагностика и лечение остаются ключевыми задачами для улучшения качества жизни пациентов при опухолевых заболеваниях. В частности, поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия (SERS) [38, 177] является перспективным методом ранней диагностики, позволяющим проводить анализ изменений в биологических жидкостях на уровне молекулярного строения [117]. Разработка методов диагностики и лечения опухолевых заболеваний на начальной их стадии, в том числе с использованием СКРС и технологий SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy/Surface-Enhanced Raman Scattering; ПУРС – поверхностно-усиленное рамановское рассеяние) [166] в сочетании с анализом биохимических изменений в образцах сыворотки крови с последующим проведением метаболомного анализа и его корреляции со СКРС, является крайне важной [117]. Для идентификации спектральных особенностей образцов слюны для диагностики рака полости рта и ротоглотки применяется микро-рамановская спектроскопия и ИК-Фурье спектроскопия (FT-IR). Полосы биомаркеров при тестировании образцов слюны

здоровых добровольцев и пациентов при злокачественном поражении позволяют провести классификацию видов рака [175]. При проведении СКРС в качестве многомерного анализа описано применение метода главных компонент с проведением линейного дискриминантного анализа (PCA-LDA), метода наименьших квадратов с проведением дискриминантного анализа (PLS-DA), что целесообразно, в частности, для диагностики не только опухолевых, но и воспалительных заболеваний вирусного генеза [169]. В планировании лечения и прогнозирования рака и определении его типа важную роль приобретает использование волоконно-оптической СКРС. Метод СКРС может применяться в составе прототипа портативного интеллектуального устройства. При этом одномоментно идентифицируются тип патологического процесса и гистологическая степень его злокачественности [244]. Оптическая спектроскопия относится к значимому методу ранней неинвазивной диагностики, позволяя проводить точечный анализ тканей на различной их глубине в режиме реального времени ex vivo и in vivo. Клинический исход опухолевого заболевания часто в значительной степени зависит от стадии заболевания на момент постановки диагноза. Однако ранняя диагностика затруднена из-за нецелесообразности биопсии каждого потенциально предракового поражения, ввиду этических, психологических и клинических особенностей в каждом конкретном случае. Поэтому существует необходимость в разработке неинвазивного, экономически эффективного диагностического метода для дифференциации злокачественных и незлокачественных поражений на ранних стадиях. Оптическая спектроскопия может стать подходящим решением для выявления таких изменений. Она имеет множество преимуществ перед традиционными подходами, включая стоимость, скорость, объективность, чувствительность, безболезненность и простоту использования в клинических условиях для диагностики в режиме реального времени. В данном случае информативны такие методы, как оптическая спектроскопия, включая СКРС, флюоресцентную и диффузную отражательную спектроскопию. Преимуществом данных методов является то, что они могут предоставлять информацию об изучаемом биологическом объекте на уровне его

биомолекулярного состава, что представляет собой перспективы развития технологий идентификации патологических изменений на стадии их инициации при злокачественной трансформации клеток [261]. Помимо описанных выше видов спектроскопии в клинической практике применяется СКРС со сдвигом возбуждения (SERDS – Shifted Excitation Raman Difference Spectroscopy) [263]. Как было показано в одном из исследований, применение волоконно-оптической СКРС с одновременным определением индивидуальных особенностей кристаллической решетки веществ в составе ткани (в диапазоне волновых чисел 800-1800 $см^{-1}$) и высокочастотном диапазоне (2800-3600 $см^{-1}$) является информативным для диагностики рака носоглотки в режиме реального времени in vivo [269]. Также отечественными исследователями разрабатываются технологии оптического просветления жировой ткани, основанные на применении комплексных гиперосмотических оптических просветляющих агентов в сочетании с методами повышения тканевой проницаемости. Применение данной методики позволяет исследовать анатомические структуры с использованием лазерных, микроскопических и томографических систем, снижая необходимость использования инвазивных хирургических вмешательств [352]. Помимо диагностического применения, оптические технологии находят широкое применение в лечении опухолевых заболеваний. Одним из перспективных направлений является сочетание фотодинамической терапии с иммунотерапией, направленной на блокирование иммунных контрольных точек, включая сигнальный путь PD-1/PD-L1 (PD-L1- Programmed cell death-ligand 1- лиганд белка программируемой клеточной смерти; PD-L1/PD-1 – Programmed cell death-ligand 1 – лиганд белка программируемой клеточной смерти/ PD1-programmed cell death protein 1-рецептор программируемой клеточной смерти). Фотодинамическое воздействие способно вызывать повреждение опухолевых клеток и сосудистой сети новообразования, усиливать противоопухолевый иммунный ответ и потенциально способствовать преодолению резистентности к ингибиторам PD-L1 [72]. Таким образом, активно развивается направление «фототераностика», которое возникло благодаря достижениям в области наномедицины и биовизуализации для

диагностики и лечения заболеваний. Поскольку разнообразие, гетерогенность и нестабильность опухолей ограничивают клиническое применение традиционных методов диагностики и терапии, фототераностика, сочетающая в себе терапевтические и диагностические методы, основанные на воздействии света, получила широкое распространение [354].

1.5. Флюоресценция в диагностике

Ранняя идентификация патологического процесса при дисплазии эпителия возможна с использованием аутофлюоресцентой спектроскопии, которая относится к неинвазивным, высокочувствительным, универсальным и относительно простым в использовании методам диагностики [47]. На сегодняшний день описаны исследования, в которых изучается флюоресценция в диагностике [309], которая в выраженной форме наблюдается при онкологическом процессе и сопровождается повышением интенсивности флюоресценции протопорфирина IX и снижением флюоресценции FAD [13]. Помимо аутофлюоресценции в диагностике могут применяться комбинированные методы с использованием дополнительных химических веществ, например, 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛА) [180]. Перспективным направлением интраоперационной диагностики злокачественных новообразований является совместное применение радиомического анализа и флюоресцентной молекулярной визуализации. В частности, данный подход исследуется для навигации при хирургическом удалении опухоли из ряда плоскоклеточного рака органов головы и шеи. В данном случае в качестве молекулярного зонда используется специфический пептид, направленный на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR – epidermal growth factor receptor) и конъюгированный с флюорофором ближнего инфракрасного диапазона. Анализ совокупности радиомических признаков позволяет выявлять скрытые структурные и микроморфологические изменения, которые не определяются при стандартной визуализации изображений [150]. Флюоресцентная спектроскопия слюны потенциально может рассматриваться как альтернативный вспомогательный метод скрининга и ранней

диагностики данной группы злокачественных новообразований [232]. Хирургическое вмешательство остается основным методом лечения при различных видах плоскоклеточного рака органов головы и шеи. Вместе с тем сложное анатомическое строение данной области, трудности интраоперационного разграничения интактных и опухолевых тканей, а также выявление микроскопических очагов патологии существенно затрудняют проведение радикальной резекции, что может приводить к формированию положительных краев резекции, наличие которых ассоциировано с повышенным риском рецидивирования заболевания и ухудшением его прогноза. Одним из перспективных направлений повышения точности хирургического лечения является применение флюоресцентно-навигационной хирургии. Значительный интерес представляет собой применение контрастных агентов, специфически связывающихся с рецептором эпидермального фактора роста – EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), гиперэкспрессия которого характерна для значительной части плоскоклеточных опухолей головы и шеи. Дальнейшее развитие флюоресцентной онкологии связано с поиском новых молекулярных мишеней и созданием высокоселективных контрастных агентов. К числу потенциальных мишеней относятся интегрины αVβ6, рецептор активатора плазминогена урокиназного типа – uPAR, поли (АДФ-рибоза)-полимераза 1 – PARP1, а также другие молекулы, характеризующиеся повышенной экспрессией в опухолевой ткани. Особое внимание уделяется интегринам αVβ6, которые по результатам доклинических исследований рассматриваются как перспективная мишень для флюоресцентной навигации. Их высокая и преимущественно опухоль-специфическая экспрессия, в том числе, в области границ новообразования, создает предпосылки для более точного определения объема резекции. Таким образом, дальнейшее совершенствование молекулярно-таргетированной флюоресцентной визуализации может способствовать укреплению роли данного метода в прецизионной онкологии головы и шеи [167].

В настоящее время разработано множество флюоресцентных маркеров, характеризующихся приемлемым профилем безопасности и пригодных для

использования при хирургическом лечении плоскоклеточного рака головы и шеи. Их применение может повысить точность интраоперационного определения границ опухоли, увеличить вероятность достижения отрицательных краев резекции и одновременно снизить риск избыточного удаления функционально значимых интактных тканей [315], особенно в случаях, когда новообразование инфильтрирует прилежащие интактные ткани или располагается в непосредственной близости от жизненно важных анатомических структур [310]. Сочетание аутофлюоресцентной визуализации и анализа диффузного отражения может рассматриваться как перспективный неинвазивный метод оптической диагностики и навигационного сопровождения биопсии при подозрении на злокачественный процесс [275]. Флюоресцентная визуализация позволяет анализировать злокачественный процесс на ранней стадии канцерогенеза и создает предпосылки для ее использования в качестве метода интраоперационного определения границ резекции опухоли [338]. При этом следует отметить, что данный метод дополняет спектроскопию комбинационного рассеяния света, позволяя проводить более информативную диагностику с учетом физиологических параметров тканей в норме и при патологии.

1.6. Спектроскопия комбинационного рассеяния света (СКРС) и дифференциальная диагностика заболеваний

Комбинационное рассеяние света (КРС) является неупругим рассеянием оптического излучения на молекулах различных веществ и сопровождается изменением частоты излучения [216]. Эффект КРС был открыт группой советских ученых Г.С. Ландсбергом и Л.И. Мандельштамом, которые зафиксировали новое явление в кристаллах кварца 21 февраля 1928 года [41], о чем впервые публично доложили в Москве в апреле и издали печатную работу летом 1928 года [96], однако Ч.В. Раман и К.С. Кришнан наблюдали эффект в жидкостях 28 февраля 1928 года и описали изменение длины волны света в более ранних мартовских и апрельских заметках 1928 года, в связи с чем получили Нобелевскую премию. Эффект КРС широко применяется в различных направлениях. Особого внимания

заслуживает применение данного эффекта в медицине [237, 247, 249, 253, 265, 280, 291, 311, 313, 317, 339, 355, 361]. Уникальные линии КРС характеризуют биомолекулярный состав тканей. Как известно, диагностические методы не всегда обеспечивает высокий уровень чувствительности, специфичности и точности. КРС в сочетании с флюоресценцией обладает указанными выше преимуществами и может применяться не только для выявления заболеваний на ранней их стадии, но для оценки эффективности проводимого лечения и непрерывного мониторинга и оценки состояния тканей в норме и при патологии, в том числе при рецидиве заболевания. При взаимодействии лазерного излучения с биологической тканью отмечается комплекс оптических процессов, в том числе отражение, поглощение, упругое и неупругое рассеяние, а также флюоресценция [1, 103], которые могут быть информативны в интерпретации спектральных характеристик. Анализ спектров тканей при воспалительном и опухолевом процессе позволяет оценить различия метаболического и морфометрического состояния тканей в норме и при патологии, при этом представляется возможным проводить диагностику in vivo и ex vivo без использования инвазивных вмешательств. СКРСФ относится к таким методам и позволяет идентифицировать биомолекулярный состав ткани и оценить характер кровотока, микроциркуляции, а также изменений, происходящих в тканях на стадии формирования опухолевого или воспалительного процесса. С использованием КРС в сочетании с флюоресценцией представляется возможным зарегистрировать изменения, происходящие в тканях, при различных заболеваниях ЛОР-органов, что возможно при разработке специальных алгоритмов диагностики [89]. К основным преимуществам СКРСФ относятся неинвазивность, высокие уровни чувствительности и специфичности, а также скорость, универсальность, возможность анализа молекулярного состава тканей как in vitro, так и in vivo [84]. Принципиальное значение имеет возможность получения информации об изменениях в тканях на уровне биомаркеров заболевания. Согласно данным отечественных и зарубежных исследований, комбинационное рассеяние света и флюоресценция могут быть информативны в данном аспекте и соответствуют описанным выше требованиям, предъявляемым к методам диагностики [2, 71, 159,

174, 265, 289, 291, 311, 361]. Метод позволяет проанализировать не только состав биомаркеров заболевания, но и провести патоморфологическую его верификацию и мониторинг терапии. Перспективы использования СКРСФ представлены в различных источниках зарубежной и отечественной литературы [2, 110, 159, 174, 225, 226, 247, 291, 311, 333]. Так, описано применение спектроскопии гигантского КРС для выявления и идентификации бактериальных и вирусных патогенов при инфекционно-воспалительном процессе и выборе рациональной терапии [292]. СКРС может применяться для оценки ранних биохимических изменений, которые регистрируются в сосудах при атеросклерозе, в том числе у пациентов с артериальной гипертензией in vivo, а также в ткани миокарда в постинфарктной зоне [71]. В литературе описано использование метода в диагностике новообразований молочной железы, желудка, кожи, легких, полости рта и глотки, и толстой кишки, шейки матки, головного мозга и мочевого пузыря [265]. Совершенствование методов СКРСФ заключается в разработке аппаратно-программных комплексов, позволяющих сочетать в себе все описанные выше параметры. Так, помимо приборов для проведения микроспектроскопии КРС, в том числе конфокальных систем, разрабатываются портативные устройства и волоконно-оптические зонды, позволяющие проводить локальный спектральный анализ биологических тканей непосредственно in vivo, в том числе в ходе эндоскопического исследования и хирургического вмешательства. В настоящее время активно изучаются возможности сочетанного применения флюоресцентной спектроскопии и СКРС в диагностике, интраоперационной навигации и мониторинге заболеваний в различных областях медицины [127, 129, 156, 172, 341]. Использование специальных алгоритмов диагностики обеспечивает не только оценку морфометрических параметров ткани, но и позволяет проанализировать физиологические процессы в ней, такие как характер кровотока и микроциркуляции [56-59]. СКРСФ информативна в идентификации типов клеток, характеристике их метаболизма и оценке взаимодействия лекарственного препарата с ними. Ранняя диагностика заболеваний является одним из факторов существенного повышения качества организации медицинской помощи [203].

Применение колебательной спектроскопии в инфракрасном диапазоне в сочетании с КРС позволяет получить информацию о состоянии биологического объекта in vivo, ex vivo и in vitro [124], в том числе для анализа процессов, которые происходят в тканях донорских органов перед трансплантацией. Помимо этого, КРС и флюоресцентная спектроскопия применяются в регенеративной медицине [174]. Кроме того, одной из перспектив использования метода является высокочувствительное выявление молекулярных биомаркеров путем SERS-технологий (Surface-enhanced Raman spectroscopy). Благодаря усилению сигнала данный метод позволяет обнаруживать ДНК, микроРНК, белки и другие биологически значимые молекулы в минимальных концентрациях в биологических жидкостях in vitro, а применение SERS-нанозондов создает возможность таргетированной визуализации биомаркеров в тканях in vivo [143]. Имеются данные об использовании СКРС в диагностике хондрогенных опухолей [163]. В настоящее время развиваются технологии, объединяющие СКРС и машинное обучение [290]. Разрабатываются аппаратно-программные комплексы с оптимизированной оптической конфигурацией, предназначенные для неинвазивной диагностики [151]. При экспресс-диагностике существенное значение имеет оценка не только эффекта КРС, но и тканевой флюоресценции. Выраженность воспаления и гипоксии при фиброзе, а также стадии его развития могут быть проанализированы с использованием флюоресцентных методов [45, 102]. Оценка степени тканевой гипоксии методом лазер-индуцированной спектроскопии является перспективным направлением клинической медицины [6]. Что касается лазерной флюоресцентной спектроскопии in vivo, она может служить информативным методом диагностики злокачественных новообразований и определения очагов ишемической гипоксии и воспалительного процесса [60]. Различные вариации методов флюоресцентной визуализации в диагностике и лечении воспалительных и опухолевых заболеваний проанализированы в ряде направлений клинической медицины [4, 6, 31, 47, 65, 73, 107, 112, 113, 216], что является подтверждающим фактом возможности адаптации метода к определенной клинической задаче при разработке специальных алгоритмов. КРС и

флюоресцентная визуализация зарекомендовали себя в качестве информативных методов диагностики и лечения воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи, однако в основном исследования были проведены при опухолевых заболеваниях гортани и носоглотки, при этом не применялся многоволновой подход в дифференциации воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов при разработке специальных алгоритмов [85, 87, 147, 245, 248, 249, 250, 258, 280, 326, 360]. В частности, при проведении одного из метаанализов, в которое было включено 10 исследований (охватывающих 16 групп); было получено 5365 спектров комбинационного рассеяния (КР), при этом объединенные показатели чувствительности и специфичности метода волоконно-оптической спектроскопии КР при карциномах головы и шеи составили 0,88 и 0,94, соответственно, что коррелирует с полученными нами данными в ходе исследования [147] (приложение А).

Таким образом, результаты исследований, продемонстрировавшие информативность использования КРСФ в отношении заболеваний ЛОР-органов, требуют детального представления, поскольку необходимо сформировать общую концепцию идентификации патологии данной локализации путем разработки дифференциально-диагностических алгоритмов ранней неинвазиной многоволновой экспресс-диагностики in vivo и ex vivo, что и является основным в настоящей работе.

Описано использование данного эффекта КРС в диагностике опухолевых и неопухолевых заболеваний различной локализации [2, 44, 71, 110, 112, 114, 153, 155, 159, 163, 174, 195, 203, 215, 223, 225, 226, 230]. В частности, СКРС может применяться при выявлении рака гортани [360]. СКРС информативна в отношении дифференциации интактной и опухолевой ткани при проведении интраоперационной диагностики. Например, при определении границ резекции опухоли СКРС обладает высокой способностью дифференцировать злокачественные клетки от интактной области на основе их молекулярного состава [336]. Отмечается высокая эффективность интеграции СКРС с современными алгоритмами машинного обучения, что может рассматриваться как перспективный

инструмент ранней диагностики рака гортани, интраоперационного распознавания опухолевой ткани и оценки полноты хирургического удаления новообразования [245]. Использование волоконно-оптической СКРС является эффективным инструментом при определении стадии заболевания и гистологической степени злокачественности [244]. Высокие показатели диагностической эффективности в сочетании с возможностью выявления молекулярных изменений тканей свидетельствуют о значительном потенциале данного метода для клинического стадирования опухолевого процесса, выбора индивидуальной тактики лечения и повышения точности эндоскопической диагностики [306]. Из модификаций метода следует отметить эффективность применения интраоперационной стимулированной рамановской гистологии (Stimulated Raman Histology – SRS-гистология). Технология дает возможность идентифицировать границы опухоли во время операции с точностью до гистологического уровня [181]. Ранее была продемонстрирована высокая информативность стимулированной рамановской гистологии при интраоперационной идентификации опухолевой ткани. Данный метод может рассматриваться как перспективный инструмент экспресс-морфологической верификации новообразований околоносовых пазух и основания черепа [77]. Помимо этого, описано применение СКРС в диагностике других опухолевых заболеваний головы и шеи [267]. В частности, поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия (ПУРС) информативна в диагностике и оценке эффективности терапии плоскоклеточного рака головы и шеи при сопоставлении спектральных характеристик, зарегистрированных до и после лечения [350]. В рамках одного из проспективных исследований продемонстрирована возможность интеграции интраоперационной спектроскопии КРС in vivo в хирургию рака головы и шеи, в результате чего были определены отчетливые спектральные различия между опухолевой и интактной тканью, что подтверждает применимость метода в клинической практике [125]. Помимо идентификации опухолевого процесса, использование СКР может быть информативно для анализа процесса рубцевания, что свидетельствует о ее перспективности для клинической оценки рубцовых изменений голосовых складок

[260]. Спектроскопия КРС/SERS (спектроскопия КР + ПУРС) обладает уникальным мощным потенциалом для обнаружения специфических молекул, которые могут стать бесценными биомаркерами рака [134]. Микрорамановская спектроскопия и инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (FT-IR) относятся к информативным методам неинвазивной диагностики рака полости рта и ротоглотки по образцам слюны, в то время как волоконно-оптическая СКРС позволяет не только выявлять опухолевые изменения, но и оценивать стадию заболевания, наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов и степень гистологической злокачественности новообразования [175]. Традиционные лабораторные методы диагностики характеризуются рядом существенных ограничений, к числу которых относятся вероятность перекрестных реакций, необходимость применения специфических реагентов и проведение многоэтапной пробоподготовки. В качестве перспективной альтернативы рассматриваются спектроскопические технологии, включая инфракрасную спектроскопию с преобразованием Фурье. Интеграция указанных методов с алгоритмами искусственного интеллекта продемонстрировала значительный потенциал для выявления и классификации вирусных заболеваний. Таким образом, применение спектроскопических методов в сочетании с интеллектуальным анализом данных не ограничивается диагностикой опухолевых процессов и может быть расширено для выявления инфекционно-воспалительных заболеваний [169]. В ранее проведенных исследованиях была продемонстрирована информативность применения микроспектроскопии КРС для проведения многоволновой диагностики и анализа молекулярного состава биомаркеров в тканях кожи и ЛОР-органов [91, 295, 296]. Метаболомика на основе данных методов может предоставить информацию о побочных эффектах лекарственных средств, прогнозировать ответ на лечение и предоставить ключевую информацию о механизмах действия лекарственных соединений [71]. СКРС применяется также и в других направлениях медицины, например, при идентификации биопленок и различных видов микроорганизмов [292]. Кроме того, с использованием данного метода изучаются биохимические параметры физиологического стресса некоторых

возбудителей заболеваний [285]. В современной биомедицине значительное внимание уделяется развитию омиксных технологий (от англ. «omics»), представляющих собой совокупность высокопроизводительных подходов к комплексному исследованию молекулярного состава биологических систем. Они обеспечивают системный анализ генетического материала, белков и низкомолекулярных метаболитов и включают в себя такие направления, как транскриптомика, геномика, протеомика и метаболомика. Интенсивное развитие омикс-подходов оказывает существенное влияние на формирование прецизионной медицины, ориентированной на учет индивидуальных молекулярных особенностей пациента, что может способствовать более детальному изучению молекулярных механизмов заболеваний, повышению точности диагностики и персонализации лечения [161]. СКРС в сочетании с метаболомическим анализом может применяться для мониторинга изменений ключевых метаболитов в качестве ранних предикторов ответа на химиотерапию [160]. Использование регрессионной модели, основанной на контролируемом машинном обучении, позволяет оценивать терапевтический ответ на новые комбинации лекарственных препаратов и выявлять характерные изменения клеточного метаболизма. Таким образом, интеграция СКРС, масс-спектрометрии и алгоритмов машинного обучения может рассматриваться как перспективный подход к оценке терапевтического ответа и персонализированному выбору лекарственного лечения [162]. Применение конфокальной рамановской спектроскопии, инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье в режиме нарушенного полного внутреннего отражения (ATR-FTIR), а также жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS) для исследования сыворотки крови представляет собой перспективный подход к диагностике акромегалии, синдрома Кушинга и аденом гипофиза путем проведения анализа сывороточных образцов и идентификации различных классов биологически значимых соединений, включая сфингозины, липиды, ацилкарнитины, аминокислоты, этаноламин, холин и их производные. В перспективе такие технологии могут повысить точность диагностики, оптимизировать тактику ведения пациентов и способствовать

улучшению качества их жизни [126]. Интеграция СКРС с метаболомным анализом расширяет возможности исследования молекулярной гетерогенности новообразования. Такой комплексный подход может способствовать неинвазивной диагностике, определению подтипа опухоли и последующему выбору персонализированного лечения [282]. Сочетание спектроскопического анализа с алгоритмами сверточных нейронных сетей позволяет идентифицировать типы продуцируемых токсинов и устанавливать спектральные признаки, ассоциированные с различными генотипами и фенотипами микроорганизма, и может рассматриваться как перспективный инструмент точной типизации токсинов и оценки вирулентных свойств бактериальных штаммов [312]. Применение метаболомического анализа в сочетании с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией и масс-спектрометрией ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (MALDI-FT-ICR-MS) представляет собой высокочувствительный подход к изучению аутоиммунных заболеваний на клеточном и молекулярном уровнях. Данный анализ позволяет выявить в пораженных участках специфический комплекс молекулярных биомаркеров, значительную часть которого составляют липиды [211]. Метаболомика обладает значительным потенциалом для раннего выявления и скрининга злокачественных новообразований. Вместе с тем ее широкое клиническое применение в качестве диагностического инструмента требует разработки высокочувствительных и воспроизводимых аналитических методов, эффективных для исследования сложных биологических жидкостей. Так, в рамках одного из исследований была разработана система экспресс-анализа мочи на основе поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии (ПУРС – Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, SERS). Как выяснилось, метаболиты в составе мочи отражают особенности метаболического фенотипа опухолевого процесса [286], с использованием SERS-анализа различных фракций мочи представляется возможным проводить неинвазивную идентификацию опухолевого процесса и дифференциацию новообразований по степени злокачественности [212]. СКРС, метаболомный анализ, флюоресцентная микроскопия и атомно-силовая микроскопия могут

применяться в совокупности для диагностики опухолевого процесса [130]. Флюоресцентная микроскопия применяется для оценки морфологических изменений в клетках, тогда как СКРС в сочетании с метаболомным анализом позволяет оценивать органеллоспецифические морфологические и биохимические изменения, возникающие в интактных и опухолевых клетках [131]. Микроспектроскопия КРС применяется для оценки мониторинга прогрессирования рака, метаболизма и молекулярных характеристик тканей при злокачественном перерождении клеток. Корреляция между информацией, полученной с помощью различных методов анализа, является ценным инструментом для врачей и ученых, помогая в понимании морфологии и биологии опухолевых клеток и раскрытии механизмов, лежащих в основе прогрессирования рака [222]. Безмаркерная многомодальная платформа нелинейной оптической микроскопии, интегрированная с усовершенствованной системой обработки изображений, применяется для одновременного картирования клеточного метаболизма и распределения миелина в органотипических культурах мозжечка, что является информативным при изучении механизмов нейровоспаления, демиелинизации и нейродегенеративных процессов [120]. Поиск недорогого, быстрого и минимально инвазивного теста ознаменовал новую эру исследований и технологических разработок, направленных на создание биомаркеров, например, при болезни Альцгеймера, на основе анализа образцов крови с использованием молекулярной флюоресцентной спектроскопии [170]. В свою очередь, рамановская проточная цитометрия представляет собой современный аналитический метод, объединяющий микрофлюидную проточную систему и СКРС; совершенствование данного метода имеет существенное значение для анализа клеточного состава и особенно перспективно в области развития метаболомики [348]. Использование указанных выше технологий позволяет проводить исследования биологических объектов как ex vivo, так и in vivo. Выявление специфических изменений спектров КРС при различной патологии создает предпосылки для определения молекулярных признаков заболеваний и разработки новых методов медицинской диагностики [289].

1.7. Диагностические возможности метода

Спектроскопия относится к быстрым, не требующим использования дополнительных реактивов, неразрушающим аналитическим методам, и может быть использована в диагностике рака, в том числе с проведением жидкостной биопсии, при этом оценивается уникальный химический состав различных биологических жидкостей [228]. В настоящее время развиваются смежные дисциплины в области наук о жизни. СКРСФ относится к такой области. Разработка биомедицинских датчиков и систем доставки лекарств и других устройств, которые объединяют инженерные и медицинские науки, способствует совершенствованию процессов в здравоохранении [342]. В настоящее время разрабатываются технологии, функционирующие с использованием СКРС в волоконно-оптических световодах и регистрацией индивидуальных характеристик биокомпонентов тканей. В частности, описано применение метода в диагностике рака носоглотки в режиме реального времени in vivo [269]. Помимо этого, СКРСФ эффективна в идентификации рака гортани [87, 360]. Хирургия с таргетным флюоресцентным сопровождением при опухолях головы и шеи у пациентов позволяет идентифицировать патологический процесс, определить границы его резекции [123]. Поскольку хирургическое вмешательство остается «золотым стандартом» в лечении плоскоклеточного рака головы и шеи на ранней стадии, становится актуальным вопрос проведения неинвазивного определения границ резекции тканей и дифференциации интактной ткани от опухолевой. Хирургия с флюоресцентной навигацией позволяет выполнить эту задачу и обеспечить щадящую резекцию опухоли, при этом возможны доставка флюоресцентных контрастных агентов и таргетирование опухоли (таргетная терапия) [167]. Определение краев резекции, использование флюоресцентных маркеров продемонстрировали высокий потенциал в интраоперационной визуализации [315]. Получение отрицательных краев резекции при первичной резекции опухоли играет важную роль для снижения частоты рецидивов и смертности от опухолевых заболеваний. В данном аспекте интерес представляет флюоресцентная визуализация. Исследование возможности анализа количества флюорофоров

необходимо для оптимизации результатов хирургического лечения и перехода к персонализированной терапии при раке органов головы и шеи [221]. Точное интраоперационное определение границ резекции опухоли имеет решающее значение для получения информации о радикальности проведенной операции и минимизации рецидивов заболевания при раке органов головы и шеи. Флюоресцентная визуализация позволяет проводить дифференциацию злокачественных и интактных тканей в режиме реального времени во время операции без необходимости использования контрастных веществ. При этом представляется возможным выявлять переходную зону и изменение метаболизма в данной области [205]. Использование тонкого волоконно-оптического игольчатого зонда позволяет более точно выполнить операцию [109]. Хирургия с флюоресцентным наведением позволяет повысить точность проведения хирургического вмешательства, снизить риск рецидива и улучшить долгосрочные результаты лечения рака [304, 310, 319]. При раке головы и шеи основным ограничением существующего интраоперационного анализа краев резекции является невозможность выявления анатомических зон, подлежащих резекции, путем стандартного осмотра. Данную проблему позволяет решить флюоресцентная молекулярная визуализация для точного определения края резекции в режиме реального времени [231]. Применение биомедицинских датчиков и систем доставки лекарств относится к актуальному направлению развития современного здравоохранения [342]. Использование СКРС в выявлении плоскоклеточного рака in vivo позволяет определить содержание нуклеиновых кислот, белков и ряда аминокислот, в сравнении с интактными тканями [303].

1.8. Метаболомика и СКРС

Спектроскопия и определение метаболомных маркеров заболевания относятся к важнейшим инструментам диагностики в современной науке и медицине [91]. СКРС позволяет точно дифференцировать опухолевые клетки от интактной ткани на основе их молекулярного состава [336]. В настоящее время спектральный анализ в корреляции с метаболомикой, машинным обучением и

искусственным интеллектом могут быть информативны для проведения дифференциальной диагностики опухолей. В данном аспекте ценность представляет собой КРС, которое в перспективе позволит определять биомаркеры опухолевого процесса [91]. При изучении методов микроспектроскопии КРС следует обратить внимание на разработку многоволновых методов диагностики с использованием СКРС с последующим определением молекулярного состава биомаркеров в тканях. Разработка многоволновых методов СКРС является универсальным неинвазивным инструментом для исследования рака и дифференциации его от интактной области [58, 295, 296]. Поверхностно-усиленное КРС (Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS), также обозначаемое как гигантское комбинационное рассеяние, обеспечивает значительное повышение интенсивности сигнала и может применяться как самостоятельно, так и в сочетании с другими аналитическими методами. Интеграция SERS с метаболомным анализом обеспечивает получение информации о механизмах действия лекарственных средств, возможных побочных эффектах и метаболических изменениях, возникающих в ответ на терапию [71]. СКРС позволяет идентифицировать не только морфометрические, но и физиологические параметры клеток, при этом применяется в детекции возбудителей воспалительных заболеваний, что актуально, в том числе, в оториноларингологии [285]. Интерес представляет собой развитие омикс-технологий в персонализированной медицине [54]. Так, СКРС можно рассматривать как инновационную омикс-технологию для исследования метаболитов биологических тканей, в том числе, при использовании наночастиц, что является полезным с идентификации биомаркеров in vivo. В данном случае применяются методы машинного обучения для обработки данных спектров СКРС [161]. Применение масс-спектрометрии и метаболомического анализа является актуальным в разработке быстрых и высокочувствительных диагностических инструментов, позволяющих на ранней стадии определить наличие опухолевого процесса. При этом возможно оценить изменения метаболизма липидов, нуклеиновых кислот и аминокислот, и таким образом оценить ответ опухоли на проведение терапии [160]. Использование масс-спектрометрии в сочетании с

определением метаболитов, в частности аминокислот, пуринов, никотината и никотинамида позволяют разработать метод, применимый для прогнозирования эффективности лекарственных препаратов для персонализированного лечения [162]. Инфракрасная спектроскопия и жидкостная хроматография-тандемная масс-спектрометрия (LC-MS/MS) в сочетании с метаболомным анализом тканей позволяют дифференцировать различные заболевания с высокими уровнями чувствительности, специфичности и точности [126]. СКРС позволяет выявить изменение в содержании нуклеиновых кислот, аминокислот, липидов и белков, в том числе, при ответе на применение лекарственного средства. Таким образом, представляется возможным идентифицировать метаболическое разнообразие подтипов опухоли и роль липидного метаболизма в ее прогрессировании и терапии [282]. Помимо идентификации опухолевых заболеваний, СКРС может быть эффективна в диагностике воспалительных заболеваний при определении их возбудителей и типов токсинов [312]. Так, метаболомика является мощным инструментом проведения ранней диагностики заболеваний. При этом могут анализироваться не только спектры тканей, но и биологических жидкостей пациентов [286]. Поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия (SERS) также может быть использована для анализа биологических жидкостей с целью идентификации патологии [212]. СКРС, метаболомный анализ, флюоресцентная микроскопия и атомно-силовая микроскопия позволяют в комбинации оценить индивидуальные изменения в ткани, происходящие при опухолевом процессе [130]. Линии КРС позволяют идентифицировать индивидуальные особенности эндоплазматического ретикулума, митохондрий, липидных капель и ядра. При этом определяется содержание белков, липидов и нуклеиновых кислот [131]. Для детального исследования свойств опухолевой ткани могут применяться конфокальная флюоресцентная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, цифровая голографическая микроскопия и масс-спектрометрическая визуализация. Каждый из указанных методов обладает специфическими преимуществами и позволяет получать взаимодополняющую информацию о структурных, биофизических, биохимических и метаболических характеристиках опухолевых

клеток. Такой комплексный подход способствует более глубокому пониманию морфологии и биологии злокачественных клеток, раскрытию механизмов опухолевой трасформации, а также разработке новых методов ранней диагностики и мониторинга течения онкологических заболеваний [222]. Безмаркерные многомодальные нелинейные оптические микроскопические платформы (Label-free multimodal NLO microscopy), интегрированные с усовершенствованной системой обработки изображений позволяют картировать особенности клеточного метаболизма. На практике может быть использована комбинированная технология микроскопии и двухфотонной флюоресцентной спектроскопии с определением биомаркера NAD(P)H для оценки окислительно-восстановительного состояния с разрешением на уровне отдельных клеток [120]. В свою очередь, СКРС может предоставить информацию, связанную с наличием специфических молекулярных особенностей компонентов тканей, что является мощным инструментом для проведения диагностики заболеваний. Данный метод применяется не только ex vivo, но и in vivo, при этом устанавливается корреляция между спектрами КРС и биомаркерами заболевания [289]. В последние годы изучается метаболомное профилирование с использованием вибрационной спектроскопии в сочетании с многомерной хемометрией. Так, ИК-спектроскопия, ИК-спектроскопия ближнего диапазона и спектроскопия КРС позволяют интерпретировать информацию о метаболомных маркерах [141].

1.9. Машинное обучение и искусственный интеллект

Использование машинного обучения и искусственного интеллекта является одним из наиболее интенсивно развивающихся междисциплинарных направлений [199, 207]. Оно объединяет широкий спектр технологий, включая глубокое обучение, компьютерное зрение, распознавание изображений, интеллектуальную обработку данных, робототехнику и методы взаимодействия человека с вычислительными системами [236]. В последние годы особое внимание уделяется алгоритмам глубокого обучения, продемонстрировавшим высокую эффективность при анализе медицинских изображений [251]. Их применение обеспечивает

автоматизированное выявление, извлечение и количественную оценку сложных диагностически значимых признаков, что способствует повышению точности, воспроизводимости и оперативности диагностического процесса. В настоящее время технологии искусственного интеллекта все активнее внедряются на различных этапах оказания медицинской помощи. Они используются для диагностики заболеваний, выбора тактики лечения, прогнозирования течения патологического процесса и оценки эффективности проводимой терапии. Одним из перспективных направлений является применение интеллектуальных алгоритмов в онкологии головы и шеи, где особое значение имеют высокая точность выявления изменений и объективность интерпретации результатов инструментальных исследований [259]. Несмотря на существенный прогресс в развитии технологий искусственного интеллекта, их широкое внедрение в клиническую практику по-прежнему ограничено рядом факторов. К числу основных проблем относятся недостаточная интерпретируемость результатов, получаемых отдельными моделями, необходимость обеспечения конфиденциальности и информационной безопасности медицинских данных, а также потребность в больших объемах информации для обучения, тестирования и внешней валидации алгоритмов. Вместе с тем дальнейшее совершенствование методов машинного обучения, расширение доступных медицинских баз данных и развитие вычислительных технологий позволяют рассматривать искусственный интеллект как одно из перспективных направлений повышения эффективности диагностики, лечения и прогнозирования рака [351], однако применение данных технологий требует детального рассмотрения с точки зрения этических, организационных и правовых аспектов, что отражено в соответствующих нормативно-правовых документах [32, 93, 94, 97, 98]. Машинное обучение и искусственный интеллект являются вспомогательным инструментом в клинической практике для обработки больших данных [145, 146, 241, 362], однако окончательную роль в постановке диагноза принимает врач на основании данных жалоб, анамнеза, осмотра, обследования. Диагностика in vivo и ex vivo является одним из важнейших компонентов проведения медицинских исследований, в том

числе при обнаружении свойств биологических образцов тканей и жидкостей. Обработка больших массивов данных с использованием искусственного интеллекта позволяет повысить точность и эффективность методики СКРС [148]. Подводя итог сказанному выше, следует отметить, что использование оптических технологий, в частности КРСФ является информативным в исследованиях ex vivo и in vivo при разработке специальных алгоритмов и перспективным в развитии омикс-технологий для ранней неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний, способствуя значительному повышению эффективности лечения и качества жизни пациентов.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ, ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объем исследования. Общая характеристика объектов исследования

Настоящее исследование было одобрено Независимым этическим комитетом на всех этапах его проведения (протокол № 3 заседания Комитета по этике РУДН от 10 марта 2026 г.). Результаты получены в соответствии с этическими стандартами, утвержденными действующей версией Хельсинской декларации.

Работа основана на проведении сравнительного анализа клинических, гистологических, спектроскопических и метаболомных характеристик тканей в норме и при патологии (морфометрических, метаболических и функциональных параметров) при опухолевых и воспалительных заболеваниях ЛОР-органов.

Концепция работы заключается в исследовании диапазона клинического применения метода СКРСФ для ранней неинвазивной идентификации воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием разработанных в ходе исследования дифференциально-диагностических алгоритмов. Гипотезой исследования явилось то, что метод СКРСФ может быть эффективным в идентификации патологии ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза в экспресс-режиме с высокими уровнями чувствительности и специфичности.

Объектом исследования являлись ткани пациентов с хроническими воспалительными и опухолевыми заболеваниями ЛОР-органов.

Предметом исследования являются уникальные спектроскопические характеристики тканей в норме и при патологии при оценке их путем проведения спектрального анализа (морфологических, метаболических, функциональных параметров) тканей, определенными в норме и при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов в сравнительном аспекте, сопоставленные с данными гистологического исследования.

Под термином «спектрально-метаболомный анализ» мы понимаем такой вид диагностики, при котором используются феномен КРСФ в сочетании с

определением биомаркеров заболевания. Он позволяет получить характеристики тканей на всех уровнях ее организации: метаболическом, морфологическом, функциональном с использованием эффектов КРСФ, обеспечивающих идентификацию специфичности процесса на уровне молекулярного ее строения.

Под «интактной тканью» мы подразумеваем ткань, не вовлеченную в патологический процесс [190], в данном случае – воспалительный, предопухолевый или опухолевый.

В настоящем исследовании к дифференциально-диагностическим критериям относится совокупность воспроизводимых спектральных признаков и правил классификации, позволяющих разграничить интактную ткань и ткань, волвеченную в воспалительный и опухолевый процесс при патологии ЛОР-органов. Количественными показателями спектрального анализа являются значения положения, интенсивности и отношения интенсивностей линий комбинационного рассеяния света, а также характеристики флюоресцентного сигнала и производные индексы его пространственной неоднородности.

Выбор метода СКРСФ в идентификации заболеваний ЛОР-органов обоснован необходимостью повышения скорости, чувствительности и специфичности с последующей одномоментной интерпретацией информативных критериев индивидуальных спектральных характеристик тканей в норме и при патологии. Для выявления и подтверждения диагностической информативности СКРСФ при воспалительном и опухолевом процессе при заболеваниях ЛОР-органов мы провели сравнительное исследование, проанализировав спектры тканей ЛОР-органов в норме и при воспалительном и опухолевом процессе аналогичной локализации. Для подтверждения клинических данных и соответствующих им спектральных характеристик мы использовали гистологический метод исследования.

В исследовании принимали участие пациенты в возрасте от 18 до 101 года в период с 2017 по 2026 годы со следующими заболеваниями/состояниями ЛОР-органов (органов головы и шеи): кисты околоносовых пазух, хронический риносинусит с формированием и без формирования полипов, плоскоклеточная

карцинома полости носа и околоносовых пазух, плоскоклеточная карцинома небных миндалин, хронический тонзиллит компенсированной и декомпенсированной формы и аденоидные вегетации (лимфоидная ткань небных миндалин и аденоидных вегетаций), хронический средний отит с формированием и без формирования холестеатомы, адгезивный отит, гломусная опухоль среднего уха, плоскоклеточная карцинома гортани, полипы гортани, плоскоклеточная карцинома носоглотки, базальноклеточная карцинома кожи и плоскоклеточная карцинома кожи области головы и шеи, метастазы плоскоклеточной карциномы в лимфатические узлы, плоскоклеточная карцинома слюнных желез, липома шеи, рак щитовидной железы и другие (приложение А). При этом измерения проводились в 10-20 точках исследуемой области в зависимости от однородности ткани, которая маркировалась перед проведением гистологического исследования. Сравнение в каждом исследуемом случае проводилось с интактной слизистой оболочкой аналогичной локализации, окружающей ткань, вовлеченную в патологический процесс (опухолевый или воспалительный). Нормирование спектральных показателей проводилось относительно собственной интактной ткани того же пациента; таким образом, интактная ткань являлась внутрипарным контролем, а не независимой демографической группой. Также проводилось сравнение классов тканей аналогичной анатомической локализации для выявления наиболее информативных линий КРС в качестве дифференциально-диагностических показателей.

Обследование и лечение пациентов проводилось согласно клиническим рекомендациям [5, 62] и не влияло на оказание медицинской помощи пациентам. В соответствии с концепцией, дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Распределение пациентов в зависимости от клинического и гистологического диагноза, статистическая оценка сопоставимости клинически сравниваемых групп по полу и возрасту, попарная проверка сопоставимости нозологий по полу и возрасту представлены в таблице 1 и в приложении А.

Для демографической стратификации в настоящем статистическом разделе использованы возрастные периоды: 18-44 года, 45-59 лет, 60-74 года, 75-89 лет, 90

лет и старше. Все сравниваемые нозологические формы не имели достоверных статистически значимых различий по полу и возрасту как при сравнении их между собой, так и при попарном сравнении интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс при заболеваниях ЛОР-органов.

Распределение по возрасту проводилось в соответствии с классификацией ВОЗ: 18-44, 45-59, 60-74, 75–89 и ≥90 лет. Объединенный класс N=775 представляет собой группу лимфоидной ткани миндалин, которая сравнивалась с тканью плоскоклеточной карциномы носоглотки. Под интактной слизистой оболочкой/кожей мы подразумеваем собственную интактную ткань пациента, которая применялась как парный контроль и для нормирования спектральных показателей; повторно в общее количество наблюдений N она не включалась.

Условные обозначения, примененные в приложении А: OR – отношение шансов принадлежности к мужскому полу в первой группе относительно второй; 95% ДИ – 95% доверительный интервал; χ^2 – критерий Пирсона; V Крамера – размер эффекта для категориальных признаков; pHolm – p после коррекции Holm внутри соответствующего блока множественных попарных сравнений. Для оценки сопоставимости по возрасту последний анализировался по 5 периодам. Критический уровень статистической значимости – 0,05. Указанные в таблице 1 нозологии сравнивались следующим образом: статистической единицей демографического анализа являлся пациент. Для сравнения распределения по полу применяли критерий χ^2 Пирсона с расчетом V Крамера; при попарном анализе дополнительно рассчитывали отношение шансов (OR) принадлежности к мужскому полу с 95% ДИ. Возраст для данного анализа был переведен в 5 категорий по ВОЗ (18-44, 45-59, 60-74, 75-89, ≥90 лет) и сравнивался между независимыми нозологическими группами критерием χ^2 Пирсона с расчетом V Крамера. Для множественных попарных сравнений использовалась коррекция Holm.

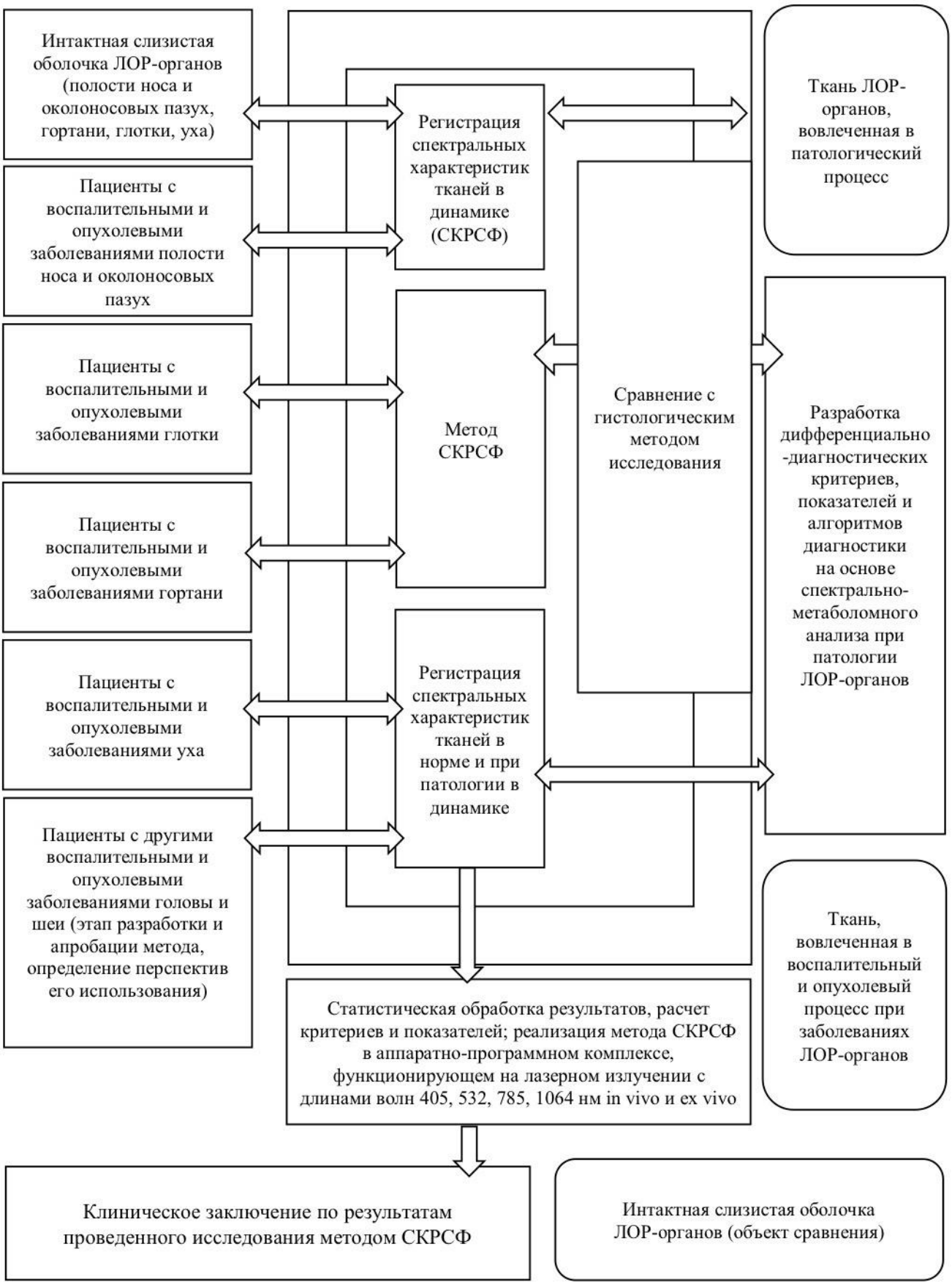

Рисунок 1 – Концепция и дизайн исследования

Таблица 1 – Распределение по диагнозу, полу и возрасту с 95% доверительными интервалами (половозрастные показатели внутри различных нозологий)

Диагноз	N	Мужчины, n (%)	Женщины, n (%)	Возраст, M ± SD; SE, лет	95% ДИ среднего возраста, лет
Кисты околоносовых пазух	558	259 (46,4%)	299 (53,6%)	53,8 ± 14,6; SE=0,619	52,61–55,04
Хронический риносинусит без формирования полипов (ХР)	571	253 (44,3%)	318 (55,7%)	54,2 ± 14,5; SE=0,607	53,01–55,40
Хронический риносинусит с формированием полипов (ПР)	664	321 (48,3%)	343 (51,7%)	54,5 ± 14,3; SE=0,556	53,43–55,62
Плоскоклеточная карцинома (ПК) полости носа и околоносовых пазух	288	142 (49,3%)	146 (50,7%)	54,9 ± 14,2; SE=0,837	53,22–56,51
Плоскоклеточная карцинома (ПК) небных миндалин	272	135 (49,6%)	137 (50,4%)	54,8 ± 14,2; SE=0,860	53,13–56,52
Лимфоидная ткань миндалин	775	339 (43,7%)	436 (56,3%)	53,9 ± 14,6; SE=0,524	52,83–54,89
Хронический средний отит с формированием холестеатомы (ХСО ХС)	137	65 (47,4%)	72 (52,6%)	54,1 ± 14,6; SE=1,244	51,66–56,58
Хронический средний отит без формирования холестеатомы (ХСО)	129	60 (46,5%)	69 (53,5%)	54,1 ± 14,4; SE=1,270	51,60–56,63
Адгезивный отит	131	60 (45,8%)	71 (54,2%)	54,7 ± 14,5; SE=1,263	52,20–57,20
Гломусная опухоль среднего уха	75	32 (42,7%)	43 (57,3%)	55,1 ± 14,3; SE=1,652	51,79–58,37
Плоскоклеточная карцинома (ПК) гортани	149	74 (49,7%)	75 (50,3%)	54,9 ± 14,1; SE=1,158	52,61–57,19
Полипы гортани	131	64 (48,9%)	67 (51,1%)	54,4 ± 14,6; SE=1,272	51,91–56,94
Плоскоклеточная карцинома (ПК) носоглотки	109	54 (49,5%)	55 (50,5%)	54,7 ± 14,2; SE=1,359	52,00–57,39
Метастазы плоскоклеточной карциномы в лимфатические узлы	89	44 (49,4%)	45 (50,6%)	54,7 ± 14,2; SE=1,500	51,75–57,71
Плоскоклеточная карцинома слюнных желез	112	55 (49,1%)	57 (50,9%)	55,0 ± 14,3; SE=1,349	52,35–57,70

Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Проведенные ранее исследования [56-59] показали, что спектры тканей ЛОР-органов при отсутствии заболевания существенно отличаются, однако различия спектра тканей с разных точек одного и того же органа достаточно близки. Соответственно, в

качестве основы для проведения дифференциальной диагностики взято различие спектров ткани в области, вовлеченной в патологический процесс и не затронутой им (интактной) в аналогичной анатомической локализации.

Также при проведении исследований [56-59] было отмечено, что линии КРС, полученные ex vivo и in vivo, не меняли значительно своего положения, что явилось важным аспектом при разработке комбинированной методики экспресс-диагностики патологии ЛОР-органов и использовании различных модификаций метода. Нозологии сравнивались внутри клинически и анатомически обоснованных блоков: кисты околоносовых пазух с хроническим риносинуситом с формированием полипов и хроническим риносинуситом без формирования полипов, а также с плоскоклеточной карциномой полости носа и околоносовых пазух; плоскоклеточная карцинома небных миндалин сравнивалась с хроническим тонзиллитом компенсированной и декомпенсированной формы; хронический средний отит с формированием холестеатомы – с хроническим средним отитом без формирования холестеатомы, адгезивным отитом и гломусной опухолью среднего уха; плоскоклеточная карцинома гортани – с полипами гортани; плоскоклеточная карцинома носоглотки – с группой «лимфоидная ткань миндалин»; базальноклеточная карцинома кожи кожи наружного уха и наружного носа – с плоскоклеточной карциномой кожи аналогичной локализации. Группа метастазов плоскоклеточной карциномы в лимфатические узлы была сформирована преимущественно за счет метастазирования плоскоклеточной карциномы небных миндалин; в отдельном исследовательском блоке данная группа сопоставлялась с группой плоскоклеточной карциномы слюнных желез на этапе отработки методики и определения перспектив развития метода. Для каждой ткани нормирование выполнялось относительно собственной интактной ткани того же пациента соответствующей анатомической локализации.

Количество обследованных пациентов превышало минимальный объем выборки, рассчитанный по следующей формуле:

$$n_{\text{бол}} = \frac{Z^2_{1-\frac{\alpha}{2}} \times Se \times (1-Se)}{d^2_{Se}}, \quad (1)$$

где $n_{бол}$ – необходимое число пациентов;

S_e – ожидаемая чувствительность;

d_{Se} – допустимая абсолютная погрешность оценки чувствительности;

$Z_{1-\alpha/2}$ – квантиль нормального распределения при $p<0,05$, $Z_{0,975}=1,96$.

Различий по полу в сравниваемых группах не выявлено: $\chi^2=9,2874$; df=16; p=0,901; V Крамера=0,0443; по возрастным периодам: $\chi^2=20,7690$; df=64; p=1,000; V Крамера=0,0332. Внутри клинических блоков для пола $p\geq0,244$, для возрастных категорий $p\geq0,903$; размеры эффекта оставались малыми или пренебрежимо малыми. Следовательно, выборки демографически сопоставимы по полу и возрасту.

$$n = \frac{\left(Z_{1-\alpha/2}+Z_{1-\beta}\right)^2 \sigma_d^2}{\Delta_d^2}, \qquad (2)$$

где σ_d – стандартное отклонение внутрипарных различий;

Δ_d – минимальное клинически значимое различие; $1-\beta=0,90$;

n – необходимое количество парных наблюдений, то есть количество пациентов, у каждого из которых исследуются два связанных измерения;

$Z_{1-\alpha/2}$ – критическое значение стандартного нормального распределения для выбранного двустороннего уровня значимости;

α – вероятность ошибки первого рода; при $\alpha=0,05$: $Z1-\alpha/2=Z_{0,975} = 1,96$;

$Z_{1-\beta}$ – критическое значение стандартного нормального распределения, соответствующее заданной статистической мощности;

β – вероятность ошибки второго рода;

$1-\beta$ – статистическая мощность исследования; при мощности 90%: $\beta=0,10$, $Z_{1-\beta} = Z_{0,90} = 1,282$;

σ_d – стандартное отклонение внутрипарных различий между двумя связанными измерениями;

σ^2_d – дисперсия внутрипарных различий;

Δ_d – минимально клинически или биологически значимое среднее различие между парными измерениями; индекс d («difference») – это разность внутри каждой пары. В отношении каждого пациента d=разность определяется как

di= X_i, патология – Xi, норма, di – индивидуальная разность у i-го пациента; Xi, патология – значение спектрального показателя в ткани, вовлеченной в патологический процесс; Xi, норма – значение того же показателя в интактной слизистой оболочке аналогичной локализации; i – номер наблюдения (пациент). X_i, патология – значение выбранного спектрального показателя в ткани, вовлеченной в патологический процесс у i-го пациента; X_i, норма – значение того же показателя в интактной ткани сопоставимой анатомической локализации у того же пациента; i – номер пациента (пары).

Среднее внутрипарное различие рассчитывается по формуле:

$$\bar{d} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} d_i\,, \qquad (3)$$

где $\bar{d}$ – средняя разность парных измерений;

d_i – индивидуальная разность (сдвиг) показателей для каждого i-го субъекта исследования;

n – общее число парных наблюдений.

В ходе исследования применялся метод СКРСФ ex vivo и in vivo, проводилась сравнительная оценка спектральных характеристик тканей ЛОР-органов в норме и у пациентов с воспалительными и опухолевыми заболеваниями аналогичной локализации (приложение А).

В проведенном исследовании мы оценивали чувствительность и специфичность метода с целью выяснения диапазона его клинического применения, а также перспектив использования в клинике в качестве диагностического.

2.2. Этапы выполнения исследования

В соответствии с целью и задачами исследования, была проведена комплексная диагностика пациентов с различными воспалительными и опухолевыми заболеваниями ЛОР-органов и других органов головы и шеи (приложение А).

Основными этапами работы для обоснования применения метода СКРСФ и определения его диагностических возможностей в клинической оториноларингологической практике были следующие:

1) разработка и апробация методологии для проведения дифференциальной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи (ЛОР-органов);

2) подбор оптимальных параметров проведения методики измерений при регистрации спектральных характеристик при патологии ЛОР-органов, подбор параметров методологии;

3) регистрация спектров интактной ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный или опухолевый процесс при патологии ЛОР-органов ex vivo с использованием длин волн лазерного излучения: 405, 532, 785, 1064 нм с пробоподготовкой и без нее;

4) регистрация спектральных характеристик интактной ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный и опухолевый процесс при патологии ЛОР-органов in vivo с использованием длин волн лазерного излучения: 405, 532, 785, 1064 нм;

5) сравнительный анализ спектров КРСФ тканей ЛОР-органов при воспалительных и опухолевых заболеваниях;

6) оценка морфометрических, метаболических, функциональных характеристик тканей ЛОР-органов в норме и при патологии с использованием СКРСФ и гистологического метода исследования с последующим определением биомаркеров заболевания;

7) разработка методики дифференциальной диагностики заболеваний ЛОР-органов на основе многофакторного анализа;

8) оценка возможности и диапазона клинического применения метода СКРСФ для проведения экспресс-диагностики заболеваний ЛОР-органов;

9) обоснование возможности и перспектив применения СКРСФ в экспресс-диагностике заболеваний ЛОР-органов и другой патологии головы и шеи.

Все пациенты были обследованы с использованием общеклинических методов, включающих в себя сбор анамнеза, осмотр (мезофарингоскопия,

отоскопия, передняя и задняя риноскопия, непрямая ларингоскопия), пальпацию регионарных лимфатических узлов, проведение эндоскопического исследования носоглотки и гортани, при необходимости – аудиометрии, тимпанометрии, компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии, ультразвукового и других видов исследования, включая иммуногистохимический и гистологический методы.

Критерии включения и исключения из исследования. Критериями исключения из исследования были тяжелые соматические и психические заболевания, отказ от участия в исследовании, детский возраст (до 18 лет), беременные женщины, пациенты в коморбидном состоянии, ввиду сложности участия в исследовании; наличие острой патологии на момент осмотра и проведения исследования.

Критериями включения были возраст пациентов 18 лет и старше, отсутствие тяжелых соматических и психических заболеваний, отсутствие беременности и коморбидного состояния, информированное добровольное согласие на участие в исследовании, отсутствие предшествовавших хирургических вмешательств, отсутствие острой патологии на момент осмотра и проведения исследования.

При объективном осмотре у пациентов всех групп общее состояние было удовлетворительным. У каждого из исследуемых пациентов были показания к проведению хирургического лечения (удалению новообразования, тонзиллэктомии, эндоскопической операции в проекции околоносовых пазух, расширенной лимфодиссекции и др.), а также отсутствовали противопоказания к проведению данных видов лечения. Оказание медицинской помощи данным пациентам проводилось в соответствии с клиническими рекомендациями, стандартами и порядками оказания медицинской помощи Министерства здравоохранения Российской Федерации. Проведение исследования никак не влияло на этапы оказания медицинской помощи пациентам.

2.3. Характеристики используемых аппаратно-программных комплексов и клиническое применение информативных показателей метода СКРСФ

2.3.1. Алгоритмы и методы исследования при использовании СКРСФ

На начальном этапе проводились разработка и апробация методики. В серии экспериментов при регистрации спектров образцов интактной кожи наружного слухового прохода и наружного носа и опухолей данной локализации (базальноклеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы) были получены спектроскопические параметры тканей, индивидуальные линии комбинационного рассеяния света в норме и при патологии в корреляции с метаболомными их маркерами [295].

На следующих этапах работы после отработки методики была проведена серия экспериментов in vivo и ex vivo, исследовались ткани в норме и при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов и других органов головы и шеи непосредственно после проведения хирургического вмешательства, а также на свежезамороженных образцах и образцах в 10%-ном растворе формалина, которые хранились в герметично закрытых кюветах. Размер исследуемых фрагментов ткани варьировал от 2 до 7 мм. Перед проведением измерений образцы размораживали при комнатной температуре, составлявшей 25 °C, после чего помещали их в чашки Петри, содержащие изотонический раствор хлорида натрия. Регистрацию спектров проводили при длинах волн возбуждающего излучения 532, 785 и 1064 нм с использованием конфокального микроскопа-спектрометра Renishaw inVia Basis (inVia InSpect, Renishaw, UK) с мощностью лазерного излучения в плоскости образца 45 мВт, продолжительностью регистрации спектра – 20 секунд, объективом N Plan 50/0.50 и увеличением 50× (Leica, Wetzlar, Germany), а также с помощью конфокального микроскопа-спектрометра Confotec MR520 (SOL instruments, Минск, Беларусь) мощностью лазерного излучения 20 мВт, продолжительностью накопления сигнала – 2 секунды, объективом MPlanFL с увеличением 40× и числовой апертурой 0,75 (Nikon, Tokyo, Japan) для фокусировки излучения. Согласно техническим характеристикам, указанным

производителями оборудования, поперечное оптическое разрешение при выбранных параметрах измерения составляло менее 1 мкм, а продольное – менее 10 мкм. Спектральное разрешение обоих спектрометров находилось в диапазоне 1-1,5 $см^{-1}$ [90, 295, 296]. Для каждого образца при комнатной температуре и стандартизированных условиях регистрировали от 10 до 20 спектров в различных точках его поверхности. На основании полученных данных были сформированы два самостоятельных набора спектров, зарегистрированных при длинах волн возбуждения 532 и 785 нм. Был создан объединенный набор данных 532+785 нм, включавший одинаковое количество парных спектров, полученных на 2 длинах волн возбуждения [295, 296]. Для коррекции базовой линии и устранения фонового сигнала, обусловленного флюоресценцией тканей, применяли Ванкуверский алгоритм для обработки спектров комбинационного рассеяния света [239], основанный на модифицированной многополиномиальной аппроксимации базовой линии. Снижение уровня спектрального шума выполняли с использованием фильтра Савицкого – Голея. Последующий анализ проводили в двух диапазонах волновых чисел: от 900 до 1800 $см^{-1}$ и от 2800 до 3100 $см^{-1}$ [295, 296]. Серию экспериментов in vivo и ex vivo при различных заболеваниях головы и шеи проводили для оценки межгрупповых спектральных различий и индивидуальных изменений, происходящих в исследуемых тканях. С данной целью применяли метод СКРСФ, основанный на одновременной регистрации эффектов КРСФ. Исследования проводили также с использованием аппаратно-программных комплексов, функционирующих с использованием оптоволоконного световода для проведения измерений in vivo, при этом система для регистрации сигналов флюоресценции и КРС включала в себя твердотельный лазер Nd (2ω), обеспечивающий возбуждение на длинах волн 405, 532, 785 и 1064 нм, оптическую систему фокусировки и спектральной фильтрации сигнала, спектрометр с дифракционной решеткой 1200 штрихов/мм и спектральным разрешением 4 $см^{-1}$, CCD-матрицу, контроллер, а также компьютер с программным обеспечением для регистрации и обработки спектров [56-59]. Аппаратно-программные комплексы, использованные в работе, представлены в приложении А. Для оценки

воспроизводимости выявляемых спектральных характеристик измерения выполняли в нескольких точках (от 10 до 20) каждого исследуемого образца. С целью уменьшения погрешности измерений использовали объектив с десятикратным увеличением, обеспечивающий фокусировку лазерного излучения в пятно диаметром около 10 мкм. Размер пятна был сопоставим с микроскопическими структурными характеристиками исследуемых тканей, что позволяло получать интегральную спектроскопическую картинку анализируемого участка. Мощность лазерного излучения составляла 10 мВт, продолжительность экспозиции при регистрации одного спектра – 1 секунда. Для эффективного подавления шумов считывания каждый спектр регистрировали с 20-кратным усреднением. Методика исследования проводилась контактным стабильным способом путем регистрации спектральных характеристик тканей в норме и при патологии с использованием оптоволоконного световода. Измерения выполняли при отсутствии внешнего освещения. Перед каждым измерением проводилась дезинфекция световода раствором антисептика для обработки оптоволоконной техники. В качестве интактной области была исследована слизистая оболочка соответствующей анатомической локализации: полости носа, околоносовых пазух, носоглотки, небных миндалин, гортани, уха и др. Установлено, что относительные параметры, включая нормированные показатели флюоресценции и индексы аэробности, в пределах одной анатомической области характеризовались сопоставимыми значениями, тогда как абсолютная интенсивность флюоресценции могла существенно различаться. В связи с этим в работе преимущественно использовали относительные спектральные индексы, позволяющие обосновать возможность применения метода СКРСФ для проведения дифференциальной диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов [56, 59]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что при возбуждении тканей ЛОР-органов (органов головы и шеи) лазерным излучением с длинами волн 405, 532, 785 и 1064 нм наиболее информативными для дифференциальной диагностики являлись спектральные данные, полученные при использовании длин волн 532 и 785 нм [56-59, 295, 296]. Вместе с тем применение лазерного излучения с другими

длинами волн позволяло получать дополнительные диагностически значимые параметры [58]. Измерения проводились как ex vivo на биопсийном материале, так и in vivo на стадии апробации методики. Результаты спектроскопического исследования в каждом клиническом случае сопоставлялись с гистологическим исследованием. Кроме того, в работе применяли ряд расчетных критериев и спектральных индексов с их интерпретацией в ходе проведенного спектрально-метаболомного анализа [56-59]. В программное обеспечение закладывались референсные значения и числовые параметры, характерные для патологии. Диагностический анализ был основан на выявлении набора уникальных линий комбинационного рассеяния света, характеризующих состав ткани в норме и при патологии. Дифференциация тканей достигалась за счет использования статистического анализа, включая методы машинного обучения. Анализировались характерные линии комбинационного рассеяния, позволяющие идентифицировать биомаркеры при патологии ЛОР-органов.

2.3.2. Подбор оптимальных параметров измерений при использовании СКРСФ в диагностике заболеваний ЛОР-органов

На первом этапе исследований был разработан и апробирован метод экспресс-диагностики заболеваний ЛОР-органов (органов головы и шеи). Была проведена серия экспериментов для выбора наиболее рациональной тактики измерений при использовании СКРС в диагностике заболеваний ЛОР-органов [92]. Измерения выполнялись с поверхности образцов интактной слизистой оболочки околоносовых пазух, глотки, гортани, уха, спектральные данные обрабатывались с использованием фильтра Савицкого – Голея, метода главных компонент, частичных наименьших квадратов и линейного дискриминантного анализа; дополнительно определяли наиболее информативные полосы КРС в корреляции с метаболомными маркерами тканей. На первом этапе спектры регистрировались с поверхности образцов, заключенных в парафиновые блоки; на втором этапе – на кварцевых стеклах; на третьем этапе спектры были зарегистрированы с поверхности криосрезов на стеклах с алюминиевым напылением; на четвертом

этапе были проведены измерения ex vivo с поверхности нативного материала, помещенного в формалин; на пятом этапе были сняты спектры с поверхности нативного материала, без специальной обработки и использования дополнительных химических веществ, на шестом этапе проводилась регистрация спектров с поверхности тканей ЛОР-органов in vivo [56-59, 92]. Спектры при различных заболеваниях ЛОР-органов сравнивались с интактными тканями аналогичной локализации. Были определены на каждом из этапов характерные спектральные особенности и выделены наиболее информативные полосы КРС, различавшиеся между исследуемыми группами и обеспечивавшие их дифференциацию. Наиболее информативными были данные, полученные на пятом этапе исследования, когда измерения проводились с поверхности нативного материала, а также путем проведения измерений in vivo. Для усиления сигнала при проведении исследований ex vivo применялись SERS-технологии (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy – поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия). Панель чувствительных маркеров, связанных с воспалением или опухолевым процессом при заболеваниях ЛОР-органов, применялась в качестве диагностического критерия при регистрации методом КРС. Такой подход применим для определения границ резекции ткани, вовлеченной в патологический процесс, и классификации тканей по их спектральным признакам. При подборе экспериментальных условий для разработки метода диагностики патологии ЛОР-органов на основе СКРСФ методика была отработана при различных заболеваниях головы и шеи (ЛОР-органов). В исследовании сопоставлялись спектры слизистой оболочки ЛОР-органов при воспалительных и опухолевых заболеваниях (приложение А). В частности, проводился сравнительный анализ спектров интактной слизистой оболочки околоносовых пазух и слизистой оболочки, вовлеченной в воспалительный процесс при хроническом риносинусите. На первом этапе исследования при разработке и апробации метода в первую группу были включены спектры слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов после фиксации образцов в парафиновом блоке; во 2 группу – спектры аналогичной ткани, зафиксированной в геле при

криотомии; в группу 3 – спектры нативной слизистой оболочки при хроническом риносинусите; в группу 4 – спектры интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух (нативный материал). Для последующего вычитания фонового сигнала отдельно регистрировались спектры криогеля и парафина. Нативный материал был получен интраоперационно. Спектры образцов регистрировались ex vivo в течение 1,5 часа после забора, после чего ткань помещали в 10%-ный раствор формалина [92]. Согласно ранее полученным данным, формалиновая фиксация образцов сопровождалась изменениями интенсивности и соотношений отдельных полос КРС при сохранении основных характеристических спектральных полос, при этом спектры сохраняли диагностически значимую информацию, позволяющую проводить дифференциацию исследуемых нозологий [56-59]. Для исследования криосрезов материал фиксировали в криогеле на поверхности алюминиевой подложки (стекла со специальным напылением), предназначенной для уменьшения искажения спектрального сигнала. После фиксации в 10%-ном растворе формалина образцы слизистой оболочки при хроническом риносинусите подвергали стандартной гистологической обработке с последующей заливкой в парафиновые блоки. Для изготовления парафиновых срезов толщиной 0,5-10 мкм материал обрабатывался по стандартной методике с использованием спирта и ксилола, инфильтрировался парафином, заливался в блок и хранился в холодильнике. Таким образом, результаты спектроскопии сопоставлялись с данными гистологического исследования; при морфологической оценке маркировались участки слизистой оболочки, вовлеченные в хронический воспалительный процесс, и фрагменты интактной ткани [92]. Полученные спектры ткани при хроническом риносинусите в парафиновых блоках, в криогеле, в растворе формалина, а также спектры нативной ткани слизистой оболочки околоносовых пазух в норме и при хроническом риносинусите были обработаны методами Савицкого – Голея, линейного дискриминантного анализа, метода главных компонент, частичных наименьших квадратов. Криосрезы готовились в фиксирующем геле на стекле с алюминиевым напылением. Образцы, предварительно фиксированные в 10%-ном

растворе формалина, изготавливались с использованием криотома, а неокрашенные срезы размещались на стеклах с подготовленной поверхностью. Кварцевые стекла также использовались как подложки для измерений после стандартной фиксации и гистологической проводки материала [92]. Спектры регистрировались методом конфокальной микроспектроскопии КРС с длинами волн лазерного излучения 405, 532, 785, 1064 нм. Для каждого образца измерения выполняли в 10-20 точках. В ходе исследования определялись наиболее информативные линии КРС, отражающие особенности исследуемой ткани. Сравнение осуществлялось по усредненным спектрам и характерным для нормы и патологии линиям комбинационного рассеяния света. Клинический диагноз во всех случаях подтверждался гистологическим методом диагностики.

Таким образом, разработка подхода к экспресс-диагностике заболеваний ЛОР-органов с использованием СКРС выполнялась последовательно. Помимо анализа морфологического строения тканей важно оценить вклад микробной составляющей, в частности, каждый микроорганизм имеет свой набор спектральных характеристик, соответственно, для демонстрации возможного клинического применения метода СКРСФ в диагностике воспалительных заболеваний с определением этиологического фактора инфекционного заболевания, была проведена серия экспериментов по определению некоторых видов возбудителей воспалительных заболеваний. Также рассчитывались индексы аэробности и нормированные показатели флюоресценции в отношении некоторых видов возбудителей для оценки вклада флюоресцентной и микробной составляющих спектра. Особое значение имеет возможность интерпретации спектра и вклада в него эффекта флюоресценции [1, 12, 33]. В данном случае информативным является определение сигнала на длине волны зондирования, на длине волны флюоресценции, спектральной полуширины флюоресценции, интенсивности флюоресценции на длине волны 665 нм, интенсивности флюоресценции на длине волны 700 нм, максимальной амплитуды мощности флюоресценции, интегральной интенсивности флюоресценции в относительных единицах, S1/S2-коэффициента, равного отношению интенсивности

флюоресценции на длине волны 665 нм к интенсивности флюоресценции на длине волны 700 нм, спектральной полуширины флюоресценции и др. [1].

2.3.3. Информативные показатели, используемые при оценке спектральных характеристик тканей ЛОР-органов, и их клиническое применение

В качестве интактной точки (ИТ) нами была выбрана слизистая оболочка ЛОР-органов, не вовлеченная в воспалительный, опухолевый или предопухолевый процесс. При регистрации спектров с выраженным сигналом флюоресценции проводился расчет таких показателей как нормированный показатель флюоресценции и индекс аэробности [1, 57, 59]. Если обозначить регистрируемый с поверхности биологического объекта спектр функцией интенсивности от длины волны F = F(x), то интегральный индекс флюоресценции (по всему спектральному диапазону) для функции Intact (интактная точка) будет рассчитываться следующим образом: спектральную зависимость интенсивности регистрируемого сигнала от длины волны x представляли в виде функции:

$$F=F(x) \tag{4}$$

Для количественной характеристики суммарного флюоресцентного сигнала во всем исследуемом спектральном диапазоне рассчитывали интегральные показатели для функций *Intact* и *P1*:

$$I_{\text{Int}} = \int_{x_1}^{x_2} \text{Intact}(x)\, dx \tag{5}$$

$$I_1 = \int_{x_1}^{x_2} P1(x)\, dx \tag{6}$$

Обозначение *Intact* соответствовало референтной интактной точке, в качестве которой использовали интактную слизистую оболочку ЛОР-органов. *P1, P2, P3* – точки 1, 2, 3, соответственно; x_1 и x_2 – нижний и верхний предел интегрирования, соответственно.

Указанные функции и соответствующие алгоритмы расчета были реализованы в программном обеспечении аппаратно-программных комплексов, применяемых в рамках описываемого метода (приложение А). Для сопоставления флюоресцентных характеристик различных тканей рассчитывались

нормированные индексы, представляющие собой отношение интегрального показателя флюоресценции в исследуемой точке к соответствующему показателю в референтной интактной точке:

$$I_{P1} = \frac{\int_{x_1}^{x_2} P1(x)\,dx}{\int_{x_1}^{x_2} \mathrm{Intact}(x)\,dx} \quad (7)$$

$$I_{P2} = \frac{\int_{x_1}^{x_2} P2\,(x)\,dx}{\int_{x_1}^{x_2} \mathrm{Intact}(x)\,dx} \quad (8)$$

$$I_{P3} = \frac{\int_{x_1}^{x_2} \mathrm{P3}\,(x)\,dx}{\int_{x_1}^{x_2} \mathrm{Intact}(x)\,dx} \quad (9)$$

В рамках применяемой методики индекс структурированности ткани (ИСТ) использовался для количественной оценки пространственной однородности флюоресцентных характеристик исследуемых тканей. Для расчета показателя определяли среднее арифметическое значение интегральной интенсивности флюоресценции по всем исследованным точкам, после чего рассчитывались отклонения индивидуальных значений от полученного среднего значения. Значение ИСТ, не превышающее 5%, рассматривали как признак высокой однородности флюоресцентных характеристик ткани, преимущественно наблюдаемой в интактной области. Превышение указанного порогового значения интерпретировалось как увеличение пространственной неоднородности флюоресценции, потенциально связанное с патологическим процессом [59]. Индекс метаболизма характеризует активность биохимических процессов в исследуемой ткани, соответственно, необходимо оценивать вклад каждого биохимического вещества в общий спектр. Различия между интактной тканью и тканью, вовлеченной в воспалительный процесс, оценивались с учетом качественных и количественных особенностей состава тканей; расчет соответствующих параметров осуществлялся средствами используемого программного обеспечения [1, 56-59]. Комплексная оценка перечисленных

индексов позволила охарактеризовать физиологические, морфометрические и метаболические изменения ткани в норме и при патологии. Поскольку интервалы 665-675 и 685-695 нм относятся к спектральной области порфиринов, а протопорфирин IX и другие порфириновые соединения характеризуются аутофлюоресценцией, особое внимание уделялось эмиссионным максимумам: основному в области 630-635 нм и второму, менее интенсивному, в области около 700 нм. При этом точное положение второй полосы может варьировать в зависимости от условий регистрации и микроокружения молекулы. Данное отношение отражает изменения порфиринового профиля. В числителе оценивается более коротковолновая часть красного спектрального диапазона, а в знаменателе – более длинноволновая область, расположенная ближе ко второму эмиссионному компоненту протопорфирина IX около 700 нм. Спектральные интервалы 665-675 и 685-695 нм были выбраны в соответствии с алгоритмом используемого аппаратно-программного комплекса как участки красной области порфирин-ассоциированной флюоресценции [1, 12, 119, 157, 238, 254].

2.4. Статистическая обработка результатов исследования

Полученные спектральные данные характеризовались многомерной структурой и включали значения волнового сдвига рассеянного излучения, интенсивности флюоресценции и КРС. Поскольку спектр состоит из сотен или тысяч точек и характеризуется огромным количеством волновых чисел, классические методы, такие как критерий Манна-Уитни к каждой точке отдельно при стандартном уровне значимости 0,05, в данном исследовании не применялись. Так, PCA и Random Forest позволяют проанализировать весь спектр в комплексе, поскольку спектр – это единый паттерн, который отображает огромное количество биокомпонентов со своей молекулярной структурой в их составе, при этом при заболевании меняет не один конкретный пик, а сдвигается полностью соотношение десятков полос поглощения одновременно. В качестве наблюдения рассматривалось не анализировались отдельные показатели, а оценивались характеристики спектра, то есть функции, поэтому применялись

многопараметрические методы в вариации, когда различием была не разность численных параметров, а дифференциация спектров. Так, методы LDA и Random Forest оценивают взаимосвязи между пиками (паттернами), применение данных методов более оправданно для проведения медицинской диагностики с использованием СКРС. Набор статистических методов, которые были использованы в работе, создает прогностическую (диагностическую) модель, при этом построение матриц ошибок и ROC-кривых (параметров AUC) доказывают не просто различие классов, а реальную точность разделения интактных тканей и тканей, вовлеченных в патологический процесс. Таким образом, в СКРС анализ многомерных данных целесообразно проводить с использованием упомянутых выше методов, отдавая им предпочтение по сравнению с одномерными тестами. При проведении исследования мы применяли не сравнение отдельных пиков методами классической статистики, а использовали многомерное математическое моделирование, где надежность результатов доказывается кросс-валидацией, ROC-анализом и получением нормированных матриц неточностей.

Так, для анализа данных СКРСФ применялся метод проекций на латентные структуры с дискриминантным анализом (PLS-DA). Данный подход основан на построении правил разделения исследуемых классов посредством линейных регрессионных моделей. Основываясь на значениях интенсивности флюоресценции и линий КРС при соответствующих значениях волнового сдвига формировалась матрица спектральных характеристик тканей. Каждый спектр характеризовался бинарной меткой «0» или «1» в соответствии с его принадлежностью к определенному диагностическому классу, например, к интактной ткани или ткани, вовлеченной в патологический процесс. Регрессионная модель была построена методом проекций на латентные структуры, что обеспечивало возможность последующего прогнозирования принадлежности новых образцов к соответствующим диагностическим группам. Сочетание проекций на латентные структуры с дискриминантным анализом позволяло выявлять наиболее информативные спектральные признаки, связанные со специфическими колебаниями химических связей и молекулярных структур,

характерными для определенного типа биологической ткани. Перед проведением многомерного анализа выполнялась предварительная обработка спектральных данных. В ходе исследования анализировались исходные спектры комбинационного рассеяния классов тканей в норме и при патологии ЛОР-органов. Сначала проводилась предварительная обработка спектров. Для выделения спектра КРС применялся следующий алгоритм: проводилось сглаживание шумов фильтром Савицкого – Голея, затем удаление фона флюоресценции коррекцией базовой линии и нормирование сигнала. Применение метода Савицкого – Голея позволило уменьшить влияние случайного шума, сохранив основные характеристики сигнала [300]. Для дифференциации спектров применялся LDA, который представляет собой классический метод статистического анализа и машинного обучения, применяемый для классификации объектов и снижения размерности многомерных данных. Метод направлен на построение такого линейного преобразования пространства признаков, при котором расстояние между объектами, относящимися к различным классам, увеличивается, а внутриклассовый разброс, напротив, минимизируется [327]. При обработке спектров применялся метод наименьших квадратов, использующийся для подбора математической модели, которая наиболее точно описывает особенности спектральных характеристик. Для каждой точки спектра определялась разность между измеренной интенсивностью y^i и значением, рассчитанным по модели y^i. Эта разность называется остатком или ошибкой модели в данной точке.

$$S = \sum_{i=0}^{n} (\text{yi} - \text{y\^{}i})^2 \rightarrow min, \qquad (10)$$

где S – целевая функция, представляющая собой сумму квадратов остатков (ошибок) регрессии;

yi – фактическое (наблюдаемое) значение зависимой переменной для конкретного (i-го) наблюдения;

y^i – теоретическое (расчетное) значение, которое выдает построенная модель для того же наблюдения;

n – общее количество наблюдений в выборке;

→ min – критерий оптимизации.

Обработка данных выполнялась следующим образом: выбиралась математическая модель (в данном случае полином для описания функции Гаусса для представления спектральных полос), рассчитывались модельные значения интенсивности (для каждой точки по оси волновых чисел определялась интенсивность, которую должна иметь выбранная модель); оценивались отклонения от экспериментального спектра (вычислялась разность между зарегистрированной и модельной интенсивностью); оптимизировались параметры модели (изменялись положение, высота, ширина и форма спектральных полос либо коэффициенты полинома до достижения минимальной суммы квадратов отклонений); полученные параметры использовались для анализа. По аппроксимированному спектру определялись положение максимумов, интенсивность, площадь и ширина спектральных полос, а также выполнялось удаление фоновой составляющей и количественное сравнение образцов. Данный подход применялся для сглаживания спектров, коррекции базовой линии, аппроксимации спектральных полос и количественного анализа исследуемых компонентов [122, 359]. LDA, в отличие от PCA, позволял алгоритму заранее передать информацию о принадлежности каждого спектра к определенному классу, например, «интактная ткань» или «ткань, вовлеченная в воспалительный или опухолевый процесс». LDA определил линейные комбинации признаков, называемые дискриминантными функциями, которые обеспечивают максимальное расстояние между центрами разных классов и минимальный разброс спектров внутри каждого класса. После построения модели новый спектр сначала проецировался в пространство PCA, а затем – в дискриминантное пространство LDA. Таким образом, в проведенном исследовании применялось сочетание PCA – LDA [137, 234]. В ходе исследования были рассчитаны и проанализированы чувствительность, специфичность, точность, площадь под ROC-кривой, матрица ошибок. Метод PCA использовался для снижения размерности спектральных данных и преобразования исходных взаимосвязанных спектральных переменных в ограниченное число компонентов. При обработке спектров КРС методом

случайного леса каждый спектр рассматривался как набор числовых признаков, а алгоритм обучался распознавать спектральные различия между заранее заданными группами образцов [268].

Формирование спектральной матрицы. Исходные данные представлялись в виде матрицы (каждая строка соответствует отдельному спектру, каждый столбец содержит интенсивность при определенном волновом числе):

$$X_{n \times k}, \tag{11}$$

где n – количество зарегистрированных спектров;

k – количество исследуемых точек.

Дополнительно каждому спектру присваивалась метка класса, например, «интактная ткань», «ткань при воспалительном процессе»; «доброкачественное новообразование», «злокачественное новообразование». Перед использованием метода проводилась предварительная обработка спектров по ранее описанному алгоритму. В качестве признаков случайного леса использовались интенсивность во всех спектральных точках; интенсивность выбранных полос комбинационного рассеяния света; отношения интенсивности отдельных полос; площади, высоты и ширины пиков; счета главных компонент, предварительно полученные методом PCA. Следует обратить внимание на то, что случайный лес (Random Forest) – ансамблевый алгоритм машинного обучения, который основан на совокупности деревьев решений, в то время как логистическая регрессия (Logistic Regression) – линейная модель классификации, предназначенная для оценки вероятности принадлежности объекта к одному из классов. Преобразование линейной комбинации признаков в вероятностную оценку осуществляется с использованием логистической функции. Наивный байесовский классификатор (Gaussian Naive Bayes) – вероятностный метод, основанный на применении теоремы Байеса. Алгоритм предполагает условную независимость признаков при заданном классе и использует вероятностные распределения для определения принадлежности объекта к соответствующей категории. Алгоритм K-ближайших соседей (K-Nearest Neighbors) – непараметрический метод классификации, при котором класс исследуемого объекта определяется на основании меток ближайших к нему

объектов в пространстве признаков. Степень близости оценивается с использованием выбранной метрики расстояния, например, евклидовой или манхэттенской [200]. Алгоритм не предполагает построения явной обученной модели, поскольку основные вычисления выполняются непосредственно на этапе прогнозирования. Выбранные модели представляют собой различные методологические подходы к решению задачи классификации и в совокупности обеспечивают возможность сопоставления ансамблевых, линейных, вероятностных и метрических алгоритмов. Ансамблевые методы основаны на объединении результатов нескольких моделей, что позволяет повысить итоговую точность классификации. Логистическая регрессия использует линейные зависимости между признаками и вероятностный подход к оценке принадлежности объекта к определенному классу. Наивный байесовский классификатор базируется на вероятностной модели и ряде предположений относительно структуры данных. Метод K-ближайших соседей, в свою очередь, основывается на геометрическом расположении объектов в пространстве признаков. Для каждого алгоритма выполнялся подбор оптимальных гиперпараметров с использованием функции GridSearchCV (поиск по сетке параметров + перекрестная проверка). Данный подход предусматривал полный перебор всех заданных комбинаций гиперпараметров с последующей оценкой эффективности каждой из них. В качестве критерия выбора использовали максимальное значение метрики ROC AUC. Для наиболее полного использования имеющегося набора данных и оценки устойчивости моделей применялась пятикратная кросс-валидация с сохранением исходного распределения классов в каждом фолде. Для оценки эффективности моделей использовались ROC-кривые с доверительными интервалами, а также площадь под ROC-кривой – ROC AUC. При этом выделялись главные компоненты и счета для изучаемых классов. При наличии нескольких спектров, полученных от одного пациента, их распределение по фолдам осуществлялось на уровне пациента: все спектры одного пациента включались только в один фолд, что исключало одновременное присутствие данных одного пациента в обучающей и валидационной выборках. Далее строились бинарные классификаторы, при этом

проводился не только сравнительный анализ между классами тканей при патологии, но и сравнение каждого их них с интактной тканью. Матрица ошибок применялась для оценки результатов классификации предварительно обработанных спектров КРС. Предсказанные моделью диагностические классы сопоставлялись с референсными значениями, установленными на основании морфологического исследования. По количеству истинно положительных, истинно отрицательных, ложноположительных и ложноотрицательных результатов рассчитывались чувствительность и специфичность. Сначала спектры проходили предварительную обработку: сглаживание, коррекцию базовой линии, нормализацию и, при необходимости, снижение размерности или отбор информативных спектральных признаков. Затем применялись методы LDA, RF, PLS-DA. Предварительная обработка спектральных данных включала несколько последовательных этапов. Для снижения высокочастотного шума при сохранении формы, ширины и положения спектральных полос применяли сглаживание методом Савицкого – Голея. Коррекцию базовой линии осуществляли путем ее аппроксимации полиномом третьей степени с последующим вычитанием рассчитанной фоновой составляющей из исходного спектра. Данная процедура позволяла компенсировать медленно изменяющийся фон, преимущественно обусловленный собственной флюоресценцией исследуемых биологических тканей.

Полиномиальную аппроксимацию базовой линии представляли в виде:

$$P_n(x) = \sum_{k=0}^{n} a_k x^k \, , n = 3, \qquad (12)$$

где $P_n(x)$ – это обозначение полинома (многочлена) степени n от переменной x;

n – степень полинома;

a_k – коэффициенты полинома;

x^k – это переменная x, возведенная в степень;

$k=0$ – стартовая точка;

$n = 3$ – степень полинома.

Скорректированную интенсивность спектра определяли следующим образом:

$$I_{corr}(x) = I_{raw}(x) - \sum_{k=0}^{3} a_k x^k, \quad (13)$$

где $I_{corr}(x)$ – интенсивность после коррекции базовой линии;

$I_{raw}(x)$ – исходная интенсивность спектра;

x – рамановский сдвиг, см$^{-1}$;

a_k – коэффициенты аппроксимирующего полинома.

Для приведения интенсивностей различных спектров к единому диапазону применяли минимаксную нормировку:

$$I_{norm}(x) = \frac{I_{corr}(x) - I_{min}}{I_{max} - I_{min}}, \quad (14)$$

где I_{min} и I_{max} – соответственно минимальное и максимальное значения интенсивности скорректированного спектра;

$I_{norm}(x)$ – нормализованная интенсивность сигнала в точке x.

В результате нормирования значения интенсивности каждого спектра приводили к диапазону от 0 до 1.

Модель позволяла различать интактную, опухолевую ткань и ткань, вовлеченную в предопухолевый и воспалительный процесс. Матрица неточностей позволила оценить следующие параметры модели: TP – True Positive – истинно положительный результат, когда опухолевый спектр правильно классифицирован как опухолевый; FN – False Negative – ложноотрицательный результат, когда опухолевый спектр ошибочно классифицирован как неопухолевый; FP – False Positive – ложноположительный результат, когда неопухолевый спектр ошибочно классифицирован как опухолевый; TN – True Negative – истинно отрицательный результат, когда неопухолевый спектр правильно классифицирован как неопухолевый. Использование данной матрицы позволяет проанализировать чувствительность, специфичность, точность, положительную прогностическую

значимость и F1-меру по формулам:

Чувствительность (Ч)=TP/TP+FN

Специфичность (С)=TN/TN+FP

Точность (Т)=TP+TN/TP+TN+FP+FN

Положительная прогностическая ценность (ППЦ)=TP/TP+FP

F1-мера=2Х$\frac{\text{ППЦ}x\ \text{Ч}}{\text{ППЦ+Ч}}$

Положительная прогностическая ценность (ППЦ) позволяет продемонстрировать, какая доля объектов, признанных моделью положительными, действительно относится к положительному классу. F1-мера – это показатель, который одновременно учитывает: чувствительность – способность модели выявлять фактически положительные случаи и положительную прогностическую ценность – достоверность положительных прогнозов модели. В ходе исследования проводилось построение ROC-кривых при заболеваниях ЛОР-органов [197]. Сначала рассчитывались чувствительность и специфичность метода. На ROC-кривой изображались по оси Y – чувствительность; по оси Х–1 – специфичность, то есть частота ложноположительных результатов. Каждая точка ROC-кривой соответствовала отдельному пороговому значению диагностического показателя.

Оптимальный порог выбирался по максимальному индексу Юдена:

$$J= Ч+С-1 \qquad (15)$$

Индекс Юдена применялся для выбора порогового значения, при котором достигался наиболее рациональный баланс чувствительности и специфичности. Площадь под ROC-кривой (AUC) продемонстрировала различия классов: 0,50 – дифференциация классов отсутствует; 0,7-0,80 – приемлемое качество; 0,8-0,90 – хорошее; более 0,90 – высокое. ROC-анализ применялся для оценки диагностической эффективности спектральных показателей и классификационных моделей. Для каждого исследуемого спектра рассчитывалось непрерывное значение диагностического параметра или вероятность принадлежности к заданному классу. Интегральная диагностическая эффективность оценивалась по площади под ROC-кривой. При оценке диагностической эффективности метода рассчитывали показатели чувствительности и специфичности и их 95%

доверительные интервалы. В ситуациях, характеризующихся отсутствием либо крайне низкой частотой ложноотрицательных и ложноположительных результатов, дополнительно применяли пуассоновское приближение для редких событий. При этом число диагностических ошибок рассматривали как случайную величину, подчиняющуюся распределению Пуассона [335]. Для случая отсутствия диагностических ошибок (k = 0) верхнюю границу двустороннего 95%-го доверительного интервала для математического ожидания числа ошибок λ в модели Пуассона определяли по формуле:

$$\lambda верх = -ln(\alpha/2), \quad (16)$$

где $\lambda верх$ – верхняя доверительная граница параметра λ (ожидаемого числа ошибок);

α – уровень значимости (α = 0,05 для двустороннего 95%-го доверительного интервала);

ln – натуральный логарифм;

k – наблюдаемое число диагностических ошибок (k = 0).

При α = 0,05: λверх = $-ln$ (0,025) = 3,688879 ≈ 3,69. На основе этой границы рассчитывали приближенную нижнюю доверительную границу доли правильных диагностических заключений:

$$Рнижн \approx 1 - \lambda верх/n \quad (17)$$

где Р$нижн$ – приближенная нижняя доверительная граница чувствительности или специфичности при отсутствии ошибок в соответствующей группе;

n – число независимых пациентов в этой группе.

При оценке чувствительности n соответствует числу пациентов с подтвержденным заболеванием (ошибка – ложноотрицательный результат), при оценке специфичности – числу пациентов без исследуемого заболевания (ошибка – ложноположительный результат). Указанная оценка основана на пуассоновской аппроксимации числа ошибок. При n> 3,688879 она дает положительное значение нижней границы.

Таким образом, при отсутствии ложноотрицательных или ложноположительных результатов точечная оценка чувствительности или

специфичности составляла 100%, при этом нижнюю границу 95% доверительного интервала определяли с учетом максимально ожидаемого числа редких диагностических ошибок согласно пуассоновской модели. Такой подход позволял количественно оценить статистическую неопределенность результатов даже в тех случаях, когда в исследуемой выборке диагностические ошибки не были зарегистрированы. Методы предобработки и многомерный анализ данных были реализованы в программном онлайн-обеспечении TPTcloudbeta [56-59].

Глава 3. РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДОЛОГИИ

3.1. Апробация методик измерений при использовании СКРСФ в диагностике заболеваний ЛОР-органов (органов головы и шеи)

Разработка новых подходов к диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов сохраняет высокую актуальность. На первом этапе исследований были проведены разработка и экспериментальная апробация метода СКРСФ в отношении заболеваний ЛОР-органов. Серия экспериментов позволила выбрать наиболее рациональную тактику регистрации спектров и провести их анализ при использовании СКРС в диагностике заболеваний ЛОР-органов [92]. Практическая значимость разрабатываемого подхода заключается в потенциальной возможности выявлять изменения в тканях при патологии на этапе, когда они еще не определяются при стандартном осмотре. При проведении экспериментов ex vivo после регистрации спектров с поверхности интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и слизистой оболочки околоносовых пазух, вовлеченной в хронический воспалительный процесс при риносинусите, были оценены индивидуальные параметры и режим измерений, а также подобрана методика. Выявленные спектроскопические характеристики тканей были сопоставлены с результатами гистологического исследования. На первом этапе исследований спектры регистрировались с поверхности образцов, заключенных в парафиновые блоки (рисунок 2).

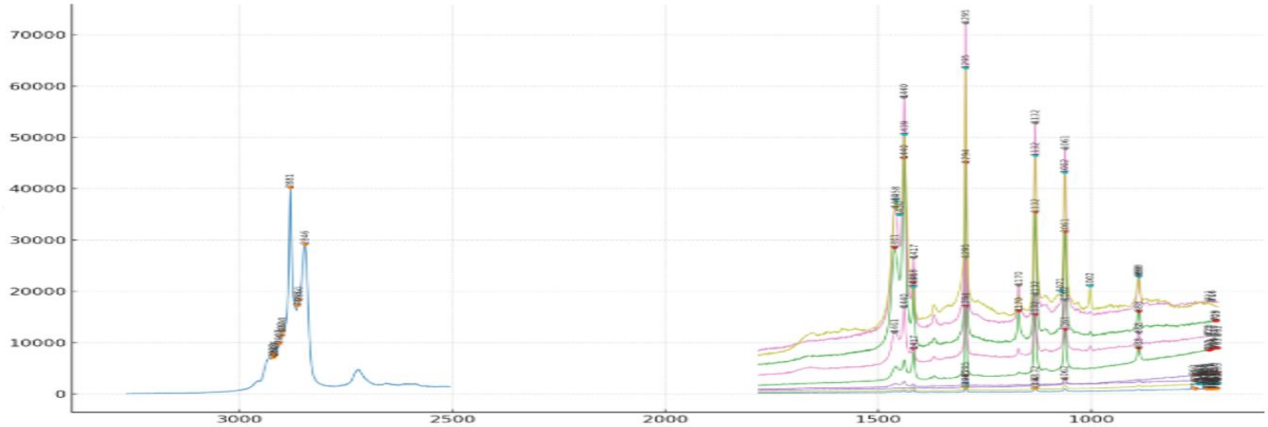

Рисунок 2 – Полосы КРС слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (парафиновые блоки). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность сигнала в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 2 продемонстрированы наиболее информативные линии КРС слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (образцы в парафиновых блоках), спектр парафина изображен на рисунке 3.

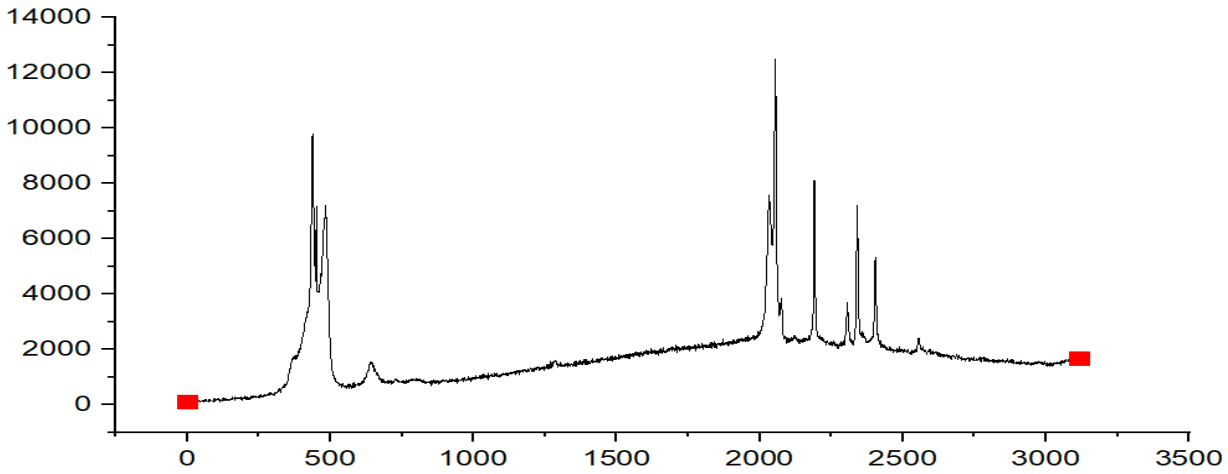

Рисунок 3 – Спектр парафина. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность сигнала в относительных единицах (ОЕ)

Как продемонстрировано на рисунке 3, сигнал парафина имеет достаточно выраженные линии КРС, значительно затрудняя интерпретацию основного спектра при хроническом риносинусите. Для разработки метода ранней неинвазивной диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний на основе СКРС необходимо учесть работу с дополнительными реактивами, которые применяются для фиксации тканей при анализе морфологических изменений в ней. В частности, при использовании криогеля для фиксации образца ткани при проведении измерений также регистрировались дополнительные линии КРС (рисунок 4). На рисунке 5 продемонстрированы спектры образцов слизистой оболочки околоносовых пазух при хроническом риносинусите после криофиксации. В полученных спектрах можно выделить основные полосы КРС, которые являются информативными для дифференциации интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух и ткани с участками хронического воспаления. В отличие от парафина, собственный спектр криогеля в меньшей степени искажал регистрируемую картину. Это позволило рассматривать криофиксацию в геле как более информативный вариант подготовки материала для экспресс-диагностики

заболеваний ЛОР-органов и их дифференциации от интактной области [92].

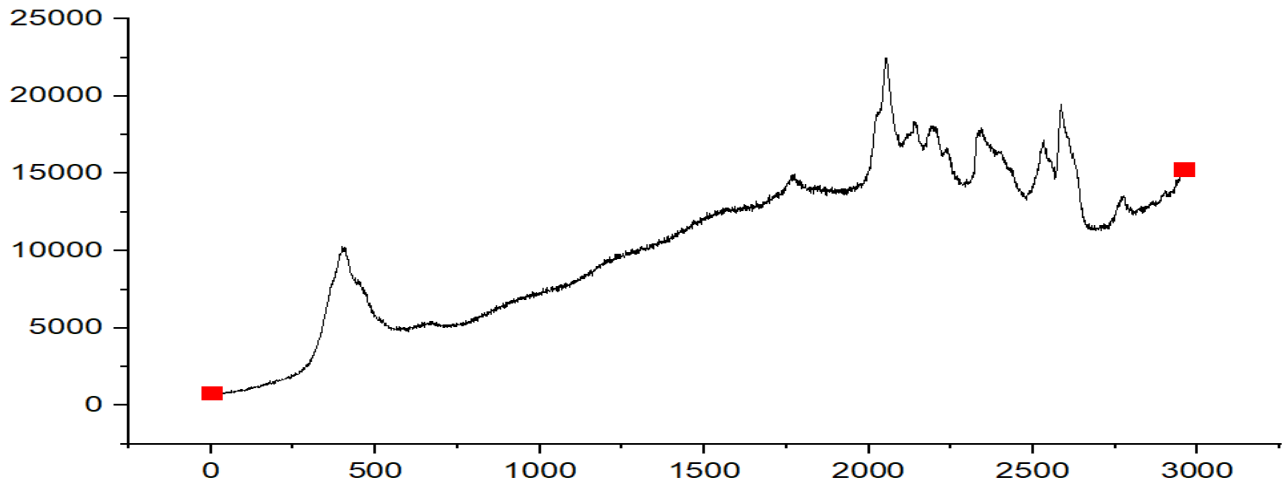

Рисунок 4 – Спектральные особенности криогеля, применяемого для фиксации образца. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность сигнала в относительных единицах (ОЕ)

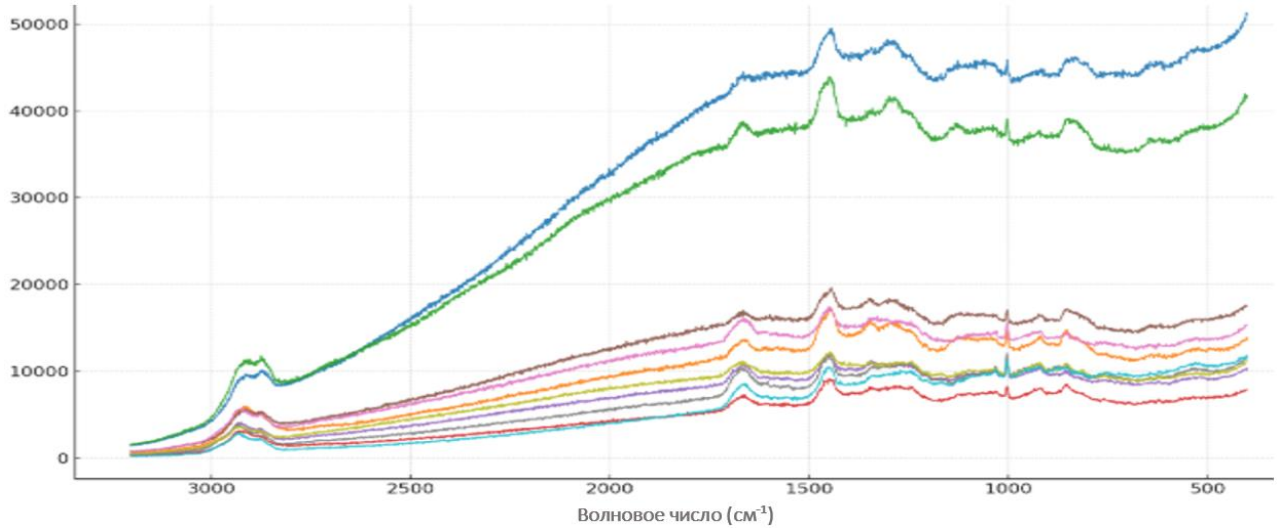

Рисунок 5 – Линии комбинационного рассеяния света слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (фиксация образцов в криогеле). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность сигнала в относительных единицах

Отмечается выраженное искажение спектральной картины спектром парафина, вследствие чего фиксация в криогеле представляется более предпочтительной (рисунок 6). В частности, в рамках разработки метода неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных заболеваний околоносовых пазух выполнены эксперименты по регистрации спектральных характеристик слизистой оболочки верхнечелюстных пазух в норме и при хроническом

риносинусите с использованием конфокального микроскопа и лазерного излучения с длиной волны 785 нм.

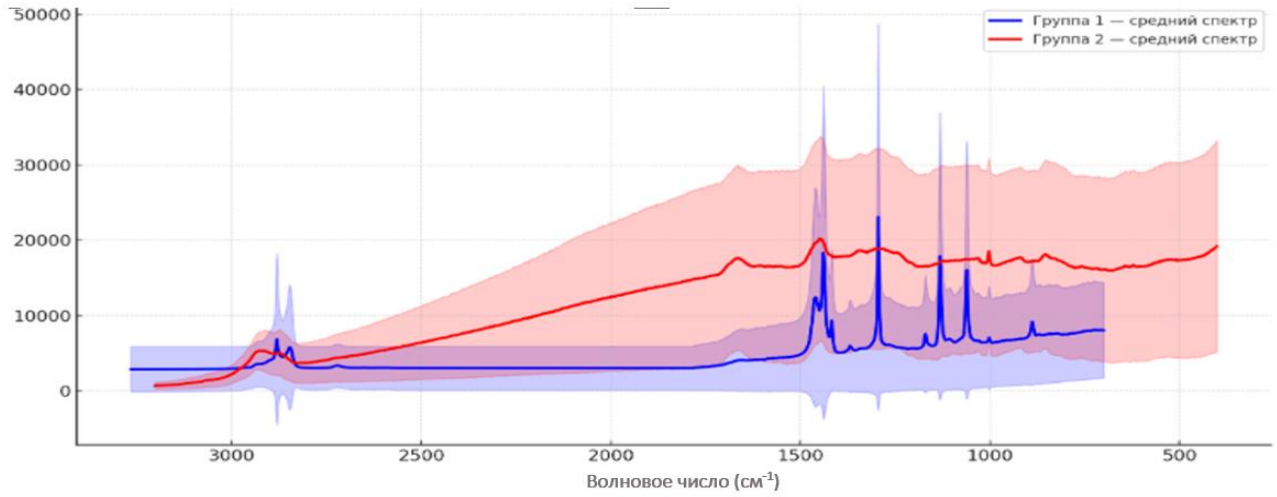

Рисунок 6 – Сравнительный анализ спектров при хроническом риносинусите без формирования полипов после фиксации в парафине (1 группа) и геле (2 группа). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В ходе экспериментов подбирались мощность лазерного излучения, время экспозиции и количество необходимых измерений для достижения вопроизводимости результатов. Эти параметры имеют принципиальное значение при выборе рационального способа дифференциации интактной ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный процесс. При сопоставлении групп 1 и 2 (рисунок 6) были определены линии КРС, значимые для диагностики хронического риносинусита без формирования полипов после проведения пробоподготовки. Для образцов, фиксированных в парафине и специальном геле, были построены усредненные спектры. На рисунке 6 синей линией представлены спектры ткани в парафиновом блоке, красной – спектры образцов в криогеле, зарегистрированные при одинаковых значениях мощности и экспозиции. Между группами выявлены различия интенсивности в диапазонах 1200-1350 $см^{-1}$ и 2850-2930 $см^{-1}$, соответствующих С–Н-области. При интерпретации результатов установлено, что в группе 2 интенсивность полос 1248, 1268 и 1336 $см^{-1}$ была заметно выше. В С–Н-области 2850-2930 $см^{-1}$ отношение интенсивностей 2850/2930 в группе 1 составило 1,62 и 0,83 – в группе 2. Отношение интенсивностей 1268/1336 различалось незначительно и составляло 1,09 и 1,00 в группах 1 и 2, соответственно. После

окончательного выбора оптимальной методики регистрации данный показатель может рассматриваться как потенциальный диагностический критерий. В ходе исследования определены наиболее информативные полосы КРС, характерные для хронического риносинусита в двух рассматриваемых группах. Для всех анализируемых наборов общим являлся пик около 1461 $см^{-1}$. В 1 и 2 группах совпадали полосы в диапазоне 1439-1460 $см^{-1}$: 1439, 1440, 1450, 1458, 1460 и 1461 $см^{-1}$ [92]. При анализе спектральных характеристик криогеля были выделены линии 850, 854, 859, 1424, 1431, 1470 и 1474 $см^{-1}$. В 1 группе пики располагались в следующих диапазонах 702-760, 1061-1071, 1294-1295, 1417-1418 и 2860-2863 $см^{-1}$, а также в областях: 888, 1002, 1132, 1170, 2846, 2881, 2898, 2902, 2907, 2916 и 2922 $см^{-1}$. Во 2 группе регистрировались линии 403, 404, 406, 408 $см^{-1}$ и значимые диапазоны 412-440, 1343-1350 и 1432-1468 $см^{-1}$, а также линии КРС 522, 532, 853, 858, 1003, 1004, 1271, 1281, 1300, 1328, 1471 и 1473 $см^{-1}$. Однако указанные полосы КРС должны быть верифицированы при проведении исследований in vivo и ex vivo без использования дополнительных реактивов для исключения вклада химических веществ в общий спектр образца. Анализ положения спектральных пиков позволяет сформировать набор признаков, отражающих особенности исследуемых тканей и информативных для проведения экспресс-диагностики. Существенным ограничением остается необходимость корректного вычитания сигналов веществ, способных искажать спектральную картину. Пересечение пиков трех анализируемых наборов представлено на диаграмме Венна (рисунок 7) [92].

Кроме того, необходимо учитывать вклад парафина в суммарный спектр, регистрируемый с поверхности подготовленного образца. При анализе спектров следует учитывать общие для парафина и образцов 1 группы линии КРС: 703, 708, 719, 1002, 1132, 1295, 1417, 1440 и 1460 $см^{-1}$. Вместе с тем большое количество выраженных полос парафина настолько изменяло спектральную картину ткани, что существенно затрудняло диагностическую интерпретацию [92].

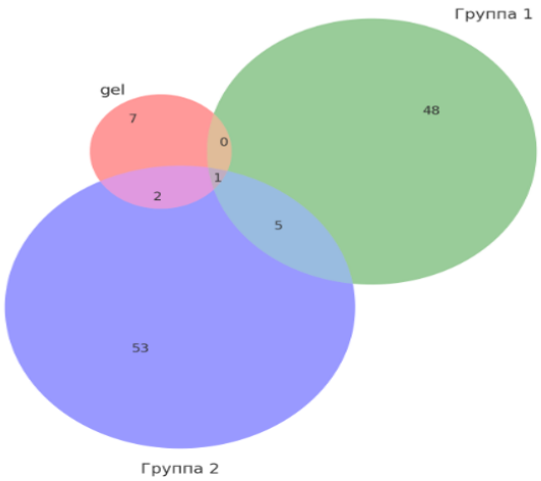

Рисунок 7 – Диаграмма Венна, отражающая пересечение пиков группы 1, группы 2 и спектра геля

Соответственно, для последующих измерений при фиксации образца применялся криогель. В ходе эксперимента сравнивались спектры интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух и при хроническом риносинусите с поверхности образцов на кварцевых стеклах. В связи с низкой информативностью полученных данных эти результаты в работе не представлены. В ходе подготовки образцов ex vivo использовались стекла с алюминиевым напылением (рисунок 8) для минимизации сигнала флюоресценции и устранения дополнительных сигналов, которые затрудняли визуализацию основного спектра [92].

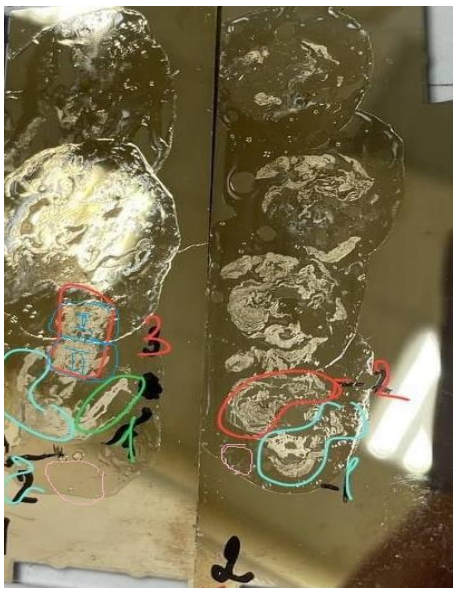

Рисунок 8 – Образцы слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (криогель, стекло с алюминиевым напылением): участки слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов (1,3), интактная слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи (2)

На третьем этапе исследований регистрация спектров проводилась с поверхности нативного материала без использования дополнительных химических веществ, получены спектральные характеристики слизистой оболочки при хроническом риносинусите без формирования полипов (группа 3) (рисунок 9); проведен сравнительный анализ полученных данных (рисунок 10) [92].

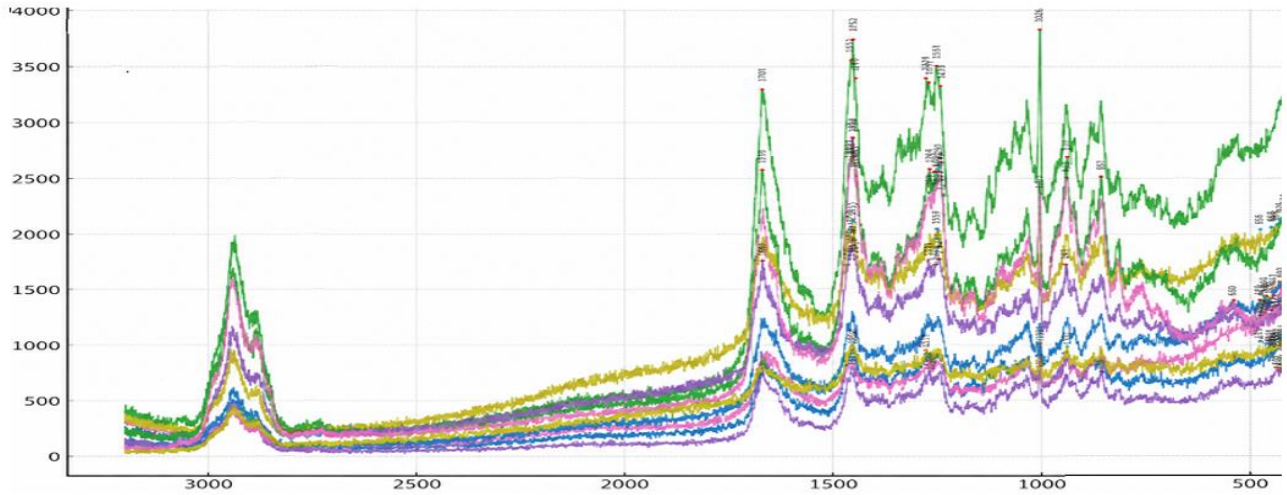

Рисунок 9 – Спектральные характеристики слизистой оболочки при хроническом риносинусите без формирования полипов (группа 3) с иллюстрацией наиболее значимых линий КРС. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 10 продемонстрированы усредненные спектры трех классов спектров: в группе 1 – образцы в парафиновых блоках, в группе 2 – образцы в криогеле и группа 3– нативный материал (слизистая оболочка верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов).

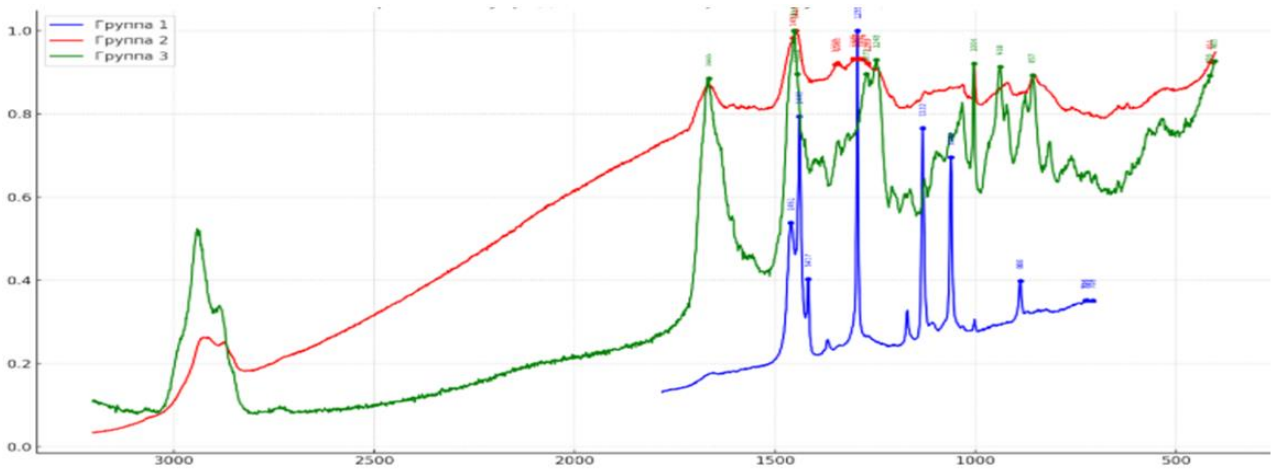

Рисунок 10 – Сопоставление усредненных спектров исследуемых групп. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В группе 1 наиболее информативными были линии КРС 708, 722, 726, 888 и 1062 $см^{-1}$; в группе 2 – 414, 1269, 1279, 1287 и 1297 $см^{-1}$; в группе 3 – 403, 416, 857, 938 и 1004 $см^{-1}$. Наибольшую информативность для экспресс-диагностики продемонстрировало исследование нативного материала (рисунок 11). Если фиксация образца необходима, требуется выбирать способ, минимально влияющий на спектральный сигнал; в настоящем исследовании таким вариантом была криофиксация в геле, при этом, анализируя спектр, следует вычитать сигнал постороннего химического вещества [92], если это применимо.

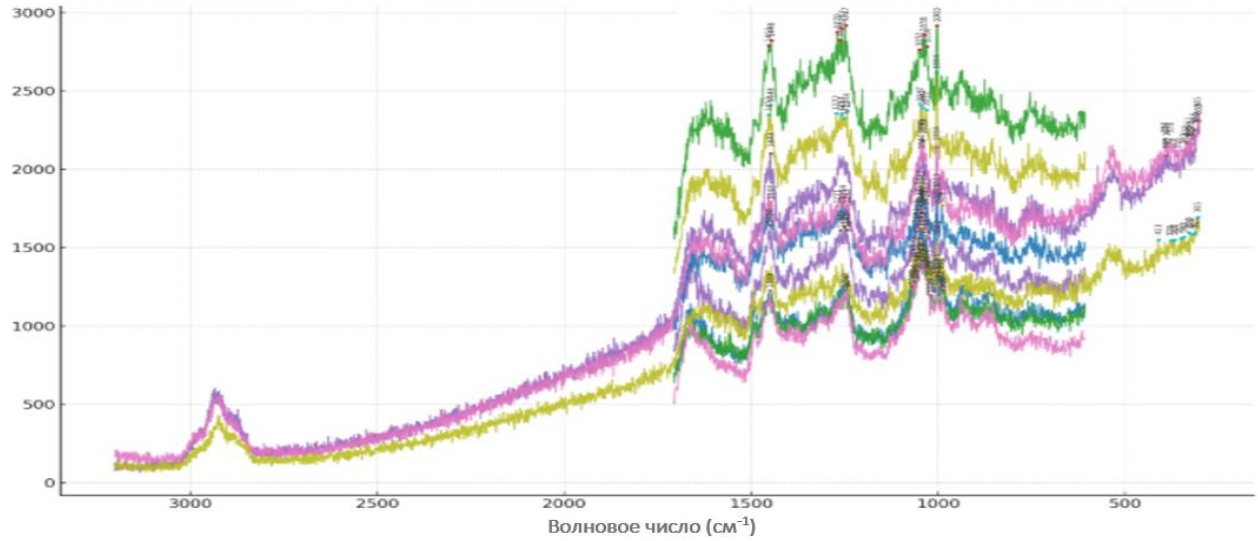

Рисунок 11 – Спектральные характеристики интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух (группа 4, нативный материал). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

При разработке методики спектры каждой группы усреднялись для уменьшения влияния шума и вариабельности повторных измерений. Для каждого усредненного спектра выделялись десять наиболее значимых линий. Затем определялись линии, общие для групп 3 и 4, а также линии, специфичные для каждой из этих групп (рисунок 12). По полученным данным был построен график усредненных спектров групп 3 и 4 с обозначением характерных линий КРС [92].

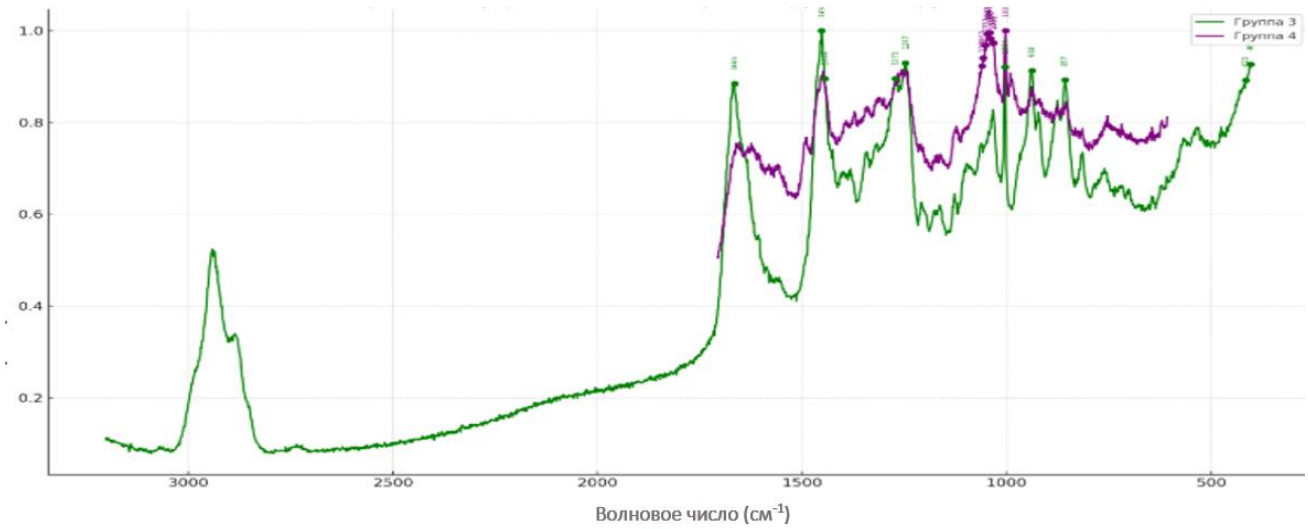

Рисунок 12 – Сравнение спектральных характеристик интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух (группа 4) и слизистой оболочки при хроническом риносинусите без формирования полипов (группа 3). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Совпадающих пиков в усредненных спектрах двух групп не обнаружено, что указывает на потенциальную применимость выявленных различий для дифференциальной экспресс-диагностики. Для группы 3 специфичными являлись полосы 403, 416, 857, 938, 1004, 1248, 1272, 1444, 1452 и 1665 $см^{-1}$. Группа 4 характеризовалась наличием уникальных пиков, которые регистрировались в области линий КРС: 1003, 1031, 1035, 1038, 1042, 1045, 1047, 1052, 1057 и 1060 $см^{-1}$. Спектры группы 3 характеризовались линиями в низкочастотной области около 400 $см^{-1}$ и в диапазонах 850-950 и 1400-1670 $см^{-1}$. В группе 4 отмечались полосы КРС в интервале 1000-1060 $см^{-1}$. В пределах проанализированной выборки разделение групп было достигнуто при чувствительности и специфичности 100%.

Проведенная серия экспериментов продемонстрировала возможность применения конфокальной СКРС для экспресс-диагностики патологии ЛОР-органов. При проведении сравнительного анализа спектров в описанных группах было отмечено, что наиболее информативной была регистрация измерений с поверхности нативного материала на стеклах с алюминиевым напылением по сравнению с анализом спектров образцов в парафиновых блоках, на кварцевых стеклах и срезов, фиксированных в криогеле. В дальнейшем целесообразно разработать способ фиксации тканей, который не вносит значимого собственного

спектрального сигнала и не изменяет взаимодействие образца с возбуждающим лазерным излучением, поскольку присутствие химических компонентов фиксатора существенно усложняет интерпретацию спектров и способствует искажению результатов исследования [92]. Помимо изложенного выше, проведение экспериментов ex vivo в сравнительном аспекте с экспериментами in vivo, продемонстрировало практически одинаковое положение линий КРС, которые характеризуют морфометрические, метаболические и физиологические параметры тканей ЛОР-органов при воспалительных и опухолевых заболеваниях, что является важным при анализе и интерпретации полученных результатов на следующих этапах исследования.

3.2. Разработка методологии ранней неинвазивной экспресс-диагностики заболеваний головы и шеи и спектрально-метаболомный анализ

Использование СКРС позволяет неинвазивно выявлять молекулярные признаки опухолевой трансформации. В серии экспериментов была проведена регистрация спектров тканей интактной кожи и опухолей, таких как базальноклеточная карцинома и плоскоклеточная карцинома [90, 295, 296]. Таким образом была получена информация о молекулярном составе ткани без дополнительной пробоподготовки. Микроспектроскопия КРС позволила проанализировать биохимический состав тканей в норме и при патологии. Выбор данных заболеваний с целью разработки и апробации метода был выполнен в связи с широкой распространенностью заболеваний кожи области головы и шеи. Проанализированы спектры интактной кожи, а также тканей, вовлеченных в опухолевый процесс при упомянутых выше заболеваниях, при использовании длин волн лазерного излучения 405, 532, 785, 1064 нм.

Клиническая ценность разработанного метода заключается не только в возможности дифференцировать интактную и опухолевую ткань, но и в перспективе в экспресс-идентификации типа опухолевого процесса. Для практической онкологии оториноларингологии- хирургии головы и шеи – это может иметь значение при раннем выявлении злокачественного роста,

планировании объема хирургического вмешательства, оценке границ резекции и формировании алгоритмов проведения оптической биопсии. При исследовании кожи наиболее информативными были области 900-1800 $см^{-1}$ и 2800-3100 $см^{-1}$ [295, 296]. Первая область включает так называемый «отпечаточный» диапазон, где отражаются колебания белков, липидов, нуклеиновых кислот, аминокислот и хромофоров. Вторая область характеризует преимущественно валентные колебания С-Н-групп, связанные с белками и липидами. Как было продемонстрировано в серии экспериментов, для спектров при патологии характерны изменения положения линий КРС, относительной интенсивности полос и соотношения между биохимическими компонентами [295, 296]. Поэтому диагностически значимыми оказываются не отдельные абсолютные пики, а их соотношения и нормированные показатели. Особенностью опухолевого процесса является изменение белково-липидного баланса. В тканях при злокачественной транформации может возрастать относительное содержание белковых компонентов, включая кератин и другие структурные белки, а также изменяться вклад нуклеиновых кислот, аминокислот и гем-содержащих молекул [91]. В интактной коже, напротив, более выраженными могут быть характерные спектральные особенности липидов, связанные с нормальной структурой эпидермального барьера и межклеточного матрикса. Для повышения информативности спектрального анализа может использоваться многочастотный подход, при котором спектры регистрируются при разных длинах волн возбуждения. Возбуждение 785 нм традиционно применяется из-за меньшего фона аутофлюоресценции. Возбуждение 532 нм дает более интенсивный сигнал, сокращает время регистрации и может усиливать полосы некоторых хромофоров за счет резонансного эффекта. Совместное использование 532 и 785 нм позволяет сопоставить преимущества и выделить более устойчивые критерии классификации [56-59, 295, 296]. Дифференциальная диагностика интактной кожи, базальноклеточной карциномы и плоскоклеточной карциномы основана на том, что эти ткани отличаются по молекулярному составу. Исследование было выполнено на образцах интактной кожи области головы и шеи (носа: спинки, крыла

носа, носогубной области; наружного слухового прохода, ушной раковины, лобной и височной областей) и опухолей данной локализации: плоскоклеточной (ПКК) и базальноклеточной карциномы кожи (БКК) ex vivo. Классификация образцов выполнялась по результатам патогистологического анализа. Регистрация спектров проводилась на двух длинах волн возбуждения: 532 нм и 785 нм. Для уменьшения влияния неоднородности ткани интенсивность полос нормировалась, в частности, по полосе около 1445 $см^{-1}$. Нормирование позволяло анализировать относительные изменения молекулярных компонентов и оценивать соотношение белков, липидов и других компонентов тканей. Дополнительно исследовались другие варианты нормирования, включая полосы 1268, 1336, 2880 и 2930 $см^{-1}$ [295, 296]. На рисунке 13 представлены спектры КРС базальноклеточной карциномы (БКК, синие кривые), интактной кожи (зеленые кривые) и плоскоклеточной карциномы (ПКК, фиолетовые кривые), полученные при длинах волн возбуждения (а) 532 нм и (б) 785 нм. Для каждого класса продемонстрированы усредненные спектры [295, 296].

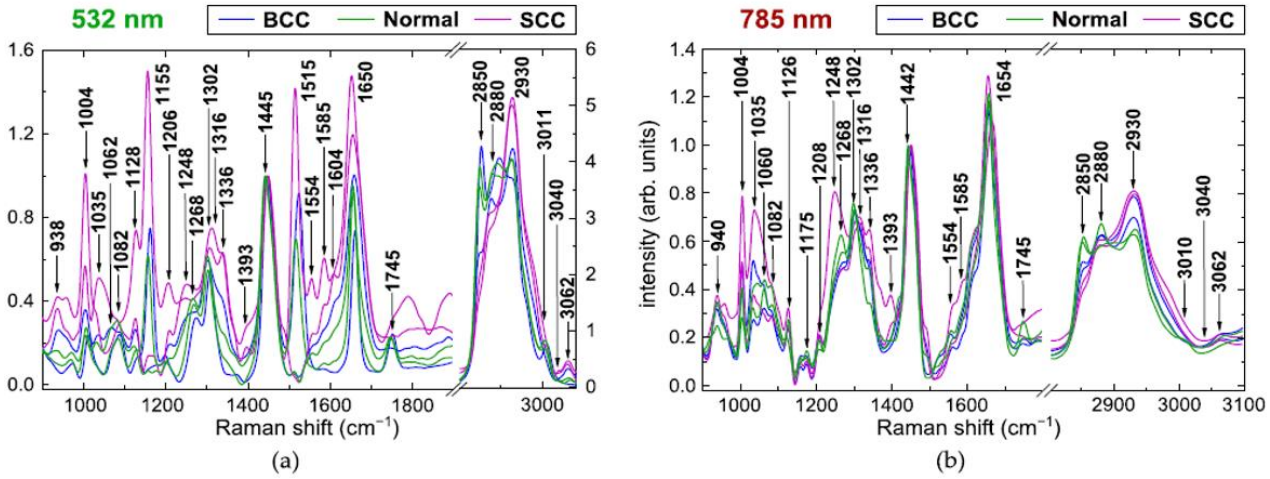

Рисунок 13 – Примеры обработанных спектров КРС базальноклеточной карциномы, интактной кожи и плоскоклеточной карциномы [295]

При отработке методики проводился выбор наиболее оптимальных длин волн (рисунок 13) [295, 296]. Некоторые линии, несмотря на более четкий сигнал при регистрации спектров с использованием длины волны 532 нм, были лучше различимы при применении длины волны 785 нм, так, полоса 1175 $см^{-1}$, связанная преимущественно с тирозином, лучше различима именно в красной области спектрального диапазона. Объединение длин волн 532 и 785 нм способствовало

улучшению трехклассовой дифференциации. Наиболее информативными были линии КРС 1268 и 1336 $см^{-1}$ при 532 нм и 2880 $см^{-1}$ при 785 нм [295, 296]. Проведенные исследования продемонстрировали информативность многоволнового подхода в диагностике опухолевых заболеваний [56-59, 295]. Несмотря на высокую информативность полученных результатов, измерения проводились ex vivo на свежезамороженных образцах, соответственно, необходимо проведение валидации метода in vivo, что и послужило предпосылкой к проведению дальнейших исследований. На следующем этапе исследования проводились не только ex vivo, но и in vivo при большем количестве исследований и нозологий. Проведенные исследования позволили подобрать оптимальный режим измерений, обосновать использование длин волн при регистрации данных, а также усовершенствовать дизайн последующих исследований, что подтвердило эффективность применения микроспектроскопии КРС в корреляции с молекулярной дифференциацией биологических тканей [58]. Помимо этого, проводились измерения in vivo с использованием длин волн 532 нм и 785 нм, линии КРС в данном случае оставались практически идентичными, однако сигнал флюоресценции при регистрации спектральных характеристик in vivo был более выраженным, по сравнению с таковым ex vivo [56-59].

Следует отметить, что диагностически значимыми являются в данном случае не столько отдельные линии КРС, сколько отношения интенсивностей полос, отражающие белково-липидный баланс, содержание нуклеиновых кислот, особенности патологического процесса при воспалении, опухоли и предраке, что доказывает необходимость расширения спектральной базы с включением в нее различных воспалительных, опухолевых и предраковых заболеваний головы и шеи другой локализации, сопоставлением измерений, проведенных ex vivo и in vivo, а также применением машинного обучения и искусственного интеллекта.

СКРС позволяет регистрировать колебательные характеристики молекул, что является основой проведения метаболомного анализа [91]. Как известно, при взаимодействии лазерного излучения с биологической тканью часть рассеянного света изменяет частоту за счет взаимодействия с молекулярными колебаниями

кристаллической решетки веществ [173, 272]. В результате формируется спектр, отражающий биохимический состав исследуемого объекта. Метод СКРСФ позволяет оценивать ткань без разрушения ее структуры, при этом линии КРС соответствуют определенным молекулярным компонентам, включая белки, липиды, аминокислоты, нуклеиновые кислоты и другие компоненты [91]. Кроме того, метод применим для экспресс-оценки морфологического строения ткани, что особенно важно при необходимости быстрой дифференциации новообразований. Таким образом, спектральный анализ следует рассматривать в совокупности с патогенезом опухолевого и воспалительного процесса [56-59, 91]. Диагностическая информативность метода возрастает, если каждый спектральный признак соотносится с конкретным молекулярным механизмом: изменением кератинизации, деградацией коллагена, перестройкой липидного обмена, активацией аминокислотного метаболизма, повреждением ДНК или изменением содержания нуклеотидов. Именно такая корреляция позволяет перейти от описания спектра к патогенетической интерпретации опухолевого процесса [91]. В перспективе СКРС может использоваться для построения алгоритмов, позволяющих дифференцировать злокачественные и доброкачественные новообразования, а также воспалительные заболевания от интактной области. Однако для клинического применения требуется накопление репрезентативной базы данных, стандартизация условий измерения, сопоставление спектров с гистологическими данными и разработка алгоритмов классификации и диагностики.

Сопоставление данных СКРСФ с данными молекулярного состава тканей является информативным в определении ранних биомаркеров заболеваний [58]. Увеличение содержания кератина в эпидермисе при плоскоклеточной карциноме может рассматриваться как потенциальный биомаркер, регистрируемый спектральным методом [314]. Теоретически такой признак способен иметь значение на этапе, когда визуальная картина новообразования еще определена, но молекулярные изменения уже сформировались. Коллаген и другие компоненты внеклеточного матрикса также имеют высокую диагностическую значимость.

Внеклеточный матрикс участвует в регуляции клеточной миграции, инвазии и метастазирования. При опухолевой прогрессии происходят качественные и количественные изменения коллагена, а также активация ферментов, участвующих в его деградации. Снижение интенсивности спектральных полос, ассоциированных с коллагеном, при базальноклеточной и плоскоклеточной карциноме может отражать разрушение матрикса и формирование условий для инвазивного роста [79, 179, 295]. Поскольку спектральный анализ позволяет регистрировать молекулярные изменения в ткани, определение коллагенового профиля может стать частью комплексного алгоритма оценки типа опухоли, ее инвазивности и вероятности прогрессирования. Аминокислоты выполняют широкий спектр функций в опухолевой клетке. Они участвуют в поддержании энергетического обмена, биосинтезе белков, липидов и нуклеиновых кислот, регуляции окислительно-восстановительного баланса и обеспечении пролиферации. Поэтому изменение аминокислотного профиля, может быть, одним из ранних признаков опухолевой перестройки ткани [152, 246]. Для опухолевых клеток характерна метаболическая адаптация, направленная на поддержание быстрого роста. Помимо гликолиза и глутаминолиза, значимую роль играют аминокислоты с разветвленными боковыми цепями – валин, лейцин и изолейцин. Эти соединения могут быть альтернативными источниками углеродных связей и участвовать в поддержании цикла трикарбоновых кислот [196]. В условиях опухолевого роста такая перестройка обеспечивает клетку энергией и метаболическими предшественниками. Глицин, глутамин и аспартат принимают участие в биосинтезе пуринов, тогда как аспартат и глутамин важны для синтеза пиримидинов [357]. Поскольку синтез нуклеотидов необходим для репликации ДНК и деления клеток, изменение содержания этих аминокислот может служить косвенным показателем пролиферативной активности опухоли. Регистрация соответствующих спектральных признаков может позволить оценивать интенсивность процессов роста и деления клеток. Лейцин рассматривается как компонент, значимый для патогенеза и метаболизма меланомы [305]. Метаболизм тирозина и фенилаланина также имеет значение при развитии меланомы,

поскольку тирозин является предшественником меланина, а фенилаланин связан с белковым обменом и может отражать изменения синтетической активности клетки [186]. Триптофан, в свою очередь, может рассматриваться как маркер окислительных процессов и поддержания клеточного гомеостаза [343]. Лактат, валин, аланин, аспартат, креатин, тирозин и глутамин относятся к энергетически важным метаболитам, связанным с ростом и пролиферацией плоскоклеточной карциномы [294]. Выявление спектральных признаков, соответствующих отдельным аминокислотам и их производным, может иметь значение для диагностики типа опухоли, оценки ее стадии и прогнозирования потенциала к метастазированию. Вместе с тем липидный обмен и фосфолипидный профиль при опухолевой трансформации играют также важную роль. Липиды являются не только структурными элементами клеточных мембран, но и активными участниками энергетического обмена, сигнальной регуляции, трансмембранного транспорта, пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Изменение липидного профиля опухолевых клеток может отражать их способность к быстрому делению, адаптации к микроокружению и прогрессированию [227, 324]. Фосфатидилсерины, фосфатидилхолины и их метаболиты рассматриваются как потенциальные биомаркеры злокачественного процесса. Фосфатидилхолиновый обмен связан с пролиферацией и апоптозом клеток, а изменение состава фосфолипидов может указывать на перестройку мембранных структур опухолевых клеток [218, 255, 288]. В спектральной диагностике маркеры липидов важны в связи с тем, что при опухолевом процессе меняется соотношение их с белками. Нуклеиновые кислоты и нуклеотиды являются ключевыми компонентами клеточного деления и опухолевой пролиферации. Повреждение ДНК может инициировать опухолевый рост, а изменение количества нуклеотидов отражает интенсивность синтетических процессов, необходимых для репликации генетического материала [266, 274]. Хотя СКРС непосредственно не заменяет молекулярно-генетические методы, она может использоваться в составе комплексной диагностической модели, где спектральные признаки соотносятся с молекулярными механизмами опухолевого роста.

3.3. Исследование диапазона применения метода СКРСФ и перспективы его использования в клинике

Для определения перспектив использования метода СКРСФ в оториноларингологической практике были проанализированы спектральные данные тканей ЛОР-органов при различных воспалительных, опухолевых (доброкачественных и злокачественных) заболеваниях.

Измерения проводились как ex vivo на биопсийном материале, так и in vivo с использованием длин волн лазерного излучения 405, 532, 785, 1064 нм [56-59]. Лазерное излучение подводилось к исследуемому биологическому объекту. Далее выполнялась регистрация основного зондирующего сигнала и обратно отраженного сигнала при экспозиции 1-5 секунд с последующей видеорегистрацией спектров. В результате получались графические данные и числовые показатели спектрального анализа. Каждый спектр содержит множество параметров: интенсивность отдельных полос, соотношения пиков, форму кривой, фоновую составляющую, высокочастотные и низкочастотные диапазоны. Алгоритмы классификации способны выявлять скрытые закономерности между спектральными признаками и морфологически подтвержденным диагнозом. В перспективе это позволит создать систему поддержки принятия врачебных решений, основанную на сравнении нового спектра с базой данных типичных спектральных профилей [66, 256]. Однако внедрение системы искусственного интеллекта и машинного обучения в спектроскопии требует стандартизации исходных данных. Необходимо унифицировать методику регистрации спектров, параметры лазерного излучения, условия подготовки ткани, алгоритмы предобработки, правила формирования обучающей выборки и критерии оценки точности модели. Без этого автоматизированная классификация может быть ограничена конкретными условиями эксперимента и не обладать достаточной воспроизводимостью в клинической практике. При отработке метода СКРСФ были проанализированы спектры тканей ЛОР-органов в норме и при заболеваниях воспалительного и опухолевого генеза. Для иллюстрации спектральных характеристик при заболеваниях ЛОР-органов различной анатомической

локализации были зарегистрированы спектры с поверхности тканей при воспалительных и опухолевых заболеваниях, далее были проанализированы усредненные спектры при упомянутых видах нозологии (рисунки 14-20) [89].

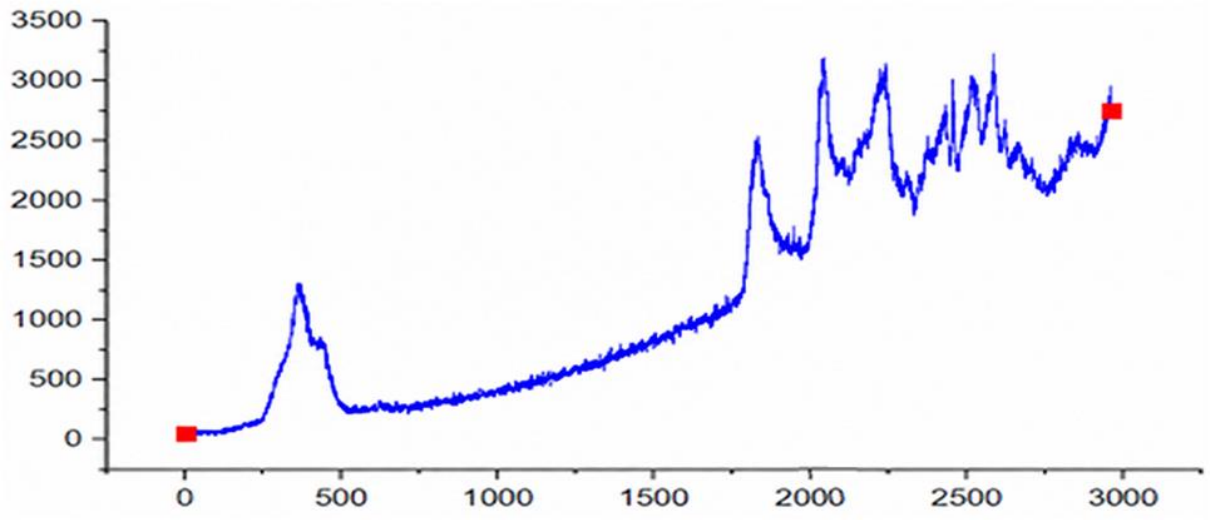

Рисунок 14 – Спектральные характеристики кисты верхнечелюстной пазухи. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

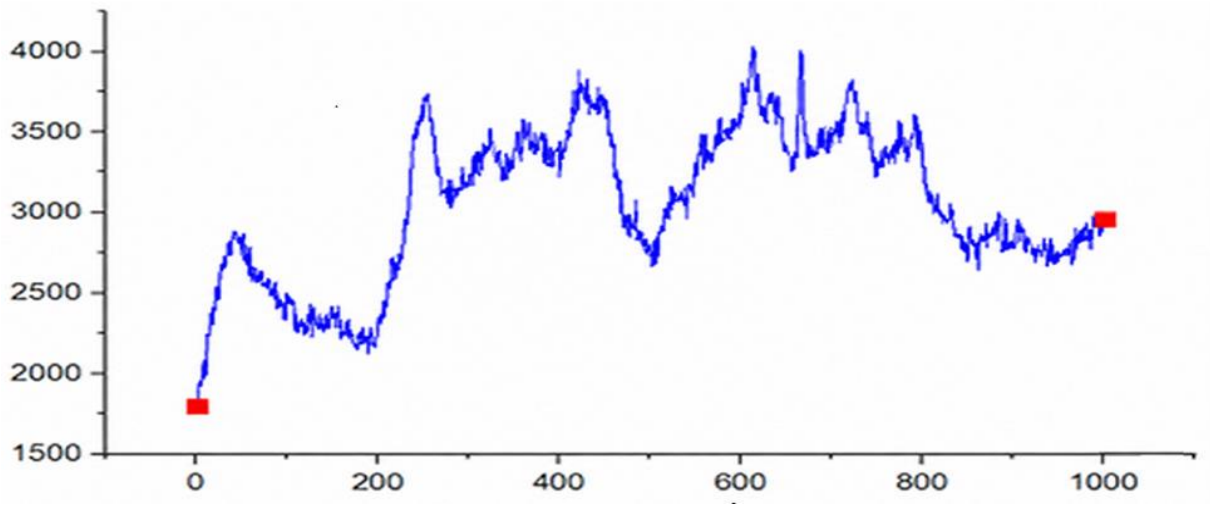

Рисунок 15 – Спектральные характеристики интактной слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

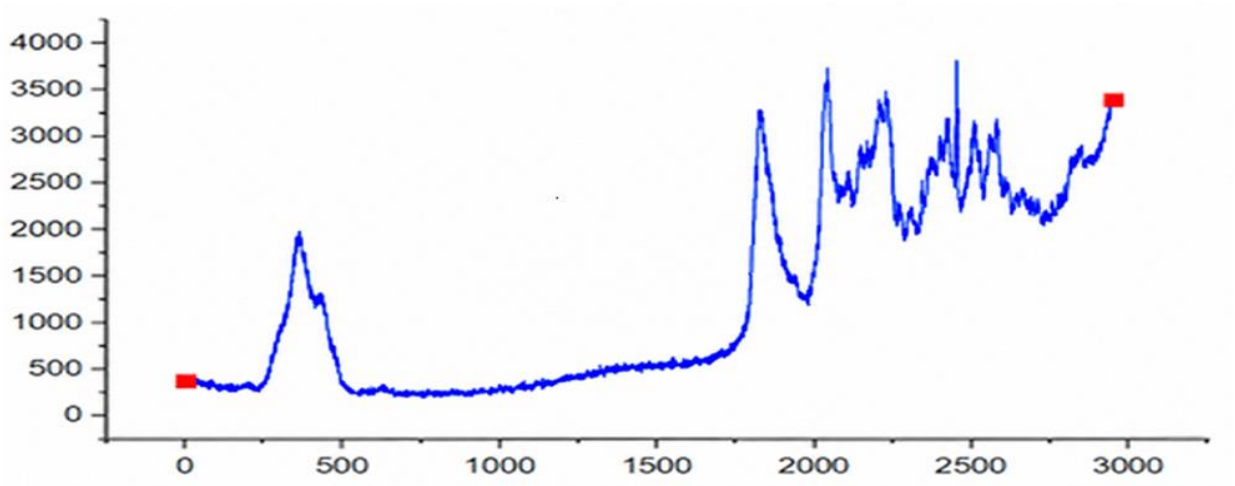

Рисунок 16 – Спектральные характеристики слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи при хроническом риносинусите без формирования полипов. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунках 14-16 проиллюстрированы линии комбинационного рассеяния света интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух, слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите, а также при кистах данной анатомической локализации; они расположены в различных областях волновых чисел, что является обоснованием к проведению исследований in vivo и ex vivo для дифференциации патологии околоносовых пазух с использованием метода СКРСФ, что было выполнено на следующем этапе исследований. На рисунках 17 и 18 продемонстрированы спектры лимфоидной ткани при аденоидных вегетациях и хроническом тонзиллите.

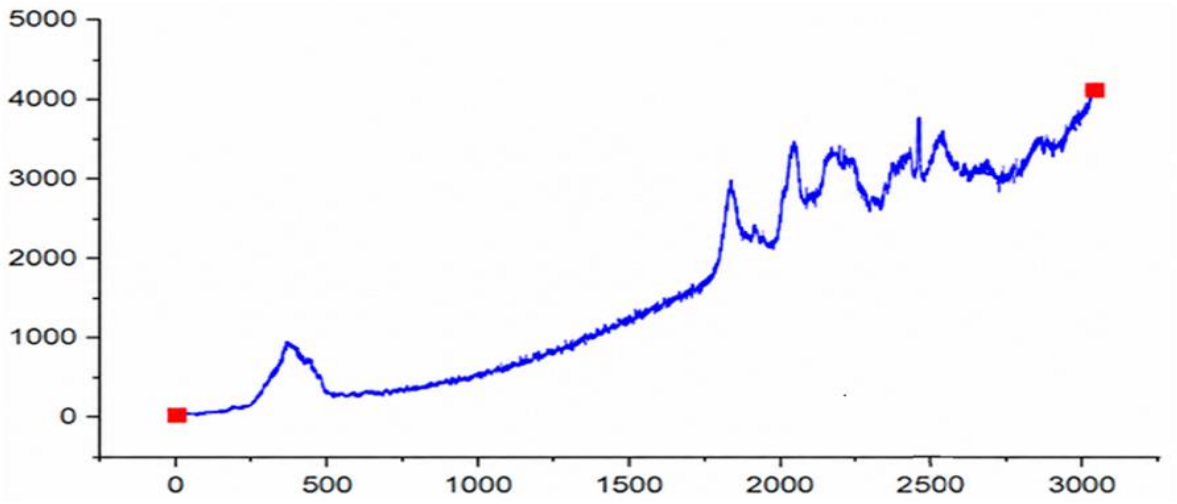

Рисунок 17 – Спектральные характеристики лимфоидной ткани аденоидных вегетаций. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

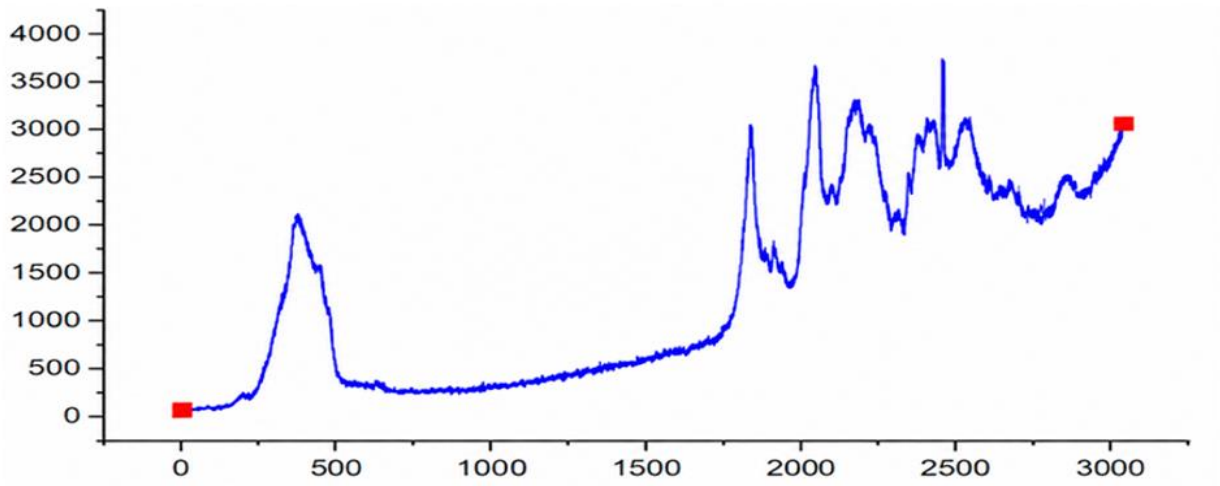

Рисунок 18 – Спектральные особенности ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунках 19 и 20 изображены спектральные характеристики плоскоклеточной карциномы гортани и глотки, соответственно. Линии КРС позволяют идентифицировать тип опухолевой ткани и свидетельствуют о наличии уникальных биокомпонентов тканей, что является диагностически значимым при дифференциации данных нозологий между собой и другой патологией. Анализ спектров КРСФ, наиболее информативных линий КРС и метаболомных маркеров тканей с расчетом индексов и последующей разработкой алгоритмов является значимым для проведения дифференциальной диагностики заболеваний ЛОР-органов между собой.

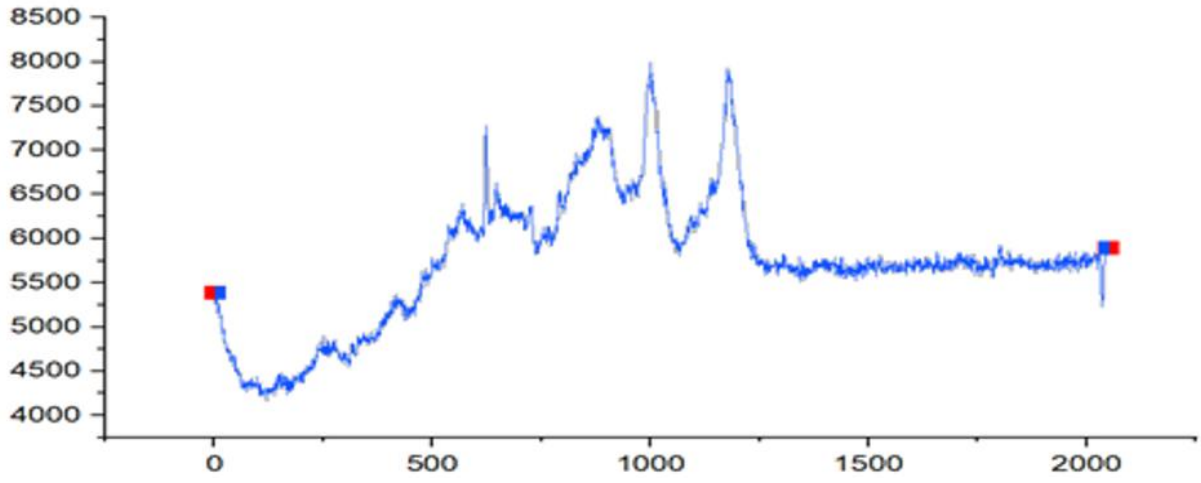

Рисунок 19 – Спектральные особенности ткани голосовых складок при плоскоклеточной карциноме гортани. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

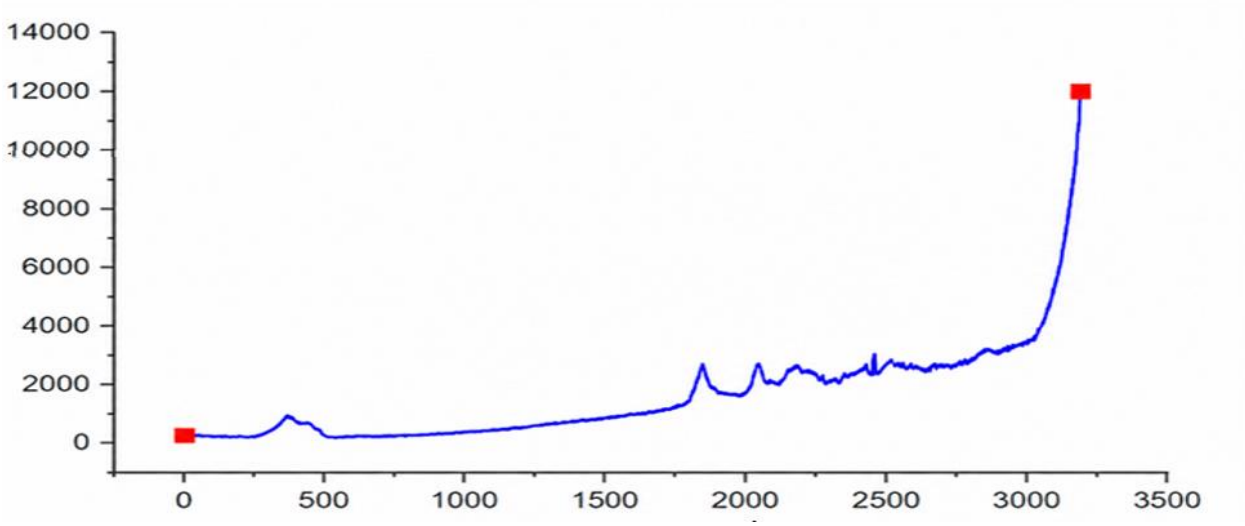

Рисунок 20 – Спектральные особенности ткани небных миндалин при плоскоклеточной карциноме небных миндалин.
По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Полученные в ходе разработки и апробации метода СКРСФ данные позволили обосновать необходимость разработки алгоритмов экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов (приложение Б).

Глава 4. СПЕКТРОСКОПИЯ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОР-ОРГАНОВ

Дифференциальная диагностика воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов представляет собой одну из актуальных задач современной оториноларингологии, онкологии и ряда смежных клинических дисциплин. В рамках проведенных исследований ex vivo и in vivo с применением СКРСФ продемонстрирована возможность дифференциации различных типов тканей при патологии ЛОР-органов с высокими показателями чувствительности, специфичности и точности [56-59]. При разграничении исследуемых классов тканей особое значение имеет определение наиболее информативных диагностических критериев и показателей. Для их выявления и оценки применялись методы многомерного статистического анализа.

В ходе исследования проводилось сравнительное изучение спектральных характеристик интактных тканей и тканей аналогичной анатомической локализации при хроническом тонзиллите, аденоидных вегетациях, хроническом риносинусите с формированием полипов и без формирования полипов, а также при хроническом гнойном среднем отите с формированием холестеатомы и без ее развития. Наряду с этим исследовались ткани ЛОР-органов при доброкачественных и злокачественных новообразованиях ЛОР-органов. В совокупность исследованных опухолевых заболеваний входят плоскоклеточная карцинома гортани, ротоглотки и носоглотки, полости носа и околоносовых пазух, а также другие новообразования гортани, глотки и шеи, включая случаи метастатического поражения регионарных лимфатических узлов и иные заболевания органов головы и шеи, такие как злокачественная меланома слизистой оболочки полости носа, рак щитовидной железы, плоскоклеточная карцинома слюнных желез и другие. Исследование указанных нозологий проводилось в условиях ex vivo и in vivo (приложение А).

4.1. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний полости носа и околоносовых пазух

Отличительной особенностью разработанного и представленного в работе метода является возможность проведения ранней неинвазивной экспресс-диагностики патологического процесса с применением нескольких длин волн и последующей идентификацией биомаркеров заболеваний in vivo и ex vivo. Метод характеризуется высокими показателями чувствительности, специфичности, точности, скорости и не требует дополнительной пробоподготовки, характеризуется быстротой и неинвазивностью.

Описанные ранее способы диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов являются эффективными для разделения классов тканей аналогичной локализации [56-59]. Преимуществами разработанного метода диагностики, основанного на получении спектров КРСФ, является то, что дифференциация тканей ЛОР-органов представляется возможной с использованием нескольких длин волн, что позволяет проводить анализ тканей на различной глубине, получая всю необходимую информацию о биологическом объекте. Это позволяет частично компенсировать ограничения, обусловленные глубиной проникновения лазерного излучения, вариабельностью спектрального отклика биологических тканей и необходимостью выявления ранних специфических биомаркеров заболевания. Кроме того, рассматриваемый метод является неинвазивным и быстрым и может применяться как ex vivo, так и in vivo. Использование аппаратно-программных комплексов, функционирующих в диапазоне длин волн от 405 до 1064 нм, расширяет диагностические возможности метода и повышает его информативность при заболеваниях ЛОР-органов, что было продемонстрировано в серии проведенных исследований [56-59]. Предлагаемый диагностический подход обеспечивает неинвазивную регистрацию изменений физиологических, морфометрических и метаболических параметров тканей в течение нескольких секунд. В связи с этим данный способ может рассматриваться как информативный диагностический инструмент, позволяющий оценивать

структурные, метаболические и физиологические параметры слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, гортани, глотки и уха в норме, при воспалительном и опухолевом процессе. Разработка позволяет решить проблему сложности идентификации патологического процесса еще до формирования изменений, доступных визуализации при стандартном оториноларингологическом осмотре, что позволяет применить в данном случае термин «ранняя диагностика». Метод СКРСФ может применяться для определения границ патологического процесса, выявления рецидива в реабилитационном периоде и выбора рационального лечения с учетом характера выявленной патологии. Применение многоволновой СКРСФ обеспечивает проведение быстрой, неинвазивной, высокочувствительной и высокоспецифичной диагностики, а также позволяет выявлять биомолекулярные особенности состава интактных тканей ЛОР-органов и тканей при патологии уже на ранних стадиях ее развития. Одним из существенных преимуществ СКРСФ является возможность одновременной регистрации широкого спектра параметров в режиме реального времени. Это создает предпосылки не только для первичного выявления заболевания, но и для динамического мониторинга, оценки риска рецидивирования, анализа эффективности проводимого лечения и последующей коррекции лечения. Внедрение метода СКРСФ в широкую клиническую практику может способствовать повышению эффективности ранней диагностики и профилактики заболеваний полости носа и околоносовых пазух, предотвращению их рецидивов и более своевременному назначению терапии. Использование аппаратно-программного комплекса с лазерным излучением нескольких длин волн и регистрацией КРС обеспечивает возможность идентификации различных типов биомолекул и их компонентов, спектральные характеристики которых отличаются в интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс. В ходе исследования были установлены специфические полосы КРС, которые являются информативными для экспресс-диагностики различных заболеваний ЛОР-органов. Поиск биомаркеров в экспресс-режиме относится к числу актуальных направлений современной оториноларингологии, онкологии и биомедицины. В рамках

проведенного исследования был выполнен анализ спектральных характеристик в сопоставлении с результатами гистологического исследования. Интерпретация спектральных данных требует комплексной оценки биологических компонентов тканей не только ex vivo, но и in vivo, помимо этого важной является оценка кровотока, микроциркуляции и других физиологических параметров. Системный подход в данном случае позволяет оценить изменения в тканях в динамике и на различных стадиях патологического процесса. Особую диагностическую значимость приобретает анализ физиологических и метаболических изменений, включая особенности кровоснабжения и микроциркуляции, уровень пролиферативной активности клеток, различия в составе метаболитов и другие свойства тканей. В ходе представленного исследования были проанализированы спектры интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, а также спектры слизистой оболочки, вовлеченной в воспалительный и опухолевый процесс (доброкачественный и злокачественный). Проведена сравнительная оценка спектральных характеристик интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и тканей околоносовых пазух при хроническом риносинусите с формированием полипов и без их развития, плоскоклеточной карциноме, кистах околоносовых пазух и другой патологии ЛОР-органов.

Для интерпретации полученных результатов необходимо обратиться к патогенезу и особенностям течения заболеваний полости носа и околоносовых пазух, что позволяет более полно охарактеризовать патоморфологические и метаболомные особенности патологического процесса. В частности, полипозный риносинусит представляет собой распространенное тяжелое гетерогенное мультифакторное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух [78]. Поскольку полипозный риносинусит относится к полиэтиологичным и полифакторным заболеваниям, сопровождается формированием доброкачественного разрастания полипозной ткани в области слизистой оболочки и характеризуется склонностью к рецидивированию, особое значение приобретает выявление его на ранней стадии. Именно на данном этапе лечение может быть наиболее эффективным и

способствовать предотвращению хирургического вмешательства в будущем. Несмотря на наличие различных медикаментозных подходов к лечению полипозного риносинусита, единая концепция его этиологии и патогенеза до настоящего времени окончательно не сформирована. Известно, что развитие полипозного процесса сопровождается ремоделированием слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, которое может включать метаплазию мерцательного эпителия, гиперплазию бокаловидных клеток, утолщение базальной мембраны, фиброзирование, неоангиогенез и другие морфологические изменения [118]. Патологический процесс при полипозном риносинусите может сопровождаться воспалительной реакцией с эозинофилией периферической крови или тканевой эозинофилией, повышением уровня общего IgE, продукцией цитокинов и другими иммунологическими изменениями. Формирование полипозной ткани связано с участием различных клеток, вовлеченных в хроническое воспаление, включая эозинофилы, нейтрофилы, плазматические клетки и лимфоциты [299]. Одной из наиболее значимых клинических проблем при ведении пациентов с полипозным риносинуситом является высокая частота рецидивирования заболевания, в том числе, после проведенного хирургического лечения [111]. В формировании данной патологии участвуют нарушения врожденного и адаптивного иммунитета, аллергическая реакция, наследственная предрасположенность, анатомические особенности строения полости носа и околоносовых пазух, а также иные факторы [28]. Современные представления о хроническом риносинусите указывают на то, что фенотипическая классификация не всегда в полной мере отражает патофизиологические механизмы заболевания [105]. Это подтверждается сочетанием хронического риносинусита с бронхиальной астмой у части пациентов, вариабельностью ответа на глюкокортикостероидную и биологическую терапию, а также отсутствием стойкого клинического эффекта после хирургического лечения у отдельных групп пациентов. Одним из ведущих патогенетических механизмов полипозного риносинусита является хроническое воспаление, сопровождающееся инфильтрацией слизистой оболочки активированными эозинофилами, нейтрофилами и плазматическими клетками

[279]. Эозинофилы секретируют широкий спектр провоспалительных медиаторов, включая основной белок, катионный белок, нейротоксин и пероксидазу, обладающие протеолитической активностью. Эозинофильная инфильтрация имеет существенное значение в патогенезе заболевания [331]. Эозинофилами продуцируются медиаторы воспаления 2-го типа, в том числе, гранулярные белки, цитокины, хемокины, ферменты, факторы роста, липиды и продукты окислительного метаболизма. В частности, интерлейкин-5 является одним из ключевых в дифференцировке, миграции, активации и выживании эозинофилов, регуляции активности тучных клеток и базофилов, врожденных лимфоидных клеток, В-лимфоцитов и эпителиальных клеток. Таким образом, IL-5 рассматривается в качестве одной из перспективных терапевтических мишеней при полипозном риносинусите [191]. Под воздействием цитокинов повышается проницаемость сосудистой стенки, активируются процессы транссудации, нарушается электролитный обмен и усиливается выраженность воспалительной реакции. Значимую роль в развитии хронического воспаления играет дисфункция эпителия слизистой оболочки [206]. К числу биомаркеров, участвующих в патогенезе полипозного риносинусита, относят фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF), периостин и ряд других молекулярных показателей. Периостин рассматривается как один из значимых маркеров хронического риносинусита с формированием полипов. В отдельных исследованиях установлено, что выраженность тканевого эозинофильного воспаления, уровень сывороточного периостина в предоперационном периоде и содержание периостина в ткани были выше у пациентов с полипозным риносинуситом. В связи с этим периостин может рассматриваться в качестве биомаркера для оценки тяжести заболевания, прогнозирования его течения и определения риска рецидивирования [164, 264, 318, 353]. Понимание патогенеза и молекулярных особенностей при полипозном риносинусите и других заболеваниях ЛОР-органов позволяет проводить интерпретацию спектроскопических признаков патологии воспалительного и опухолевого генеза в сравнительном аспекте. Исследования проводились как ex vivo, так и in vivo. На первом этапе серии исследований проводились измерения на

длине волны лазерного излучения 532 нм. При получении недостаточно информативных данных применялись длины волн 785 нм и 1064 нм. При хроническом гиперпластическом риносинусите при анализе спектра отмечались линии КРС в диапазонах 300–450, 1800–2150, 2200–2750 и 2800–3100 $см^{-1}$. Спектр характеризовался наличием множества мелких пиков и шумов, выраженным сигналом флюоресценции, соответственно, этих результатов было недостаточно для спектрально-метаболомного анализа, что и явилось обоснованием к использованию нескольких длин волн и сопоставлению спектроскопических данных ex vivo и in vivo (рисунок 21).

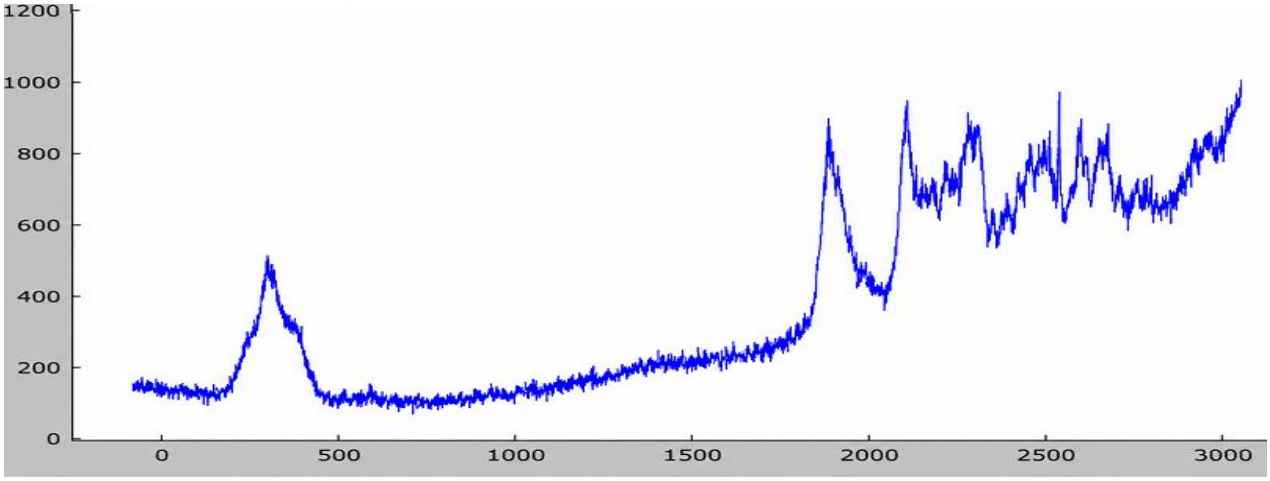

Рисунок 21 – Спектр слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

При анализе спектра ткани полипа при хроническом риносинусите, полученного in vivo (рисунок 22), визуализируются основные линии КРС в областях 1200, 1510 и 2950 $см^{-1}$, максимум сигнала флюоресценции отмечается на величине около 4100 относительных единиц, при этом после пика 2950 $см^{-1}$ продемонстрировано вторичное повышение флюоресцентного сигнала. Для получения статистически значимых результатов исследования была проведена серия экспериментов ex vivo и in vivo. Было доказано, что при полипозном риносинусите отмечается появление пиков, которые не регистрируются при хроническом воспалении без формирования полипозной ткани, что явилось основанием к проведению следующего этапа исследований [58].

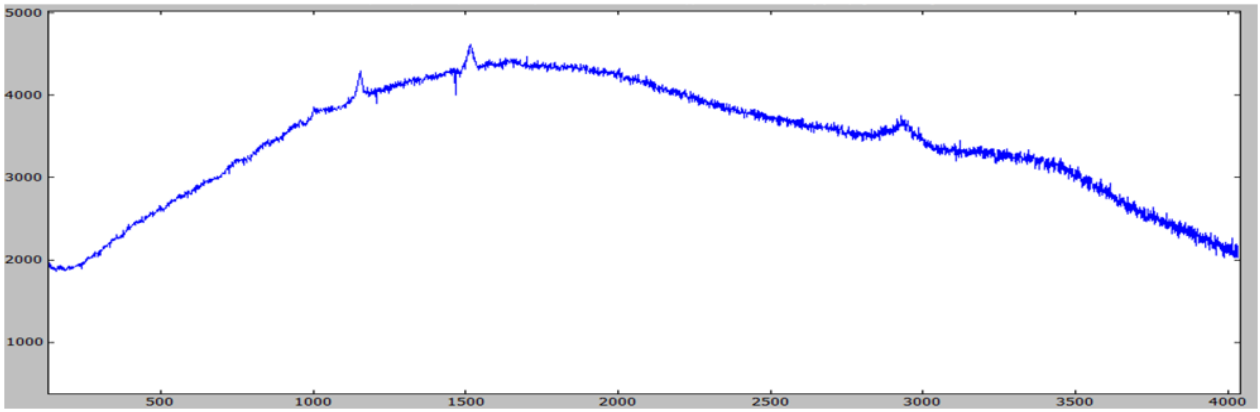

Рисунок 22 – Спектр ткани полипа при хроническом риносинусите. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 23 проиллюстрированы спектральные особенности тканей при дисплазии на фоне хронического риносинусита. Визуализируется снижение интенсивности флюоресценции, линии КРС смещены влево по оси абсцисс, они фиксируются в областях 1050, 1150 и 1500 см$^{-1}$, при этом пик, отмечающийся после снижения флюоресцентного сигнала, смещен вправо и регистрируется в области 3000 см$^{-1}$. Спектр характеризуется наличием плато в области 1900-2800 см$^{-1}$, которое переходит в пик на величине волнового числа 3000 см$^{-1}$. Помимо этого, отмечается вторичный подъем флюоресценции. Описанные изменения информативны, однако они нуждаются в верификации на статистически значимом материале с проведением обработки результатов исследования, что и было выполнено на следующих этапах исследования.

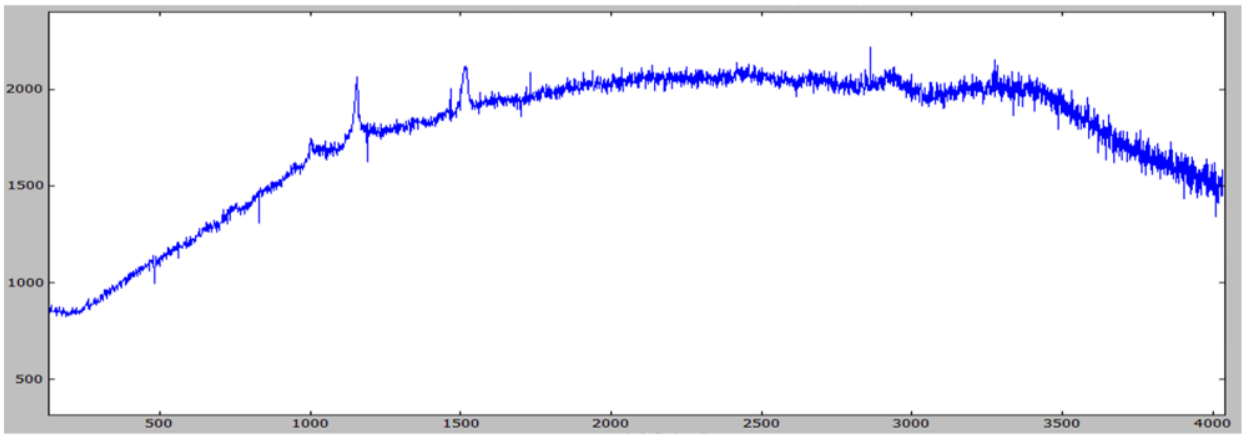

Рисунок 23 – Спектр участка дисплазии слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи на фоне длительно протекающего хронического риносинусита. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Спектр инвертированной папилломы верхнечелюстной пазухи характеризовался наиболее интенсивными линиями КРС в областях 430–450, 600–630 и 1800–1850 $см^{-1}$. Спектр ткани отличался от таковых при различных формах хронического риносинусита, однако флюоресцентный фон значительно затруднял интерпретацию спектральных характеристик (рисунок 24).

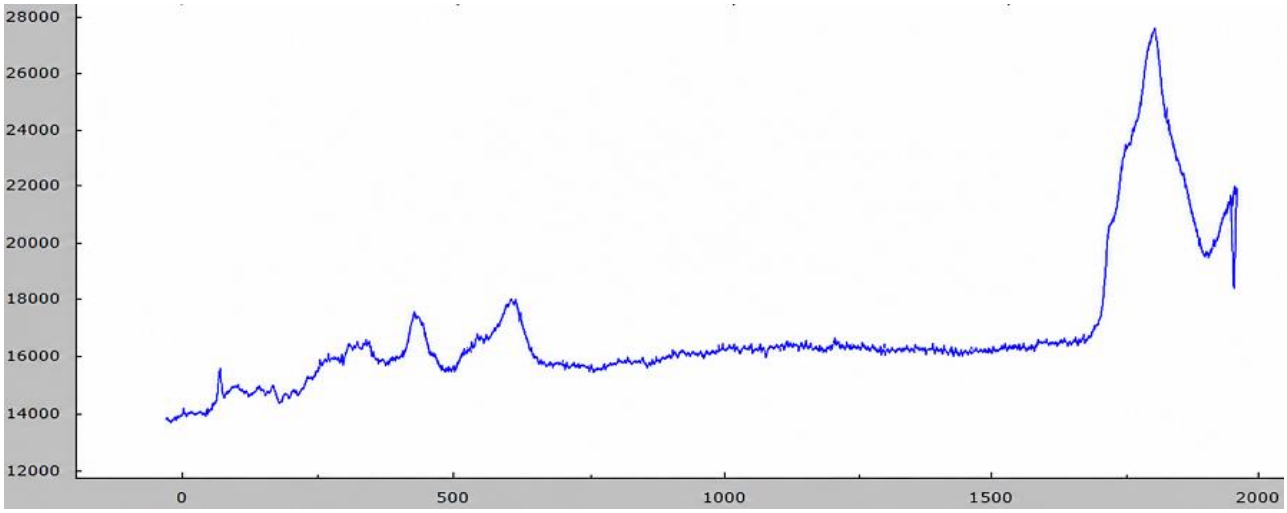

Рисунок 24 – Спектр инвертированной папилломы верхнечелюстной пазухи. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

При меланоме слизистой оболочки носа, помимо линий КРС в областях 1200, 1500 и 2950 $см^{-1}$, отмечалось наличие множества пиков, не характерных для интактной ткани и хронического риносинусита, а также доброкачественного процесса в проекции околоносовых пазух при формировании кист. Интенсивность флюоресценции составила около 4000 относительных единиц, при этом пиковая интенсивность превышала данное значение (рисунок 25).

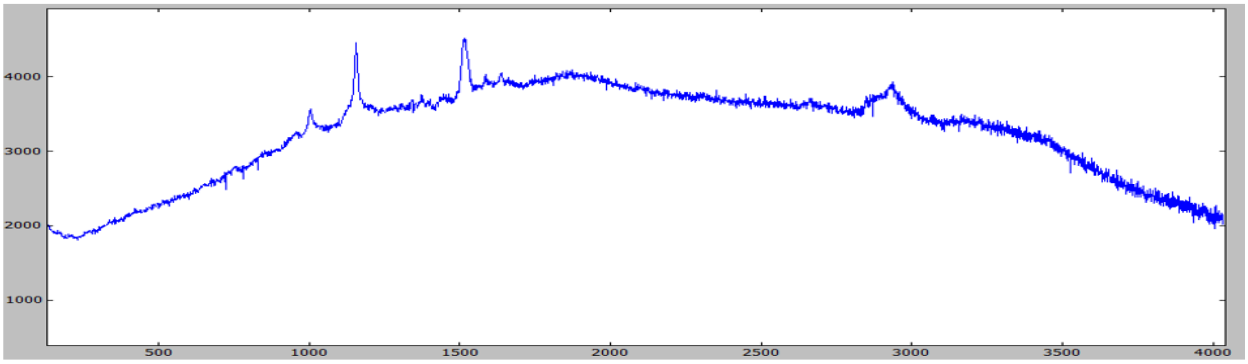

Рисунок 25 – Спектр меланомы слизистой оболочки полости носа. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

При синоназальной карциноме спектральная кривая КРСФ в целом оставалась сглаженной, в отличие от хронического гиперпластического риносинусита, интенсивность флюоресценции достигала примерно 14000 относительных единиц, а максимум приходился на область 1990 $см^{-1}$. Спектр характеризовался наличием множества низкоамплитудных пиков, определялись линии КРС в областях 2990 $см^{-1}$ и 3250 $см^{-1}$ (рисунок 26). Выраженный флюоресцентный фон затруднял визуализацию линий КРС.

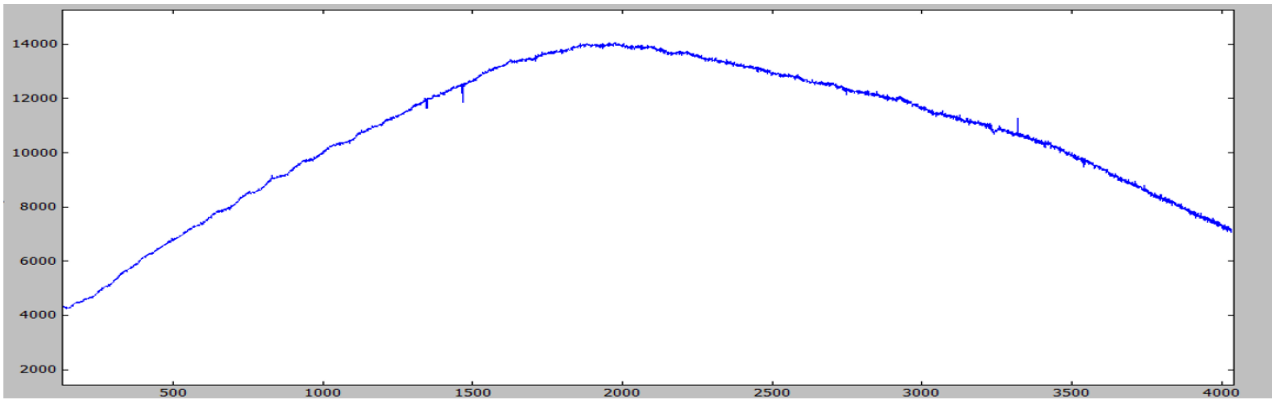

Рисунок 26 – Спектр ткани синоназальной карциномы.
По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Однако одной длины волны для получения максимально полной картины о биологическом объекте не всегда достаточно. Приведенные спектральные кривые говорят о необходимости проведения дополнительных исследований, в том числе для оценки вклада КРСФ, с использованием различных длин волн и проведением метаболомного анализа.

Так, на следующем этапе исследований использовался метод СКРСФ, функционирующий на длинах волн 405, 532, 785 и 1064 нм, при этом была установлена корреляция между содержанием биомаркеров тканей в норме и при патологии. Данные биомаркеры представляют интерес для раннего выявления заболеваний, поскольку регистрируются при минимальной их концентрации, еще до патоморфологических изменений в тканях, за счет высокой чувствительности и специфичности метода СКРСФ. Ниже приведены результаты проведенных исследований ex vivo и in vivo с использованием длин волн 405, 532, 785, 1064 нм для дифференциации интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых

пазух от ткани, вовлеченной в патологический процесс при заболеваниях полости носа и околоносовых пазух. На рисунке 27 изображены спектры КРС интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. Для получения данных о биомаркерах полипозной ткани необходим достаточный объем статистического материала.

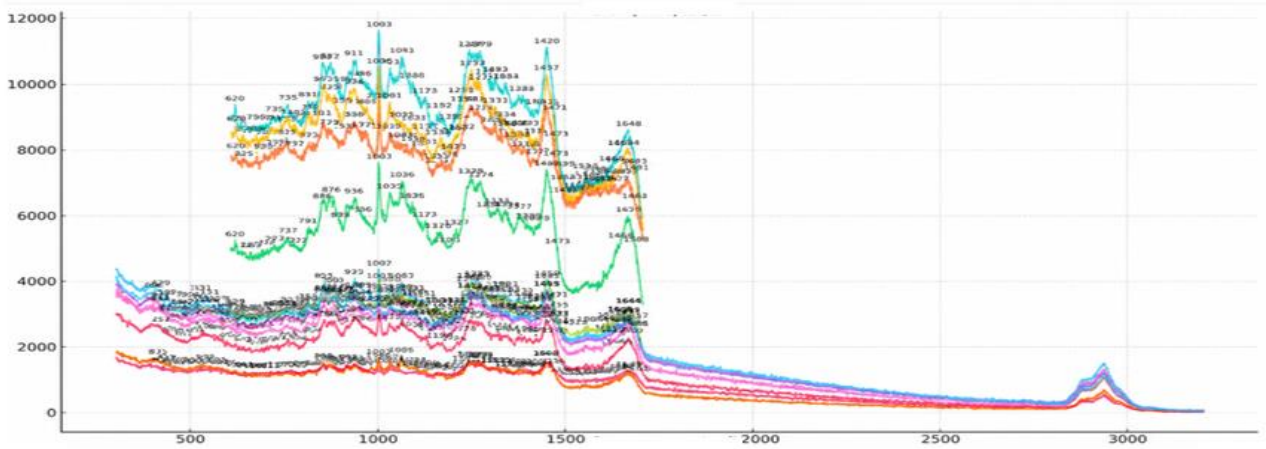

Рисунок 27 – Спектры КРС интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Так, были проанализированы спектры полипозной ткани в сравнении с интактной слизистой оболочкой полости носа и околоносовых пазух, а также с тканями доброкачественных и злокачественных новообразований данной области. На основании полученного массива данных продемонстрированы наиболее информативные линии КРС, которые были характерны для интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс. Возможность их идентификации была подтверждена в серии исследований и экспериментов с применением СКРС при длинах волн возбуждающего излучения 405, 532, 785 и 1064 нм. Результаты исследования приведены ниже в виде моделей, полученных после сглаживания спектральных кривых, выделения сигнала КРС на общем фоне, нормирования и центрирования. Дифференциация интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и полипозной ткани при полипозном риносинусите, а также ткани кист околоносовых пазух и слизистой оболочки околоносовых пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов была выполнена с показателями специфичности, чувствительности и точности, приближающимися к

100%, итоговые значения чувствительности и специфичности были рассчитаны согласно распределению Пуассона. В ходе исследования были установлены уникальные наиболее информативные линии КРС. Выделение линий КРС осуществлялось с использованием VIP (Variable Importance in Projection) – показателей модели PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis) – метода проекции на латентные структуры и линейного дискриминантного анализа, метода главных компонент, алгоритма случайного леса и построения ROC-кривых. Отмечались выраженные различия спектров интактной ткани и ткани при хроническом воспалительном процессе при различных формах риносинусита и кистах околоносовых пазух. Данные результаты проиллюстрировали значительный потенциал для проведения в перспективе ускоренной диагностики полипозного процесса и использования метода СКРСФ в качестве скринингового инструмента в оториноларингологии и других направлениях клинической медицины, а также для проведения дифференциальной диагностики с другими воспалительными и опухолевыми заболеваниями полости носа и околоносовых пазух. На рисунке 27 представлены спектральные характеристики с указанием значений волновых чисел. Основной задачей анализа являлось выделение среди них наиболее информативных спектральных параметров, обеспечивающих дифференциальную диагностику полипозного риносинусита, интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и кист околоносовых пазух. Идентификация наиболее значимых линий КРС при различных значениях волнового числа является важной для интерпретации морфометрических, метаболических и функциональных параметров тканей в норме и при патологии. В ходе исследования был проведен сравнительный анализ обработанных спектров интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов, а также ткани полипов при полипозном риносинусите и кист верхнечелюстных пазух. При сравнении типов тканей между собой – интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, кист околоносовых пазух и слизистой оболочки, вовлеченной в хронический

воспалительный процесс при различных формах риносинусита, установлено, что применение СКРСФ при длинах волн возбуждающего излучения 405, 532, 785 и 1064 нм позволяет дифференцировать их с чувствительностью и специфичностью, приближающимися к 100%. Ниже представлены результаты проведенного исследования, полученные в условиях ex vivo и in vivo. На рисунке 28 изображены спектры КРС слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, вовлеченных в воспалительный процесс при полипозном риносинусите (спектры ткани полипов). По оси абсцисс отмечены величины волновых чисел, по оси ординат – интенсивность флюоресценции в относительных единицах.

На спектре на рисунке 29 визуализируются характерные пики, соответствующие белковым компонентам, включая амидные полосы I и III, аминокислотам, в том числе фенилаланину и пролину, а также нуклеиновым кислотам и липидам. Выявленные компоненты отражают процессы хронического воспаления и ремоделирования слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, характерные для полипозного риносинусита [58].

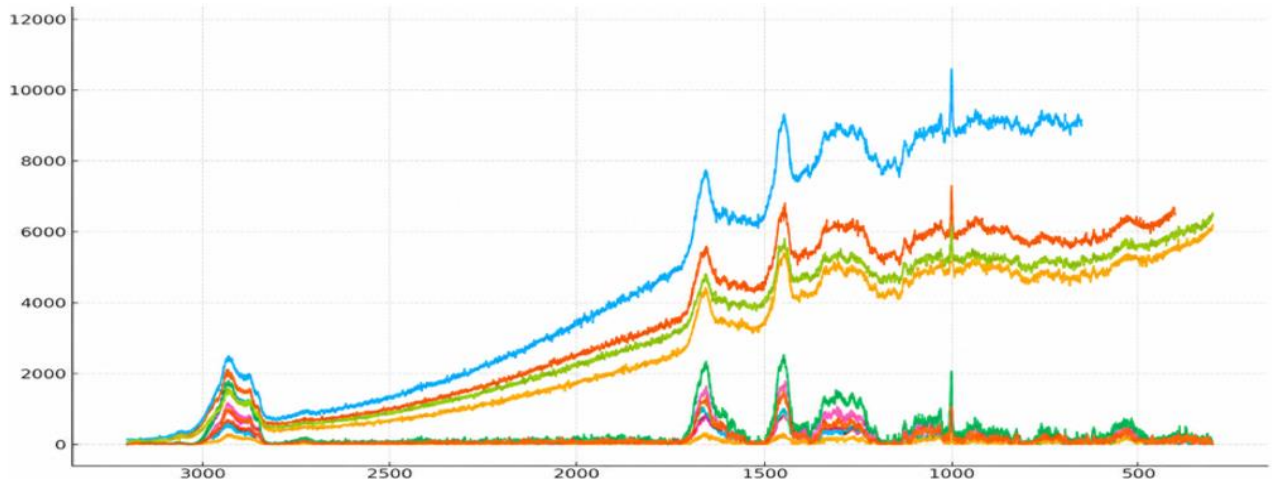

Рисунок 28 – Спектральные особенности слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, вовлеченных в воспалительный процесс при полипозном риносинусите (спектры ткани полипов). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

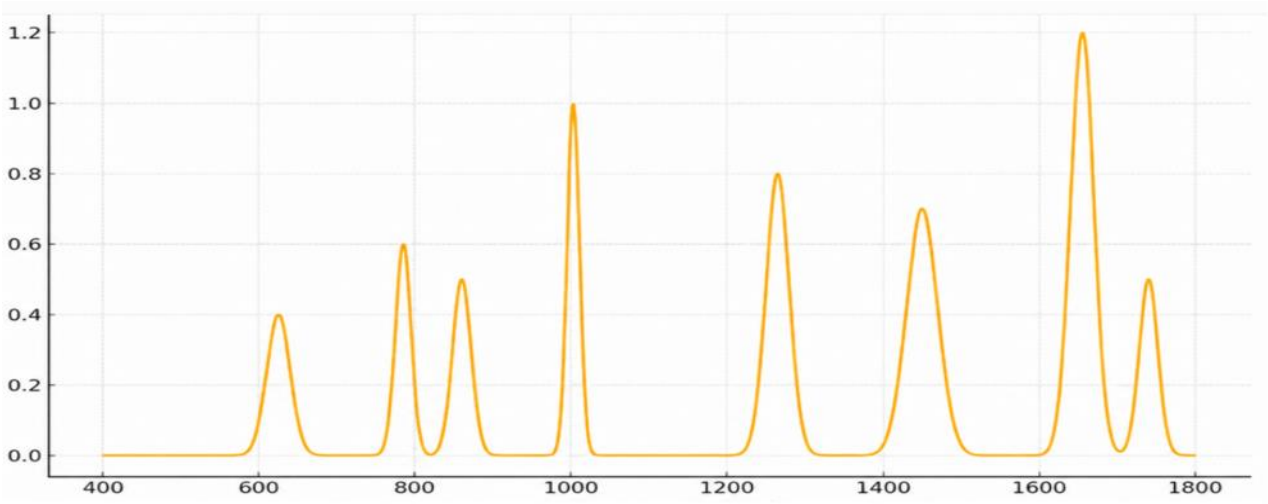

Рисунок 29 – Спектр КРС, зарегистрированный с поверхности полипозной ткани при риносинусите. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В ходе исследования были также выделены индивидуальные спектральные линии, характерные для полипозного риносинусита и ассоциированные с наличием периостина, гликозаминогликанов и различных классов липидов. Указанные соединения могут рассматриваться как значимые биомаркеры данного заболевания. На рисунке 30 представлен спектр КРС белка периостина, уровень экспрессии которого был повышен при эозинофильном воспалении, характерном для полипозного риносинусита, что было продемонстрировано в ходе проведенного исследования [58].

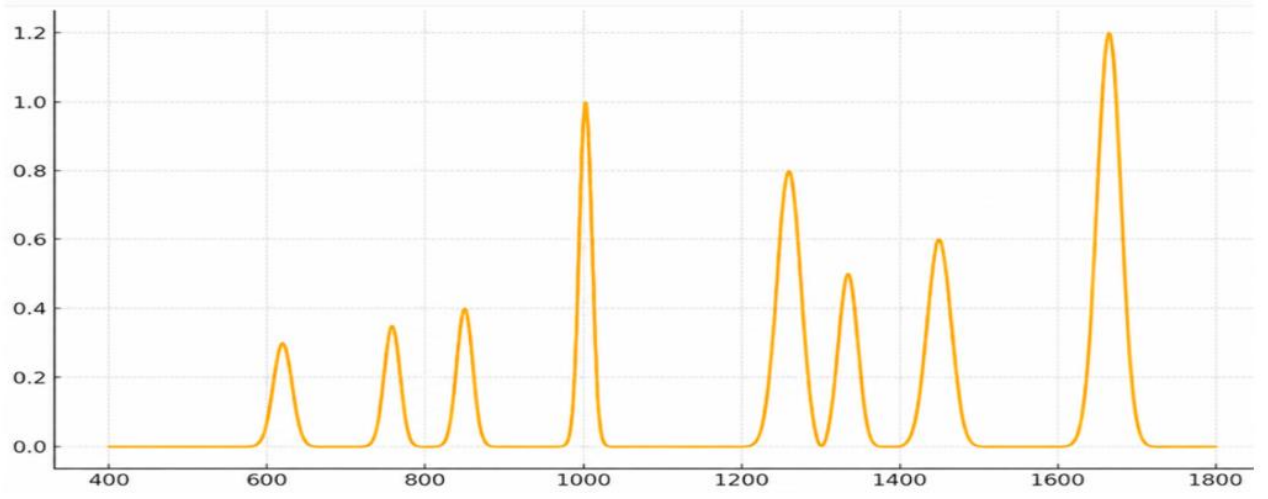

Рисунок 30 – Спектр КРС белка периостина. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

К характерным полосам КРС в данном спектре относятся пик на величине волнового числа 1003 $см^{-1}$, соответствующий фенилаланину, и полоса в области 1665 $см^{-1}$, ассоциированная с амидом I. Совокупность выявленных спектральных характеристик отражает белковую структуру периостина. Для периостина также характерно наличие интенсивных полос в области амида I на величине волнового числа 1665 $см^{-1}$, амида III и аминокислот пролинового ряда в диапазоне около 850 $см^{-1}$. Результаты серии проведенных исследований свидетельствуют о том, что периостин может рассматриваться как потенциальный биомаркер при выполнении многоволновой СКРС. Некоторые ранее верифицированные компоненты биологических тканей, также подлежащие анализу в рамках данного метода, проанализированы и систематизированы в таблице 2 [295]. В ходе исследования были продемонстрированы молекулярные компоненты интактной ткани и ткани, вовлеченной в полипозный риносинусит, в корреляции с величинами волновых чисел [58].

Каждый спектр КРС, зарегистрированный в интактной ткани, слизистой оболочке околоносовых пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов и при полипозном риносинусите, а также при опухолевом процессе данной локализации, был верифицирован путем проведения гистологического исследования, при этом чувствительность, специфичность и точность метода приближались к 100%.

Патоморфологическому описанию следует уделить особое внимание, так как оно позволяет интерпретировать спектроскопические особенности тканей. Распределение исследуемого материала по группам осуществлялось в соответствии с гистологической верификацией клинического диагноза. Гистологическое строение ткани полипа отличалось тем, что морфологическая картина была представлена миксоидной стромой с очагово-диффузной лимфомакрофагальной инфильтрацией и единичными эозинофилами. Полиповидный фрагмент был выстлан призматическим эпителием. Гистологическое строение интактной ткани было представлено фрагментом слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи, которая имела нормальное

гистологическое строение, соответствующее интактной слизистой оболочке околоносовых пазух.

Таблица 2 – Линии КРС в корреляции с биомолекулярным составом тканей при использовании длин волн лазерного излучения 532 нм и 785 нм [295]

Линии КРС (532 нм)	**Линии КРС (785 нм)**	**Молекулярные особенности**	**Биокомпонент**
936–940	936–940	ν(C–C), AA side-chain vibrations	proteins (α-helix), collagen (Pro, Val)
1000–1005	1000–1005	ν(C–C) aromatic ring breathing, Phe; ρ(CH3), carotenoids	proteins (Phe), collagen, elastin, keratin, carotenoids
1031–1035	1031–1037	δ(C–H) in-plane bending, δ(CH2CH3), Phe	proteins (Phe, Pro)
1060–1063	1060–1064	ν(C–C) skeletal (trans)	lipids, ceramide
1080–1084	1079–1085	ν(C–C) or ν(C–O) skeletal (gauche), phospholipids; ν(PO2), nucleic acids	phospholipids, triolein, nucleic acids
1126–1130	1126–1130	ν(C–C) skeletal (trans), phospholipids; ν(C–N), proteins; ν22, heme	phospholipids, ceramide, Cyt b, Cyt c, Mb
1155–1160	-	ν(C–C) and ν(C–N), proteins and carotenoids	proteins, carotenoids, glycogen
-	1175–1180	β(C–H) in-plane, Tyr	proteins (Tyr, Ct), G
1205–1210	1208–1210	ν(C–C6H5), Phe, Trp	proteins (Phe, Trp)
1248–1250	1248–1251	Amide III (β-sheet, unordered), proteins	proteins, collagen, elastin, A, Ct, T
1265–1271	1265–1271	Amide III (α-helix), ν(C–N), β(N–H) in-plane, proteins; δ(=C–H), lipids	proteins (α-helix), collagen, elastin, lipids (unsaturated)
1300–1302	1300–1302	τ(CH2, CH3)	lipids, triolein, proteins (aliphatic AA), A, Ct, Cyt b
1314–1317	1314–1317	ν(C–N), ν(C–H), proteins; ν21, heme	proteins (Trp), collagen, G, Cyt c
1336–1340	1336–1340	ν(C–N), β(N–H), ν(C–H), proteins; ω(CH2, CH3), nucleic acids; ν41, heme	proteins (aliphatic AA, Trp), elastin, A, G, Cyt b, Mb
1393–1396	1393–1396	ω(CH2), ρ(C–H), leucine; ν20, heme	leucine, Cyt c, Mb
1440–1454	1440–1450	δ(C–H), proteins; α(CH2, CH3), lipids	proteins (aliphatic AA), keratin, collagen, elastin, lipids, triolein, ceramide
1513–1516	-	ν(C=C)	carotenoids
1554–1559	1552–1556	Amide II, ν(C=C), Trp; ν(C=C), ν37, heme	proteins (Trp), Deoxy-Mb
1584–1589	1582–1589	β(C=C), ν(C=C) olefinic, proteins (Phe); ν37, heme	proteins (Phe), Cyt c, Oxy-Mb
1604–1606	1604–1606	δ(C=C) in-plane, proteins (Phe, Tyr); δ(NH2), Ct; ν19, heme	proteins (Phe, Tyr), Ct, Deoxy-Mb
1651–1659	1652–1656	Amide I (α-helix), ν(C=O), proteins; ν(C=C), lipids	proteins, collagen, elastin, keratin, lipids (unsaturated), triolein
1743–1745	1743–1745	ν(C=O)	lipids (esters), phospholipids
2849–2855	2850–2854	ν(=CH2) symmetric, ν(C–H)	lipids
2879–2885	2880–2884	ν(=CH2) asymmetric, ν(C–H)	lipids, proteins
2929–2934	2925–2933	ν(=CH3) symmetric, δ(C–H)	proteins (aromatic AA), nucleic acids, lipids
3008–3012	3010–3013	ν(=C–H) olefinic	lipids (unsaturated)
3040–3042	3040–3042	ν(C–H)	proteins (Phe)
3060–3063	3060–3064	Amide B, ν(N–H), ν(C–H)	proteins (aromatic AA)

Гистологическое строение кисты продемонстрировало, что стенка кисты была представлена фиброзной тканью, большей частью выстланной призматическим эпителием, при этом на отдельных участках отмечалось слущивание эпителия, а в субэпителиальном слое выявлялись железы слизистого типа, участки очаговой лимфомакрофагальной инфильтрации и полнокровных сосудов. На рисунке 31 продемонстрированы спектры тканей полости носа и околоносовых пазух при заболеваниях данной локализации в сравнительном аспекте с интактной слизистой оболочкой. На рисунках 31 и 32 проиллюстрированы спектральные особенности тканей при полипозном риносинусите, интактной слизистой оболочке околоносовых пазух, кистах верхнечелюстных пазух.

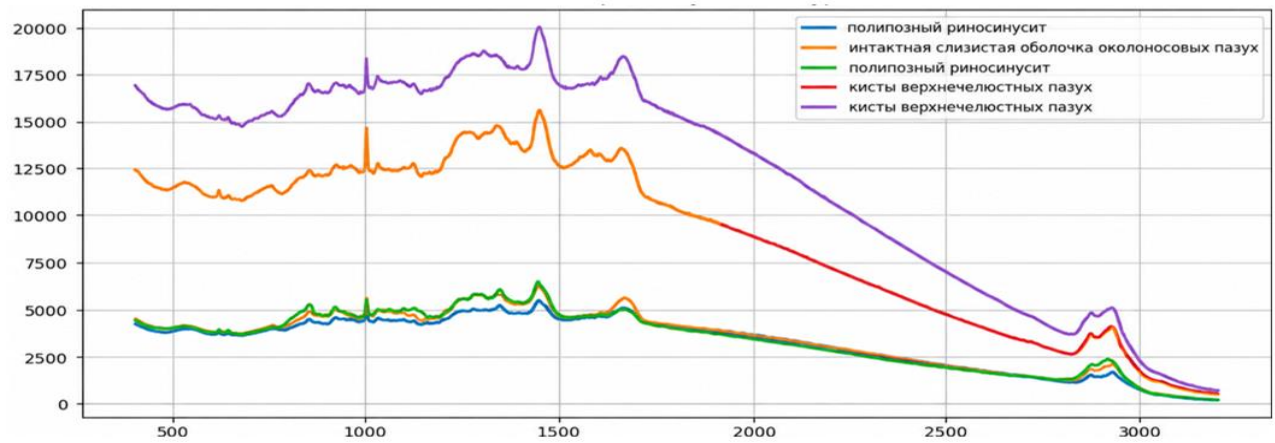

Рисунок 31 – Усредненные спектры КРС исследуемых групп. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

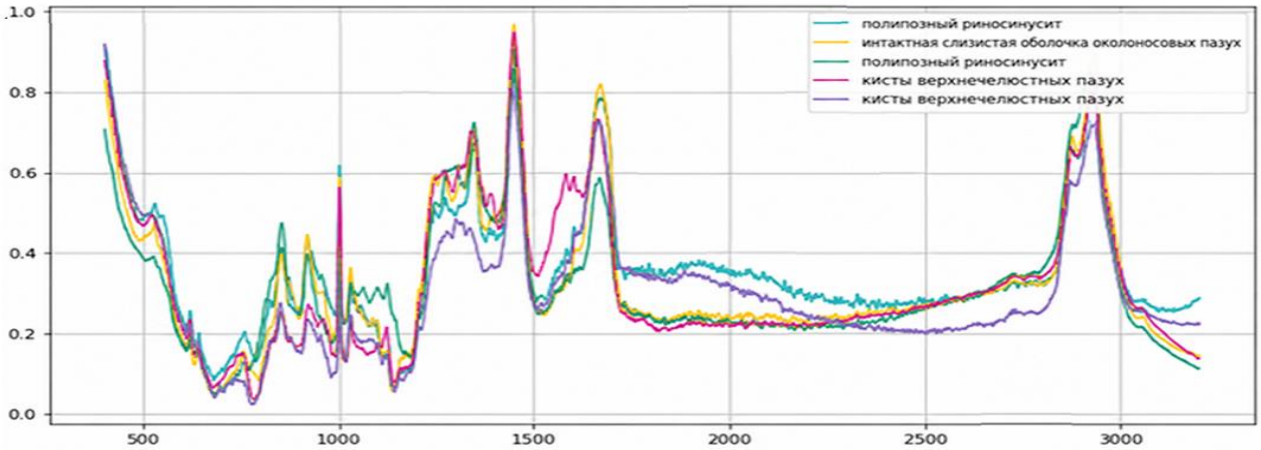

Рисунок 32 – Спектры КРС групп после предобработки. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В рамках серии исследований и экспериментов, посвященных применению СКРС с использованием различных длин волн для диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа и околоносовых пазух и оценки спектральных характеристик интактных тканей и тканей, вовлеченных в патологический процесс, были реализованы различные сценарии бинарной классификации. На первом этапе исследования классы тканей попарно сопоставлялись между собой и включали в себя интактную слизистую оболочку, полипозную ткань, слизистую оболочку, вовлеченную в воспалительный процесс без формирования полипов, а также ткань кист верхнечелюстных пазух. Для решения задач классификации применялись такие методы машинного обучения, как случайный лес (Random Forest), логистическая регрессия (Logistic Regression), наивный байесовский классификатор (Gaussian NB), метод k ближайших соседей (k-Nearest Neighbors, k-NN) и другие.

Были проведены серии исследований и экспериментов, которые продемонстрировали возможность использования метода СКРСФ в дифференциальной диагностике патологии околоносовых пазух.

В ходе исследования было отмечено, что представляется возможным дифференцировать интактную ткань от полипозной в 100% случаев (рисунок 33, А) и полипозную ткань от кисты верхнечелюстной пазухи (рисунке 33, Б). Чувствительность, точность, специфичность метода были равны 100%.

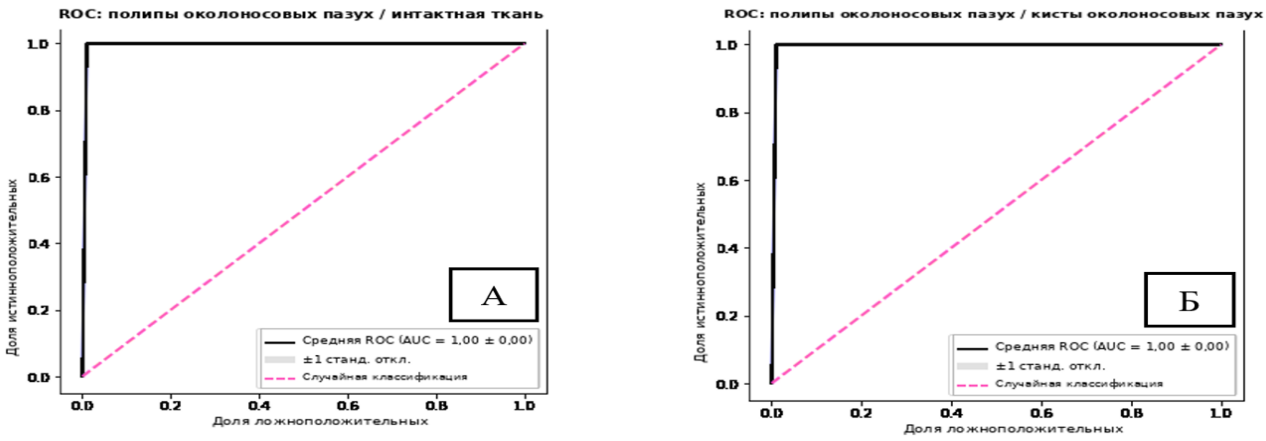

Рисунок 33 – ROC-кривые, позволяющие охарактеризовать ложноположительные и ложноотрицательные результаты при дифференциации интактной ткани и ткани, вовлеченной в полипозный процесс при хроническом риносинусите (А) и ткани кист верхнечелюстных пазух (Б)

В рамках программной реализации оценка важности признаков выполнялась с использованием метода Permutation Importance (оценка значимости признаков методом перестановок). Принцип данного подхода заключается в случайном перемешивании значений одного из признаков с последующей оценкой изменения качества работы модели. Чем более выражено снижение значения выбранной метрики после перемешивания признака, тем выше его влияние на качество классификации. На графике на рисунке 34 представлена рассчитанная важность каждого признака, соответствующего отдельному спектральному отсчету. Чем выше значение важности, тем существеннее влияние данного спектрального отсчета, то есть соответствующего значения волнового числа, на результат классификации.

Таким образом, анализ важности признаков позволяет определить наиболее информативные участки спектра и предположить, какие молекулярные компоненты могут вносить вклад в развитие заболевания либо отражать различия между исследуемыми образцами.

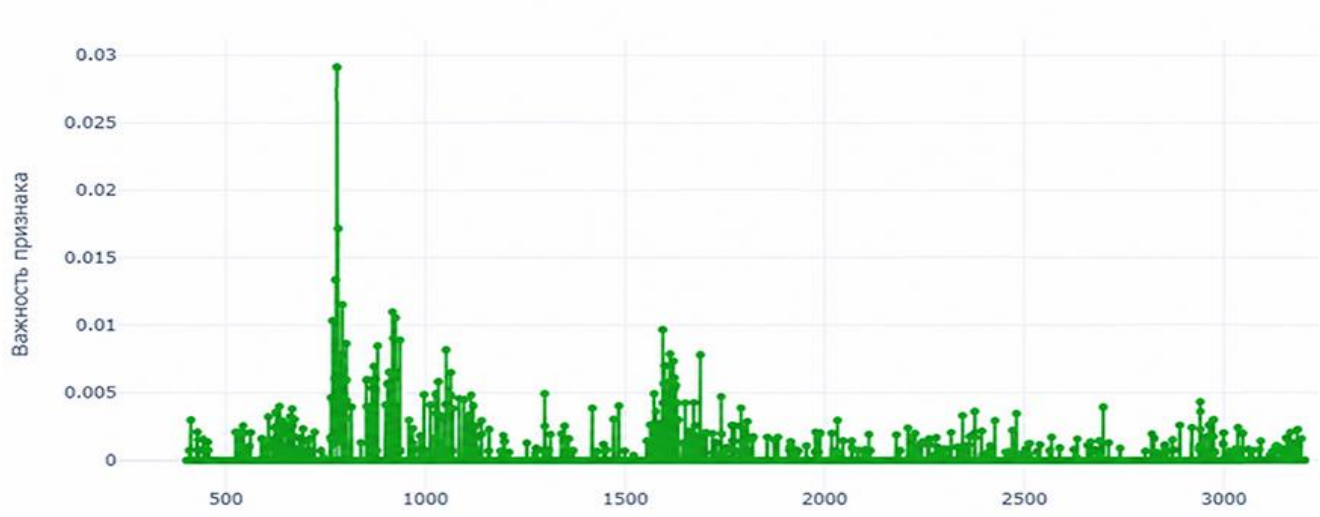

Рисунок 34 – Модель с использованием метода случайного леса (Random forest)

На рисунке 34 изображена модель случайного леса. В данном случае классификация классов тканей осуществлялась посредством агрегирования результатов отдельных деревьев: каждое дерево формировало прогноз принадлежности объекта к определенному классу, после чего итоговое решение принималось по принципу большинства голосов. Анализ важности спектральных признаков с использованием алгоритма RF продемонстрировал неоднородность их

вклада в классификационную модель. Наиболее информативные признаки были зарегистрированы в диапазоне 915-930 нм, где наблюдались максимальные значения относительной важности, достигающие приблизительно 0,011. Дополнительные локальные максимумы выявлены в диапазонах 850-880 нм и 900-910 нм, а также вблизи 935 нм. Полученные результаты свидетельствуют о различном вкладе и степени важности спектральных критериев и показателей при решении задачи классификации нозологий, в данном случае в отношении дифференциации интактной ткани слизистой оболочки, кист околоносовых пазух и слизистой оболочки околоносовых пазух при хроническом риносинусите различных типов (рисунок 35).

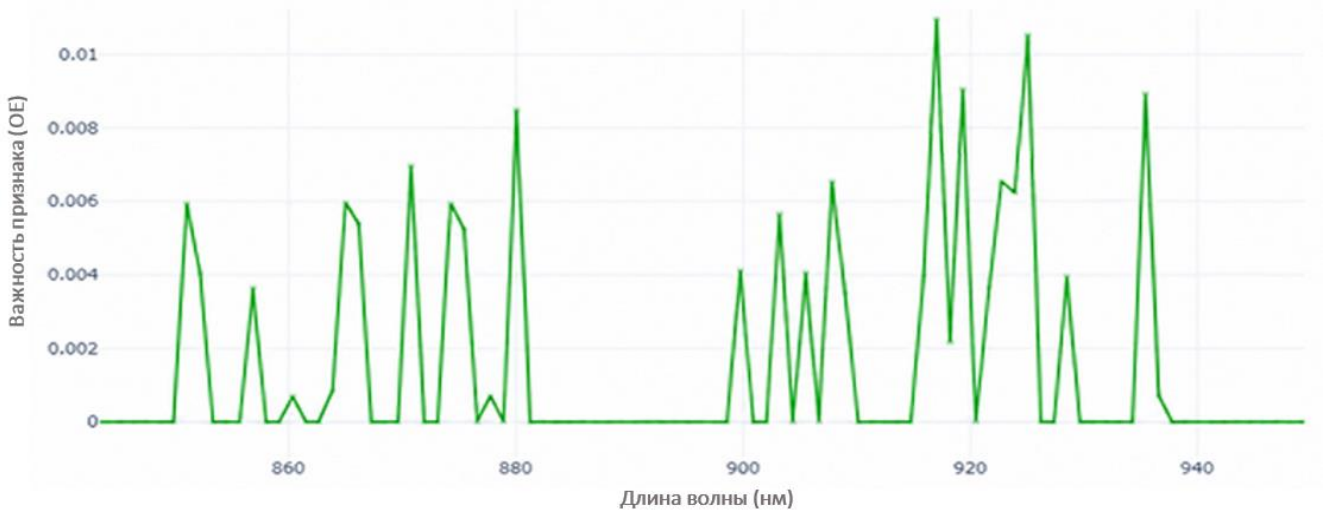

Рисунок 35 – Модель случайного леса для исследуемых групп

Приведенный анализ был информативен не только в отношении проведения оптической биопсии ex vivo, но и для анализа спектров in vivo, что можно использовать с точки зрения скрининговой диагностики и назначения персонализированного лечения, оценки эффективности проводимой терапии полипозного риносинусита и других заболеваний полости носа и околоносовых пазух, профилактики рецидивов заболевания и оценки границ резекции ткани, вовлеченной в патологический процесс. Серия проведенных экспериментов и исследований ex vivo явилась основой для последующего применения методики in vivo.

Дифференциальная диагностика in vivo. Спектры КРС полипов

верхнечелюстных пазух при полипозном риносинусите и кист верхнечелюстных пазух после удаления базовой линии и сглаживания продемонстрировали значимые различия, позволяющие провести их дифференциацию с высокими уровнями чувствительности и специфичности (рисунок 36).

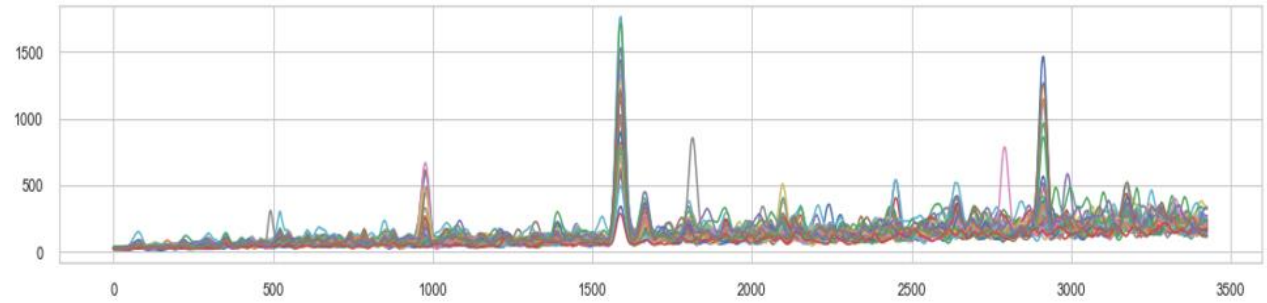

Рисунок 36 – Спектры КРС полипозной ткани верхнечелюстной пазухи при полипозном риносинусите и кист верхнечелюстных пазух. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

График зависимости MSE (среднеквадратичной ошибки) от количества PLS-компонент (А) позволил продемонстрировать наиболее оптимальное число значимых характеристик ткани, при которых полученные результаты будут наиболее достоверны. Далее построена PLS-DA модель и применен метод кросс-валидации – «leave one out» с последующим построением ROC-кривой (рисунок 37, Б).

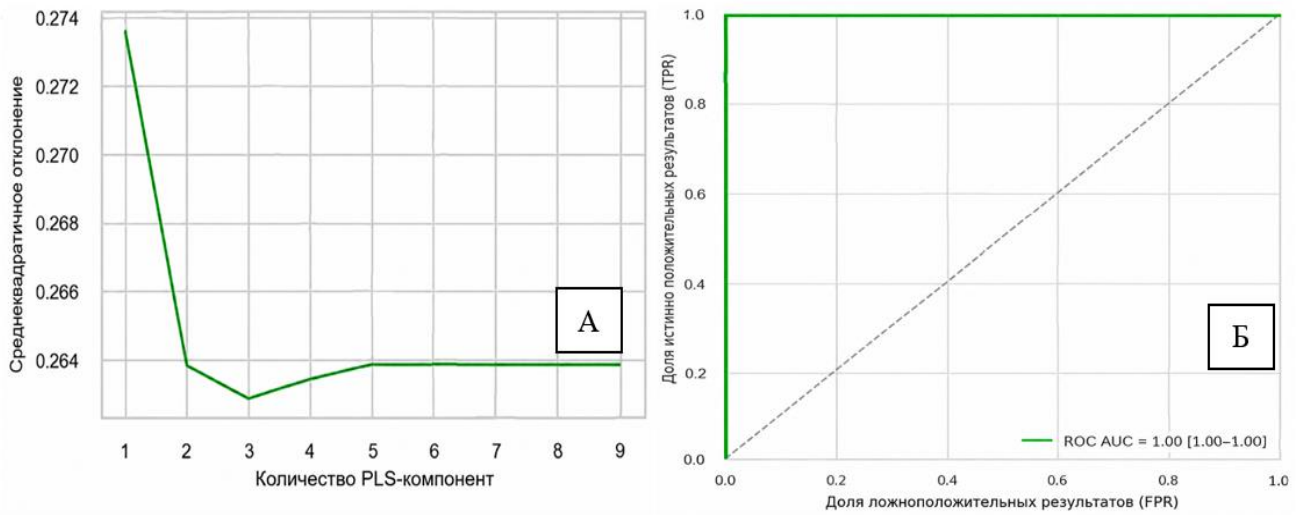

Рисунок 37 – График зависимости MSE от количества PLS-компонент (А), ROC-кривая (Б)

Наиболее информативные линии КРС (VIP-полосы), выделенные в ходе спектрального анализа, позволили дифференцировать полипозный риносинусит от кист околоносовых пазух (рисунок 38).

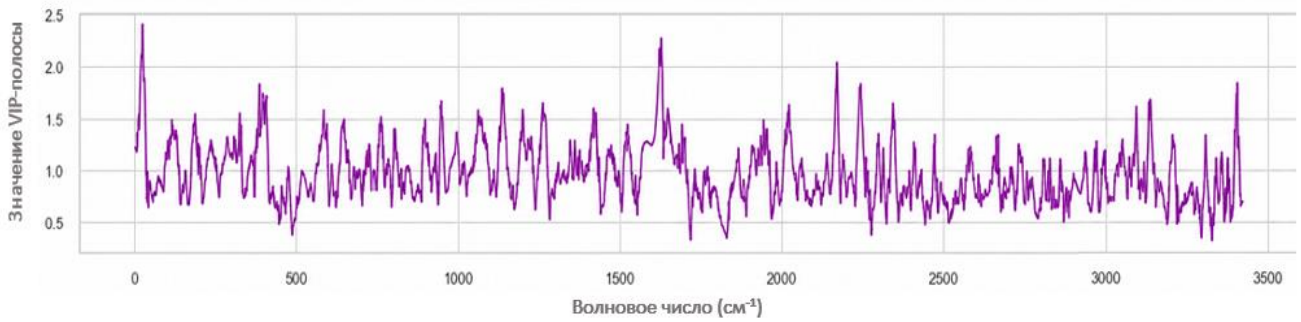

Рисунок 38 – Наиболее информативные линии КРС (VIP-полосы) для дифференциальной диагностики полипозного риносинусита и кист околоносовых пазух

Спектры КРС, информативные для проведения дифференциации интактной ткани слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и полипозной ткани при полипозном риносинусите после удаления базовой линии и сглаживания позволяют проанализировать наиболее значимые линии КРС без вклада флюоресценции (рисунок 39).

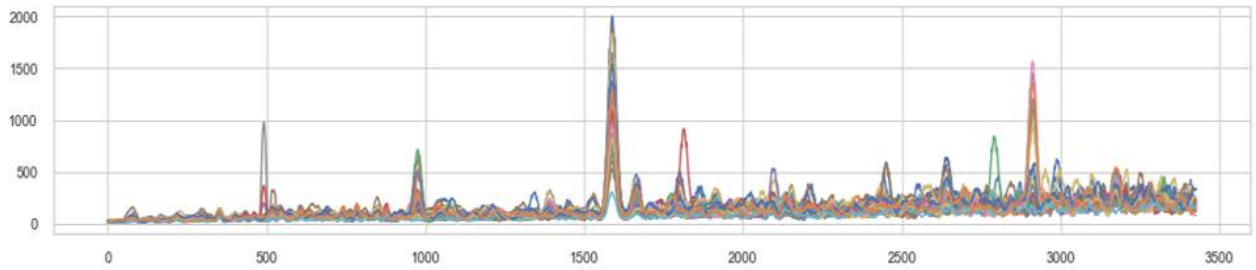

Рисунок 39 – Спектры КРС для дифференциации интактной ткани слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и полипозной ткани при полипозном риносинусите после удаления базовой линии и сглаживания

График зависимости MSE (среднеквадратичной ошибки) от количества PLS-компонент (рисунок 40: А) позволил выделить количество наиболее значимых характеристик ткани, которые влияют на достоверность результатов исследования. Была построена PLS-DA модель, затем применен метод кросс-валидации – «leave one out». Далее построена ROC-кривая (рисунок 40: Б) для оценки диагностической значимости метода.

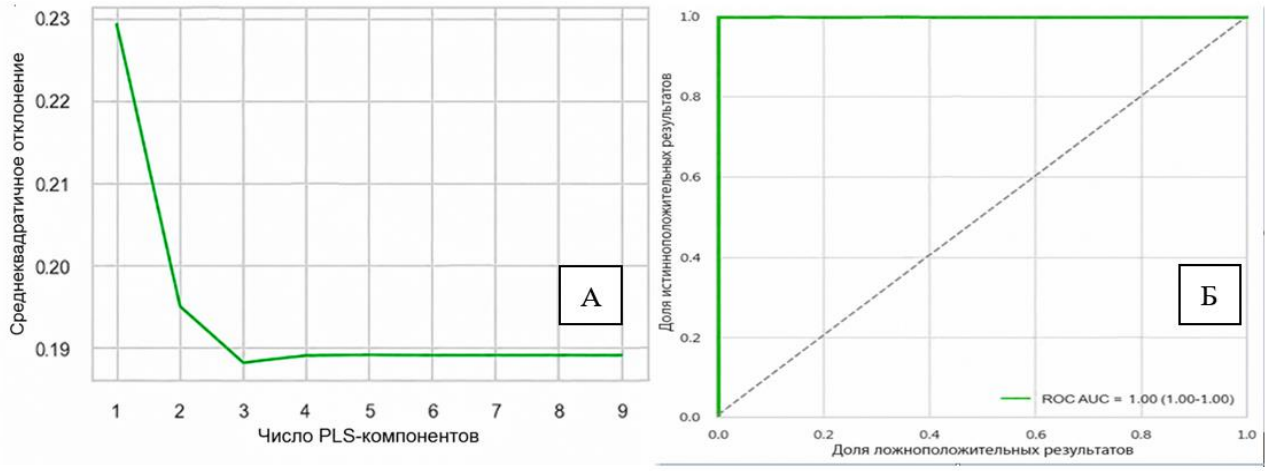

Рисунок 40 – График зависимости MSE (среднеквадратичной ошибки) от количества PLS компонент (А), ROC кривая (Б)

Наиболее информативные линии КРС (VIP-полосы), позволяющие дифференцировать спектр полипозной ткани при полипозном риносинусите от спектра интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, позволяют в перспективе оценить биокомпонентный состав тканей при патологии ЛОР-органов (рисунок 41), в данном случае при заболеваниях полости носа и околоносовых пазух.

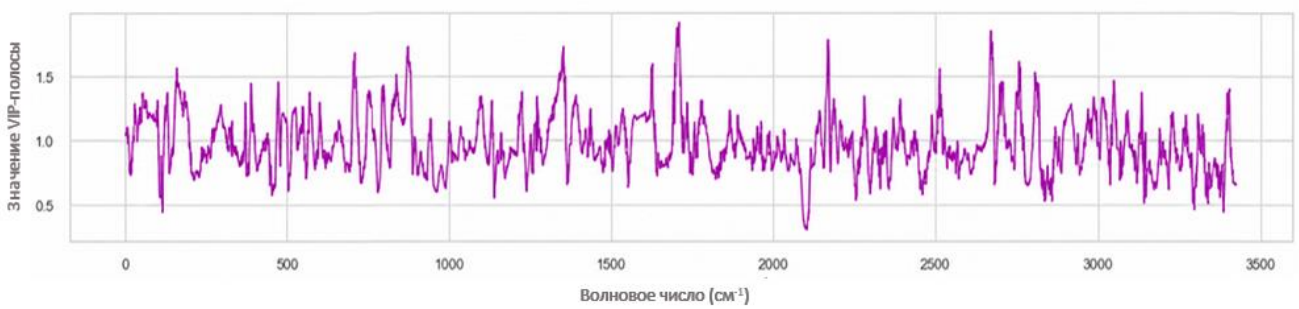

Рисунок 41 – Наиболее информативные линии КРС (VIP-полосы) для дифференциации полипозного риносинусита, интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух

Помимо оценки спектральных различий с выделением VIP-полос и построением ROC-кривых, был выполнен анализ биомаркеров полипозной ткани. В результате исследования были идентифицированы наиболее значимые компоненты, которые могут рассматриваться как информативные критерии ранней неинвазивной диагностики полипозного риносинусита. Рассмотрим их в корреляции с линиями КРС.

Как известно, в патогенезе полипозного риносинусита играют роль такие

биомаркеры как иммуноглобулин Е общий, периостин и др. [345], коагуляционные белки экзосом [219], холодоиндуцируемые РНК-связывающие белки [149], MIF (фактор ингибирования миграции макрофагов), интерлейкины (IL 7, IL 9, IL 17A, IL 22) [220] и др. Наличие различных белковых компонентов в полипозной ткани околоносовых пазух отражает сложный характер иммунных и метаболических изменений, сопровождающих развитие заболевания. Выявление экзосомных и других белковых маркеров создает возможность для проведения ранней неинвазивной диагностики, что было реализовано в рамках предлагаемого способа. К числу других значимых метаболитов, ассоциированных с полипозным риносинуситом, относятся цитруллин, линолевая кислота, аденозин и L-серин [347], мочевая кислота [346], билирубин, кортизол, лизофосфатидилхолины и лизофосфатидилинозитолы (молекулы липидов, уровень которых повышается в ткани полипов у пациентов с полипозным риносинуситом). Эти молекулы связаны с развитием воспаления, и их повышенный уровень при отсутствии аллергической реакции указывает на системный воспалительный процесс, способствующий развитию полипов [347], что и было исследовано в ходе работы [58]. Особое значение имеет выявление полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), прежде всего омега-3, а также других липидных компонентов, играющих существенную роль в патогенезе и лечении полипозного риносинусита, что было продемонстрировано в ходе проведенного исследования [58]. Многокомпонентный анализ метаболомного профиля назальной слизи при хроническом риносинусите и в норме показал, что у здоровых лиц метаболический состав отличается, прежде всего по уровню пуринов, жирных кислот и липидов. У пациентов с полипозным риносинуситом выявлялись нарушения пуринового обмена и изменения липидного профиля, что позволяет рассматривать данные признаки в качестве потенциальных диагностических критериев. При сравнительном анализе спектров интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и тканей при полипозном риносинусите были установлены метаболомные различия, включая изменения соотношения пуринов, жирных кислот, липидов и аминокислот. В частности, отмечались усиление β-окисления ненасыщенных жирных кислот, тесно

коррелирующее с количеством эозинофилов и уровнем IL-5, накопление мочевой кислоты, связанное с активацией нейтрофильного воспаления и цитокинов IFN-γ, IL-17A и IL-8, а также нарушение пуринового обмена и снижение содержания метаболитов аминокислот при полипозном риносинусите. Полученные данные согласуются с результатами ранее проведенного исследования [243]. В рамках настоящего исследования были выявлены особенности β-окисления жирных кислот в тканях уже на ранней стадии патологического процесса, а также метаболиты, ассоциированные с воспалением, включая ранние маркеры липидного воспаления. Это подтверждает значимую роль нарушений липидного обмена в патогенезе полипозного риносинусита. Кроме того, были зарегистрированы спектральные признаки усиленного β-окисления полиненасыщенных жирных кислот, снижения содержания отдельных аминокислот, повышения уровня линолевой и мочевой кислот, нарушения пуринового обмена, а также появления пиков, соответствующих гликозаминогликанам и другим компонентам. Анализ метаболитов с применением СКРС позволяет предположительно определять тип воспалительного ответа – эозинофильный или нейтрофильный. Данная возможность может иметь практическое значение для ранней диагностики, выбора персонифицированной терапии, мониторинга эффективности лечения и профилактики рецидивирования заболевания. Из основных выделенных нами компонентов, которые могут служить диагностическими показателями при постановке диагноза «Полипозный риносинусит» на ранней стадии можно отметить следующие компоненты: амид I (ν C=O): 1650-1660 $см^{-1}$; амид II (δ N–H): 1550-1560 $см^{-1}$; ν C=O жирных кислот: ~1740 $см^{-1}$; наличие ν C–H-групп (метильные и метиленовые): 2950-2850 $см^{-1}$; δ C–H: 1470-1440 $см^{-1}$; углеводы и фосфо-, эфирные связи; ν C–O–C (углеводы): 1200-1000 $см^{-1}$; ν P=O (фосфаты): 1250-1220 $см^{-1}$; O–H/N–H растяжения: широкий диапазон 3200-3600 $см^{-1}$; C=C (ароматические/ненасыщенные): около 1600 $см^{-1}$; C=O (кетоны, эфиры, карбоновые кислоты): 1700-1720 $см^{-1}$. Таким образом, полученные линии КРС позволяют охарактеризовать набор индивидуальных метаболомных характеристик полипозного риносинусита по сравнению с интактной тканью. Так, амид I (1630-

1670 см$^{-1}$) и амид III (1224-1268 см$^{-1}$) отражают структуру α спирали и β складок; отмечаются пики дисульфидных связей (505-545 см$^{-1}$) и аминокислот с ароматическим кольцом (750, 830, 1002 см$^{-1}$ и выше) – маркеры боковых цепей. Наличие липидов характеризуется соответствующими CH_2/CH_3 группами (1360-1450 см$^{-1}$), C–C и C–C= растяжением (1065-1070 см$^{-1}$) и пиками на 2870-2917 см$^{-1}$, что отражает насыщенность липидами и белками; для нуклеиновых кислот характерны пики 726, 785, 1575-1609 см$^{-1}$ и линии PO_2^- фосфатной группы (1090-1096 см$^{-1}$) – универсальные маркеры ДНК/РНК, цитохромы характеризуются наличием линий на 1129, 1310-1315 см$^{-1}$, что является сигналом клеточного стресса/апоптоза, для соотношения тирозина/триптофана характерно наличие пиков ~750, 830-850, 1615 см$^{-1}$ [346]. При полипозном риносинусите регистрировались линии КРС, которые не были характерны для интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, кист околоносовых пазух и слизистой оболочки околоносовых пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов. Дополнительные отличительные пики, которые также можно применять при проведении дифференциальной диагностики, отмечены в таблице 3–853 (пролин, гидроксипролин, тирозин), 940 (белки, коллаген), 1078 (фосфолипиды, триолеин, нуклеиновые кислоты), 1335 (белки/триптофан, эластин, цитохром B, миоглобин, аденозин, гуанин), 1554 (амид-11, триптофан, гем, белки), 2885 (липиды, белки) и 2940 (белки, нуклеиновые кислоты, липиды) см$^{-1}$ [347].

Таблица 3 – Значимые линии КРС при полипозном риносинусите

Волновое число (см$^{-1}$)	**Наличие в полипозной ткани**	**Биомолекула/компонент**
853 ± 5	↑ (повышение уровня)	Пролин, аминокислоты белки/коллаген
940 ± 5	↑	Скелетные углеводы/C–C связи
1078 ± 10	↑	C–C- связи липидов/фосфолипиды
1335	↑	CH_2/CH_3 деформации, белки/липиды
1554	↑	Амиды I/II, ферменты/структурные белки
2885 и 2940	↑	CH растяжения - триглицериды, мембранные липиды

Как было продемонстрировано в исследовании, в интактной слизистой оболочке пики 853 и 1078 см$^{-1}$ встречаются, однако они выражены слабее; линии КРС аминокислот и липидов регистрируются без усиленного сигнала,

характеризующего воспалительный процесс.

Таким образом, полипозная ткань характеризуется усиленными пиками на величинах волновых чисел 853, 940, 1078, 1335, 1554, 2885-2940 $см^{-1}$, отражающими структурно-метаболические изменения в ткани, чего не наблюдается в норме. При полипозном риносинусите, помимо выраженного β-окисления полиненасыщенных жирных кислот, отмечаются снижение уровня аминокислот (например, серина); накопление мочевой кислоты, что может служить диагностическим критерием. Как было показано в одном из исследований [347], среди метаболитов, отличающих ткань полипов околоносовых пазух от интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух следует отметить линолевую кислоту, цитруллин и аденозин, уровень их повышен при полипозном риносинусите; эти метаболиты также присутствуют в интактной слизистой оболочке, но на низком уровне. Также было отмечено, что при полипозном риносинусите повышается уровень билирубина и кортизола, меняется липидный профиль, в отличие от интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. Это может быть связано с наличием хронического стресса и гипоксии в тканях и служить диагностическим маркером в диагностике полипозного риносинусита. В полипозной ткани происходят активный липидный обмен, усиленное β окисление, нарушение пуринового обмена, повышение анти- и провоспалительных липидов, что не характерно для интактной слизистой оболочки полости носа. Среди других важных маркеров полипозного риносинусита можно отметить гликозаминогликаны (ГАГ), которые характеризуются двумя наиболее выраженными линиями КРС сульфатированных ГАГ (при ~1066 $см^{-1}$ и при ~1378 $см^{-1}$) [208]. Гликозоаминогликаны (ГАГ) являются неотъемлемым компонентом протеогликанов, которые являются составляющими соединительной ткани. Как было ранее продемонстрировано в одном из исследований, количество гиалуроновой кислоты в полипозной ткани при хроническом риносинусите с формированием полипозной ткани было высоким, количество дерматансульфата и хондроитин-6-сульфата было немного ниже, а количество хондроитин-4-сульфата, гепарина, гепарансульфата и кератансульфата было самым низким [281], в нашем

исследовании было отмечено, что уровень ГАГ значительно отличался от такового в норме, что также может служить диагностическим критерием. Среди полученных пиков ГАГ можно выделить области КРС ~1066-1070 $см^{-1}$, соответствующее симметричному растяжению OSO_3 (сульфатов), ~1248 $см^{-1}$, связям C–O–C, ~1378 $см^{-1}$, CH_3-колебаниям [135], а также 1000–1200 $см^{-1}$ и 1300–1450 $см^{-1}$, соответствующих ГАГ (сульфаты, CH-группы) [187]. При этом спектры КРС ГАГ содержат четкие пики в диапазоне 800-1400 $см^{-1}$, особенно ~1066 и ~1378 $см^{-1}$, отражающие уровень сульфата и мембранных групп. Результаты спектроскопии КРС рассматривались в корреляции с гистологическим исследованием. Так, согласно результатам гистологического исследования, при исследовании образца полипозной ткани отмечались следующие изменения: визуализировались фрагменты полипа с фиброзно-отечной стромой и участками воспалительной инфильтрации (смешанноклеточной) и респираторной выстилкой, а также изменения респираторного эпителия, в том числе, гиперплазия; стромальный инфильтрат был представлен инфильтрацией нейтрофильных лейкоцитов, эозинофильных лейкоцитов, плазматических клеток, лимфоцитов. Гистологическая картина была представлена наличием респираторных желез без цитологической атипии эпителия, респираторная слизистая оболочка-субэпителиальным фиброзом и лимфоплазмоцитарной инфильтрацией.

Сопоставление данных спектроскопической картины проводилось с гистологическим исследованием, так были подтверждены признаки полипозного риносинусита: визуализировались фрагменты ткани из верхнечелюстной пазухи, слизистая оболочка была покрыта мерцательным эпителием с очаговой плоскоклеточной метаплазией и дисплазией low grade, в строме отмечалась обильная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью полиморфноядерных лейкоцитов (рисунок 42).

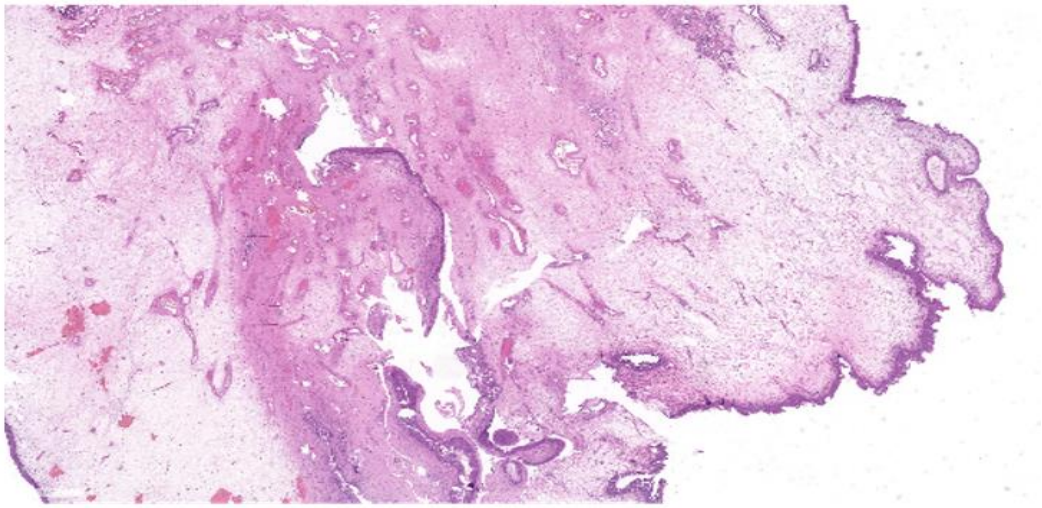

Рисунок 42 – Микропрепарат. Гистологическая картина воспалительного полипа верхнечелюстной пазухи, гематоксилин и эозин, 600 мкм

На рисунке 43 продемонстрирован микропрепарат с участками плоскоклеточной метаплазии и воспаления, а также дисплазии low grade. На рисунке 44 проиллюстрирован участок хронического риносинусита, который характеризуется наличием фрагментов слизистой оболочки, покрытых мерцательным эпителием, в строме отмечается отек, визуализируются участки очагового фиброза, диффузной обильной лимфоплазмоцитарной инфильтрации с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, а также полнокровие микроциркуляторного русла.

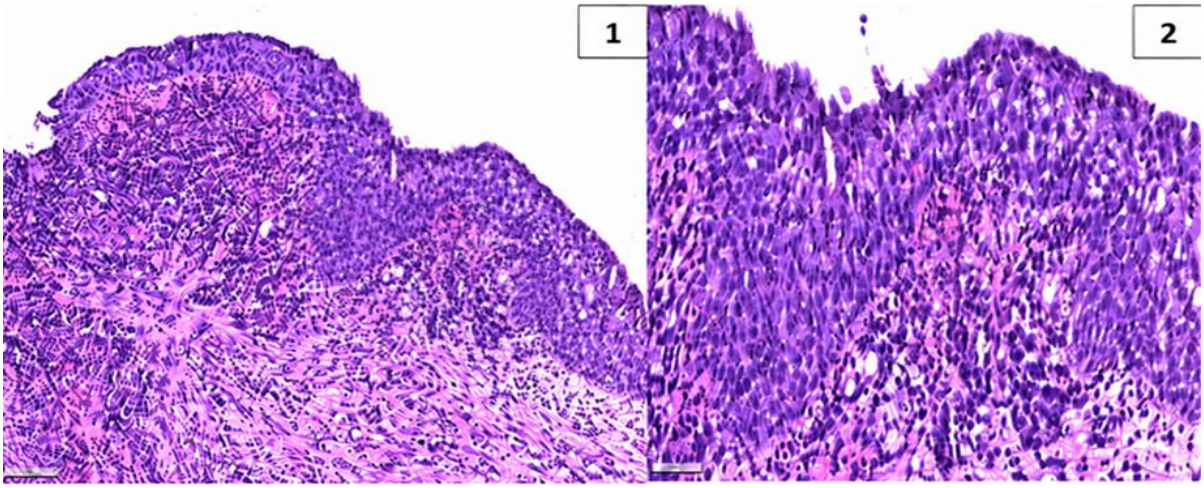

Рисунок 43 – Гистологическая картина плоскоклеточной метаплазии слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи – мерцательный эпителий с очаговой лимфо-макрофагальной инфильтрацией, гематоксилин и эозин, 300 мкм (1), гистологические признаки дисплазии слизистой оболочки low grade, 200 мкм (2)

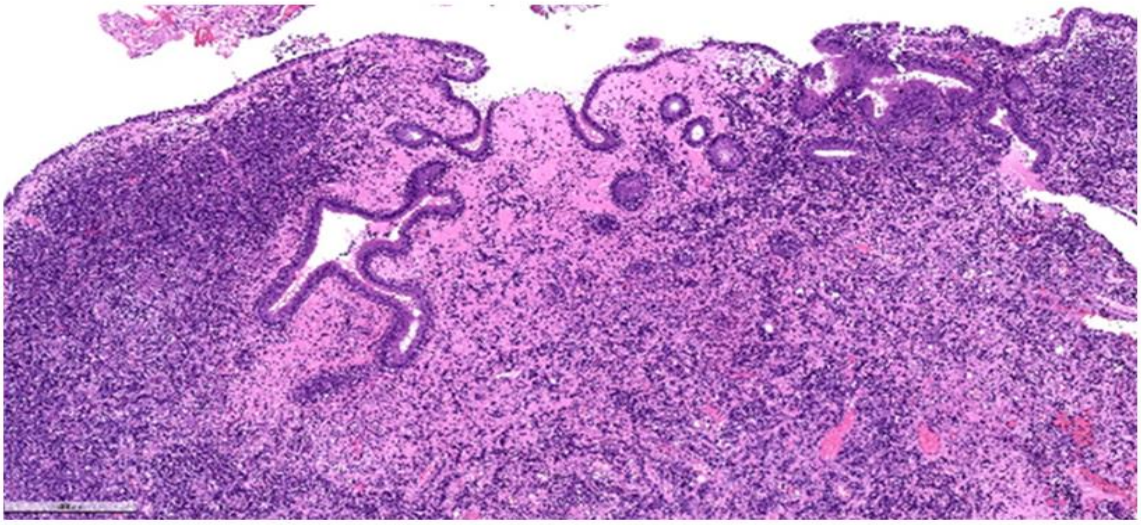

Рисунок 44 – Гистологическая картина слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи при хроническом риносинусите: очаговый фиброз, диффузная выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью полиморфноядерных лейкоцитов (микропрепарат)

Таким образом, в серии проведенных исследований ex vivo и in vivo были установлены спектральные различия между полипозной тканью, интактной слизистой оболочкой полости носа и околоносовых пазух, слизистой оболочкой, вовлеченной в воспалительный процесс при хроническом риносинусите без формирования полипов и тканью кист околоносовых пазух, а также слизистой оболочкой околоносовых пазух, вовлеченной в опухолевый процесс [57, 58]. Выявленные различия касались количества и положения пиков КРС и позволили определить потенциальные биомаркеры полипозного риносинусита. К числу наиболее значимых из них были отнесены периостин, липиды и гликозаминогликаны. Применение многоволновой СКРС в сочетании с методами машинного обучения обеспечивает возможность дифференциации полипозного риносинусита от интактной анатомической области и хронического риносинусита без формирования полипов, а также кист околоносовых пазух и других заболеваний полости носа и околоносовых пазух. Полученные результаты могут иметь практическую значимость для врачей, поскольку обеспечивают возможность получения информации о вероятном развитии полипозного риносинусита на ранней стадии. Это может способствовать своевременному назначению наиболее эффективной терапии, снижению вероятности хирургического вмешательства,

прогнозированию риска рецидивирования заболевания, оценке эффективности проводимого лечения и организации скрининга данной патологии. Ранее были представлены отдельные информативные параметры, позволяющие дифференцировать ткань полипов околоносовых пазух и слизистую оболочку околоносовых пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов с использованием СКРС [57], однако в указанном способе применялась только одна длина волны, биомаркеры заболевания не были определены, а диагностический алгоритм не был разработан в полном объеме. Дифференциация полипозной ткани и интактной слизистой оболочки, а также разграничение различных форм хронического риносинусита, кист околоносовых пазух и других заболеваний полости носа и околоносовых пазух с применением способа ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики на основе КРС осуществляется с высокими диагностическими показателями. Результаты, верифицированные методом гистологического исследования и подтвержденные с использованием алгоритмов машинного обучения, продемонстрировали специфичность, чувствительность и точность, близкие к 100% [58]. Полученные показатели имеют существенное значение для клинической практики, особенно при проведении скрининговой экспресс-диагностики, профилактики рецидивов полипозного риносинусита, выборе рациональной терапии и динамическом мониторинге эффективности проводимого лечения. Анализ с использованием описанных выше методов был проведен также в отношении дифференциации различной патологии полости носа и околоносовых пазух с использованием СКРСФ (дифференциальной диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа и околоносовых пазух).

Плоскоклеточная карцинома полости носа и околоносовых пазух в сравнении с интактной слизистой оболочкой характеризуется повышением вклада белковых и нуклеиновых компонентов, снижением каротиноидных сигналов, перестройкой липидного профиля и нарушением белково-липидного баланса. Наиболее значимыми спектральными признаками являются изменение интенсивности полос 1006, 1033, 1155, 1341, 1449, 1516 и 2930 $см^{-1}$, а также увеличение индексов I_{1341}/I_{1155}, I_{1341}/I_{1449}, I_{1341}/I_{1516}, I_{1006}/I_{1449} и I_{2930}/I_{2850}.

На рисунке 45 визуализируются усредненные спектры в сравнительном аспекте. Спектр интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух изображен черным цветом, спектр плоскоклеточной карциномы полости носа и околоносовых пазух изображен оранжевым цветом.

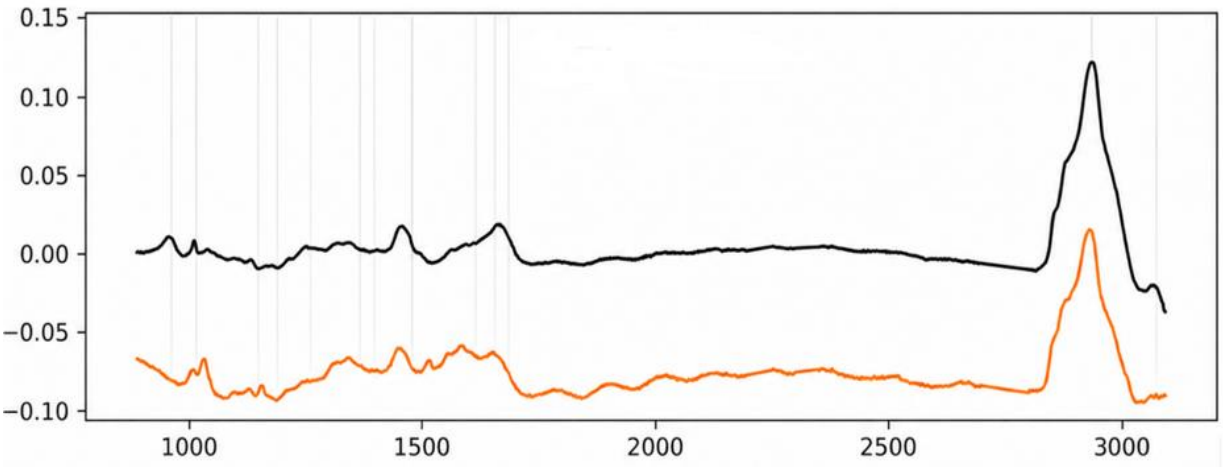

Рисунок 45 – Усредненные спектры интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, и плоскоклеточной карциномы полости носа и околоносовых пазух. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В ходе исследования проанализированы спектральные характеристики при следующих видах патологии: кистах околоносовых пазух, хроническом риносинусите без формирования полипов, полипозном риносинусите, плоскоклеточной карциноме полости носа и околоносовых пазух. Данные представлены в сравнительном аспекте с интактной слизистой оболочкой полости носа и околоносовых пазух, не вовлеченной в воспалительный или опухолевый процесс. Регистрация спектров проводилась с использованием аппаратно-программных комплексов, функционирующих на длинах волн: 405 нм, 532 нм, 785 нм, 1064 нм, при этом наиболее информативными были длины волн 532 нм, 785 нм и 1064 нм в отношении проведения спектрально-метаболомного анализа [58].

Дифференциация спектров КРС при плоскоклеточной карциноме околоносовых пазух от спектров интактной слизистой оболочки и полипозной ткани, а также слизистой оболочки околоносовых пазух, вовлеченной в хронический воспалительный процесс без формирования полипов и ткани кист околоносовых пазух, была выполнена с чувствительностью, специфичностью,

точностью, равными 100%. Однако согласно распределению Пуассона, при FN = 0 и FP = 0 и точечных значениях чувствительности и специфичности равных 100%, нижняя граница 95% доверительного интервала была рассчитана по пуассоновской модели редких ошибок: Рнижн = 1–3,688879 / n, как показано в таблице 4.

Таблица 4 – Попарные сравнения на уровне количества пациентов

Сравнение нозологий	**Se, %**	**95% ДИ Se, %**	**Sp, %**	**95% ДИ Sp, %**
Кисты vs ХР	100	99,34–100	100	99,35–100
Кисты vs ПР	100	99,34–100	100	99,44–100
Кисты vs ПК	100	99,34–100	100	98,72–100
ХР vs ПР	100	99,35–100	100	99,44–100
ХР vs ПК	100	99,35–100	100	98,72–100
ПР vs ПК	100	99,44–100	100	98,72–100

4.2. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний глотки

Для определения клинического диапазона применения СКРСФ в диагностике патологии ЛОР-органов были проанализированы спектральные показатели при заболеваниях глотки. В частности, была проведена сравнительная оценка спектральных характеристик тканей глотки при хроническом тонзиллите и плоскоклеточной карциноме. Также были проанализированы спектры тканей глотки при некоторых других заболеваниях, например, при плеоморфной аденономе глотки (рисунок 46). При данном заболевании регистрировались линии КРС 1153, 1515, 2851 и 2884-2900 $см^{-1}$, при этом последний пик имел трапециевидную форму. Помимо линий КРС: 1004, 1299, 1440, 1652, 1742 $см^{-1}$, дополнительно регистрировались низкоамплитудные пики в диапазоне от 900 до 3100 $см^{-1}$. При воспалительном и злокачественном процессе в глотке отмечались некоторые другие спектральные особенности ткани [56-59].

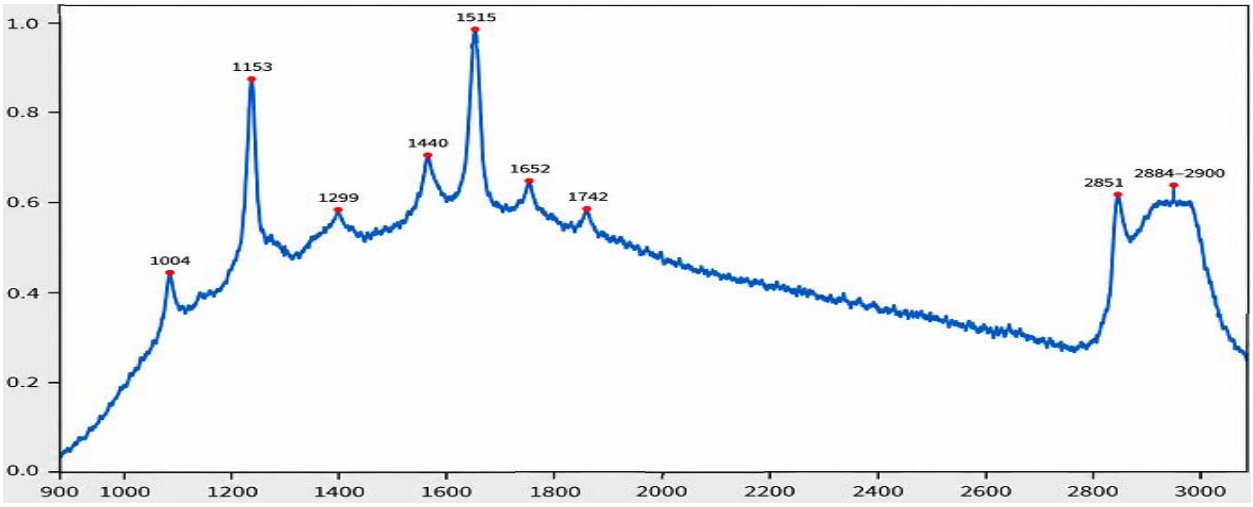

Рисунок 46 – Усредненный спектр плеоморфной аденомы глотки. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 47 изображен спектр ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы (при гиперпластическом и фиброзирующем процессе). Линии КРС 1050, 1150, 1510, 2950 см$^{-1}$ позволили охарактеризовать усредненный спектр ткани небных миндалин при данной патологии, однако хронический тонзиллит относится к одному из сложнейших заболеваний в плане патогенеза, соответственно, необходим анализ на достаточном объеме выборки с целью утверждения информативности указанных линий КРС, что и было выполнено на следующем этапе исследования.

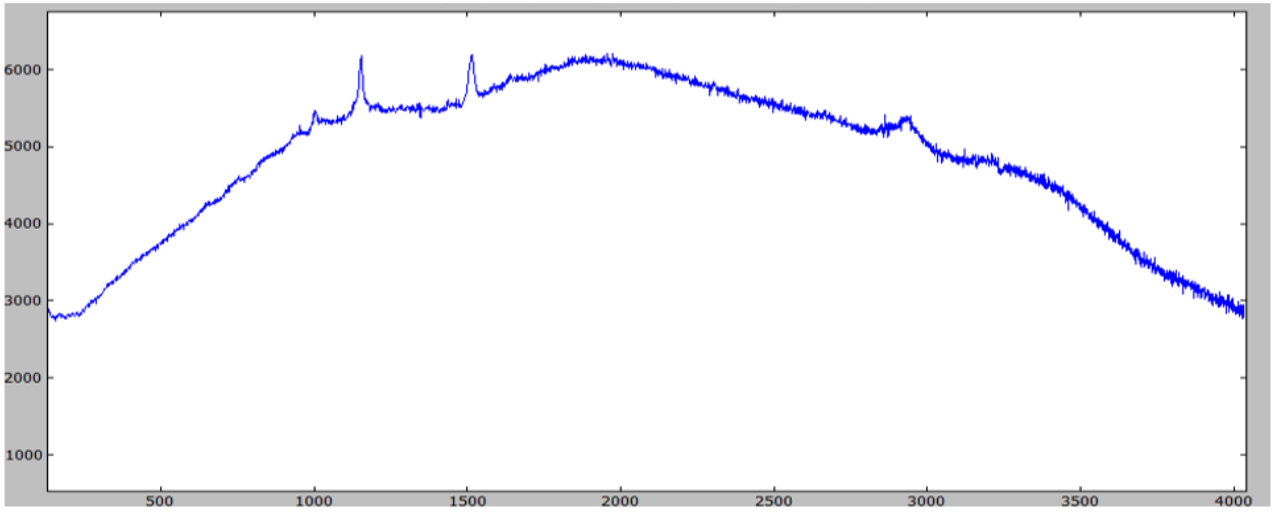

Рисунок 47 – Спектральные особенности ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы (гиперпластическом и фиброзирующем процессе). По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 48 проиллюстрирован спектр ткани небной миндалины при p16-позитивной орофарингеальной карциноме. В отличие от декомпенсированной формы хронического тонзиллита, в данном случае отсутствовал промежуточный подъем флюоресценции, интенсивность сигнала была ниже, а ряд пиков, которые были характерны для воспалительного процесса данной локализации, в частности около 1050 $см^{-1}$, не регистрировался.

На рисунке 49 изображен спектр низкодифференцированной неороговевающей плоскоклеточной p16-позитивной орофарингеальной карциномы. Визуализируется большое количество низкоамплитудных пиков на различных волновых числах; они сливаются и имеют нечеткую форму, помимо этого, отмечается выраженный флюоресцентный сигнал, затрудняющий регистрацию линий КРС.

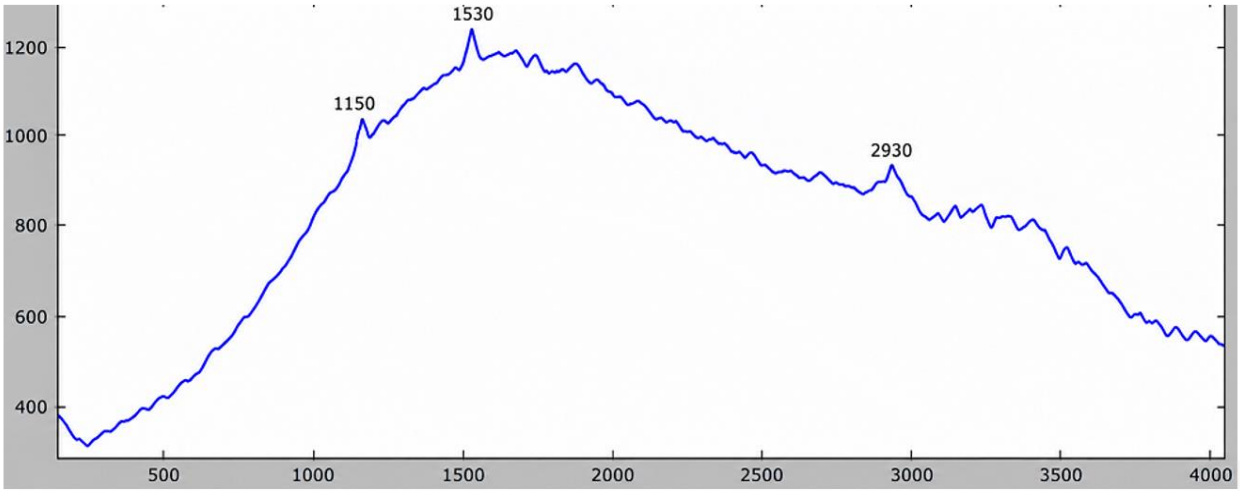

Рисунок 48 – Спектр ткани небной миндалины при p16-позитивной орофарингеальной карциноме. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Для выделения значимых линий КРС и проведения дифференциальной диагностики между данным заболеванием и другими необходимо проведение многофакторного спектрального анализа, что и явилось целью проведения дальнейших исследований. Кроме оценки спектров тканей небных миндалин, представляется целесообразным исследовать спектральные характеристики биологических жидкостей при различных заболеваниях. Так, согласно рисунку 50, при хроническом тонзиллите спектр крови приобретает мелкозубчатый характер за

счет появления пиков в областях 500, 1000, 1200, 1250, 1400, 1500, 1600, 1650 и 1900 $см^{-1}$, однако выраженный сигнал флюоресценции затрудняет визуализацию, в связи с чем является информативным разработать индексы, позволяющие дифференцировать относительные показатели флюоресценции друг с другом и с интактной тканью. Таким образом, КРС и флюоресценция являются взаимодополняющими эффектами, которые могут быть информативными в комбинации при разработке специальных критериев и показателей, что и было выполнено на следующем этапе исследования [59].

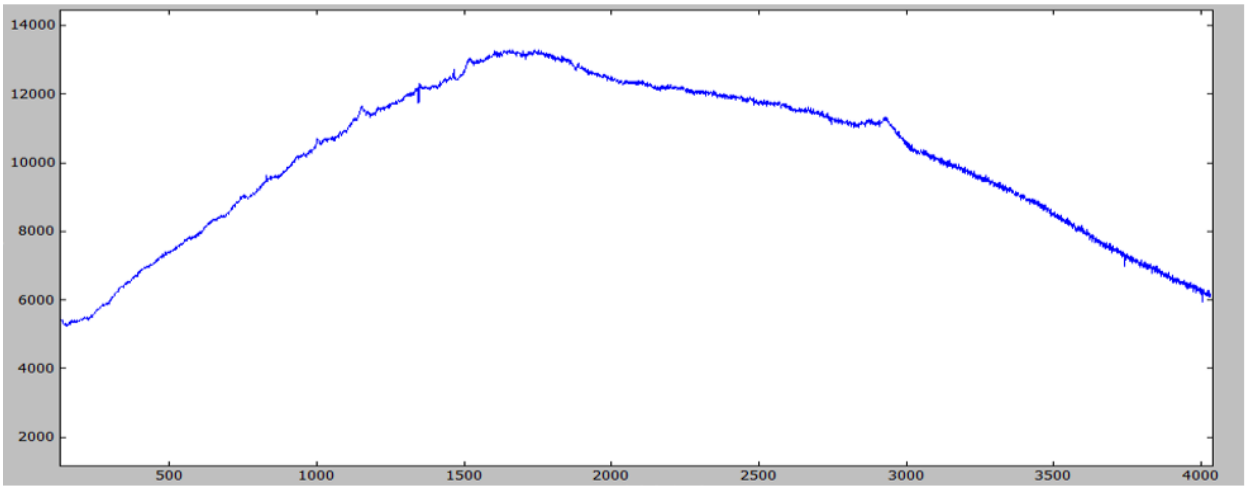

Рисунок 49 – Спектр низкодифференцированной неороговевающей плоскоклеточной p16-позитивной орофарингеальной карциномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Рисунок 50 – Спектр крови при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Ранее в исследованиях было отмечено (рисунок 51), что наиболее

информативными полосами КРС для дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита являются следующие: 573 $см^{-1}$, 1092 $см^{-1}$ [70], однако ввиду сложности морфометрических, метаболических и микробиологических характеристик ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите, следует принимать во внимание возможное наличие влияния каждой из перечисленных компонент в общий сигнал флюоресценции и набор линий КРС.

Рисунок 51 – Наиболее информативные линии КРС при дифференциации форм хронического тонзиллита. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Поскольку флюоресцентная составляющая является взаимодополняющим методом диагностики к КРС, для врача критически важно интепретировать оба феномена в рамках применения комбинированной технологии СКРСФ при патологии ЛОР-органов. В качестве подтверждения клинического диагноза в исследованиях применялся гистологический метод диагностики. Так, на рисунке 52 изображен микропрепарат небной миндалины; исследования проводились ex vivo и in vivo.

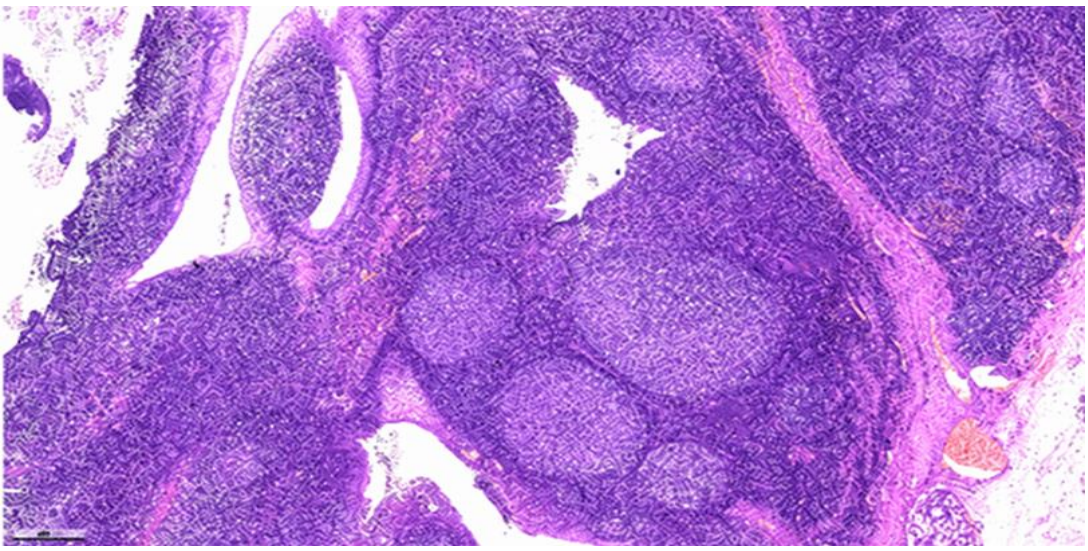

Рисунок 52 – Гистологические признаки гиперплазии фолликулов в небной миндалине, гематоксилин и эозин, 300 мкм

Помимо морфологического строения микропрепарата следует учитывать микробный фактор, в данном случае, визуализировались колонии грибов (рисунок 53).

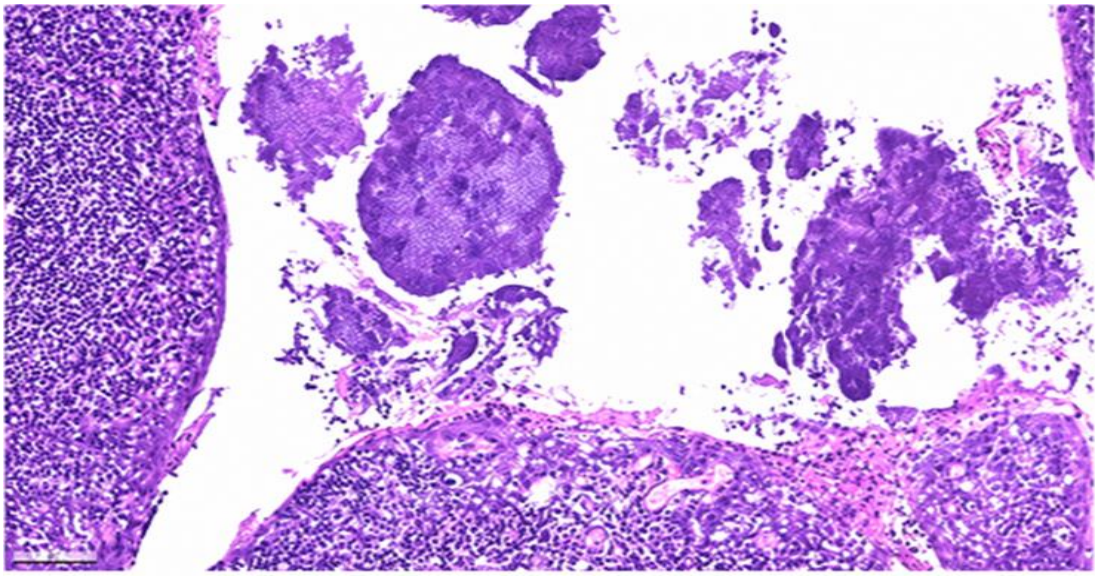

Рисунок 53 – Колонии грибов, гематоксилин и эозин, 300 мкм

На рисунке 54 ниже представлена ткань миндалины с выраженной фолликулярной и паракортикальной гиперплазией, светлыми герминативными центрами, гиперплазией лимфоидных фолликулов, имеющих крупные зародышевые центры. В просвете расширенных лакун отмечалось наличие слизи, скопления полиморфно-ядерных лейкоцитов, десквамированный эпителий и колонии микроорганизмов. В эпителии лакун очаговая визуализировались участки

инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами.

Гистологическая картина исследуемой области при проведении спектрального анализа соответствовала хроническому тонзиллиту (рисунок 54).

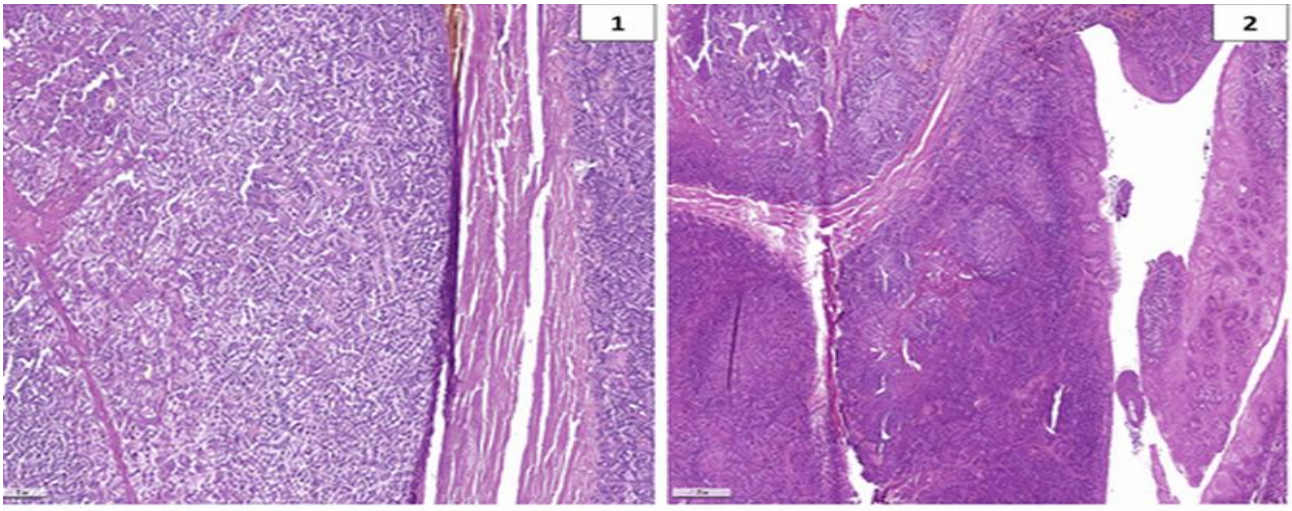

Рисунок 54 – Гистологические признаки паракортикальной гиперплазии, гематоксилин и эозин, 300 мкм (1), фокусы фолликулярной гиперплазии, гематоксилин и эозин, 400 мкм (2)

В данном исследовании были изучены спектральные особенности плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита компенсированной и декомпенсированной формы (согласно классификации хронического тонзиллита по академику И.Б. Солдатову [81]).

Спектральные характеристики хронического тонзиллита компенсированной формы и плоскоклеточной карциномы небных миндалин позволили провести дифференциацию данных тканей между собой, так, на рисунке 55 показаны результаты после проведенной предобработки данных двух классов тканей. Результат построения модели продемонстрировал разделение типов тканей со специфичностью и чувствительностью, близкими к 100%. Это указывает на высокую перспективность метода для скрининговой и интраоперационной дифференциальной экспресс-диагностики представленной патологии глотки (рисунок 55).

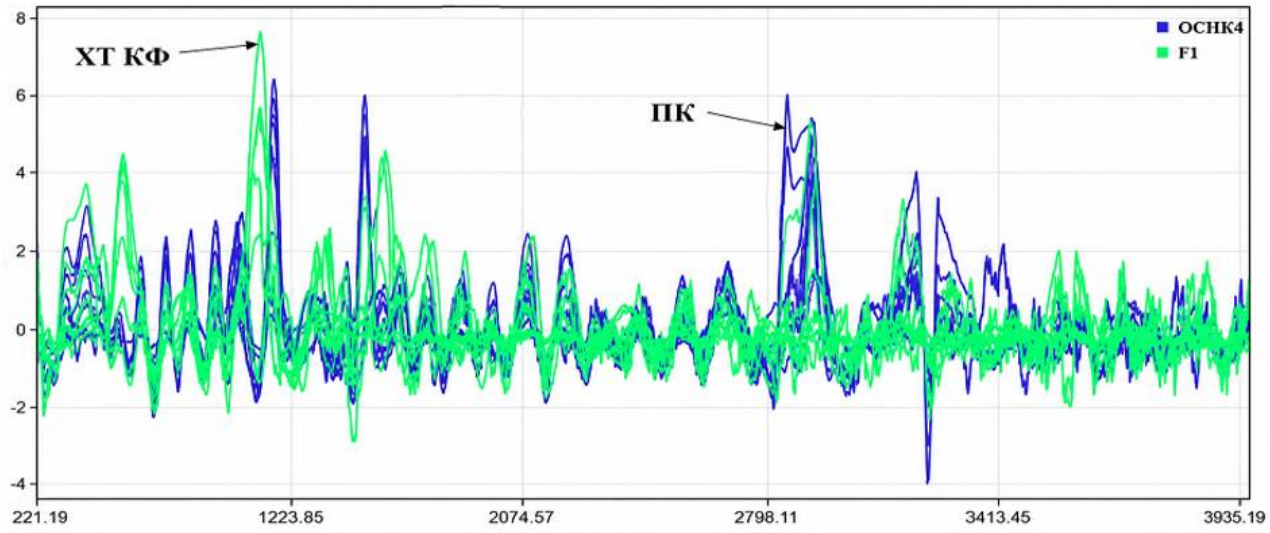

Рисунок 55 – Модель, построенная после предварительной обработки спектральных характеристик ткани ПК небных миндалин и лимфоидной ткани небных миндалин при хроническом воспалении (ПК небных миндалин и хронический тонзиллит компенсированной формы (ХТ КФ), модель после сглаживания, выделения сигнала КРС, нормирования и центрирования). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

После спектрального анализа были выявлены наиболее информативные линии КРС при описанном сравнении: 573, 1094, 1162, 1520 и 2932 $см^{-1}$. Данные результаты подтвердили возможность разделения хронического воспалительного процесса в глотке и опухолевой ткани при плоскоклеточной карциноме с использованием СКРСФ. При сравнительном анализе спектров тканей небных миндалин при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы и плоскоклеточной карциномы небных миндалин была отмечена воспроизводимость результатов исследования, несмотря на то что специфичность оказалась ниже. Данный факт может указывать на частичное пересечение патогенетических механизмов хронического воспалительного процесса в стадии декомпенсации тонзиллита и опухолевой трансформации при плоскоклеточной карциноме небных миндалин.

Рисунок 56 – Наиболее информативные полосы при сравнении ПК небных миндалин и тканей небных миндалин при хроническом воспалении (ПК небных миндалин и воспалительный процесс в области лимфоидной ткани при ХТ КФ). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Учитывая полученные высокие показатели чувствительности и специфичности, были дополнительно проведены расчеты, согласно распределению Пуассона, для редких ошибок при FN = 0 и FP = 0 (таблица 5). Для нулевого числа диагностических ошибок верхняя граница 95% доверительного интервала ожидаемого числа ошибок по пуассоновской модели составляла $\lambda_{верх} = -\ln(0{,}025) = 3{,}688879$. Нижняя граница 95% доверительного интервала диагностического показателя рассчитывалась по формуле $Р_{нижн} = 1–3{,}688879 / n$, где n – число пациентов соответствующего класса. На рисунке 57 продемонстрированы спектральные характеристики после проведения дифференциации плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы. Результат построения модели выявил специфичность – 95,8%, чувствительность – 90, 0%. Наиболее информативными линиями КРС для дифференциации указанных классов тканей между собой в данном случае были 488, 1149, 1358, 1516, 1575, 1627, 2861 и 2931 $см^{-1}$ (рисунок 58).

Таблица 5 – Чувствительность и специфичность метода СКРСФ в дифференциальной диагностике плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита компенсированной формы

Классы тканей	Se, %	95% ДИ Se, %	Sp, %	95% ДИ Sp, %
Плоскоклеточная карцинома небных миндалин и интактная слизистая оболочка	100	98,64–100	100	98,64–100
Плоскоклеточная карцинома небных миндалин и хронический тонзиллит (ХТ КФ)	100	98,64–100	100	99,04–100

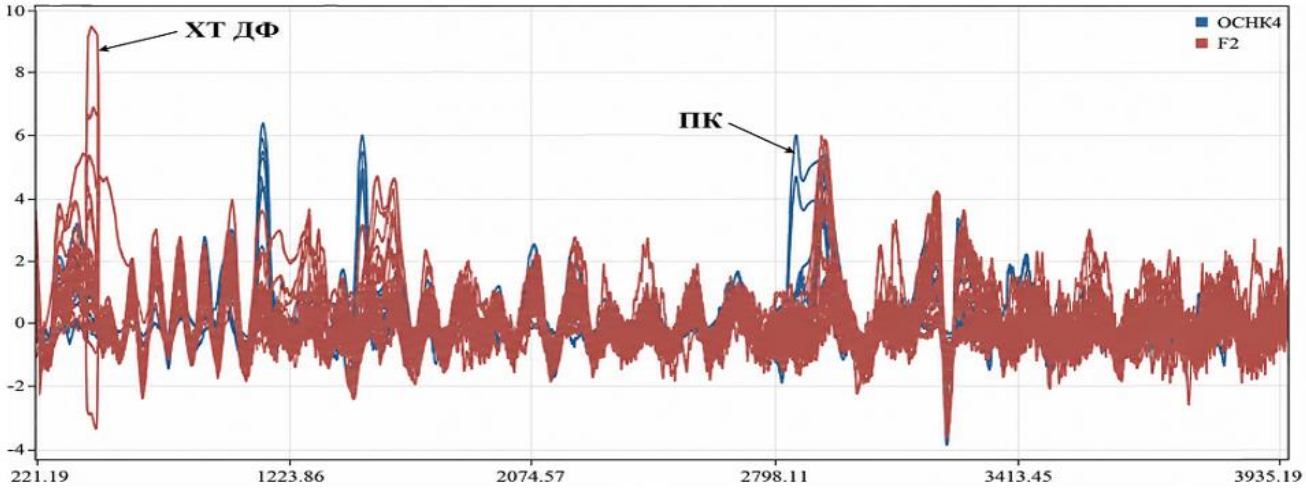

Рисунок 57 – Спектральные характеристики после предварительной обработки при проведении дифференциальной диагностики ПК небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы (ХТ ДФ). По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Рисунок 58 – Наиболее информативные полосы КРС при дифференциации ПК небных миндалин и ХТ ДФ. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Далее был проведен расчет диагностических характеристик по распределению Пуассона для дифференциации ПК небных миндалин и ХТ ДФ. Положительным классом считалась ПК небных миндалин; отрицательным классом – хронический тонзиллит, декомпенсированная форма.

Точность была рассчитана с учетом значений чувствительности и специфичности: Accuracy (точность) = (Se × N+ + Sp × N−) / (N+ + N−); Accuracy = (0,900 × 272 + 0,958 × 389) / 661; Accuracy = (244.8 + 372.662) / 661 = 93.41% ≈ 93,4%, таким образом, точность по значениям Se (чувствительности) и Sp (специфичности) составила 93,4%.

При оценке диагностической эффективности классификационной модели положительным классом считалась патология, отрицательным – группа сравнения. Чувствительность определялась как доля правильно классифицированных пациентов положительного класса, специфичность – как доля правильно классифицированных пациентов отрицательного класса. При отсутствии диагностических ошибок нижние границы 95% доверительных интервалов чувствительности и специфичности оценивались с использованием пуассоновского приближения отдельно для каждого класса с учетом численности соответствующих групп исследования. Расчет 95% доверительных интервалов по распределению Пуассона проводился таксим образом, что для метода редких ошибок в качестве событий рассматривались диагностические ошибки: ложноотрицательные результаты (FN) для чувствительности и ложноположительные результаты (FP) для специфичности, при этом был использован 95% доверительный интервал для параметра Пуассона λ через распределение χ^2 (α = 0,05); λL = 0,5 × χ^2 (α/2; 2k); λU = 0,5 × χ^2 (1−α/2; 2(k+1)). Доверительный интервал для доли ошибок был получен делением границ λ на число наблюдений соответствующего класса. Для чувствительности и специфичности границы инвертировались: показатель = 1 − доля ошибки. Расчет чувствительности проводился по алгоритму: FN = 27; N+ = 272; наблюдаемая доля FN = 27/272 = 9.93%; λFN,95% = [17.793; 39.284]; доля FN, 95% ДИ = [6.54%; 14.44%]; Se, 95% ДИ = [1 − 39.284/272; 1–17.793/272] = [85.56%; 93.46%].

Поскольку первично была получена чувствительность 90,0%, был проведен расчет по распределению Пуассона и при 95% ДИ по Пуассону она составила ≈ 85.6–93.5%. Подобным образом рассчитывалась специфичность: FP = 16; N− = 389; наблюдаемая доля FP = 16/389 = 4.11%; λFP,95% = [9.145; 25.983]; доля FP, 95% ДИ = [2.35%; 6.68%]; Sp, 95% ДИ = [1 − 25.983/389; 1–9.145/389] = [93.32%; 97.65%]. Принимая во внимание первоначальную цифру специфичности 95,8%, был проведен ее перерасчет с учетом 95% ДИ по Пуассону: она составила ≈ 93.3-97.6%. Полученные итоговые значения чувствительности и специфичности метода СКРСФ при дифференциации указанных выше классов нозологий представлены на рисунке 59.

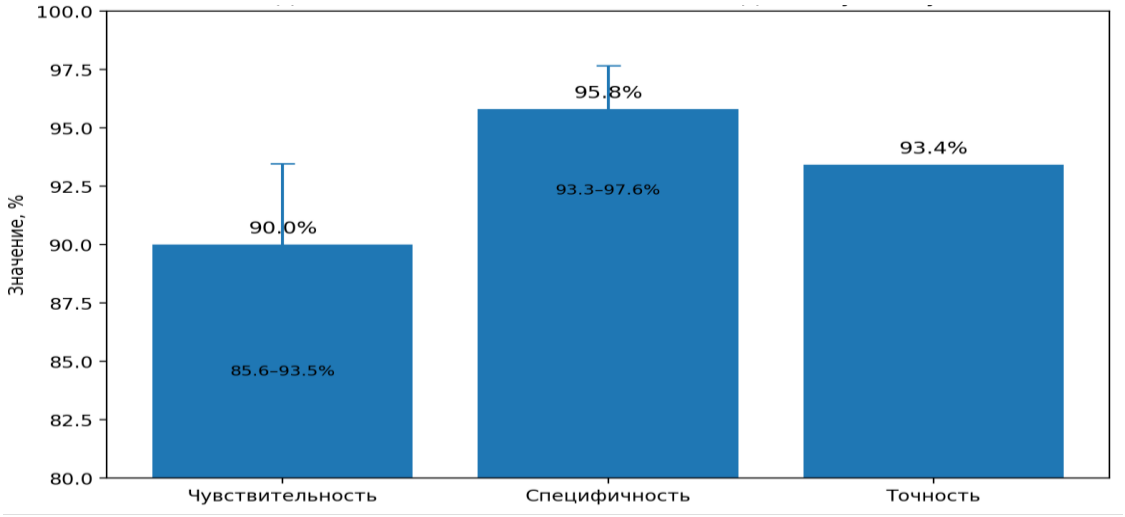

Рисунок 59 – Чувствительность, специфичность и точность при дифференциации плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы по распределению Пуассона

Данные объективного осмотра и спектроскопического исследования подтверждались гистологическим исследованием. На рисунке 60 проиллюстрированы участки изъязвленной орофарингеальной плоскоклеточной ВПЧ-ассоциированной карциномы с инвазивным ростом, без признаков сосудистой инвазии, которая представлена фрагментом ткани небной миндалины с ростом клеток плоскоклеточной карциномы: визуализируются солидные участки из атипических эпителиоцитов с высокой митотической активностью и умеренно выраженными признаками ороговения, с центральными участками некроза (рисунок 60 (1)). Реакция с антителами к p16 – позитивная в 100% опухолевых

клеток, интенсивное ядерное и цитоплазматическое окрашивание (рисунок 60 (2)).

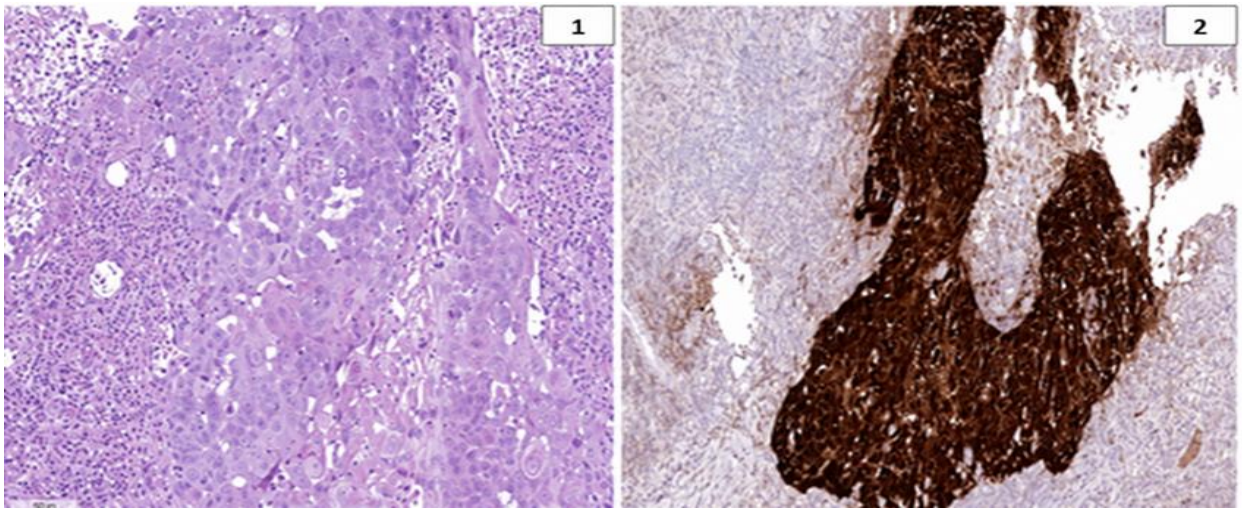

Рисунок 60 – Гистологическая картина изъязвленной орофарингеальной плоскоклеточной ВПЧ-ассоциированной карциномы: пласты плоскоклеточной карциномы, гематоксилин и эозин, 200 мкм (1); ИГХ-реакция с антителом к p16, цитоплазматическое и ядерное окрашивание в эпителии (2). Иммунопероксидазная реакция с ДАП (3,3`-диаминобензидином); продукт реакции – коричневого цвета, 300 мкм

Таким образом, результаты проведенного спектроскопического исследования, полученные в отношении заболеваний глотки, продемонстрировали перспективу применения КРСФ в диагностике ex vivo и in vivo при патологии ЛОР-органов. При разработке алгоритмов диагностики метод СКРСФ может обеспечить неинвазивную детекцию границ распространенности опухоли, типа ткани и зон резекции при злокачественном процессе, в частности, при плоскоклеточной карциноме глотки. В перспективе является целесообразным применять методы машинного обучения и искусственного интеллекта во вспомогательной клинической практике врача для проведения ранней неинвазивной диагностики воспалительных, опухолевых и предопухолевых заболеваний с использованием метода СКРСФ. Подобный анализ был проведен в отношении дифференциации лимфоидной ткани и ткани плоскоклеточной карциномы носоглотки. Так, на рисунке 61 изображен усредненный спектр ткани аденоидных вегетаций. Кривая характеризуется большим количеством линий КРС, однако отмечается выраженный флюоресцентный фон, который является сложным в интерпретации, соответственно, флюоресцентная составляющая должна быть проанализирована

отдельно для тканей, который обладают сильным сигналом флюоресценции и в совокупности с линиями КРС. На усредненном спектре КРС лимфоидной ткани аденоидных вегетаций отмечаются характерные линии в областях 749, 1003, 1155, 1336, 1450, 1518, 1657 и 2933 $см^{-1}$, а также наличие плато в диапазоне волновых чисел 2000-2950 $см^{-1}$, чего не наблюдается при хроническом тонзиллите и опухолевых заболеваниях глотки. Однако в настоящем исследовании при проведении сравнительного спектрального анализа было отмечено, что спектры лимфоидной ткани небных миндалин и аденоидных вегетаций располагались в одном кластере, а спектры плоскоклеточной карциномы небных миндалин и носоглотки – в другом, что является основополагающим для проведения дополнительных исследований с целью изучения патогенетических и метаболомных характеристик при воспалительном и опухолевом процессе.

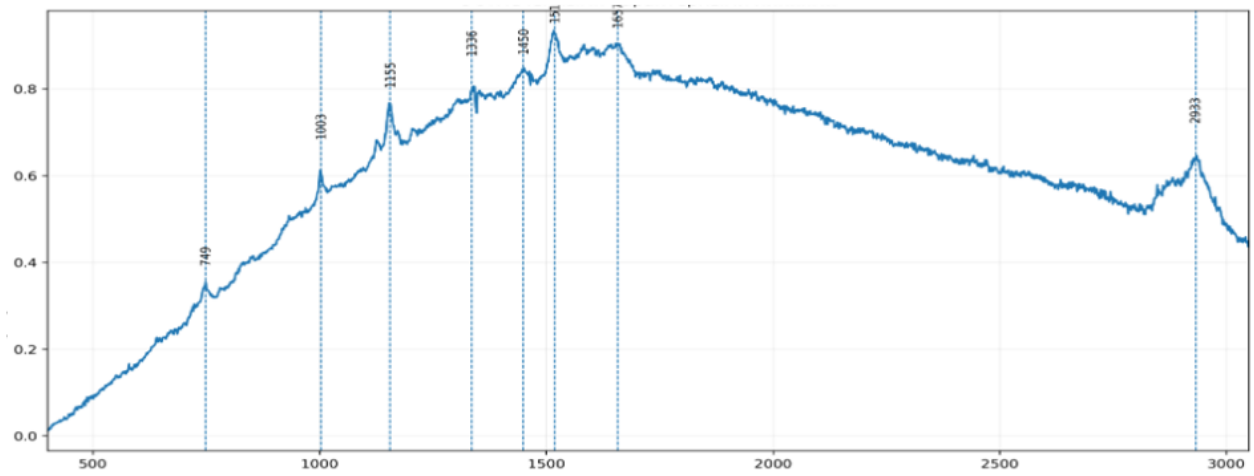

Рисунок 61 – Усредненный спектр аденоидных вегетаций с наиболее характерными линиями КРС. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 62 представлена модель «воспаление и опухоль» спектральных характеристик плоскоклеточной карциномы носоглотки и тканей носоглотки при хроническом воспалении в области лимфоидной ткани миндалин. Классы тканей небных миндалин и аденоидных вегетаций были объединены ввиду того, что при использовании метода главных компонент их числовые значения находились в одном кластере, по сравнению с плоскоклеточной карциномой носоглотки.

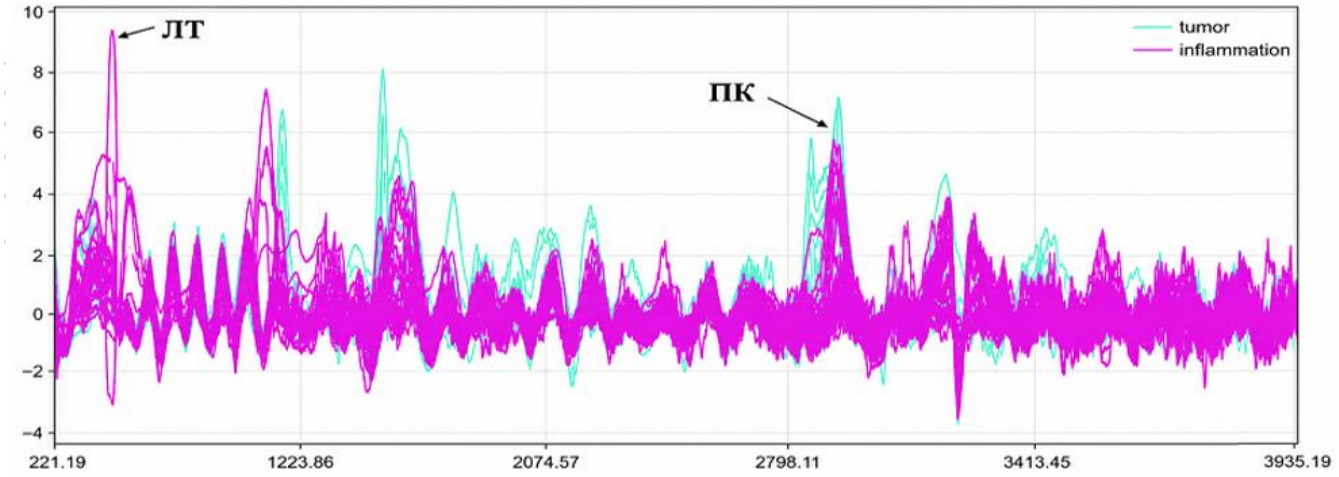

Рисунок 62 – Модель после сглаживания, выделения сигнала КРС, нормирования и центрирования дифференциации воспалительного и опухолевого процесса (ПК носоглотки и лимфоидная ткань миндалин). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Классы тканей были разделены со специфичностью 87,8%, чувствительностью 86,3%. По результатам анализа значимости переменных (Variable Importance in Projection, VIP) в модели дискриминантного анализа на основе метода частичных наименьших квадратов (PLS-DA) наиболее информативными были следующие линии КРС: 500, 570, 1098, 1161, 1519, 2880 и 2931 $см^{-1}$.

Полученные данные свидетельствуют об информативности применения метода СКРСФ для ускоренной идентификации злокачественного перерождения клеток. Дифференциация опухолевой ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный процесс, была связана с изменениями интенсивности линий комбинационного рассеяния света на величинах волновых чисел 500 и 570 $см^{-1}$, характеризующих преимущественно колебания дисульфидных связей [210] и компонентов коллагенового матрикса; при 1098 $см^{-1}$, обусловленной главным образом симметричными колебаниями фосфодиэфирных групп нуклеиновых кислот и фосфолипидов; при 1161 и 1519 $см^{-1}$, относимых к колебаниям полиеновой цепи каротиноидов [334], а также при 2880 и 2931 $см^{-1}$, отражающих соответственно, преимущественно липидный и белково-липидный компоненты ткани. Выявленные различия могут свидетельствовать о ремоделировании

внеклеточного матрикса, изменениях клеточности, антиоксидантного статуса и соотношения белков и липидов при воспалительном и опухолевом процессах [165]. На рисунках 62 и 63 изображены наиболее информативные спектральные линии КРС, выявленные при дифференциации воспалительного и опухолевого процесса при патологии носоглотки. Анализ линий КРС необходим для интерпретации морфометрических, метаболических и функциональных различий между интактной тканью, воспалением, доброкачественным новообразованием и злокачественным процессом. Линии КРС отражают состав метаболитов и структурные изменения ткани.

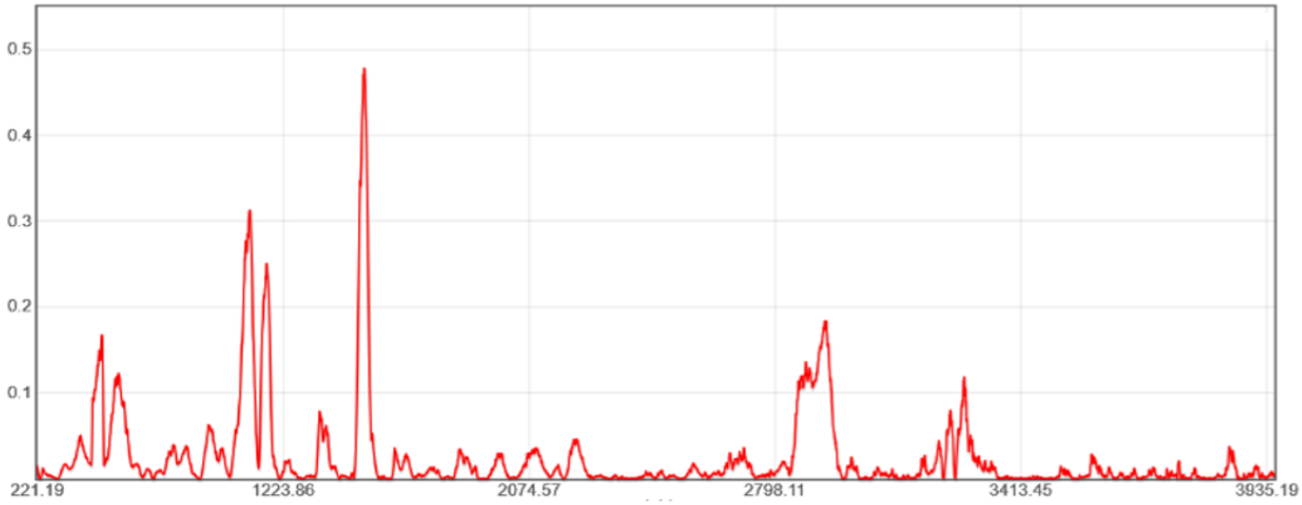

Рисунок 63 – Наиболее информативные линии КРС для дифференциации спектров лимфоидной ткани миндалин и тканей носоглотки при ПК. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Далее был проведен расчет диагностических характеристик по распределению Пуассона для дифференциации плоскоклеточной карциномы носоглотки и лимфоидной ткани миндалин. Положительным классом считалась плоскоклеточная карцинома носоглотки, отрицательным – лимфоидная ткань миндалин. Были рассчитаны показатели матрицы неточностей: TP = 109 × 0,863 = 94.067; FN = 109 − 94.067 = 14.933; TN = 775 × 0,878 = 680.450; FP = 775–680.450 = 94.550. Точность пересчитана с учетом фактических объемов двух групп и значений чувствительности и специфичности: Точность (Accuracy)= (Se × N+ + Sp × N−) / (N+ + N−); Accuracy = (0,863 × 109 + 0,878 × 775) / 884; Accuracy = (94.067 + 680.450) / 884 = 87.62% ≈ 87.6%, при этом был проведен расчет 95%

доверительных интервалов по распределению Пуассона. Так, для числа ошибок k использован точный интервал Пуассона при α = 0,05: λL = 0,5 × χ^2 (α/2; 2k); λU = 0,5 × χ^2 (1−α/2; 2(k+1)). Границы для доли ошибок получают делением λL и λU на объем соответствующей группы. Для чувствительности и специфичности границы инвертируются, поскольку диагностический показатель равен 1 минус доля ошибок. Была рассчитана чувствительность: FN = 15; N+ = 109; наблюдаемая по матрице доля FN = 15/109 = 13.76%; λFN,95% = [8.395; 24.740]; доля FN, 95% ДИ = [7.70%; 22.70%]; Se, 95% ДИ = [1 − 24.740/109; 1–8.395/109] = [77.30%; 92.30%]. При первоначальном значении чувствительности 86,3% после расчета с учетом 95% ДИ по Пуассону она составила ≈ 77.3–92.3%. Также была определена специфичность метода: FP = 95; N− = 775; наблюдаемая по целочисленной матрице доля FP = 95/775 = 12.26%; λFP,95% = [76.861; 116.133]; доля FP, 95% ДИ = [9.92%; 14.98%]; Sp, 95% ДИ = [1 − 116.133/775; 1–76.861/775] = [85.02%; 90.08%], которая составила при первоначальной цифре 87,8% с учетом 95% ДИ по Пуассону варьировала в диапазоне ≈ 85.0–90.1%.

Чувствительность, специфичность, точность метода СКРСФ в дифференциации спектров лимфоидной ткани миндалин и ткани плоскоклеточной карциномы носоглотки продемонстрированы на рисунке 64.

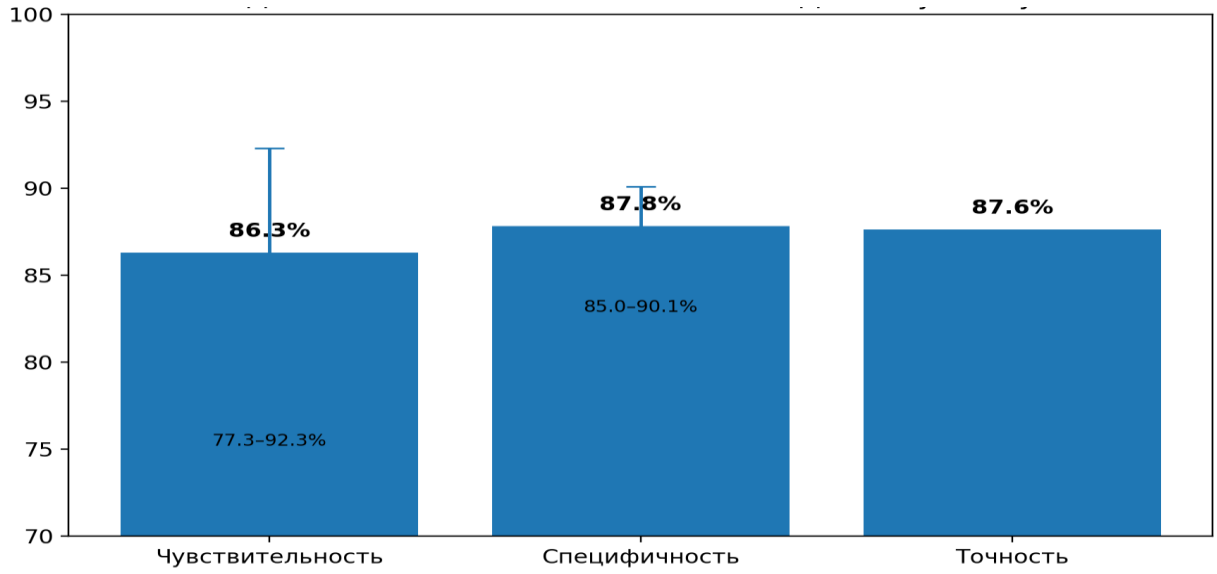

Рисунок 64 – Чувствительность, специфичность и точность с 95% доверительными интервалами по Пуассону

Помимо сравнения спектроскопических данных лимфоидной ткани миндалин и плоскоклеточной карциномы носоглотки, был проведен анализ спектров последней в сравнении с интактными тканями, окружающими опухоль. Полученные значения чувствительности и специфичности метода представлены в таблице 6 и на рисунке 65.

Расчет чувствительности и специфичности при сравнении плоскоклеточной карциномы носоглотки и интактной ткани. По нормированной матрице неточностей интактная ткань классифицирована правильно в 100,0% случаев; ПК (розовым цветом) – в 94,4% случаев, 5,6% отнесены к интактной ткани (синим цветом) (рисунок 65).

Рисунок 65 – Нормированная матрица неточностей

Были рассчитаны показатели чувствительности метода: Se = TP / (TP + FN) = 103 / 109 = 94.50%, специфичности: Sp = TN / (TN + FP) = 109 / 109 = 100.00%, точности: Accuracy = (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN) = 212 / 218 = 97.25%. С учетом расчета 95% доверительных интервалов по распределению Пуассона, чувствительность рассчитывалась следующим образом: число ложноотрицательных ошибок: FN = 6, для точного двустороннего 95% доверительного интервала Пуассона: λFN = 6; 95% ДИ для λ: 2.20–13.06. Поскольку чувствительность равна [1- доля ложноотрицательных ошибок], Sенижн = 1–13.06 / 109 = 88.02%, Sверх = 1 − 2.20 / 109 = 97.98%. Помимо этого, была рассчитана

специфичность метода, так, число ложноположительных ошибок составило FP = 0; при нулевом значении наблюдаемых событий нижняя граница λ равна 0, а верхняя граница точного двустороннего 95% интервала Пуассона составляет 3,69; Sрнижн = 1–3.69 / 109 = 96.62%; Sрверх = 100,00%. Таким образом, чувствительность метода составила 94.50% (95% ДИ по Пуассону 88.02–97.98%), специфичность – 100.00% (95% ДИ по Пуассону 96.62–100,00%), точность – 97.25% (таблица 6).

Таблица 6 – Чувствительность и специфичность метода СКРСФ в дифференциации интактной ткани носоглотки и ткани ПК носоглотки

Показатель	**Точечная оценка**	**95% ДИ по Пуассону**
Чувствительность	94.50%	88.02–97.98%
Специфичность	100.00%	96.62–100,00%

Помимо КРС важно учитывать флюоресцентный компонент при регистрации спектральных данных. В серии исследований ex vivo и in vivo при патологии глотки было отмечено, что флюоресценция также может применяться для диагностики воспалительного и опухолевого процесса при разработке алгоритмов, однако использование данного феномена в клинической практике в рамках реализации функции аппаратно-программных комплексов, функционирующих на различных длинах волн лазерного излучения, требует разработки специальных индексов для оценки морфометрических, метаболических и функциональных индексов дифференциации патологии воспалительного и опухолевого генеза [59].

Флюоресценция в диагностике воспалительного процесса. В ходе следующего этапа исследования была обоснована ценность способа флюоресцентной диагностики в экспресс-идентификации заболеваний ЛОР-органов. Предложенный метод обеспечивает оценку динамических изменений морфометрических, метаболических и функциональных характеристик исследуемых тканей [56-59]. В рамках разработанного способа осуществляется комплексный анализ совокупности спектральных параметров, включающих генерализованный сигнал флюоресценции, а также морфологические и количественные характеристики спектральных пиков: форму, амплитуду, ширину, их положение, сдвиг относительно оси абсцисс и ординат, количество,

соотношение и др. Оценка указанных показателей проводится как в интактных тканях, так и при патологическом процессе. На основании полученных результатов рассчитывались индекс аэробности, нормированный показатель флюоресценции, а также другие специальные показатели [1, 56–59]. Данные параметры позволяют охарактеризовать метаболические, морфометрические и физиологические особенности исследуемых тканей. При исследовании эффекта флюоресценции следует обратить внимание на регистрацию флюорохромов тканях. В таблице 7 представлены спектральные характеристики некоторых порфиринов [1, 33].

Таблица 7 – Спектральные характеристики некоторых порфиринов

Порфирин	**Возбуждение**	**Флюоресценция**	**Поглощение**
Копропорфирин III	401,531,498,573	625,690	392,568,495,623,528
Протопорфирин IX	408,538,506,580	635,700	403,575,504,633,535
Копропорфирин III-д	400,548	596,651	400,547,590
Протопорфирин IX-д	410,560	606,662	407,554,600
Zn-копропорфирин III	409,542	578,628	407,540,576
Zn-протопорфирин IX	418,550	588,638	417,548,585

Флюорохромы в составе тканей характеризуются наличием специфических максимумов флюоресценции в определенных спектральных диапазонах [1, 33]. Их идентификация позволяет косвенно оценивать биохимические и физиологические процессы, протекающие в биологическом объекте. Применение предложенного способа обеспечивает возможность динамического наблюдения за изменениями метаболического и функционального состояния тканей посредством качественного и количественного анализа состава биологической ткани, а также физиологических параметров: кровотока, микроциркуляции и других. Отличительной характеристикой разработанного метода является использование не изолированного сигнала флюоресценции, а в сочетании со специализированным диагностическим алгоритмом и системой расчета индексов, в том числе, в совокупности с линиями КРС [56-59]. Это позволяет определять характер патологического процесса в тканях, а также оценивать его выраженность и динамику изменений патологического характера. Нормирование флюоресцентного

сигнала производится на интактную точку. Так, в ходе исследований [56-59] было продемонстрировано, что спектры, зарегистрированные с поверхности небных миндалин у пациентов с хроническим тонзиллитом и плоскоклеточной карциномой небных миндалин, различались не только по молекулярному составу, выявленному методом СКРС, но и по спектральным характеристикам флюоресцентной составляющей. Сигнал флюоресценции при рациональной его интерпретации может отражать особенности локального кровотока и микроциркуляции в исследуемых тканях, а также степень их микробной обсемененности в расчете на единицу массы ткани. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что различия при определенных формах воспалительного и опухолевого процесса позволяют рассчитывать относительные индексы, характеризующие физиологические и метаболические изменения в исследуемых тканях [56-59]. Однако диагностической значимостью обладают лишь отдельные показатели, характеризующиеся наиболее высокой информативностью. Индексы аэробности и метаболизма тканей, нормированный показатель флюоресценции характеризуют степень структурированности и состоятельности ткани, а также ее функциональные и метаболические изменения в норме, при воспалительном и опухолевом процессе. Наиболее информативными при оценке вклада флюоресценции были нормированный показатель флюоресценции и индекс аэробности [1, 56-59].

С клинической точки зрения значимым является не только выявление отдельных метаболитов и микроорганизмов, участвующих в патогенезе заболевания, но и комплексная оценка изменений в исследуемых тканях. При сравнительном анализе исследуемых групп данный подход приобретает особую значимость, поскольку позволяет получить интегральную характеристику совокупности процессов, протекающих в тканях на морфометрическом, метаболическом и функциональном уровнях. В ходе проведения исследования выполнялся следующий алгоритм: регистровались спектральные особенности в интактной точке, далее – в исследуемых точках, вовлеченных в патологический процесс; определялись наиболее информативные диапазоны длин волн;

рассчитывались диагностические показатели; проводилось автоматизированное сравнение полученных данных; формировалось заключение. Было выявлено, что спектральные показатели ткани небных миндалин здоровых добровольцев отличались от таковых при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов. Индексы были интегрированы в программное обеспечение и рассчитывались в автоматическом режиме реального времени [56-59]. Был разработан специальный диагностический алгоритм с использованием данных индексов, полученные результаты для верификации сопоставлялись с данными гистологического и микробиологического исследований. Для оценки вклада микробной составляющей в флюоресцентный сигнал были исследованы спектры тканей небных миндалин при хроническом тонзиллите до и после консервативного и хирургического лечения. Были определены спектральные особенности некоторых микроорганизмов, колонизирующих слизистую оболочку ЛОР-органов, они изображены на рисунках ниже. Каждый вид микроорганизма характеризуется своим набором спектральных признаков, что можно использовать с диагностической целью [1] (рисунки 66-73).

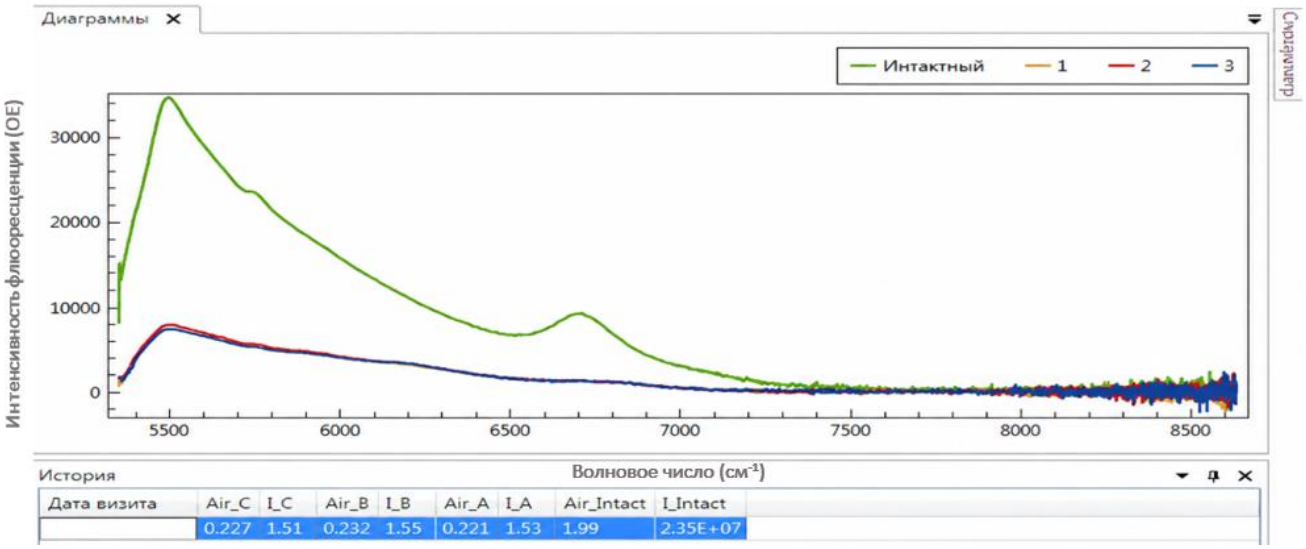

Рисунок 66 – Спектры Candida albicans (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)

На графике (рисунок 66) представлены нормированные показатели флюоресценции и индексы аэробности/анаэробности (Air_A, B, C) и нормированные показатели флюоресценции (I_A, B, C), характеризующие

спектральные особенности микроорганизма. Условные обозначения были заложены в программное обеспечение. По оси абсцисс- величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность флюоресценции в относительных единицах (ОЕ). На рисунках 67 и 68 изображены спектральные характеристики Candida dubliniensis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках) и E. Faecalis.

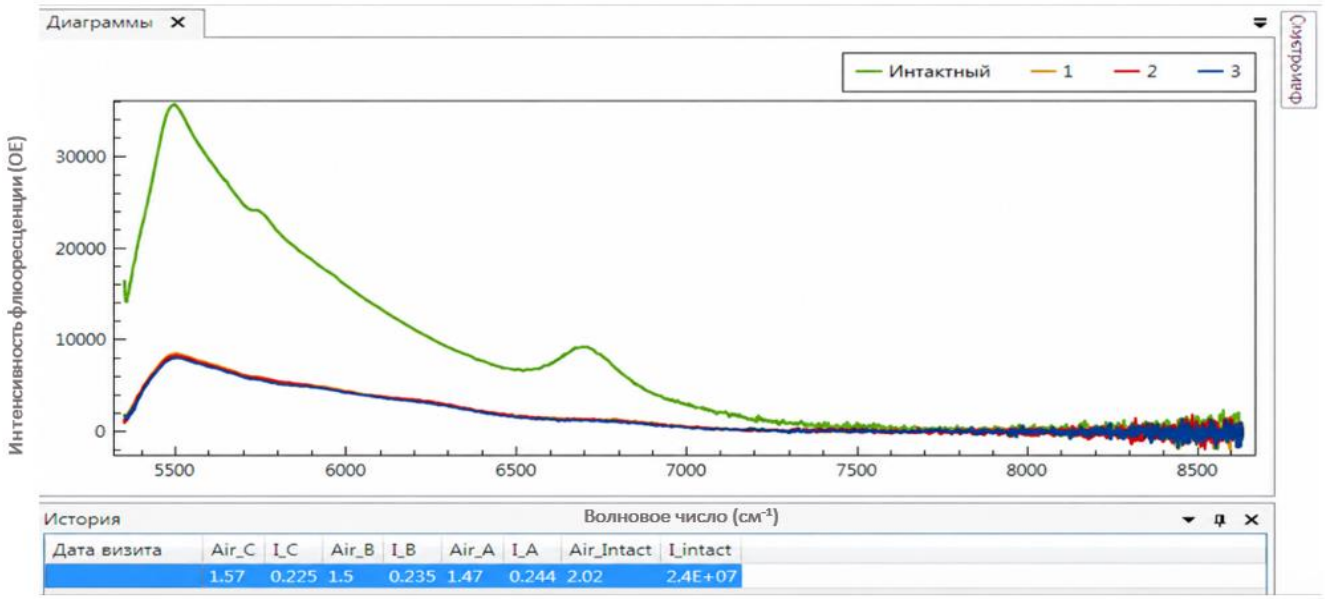

Рисунок 67 – Спектры Candida dubliniensis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)

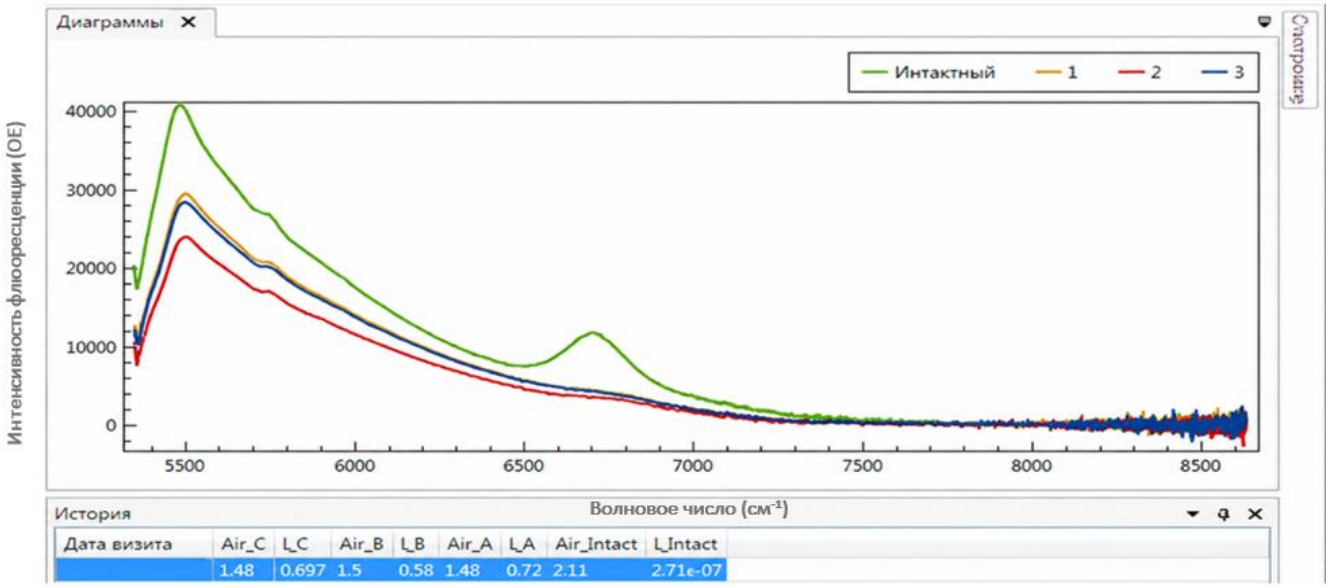

Рисунок 68 – Спектры E. Faecalis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)

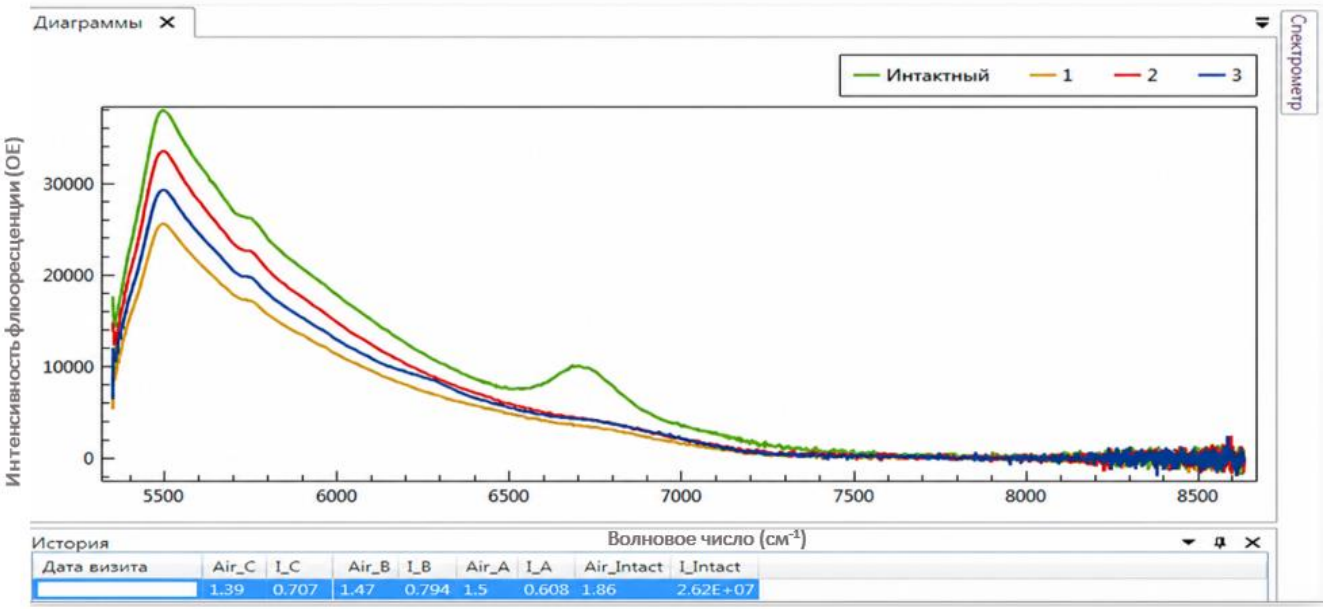

Рисунок 69 – Спектры Klebsiella pneumoniae

На рисунке 70 отмечены спектральные характеристики Proteus mirabilis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках). Под графиком проиллюстрированы индексы аэробности /анаэробности и нормированные показатели флюоресценции микроорганизма, соответственно (Air A, B, C) и I (A, B, C), где A, B, C – точки измерения.

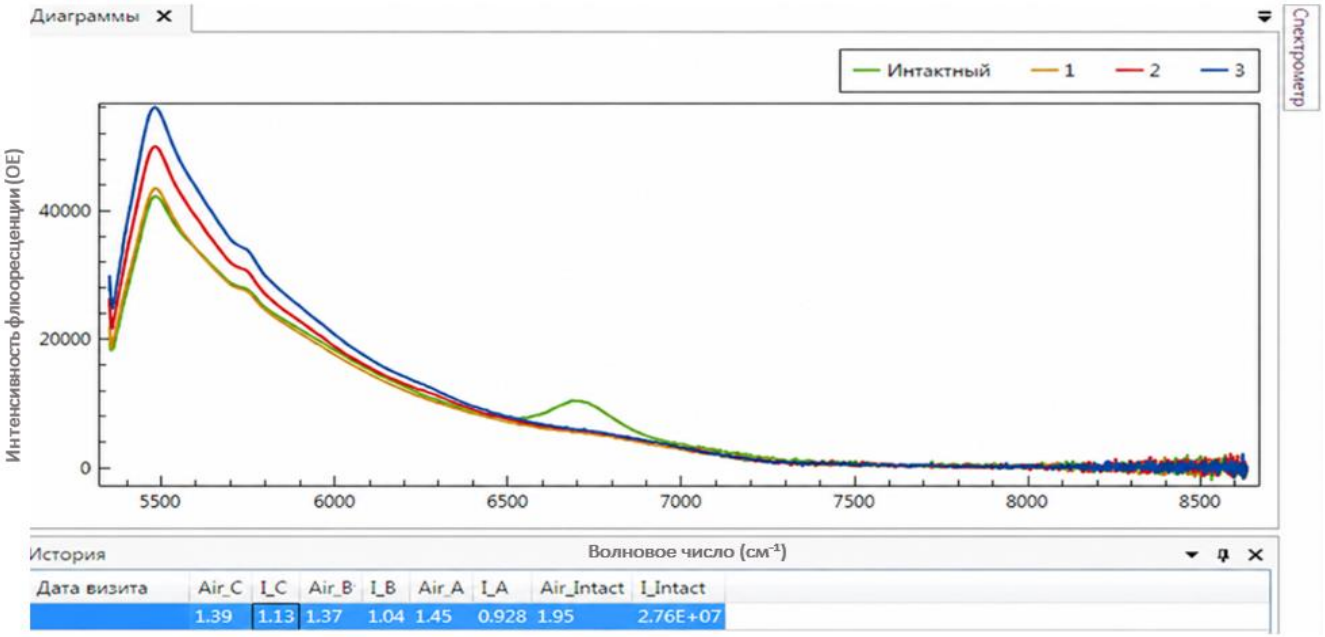

Рисунок 70 – Спектры Proteus mirabilis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)

Рисунок 71 иллюстрирует спектральные характеристики Staphylococcus aureus (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках).

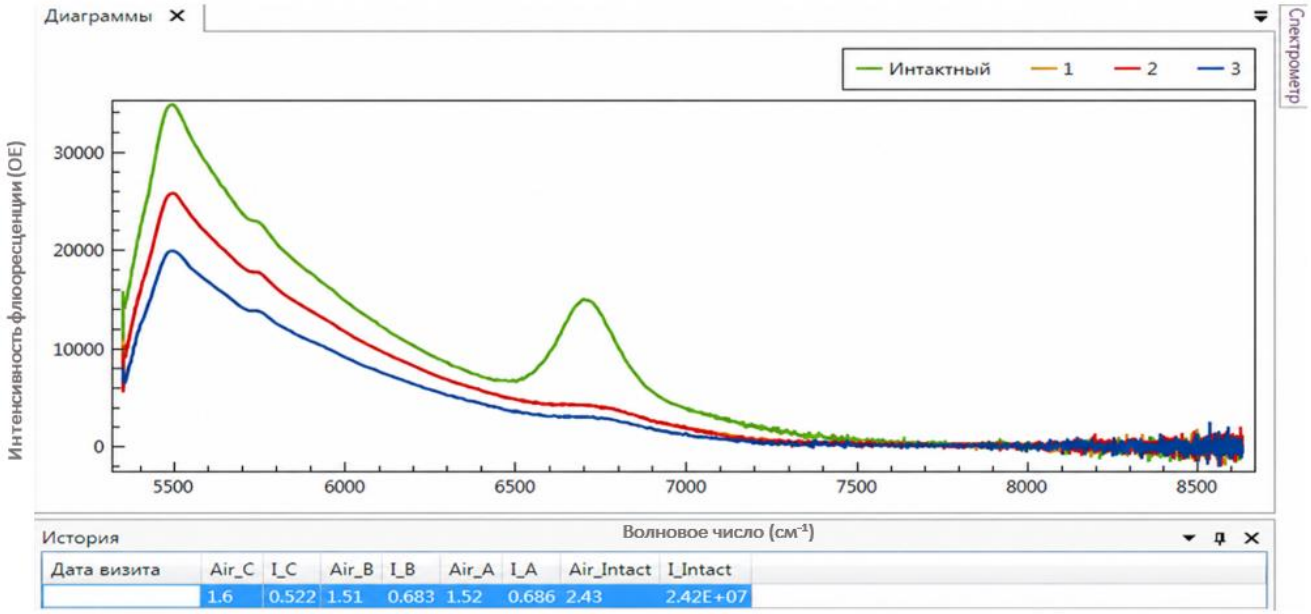

Рисунок 71 – Спектры колонии Staphylococcus aureus

На рисунке 72 изображены спектральные характеристики Streptococcus pneumoniae – чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках.

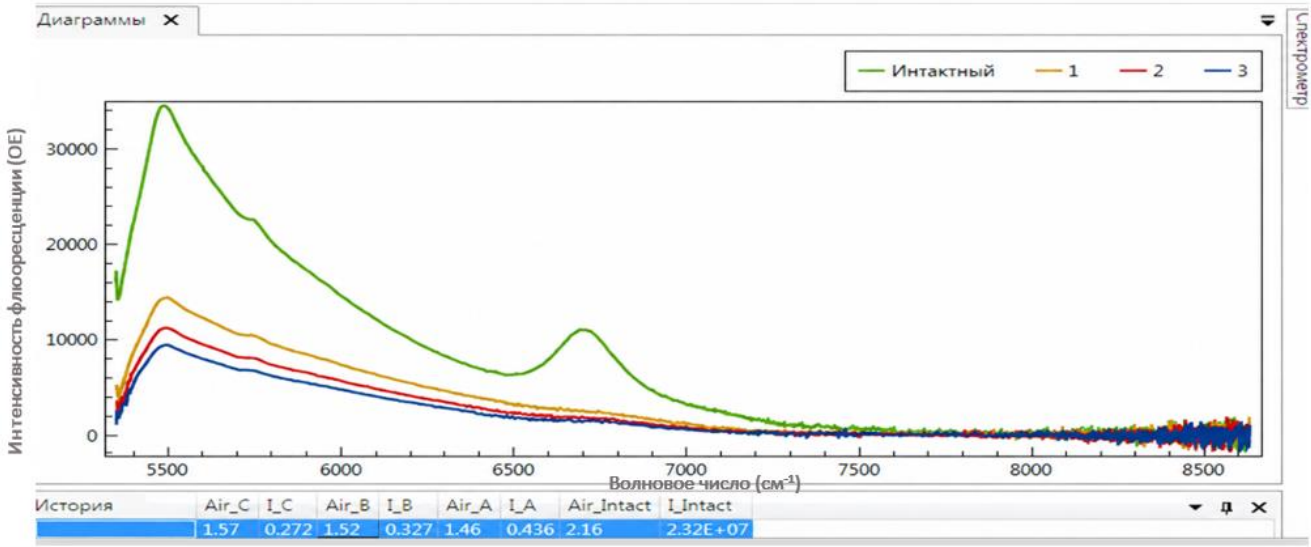

Рисунок 72 – Спектры Streptococcus pneumoniae

На рисунке 73 продемонстрированы спектральные характеристики Streptococcus pyogenes (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках).

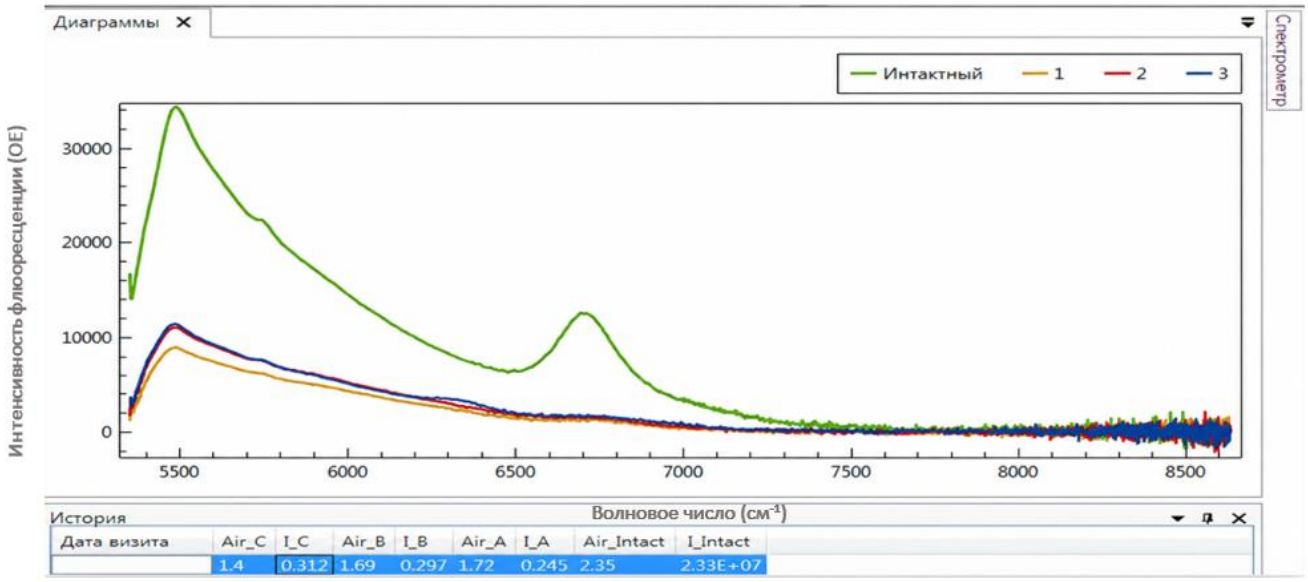

Рисунок 73 – Спектры Streptococcus pyogenes (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)

Спектральные характеристики могут быть представлены как в цифровом, так и в графическом виде (рисунки 66-73). У большинства исследованных микроорганизмов, ассоциированных с воспалительными заболеваниями ЛОР-органов, в спектральных характеристиках отмечалось наличие дополнительного пика в области 6700 $см^{-1}$, который может рассматриваться как один из признаков микробного компонента воспалительного процесса, при превышении концентрации микроорганизмов на грамм ткани эти изменения становятся более явными, а именно, увеличивается интенсивность флюоресценции, появляются дополнительные пики на величинах волновых чисел 5350-6700/см, данные пики регистрируются при измерении спектров тканей глотки при воспалительном процессе, что доказывает влияние микробного фактора на генерализованный спектр флюоресценции.

Ниже представлены спектральные критерии и показатели тканей глотки в норме и при хроническом воспалительном процессе. На рисунке 74 проиллюстрированы спектральные характеристики ткани небных миндалин здоровых добровольцев. Как было показано в более ранних исследованиях [56-59], структурированность ткани и ее состоятельность в интактной области не нарушены; так отношение интегралов мощности флюоресценции и других

параметров (индексов) практически равно единице в пределах спектров в исследуемых точках, то есть, они практически одинаковые, что говорит о том, что ткань относительно однородна.

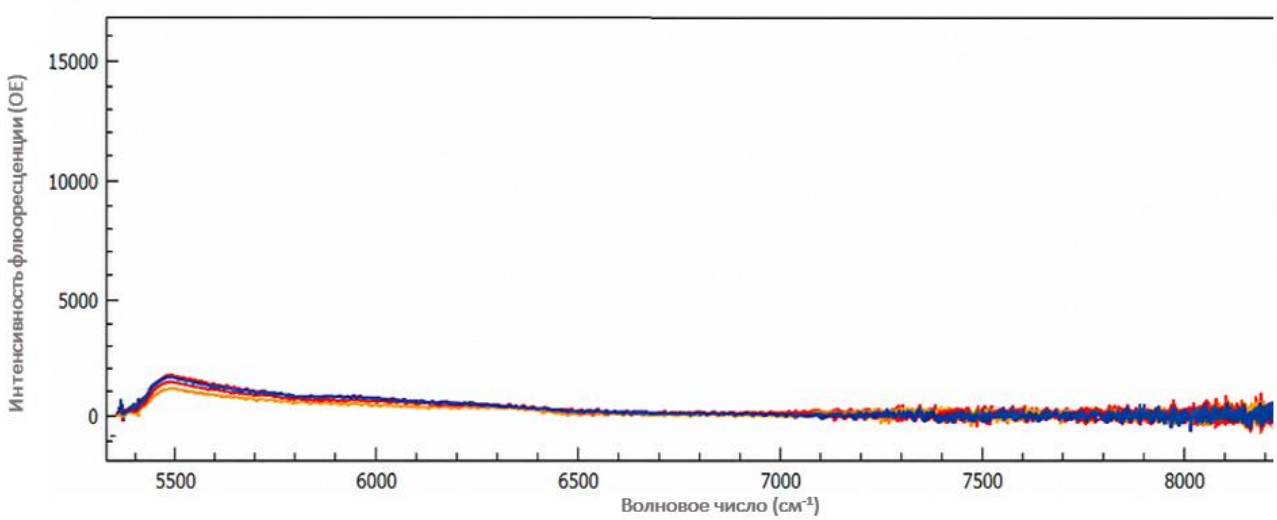

Рисунок 74 – Спектральные флюоресцентные характеристики интактной ткани небных миндалин

Для проведения сравнительного анализа были выбраны диапазоны длин волн 665-675 нм, так как они, в данном случае, наиболее информативны в отношении регистрации спектров микрофлоры и определения ее концентрации [1]. Условные обозначения заложены в программное обеспечение на английском языке, расшифровка индексов представлена следующим образом: I_Intact – интенсивность флюоресценции в интактной ткани, Air Intact – индекс аэробности в интактной точке, I_A, I_B, I_C – нормированные показатели флюоресценции в точках 1, 2, 3, соответственно (НПФ1, НПФ2, НПФ3, соответственно); Air_A, Air_B, Air_C – индексы аэробности (ИА1, ИА2, ИА3) в точках 1, 2, 3, соответственно.

На рисунке 75 представлены спектральные характеристики ткани небных миндалин при компенсированной форме хронического тонзиллита. Цифрой «3» обозначен спектр, полученный в области лакуны небной миндалины. При регистрации спектра в точке 3 выявляется выраженное повышение интенсивности флюоресценции, тогда как при отсутствии воспалительного процесса в глотке аналогичных изменений в соответствующей точке не отмечается (рисунок 74).

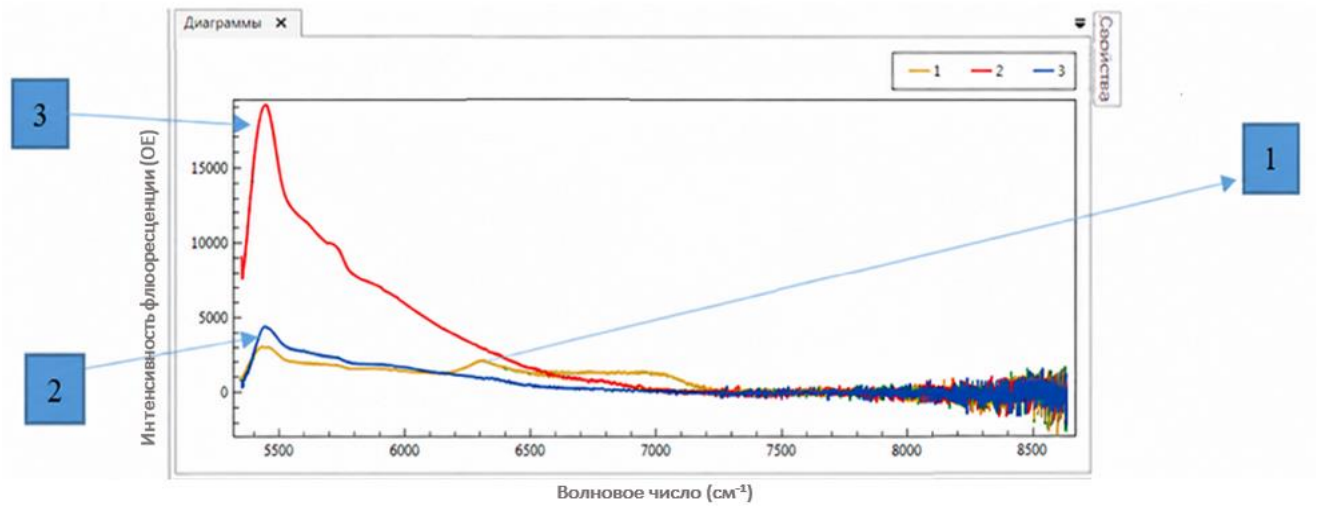

Рисунок 75 – Спектральные флюоресцентные характеристики ткани небных миндалин при ХТ КФ

Разработанный алгоритм флюоресцентной диагностики в сочетании с анализом наиболее информативных индексов позволяет проводить комплексную оценку морфометрических, метаболических и функциональных характеристик тканей в норме и при развитии воспалительного процесса. При интерпретации полученных данных особое внимание следует уделять различиям интенсивности флюоресценции между интактной тканью и тканью небной миндалины при хроническом тонзиллите. На рисунке 75 цифрой 1 обозначен спектр, зарегистрированный в области верхнего полюса небной миндалины, цифрой 2 – в области нижнего полюса, цифрой 3 – в области лакуны небной миндалины. Интенсивность флюоресценции в точке 3 превышает соответствующий показатель, зарегистрированный в интактной точке. Кроме того, в спектре определяется дополнительный пик в области волнового числа 6350 $см^{-1}$, отсутствующий в норме. В рассматриваемом случае значение индекса аэробности составило 0,993 в точке 1, 2,04 – в точке 2 и 1,79 – в точке 3. Так, при значении ИИ (интенсивности флюоресценции усредненного спектра интактной ткани небной миндалины) 14000 относительных единиц (ОЕ) и интенсивности флюоресценции (ИФ) в ткани небных миндалин, не вовлеченных в воспалительный процесс, у конкретного пациента – 1700 ОЕ –100%, интенсивности флюоресценции в точке 3 – лакуне небной миндалины – 19000 ОЕ – х %, х=1118, таким образом, отмечается повышение ИФ в 11 раз.

Соответственно, представляется целесообразным расчет индексов структурированности и состоятельности ткани во всех исследуемых точках, в частности, в точке 2 ИФ равна 4200 ОЕ –100%. При этом в точке 3 ИФ=19000 – х%, отсюда х=452%, то есть, в 4,52 раза больше, чем в точке 2, что говорит о полном нарушении структурированности спектров (как относительно референсных значений в норме, так и в точках небной миндалины по отношению друг к другу) и состоятельности тканей глотки при хроническом тонзиллите.

Индекс аэробности в интактной первой точке – 1,85, во 2-й точке – 2,04, соответственно, 1,85–100%, 2,04-х%, отсюда х=110, то есть при ХТ КФ отмечается повышение ИА в точке 2 на 10%. Таким образом, интенсивность флюоресценции при воспалительном процессе повышается. Также на величине 6350/см обнаруживается дополнительный пик, который не регистрируется в норме (при отсутствии ХТ). Оценить информативность индексов возможно при измерении спектральных параметров ткани до и после консервативного лечения, как было показано в серии экспериментов (рисунок 76).

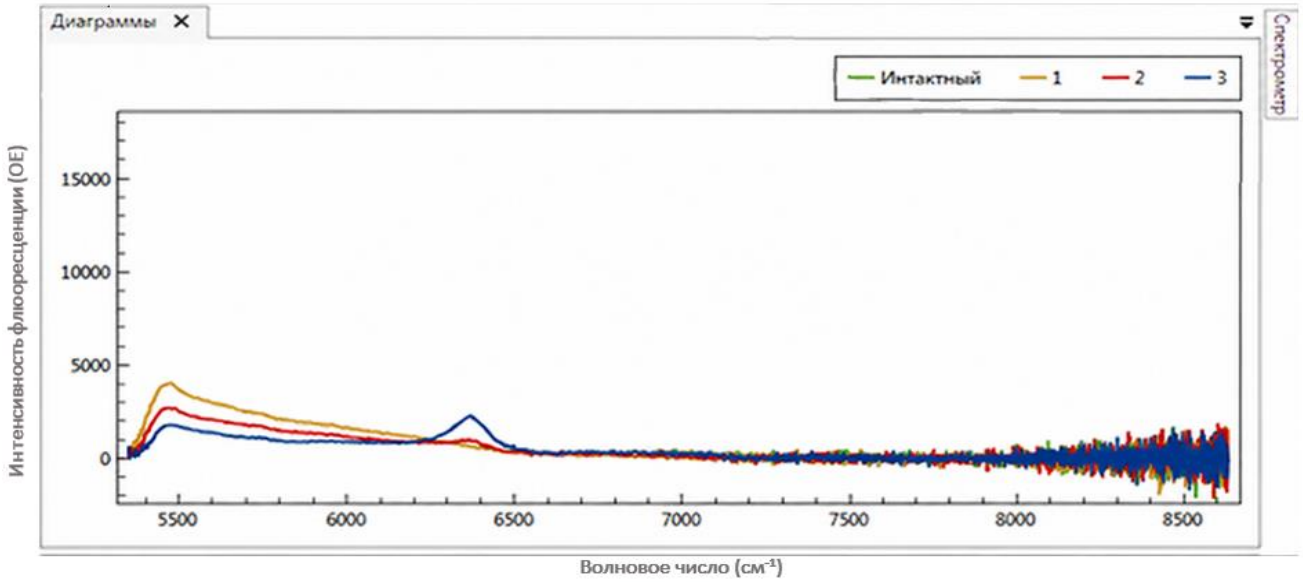

Рисунок 76 – Спектры ткани небных миндалин при ХТ КФ до промывания лакун небных миндалин раствором антисептика (0,01%-ного раствора бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрата)

На рисунке 77 проиллюстрировано, что при ХТ ДФ на величине волнового числа 6370/см также визуализируется дополнительный пик. Если интенсивность флюоресценции в точке 3 равна 1500 ОЕ, в точке 2–4000 ОЕ, то можно рассчитать

степень нарушения структурированности ткани, таким образом, 1500 – 100%, 4000 – x, x=267%, то есть, при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы отмечается нарушение индекса структурированности и состоятельности тканей на 167% при анализе флюоресцентных параметров в точке 3 у данного пациента.

На рисунке 77 представлены спектральные характеристики ткани небных миндалин пациента с декомпенсированной формой хронического тонзиллита после промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил] аммония хлорида моногидрата. После аппликации данным раствором сохраняется дополнительный спектральный пик в области 6350 $см^{-1}$, при этом отмечается увеличение его амплитуды. Данное изменение может быть связано с гибелью микроорганизмов и высвобождением порфиринов – эндогенных флюорофоров, ассоциированных с клеточными структурами микроорганизмов. Воздействие 0,01%-ного раствора бензилдиметил[3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата сопровождается повышением амплитуды пика, регистрируемого в области 6350 $см^{-1}$. Полученные результаты согласуются с данными отечественных исследователей [1, 12].

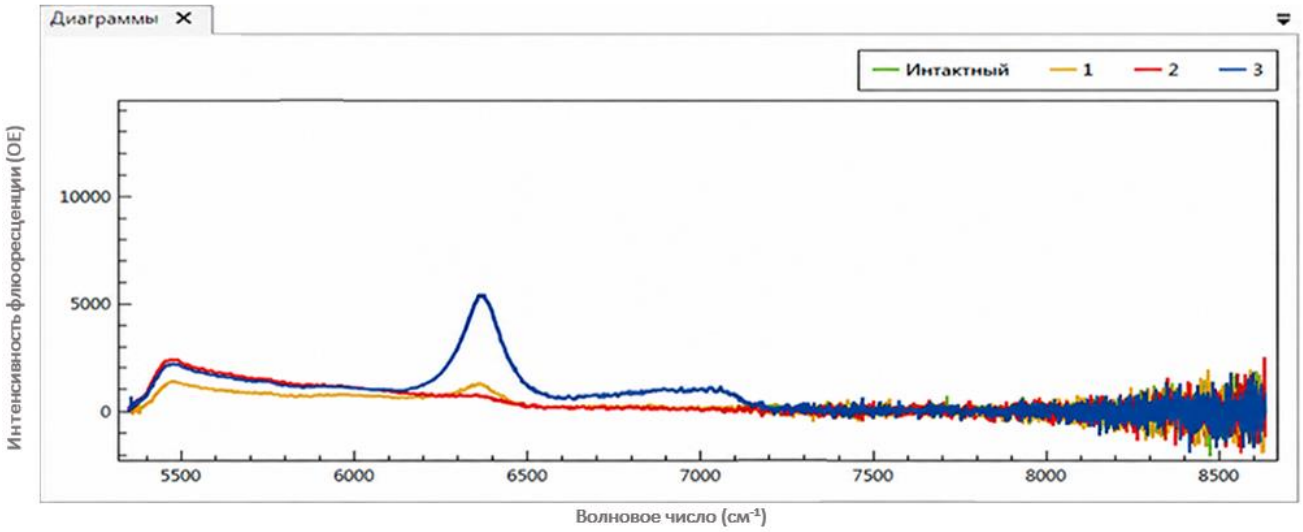

Рисунок 77 – Спектры ткани небных миндалин пациента с хроническим тонзиллитом непосредственно после промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата

На рисунке 78 продемонстрированы спектральные характеристики ткани небных миндалин пациента с ХТ ДФ на 1-й день после вскрытия

паратонзиллярного абсцесса.

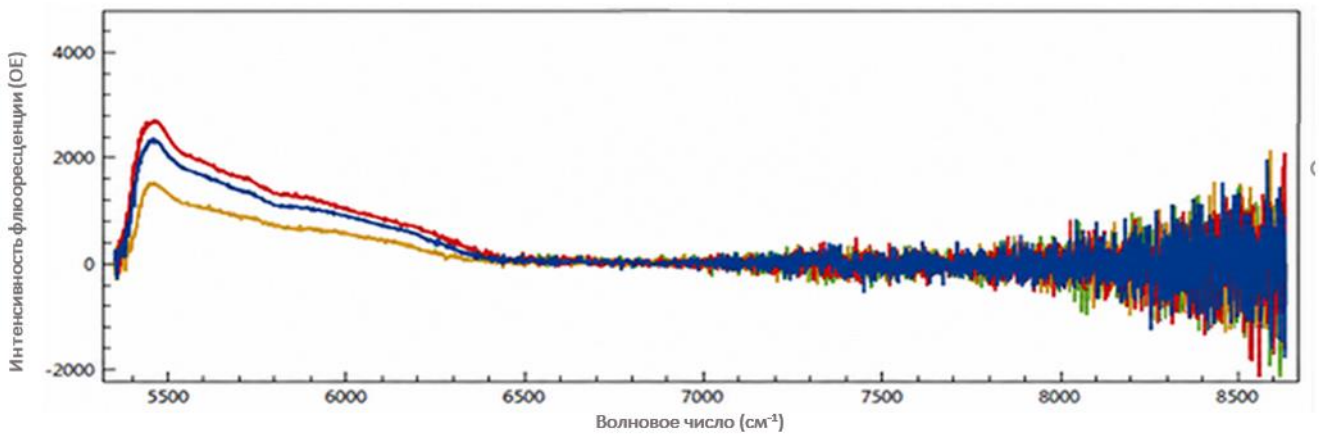

Рисунок 78 – Спектры ткани небных миндалин пациента с ХТ ДФ, 1-й день после вскрытия паратонзиллярного абсцесса

На рисунке 78 видим, что декомпенсация патологического процесса при хроническом тонзиллите характеризуется нарушением структурированности ткани и ее состоятельности по сравнению с референсными значениями, однако дополнительных пиков не регистрируется. На рисунке 79 визуализируются спектральные характеристики ткани небных миндалин пациента с хроническим тонзиллитом декомпенсированной формы на 6-й день после вскрытия паратонзиллярного абсцесса.

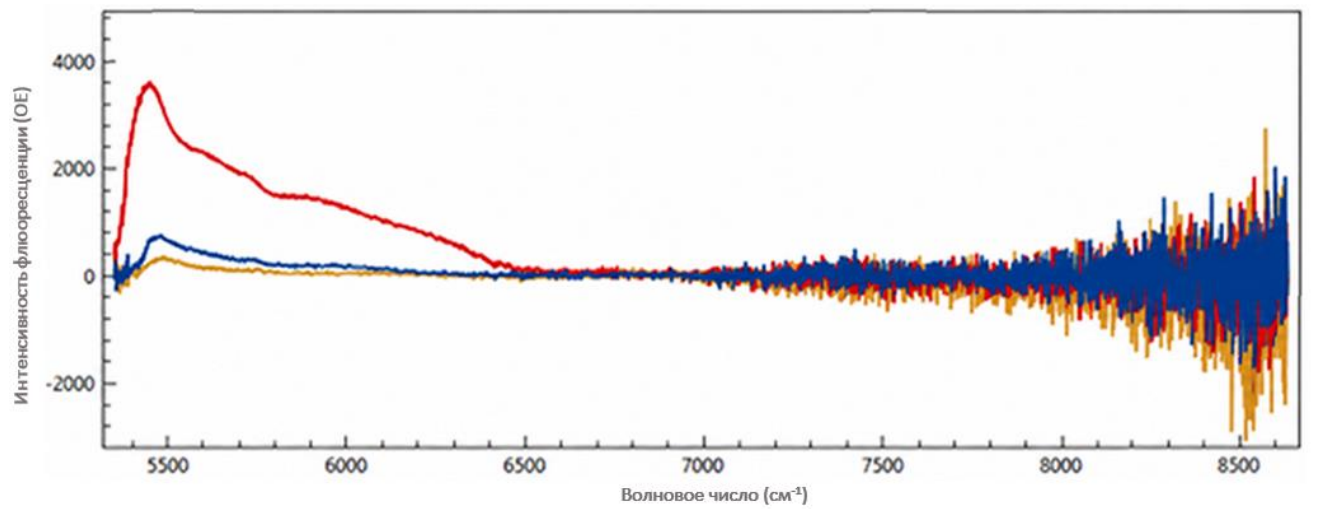

Рисунок 79 – Спектры ткани небных миндалин пациентки с ХТ ДФ на 6-й день после вскрытия паратонзиллярного абсцесса

На рисунке 79 видно, что к 6 суткам после вскрытия паратонзиллярного

абсцесса отмечается постепенное восстановление структуры тканей небных миндалин. На рисунке 80 представлены спектральные характеристики ткани небных миндалин пациента с компенсированной формой хронического тонзиллита до проведения курса промывания лакун небных миндалин. В исследуемых спектрах определяется повышение интенсивности флюоресценции ткани небных миндалин, наличие дополнительных пиков в диапазоне волновых чисел 6350–6400 $см^{-1}$, а также признаки нарушения структурированности ткани по сравнению с интактной тканью. На рисунке 80 цифрой 3 обозначен спектр, зарегистрированный в области лакуны небной миндалины, соответствующей точке 3.

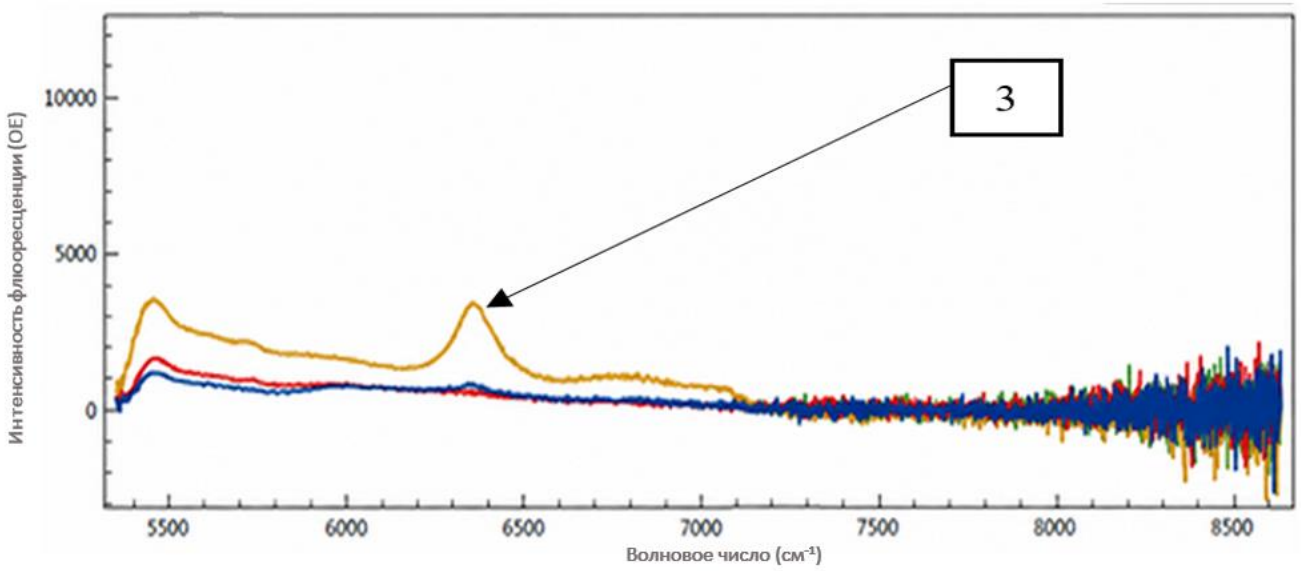

Рисунок 80 – Спектры ткани небных миндалин пациента с ХТ КФ до курса промывания лакун небных миндалин

На рисунке 81 представлены спектральные характеристики ткани небных миндалин пациента с компенсированной формой хронического тонзиллита, зарегистрированные в точках 1, 2 и 3 непосредственно после 10-минутного промывания лакун небных миндалин раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил] аммония хлорида моногидрата. После проведенной аппликации отмечалось выраженное повышение интенсивности флюоресценции ткани небных миндалин, формирование дополнительного спектрального пика в области 6400 $см^{-1}$, а также изменение структуры ткани по сравнению с референсными значениями. Увеличение амплитуды дополнительного пика может быть связано с повышением концентрации порфиринов. В ходе эксперимента было

отмечено, что по мере увеличения количества времени после аппликации ткани небных миндалин раствором антисептического препарата, наблюдалось постепенное снижение интенсивности флюоресценции.

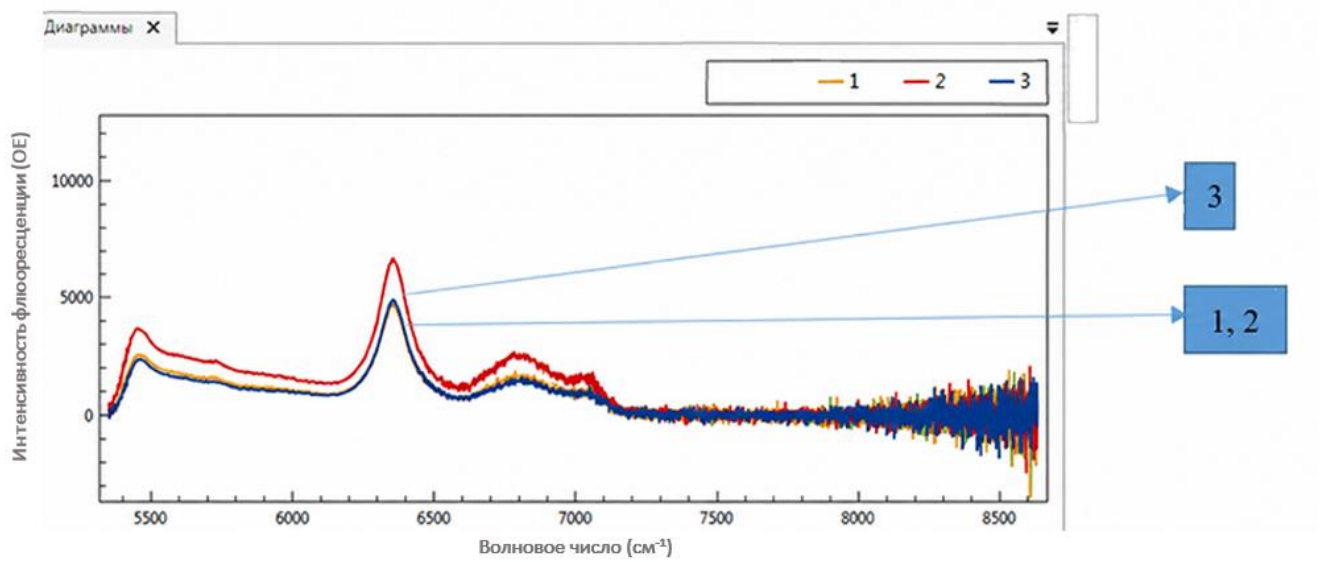

Рисунок 81 – Спектры ткани небных миндалин пациентки с ХТ КФ непосредственно после промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата)

На рисунке 82 представлены спектральные характеристики ткани небных миндалин пациента с компенсированной формой хронического тонзиллита, зарегистрированные после курса промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата. По окончании курса терапии наблюдалось выраженное снижение интенсивности флюоресценции ткани небных миндалин, при этом дополнительного сигнала флюоресценции в области 6400 $см^{-1}$ не наблюдалось. Одновременно отмечалось восстановление структуры ткани с приближением исследуемых показателей к референсным значениям, что может рассматриваться как признак положительной динамики и эффективности проведенного консервативного лечения. Таким образом, по результатам проведенного исследования установлено, что значения НПФ и ИА во всех исследуемых точках ткани небных миндалин после завершения курса лечения стремились к показателям интактной ткани.

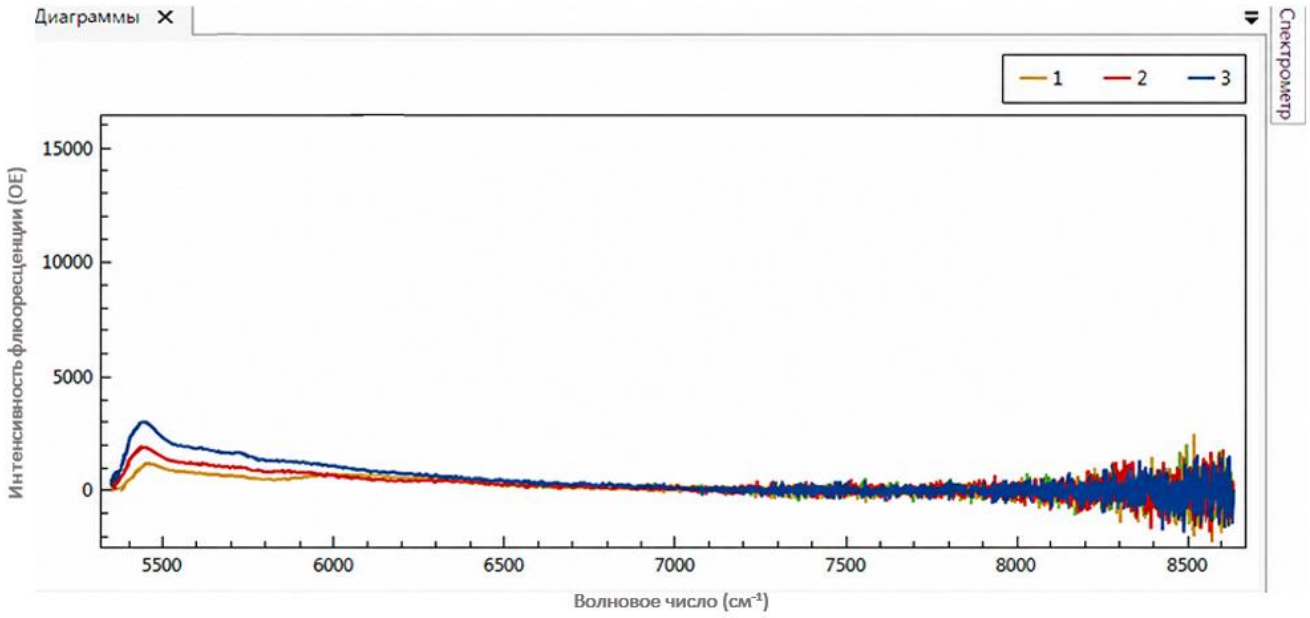

Рисунок 82 – Спектры ткани небных миндалин пациента с ХТ КФ после полного курса промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата

Анализ графических данных показал, что в процессе консервативного или хирургического лечения изменяются характеристики структуры ткани, в частности, следует обратить внимание на уровень оксигенации, параметры микроциркуляции, индекс аэробности и нормированные показатели флюоресценции, что является целью дальнейших исследований вклада флюоресценции в общий спектр при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов. Выявленная динамика подтверждает возможность использования флюоресцентной составляющей метода для объективного мониторинга изменений состояния тканей на фоне проводимой терапии и оценки ее результатов.

На рисунке 83 представлены спектральные характеристики тканей в области миндаликовых ниш пациента, зарегистрированные через две недели после выполнения двусторонней тонзиллэктомии.

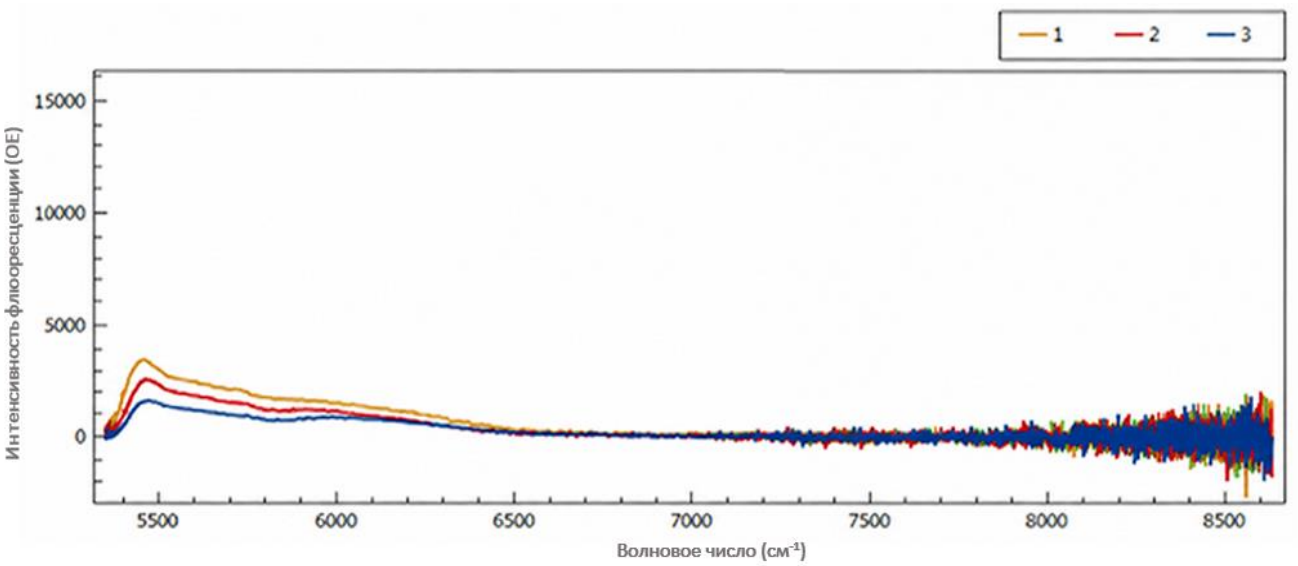

Рисунок 83 – Спектры ткани глотки в области миндаликовых ниш пациента спустя 2 недели после двусторонней тонзиллэктомии

После проведенного хирургического лечения отмечалось снижение интенсивности флюоресценции и частичное восстановление индекса структурированности ткани. Вместе с тем отдельные спектральные признаки, характерные для хронического тонзиллита, сохранялись: структура ткани оставалась частично измененной, а интенсивность флюоресценции превышала значения, регистрируемые в норме. При этом дополнительный флюоресцентный пик в области 6350 $см^{-1}$ более не определялся. Выявленная динамика может быть обусловлена устранением хронического патологического очага после тонзиллэктомии и последующим постепенным изменением микрофлоры глотки с приближением ее характеристик к показателям, наблюдаемым у здоровых добровольцев, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований [1, 59].

Таким образом, флюоресцентная составляющая метода имеет существенное значение для диагностики и динамического мониторинга эффективности терапии при заболеваниях ЛОР-органов. Ее целесообразно рассматривать в сочетании со СКРС для комплексной оценки метаболических, морфометрических и физиологических характеристик тканей как в норме, так и при патологии ЛОР-органов.

4.3. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний гортани

В исследовании участвовали пациенты с плоскоклеточной карциномой гортани. Спектры, полученные при данном заболевании, сравнивались со спектрами интактной слизистой оболочки гортани и полипами гортани. Проведена серия экспериментов, в результате которых были проанализироваы спектры плоскоклеточной карциномы гортани и ларингеальной интраэпителиальной неоплазии (ЛИН III). Спектроскопическому анализу подвергали интактную слизистую оболочку, расположенную вокруг опухоли, ткань гортани с участками ЛИН III, а также образцы плоскоклеточной карциномы гортани. В каждой группе оценивались особенности полос комбинационного рассеяния света и конфигурация флюоресцентной составляющей спектра. В ходе исследования анализировались изменения в тканях гортани при ларингеальной интраэпителиальной неоплазии плоскоклеточного эпителия (ЛИН III) и плоскоклеточной карциноме гортани (классификация представлена в приложении А); особого внимания заслуживает анализ процессов, происходящих в тканях при выраженной дисплазии и раке in situ [182]. Предпосылкой к проведению исследования явилась необходимость идентификации опухолевого процесса на ранней стадии.

Спектроскопическое исследование и морфологическая верификация при раке гортани. Исследования проводились ex vivo непосредственно после удаления вовлеченной в патологический процесс ткани; интервал между иссечением материала и регистрацией спектра составлял 1-5 секунд. Применялся аппаратно-програмнный комплекс для проведения измерений in vivo и ex vivo, который позволил охарактеризовать не только линии КРС, но и сигнал флюоресценции. Результаты спектроскопии сопоставляли с данными гистологического исследования. Патоморфологическая верификация применялась во всех наблюдениях, включая оценку краев резекции. Диагностические характеристики метода определялись по показателям чувствительности и специфичности.

Как известно, основной сложностью при постановке диагноза «Рак гортани» является то, что пациенты обращаются на поздней стадии, при этом при объективном осмотре выявляются признаки злокачественного роста с участками хронического воспаления, наличием слизистого отделяемого, что затрудняет диагностику. При этом определение границ резекции также сопряжено с трудностями, поскольку необходимо идентифицировать участок анатомических структур гортани, подлежащих удалению без существенного влияния на функцию гортани, и обеспечить профилактику рецидива заболевания (рисунок 84: А – голосовые складки на вдохе, Б – при фонации). При фонации мы видим несмыкание голосовых складок и признаки асимметричного роста при плоскоклеточной карциноме гортани (рисунок 84: Б). Однако объективного осмотра недостаточно для постановки диагноза, соответственно, необходима разработка метода, позволяющего оценить изменения злокачественного характера неинвазивно в режиме реального времени. Помимо этого, часто на ранней стадии опухолевый процесс не всегда однозначно интерпретируется по результатам непрямой ларингоскопии, видеоларингостробоскопии или фиброларингоскопии и других видов исследования.

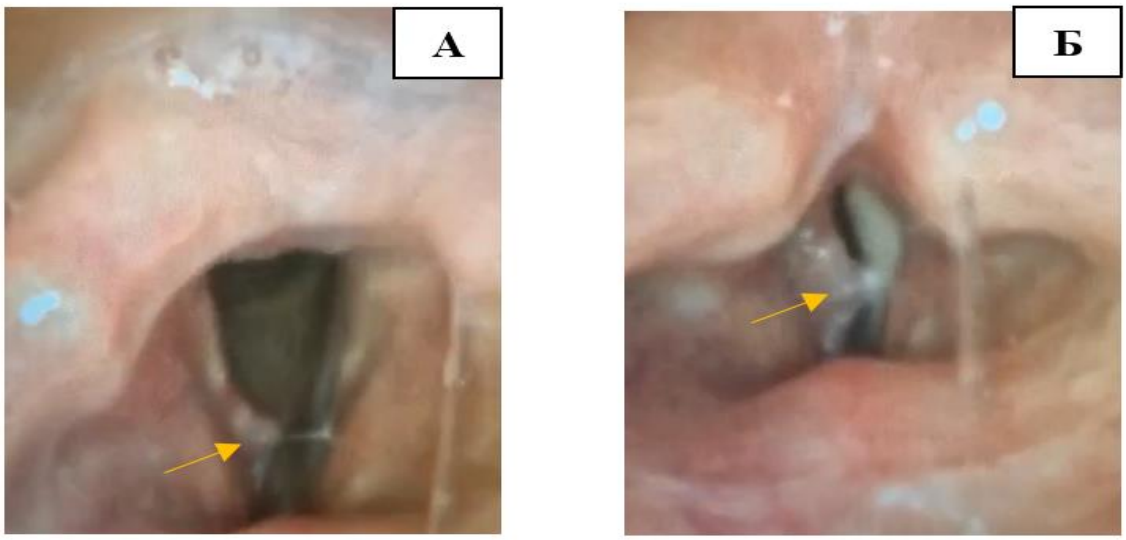

Рисунок 84 – Фиброларингоскопическая картина гортани на вдохе (А) и при фонации (Б): признаки злокачественного роста опухоли

Спектральные характеристики интактной ткани. Для определения диапазона клинического применения СКРСФ при раке гортани была проведена серия экспериментов с использованием лазерного излучения различных длин волн. Усредненный спектр интактной слизистой оболочки гортани вокруг плоскоклеточной карциномы характеризовался отсутствием выраженных пиков в областях 1100 $см^{-1}$ и 1500–1650 $см^{-1}$ (рисунок 85). Указанные особенности отличали неизмененную ткань от спектров, регистрируемых при различных стадиях плоскоклеточного рака гортани, включая ЛИН III. В области 2900 $см^{-1}$ определялся небольшой пик, после которого наблюдалось дополнительное повышение флюоресцентного сигнала. Повышение флюоресцентного сигнала было зарегистрировано на границе интактной ткани и ткани со злокачественной трансформацией, что было подтверждено путем проведения гистологического исследования и специальной маркировки границы резекции.

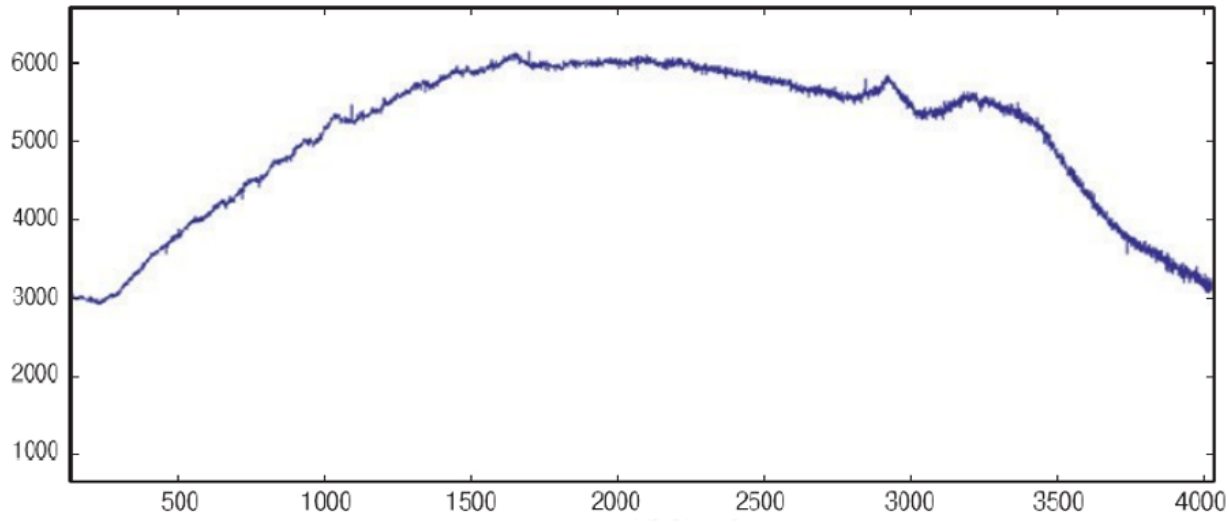

Рисунок 85 – Спектр интактной ткани гортани, не вовлеченной в опухолевый процесс и окружающей ПК. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Спектральные признаки плоскоклеточной карциномы гортани. В группе пациентов с низкодифференцированной ороговевающей плоскоклеточной карциномой гортани в спектральных кривых регистрировались пики КРС в областях 1250, 1400 и 1900 $см^{-1}$. Флюоресцентная составляющая формировала два выраженных подъема [87]. Патологический процесс

соответствовал стадии T1 N0 M0 во всех исследованных случаях. У пациентов с плоскоклеточной неороговевающей карциномой гортани низкой степени дифференцировки (G3), T1N0M0, I стадии в спектральной кривой определялись два максимума флюоресцентного сигнала: в области 1200 $см^{-1}$ с интенсивностью около 8500 относительных единиц и в области 2100 $см^{-1}$ с интенсивностью около 12000 относительных единиц. Пики КРС визуализировались в областях 1200 и 2900 $см^{-1}$ (рисунок 86).

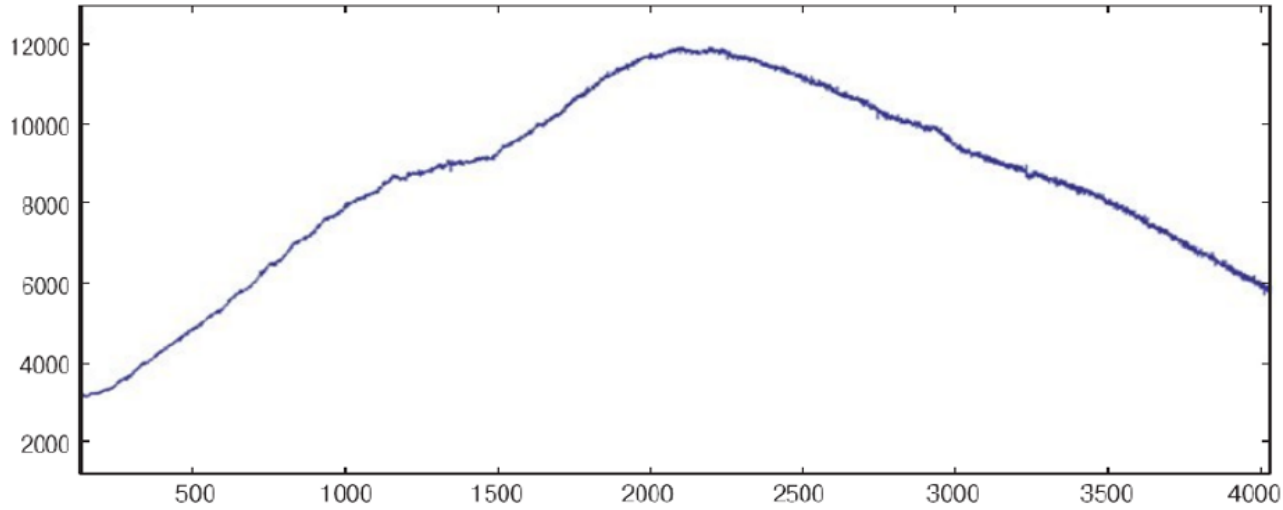

Рисунок 86 – Спектр плоскоклеточной неороговевающей карциномы гортани низкой степени дифференцировки (G3). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В группе пациентов с плоскоклеточной карциномой гортани и метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов основные пики КРС определялись на величинах волновых чисел 1100, 1500 и 2900 $см^{-1}$, а дополнительные пики – на 800, 900, 1000, 1250, 1400, 1600, 1700 и 2700 $см^{-1}$ (рисунок 87). Результаты спектроскопического исследования подтверждались гистологическим исследованием. Так, в препарате голосовых складок в зоне истинных голосовых складок отмечались признаки изъязвленной низкодифференцированной плоскоклеточной ороговевающей карциномы, с инвазией во внутренний кортикальный слой щитовидного хряща, с признаками лимфоваскулярной инвазии без периневральной инвазии. pT3; LV1Pn0R0, отмечались признаки десмоплазии стромы, очаги некроза, лимфоваскулярная инвазия (рисунок 88).

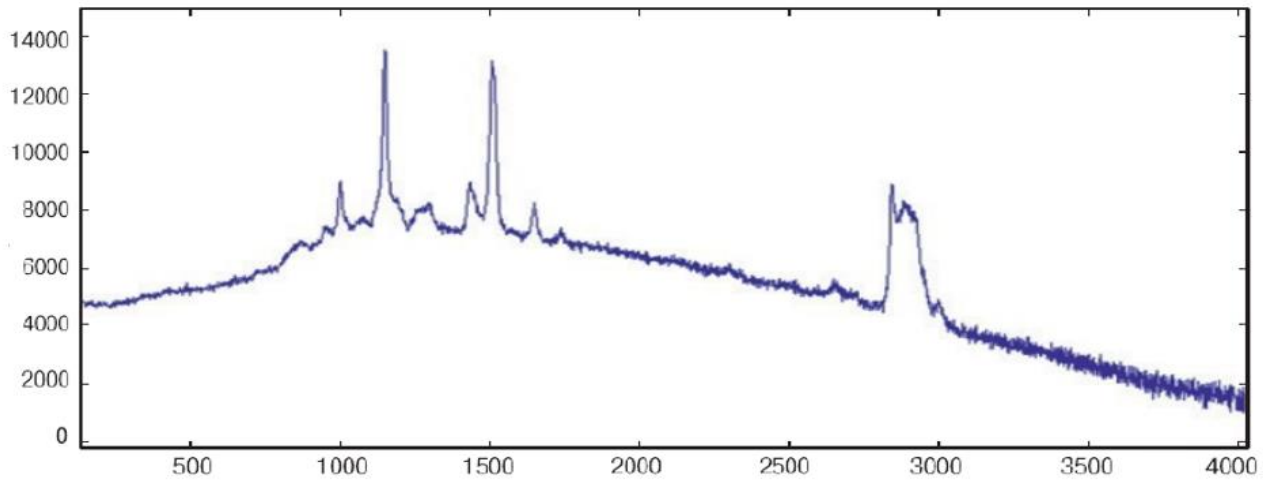

Рисунок 87 – Спектр плоскоклеточной карциномы гортани при метастазировании в регионарные лимфатические узлы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

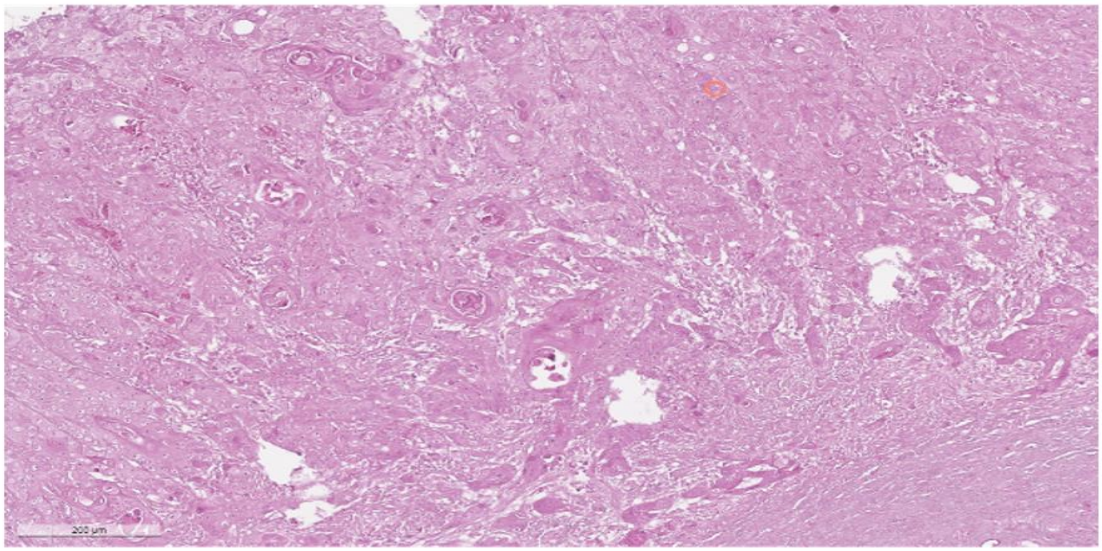

Рисунок 88 – Микропрепарат голосовых складок при низкодифференцированной плоскоклеточной ороговевающей карциноме с изъязвлением, гематоксилин и эозин после декальцинации, 200 мкм

Спектры, зарегистрированные у пациентов с ЛИН III, отличались меньшей интенсивностью основных пиков и более плавными переходами между отдельными участками спектральной кривой. Несмотря на выраженный генерализованный флюоресцентный фон, сохранялась возможность выделения пиков в областях 1100, 1500 и 2900 $см^{-1}$ (рисунок 89).

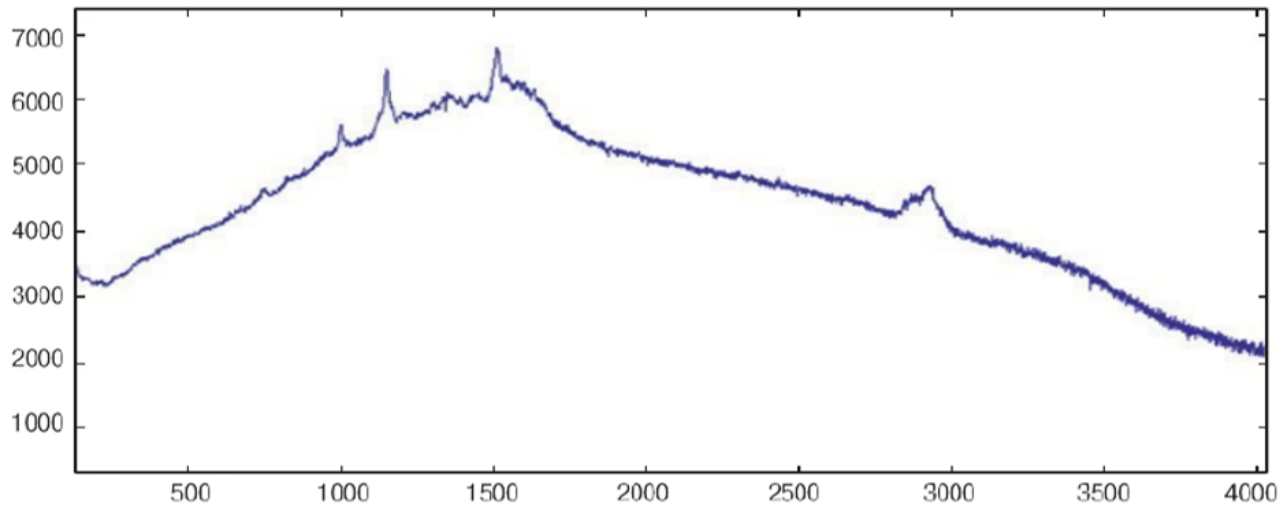

Рисунок 89 – Спектр комбинационного рассеяния света и флюоресценции ткани гортани с ларингеальной интраэпителиальной неоплазией III степени (ЛИН III). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Ларингеальная интраэпителиальная неоплазия плоского эпителия высокой степени (LSIN III, или ЛИН III) с очаговым изъязвлением характеризовалась наличием фрагментов слизистой оболочки гортани, покрытых многослойным плоским эпителием, с участками гиперкератоза, акантоза, с изъязвлением и очаговой ларингеальной интраэпителиальной неоплазией плоского эпителия высокой степени (LSIN III, или ЛИН III) (рисунок 90).

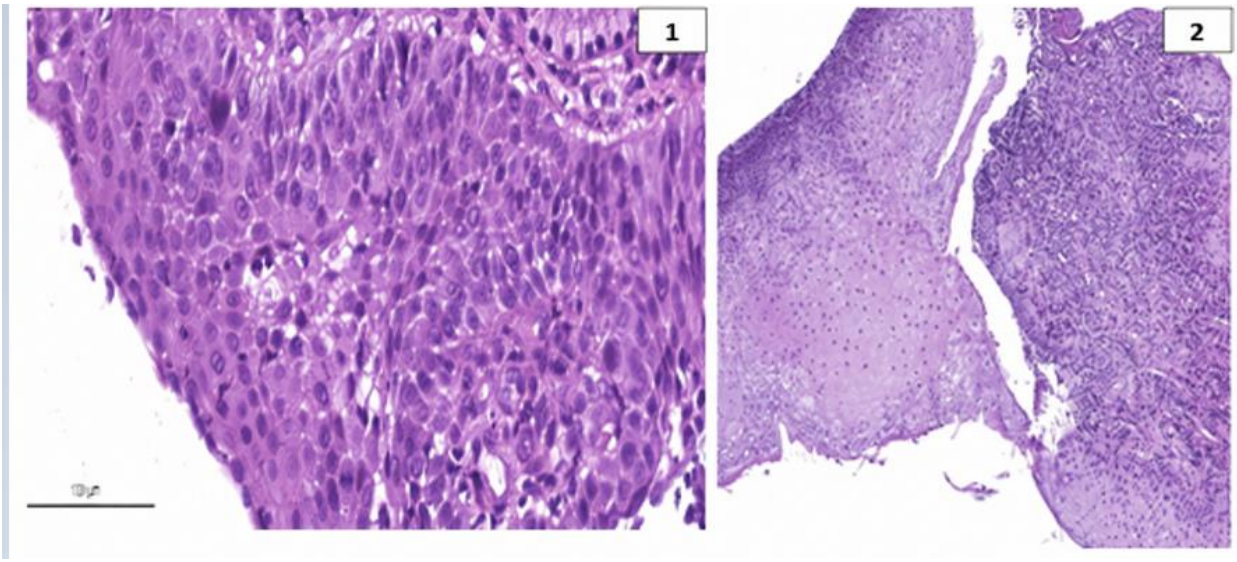

Рисунок 90 – Гистологические признаки ларингеальной интраэпителиальной неоплазии плоского эпителия высокой степени (LSIN III: Laryngeal Squamous Intraepithelial Neoplasia/ ЛИН III, grade III), гематоксилин и эозин, 100 мкм (1), фрагменты слизистой оболочки гортани с наличием воспалительного инфильтрата и реактивных изменений эпителия (микропрепарат) (2)

При возбуждении лазерным излучением с длиной волны 532 нм были выявлены различия спектральных характеристик тканей гортани с ларингеальной интраэпителиальной неоплазией III степени (ЛИН III) и плоскоклеточной карциномой. На рисунках 91 и 92 представлены соответствующие спектры, демонстрирующие особенности спектральных профилей исследуемых тканей, которые могут быть использованы для дифференциации указанных состояний при разработке специальных алгоритмов диагностики в перспективе, а также для выявления различий между морфологическими вариантами плоскоклеточной карциномы гортани.

Следует отметить, что при сопутствующем воспалительном процессе спектральная кривая несколько отличается (рисунок 91, зеленая кривая), при этом линии КРС находятся в одних и тех же спекральных диапазонах, что может свидетельствовать о воспроизводимости специфичности молекулярных особенностей тканей при данном патологическом процессе (рисунок 91, синяя и оранжевая кривые). Для оценки различий были оценены характеристики спектров при раке гортани на стадии T2N1M0, ЛИН III и раке гортани на стадии T1N0M0 (рисунки 91 и 92).

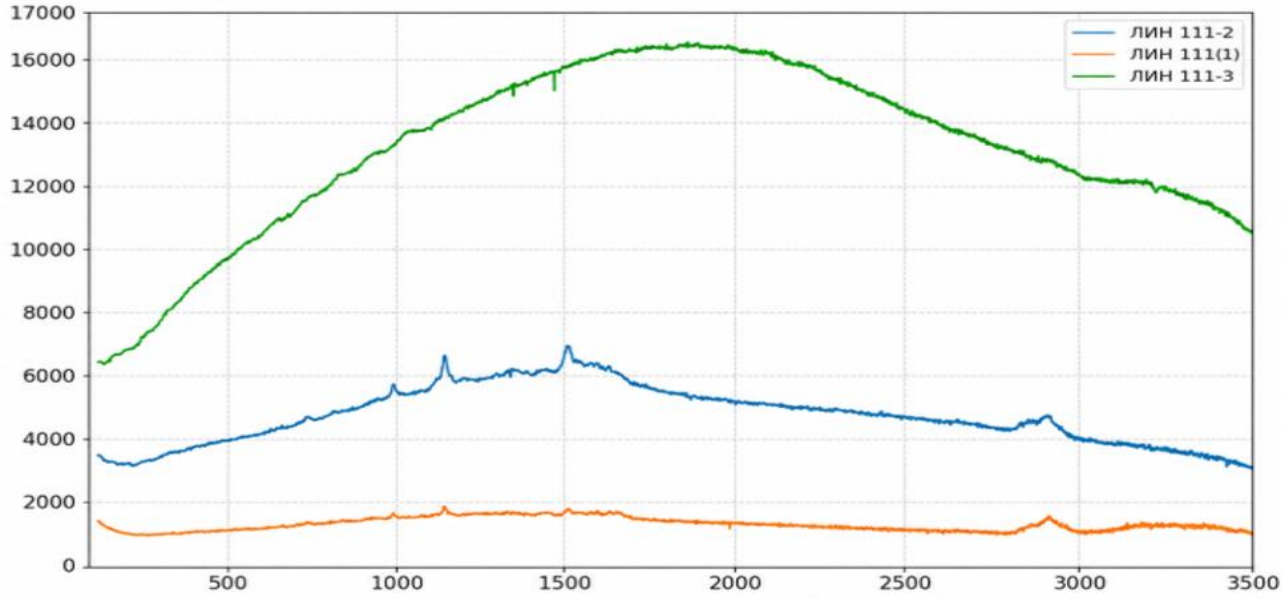

Рисунок 91 – Спектры ларингеальной интраэпителиальной неоплазии (ЛИН III). Зеленой линией обозначен спектр ЛИН III в сочетании с выраженным воспалительным процессом, оранжевой и синей линией продемонстрированы спектральные характеристики ЛИН III. По оси абсцисс – величины волновых

чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

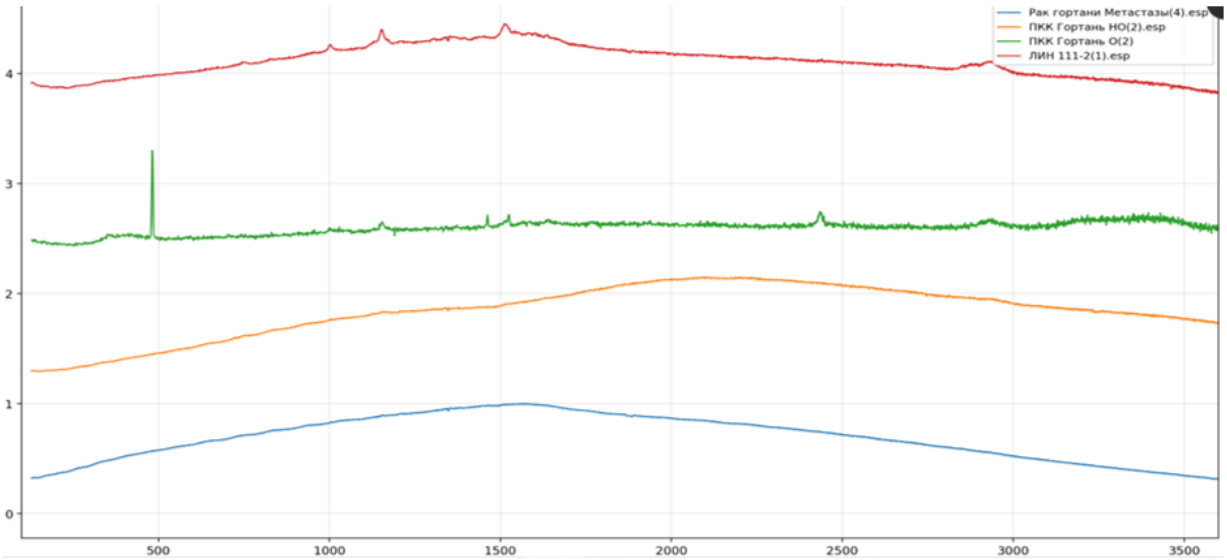

Рисунок 92 – Спектры ПК гортани и ЛИН III. Условные обозначения: «Рак гортани. Метастазы» –плоскоклеточная ороговевающая карцинома гортани, T2N1M0, III стадия. Метастаз в регионарном лимфатическом узле шеи (синяя кривая); «ПКК гортани, НО» – плоскоклеточная неороговевающая карцинома гортани, cT1N0M0, I стадия (оранжевая кривая); «ПКК гортани О» – плоскоклеточная ороговевающая карцинома гортани, T1N0M0, I стадия (зеленая кривая); «ЛИН III» – ларингеальная интраэпителиальная неоплазия (красная кривая). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Однако выраженный флюоресцентный фон в данном случае затруднял интерпретацию спектров, в связи с чем применялся спектральный анализ на различных длинах волн. Во всех наблюдениях спектроскопическое заключение сопоставляли с результатами гистологического исследования. Полученные показатели свидетельствуют о потенциально высокой диагностической информативности метода, при интерпретации линий КРС должны учитываться следующие параметры: высота, полуширина, расположение, сдвиг относительно интактной области, нормирование на стабильную область спектра и другие характеристики. Полученные в ходе исследования данные могут свидетельствовать о перспективе применения комбинированного метода СКРСФ в диагностике типов рака гортани. Дополнительные различия были выявлены между ороговевающим и неороговевающим вариантами плоскоклеточной карциномы гортани, что создает предпосылки для применения спектроскопического анализа гистологического

строения опухоли. Для подтверждения диагностической значимости метода СКРСФ в диагностике патологии гортани было проведено сравнительное исследование, в которое вошли пациенты с плоскоклеточной ороговевающей карциномой гортани T1N0M0 и полипами гортани, при этом в группу злокачественных новообразований были включены образцы тканей гортани с гистологически подтвержденной плоскоклеточной карциномой (рисунок 88). Спектральные характеристики оценивались для группы плоскоклеточных карцином гортани и группы полипов гортани в сравнительном аспекте.

Дифференциация спектров плоскоклеточной карциномы гортани и полипов гортани с использованием метода СКРСФ позволила выделить наиболее информативные линии КРС при злокачественном процессе (рисунок 93).

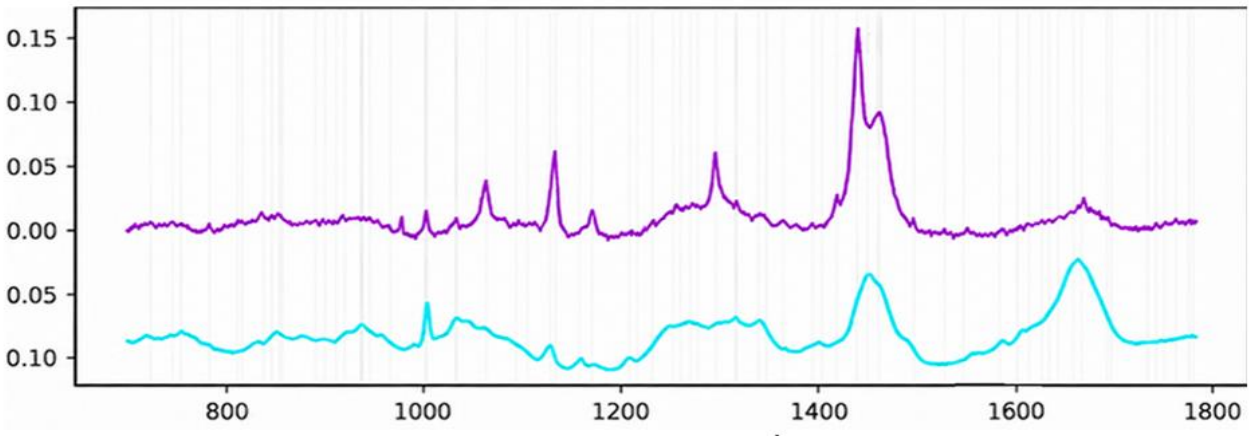

Рисунок 93 – График усредненных спектров сравниваемых нозологий: плоскоклеточной карциномы голосовых складок и полипов гортани. Сопоставление важности спектральных признаков Random Forest и усредненных спектров классов рака гортани (изображено на графике фиолетовым цветом) и полипов гортани (изображено на графике бирюзовым цветом). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

Дифференциация спектров плоскоклеточной карциномы гортани и полипов гортани с использованием метода СКРСФ позволила выделить наиболее информативные линии КРС при злокачественном процессе: 723, 745, 782, 819, 846, 856, 859, 919, 930, 969, 993, 1002, 1033, 1062, 1133, 1171, 1212, 1218, 1231, 1253, 1277, 1296, 1316, 1338, 1364, 1381, 1418, 1442, 1460, 1496, 1527, 1546, 1582, 1666 $см^{-1}$. В свою очередь, при регистрации спектров с поверхности полипов гортани

отмечались следующие линии КРС: 753, 833, 936, 1009, 1031, 1127, 1157, 1269, 1315, 1449 $см^{-1}$ (рисунок 93). При сравнительном анализе спектров плоскоклеточной карциномы гортани с интактной слизистой оболочкой были выявлены линии КРС: 723, 742, 782, 813, 846, 856, 859, 919, 930, 959, 993, 1002, 1033, 1062, 1083, 1095, 1133, 1171, 1218, 1231, 1239, 1276, 1306, 1316, 1337, 1364, 1398, 1418, 1439, 1449, 1460, 1496, 1537, 1546, 1568, 1603, 1633, 1666, 1699, 1733, 1753, 1778 $см^{-1}$ и 717, 766, 853, 874, 958, 1002, 1071, 1078, 1127, 1155, 1206, 1266, 1458, 1534 $см^{-1}$, соответственно. Несмотря на то, что при сравнении спектров плоскоклеточной карциномы гортани и полипов гортани матрица классификации продемонстрировала 100,0% правильных предсказаний в обоих классах и 0,0% ошибок (рисунок 94), нами был проведен дополнительный расчет по распределению Пуассона.

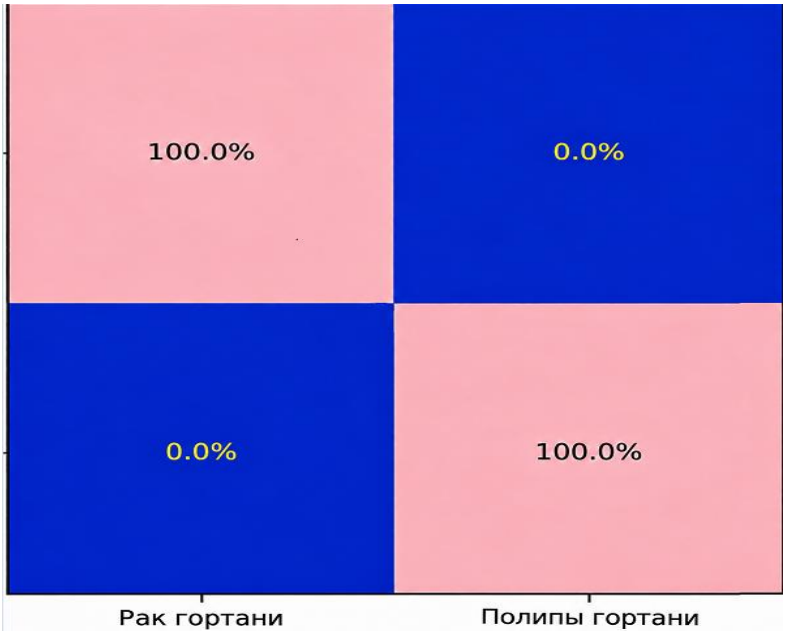

Рисунок 94 – Матрица ошибок модели Random Forest при попарной классификации классов рака гортани и полипов гортани

На рисунке 94 представлена нормированная матрица ошибок: строки соответствуют истинным меткам классов, столбцы – предсказанным меткам. Для рака гортани доля правильных классификаций составляет 100,0%, для полипов гортани – 100,0%; ошибочных взаимных отнесений классов не зарегистрировано. В представленной выборке модель Random Forest обеспечивает полное разделение

этих нозологий между собой. Сначала были рассчитаны диагностические показатели: чувствительность = TP / (TP + FN) × 100%; чувствительность = 149 / (149 + 0) × 100% = 100.0%; специфичность = TN / (TN + FP) × 100%; специфичность = 131 / (131 + 0) × 100% = 100.0%; точность = (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN) × 100%; точность = (149 + 131) / 280 × 100% = 100.0%. Далее проведен расчет 95% доверительных интервалов по Пуассону (рисунок 95). Наблюдаемое число ошибок равно нулю как для ложноотрицательных (FN = 0), так и для ложноположительных (FP = 0) результатов. Для точного двустороннего 95% доверительного интервала Пуассона при k = 0 нижняя граница среднего числа ошибок равна 0, а верхняя граница определяется распределением χ^2: λверх = 0,5 × χ^2 (0,975; 2) = 3,6889 ошибки. При расчете чувствительности верхняя 95% граница доли FN = 3,6889 / 149 = 0,02476 = 2,48%, нижняя 95% граница чувствительности = 100%–2,48% = 97,52%, таким образом, чувствительность с учетом 95% ДИ по Пуассону варьировала в диапазоне 97,5–100,0%. При оценке специфичности верхняя 95% граница доли FP = 3,6889 / 131 = 0.02816 = 2.82%, нижняя 95% граница специфичности = 100%–2,82% = 97,18%, так, специфичность с учетом 95% ДИ по Пуассону составила 97,2–100,0%. При расчете точности верхняя 95% граница доли всех ошибок = 3,6889 / 280 = 0,01317 = 1,32%, нижняя 95% граница точности = 100%–1,32% = 98,68%, таким образом, точность с учетом 95% ДИ по Пуассону составила 98,7–100,0% (рисунок 95).

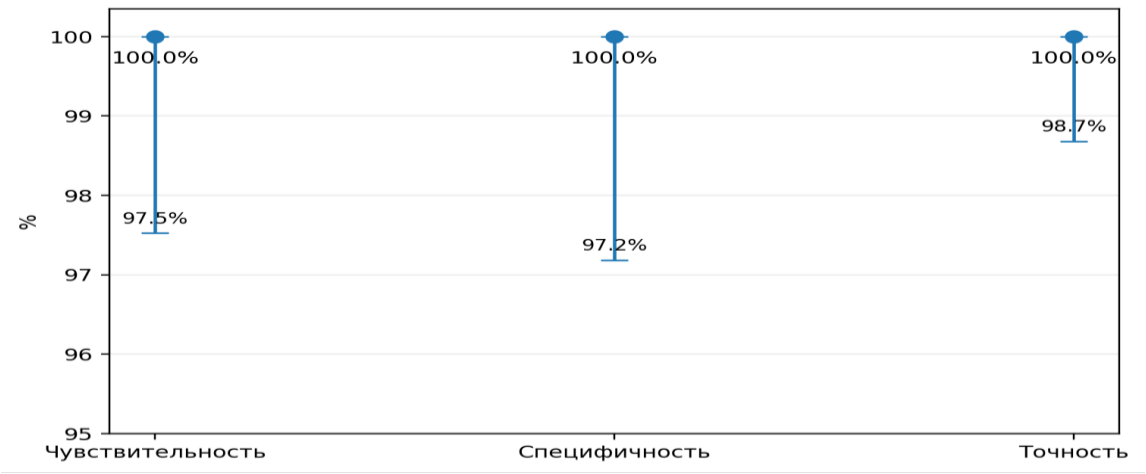

Рисунок 95 – Чувствительность, специфичность и точность с 95% ДИ по Пуассону

С учетом конечного размера выборки точный двусторонний 95%-ный доверительный интервал по модели Пуассона показывает, что нижняя граница чувствительности составляет 97,5%, специфичности – 97,2%, а общей точности – 98,7%. Выявленные закономерности согласуются с опубликованными данными о возможностях спектроскопии КРС в диагностике рака гортани (приложение А). В частности, трансназальное исследование в диапазоне высоких волновых чисел 2800–3020 $см^{-1}$ позволило дифференцировать опухолевую и интактную ткань во время эндоскопии и продемонстрировало потенциал использования метода для неинвазивного молекулярного выявления злокачественного процесса в режиме реального времени [248]. При регистрации спектров различных участков ткани в диапазоне 800–1800 $см^{-1}$ непосредственно после операции, при продолжительности измерения около 5 секунд, была показана возможность обнаружения злокачественной трансформации клеток с чувствительностью 88,0% и специфичностью 91,4% [326]. Результаты волоконно-оптической спектроскопии КРС in vivo также подтвердили различия между интактной и опухолевой тканью гортани. Вероятной основой этих различий является изменение количественного содержания и соотношения белков, липидов, нуклеиновых кислот, а также связанной воды в клетках исследуемых анатомических структур [249]. С практической точки зрения наиболее значимым направлением применения технологии является спектральный экспресс-анализ ткани при раке in situ и интраоперационное определение границ резекции. Быстрая спектроскопическая идентификация измененного участка ткани может дополнять эндоскопическое исследование, однако не заменяет морфологическую верификацию. Для перехода к клиническому использованию требуется формирование репрезентативной базы спектров интактной слизистой оболочки, дисплазии и вариантов плоскоклеточной карциномы на различных стадиях заболевания.

4.4. Научно-практическое обоснование применения и разработка многоволновой СКРС в ранней экспресс-диагностике заболеваний уха

Учитывая, что заболевания уха являются широко распространенными, видится целесообразным разработать алгоритмы диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний данной локализации. Была проведена регистрация спектров тканей среднего уха, как интактной слизистой оболочки, так и ткани, вовлеченной в воспалительный и опухолевый процесс при хроническом гнойном среднем отите с формированием холестеатомы и без ее формирования, а также при адгезивном отите, гломусной опухоли среднего уха в сравнительном аспекте. Основной сложностью при регистрации спектров было то, что отмечался выраженный сигнал флюоресценции, который связан, как было показано в предыдущих исследованиях, с микробиологической составляющей и нарушением структурированности ткани при патологическом процессе [56-59].

На рисунке 96 представлен усредненный спектр интактной слизистой оболочки среднего уха. В норме регистрировались следующие характерные линии КРС: 781, 1095, 1154, 1340, 1451, 1514, 1640, 2054, 2204, 2729, 2937 и 3070 $см^{-1}$, а также линии в областях 1050, 1150, 1500 и 2950 $см^{-1}$. Общая интенсивность флюоресцентного сигнала оставалась относительно низкой по сравнению с таковой при хроническом среднем отите различных форм.

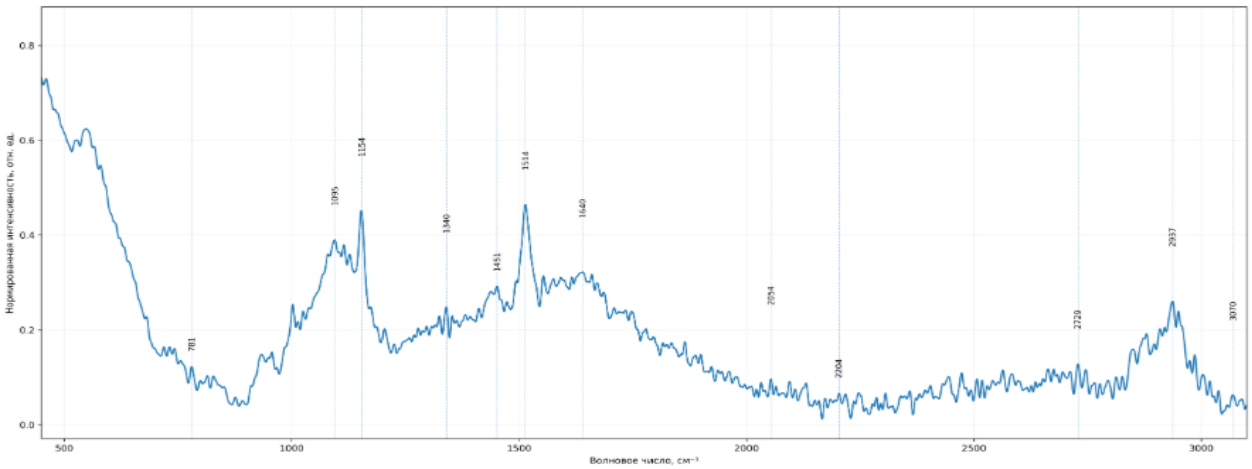

Рисунок 96 – Усредненный спектр интактной слизистой оболочки среднего уха

Спектральная кривая слизистой оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы в стадии ремиссии

характеризовалась следующими наиболее информативными линиями КРС: 550, 722, 836, 955, 1003, 1093, 1154, 1307, 1339, 1434, 1516, 1584, 1637, 1742, 2065, 2244, 2448, 2586, 2684, 2731, 2882, 2936 и 3065 $см^{-1}$; выявленные спектральные особенности позволяют дифференцировать измененную ткань от интактной слизистой оболочки среднего уха (рисунок 97).

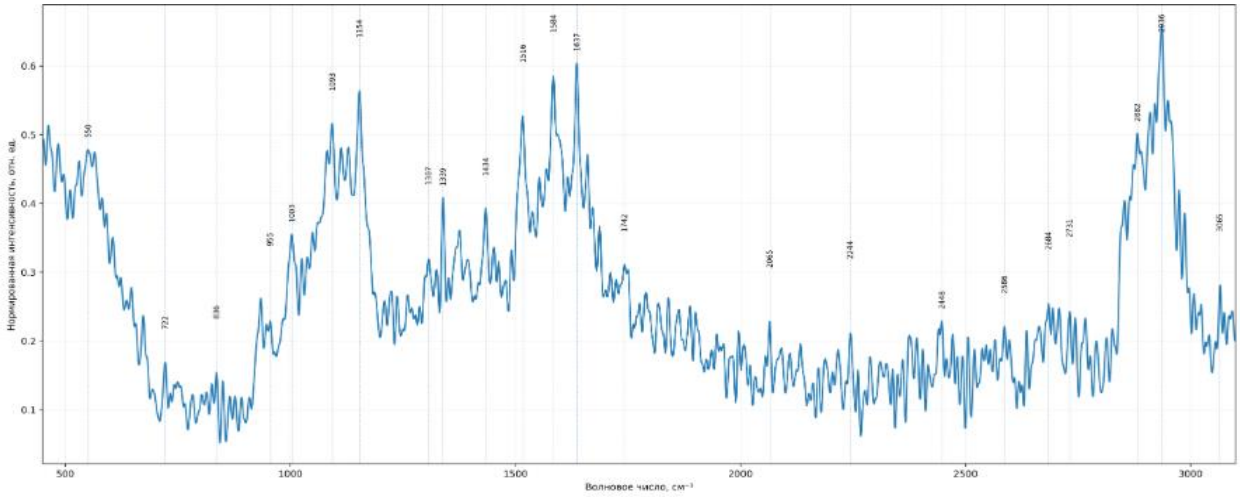

Рисунок 97 – Спектр слизистой оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы, ремиссия

По сравнению со спектральной кривой, регистрируемой при хроническом воспалительном процессе в стадии ремиссии, спектр рубцово-измененной ткани барабанной полости при адгезивном среднем отите характеризовался первоначальным увеличением интенсивности флюоресценции с последующим постепенным ее снижением. Кривая имела неравномерный зубчатый контур. Наиболее информативные линии КРС усредненного спектра: 555, 742, 827, 933, 1113, 1150, 1206, 1308, 1340, 1353, 1435, 1465, 1518, 1662, 1688, 1752, 2844, 2864, 2880, 2894, 2911, 2938, 2987-2990 и 3067 $см^{-1}$ (рисунок 98).

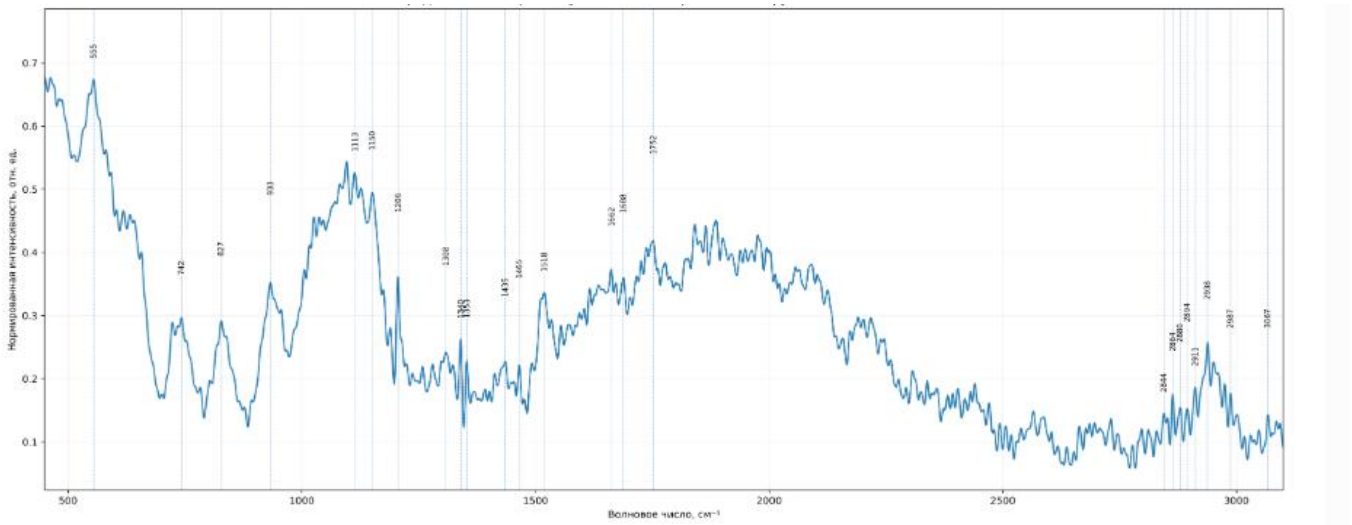

Рисунок 98 – Усредненный спектр рубцово-измененной ткани при адгезивном среднем отите

На рисунке 99 представлены различия между спектральной кривой грануляционной ткани среднего уха и спектрами рубцово-измененной ткани, сформировавшейся в результате длительно протекающего адгезивного процесса (более года). На усредненном спектре грануляционной ткани визуализируются линии КРС: 743, 827, 934, 1002, 1154, 1339, 1452, 1516, 1584, 1637, 1661, 1746, 1790, 1840, 2173, 2311, 2405, 2438, 2471, 2554, 2665, 2937, 3069 см$^{-1}$.

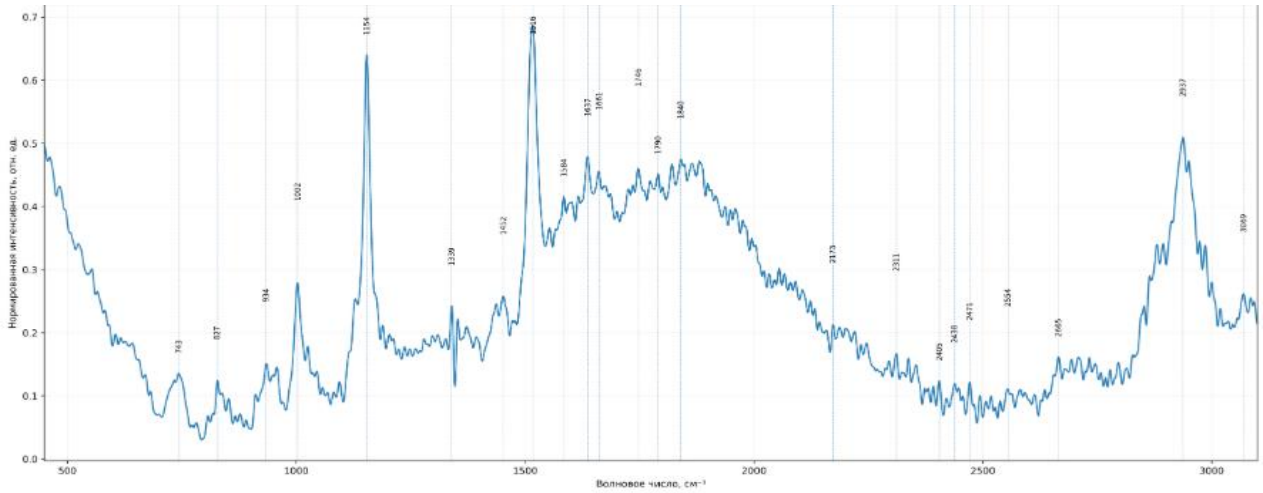

Рисунок 99 – Усредненный спектр ранней грануляционной ткани среднего уха непосредственно после стихания острого процесса

На рисунке 100 представлены спектральные особенности рубцово-измененной ткани при адгезивном отите в сравнении с грануляционной тканью на ранней стадии формирования адгезивного процесса в среднем ухе. При адгезивном

отите наиболее значимые линии КРС: 602 см⁻¹, 743 см⁻¹, 828 см⁻¹, 934 см⁻¹, 1026 см⁻¹, 1096 см⁻¹, 1206 см⁻¹. При анализе спектров ранней грануляционной ткани среднего уха наиболее значимыми являлись следующие линии КРС: 1153 см⁻¹ 1517 см⁻¹ 2881 см⁻¹ 2911 см⁻¹ 2938 см⁻¹ 2974 см⁻¹ 3068 см⁻¹. Наиболее выраженными различиями по величине вклада можно считать следующие величины волновых чисел: 1096 см⁻¹, 1517 см⁻¹, 2938 см⁻¹ (более выражена при грануляциях), 1026 см⁻¹ (более выражена на поздней стадии адгезивного отита), 602 см⁻¹ (более выражена на поздней стадии адгезивного отита).

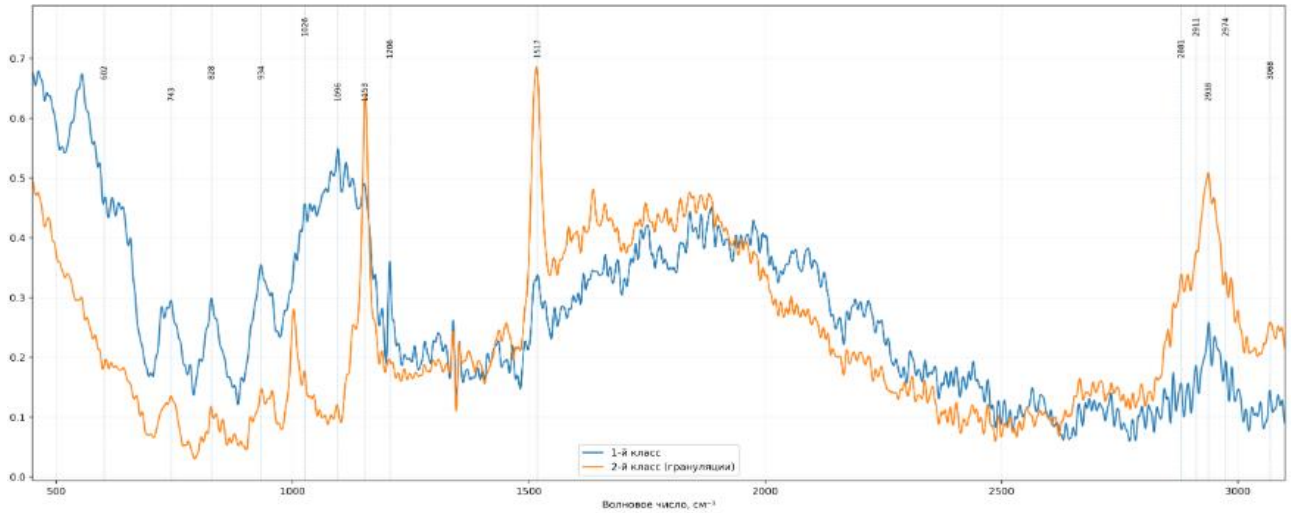

Рисунок 100 – Спектры рубцово-измененной ткани при адгезивном отите в сравнении с грануляционной тканью на ранней стадии формирования адгезивного процесса в среднем ухе

На рисунке 101 представлен усредненный спектр ткани холестеатомы среднего уха. По сравнению с ранее описанными изменениями, данный спектр характеризовался значительно более высокой интенсивностью флюоресцентного сигнала, превышающей 70000 относительных единиц. После удаления флюоресцентного фона были выделены следующие линии КРС: 833, 932, 1026, 1207, 1467, 1889, 1977, 2566, 2708 и 2846 см⁻¹. Из них наиболее информативными были: 833, 932, 1026, 1207, 1467 и 2846 см⁻¹, при этом линии КРС 932, 1889 и 2566 см⁻¹ обнаруживались в 100% случаев, 1026 и 1977 см⁻¹ – в 98% случаев.

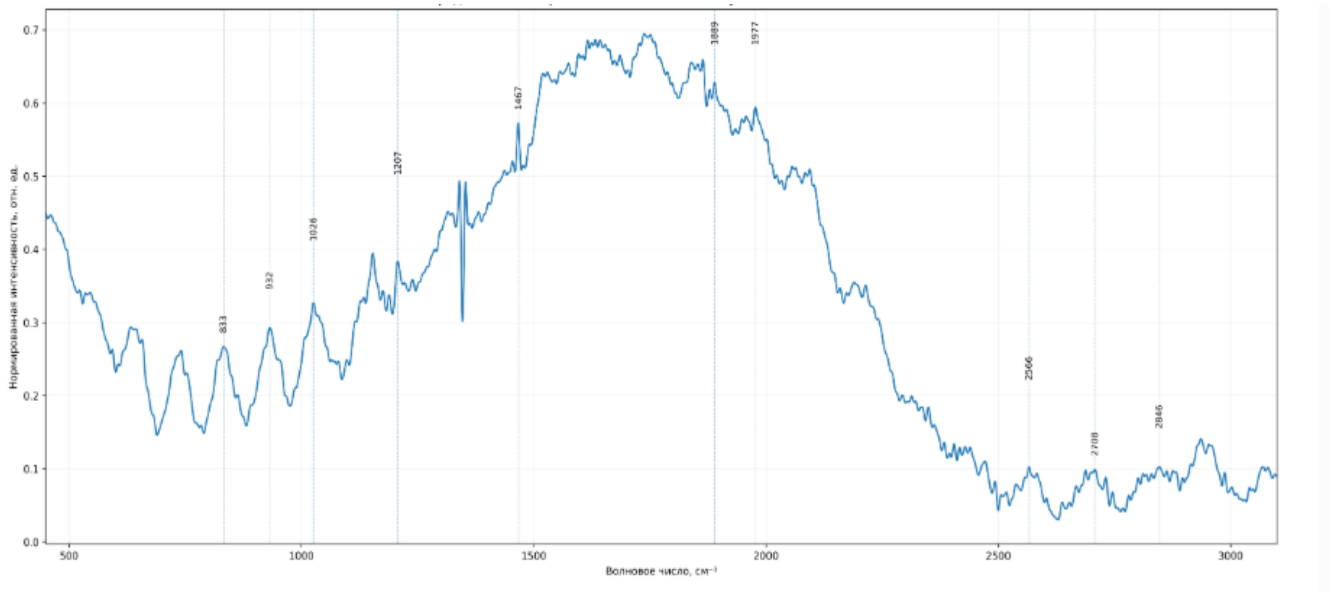

Рисунок 101 – Усредненный спектр холестеатомы среднего уха

На рисунке 102 представлены характерные спектральные признаки гломусной опухоли среднего уха. Спектральная кривая характеризуется первоначальным увеличением интенсивности флюоресценции, после чего отмечается ее резкое снижение. В диапазонах около 1050 1150 и 1500 $см^{-1}$ регистрируются пики низкой амплитуды. Пик в области 2950 $см^{-1}$ имеет сглаженный характер и утрачивает типичную трапециевидную конфигурацию. Наиболее устойчивые линии КРС при этом 832, 933, 1354, 1888 и 2705 $см^{-1}$.

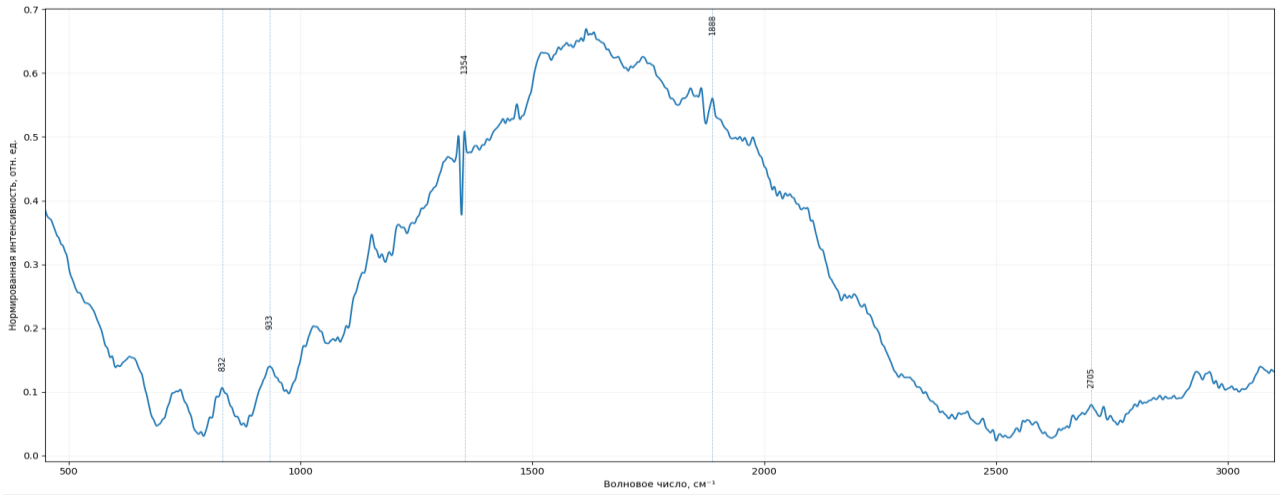

Рисунок 102 – Усредненный спектр гломусной опухоли среднего уха

На рисунке 103 представлен сравнительный анализ усредненных спектров интактной слизистой оболочки среднего уха (обозначен синим цветом), слизистой

оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы (желтым цветом) и при формировании холестеатомы (красным цветом).

Таким образом, наиболее информативными линиями КРС интактной слизистой оболочки среднего уха были: 781, 1095, 1154, 1340, 1451, 1514, 1640, 2054, 2204, 2729, 2937, 3070 $см^{-1}$, холестеатомы: 833, 932, 1026, 1207, 1467, 1889, 1977, 2566, 2708, 2846 $см^{-1}$, хронического отита без холестеатомы: 550, 722, 836, 955, 1003, 1093, 1154, 1307, 1339, 1434, 1516, 1584, 1637, 1742, 2065, 2244, 2448, 2586, 2684, 2731, 2882, 2936, 3065 $см^{-1}$. При этом наиболее значимыми для проведения дифференциальной диагностики были VIP-полосы: 1319, 1353, 1468, 1851, 2522, 2548, 2624, 2658, 2694, 2741, 2793, 2824, 2891 и 3067 $см^{-1}$.

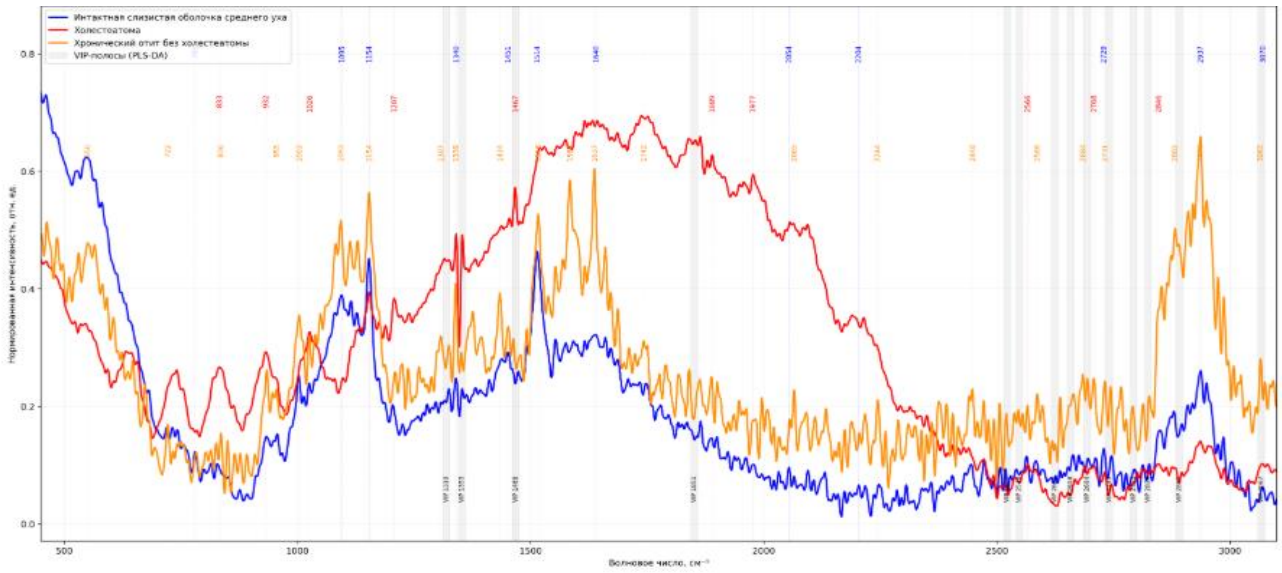

Рисунок 103 – Спектры интактной слизистой оболочки среднего уха, слизистой оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы и при формировании холестеатомы

На рисунке 104 проиллюстрированы спектральные характеристики тканей при хроническом среднем отите с развитием холестеатомы, адгезивном отите, гломусной опухоли среднего уха и интактной слизистой оболочки среднего уха. Сопоставление спектров из данных групп продемонстрировало, что наиболее выраженные различия между ними локализуются в областях 1300-1460 $см^{-1}$, 1760

см$^{-1}$ и в высокочастотной области 2590-2940 см$^{-1}$. PLS-DA-анализ позволил определить VIP-полосы, наиболее значимые для дифференциации классов: 581, 1301, 1353, 1764, 2326, 2599, 2627, 2660, 2765, 2871, 2907 и 2937 см$^{-1}$. Среди них особенно информативными представляются области 1301–1353 см$^{-1}$ и 2871-2937 см$^{-1}$. Полученные результаты позволяют утверждать, что метод комбинационного рассеяния света позволяет дифференцировать интактную слизистую оболочку среднего уха, гломусную опухоль среднего уха и холестеатому по комплексу спектральных признаков (рисунок 104).

Рисунок 104 – Спектры тканей среднего уха при хроническом среднем отите с развитием холестеатомы, адгезивном отите, гломусной опухоли среднего уха и интактной слизистой оболочки среднего уха

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности разработки алгоритмов экспресс-диагностики патологии уха с использованием СКРСФ.

Спектральные характеристики заболеваний уха необходимо сопоставлять с интактной тканью той же локализации для проведения сравнительного анализа метаболитов и морфометрических показателей тканей в норме и при патологии. В результате проведенного исследования были рассчитаны показатели чувствительности и специфичности в отношении метода СКРСФ при дифференциальной диагностике патологии среднего уха, результаты исследования представлены в таблице 8 и на рисунке 105.

Таблица 8 – Показатели чувствительности и специфичности метода СКРСФ при дифференциальной диагностике патологии среднего уха

Сравниваемые группы	Чувствительность, %	95% ДИ по Пуассону, %	Специфичность, %	95% ДИ по Пуассону, %
Адгезивный отит и ХСО с холестеатомой	95,42	90,03–98,32	99,27	95,93–99,98
Адгезивный отит и ХСО без холестеатомы	94,66	88,99–97,85	98,45	94,40–99,81
ХСО с холестеатомой и ХСО без холестеатомы	97,08	92,52–99,20	99,22	95,68–99,98
Адгезивный отит + ХСО с холестеатомой и гломусная опухоль среднего уха	96,27	93,14–98,21	98,67	92,57–99,97

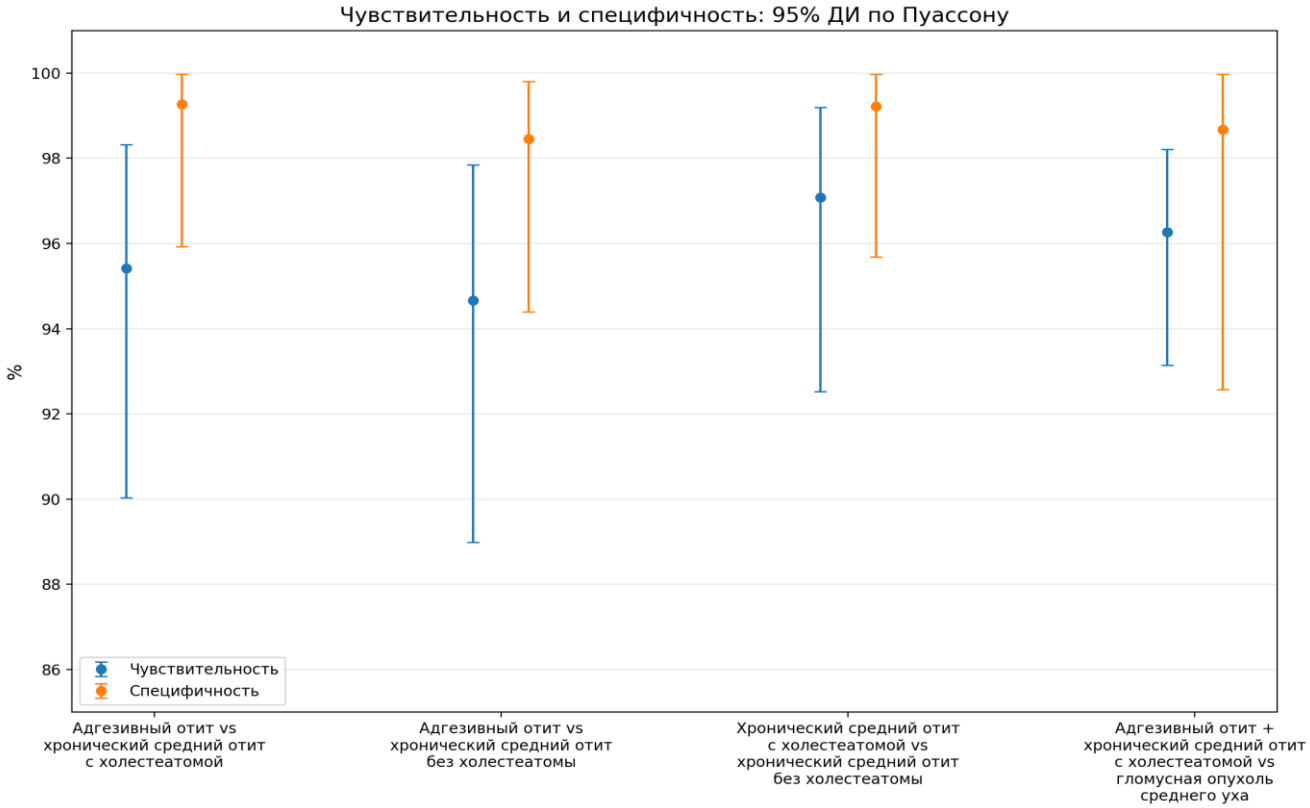

Рисунок 105 – Чувствительность и специфичность метода СКРСФ при заболеваниях уха

Итоговые значения чувствительности и специфичности метода СКРСФ в диагностике патологии ЛОР-органов представлены в приложении А. Несмотря на полученные параметры высокой информативности метода СКРСФ в диагностике патологии ЛОР-органов, следует учитывать ограничения исследования и направления дальнейшей работы. Так, для формирования устойчивых референсных значений требуется увеличение объема выборки и включение независимых групп наблюдений на различных стадиях заболевания. Существенное

значение имеет стандартизация преданалитического этапа, параметров возбуждения и регистрации сигнала, а также алгоритмов математической обработки данных. Последующие исследования должны быть направлены на разработку дифференциально-диагностических алгоритмов на различных стадиях заболевания, определение воспроизводимых спектральных критериев интактной ткани, дисплазии и рака, оценку диагностической эффективности в проспективных исследованиях и адаптацию оборудования для эндоскопического и интраоперационного применения. Практическое внедрение также требует подготовки специалистов и унификации регистрации и интерпретации спектров. При создании стандартизированного диагностического алгоритма и референсной базы спектров технология может быть использована как дополнительный метод ранней экспресс-идентификации воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов и других органов и систем, включая скрининговые и интраоперационные методики. Окончательная оценка клинической применимости метода требует расширения объема выборки, внешней валидации при различной патологии воспалительного и опухолевого генеза, совершенствования методов обработки флюоресцентного фона и разработки универсальных аппаратно-программных комплексов, позволяющих сочетать в себе все необходимые параметры диагностики.

Глава 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМОВ ДЛЯ РАННЕЙ НЕИНВАЗИВНОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОР-ОРГАНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

5.1. Разработка алгоритмов диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием СКРСФ

Результаты представленных выше исследований свидетельствуют о высокой информативности применения СКРС и флюоресценции с целью ранней неинвазивной экспресс-диагностики заболеваний ЛОР-органов. В рамках проведенной серии экспериментальных и клинических исследований был выполнен комплексный анализ спектральных характеристик КРСФ при различных заболеваниях ЛОР-органов, а также при другой патологии органов головы и шеи. Наряду с пациентами с плоскоклеточной карциномой небных миндалин, гортани, носоглотки и околоносовых пазух, аденоидными вегетациями, хроническим тонзиллитом, хроническим риносинуситом и различными формами хронического среднего отита, в исследование были включены пациенты с другими нозологическими формами, в том числе с плоскоклеточной и базальноклеточной карциномой кожи, плоскоклеточной карциномой слюнных желез, раком щитовидной железы, липомой шеи, синоназальной карциномой, гломусной опухолью среднего уха, акустической невриномой, ПК пищевода и другими заболеваниями. Для каждого заболевания были установлены индивидуальные спектральные критерии, обеспечивающие возможность его дифференциации от интактной ткани соответствующей анатомической локализации. Во всех исследованных случаях диагноз подтверждался результатами гистологического исследования. Данный этап работы был проведен с целью формирования научного обоснования для последующей разработки алгоритмов диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи с учетом принципов междисциплинарного подхода. Регистрация спектров осуществлялась с использованием лазерного излучения с длинами волн 405, 532, 785 и 1064 нм. Для

математической и статистической обработки полученных спектральных данных применялись метод главных компонент, линейный дискриминантный анализ, метод наименьших квадратов и фильтр Савицкого – Голея. В отношении каждого из заболеваний были определены наиболее информативные линии комбинационного рассеяния света. Установленные в ходе исследования метаболомно-спектроскопические особенности спектров комбинационного рассеяния света были использованы в качестве основы для разработки алгоритмов экспресс-диагностики. С целью дифференциации тканей ЛОР-органов при воспалительном и опухолевом процессе от интактных тканей соответствующей анатомической локализации были разработаны алгоритмы с использованием СКРСФ, представляющие собой комплекс последовательных действий для проведения диагностики. В процессе комплексного анализа спектральных данных и их сопоставления с результатами гистологической верификации были определены спектроскопические параметры различных воспалительных, опухолевых и предопухолевых заболеваний ЛОР-органов. На основании совокупности полученных данных были разработаны алгоритмы экспресс-диагностики патологии ЛОР-органов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции в качестве метода ранней неинвазивной идентификации патологического процесса ex vivo и in vivo. Алгоритмы диагностики представлены в таблице 9 и на рисунках 106-108 и в приложении Б. Дифференциально-диагностические критерии продемонстрированы в таблице Б.5 приложения Б.

Разработка специализированных диагностических алгоритмов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции в перспективе дает возможность проведения ранней неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов.

Таблица 9 – Алгоритм действий врача-оториноларинголога при подозрении на хронический воспалительный, опухолевый и/или предопухолевый процесс в области глотки, гортани, уха, полости носа и околоносовых пазух и других органов головы и шеи

Название стандартной операционной процедуры (СОП)	Алгоритм действий врача-оториноларинголога при подозрении на хронический воспалительный, опухолевый и/или предопухолевый процесс в области глотки, гортани, уха, полости носа и околоносовых пазух и других органов головы и шеи
Цель внедрения	Раннее выявление хронических воспалительных, опухолевых и предопухолевых заболеваний ЛОР-органов (органов головы и шеи); стандартизация по части маршрутизации пациентов с ранними признаками заболеваний ЛОР-органов
Проведение исследования	Пациентам с 18 лет
Кратность	1 раз в год
Оснащение	Эндоскопическое исследование носоглотки, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, аудиометрия, тимпанометрия, видеоларингостробоскопия, фиброларингоскопия, NBI-эндоскопия в комбинации со спектроскопией комбинационного рассеяния света и флюоресценции (проведение измерений ex vivo-с использованием конфокального микроскопа и спектроскопа, функционирующих на длинах волн 405 нм, 532 нм, 785 нм, 1064 нм, для последующего использования in vivo-с оптоволоконным световодом для проведения скрининга)
Выполнение процедур, манипуляций, операций	1. Осмотр ЛОР-органов (органов головы и шеи) путем проведения передней и задней риноскопии, непрямой ларингоскопии, мезофарингоскопии, отоскопии использование специального оптоволоконного световода с эффектами флюоресценции и комбинационного рассеяния света 2. Подведение световода к исследуемой области в нескольких анатомических точках полости носа, околоносовых пазух, глотки, гортани, уха и других органов головы и шеи 3. Регистрация измерения – получение спектра комбинационного рассеяния света и флюоресценции 4. Получение графического изображения и числового его значения в норме, при воспалительном и опухолевом процессе 5. Сравнение полученного спектра при воспалительном или опухолевом заболевании со спектром интактной ткани аналогичной локализации 6. Интерпретация результата, определение стадии заболевания 7. Выдача результата проведенного исследования в виде заключения 8. При наличии показаний к хирургическому лечению направление пациента в специализированный стационар, выполнение операции, гистологического исследования, дополнительных видов лечения и диагностики (при необходимости); проведение мониторинга и реабилитации, профилактика рецидива заболевания
Результат в пределах референсных значений	Следующий осмотр через год
Результат – доброкачественное новообразование	Направление пациента на хирургическое лечение в специализированный стационар с последующим гистологическим исследованием, эффективное взаимодействие со стационаром
Результат – злокачественное новообразование полости носа и околоносовых пазух, гортани, глотки, уха	Определение границ резекции опухолевого заболевания, проведение биопсии с последующим гистологическим и спектроскопическим исследованием (выявление корреляции результатов спектроскопии и гистологического исследования), идентификация наличия метастазов, определение объема хирургического лечения, удаление новообразования в специализированном стационаре
После проведения операции	Динамическое наблюдение пациента в поликлинике по месту жительства; организация плановых профилактических осмотров ежегодно-динамическое наблюдение у врача-оториноларинголога
Рецидив	Проведение повторного обследования, выявление рецидива заболевания, направление пациента в специализированный центр для оказания медицинской помощи, в том числе, с использованием высокотехнологичных медицинских вмешательств
Динамическое наблюдение пациента	Непрерывный мониторинг состояния здоровья пациента
Контрольное обследование после проведенного лечения	Определение биохимических, морфометрических, физиологических параметров в норме и при патологии, интерпретация результатов спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции на предмет очагов опухолевого генеза
Создание единой информационно-аналитической системы	Применение информационно-аналитических технологий в сфере здравоохранения для обеспечения преемственности при оказании медицинской помощи и ее своевременности, создание «Базы данных спектров» с использованием машинного обучения и искусственного интеллекта
Обеспечение междисциплинарности	Обеспечение эффективного междисциплинарного взаимодействия специалистов различного профиля друг с другом для повышения качества организации медицинской помощи при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов (органов головы и шеи)

5.2. Разработка алгоритмов диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием спектрально-метаболомного анализа

С учетом совокупности полученных результатов одним из ключевых направлений исследования стала разработка диагностических алгоритмов для выявления заболеваний ЛОР-органов и некоторых других органов головы и шеи. В основу разрабатываемого подхода положена регистрация и последующий анализ спектров КРСФ [89]. Применение данного диагностического подхода позволяет выявить признаки злокачественной трансформации клеток на ранних этапах развития патологического процесса, что расширяет возможности своевременной диагностики начальных изменений опухолевого характера и создает предпосылки для обоснованного проведения мероприятий вторичной профилактики.

На современном этапе разработка и внедрение методов ранней неинвазивной диагностики злокачественных новообразований являются одним из приоритетных направлений совершенствования системы здравоохранения. Применение данных технологий в клинической практике в перспективе способно расширить возможности скрининговой диагностики, повысить эффективность раннего выявления онкологических заболеваний и обеспечить своевременную маршрутизацию пациентов для проведения рациональной терапии до развития осложнений и формирования необратимых патологических изменений. Комплексное использование фиброларингоскопии, NBI-эндоскопии (узкоспектральной эндоскопии), СКРСФ, а также оптической когерентной томографии в сочетании с патоморфологическим исследованием и биохимической оценкой индивидуальных маркеров специфических изменений в тканях обеспечивает возможность проведения многопараметрической характеристики состояния ЛОР-органов.

Применение данного подхода позволяет выявлять различия в молекулярном составе тканей, характеристиках локального кровотока, а также в их физиологических, структурных и морфометрических параметрах при сопоставлении интактных тканей с тканями, вовлеченными в воспалительный или

опухолевый процесс. Спектральные характеристики могут быть представлены как в графической форме, так и в виде количественных показателей, что формирует основу для применения методов машинного обучения при создании высокочувствительных диагностических систем. Проведение исследований спектрального анализа при различных заболеваниях ЛОР-органов и других анатомических областей головы и шеи с последующей обработкой полученных данных с использованием методов машинного обучения и технологий искусственного интеллекта позволяет формировать специализированные базы спектральных характеристик. Создание и последующее использование таких баз данных имеет важное практическое значение для своевременной маршрутизации пациентов на соответствующий этап специализированной медицинской помощи, динамического наблюдения за состоянием их здоровья, повышения качества оказания медицинской помощи и увеличения продолжительности здоровой жизни пациентов [86].

На основании полученных результатов исследования был разработан алгоритм диагностики заболеваний ЛОР-органов, представленный на рисунке 106.

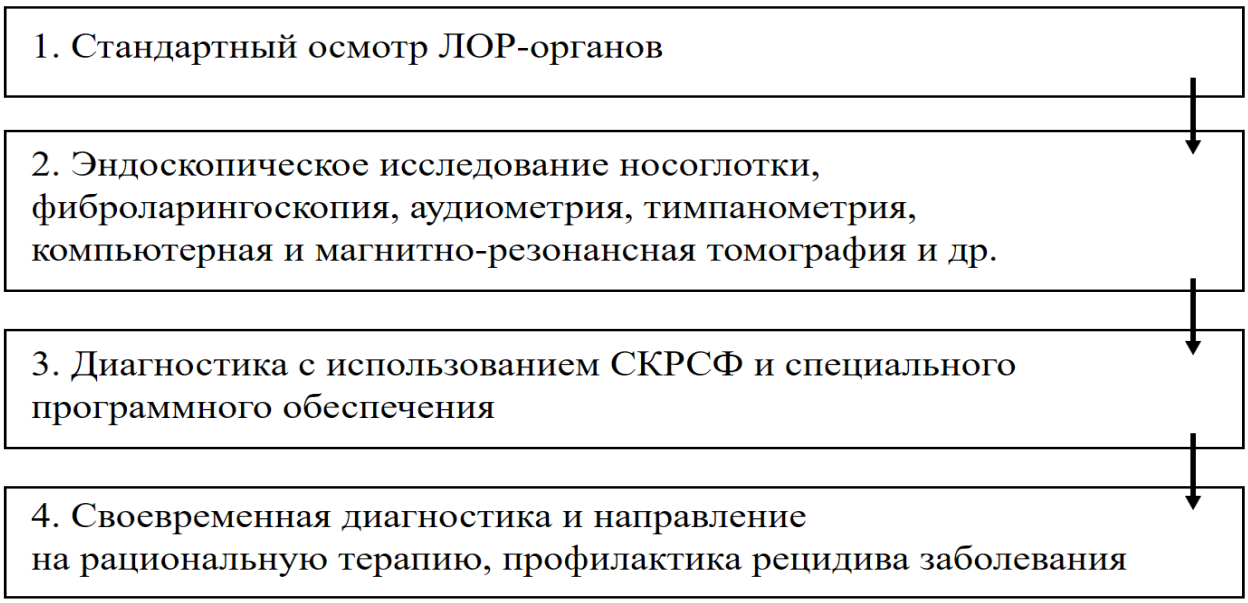

Рисунок 106 – Алгоритм диагностики заболеваний ЛОР-органов in vivo (общая схема)

При проведении скрининга с использованием СКРСФ можно рассмотреть применение алгоритма диагностики, продемонстрированного на рисунке 107.

При анализе метаболомных маркеров и морфометрических характеристик при различных заболеваниях ЛОР-органов представляется информативным руководствоваться алгоритмом диагностики, представленным на рисунке 108.

Более подробно алгоритмы диагностики патологии ЛОР-органов с использованием СКРСФ представлены в приложении Б.

Использование СКРСФ позволяет осуществлять дифференциацию тканей ЛОР-органов, вовлеченных в опухолевый или воспалительный процесс, по отношению к интактным тканям соответствующей анатомической области. Применение данного диагностического подхода формирует основу для раннего неинвазивного выявления изменений патологического характера, своевременной маршрутизации пациентов на соответствующий этап специализированного лечения, а также совершенствования системы оказания медицинской помощи за счет разработки и внедрения специализированных диагностических алгоритмов.

Рисунок 107 – Алгоритм ранней диагностики опухолевых заболеваний in vivo и ex vivo

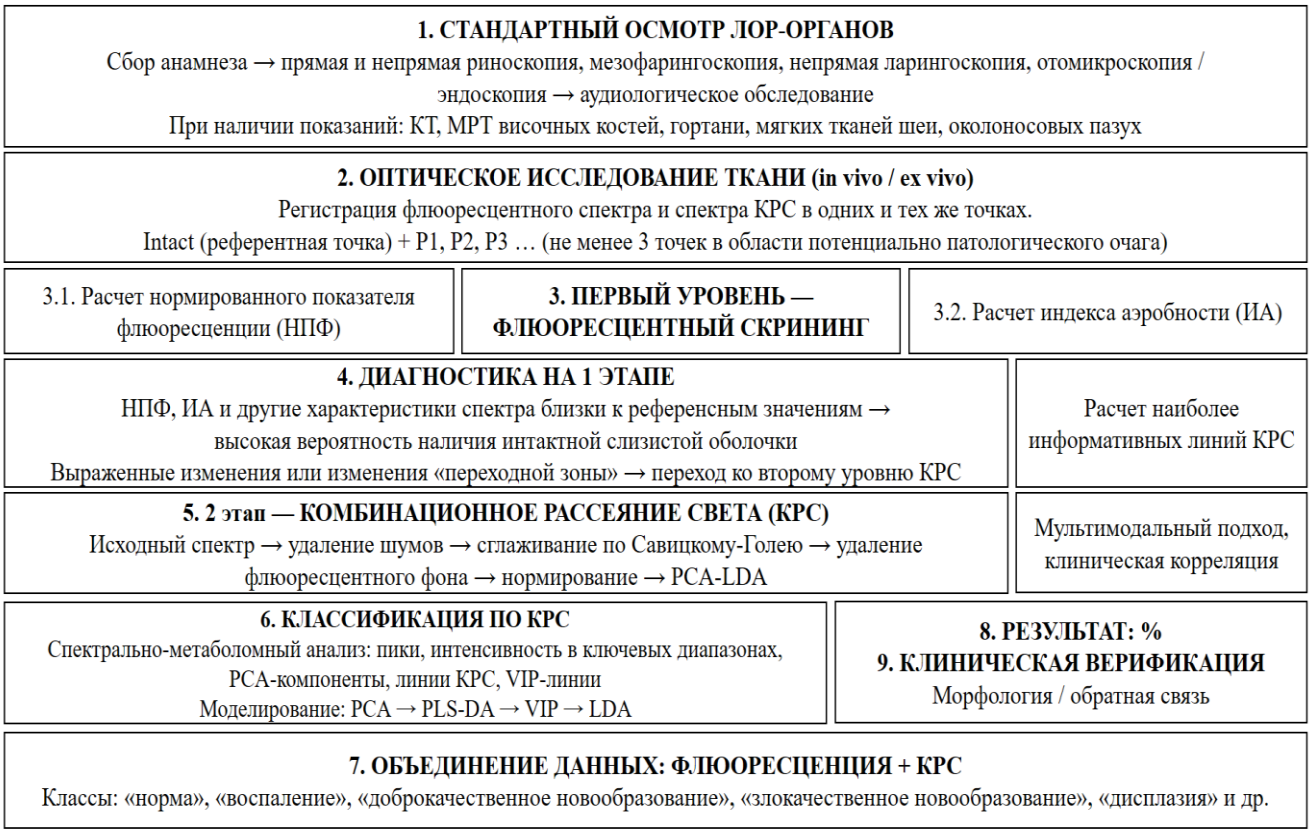

Рисунок 108 – Алгоритм диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием СКРСФ и спектрально-метаболомного анализа

Внедрение указанных технологий в клиническую практику также может способствовать улучшению качества жизни пациентов и снижению экономической нагрузки на систему здравоохранения, обусловленной поздним выявлением заболеваний и необходимостью применения более сложных и дорогостоящих методов лечения. Профилактика заболеваний ЛОР-органов при этом должна рассматриваться как одно из приоритетных направлений медицинской деятельности на различных уровнях оказания медицинской помощи. Эффективная реализация профилактических мероприятий предполагает использование междисциплинарного подхода и участие в лечебно-диагностическом процессе специалистов различных профессиональных направлений, не только врачей, но и работников других сфер.

Глава 6. ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА И ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ ГОЛОВЫ И ШЕИ

6.1. Диапазон клинического использования СКРСФ в диагностике заболеваний головы и шеи

В серии экспериментов ex vivo и in vivo была продемонстрирована информативность использования СКРСФ в экспресс-диагностике заболеваний головы и шеи [57]. На рисунке 109 представлен спектр ткани языка при отсутствии признаков злокачественного процесса. В отличие от спектра плоскоклеточной карциномы языка, спектральная кривая характеризуется наличием выраженных пиков в областях 1200, 1500 и 2950 $см^{-1}$. Интенсивность флюоресцентного сигнала является более низкой и составляет приблизительно 14000 относительных единиц, что более, чем в 2 раза ниже, чем при ПК данной локализации, при этом его максимальное значение регистрируется в области 1400 $см^{-1}$.

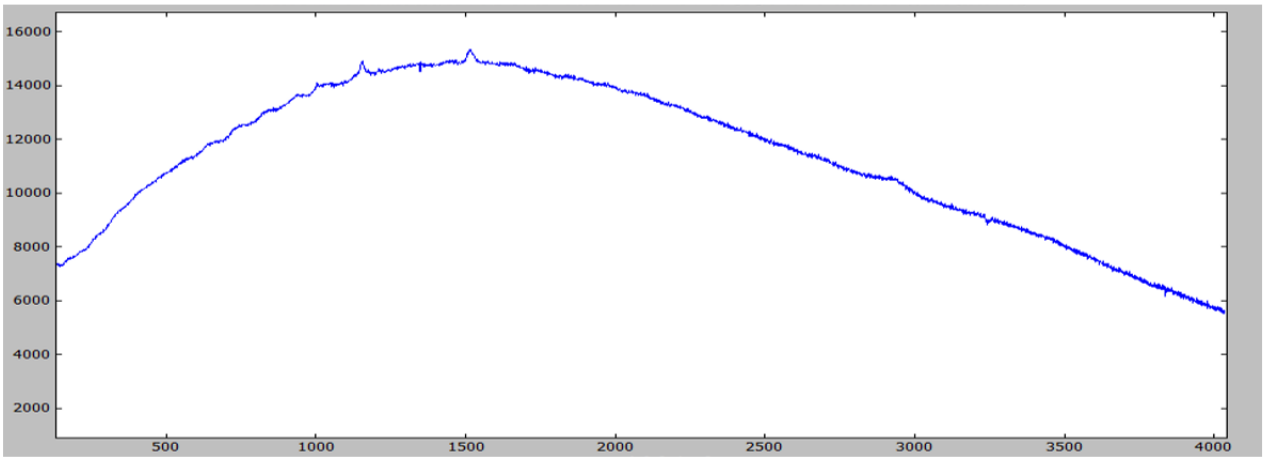

Рисунок 109 – Спектр ткани языка при отсутствии признаков злокачественного процесса. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В свою очередь, на рисунке 110 представлен спектр фрагмента опухолевой ткани основания языка, который морфологически соответствовал плоскоклеточной карциноме. Регистрировалась спектральная кривая, характеризующаяся наличием небольших отрицательных пиков в областях около 1400 и 3250 $см^{-1}$. Интенсивность

флюоресценции существенно превышала соответствующий показатель при плоскоклеточной карциноме глотки и достигала приблизительно 35000 относительных единиц.

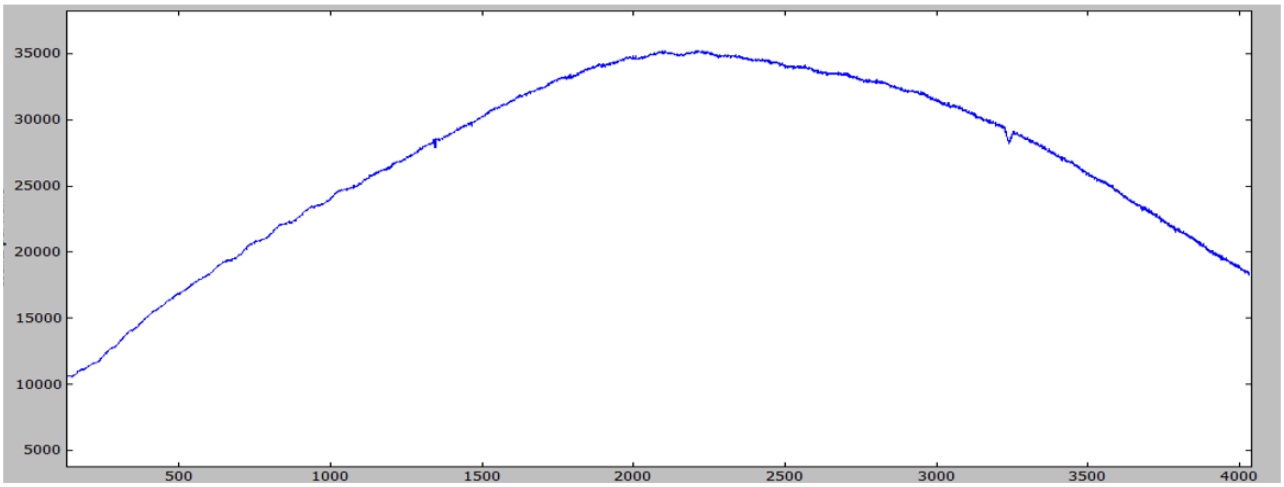

Рисунок 110 – Спектр плоскоклеточной карциномы основания языка. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 111 представлен спектр ткани лимфатического узла, пораженного метастазами p16-позитивной орофарингеальной карциномы. Спектральная кривая характеризовалась наличием выраженных пиков в диапазонах 1050, 1150, 1350, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 и 2950 $см^{-1}$, при этом пик в области 2950 $см^{-1}$ имел трапециевидную форму.

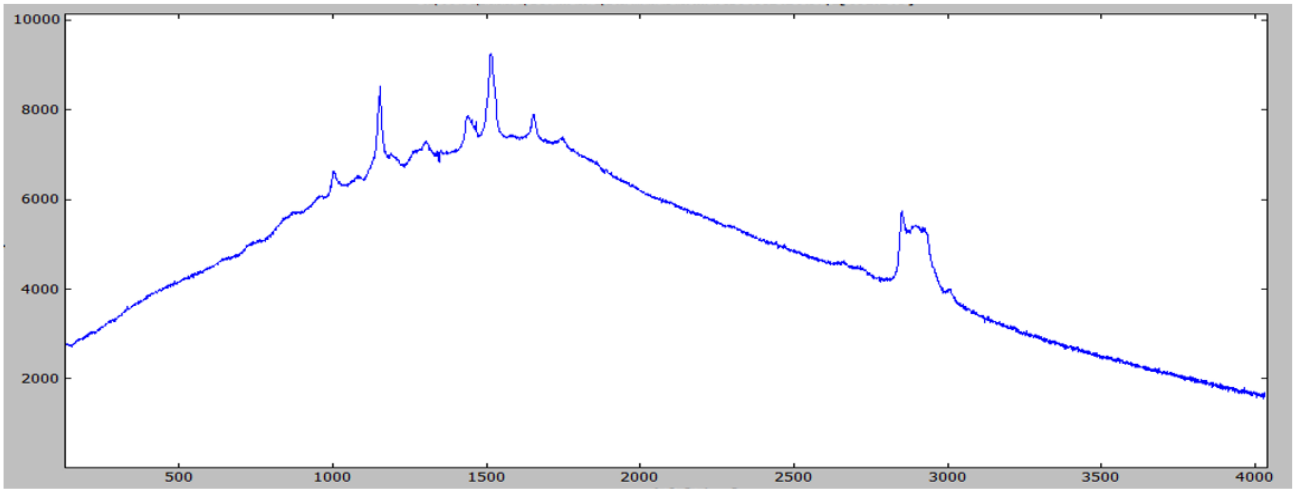

Рисунок 111 – Спектр ткани лимфатического узла, пораженного метастазами p16-положительной орофарингеальной карциномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 112 продемонстрирован спектр опухолевой ткани шеи, который морфологически соответствовал низкодифференцированной плоскоклеточной карциноме. Спектр характеризовался наличием пиков в областях 1050, 1150, 1510 и 2950 $см^{-1}$. При этом отмечалась сравнительно низкая интенсивность флюоресценции и выявлялись небольшие пики в диапазонах 1300, 1650, 1700 и 2700 $см^{-1}$. Пик в зоне 1510 $см^{-1}$ имел двувершинную форму, тогда как пик около 2950 $см^{-1}$ характеризовался трапециевидной зубчатой конфигурацией. Изменение положения пика, его формы, смещение его относительно оси абсцисс вправо или влево, а также другие характеристики линий КРС могут свидетельствовать об изменениях в тканях воспалительного, опухолевого или предопухолевого генеза.

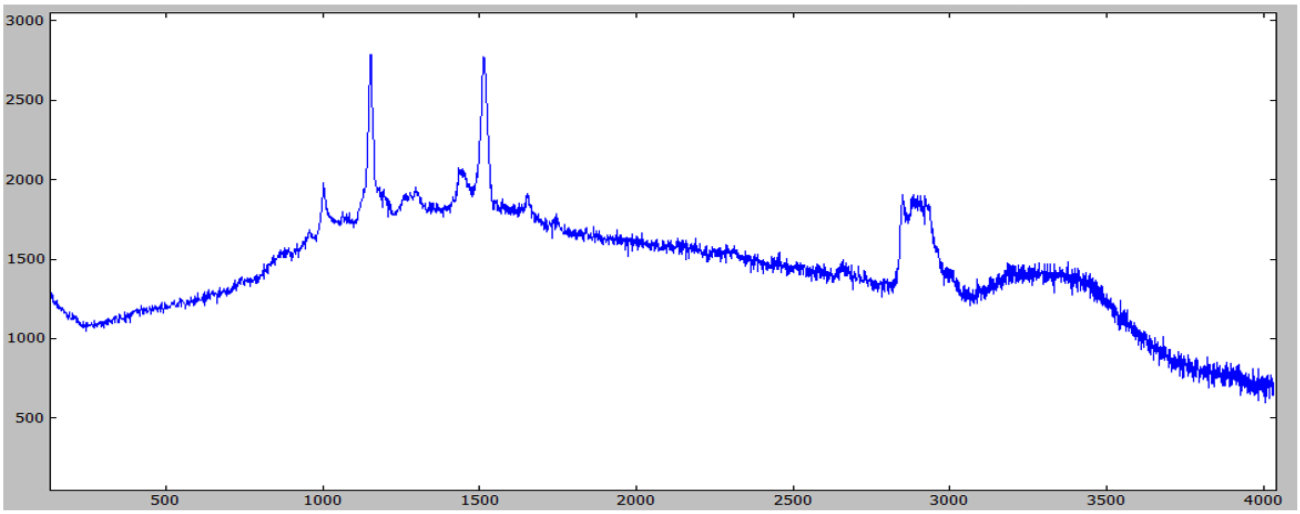

Рисунок 112 – Спектр опухолевой ткани шеи, морфологически соответствующей низкодифференцированной ПК. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 113 продемонстрирован спектр ткани липомы шеи. Он характеризовался наличием высокоамплитудных линий КРС в диапазонах 1000, 1200, 1500 и 2950 $см^{-1}$, менее выраженных линий КРС в областях 900, 990, 1300, 1600, 2350 и 2600 $см^{-1}$. Интенсивность флюоресценции была относительно низкой.

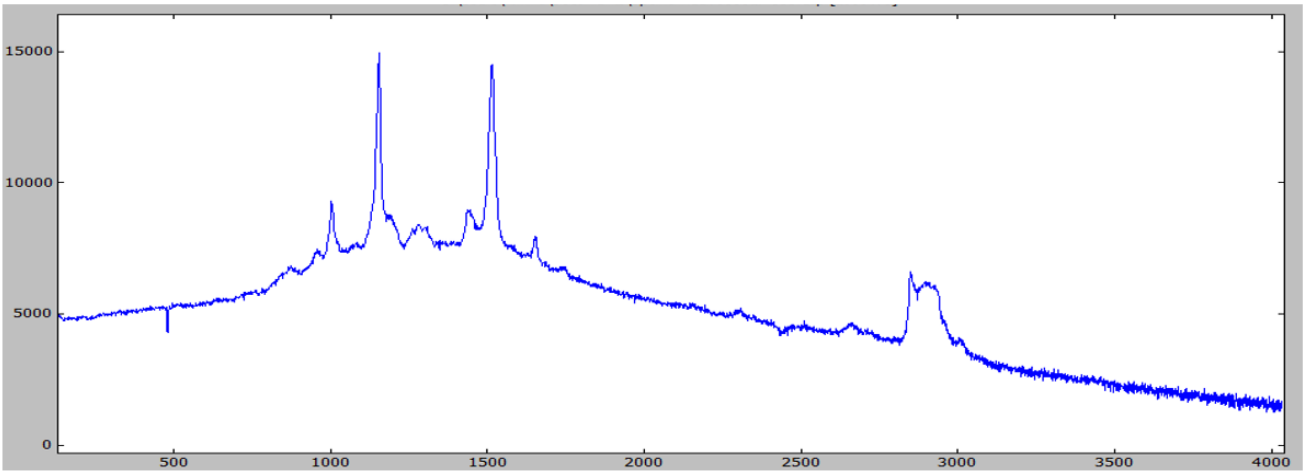

Рисунок 113 – Спектр ткани липомы шеи. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 114 продемонстрирован спектр меланомы слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух (синоназальной меланомы), метастазирующей в регионарные лимфатические узлы.

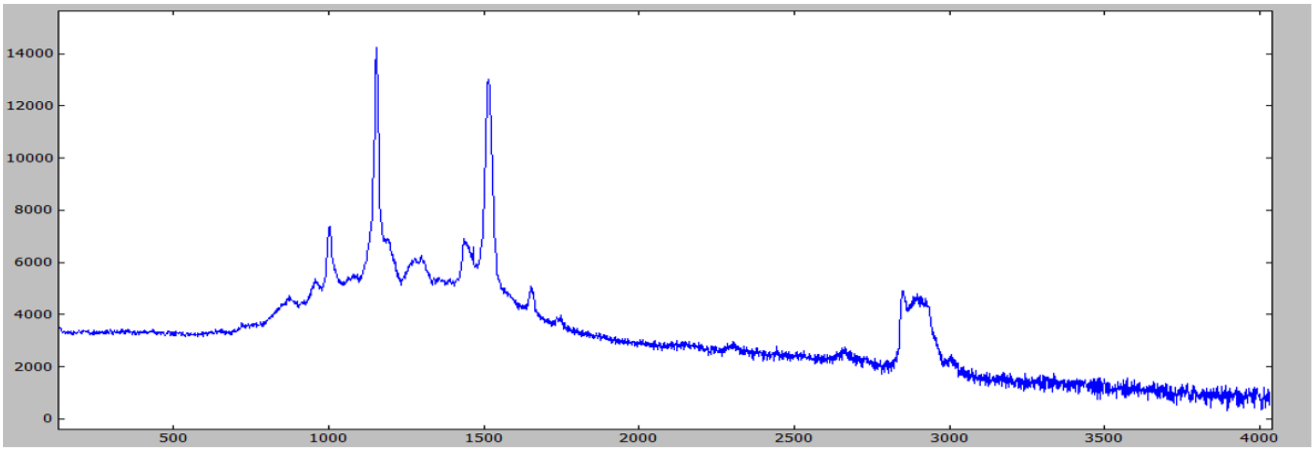

Рисунок 114 – Спектр меланомы слизистой оболочки полости носа при метастазировании в регионарные лимфатические узлы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

В данном случае были зарегистрированы высокоамплитудные линии КРС в диапазонах 1200 и 1500 см$^{-1}$, а также низкоамплитудные линии КРС в областях 850, 990, 1000, 1300, 1450, 1650, 1750, 2300 и 2700 см$^{-1}$. При этом визуализировался трапециевидный пик в области 2950 см$^{-1}$. Интенсивность флюоресценции была относительно невысокой [57]. На рисунке 115 проиллюстрирован спектр опухолевой ткани пищевода, который морфологически соответствовал

высокодифференцированной плоскоклеточной карциноме. По сравнению со спектрами плоскоклеточных карцином других анатомических локализаций спектр отличался более сглаженным профилем, мелкозубчатой структурой и наличием низкоамплитудных пиков. Помимо этого, регистрировался трапециевидный пик, который был смещен в область более высоких волновых чисел и представлен горбообразным подъемом в диапазоне 3100–3500 см$^{-1}$, чего не наблюдалось в случае других ПК.

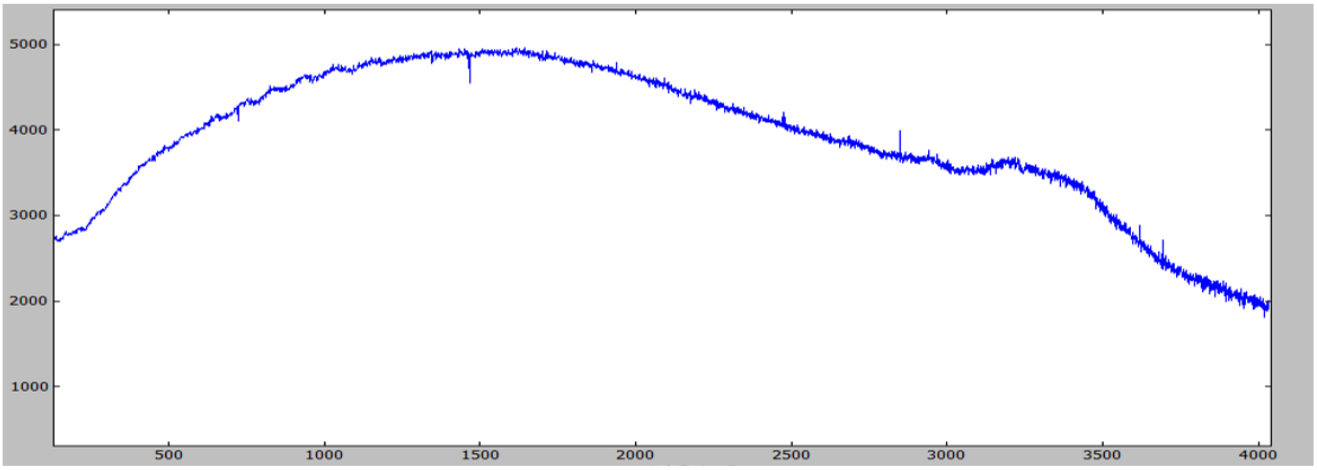

Рисунок 115 – Спектр высокодифференцированной плоскоклеточной карциномы шейного отдела пищевода. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 116 продемонстрирован спектр акустической невриномы. Максимальный сигнал флюоресценции регистрировался в диапазоне 1510 см$^{-1}$. Его интенсивность составила приблизительно 20000 относительных единиц. После достижения максимума в области 1510 см$^{-1}$ отмечалось более выраженное снижение интенсивности флюоресценции.

На рисунке 117 продемонстрированы спектры ткани околоушной слюнной железы при эпителиоидной злокачественной меланоме. Линии КРС регистрировались в диапазонах 1050, 1150 и 1500 см$^{-1}$, в то время как линия около 2950 см$^{-1}$ характеризовалась более низкой амплитудой. Максимальная интенсивность флюоресценции составила 3250 относительных единиц и определялась в области 2050 см$^{-1}$. Спектр имел множество низкоамплитудных пиков.

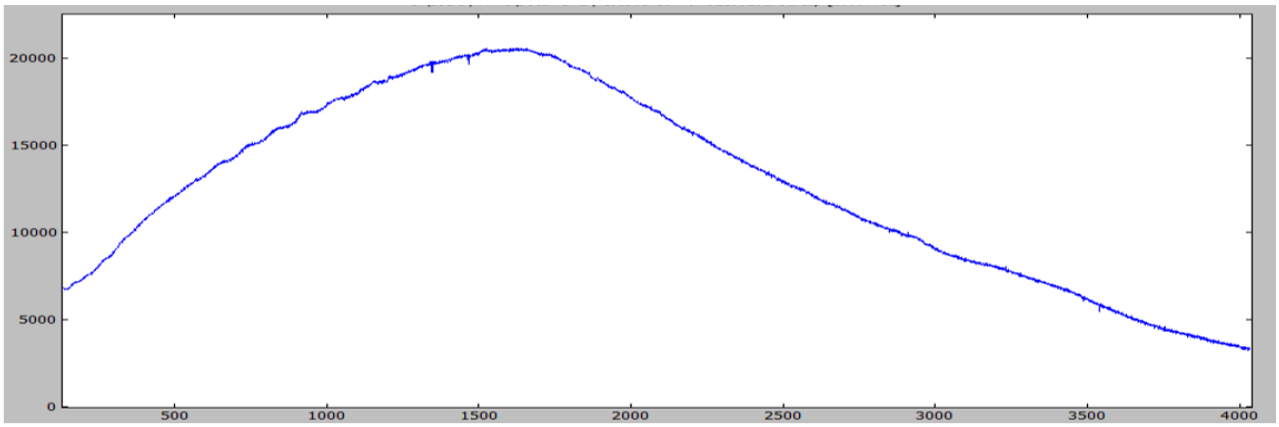

Рисунок 116 – Спектр акустической невриномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

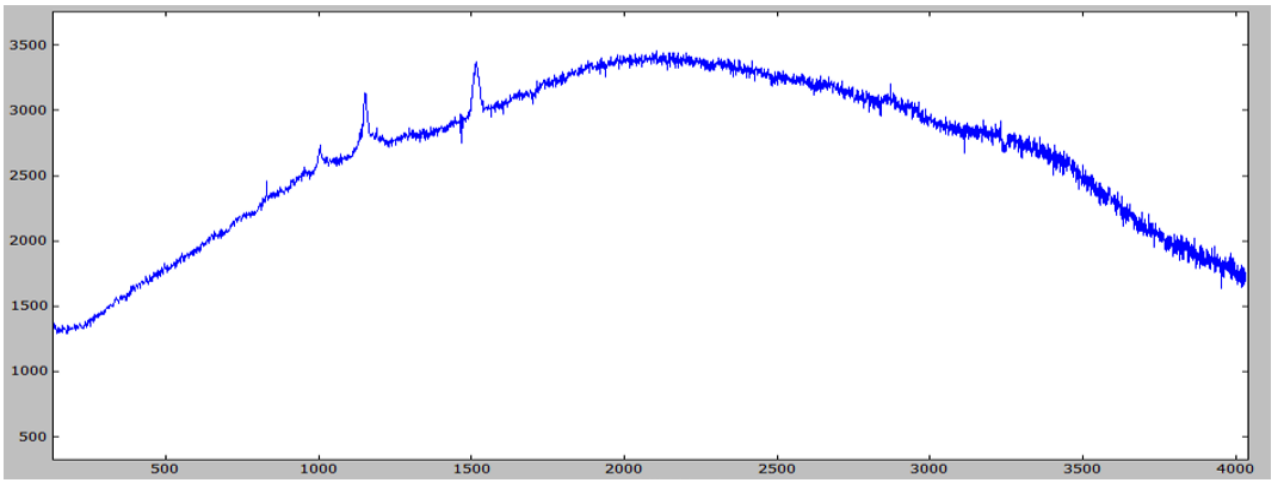

Рисунок 117 – Спектр ткани эпителиоидной меланомы оклоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 118 проиллюстрирован спектр КРСФ плоскоклеточной карциномы околоушной слюнной железы, который характеризовался наличием линий КРС в диапазонах 1010, 1150 и 1500 см$^{-1}$, а также низкоамплитудного пика в зоне 2650 см$^{-1}$ и трапециевидного пика в области 2950 см$^{-1}$. Максимальный подъем флюоресценции регистрировался в диапазоне 2050 см$^{-1}$. Следует отметить, что диагностическое значение имеет не только максимум флюоресценции генерализованного спектра, но и максимальное значение пиковой интенсивности флюоресценции, которые необходимо оценивать в совокупности с положением, формой, полушириной и другими характеристиками линий КРС.

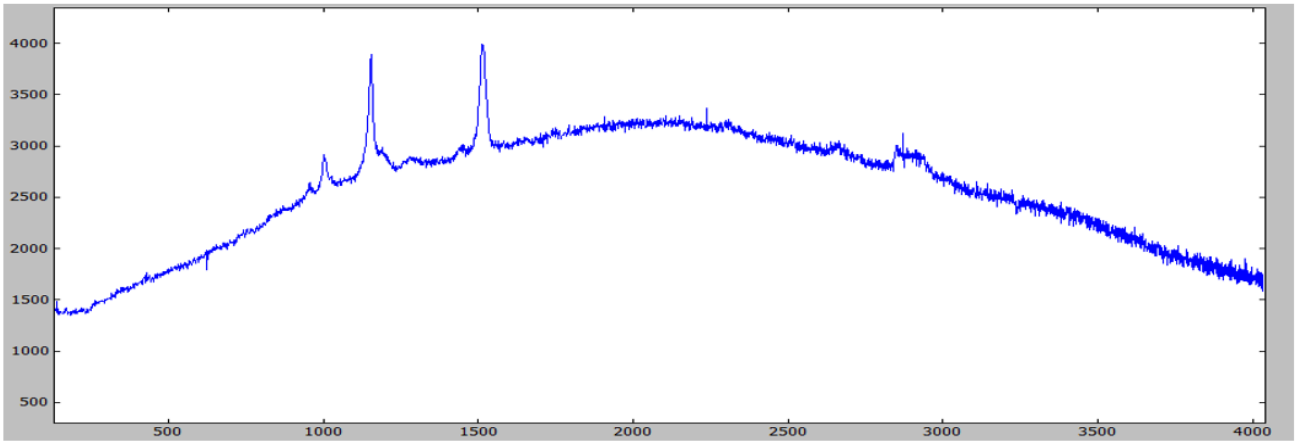

Рисунок 118 – Спектр плоскоклеточной карциномы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 119 продемонстрирован спектр плеоморфной аденомы околоушной слюнной железы, который по сравнению со спектром плоскоклеточной карциномы данной локализации характеризовался менее выраженной амплитудой линий КРС. Низкоамплитудные линии КРС регистрировались в диапазонах 1000, 1100, 1300, 1490 и 1510 см$^{-1}$. В диапазоне 2950 см$^{-1}$ был выявлен трапециевидный пик.

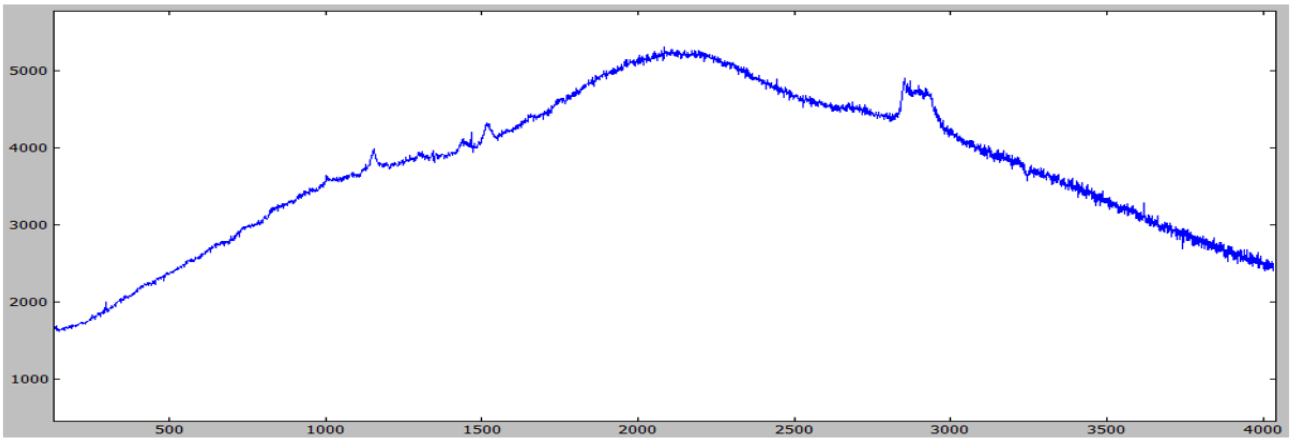

Рисунок 119 – Спектр плеоморфной аденомы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 120 представлен спектр аденокарциномы околоушной слюнной железы. На начальном участке спектральной кривой визуализируется постепенное увеличение интенсивности флюоресценции с максимальным значением в диапазоне 2010 см$^{-1}$, далее отмечалось его резкое снижение до 2850 см$^{-1}$. В отличие

от спектра плоскоклеточной карциномы околоушной слюнной железы, остроконечные высокоамплитудные пики не выявлялись, при этом сохранялся трапециевидный пик в области 2950 см$^{-1}$.

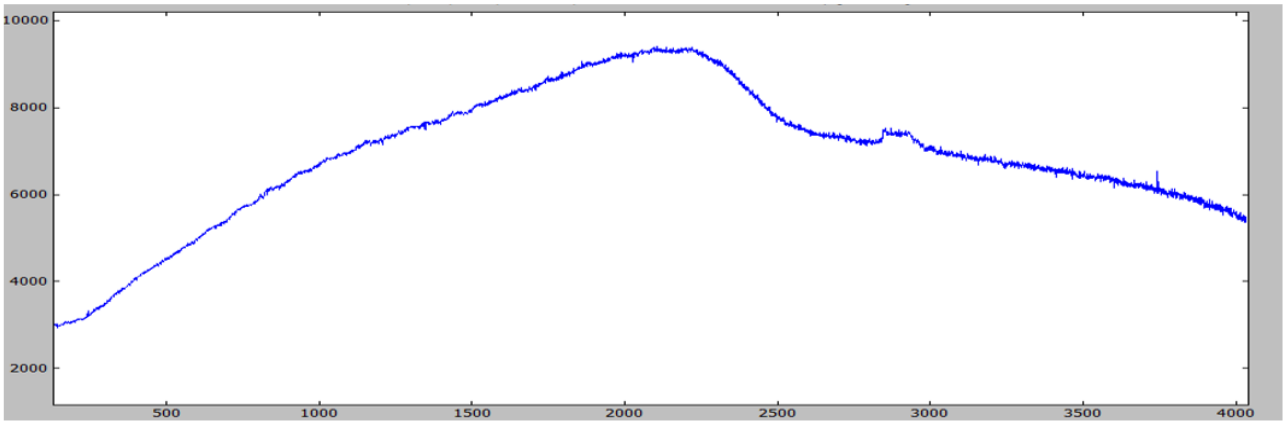

Рисунок 120 – Спектр аденокарциномы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 121 проиллюстрирован спектр ткани поднижнечелюстной слюнной железы при хроническом воспалительном процессе. Спектр ткани железы характеризовался постепенным увеличением интенсивности флюоресценции до 30000 относительных единиц с последующим снижением до области 2850 см$^{-1}$. В спектральной кривой отмечался характерный трапециевидный пик, амплитуда которого была ниже соответствующего показателя при аденокарциноме околоушной слюнной железы. При этом интенсивность флюоресценции была выше, чем при опухолевых заболеваниях слюнной железы, что подтвердило ранее проведенные исследования [59].

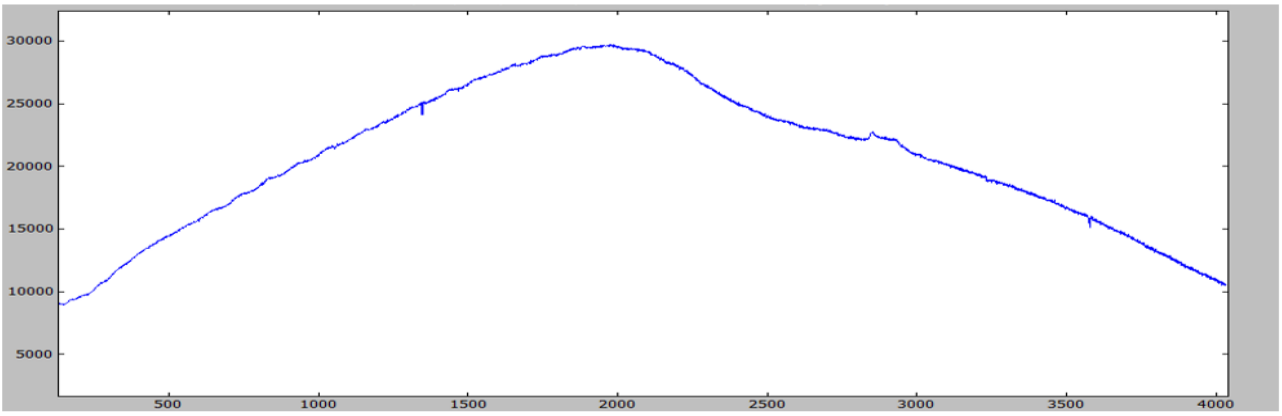

Рисунок 121 – Спектр ткани поднижнечелюстной слюнной железы при хроническом воспалительном процессе. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

На рисунке 122 представлена спектральная кривая регионарного лимфатического узла, пораженного метастазами аденокарциномы околоушной слюнной железы. Спектр характеризовался наличием линий КРС в диапазонах 1100, 1500 и 2950 $см^{-1}$. Кроме описанных изменений, визуализировался вторичный подъем интенсивности флюоресценции в области 3050–3400 $см^{-1}$. Положение пиков, их полуширина, высота, амплитуда, смещение по оси абсцисс, пиковая интенсивность флюоресценции, максимальная интенсивность флюоресценции генерализованного спектра и нормированные ее показатели в совокупности с изменением соотношения пиков, их количества и расположения являются важными диагностическими маркерами при определении типа патологического процесса: воспаления, опухоли, дисплазии и др.

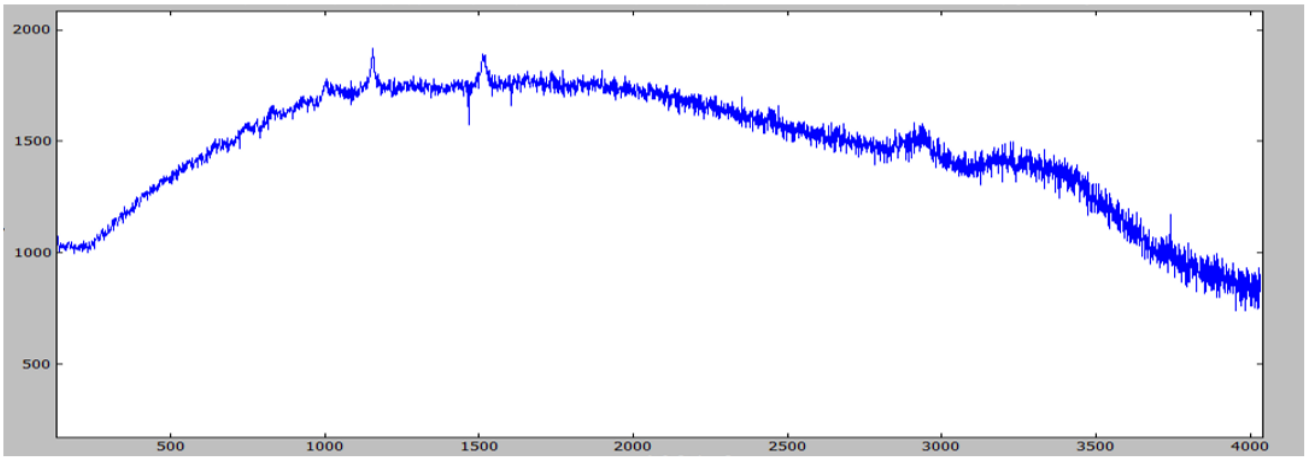

Рисунок 122 – Спектр ткани регионарного лимфатического узла, пораженного метастазами аденокарциномы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)

6.2. Междисциплинарный подход при использовании алгоритмов диагностики патологии ЛОР-органов с применением СКРСФ

Применение СКРСФ в сочетании с метаболомным анализом и разработанными диагностическими алгоритмами может быть реализовано в рамках междисциплинарного взаимодействия врачей, биологов, физиков, инженеров, молекулярных биологов и других специалистов смежных областей [86]. Системный подход направлен на совершенствование методов ранней неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний

ЛОР-органов и других анатомических структур головы и шеи. Интеграция указанных методов в состав аппаратно-программного комплекса с использованием многоволнового лазерного возбуждения и технологий машинного обучения позволяет проводить комплексную оценку исследуемых тканей и получать наиболее полную совокупность данных, характеризующих их морфометрические, метаболические и физиологические особенности как в норме, так и при патологии. Разработанные дифференциально-диагностические критерии и показатели, а также алгоритмы диагностики патологии ЛОР-органов и других органов головы и шеи позволяют не только оценить спектральные различия тканей интактной области и тканей, вовлеченных в патологических процесс, с использованием КРС и флюоресценции, но и проанализировать метаболомный профиль, зарегистрировать изменения воспалительного и опухолевого генеза, возникающие на стадии инициации заболевания, что является основополагающим при направлении пациента на своевременное рациональное лечение, осуществлении мониторинга проводимой терапии, оценке риска рецидива в каждом клиническом наблюдении, а также проведении профилактических мероприятий в будущем (приложение Б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воспалительные заболевания ЛОР-органов и злокачественные новообразования относятся к широко распространенным и значительно снижающим качество жизни пациентов в России и за рубежом [15, 20, 21, 23, 67-70, 80, 81, 82, 99-101, 184]. Значимое место в структуре патологии ЛОР-органов воспалительного генеза занимают заболевания околоносовых пазух [8, 25, 36, 37, 61, 74, 116, 128, 136, 184,], не менее важную роль играют другие нозологии воспалительной природы [16, 76, 171, 213, 283, 325].

Что касается опухолевых заболеваний, то в Российской Федерации ежегодно отмечается более 600 тысяч новых случаев злокачественных новообразований и примерно 300 тысяч летальных исходов, обусловленных их развитием [11]. Особую значимость приобретают рак гортани [3, 14, 139, 144, 235, 284, 340], рак ротоглотки [35], помимо этого встречаются и другие воспалительные и опухолевые заболевания ЛОР-органов [23, 48, 75, 80, 95, 108, 284]. Определение биомаркеров данных заболеваний создает возможность для своевременного назначения рационального лечения до развития осложнений и способствует повышению качества жизни пациента. Разработка методов ранней неинвазивной диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов относится к одному из актуальных направлений стратегического развития страны, так как способствует повышению качества жизни пациентов и совершенствованию организации медицинской помощи [84]. Основной сложностью диагностики и лечения данных пациентов является необходимость междисциплинарного взаимодействия специалистов различных профилей [316]. В связи с этим важную роль в разработке методов диагностики играет взаимодействие специалистов различных профилей: врачей, физиков, инженеров, биологов, математиков и других специалистов в области наук о жизни.

Как известно, в оториноларингологической практике применяются эндоскопическое исследование носоглотки, фиброларингоскопия, NBI-эндоскопия (Narrow Band Imaging – узкоспектральная визуализация), методы молекулярной

диагностики, флюоресцентная визуализация и другие методы диагностики [13, 15, 262, 307], а также гистологический [214]. Подобные методы обладают своими преимуществами, однако для постановки диагноза при онкологическом процессе на ранней стадии необходимо определение биомаркеров заболевания, а также использование неинвазивных высокочувствительных и высокоспецифичных методов диагностики [344]. В данном аспекте являются перспективными технологии с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции [51, 84, 121, 133, 140, 188, 195, 233, 242, 267, 287, 330, 332, 358]. Использование СКРСФ для выявления специфических изменений при различной патологии, а также определения молекулярных признаков заболеваний и разработки новых методов медицинской диагностики описано во множестве исследований [138, 178, 181, 198, 201, 202, 261, 289, 303], особого внимания заслуживает конфокальная спектроскопия КРС, которая является перспективным неинвазивным методом исследования ультраструктуры и биохимических процессов [51]. Использование спектроскопии в совокупности с методами машинного обучения применяется в качестве неинвазивного интраоперационного инструмента для экспресса-диагностики рака и идентификации границ резекции опухоли [245]. Многоволновая диагностика при проведении спектроскопии комбинационного рассеяния света позволяет проанализировать тип опухолевой ткани, выявить различия между опухолевым и воспалительным процессом и нормой на уровне биомаркеров, что было показано в настоящем исследовании. Получение набора индивидуальных спектральных характеристик тканей в норме и при патологии обеспечивает возможность проведения их дифференциальной диагностики [269]. Определение биомаркеров заболеваний, обеспечивающих идентификацию опухолевого процесса на ранней стадии, относится к одному из ключевых направлений современной медицины [211, 217, 297]. Поскольку постановка диагноза на поздних стадиях сопряжена с неблагоприятным прогнозом заболевания и значительным снижением качества жизни необходима разработка методов ранней диагностики злокачественных новообразований [18, 139, 320]. Для профилактики рецидива заболевания крайне важным является интраоперационное

определение границ опухоли [229, 327]. Несмотря на все преимущества СКРСФ, основными ограничениями их широкого внедрения в клиническую практику являются необходимость разработки специализированных аппаратно-программных комплексов, позволяющих анализировать дифференциально-диагностические критерии в режиме реального времени в норме и при патологии, высокая стоимость оборудования, недостаточное количество специалистов, владеющих методикой, ограничение доступности профильной подготовки в данном направлении, отсутствие разработанных унифицированных алгоритмов дифференциальной экспресс-диагностики опухолевых и воспалительных заболеваний ЛОР-органов, включенных в стандарты и порядки оказания медицинской помощи и клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. В связи с этим, помимо научно-клинического обоснования эффективности использования СКРСФ в оториноларингологии требуется проведение исследований in vivo и ex vivo, подтверждающих высокие уровни чувствительности, специфичности и точности метода с определением биомаркеров заболевания, на что и была направлена представленная работа. Формирование «Базы данных референсных спектров и спектров при патологии воспалительного и опухолевого генеза», разработка стандартизированных критериев и показателей, дифференциально-диагностических алгоритмов при различной ЛОР-патологии явились основными в достижении цели проведенного исследования.

Исследование было проведено в несколько этапов. На первом этапе была проведена разработка и апробация методики и подбор оптимального режима измерения, а также идентифицированы основные диагностические преимущества каждой из длин волн лазерного излучения, обосновано применение многоволновой диагностики в идентификации патологии ЛОР-органов. В ходе серии экспериментов ex vivo при регистрации спектров с поверхности интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и слизистой оболочки околоносовых пазух, вовлеченной в хронический воспалительный процесс при риносинусите, был проведен сравнительный анализ спектров образцов тканей,

заключенных в парафиновые блоки, а также в криогель. Помимо этого, проводился сравнительный анализ спектров образцов на поверхности кварцевых стекол и образцов тканей нативного материла без использования химических веществ. Было отмечено, что дополнительные реактивы значительно искажают спектроскопическую картинку, таким образом, наиболее информативными были спектры, полученные с поверхности тканей нативного материала [92]. В ходе первого этапа исследования было установлено, что при регистрации спектров необходимо учитывать работу с дополнительными реагентами, применяющимися для фиксации тканей при анализе морфометрических характеристик. В рамках разработки и апробации методики применялись длины волн лазерного излучения 532 и 785 нм. При сравнительной оценке групп тканей слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух – образцов, заключенных в парафиновые блоки и в криогель, были определены линии комбинационного рассеяния света, значимые для диагностики хронического риносинусита, однако существенно различающиеся за счет вклада реактивов-фиксаторов. Между группами выявлены различия интенсивности в диапазонах 1200–1350 $см^{-1}$ и 2850–2930 $см^{-1}$. При интерпретации результатов установлено, что в группе образцов слизистой оболочки, вовлеченной в воспалительный процесс при хроническом риносинусите в криогеле (группа 2) интенсивность полос 1248, 1268 и 1336 $см^{-1}$ была заметно выше, чем при фиксации в парафиновых блоках (группа 1). В С–Н-области 2850–2930 $см^{-1}$ отношение интенсивностей 2850/2930 в группе, заключенной в парафиновые блоки, составило 1,62 против 0,83 в группе 2, что свидетельствовало о более значимом вкладе липидов. Для всех анализируемых наборов общим являлся пик около 1461 $см^{-1}$. В группах 1 и 2 совпадали линии КРС в диапазоне 1439–1460 $см^{-1}$: 1439, 1440, 1450, 1458, 1460 и 1461 $см^{-1}$. В группе 1 уникальные пики располагались в диапазонах 702–760, 1061–1071, 1294–1295, 1417–1418 и 2860–2863 $см^{-1}$, а также при 888, 1002, 1132, 1170, 2846, 2881, 2898, 2902, 2907, 2916 и 2922 $см^{-1}$. Для группы 2 характерными были пики 403, 404, 406, 408 $см^{-1}$, диапазоны 412–440, 1343–1350 и 1432–1468 $см^{-1}$, а также полосы 522, 532, 853, 858, 1003, 1004, 1271, 1281, 1300, 1328, 1471 и 1473 $см^{-1}$ [92]. Однако данные критерии мы в работе не использовали,

поскольку для верификации полученных данных было необходимо исследовать спектры с поверхности нативного материала, а также провести исследования in vivo. Анализ расположения линий КРС позволяет сформировать набор уникальных признаков, отличающих различные типы тканей при проведении экспресс-диагностики. Совпадающих пиков в усредненных спектрах двух групп не обнаружено, что указывает на потенциальную применимость выявленных различий для дифференциальной экспресс-диагностики. Для группы 3 (спектры слизистой оболочки околоносовых пазух, вовлеченной в воспалительный процесс при хроническом риносинусите), специфичными являлись полосы 403, 416, 857, 938, 1004, 1248, 1272, 1444, 1452 и 1665 $см^{-1}$. В группе 4 (спектры интактной слизистой оболочки околоносовых пазух) значимыми были линии на величинах волновых чисел 1003, 1031, 1035, 1038, 1042, 1045, 1047, 1052, 1057 и 1060 $см^{-1}$ [92]. При этом чувствительность и специфичность достигали 100%. Однако для верификации полученных данных мы провели исследования in vivo и ex vivo в большем количестве клинических наблюдений с использованием нескольких длин волн. Проведенные эксперименты продемонстрировали информативность применения конфокальной СКРС для экспресс-диагностики патологии ЛОР-органов. При этом наиболее точной была экспресс-диагностика при регистрации измерений с поверхности нативного материала на стеклах с алюминиевым напылением по сравнению с анализом образцов в парафиновых блоках, а также срезов на кварцевом стекле и криосрезов, фиксированных в геле [92]. Для определения биомаркеров в тканях и клинического диапазона применения многоволновой конфокальной СКРС проводилась серия исследований на образцах интактной слизистой оболочки ЛОР-органов и при воспалительных и опухолевых заболеваниях головы и шеи. Было установлено, что использование лазерного излучения различных длин волн (405 нм, 532 нм, 785 нм, 1064 нм) позволяет получить наиболее полную информацию о биологической ткани, так как каждая длина волны обладает определенными видами преимуществ. В ходе проведения исследования была продемонстрирована информативность многоволнового подхода в диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов

[56-59]. Поскольку в современной спектральной диагностике применяются большие массивы данных, они требуют автоматизированной обработки, при этом каждый спектр содержит множество характеристик: положение, высоту, полуширину, сдвиг, интенсивность, форму кривой, фоновую составляющую, высокочастотные и низкочастотные диапазоны и др. Ручная интерпретация таких данных ограничена субъективностью исследователя и сложностью проведения многомерного анализа. В данном случае полезным вспомогательным инструментом врача может быть применение методов машинного обучения и искусственного интеллекта может в сочетании с СКРС. В перспективе использование данного инструмента позволит создать систему поддержки принятия врачебных решений [66, 256].

Несмотря на то, что применение данных технологий удобно клиницисту, важным аспектом остается стандартизация исходных данных. Так, необходимо унифицировать методологию регистрации спектров, параметры лазерного излучения, условия проведения измерений, а также разработать алгоритмы диагностики в отношении других заболеваний воспалительного и опухолевого генеза. В ходе разработки методологии были проанализированы спектрально-метаболомные характеристики тканей ЛОР-органов в норме, при воспалительном, предопухолевом и опухолевом процессе. В ходе следующего этапа исследований был проведен анализ спектров комбинационного рассеяния света и флюоресценции, а также выделены наиболее информативные линии КРС в корреляции с метаболомными маркерами, рассчитаны наиболее значимые индексы и разработаны алгоритмы диагностики для проведения экспресс-дифференциации различной патологии ЛОР-органов. На третьем этапе исследований ex vivo проводились измерения при патологии ЛОР-органов с использованием СКРСФ, при этом было проведено разделение классов с высокими уровнями чувствительности, специфичности и точности. Выполнен сравнительный спектральный анализ в следующих группах нозологий: хроническом тонзиллите компенсированной и декомпенсированной формы, аденоидных вегетациях, плоскоклеточной карциноме носоглотки, ротоглотки, гортани, полости носа и

околоносовых пазух, хроническом риносинусите с формированием и без формирования полипов, кистах околоносовых пазух, злокачественной меланоме слизистой оболочки полости носа, хроническом гнойном среднем отите с сформированием и без формирования холестеатомы, адгезивном отите, гломусной опухоли среднего уха а также других заболеваниях ЛОР-органов (органов головы и шеи), пораженных доброкачественным, злокачественным и воспалительным процессом, в том числе, при метастазировании опухолевого процесса в регионарные лимфатические узлы.

На четвертом этапе проводилась многоволновая экспресс-диагностика in vivo при указанной выше патологии. Выделялись наиболее информативные линии КРС, характерные для биомаркеров заболеваний, в частности, в отношении полипозного риносинусита выделены линии КРС белка периостина, уровень экспрессии которого был повышен (линия КРС 1003 $см^{-1}$, соответствующая фенилаланину, линия в области 1665 $см^{-1}$, ассоциированная с амидом I). Помимо этого, значимыми диагностическим показателями являются амид III и аминокислоты пролинового ряда в диапазоне около 850 $см^{-1}$. Полученные результаты in vivo и ex vivo имеют практическую значимость для проведения ранней экспресс-диагностики, выбора персонализированного лечения, мониторинга эффективности проводимой терапии и профилактики рецидива заболевания. В ходе исследования были выявлены с использованием многоволновой СКРСФ следующие значимые на ранней стадии развития полипозного риносинусита диагностические маркеры заболевания: амид I (ν C=O): 1650-1660 $см^{-1}$; амид II (δ N–H): 1550-1560 $см^{-1}$; ν C=O жирных кислот: ~1740 $см^{-1}$; наличие ν C–H-групп (метильные и метиленовые): 2950-2850 $см^{-1}$; δ C–H: 1470-1440 $см^{-1}$; углеводы и фосфо-, эфирные связи; ν C–O–C (углеводы): 1200-1000 $см^{-1}$; ν P=O (фосфаты): 1250-1220 $см^{-1}$; O–H/N–H растяжения: широкий диапазон 3200-3600 $см^{-1}$; C=C (ароматические/ненасыщенные): около 1600 $см^{-1}$; C=O (кетоны, эфиры, карбоновые кислоты): 1700-1720 $см^{-1}$. Таким образом, полученные линии КРС позволяют идентифицировать индивидуальные метаболомные маркеры полипозного риносинусита в сравнении с интактной тканью. В данном случае

амид I (1630–1670 $см^{-1}$) и амид III (1224–1268 $см^{-1}$) отражают структуру α спирали и β складок; отмечаются пики дисульфидных связей (505–545 $см^{-1}$) и аминокислот с ароматическим кольцом (750, 830, 1002 $см^{-1}$ и выше) – маркеры боковых цепей. Содержание липидов характеризуется визуализацией CH_2/CH_3 групп (1360-1450 $см^{-1}$), C–C и C–C= растяжением (1065-1070 $см^{-1}$) и линиями КРС на величинах волновых чисел 2870-2917 $см^{-1}$, что иллюстрирует содержание липидов и белков; при этом для нуклеиновых кислот характерны линии КРС 726, 785, 1575-1609 $см^{-1}$ и линии PO_2^- фосфатной группы (1090-1096 $см^{-1}$), которые относятся к универсальным маркерам наличия ДНК/РНК, цитохромы, в свою очередь, характеризуются наличием линий КРС на величинах волновых чисел 1129, 1310-1315 $см^{-1}$, что характеризует клеточный стресс и апоптоз, в то время как для соотношения тирозина/триптофана характерно наличие линий КРС ~750, 830-850, 1615 $см^{-1}$ [346]. В ходе исследований, проведенных ex vivo и in vivo, было продемонстрировано, что при полипозном риносинусите регистрируются линии комбинационного рассеяния света, которые не визуализируются в области интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, а также кист околоносовых пазух и слизистой оболочки околоносовых пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов, плоскоклеточной карциномы полости носа и околоносовых пазух и злокачественной меланомы слизистой оболочки полости носа. Так, были зафиксированы дополнительные отличительные линии КРС, которые применяются при проведении дифференциальной экспресс-диагностики: 853 (пролин, гидроксипролин, тирозин), 940 (белки, коллаген), 1078 (фосфолипиды, триолеин, нуклеиновые кислоты), 1335 (белки/триптофан, эластин, цитохром B, миоглобин, аденозин, гуанин), 1554 (амид-11, триптофан, гем, белки), 2885 (липиды, белки) и 2940 (белки, нуклеиновые кислоты, липиды) $см^{-1}$ [346, 347].

Таким образом, ткань полипов околоносовых пазух характеризуется линиями КРС в области 853, 940, 1078, 1335, 1554, 2885–2940 $см^{-1}$, отражающими морфометрические, структурно-метаболические и физиологические изменения в тканях, чего не отмечается в норме и при других заболеваниях полости носа и околоносовых пазух. В ходе проведения исследования было отмечено, что при

полипозном риносинусите, помимо выраженного β-окисления полиненасыщенных жирных кислот отмечаются снижение уровня аминокислот (например, серина); накопление мочевой кислоты, что является дополнительным диагностическим критерием. Как было показано ранее [347], среди метаболитов, которые характеризуют полипозную ткань и отличают ее от интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух следует отметить цитруллин, линолевую кислоту и аденозин, уровень которых повышен при полипозном риносинусите по сравнению с интактной слизистой оболочкой полости носа и околоносовых пазух [58]. Также было отмечено, что при полипозном риносинусите повышается уровень билирубина и кортизола, меняется липидный профиль, в отличие от интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. Изменение метаболомики может быть связано в данном случае с наличием хронического стресса и гипоксии в тканях, что является диагностическим критерием при идентификации полипозного риносинусита. Поскольку в полипозной ткани происходит изменение соотношения липидов, а также усиленное β-окисление и нарушение пуринового обмена, линии КРС позволяют зарегистрировать данные изменения, которые отсутствуют в интактной слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух, что и было продемонстрировано в проведенных исследованиях. Помимо этого, были выделены другие биомаркеры полипозного риносинусита, среди которых можно отметить гликозаминогликаны (ГАГ), характеризующиеся наличием линий КРС сульфатированных ГАГ в областях ~1066 $см^{-1}$ и при ~1378 $см^{-1}$ [208]. Гликозоаминогликаны (ГАГ) играют важную роль в патогенезе полипозного риносинусита [281]. В проведенном исследовании было продемонстрировано, что уровень ГАГ при полипозном риносинусите значительно отличается от такового в норме, это, в свою, очередь, также может рассматриваться в качестве диагностического критерия. В результате проведенного исследования были отмечены следующие линии КРС ГАГ: ~1066–1070 $см^{-1}$, соответствующие симметричному растяжению OSO_3 (сульфатов), ~1248 $см^{-1}$, связям C–O–C, ~1378 $см^{-1}$, CH_3-колебаниям [135], а также 1000–1200 $см^{-1}$ и 1300-1450 $см^{-1}$, соответствующие ГАГ (сульфаты, CH-группы) [187]. Также регистрировались

спектры комбинационного рассеяния света ГАГ с пиками в диапазоне 800–1400 см$^{-1}$, и в областях ~1066 и ~1378 см$^{-1}$, отражающих наличие сульфатов и мембранных групп. В результате проведенной многоволновой диагностики были выявлены наиболее информативные линии КРС, которые применяются для дифференциации интактной и опухолевой ткани при плоскоклеточной карциноме полости носа и околоносовых пазух: 1006, 1033, 1155, 1341, 1449, 1516, 1589, 1780 и 2930 см$^{-1}$. При плоскоклеточной карциноме околоносовых пазух спектры КРС отличаются от спектров кист, хронического риносинусита без формирования полипов и полипозного риносинусита. Во всех попарных сравнениях между кистами, хроническим риносинуситом без полипов, полипозным риносинуситом и плоскоклеточной карциномой значения чувствительности и специфичности приближались к 100%, при этом нижние границы 95% доверительных интервалов по пуассоновской модели зависели от объема соответствующего класса и находились в пределах 98,72–99,44% для специфичности и 99,34–99,44% для чувствительности.

На следующем этапе исследований были зарегистрированы спектры ex vivo и in vivo тканей глотки при воспалительных и опухолевых заболеваниях. Были проанализированы спектры как редких опухолей, в частности, плеоморфной аденомы глотки, так и при широко распространенной патологии – хроническом тонзиллите, аденоидных вегетациях, плоскоклеточной карциноме ротоглотки и носоглотки. При плеоморфной аденоме глотки информативными были линии КРС 1153, 1515, 2851 и 2884–2900 см$^{-1}$, а также 1004, 1299, 1440, 1652, 1742 см$^{-1}$. При этом отмечались низкоинтенсивные пики в диапазоне от 900 до 3100 см$^{-1}$. Подобные спектральные характеристики не выявлялись при воспалительном или злокачественном процессе в глотке. При гиперпластическом и фиброзирующем процессе в тканях небных миндалин при хроническом тонзиллите визуализировались линии КРС 1050, 1150, 1510, 2950 см$^{-1}$, которых не отмечалось при плоскоклеточной p16-позитивной высокодифференцированной орофарингеальной карциноме, при которой, помимо описанных изменений, отсутствовал промежуточный подъем флюоресценции, а ряд пиков, характерных

для воспаления, в частности около 1050 см$^{-1}$, не регистрировался. Помимо анализа изменений в тканях, важное значение приобретает оценка изменений в биологических жидкостях пациентов с различными видами патологии. Так, при хроническом тонзиллите спектр крови имеет большое количество пиков низкой интенсивности и появление линий КРС в областях 500, 1000, 1200, 1250, 1400, 1500, 1600, 1650 и 1900 см$^{-1}$. При аденоидных вегетациях отмечались характерные линии КРС на величинах волновых чисел 749, 1003, 1155, 1336, 1450, 1518, 1657 и 2933 см$^{-1}$, плато в диапазоне 2000–2950 см$^{-1}$, которого не наблюдалось при хроническом тонзиллите и опухолевых заболеваниях глотки.

В ходе исследования была построена модель после проведения обработки спектров плоскоклеточной карциномы (ПК) носоглотки и лимфоидной ткани миндалин. При этом наиболее значимыми линиями КРС были следующие VIP (Variable Importance in Projection) -показатели модели PLS-DA: 500, 570, 1098, 1161, 1519, 2880 и 2931 см$^{-1}$. Дифференциация опухолевой ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный процесс, была связана с изменениями интенсивности линий комбинационного рассеяния света на величинах волновых чисел 500 и 570 см$^{-1}$, характеризующих преимущественно колебания дисульфидных связей [183] и компонентов коллагенового матрикса; при 1098 см$^{-1}$, обусловленной главным образом симметричными колебаниями фосфодиэфирных групп нуклеиновых кислот и фосфолипидов; при 1161 и 1519 см$^{-1}$, относимых к колебаниям полиеновой цепи каротиноидов [209], а также при 2880 и 2931 см$^{-1}$, отражающих соответственно, преимущественно липидный и белково-липидный компоненты ткани. Чувствительность метода составила 86,3%, специфичность – 87,8%, а точность – 87,6%, при этом 95% доверительный интервал по Пуассону составил 77,3–92,3% для чувствительности и 85,0–90,1% для специфичности.

Помимо этого, была проведена дифференциация плоскоклеточной карциномы носоглотки и интактной ткани, окружающей опухоль, взятой у тех же пациентов. В данном случае чувствительность составила 94,50%, специфичность – 100,00%, а точность – 97,25%, 95% доверительный интервал по Пуассону составил 88,02–97,98% для чувствительности и 96,62–100,00% для специфичности.

Спектральная кривая при аденоидных вегетациях характеризуется большим количеством линий КРС, однако отмечается выраженный флюоресцентный фон, который является сложным в интерпретации, соответственно, флюоресцентная составляющая должна быть проанализирована отдельно для тканей, который обладают сильным сигналом флюоресценции. На данном этапе исследований была построена модель после проведения обработки спектров ПК ротоглотки и тканей ротоглотки при хроническом тонзиллите компенсированной и декомпенсированной формы. Наиболее значимыми информативными линиями КРС при дифференциации хронического тонзиллита компенсированной формы и плоскоклеточной карциномы небных миндалин были 573, 1094, 1162, 1520 и 2932 $см^{-1}$. Данный этап исследований подтверждает возможность разделения хронического воспалительного процесса и опухолевого процесса в глотке с использованием СКРСФ. При проведении дифференциации плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы наиболее информативными линиями КРС были 488, 1149, 1358, 1516, 1575, 1627, 2861 и 2931 $см^{-1}$. Результат построения модели выявил специфичность – 95,8%, чувствительность – 90%.

Разделение классов тканей при плоскоклеточной карциноме небных миндалин и интактной слизистой оболочке были проведены с чувствительностью и специфичностью 100%, причем нижние границы 95% доверительных интервалов по Пуассону составляли 98,64% для обоих показателей. Для хронического тонзиллита компенсированной формы в сравнении с интактной слизистой оболочкой чувствительность и специфичность также составляли 100%, а нижние границы 95% доверительных интервалов равнялись 99,04%. При сравнении плоскоклеточной карциномы небных миндалин с хроническим тонзиллитом компенсированной формы чувствительность составляла 100% с 95% доверительным интервалом 98,64–100%, а специфичность – 100% с 95% доверительным интервалом 99,04–100%. При дифференциации ПК небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы заявленная чувствительность модели составила 90,0%, специфичность – 95,8%. По модели

Пуассона 95% доверительный интервал чувствительности составил 85,6–93,5%, а специфичности – 93,3–97,6%. Полученные показатели подтверждают диагностическую значимость метода.

В ходе проведения исследований был разработан алгоритм расчета дифференциально-диагностических показателей при патологии ЛОР-органов, который включал в себя регистрацию спектров КРСФ в интактной точке; регистрацию спектров КРСФ в исследуемых точках тканей, вовлеченных в воспалительный, опухолевый или предопухолевый процесс; определение клинического диапазона применения СКРСФ при использовании различных длин волн с учетом преимуществ каждой из них; выделение наиболее значимых информативных линий КРС, которые позволяют проводить дифференциацию тканей в норме и при патологии; расчет диагностических показателей, включая вклад флюоресценции и КРС в общий сигнал относительно соответствующего показателя в интактной точке; автоматизированное сравнение полученных значений; формирование заключения путем автоматического расчета индексов в режиме реального времени. Выполнена разработка дифференциально-диагностических алгоритмов при патологии ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза, предусматривающих использование специальных индексов, информативных для проведения экспресс-диагностики [56-59]. Для подтверждения полученных спектральных данных применялся гистологический метод исследования. Для оценки вклада микробного фактора в спектральные характеристики был проведен отдельный этап исследований. Регистрировались спектры in vivo тканей, включая ткань небных миндалин при хроническом тонзиллите и плоскоклеточной карциноме небных миндалин, а также спектры отдельных возбудителей воспалительных заболеваний in vitro. Данные измерения проводились с целью расчета нормированных показателей флюоресценции и индексов аэробности и злокачественной трансформации, а также учета вклада флюоресцентной составляющей в общий сигнал флюоресценции. С целью оценки значимости флюоресцентного фона в общем сигнале спектра в серии экспериментов были установлены спектральные характеристики некоторых

микроорганизмов, колонизирующих слизистую оболочку ЛОР-органов. Было установлено, что каждый микроорганизмы характеризуются уникальными индексами и спектральными особенностями, которые являются важными при интерпретации спектров. Полученные данные представлены как в цифровом, так и в графическом виде. Разработанный алгоритм флюоресцентной диагностики в совокупности с анализом наиболее информативных индексов в сочетании с КРС позволяет оценить не только морфометрические, но и метаболические и физиологические свойства тканей в норме и при патологии ЛОР-органов.

Как было отмечено в ходе данного этапа исследований, при проведении лечения (консервативного или хирургического) интенсивность флюоресценции тканей значительно снизилась, индекс структурированности ткани восстановился, что говорит об эффективности проведенного лечения и значимости вклада флюоресценции в общий сигнал при регистрации спектров [59]. При воспалительном процессе изменяется структурированность ткани, интенсивность флюоресценции, визуализируются пики флюоресценции на величине волнового числа 6350/см, которые свидетельствует о выраженности микробной обсемененности на грамм ткани. Это отличает данные характеристики в интактной ткани. При декомпенсации патологического процесса при хроническом тонзиллите отмечаются не только деструктуризация ткани небных миндалин, но и нарушение кровотока и снижение оксигенации, а также интенсивно протекающий рубцовый процесс, склероз ткани и нарушение ее функции. В свою очередь, при плоскоклеточной карциноме небных миндалин также наблюдаются такие изменения в тканях глотки, как снижение ее однородности, изменение васкуляризации, неоангиогенез, что несомненно, влияет на интенсивность флюоресценции, НПФ, ИА и другие показатели флюоресцентного анализа.

Таким, образом, в ходе исследования установлено, что при интерпретации спектров следует учитывать не только состав тканей в норме и при патологии, но и качественный и количественный анализ микрофлоры, а также метаболические и физиологические изменения в ней. Повышение интенсивности флюоресценции может быть связано не только с наличием воспалительного процесса в тканях, но и

при злокачественной трансформации клеток в ткани. На следующем этапе исследований была продемонстрирована информативность применения СКРСФ в диагностике плоскоклеточной карциномы гортани.

В группе пациентов с низкодифференцированной ороговевающей плоскоклеточной карциномой гортани в спектральных кривых регистрировались пики КРС в областях 1250, 1400 и 1900 $см^{-1}$. У пациентов с плоскоклеточной неороговевающей карциномой гортани низкой степени дифференцировки в спектральной кривой определялись два максимума флюоресцентного сигнала: в области 1200 $см^{-1}$ с интенсивностью около 8500 относительных единиц и в области 2100 $см^{-1}$ с интенсивностью около 12000 относительных единиц. Пики КРС визуализировались в областях 1200 и 2900 $см^{-1}$. В группе пациентов с плоскоклеточной карциномой гортани и метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов основные пики КРС определялись на величинах волновых чисел 1100, 1500 и 2900 $см^{-1}$, а дополнительные пики – на 800, 900, 1000, 1250, 1400, 1600, 1700 и 2700 $см^{-1}$. Спектры, зарегистрированные у пациентов с ЛИН III, отличались меньшей интенсивностью основных пиков и более плавными переходами между отдельными участками спектральной кривой. Несмотря на выраженный генерализованный флюоресцентный фон, сохранялась возможность выделения пиков в областях 1100, 1500 и 2900 $см^{-1}$.

Дифференциация спектров ПК гортани и полипов гортани с использованием метода СКРСФ позволила выделить наиболее информативные линии КРС при злокачественном процессе: 723, 745, 782, 819, 846, 856, 859, 919, 930, 969, 993, 1002, 1033, 1062, 1133, 1171, 1212, 1218, 1231, 1253, 1277, 1296, 1316, 1338, 1364, 1381, 1418, 1442, 1460, 1496, 1527, 1546, 1582, 1666 $см^{-1}$. В свою очередь, при регистрации спектров с поверхности полипов гортани отмечались следующие линии КРС: 753, 833, 936, 1009, 1031, 1127, 1157, 1269, 1315, 1449 $см^{-1}$. При анализе спектров плоскоклеточной карциномы гортани были выявлены линии КРС: 723, 742, 782, 813, 846, 856, 859, 919, 930, 959, 993, 1002, 1033, 1062, 1083, 1095, 1133, 1171, 1218, 1231, 1239, 1276, 1306, 1316, 1337, 1364, 1398, 1418, 1439, 1449, 1460, 1496, 1537, 1546, 1568, 1603, 1633, 1666, 1699, 1733, 1753, 1778 $см^{-1}$, в свою очередь,

интактная слизистая оболочка гортани характеризовалась следующими VIP-полосами: 717, 766, 853, 874, 958, 1002, 1071, 1078, 1127, 1155, 1206, 1266, 1458, 1534 $см^{-1}$.

При сравнении ПК гортани и полипов гортани чувствительность и специфичность составили 100,0%; нижняя граница 95% доверительного интервала по Пуассону составила 97,5% для чувствительности и 97,2% для специфичности, а точность равнялась 100,0% с нижней границей 95% доверительного интервала 98,7%. Полученные результаты по диагностике полипов и плоскоклеточной карциномы гортани согласуются с данными зарубежных исследований, в частности, при диагностике рака гортани отмечались значения чувствительности от 88,0 до 95,2% и специфичности от 90,1 до 96,9% [245, 248, 249, 326]. Согласно одному из исследований, общие показатели чувствительности и специфичности составили 0,88 (95% доверительный интервал [ДИ] 0,86–0,90) и 0,91 (95% ДИ 0,88-0,93), соответственно [360].

Для диагностики рака носоглотки в опубликованном исследовании [250] чувствительность составляла 93,6%, специфичность – 92,6%, соответственно. Помимо этого, согласо результатам систематического обзора и метаанализа Chen и соавторов 2023 года [147], включившего 10 исследований, 16 групп данных, 877 пациентов и 5365 спектров КРС in vivo, из которых 1746 относились к раку, а 3619 – к интактной ткани, чувствительность волоконно-оптической спектроскопии КРС в отношении карцином головы и шеи составила 0,88, специфичность – 0,94, а площадь под ROC-кривой – 0,96 при 95% доверительном интервале 0,94–0,97.

На следующем этапе исследований был проведен анализ спектральных характеристик интактной слизистой оболочки среднего уха, а также слизистой оболочки среднего уха при хроническом среднем отите с формированием холестеатомы и без ее формирования в сравнении с адгезивным отитом, и гломусной опухолью среднего уха. При анализе спектров интактной слизистой оболочки среднего уха регистрировались следующие характерные линии КРС: 781, 1095, 1154, 1340, 1451, 1514, 1640, 2054, 2204, 2729, 2937 и 3070 $см^{-1}$, а также линии в областях 1050, 1150, 1500 и 2950 $см^{-1}$ и повторное увеличение интенсивности

флюоресценции в диапазоне 3000–3500 см⁻¹. Общая интенсивность флюоресцентного сигнала остается относительно низкой. При хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы в стадии ремиссии отмечается резкое повышение интенсивности флюоресценции, при этом в отличие от спектральной кривой интактной слизистой оболочки среднего уха, исследуемый спектр не содержал выраженных пиков в отдельных спектральных диапазонах. Выявленные особенности позволяют дифференцировать измененную ткань от интактной слизистой оболочки среднего уха. Наиболее выраженными линиями КРС были следующие: 550, 722, 836, 955, 1003, 1093, 1154, 1307, 1339, 1434, 1516, 1584, 1637, 1742, 2065, 2244, 2448, 2586, 2684, 2731, 2882, 2936 и 3065 см⁻¹. Спектры рубцово-измененной ткани барабанной полости при адгезивном отите, по сравнению с регистрируемыми при хроническом воспалительном процессе в среднем ухе в стадии ремиссии характеризовались первоначальным увеличением интенсивности флюоресценции с последующим постепенным ее снижением. Пики, характерные для интактной слизистой оболочки среднего уха, отсутствовали. Наиболее информативными линиями КРС были: 555, 742, 827, 933, 1113, 1150, 1206, 1308, 1340, 1353, 1435, 1465, 1518, 1662, 1688, 1752, 2844, 2864, 2880, 2894, 2911, 2938, 2987–2990 и 3067 см⁻¹. Спектральные кривые грануляционной ткани среднего уха и спектры рубцово-измененной ткани, сформировавшейся в результате длительно протекающего адгезивного процесса (более года) также различались. Так, спектры грануляционной ткани характеризовались более выраженным и резким снижением интенсивности флюоресценции, при этом наиболее характерными линиями КРС были следующие: 743, 827, 934, 1002, 1154, 1339, 1452, 1516, 1584, 1637, 1661, 1746, 1790, 1840, 2173, 2311, 2405, 2438, 2471, 2554, 2665, 2937, 3069 см⁻¹. Спектры рубцово-измененной ткани при адгезивном отите в сравнении с грануляционной тканью на ранней стадии имели свои уникальные особенности. Так, при адгезивном отите наиболее значимыми были линии КРС: 602 см⁻¹, 743 см⁻¹, 828 см⁻¹, 934 см⁻¹, 1026 см⁻¹, 1096 см⁻¹, 1206 см⁻¹. При анализе спектров ранней грануляционной ткани среднего уха наиболее выдающимися являлись следующие линии КРС: 1153 см⁻¹ 1517 см⁻¹ 2881 см⁻¹ 2911

см⁻¹ 2938 см⁻¹ 2974 см⁻¹ 3068 см⁻¹. Наиболее выраженными различиями по величине вклада можно считать следующие величины волновых чисел: 1096 см⁻¹, 1517 см⁻¹, 2938 см⁻¹ (более выражена при грануляциях), 1026 см⁻¹ (более выражена на поздней стадии адгезивного отита), 602 см⁻¹ (более выражена на поздней стадии адгезивного отита).

Что касается холестеатомы среднего уха, то по сравнению с ранее описанными изменениями, данные спектры характеризовались значительно более высокой интенсивностью флюоресцентного сигнала, превышающей 70000 относительных единиц. Были выделены следующие линии КРС: 833, 932, 1026, 1207, 1467, 1889, 1977, 2566, 2708 и 2846 см⁻¹. Из них наиболее информативными были: 833, 932, 1026, 1207, 1467 и 2846 см⁻¹, при этом линии КРС 932, 1889 и 2566 см⁻¹ обнаруживались в 100% случаев, 1026 и 1977 см⁻¹ – в 98% случаев. Характерными спектральными признаками гломусной опухоли среднего уха были такие изменения как: первоначальное увеличение интенсивности флюоресценции приблизительно до 9000 относительных единиц, после чего ее резкое снижение. В диапазонах около 1050 1150 и 1500 см⁻¹ регистрировались пики низкой амплитуды. Пик в области 2950 см⁻¹ имел сглаженный характер и утратил типичную трапециевидную конфигурацию. Наиболее устойчивые линии КРС при этом 832, 933, 1354, 1888 и 2705 см⁻¹. Сравнительный анализ спектров интактной слизистой оболочки среднего уха, слизистой оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы и при формировании холестеатомы показал, что наиболее информативными линиями КРС интактной слизистой оболочки среднего уха были: 781, 1095, 1154, 1340, 1451, 1514, 1640, 2054, 2204, 2729, 2937, 3070 см⁻¹, холестеатомы: 833, 932, 1026, 1207, 1467, 1889, 1977, 2566, 2708, 2846 см⁻¹, хронического отита без холестеатомы: 550, 722, 836, 955, 1003, 1093, 1154, 1307, 1339, 1434, 1516, 1584, 1637, 1742, 2065, 2244, 2448, 2586, 2684, 2731, 2882, 2936, 3065 см⁻¹. При этом наиболее значимыми для проведения дифференциальной диагностики были VIP-полосы: 1319, 1353, 1468, 1851, 2522, 2548, 2624, 2658, 2694, 2741, 2793, 2824, 2891 и 3067 см⁻¹.

При сопоставлении спектральных характеристик тканей при хроническом

среднем отите с развитием холестеатомы, адгезивном отите, гломусной опухоли среднего уха и интактной слизистой оболочки среднего уха было продемонстрировало, что наиболее выраженные различия между ними локализуются в областях 1300–1460 $см^{-1}$, 1760 $см^{-1}$ и в высокочастотной области 2590–2940 $см^{-1}$. PLS-DA-анализ позволил определить VIP-полосы, наиболее значимые для различения классов: 581, 1301, 1353, 1764, 2326, 2599, 2627, 2660, 2765, 2871, 2907 и 2937 $см^{-1}$. Среди них особенно информативными были области 1301–1353 $см^{-1}$ и 2871–2937 $см^{-1}$. Полученные результаты позволяют утверждать, что метод комбинационного рассеяния света позволяет дифференцировать интактную слизистую оболочку среднего уха, гломусную опухоль среднего уха и холестеатому по комплексу спектральных признаков.

Анализ спектральных характеристик тканей при заболеваниях среднего уха показал, что при сравнении адгезивного отита с хроническим средним отитом с формированием холестеатомы чувствительность составила 95,42% при 95% доверительном интервале- 90,03–98,32%, а специфичность – 99,27%, при 95% доверительном интервале 95,93–99,98%. При сравнении адгезивного отита с хроническим средним отитом без формирования холестеатомы чувствительность составила 94,66%, при 95% доверительном интервале – 88,99–97,85%, а специфичность – 98,45%, при 95% интервале – 94,40–99,81%. Для разграничения хронического среднего отита с холестеатомой и без нее чувствительность составила 97,08% (92,52–99,20%), а специфичность – 99,22% (95,68–99,98%). Приведенные результаты соответствуют данным опубликованных работ по спектроскопии среднего уха [258, 280]. Так, в исследовании Pandey и соавторов, спектроскопия КРС при холестеатоме и миринготсклерозе продемонстрировала чувствительность 95,48% и специфичность 99,06%, а в исследовании Mahdjoub и соавторов 2026 года аутофлуоресцентная спектроскопия холестеатомы среднего уха при возбуждении 405 нм проедмонстрировала чувствительность 94,7%, специфичность 94,2% и точность 94,5%. Эти данные подтверждают информативность применения данного метода для дифференциации морфологических и биохимических парметров при различных заболеваниях

среднего уха. Итоговые показатели чувствительности и специфичности для основных дифференциально-диагностических задач, рассчитанные по данным представленных материалов с указанием 95% доверительных интервалов по модели Пуассона, приведены в таблице Б.4 приложения Б. На следующем этапе исследований была проведена оценка применения метода СКРСФ в диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний головы и шеи. Данное обоснование приведено в соответствии с соблюдением междисциплинарного подхода в оториноларингологии. Таким образом, в ходе проведенного исследования был разработан метод ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа, носоглотки и околоносовых пазух, гортани, глотки, уха с использованием спектрально-метаболомного анализа. Был оценен вклад КРС и флюоресценции в проведение экспресс-диагностики патологии ЛОР-органов. Как было продемонстрировано в ходе исследования, применение эффекта комбинационного рассеяния света позволяет оценить метаболические характеристики тканей в норме и при патологии, при этом определив биомаркеры заболевания на ранней его стадии. Анализ флюоресцентного сигнала позволяет оценить вклад микробной составляющей, а также описать физиологические процессы, происходящие в тканях: состояние микроциркуляции, уровень оксигенации, развитие неоангиогенеза и др. Совместное использование двух физических феноменов позволяет получить наиболее полную информацию о биологическом объекте и оценить в динамике изменения, происходящие в нем. Таким образом, их взаимодополняющее действие повышает диагностическую информативность метода при проведении ранней экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов. Помимо этого, предлагаемый подход позволяет проанализировать спектрально-метаболомные характеристик тканей в норме, при воспалительном и опухолевом процессе, что способствует определению биокомпонентов тканей на стадии инициации патологического процесса. Разработанный метод обеспечивает дифференциацию интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс при заболеваниях полости носа, носоглотки

и околоносовых пазух, глотки, гортани и уха с высокими показателями точности, скорости, чувствительности и специфичности, равными или близкими к 100%. Метод многоволновой ранней неинвазивной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа, носоглотки и околоносовых пазух, гортани, глотки, уха с использованием СКРСФ может применяться как в условиях ex vivo, так и in vivo, позволяя регистрировать морфометрические, метаболические и физиологические изменения в тканях, имеющих специфический характер как в отношении интактного состояния тканей, так и в отношении упомянутой выше патологии. При использовании алгоритмов диагностики, разработанных в ходе настоящего исследования, метод в перспективе может быть применен не только для проведения экспресс- дифференциальной диагностики воспалительных, опухолевых и предопухолевых заболеваний, но и в качестве оптической «экспресс-биопсии», а также скринингового инструмента для раннего выявления воспалительной и опухолевой нозологии, определения стадии заболевания, профилактики рецидивов, мониторинга эффективности лечения и своевременной коррекции тактики лечения на различных этапах развития патологического процесса. При реализации разработанного метода в аппаратно-программном комплексе многоволновой диагностики представляется возможными анализировать спектрально-метаболомные характеристики тканей как под микроскопом со встроенным спектроскопом ex vivo, так и с использованием оптоволоконного световода и специализированного программного обеспечения для расчета и регистрации диагностических критериев и индексов в режиме реального времени. Результатом проведенных исследований стали разработки, описанные в 4 патентах Российской Федерации: № 2716593 (опубликовано 13.03.2020, бюллетень № 8 «Способ экспресс-диагностики воспалительных заболеваний глотки с использованием флюоресцентной спектрометрии и специального алгоритма для оценки морфометрических, метаболических, функциональных изменений тканей в динамике», № 2726062 (опубликовано 08.07.2020, бюллетень № 19 «Способ дифференциальной и ранней диагностики заболеваний ЛОР-органов воспалительной и опухолевой этиологии с

использованием раман-флюоресцентной спектрометрии»), № 2723139 (опубликовано 09.06.2020, бюллетень № 16. «Способ дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита с использованием раман-флюоресцентной спектроскопии», № 2862795 (опубликовано 26.05.2026, бюллетень № 15. «Способ ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики полипозного риносинусита с использованием комбинационного рассеяния света») (приложение В). Несмотря на полученные высокие уровни чувствительности и специфичности метода СКРСФ, имеются сложности в его использовании в современной медицине.

Ограничения исследования и направления дальнейшей работы. Для формирования устойчивых референсных значений в норме требуется увеличение объемов выборок и включение независимых групп наблюдений с регистрацией биохимических и морфологических параметров тканей. Необходимы стандартизация преданалитического этапа, характеристик возбуждения и регистрации сигнала, способов коррекции флюоресцентного фона, математической обработки данных и критериев построения классификационных моделей, а также разработка индексов, позволяющих оценивать параметры флюоресценции в автоматическом режиме. При использовании большого числа спектров от ограниченного числа пациентов принципиально важно выполнять разделение обучающей и тестовой выборок на уровне пациента. Внешняя независимая валидация, проспективное исследование, подготовка специалистов и адаптация оборудования для эндоскопического и интраоперационного применения являются необходимыми условиями дальнейшего внедрения метода в клиническую практику. Помимо этого, необходимо расширить объем выборки исследования на различных стадиях патологического процесса для разработки специальных алгоритмов диагностики стадий злокачественного процесса, что потенциально возможно с использованием метода СКРСФ.

Результаты работы подтверждают, что многоволновая спектроскопия комбинационного рассеяния света и флюоресценции позволяет регистрировать специфические молекулярные, метаболические, морфометрические и

функциональные изменения тканей при воспалительных, предопухолевых и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов. Комбинация нескольких длин волн, спектрально-метаболомного анализа и алгоритмов машинного обучения расширяет возможности разграничения интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс и обеспечивает получение наиболее полной информации о биологическом объекте.

Полученные данные позволяют рассматривать разработанный подход как основу для дальнейшего совершенствования алгоритмов ранней экспресс-диагностики патологии ЛОР-органов. В перспективе метод может применяться для скрининга, оптической навигации, оценки границ резекции, выбора наиболее предпочтительного для забора материала на биопсию участка ткани, мониторинга лечения и поддержки принятия врачебных решений. При этом морфологическая верификация является важным звеном в проведении качественной диагностики, а разработанная методика относится к высокоинформативному вспомогательному инструменту в клинической практике врача до завершения внешней клинической валидации и создания «Базы спектров» в норме и при патологии ЛОР-органов.

Таким образом, применение оптических технологий для диагностики воспалительных и опухолевых процессов ЛОР-органов представляет значительный интерес для врачей и ученых. Исследование информативности и эффективности сочетанного использования спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции как высокочувствительного и высокоспецифичного метода ранней экспресс-диагностики, позволяющего регистрировать изменения воспалительного, опухолевого и предопухолевого генеза и дифференцировать их от интактной области, создает предпосылки для дальнейших разработок в данной области, в том числе, для определения эффективности проводимого лечения, стадии патологического процесса, изменений, происходящих в тканях в режиме реального времени, осуществления мониторинга при проведении терапии и развития омикс-технологий [161] и фототераностики с целью повышения качества организации медицинской помощи.

ВЫВОДЫ

1. Обоснование использования СКРСФ (спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции) в ранней неинвазивной идентификации воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов и последующая разработка соответствующих алгоритмов их экспресс-диагностики позволили продемонстрировать высокий уровень его информативности в клинической практике.

2. Апробация метода спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции при проведении дифференциальной экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов in vivo и ex vivo продемонстрировала наибольшую информативность ее проведения при отсутствии дополнительной пробоподготовки.

3. Определен диапазон клинического применения метода спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ) и проиллюстрирована возможность его использования в диагностике заболеваний ЛОР-органов воспалительного и опухолевого генеза.

4. Разработанные диагностические критерии и показатели экспресс-идентификации заболеваний ЛОР-органов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции продемонстрировали информативность при дифференциации интактной ткани и ткани, вовлеченной в воспалительный и опухолевый процесс при данной патологии.

5. Предложенные спектральные критерии и показатели проведения ранней дифференциальной неинвазивной экспресс-диагностики патологии воспалительной и опухолевой этиологии полости носа, околоносовых пазух, глотки, гортани и уха, а также некоторых других заболеваний головы и шеи, продемонстрировали уровень чувствительности в диапазоне 86,3-100%, специфичности – 87,8-100% в зависимости от сравниваемых нозологических групп.

6. Разработанный метод ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с

использованием спектрально-метаболомного анализа позволил определить наиболее информативные линии КРС для дифференциации патологии полости носа, околоносовых пазух, глотки, гортани и уха.

7. Разработанные алгоритмы экспресс-диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний полости носа и околоносовых пазух, глотки, гортани, уха с использованием СКРСФ ex vivo и in vivo позволили продемонстрировать возможность использования метода в качестве оптической биопсии и проведения скрининга при патологии ЛОР-органов.

8. Обоснована информативность метода многоволнового экспресс-анализа воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов (органов головы и шеи) с использованием СКРСФ, что позволило определить дальнейшие перспективы разработки ранней неинвазивной их диагностики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Метод спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ) в совокупности с метаболомным анализом рекомендуется использовать в ранней неинвазивной экспресс-диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов, так как имеет высокие уровни чувствительности, специфичности и точности при высокой скорости и отсутствии специальной пробоподготовки.

2. СКРСФ является информативной и рекомендуется к применению в качестве дополнительного метода неинвазивной дифференциальной экспресс-диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований ЛОР-органов, а также воспалительных заболеваний уха, глотки, гортани, полости носа и околоносовых пазух, так как позволяет выделить наиболее значимые биомаркеры заболеваний на стадии их инициации.

3. Для получения наиболее полной информации о процессах, происходящих в тканях, рекомендуется использовать многоволновую диагностику с использованием СКРСФ, так как каждая длина волны позволяет проанализировать определенный этап при проведении диагностики за счет свойств лазерного излучения при взаимодействии с биологической тканью.

4. СКРСФ позволяет проводить экспресс-диагностику in vivo и ex vivo и в перспективе рекомендуется в качестве оптической экспресс-биопсии и скринингового метода при патологии ЛОР-органов.

5. Разработка и внедрение в клиническую оториноларингологическую практику метода СКРСФ позволяет повысить качество диагностики, своевременно направить пациента на рациональное лечение и повысить эффективность лечения, соответственно, рекомендуется к применению в качестве дополнительного метода диагностики.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-АЛА – 5-аминолевулиновая кислота

АДФ (ADP) – аденозиндифосфат (Adenosine Diphosphate)

АКК – аденокистозная карцинома

БКК – базальноклеточная карцинома кожи

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГАГ – гликозаминогликаны

ДНК (DNA) – дезоксирибонуклеиновая кислота (Deoxyribonucleic Acid)

РНК – рибонуклеиновая кислота (RNA, Ribonucleic Acid).

ИА – индекс аэробности

ИИ – искусственный интеллект

ИК-Фурье спектроскопия (FT-IR) – Fourier-Transform Infrared spectroscopy, инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье

ИФ – интенсивность флюоресценции

НПФ – нормированный показатель флюоресценции

КРС – комбинационное рассеяние света

КРСФ – комбинационное рассеяние света и флюоресценция

КТ – компьютерная томография

ЛИН – ларингеальная интраэпителиальная неоплазия

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОЕ – относительные единицы

ОКТ – оптическая когерентная томография

ОСЖ – опухоли слюнных желез

ПА – плеоморфная аденома

ПК – плоскоклеточная карцинома

ПКК – плоскоклеточная карцинома кожи

ПКРГШ – плоскоклеточный рак головы и шеи

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ПР – полипозный риносинусит

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СКРС – спектроскопия комбинационного рассеяния света

СКРСФ – спектроскопия комбинационного рассеяния света и флюоресценции

СРГ – Stimulated Raman Histology, SRH- стимулированная рамановская гистология

ХГСО – хронический гнойный средний отит

ХР – хронический риносинусит

ХСО – хронический средний отит без формирования холестеатомы

ХСО ХС – хронический средний отит с формированием холестеатомы

ХТ ДФ – хронический тонзиллит, декомпенсированная форма

ХТ КФ – хронический тонзиллит, компенсированная форма

1D CNN: One-Dimensional Convolutional Neural Network – Одномерная сверточная нейронная сеть.

αVβ6 – обозначение субъединиц белка интегрина

ATR-FTIR – Attenuated Total Reflection Fourier-Transform Infrared spectroscopy-инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье в режиме нарушенного полного внутреннего отражения

AUC – area under curve, площадь под ROC-кривой

EGFR (epidermal growth factor receptor) – рецептор эпидермального фактора роста EPOS – European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps

FFPE – Formalin-Fixed Paraffin-Embedded – метод фиксации в формалине и заключение в парафин

FN – False Negative – ложноотрицательный результат

FP – False Positive – ложноположительный результат

FP/HW – fingerprint («отпечаток пальца») и high-wavenumber («высокое волновое число»).

Label-free multimodal NLO (nonlinear optical) – microscopy – безмаркерные многомодальные нелинейные оптические микроскопические платформы

LC-MS/MS – жидкостная хроматография в сочетании с тандемной масс-

спектрометрией

LC (Liquid Chromatography) – жидкостная хроматография

LSIN III – Laryngeal Squamous Intraepithelial Neoplasia, grade III- ларингеальная плоскоклеточная интраэпителиальная неоплазия III степени

MALDI-FT-ICR-MS – Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry- матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация и масс-спектрометрия ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье

MIF – Macrophage Migration Inhibitory Factor – фактор ингибирования миграции макрофагов

MS/MS (Tandem Mass Spectrometry) – тандемная масс-спектрометрия.

NBI – Narrow Band Imaging -узкоспектральная визуализация

NIR – near-infrared, ближний инфракрасный диапазон

OPLS-DA – Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis- дискриминантный анализ с использованием ортогональных проекций на латентные структуры

PARP1 – поли(АДФ-рибоза)-полимераза 1 (Poly (ADP-ribose) Polymerase 1

PCA-LDA – PCA (метод главных компонент) и LDA (линейный дискриминантный анализ)

PD-1/PD-L1 – PD-L1 – Programmed cell death-ligand 1 – лиганд белка программируемой клеточной смерти

PD-L1/PD-1 – Programmed cell death-ligand 1 – лиганд белка программируемой клеточной смерти/ PD1-programmed cell death protein 1-рецептор программируемой клеточной смерти

PLS-DA – метод наименьших квадратов с проведением дискриминантного анализа Random Forest, RF – алгоритма случайного леса

ROC-кривая – Receiver Operating Characteristic (рабочая характеристика приемника).

SERDS – Shifted Excitation Raman Difference Spectroscopy – спектроскопия комбинационного рассеяния с измененной частотой возбуждения

SERS – Surface-Enhanced Raman Spectroscopy – поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия (ПУРС)

SRH / SRS-гистология – Stimulated Raman Histology – интраоперационная стимулированная рамановская гистология

TGF-β (трансформирующий фактор роста бета) (Transforming Growth Factor beta)

TN – True Negative – истинно отрицательный результат

TP – True Positive – истинно положительный результат

TPR – true positive rate, доля правильно классифицированных наблюдений

uPAR – рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (Urokinase Plasminogen Activator Receptor).

VIP – Variable Importance in Projection- важность переменной в проекции

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров, М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия: теория, эксперимент, практика / М. Т. Александров. – Москва: Техносфера, 2008. – 584 с.

2. Андрюков, Б.Г. Рамановская спектроскопия – современная диагностическая технология для изучения и индикации возбудителей инфекций (обзор) / Б.Г. Андрюков, А.А. Карпенко, Е.В. Матосова, И.Н. Ляпун // Современные технологии в медицине. – 2019. – 11 (4): 161–174. – DOI: 10.17691/stm2019.11.4.19.

3. Антонив, В.Ф. Ионизирующая радиация и рак гортани / В.Ф. Антонив, В.И. Попадюк, Т.В. Антонив // Вестник оториноларингологии. – 2017. – Т. 82. – № 2. – С. 19–23. – DOI: 10.17116/otorino201782219-23.

4. Бабкина, А.С. Лазер-индуцированная флуоресцентная спектроскопия в диагностике тканевой гипоксии (обзор) / А.С. Бабкина // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15. – № 6. – С. 50–61. – DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-50-61.

5. Базальноклеточный рак кожи: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчики: Ассоциация онкологов России; Ассоциация специалистов по проблемам меланомы; Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; Общероссийская общественная организация «Ассоциация врачей-офтальмологов». – 2024. – 78 с. – ID 467. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/467_3 (дата обращения: 16.09.2026).

6. Бесчастнов, В.В. Современные методы оценки кислородного статуса и состояния микроциркуляции биотканей: оптическая диффузионная спектроскопия (обзор) / В.В. Бесчастнов, М.Г. Рябков, И.В. Павленко [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 4. – № 10. – С. 183–194. – DOI: 10.17691/stm2018.10.4.22.

7. Васильев, В.И. Дифференциальная диагностика ревматических и онкогематологических заболеваний, поражающих полость и придаточные пазухи носа / В.И. Васильев, Е.В. Сокол, С.Х. Седышев, В.Р. Городецкий, Е.Н. Александрова, О.А. Логвиненко, С.Г. Пальшина, Е.Б. Родионова,

С.Г. Раденска-Лоповок, Н.А. Пробатова, Н.В. Кокосадзе, А.И. Павловская, А.М. Ковригина, Е.Ю. Варламова, Т.Н. Сафонова, А.Б. Боровская, И.В. Гайдук, / О.В. Мухортова, И.П. Асланиди, Е.Л. Насонов // Терапевтический архив. – 2014. – Т. 86. – № 5. – С. 62–72.

8. Волков, А.Г. и соавт. Кисты лобных пазух / А.Г. Волков // Российская ринология. – 2013. – № 3. – С. 24 – 28.

9. Володина, В.Д. Эффективность МРТ и МСКТ в определении глубины инвазии плоскоклеточной карциномы языка / В.Д. Володина, Н.С. Серова, И.В. Решетов, О.А. Какорина // Медицинская визуализация. – 2026. – Т. 30. – № 1. – С. 10–19.

10. Гипертрофия аденоидов. Гипертрофия небных миндалин: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчик: Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. – 2024. – 27 с. – ID 662. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/662_2 (дата обращения: 16.09.2026).

11. Гордиенко, В.П. Эпидемиологические особенности рака гортани в Дальневосточном федеральном округе / В.П. Гордиенко, К.В. Янушевский, Д.Т. Екония // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2021. – С. 79.

12. Гунько, В.И. Повышение эффективности диагностики и лечения больных с гнойно-воспалительными заболеваниями на основе применения лазерно-флюоресцентной диагностики / В.И. Гунько, С.Н. Попов, М.Т. Александров [и др.] // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2012. – № 1. – С. 93–97.

13. Дайхес, Н.А. Возможности флуоресцентной спектроскопии в диагностике опухолей ЛОР-органов / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, И.А. Ким, С.С. Решульский, В.Ф. Прикулс, О.В. Карнеева, А.М. Хабазова, Д.В. Прикуле // Опухоли головы и шеи. – 2021. № 1 (11).

14. Дайхес, Н.А. Случай ранней диагностики рака голосовой складки у пациента с односторонним парезом гортани / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, С.С. Решульский, Е.Б. Федорова, М.Л. Исаева, Р.Р. Хабиев, К.В. Мищенко,

С.М. Кочиева // РО. – 2025. № 3 (136).

15. Дайхес, Н.А. Современные методы ранней диагностики опухолей гортани и глотки / Н.А. Дайхес, В.В. Виноградов, И.А. Ким, О.В. Карнеева, С.С. Решульский, А. М. Хабазова // Вестник оториноларингологии. – 2021. – Т. 86. – № 3. – С. 46–51. – DOI: 10.17116/otorino20218603146.

16. Дворников, А.С. Проблема хронического тонзиллита как приоритетное направление научных исследований кафедры оториноларингологии имени акад. Б.С. Преображенского / А.С. Дворников, А. И. Крюков, А. В. Гуров, А. Г. Ермолаев, А. А. Келеметов // Вестник оториноларингологии. – 2022. – Т. 87. – № 5. – С. 4–11. (In Russ.) – DOI: 10.17116/otorino2022870514.

17. Дворянчиков, В.В. Применение современных технологий в диагностике, выборе объема хирургического лечения и послеоперационного мониторинга у пациентов с предраковыми и злокачественными новообразованиями гортани / В.В. Дворянчиков, Б.В. Куц, В.С. Ушаков, Ю.Н. Припорова, Т.Л. Лисовская, А.Д. Морозов // Российская оториноларингология. – 2022. – Т. 21. – № 3. – С. 47–52. – DOI: 10.18692/1810-4800-2022-3-47-52.

18. Демяшкин, Г.А. Иммунофенотипические особенности назофарингеальной карциномы / Г.А. Демяшкин, И.В. Кастыро, А.В. Сидорин, Я. С. Борисов // Вестник оториноларингологии. – 2018. – Т. 83. – № 5. – С. 40–44. – DOI: 10.17116/otorino20188305140.

19. Дуванский, В.А. Методическое обеспечение эндоскопических исследований / В. А. Дуванский // Клиническая эндоскопия. – 2023. – Т. 63. – № 2. – С. 5–5. – DOI: 10.31146/2415-7813-endo-63-2-5-5.

20. Жуйкова, Л. Д. Заболеваемость раком различных локализаций у молодых мужчин и женщин (20–44 года) в Сибирском федеральном округе / Л.Д. Жуйкова, Е.Л. Чойнзонов, А.Д. Каприн, А.О. Шахзадова, О.А. Ананина, Г.А. Кононова, Л. В. Пикалова, М.Ю. Грищенко, Е.В. Денисов // Сибирский онкологический журнал. – 2025. – Т. 24. – № 2. – С. 5–15. – DOI: 10.21294/1814-4861-2025-24-2-5-15.

21. Заридзе, Д.Г. Динамика заболеваемости злокачественными новообразованиями и смертности от них в России. Статистика / Д.Г. Заридзе, А.Д.

Каприн, И.С. Стилиди // Вопросы онкологии. – Т.64. – № 5. – 2018. – DOI: 10.37469/0507-3758-2018-64-5-578-591.

22. Капитанов, Д.Н. Эндоскопическая эндоназальная диагностика и лечение менингоэнцефалоцеле основания черепа / Д.Н. Капитанов, Е.В. Шелеско, А.А. Потапов, А.Д. Кравчук, Д.Н. Зинкевич, М.В. Нерсесян, Л.А. Сатанин, А.В. Сахаров, Г.В. Данилов // Вопросы нейрохирургии. – 2017. – Т. 81. – № 2. – С. 38–47.

23. Каприн, А.Д. (ред.) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова // Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2025. − илл. – 275 с.

24. Карпищенко, С.А. Интеграция подходов к изучению микробиоты при хроническом риносинусите: путь к этиологической терапии. Head and neck. Голова и шея / С.А. Карпищенко, В.В. Тец, К.М. Кардава, Д. Л. Панкратов, А. П. Никитина, О.М. Колесникова, О.А. Станчева, Л.Л. Ядыкова, Д.Р. Хуснутдинова, В.Н. Зайчикова // Head and Neck. – 2026. – Т. 14. – № 1. – С. 167–178. DOI: – DOI: 10.25792/HN.2026.14.1.167-178.

25. Карпищенко, С.А. Клинико-лучевая характеристика разных клинических форм хронического полипозного риносинусита / С.А. Карпищенко, А.А. Зубарева, М.А. Шавгулидзе // РО. – 2013. № 5 (66).

26. Карпищенко, С.А. Роль конусно-лучевой компьютерной томографии в диагностике ЛОР-заболеваний в детском возрасте / С.А. Карпищенко, С.И. Алексеенко, О.М. Колесникова // Педиатрия. Consilium Medicum. – 2016. № 4.

27. Кастыро, И.В. Методология анализа видеоларингостробоскопии / И.В. Кастыро, В.А. Самсонов, В.И. Попадюк, А.Н. Коваленко // Head and neck. Голова и шея. – 2025. – Т. 13. – № 4. – С. 104–109 – DOI: 10.25792/HN.2025.13.4.104-109.

28. Ким, И.А. Полипозный риносинусит. Современные подходы к диагностике и лечению / И. А. Ким. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. – 56 с.

29. Кириченко, И.М. Острый риносинусит у детей в амбулаторной практике: возможности рациональной терапии и профилактики осложнений / И.М. Кириченко, В.И. Попадюк, Н.С. Козлова, А.И. Чернолев // Медицинский

Совет. –2024. – (19):69-76.

30. Клименко К.Э., Русецкий Ю.Ю., Захаров В.С. Малигнизация синоназальной инвертированной папилломы Вестник оториноларингологии. – 2025. – Т. 90. № 2. С. 83–87.

31. Князев, М.В. Возможности аутофлуоресцентной диагностики эпителиальных образований толстой кишки / М.В. Князев, В.А. Дуванский, А.В. Белков // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – Т. 4. – № 164. – С. 21–26. – DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-21-26.

32. Кодекс этики применения искусственного интеллекта в сфере охраны здоровья: утвержден протоколом заочного голосования Межведомственной рабочей группы при Министерстве здравоохранения Российской Федерации по вопросам создания, развития и внедрения в клиническую практику медицинских изделий и сервисов с использованием технологий искусственного интеллекта от 14 февраля 2025 г. № 90/18–0/117.

33. Краевой, С.А. Книга 11. Флуоресцентные методы в медицине / С.А. Краевой, Н.А. Колтовой. – Москва: 2017. – 322 с. (Биофизика и спектральные методы диагностики).

34. Кривопалов, А.А. Информативность разных методов диагностического обследования при инвертированной папилломе полости носа и околоносовых пазух / А.А. Кривопалов, К.И. Сапова, С.С. Гайдуков, А.Н. Науменко // Российская ринология. – 2024. – Т. 32. – № 4. – С. 269–274.

35. Кропотов, М.А. Рак ротоглотки: аспекты хирургического лечения / М.А. Кропотов, А.В. Епихина, Д.К. Удинцов, К.Д. Илькаев // Вестник оториноларингологии. – 2013. – Т. 78. – № 6. – С. 13–17.

36. Крюков, А.И. Распространенность и структура заболеваний носа и околоносовых пазух среди взрослого населения мегаполиса / А.И. Крюков, Г.Ю. Царапкин, С.Г. Романенко, А.С. Товмасян, С.А. Панасов // Российская ринология. – 2017. – Т. 25. – № 1. – С. 3–6.

37. Крюков, А. И. Проблемы терапии острого гнойного риносинусита / А.И. Крюков, Н.Л. Кунельская, А.В. Гуров [и др.] // Медицинский Совет. — 2015. — №

17. — С. 20–23. — DOI: 10.21518/2079-701X-2015-17-20-23.

38. Кукушкин, В.И. Стимулирование неупругого рассеяния света в плазмонных структурах с гигантским усилением рамановского сигнала / В.И. Кукушкин, В.Е. Кирпичев, Е.Н. Морозова, А.С. Астраханцева, В.В. Соловьев, И. В. Кукушкин // Письма в ЖЭТФ. – 2022. – 116:4, 211–216.

39. Курбачева, О.М. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии / О.М. Курбачева, К.С. Павлова // Российский аллергологический журнал. – 2003. – (1): 15–24.

40. Лазарева, А.М. Иммунологические особенности различных фенотипов хронического риносинусита / А.М. Лазарева, О.В. Смирнова // Медицинская иммунология. – 2025. – Т. 27 (2). – С. 275–286.

41. Ландсберг, Г.С. Новое явление при рассеянии света (предварительное сообщение) / Г.С. Ландсберг, Л.И. Мандельштам // Журнал Русского физико-химического общества. Часть физическая. – 1928. –Т. 60, вып. 4. С. 335.

42. Линденбратен, А.Л. Качество организации медицинской помощи и критерии для его оценки. Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н.А. Семашко/ А. Л. Линденбратен // 2013. – № 2. – С. 20-23.

43. Лопатин, А.С. Острый и хронический риносинусит: новые теории и прежние вопросы / А.С. Лопатин, О.А. Иванченко // МС. – 2011. – № 9–10. С. 54–59.

44. Лысцев, Д.В. Значение раман-люминесцентной спектроскопии для скрининга и дифференциальной диагностики заболеваний матки / Д. В. Лысцев, В. М. Зуев, В. И. Кукушкин [и др.] // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25. – № 3S. – С. 66–67. – DOI: 10.37895/2071-8004-2021-25-3S-66-67.

45. Макматов-Рысь, М.Б. Пилотное исследование применения лазерной флюоресцентной спектроскопии и оптической тканевой оксиме-трии в диагностике и оценке течения рубцовых поражений кожи / М.Б. Макматов-Рысь, Ю.В. Чурсинова, Д.А. Куликов [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – 19 (4): 506–513. – DOI: 10.17116/klinderma202019041506.

46. Мареев, Г.О. Опыт калибровки бесконтактного лазерного допплеровского флоуметра / Г.О. Мареев, О.В. Мареев, С.В. Капралов, Г.А. Клименко, Т.Ю. Калюта // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2025. – Т. 21. – № 3. – С. 249–253. EDN: KFXAUS. – DOI: 10.15275/ssmj2103249.

47. Мареев, Г.О. Спектры автофлюоресценции макропрепарата плоскоклеточного неороговевающего рака гортани в соответствии с гистологическим исследованием / Г.О. Мареев, О.В. Мареев, О.И. Афонина // Здоровье и образование в XXI веке. – 2022. – № 5.

48. Мерабишвили, В. М. Распространенность и выживаемость больных со злокачественными новообразованиями носоглотки (С11) (клинико-популяционное исследование) / В.М. Мерабишвили, З.А-Г. Раджабова, А.Б. Васильев [и др.] // Опухоли головы и шеи. – 2024. – Т. 14. – № 3. – С. 49–63.

49. Мингалимов, М.А. Синоназальная диффузная В-крупноклеточная лимфома: собственное клиническое наблюдение и обзор литературы / М.А. Мингалимов, Е.А. Барях, О.Л. Кочнева [и др.] // Онкогематология. – 2024. – Т. 19. – № 2. – С. 75–82. DOI: 10.17650/1818-8346-2024-19-2-75-82.

50. Моисеева, Ю.П. Развитие персонализированного подхода в лечении полипозного риносинусита / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // Вестник оториноларингологии. – 2022. – 87 (3): 40–45. – DOI: 10.17116/otorino20228703140.

51. Назаренко, Р.В. Сравнительный анализ биохимических маркеров клеточных органелл сперматозоида человека при помощи конфокальной рамановской спектроскопии / Р.В. Назаренко, А.В. Иржак, Б.Р. Гвасалия, Д.Ю. Пушкарь // Вестник РГМУ. – 2025. – № 2. – С. 72–77. DOI: 10.24075/vrgmu.2025.016.

52. Новожилов, А.А. Обзор современных методов диагностики экссудативного среднего отита / А.А. Новожилов, П.А. Шилягин, А.В. Шахов, В. М. Геликонов // Вестник оториноларингологии. – 2020. – Т. 85, № 3. – С. 68–74. – DOI: 10.17116/otorino20208503168.

53. Оториноларингология: национальное руководство: краткое издание / под ред. Ю. К. Янова, А. И. Крюкова, В. В. Дворянчикова, Е. В. Носули. – 2024. –

992 с.

54. Пальцев, М.А. Омиксные технологии: роль и значение для развития персонализированной медицины / М.А. Пальцев, А.С. Чемезов, Н.С. Линькова, А.О. Дробинцева, В.О. Полякова, Н.Н. Белушкина, И.М. Кветной // Молекулярная медицина. – 2019. – Т. 17. – № 4. – С. 3–8. – DOI: 10.29296/24999490-2019-04-01.

55. Пальчун, В.Т. Микробный пейзаж и пути рациональной антибиотикотерапии при острой гнойно-воспалительной патологии ЛОР-органов / В. Т. Пальчун, Л. И. Кафарская, Н. Л. Кунельская, М. Е. Артемьев, А. В. Гуров // Лечебное дело. –2004. — № 4. — С. 88–96.

56. Патент на изобретение Российской Федерации № 2723139, МПК G01N 33/52 (2006.01). Способ дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита с использованием раман-флюоресцентной спектроскопии / А. Б. Тимурзиева. – № 2018105982; заявл. 16.02.2018; опубл. 09.06.2020. – 13 с.

57. Патент на изобретение Российской Федерации № 2726062, МПК G01N 21/65 (2006.01), G01N 33/48 (2006.01). Способ дифференциальной и ранней диагностики заболеваний ЛОР-органов воспалительной и опухолевой этиологии с использованием раман-флюоресцентной спектрометрии / А.Б. Тимурзиева, В.И. Кукушкин,
Д. Н. Артемьев. – № 2018130130; заявл. 20.08.2018; опубл. 08.07.2020. – 57 с.

58. Патент на изобретение Российской Федерации № 2862795. Способ ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики полипозного риносинусита с использованием комбинационного рассеяния света / А.Б. Тимурзиева, Ю.Е. Абрамов, В. И. Кукушкин, Д. Н. Артемьев. – № 2025120700; заявл. 28.07.2025; опубл. 26.05.2026.

59. Патент на изобретение Российской Федерации № 2716593, МПК G01N 33/48 (2006.01). Способ экспресс-диагностики воспалительных заболеваний глотки с использованием флюоресцентной спектрометрии и специального алгоритма для оценки морфометрических, метаболических, функциональных изменений тканей в динамике / А. Б. Тимурзиева. – № 2018145669; заявл. 21.12.2018; опубл. 13.03.2020. – 43 с.

60. Петрицкая, Е. Н. Использование флюоресцентной спектроскопии для диагностики, гипоксии и воспалительных процессов в тканях / Е. Н. Петрицкая, Д.А. Куликов, Д.А. Рогаткин // Оптический журнал. – 2015. – Т. 82. – № 12. – С. 41-46.

61. Пискунов, И.С. Компьютерная томография в диагностике заболеваний полости носа и околоносовых пазух / И.С. Пискунов // Курск. – 2002. – 191 с.

62. Плоскоклеточный рак кожи: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчики: Ассоциация онкологов России; Ассоциация специалистов по проблемам меланомы; Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; Общероссийская общественная организация «Ассоциация врачей-офтальмологов». – 2024. – 85 с. – ID 476. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/476_3 (дата обращения: 16.09.2026).

63. Полипозный риносинусит: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчик: Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. – 2024. – 26 с. – ID 890_1. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/890_1 (дата обращения: 16.09.2026).

64. Попадюк, В.И. Ранняя диагностика и методы лечения при новообразованиях уха: специальность 14.00.04 «Болезни уха, горла и носа»: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Попадюк Валентин Иванович; [Место защиты: Российская медицинская академия последипломного образования]. – Москва, 2003. – 205 с.

65. Потапов, А.А. Интраоперационная флуоресцентная диагностика и лазерная спектроскопия в хирургии глиальных опухолей головного мозга. Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко / А.А. Потапов, А.Г. Гаврилов, С.А. Горяйнов [и др.] //– 2012. – Т. 76. – № 5. – С. 3–12.

66. Потекаев, Н. Н. Искусственный интеллект в медицине. Общие положения. Философские аспекты / Н.Н. Потекаев, О.В. Доля, Н.В. Фриго, А.Я. Атабиева, Е.М. Майорова // Клиническая дерматология и венерология. – 2022. – Т. 21. – № 6.

– С. 749–756. – DOI: 10.17116/klinderma202221061749.

67. Рак гортани: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчики: Ассоциация онкологов России; Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по опухолям головы и шеи»; Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи»; Некоммерческая организация «Ассоциация онкологических организаций Сибири и Дальнего Востока». – 2024. – 54 с. – ID 475. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/475_3 (дата обращения: 16.09.2026).

68. Рак носоглотки: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчики: Ассоциация онкологов России; Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по опухолям головы и шеи»; Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи»; Некоммерческая организация «Ассоциация онкологических организаций Сибири и Дальнего Востока». – 2026. – 49 с. – ID 535_3. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/535_3 (дата обращения: 16.09.2026).

69. Рак полости носа и придаточных пазух : клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчики: Ассоциация онкологов России; Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по опухолям головы и шеи»; Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи»; Некоммерческая организация «Ассоциация онкологических организаций Сибири и Дальнего Востока». – 2024. – 40 с. – ID 3_2. – Режим доступа:

https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/3_2 (дата обращения: 16.09.2026).

70. Рак ротоглотки: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчики: Ассоциация онкологов России; Общероссийская общественная организация «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи»; Некоммерческая организация «Ассоциация онкологических организаций Сибири и Дальнего Востока»; Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии»; Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по опухолям головы и шеи». – 2024. – 63 с. – ID 4. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/4_2 (дата обращения: 16.09.2026).

71. Рафальский, В.В. Перспективы применения метода спектроскопии комбинационного рассеяния света (рамановской спектроскопии) в кардиологии / В.В. Рафальский, А.Ю. Зюбин, Е. М. Моисеева, И. Г. Самусев // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2020. – Т. 19. – № 1. – С. 70–77. – DOI: 10.15829/1728-8800-2020-1-2394.

72. Романко, Ю.С. Преодолевая барьеры опухоли: синергия фотодинамической терапии и иммунотерапии / Ю.С. Романко, Е.В. Филоненко, И.В. Решетов // Сибирский онкологический журнал. – 2026. – Т. 25. – № 2. – С. 175–182. – DOI: 10.21294/1814-4861-2026-25-2-175-182.

73. Рябов, М.В. Перспективы клинического применения фотодинамической терапии для лечения заболеваний шейки матки / М.В. Рябов, Л.В. Михалева, Е.Ф. Странадко [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2020. – Т. 19. – № 6. – С. 34–40. DOI: 10.20953/1726-1678-2020-6-34-40.

74. Рязанцев, С.В. Возрастные особенности течения острого и хронического риносинусита / С.В. Рязанцев, И.М. Кириченко, Е.Л. Савлевич, В.И. Попадюк, Н.С. Козлова, А.И. Чернолев // Вестник оториноларингологии. – 2024. – Т. 89. – № 1. – С. 64–72. – DOI: 10.17116/otorino20248901164.

75. Рязанцев, С.В. Выбор эффективной терапии при воспалительных заболеваниях глотки / С.В. Рязанцев, С.С. Высоцкая, И.В. Фанта, Ю.С. Алексанян

// Медицинский совет. – 2023. – Т. 17. – № 19. – С. 68–76. DOI: 10.21518/ms2023-41.

76. Рязанцев, С.В. Современные методы лечения хронического тонзиллита / С.В. Рязанцев, Н.В. Еремина, К.Ю. Щербань // Медицинский Совет. – 2017. – Т. 19. – С. 68–72.

77. Савельева, Т.А. Методы машинного обучения для анализа спектрально-разрешенных изображений в нейроонкологии / Т.А. Савельева, И.Д. Романишкин, А. Оспанов, К.Г. Линьков, С.А. Горяйнов, Г.В. Павлова, И.Н. Пронин, В.Б. Лощенов // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13. – № 4. – С. 40–54. DOI: 10.24931/2413-9432-2024-13-4-40-54.

78. Савлевич, Е.Л. Сравнительное пилотное исследование эндотипов хронического полипозного риносинусита у пациентов, проживающих в разных географических регионах Российской Федерации / Е.Л. Савлевич, Л.Е. Гаганов, В.И. Егоров [и др.] // Иммунология. – 2018. – Т. 39. – № 4. – С. 208–213. – DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-4-208-213.

79. Сайтбурханов, Р.Р. Молекулярно-генетические маркеры рецидивирования базальноклеточного рака кожи / Р.Р. Сайтбурханов, А.А. Кубанов, И.Н. Кондрахина, К.И. Плахова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2022. – Т. 98. – № 6. – С. 39–47. DOI: 10.25208/vdv1358.

80. Свистушкин, В.М. Возможности патогенетического лечения пациентов с риносинуситами: эффективность и безопасность фитотерапии / В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, Е.А. Шевчик, А.В. Золотова, Х.М. Асевова // Медицинский Совет. – 2026; (6):28–32. DOI: 10.21518/ms2026-065.

81. Солдатов, И. Б. Хронический тонзиллит и его лечение / И. Б. Солдатов. – Москва: Медицина, 1975. – 128 с.

82. Спирин, Д.С. Синоназальная карцинома (обзор литературы и случай из практики). Head and neck. Голова и шея / Д.С. Спирин, В.А. Черекаев, И.В. Чернов, М.В. Нерсесян, М.Н. Тлисова, В.И. Попадюк, Д.С. Святославов, И.В. Решетов // Российский журнал. – 2024. – Т. 12. – № 2. – С. 133–138.

83. Тимурзиева, А.Б. Изучение возможности применения раман-

флюоресцентных медицинских технологий в повышении эффективности диагностики и лечения воспалительных заболеваний глотки: специальность 14.01.03 «Болезни уха, горла и носа»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Тимурзиева Алина Борисовна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова. – Москва, 2019. – 156 с.

84. Тимурзиева, А.Б. Использование раман-флуоресцентных технологий в ранней диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний как часть стратегического направления формирования общественного здоровья и инструмент для повышения качества оказания медицинской помощи: обзор литературы / А. Б. Тимурзиева // Лазерная медицина. – 2021. – 25(4):42–50. – DOI: 10.37895/2071–8004-2021-25-4-42-50.

85. Тимурзиева, А.Б. Использование раман-флюоресцентной спектроскопии в диагностике воспалительных изменений в глотке при хроническом тонзиллите / А.Б. Тимурзиева, В.И. Кукушкин, Д.Н. Артемьев, Г.Н. Никифорова, В.М. Свистушкин, Л.В. Чекуреева // Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae. – 2018. – Т. 24, № 3. – С. 32–41. – DOI: 10.17816/fopr709069.

86. Тимурзиева, А.Б. Некоторые вопросы организации диагностики и профилактики заболеваний ЛОР-органов / А.Б. Тимурзиева, А.Б. Зудин // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2026. – Т. 34. – № 2. – С. 207–215. – DOI: 10.32687/0869-866X-2026-34-2-207-215.

87. Тимурзиева, А.Б. Обоснование использования раман-флуоресцентной спектроскопии в экспресс-диагностике рака гортани. Голова и шея / А. Б. Тимурзиева, В. И. Попадюк, В. А. Дуванский // Российский журнал. – 2024. – Т. 12. – № 4. – С. 34–40.

88. Тимурзиева, А.Б. Обоснование применения лазерно-флюоресцентной спектрометрии в идентификации воспалительных заболеваний глотки / А.Б. Тимурзиева, Г.Н. Никифорова, В.М. Свистушкин, А.Н. Герасимов, М. Т. Александров // Вестник оториноларингологии. – 2020. – Т. 85, № 3. – С. 36–42. – DOI: 10.17116/otorino20208503136.

89. Тимурзиева, А.Б. Разработка стандартных операционных процедур для ранней неинвазивной диагностики заболеваний ЛОР-органов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света / А. Б. Тимурзиева // Российская оториноларингология. – 2026. – Т. 25. – № 3. – С. 15–22. – DOI: 10.18692/1810-4800-2026-3-15-22.

90. Тимурзиева, А.Б. Ранняя неинвазивная экспресс-диагностика базальноклеточной карциномы кожи головы и шеи для повышения качества организации онкологической помощи / А.Б. Тимурзиева, Е.Н. Римская, К.Г. Кудрин, С.Н. Шелыгина, В.А. Дуванский, М. В. Рябов // Профилактическая медицина. – 2023. – Т. 26. – № 11. –С. 29–33.

91. Тимурзиева, А. Б. Спектральный анализ в метаболомике новообразований кожи / А.Б. Тимурзиева, А.Б. Зудин // Клиническая дерматология и венерология. – 2025. – Т. 24. – № 3. – С. 277–283.

92. Тимурзиева, А.Б. Спектроскопия комбинационного рассеяния света в диагностике хронического риносинусита / А.Б. Тимурзиева, В.И. Попадюк, И.М. Кириченко, А.С. Акулова, А.С. Занозин, Е.В. Переведенцева, Н.Н. Мельник // Российская ринология. – 2026. – Т. 34. – № 1. – С. 36–46. DOI: 10.17116/rosrino20263401136.

93. Указ Президента Российской Федерации от 15 февраля 2024 г. № 124 «О внесении изменений в Указ Президента Российской Федерации от 10 октября 2019 г. № 490 «О развитии искусственного интеллекта в Российской Федерации» и в Национальную стратегию, утвержденную этим Указом» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 2024. – № 8. – Ст. 1102.

94. Указ Президента Российской Федерации от 7 мая 2024 г. № 309 «О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года и на перспективу до 2036 года» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 2024. – № 20. – Ст. 2584.

95. Ульянова, Ю.В. Современные методы диагностики и лечения злокачественных опухолей околоносовых пазух / Ю. В. Ульянова, М. А. Енгибарян, В.Л. Волкова, Н.А. Чертова, И.В. Аединова, М.В. Баужадзе, И.В. Пустовая //

Южно-Российский онкологический журнал/ South Russian Journal of Cancer. – 2022. – Т. 3. – № 2. – С. 31–40. DOI: 10.37748/2686-9039-2022-3-2-4.

96. Фабелинский И.Ф. «Комбинационному рассеянию света – 70 лет». Успехи физических наук. – 1998. – Т. 168, № 12. – С. 1341–1360.

97. Федеральный закон от 26 июля 2026 г. № 243-ФЗ «О поддержке развития технологий искусственного интеллекта в Российской Федерации» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 2026. – № 30. – Ст. 4089.

98. Федеральный закон от 24 апреля 2020 г. № 123-ФЗ (ред. от 8 августа 2024 г.) «О проведении эксперимента по установлению специального регулирования в целях создания необходимых условий для разработки и внедрения технологий искусственного интеллекта в субъекте Российской Федерации – городе федерального значения Москве, об особенностях обработки персональных данных при формировании региональных составов данных и предоставления доступа к региональным составам данных и внесении изменений в статьи 6 и 10 Федерального закона «О персональных данных» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 2020. – № 17. – Ст. 2701.

99. Хронический синусит: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчик: Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. – 2025. – 32 с. – ID 955_1. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/955_1 (дата обращения: 16.09.2026).

100. Хронический средний отит: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчик: Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. – 2024. – 37 с. – ID 698. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/698_2 (дата обращения: 16.09.2026).

101. Хронический тонзиллит: клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации; разработчик: Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. – 2024. – 29 с. – ID 683. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/683_2 (дата обращения:

16.09.2026).

102. Чурсинова, Ю.В. Лазерная флуоресцентная спектроскопия и оптическая тканевая оксиметрия в диагностике фиброза кожи / Ю.В. Чурсинова, Д. А. Куликов, Д. А. Рогаткин [и др.] // Biomedical Photonics. – 2019. – Т. 8. – № 1. – С. 38–45. DOI: 10.24931/2413-9432-2019-8-1-38-45.

103. Шангина О.Р. Взаимодействие лазерного излучения с биологическими тканями / О.Р. Шангина, Р. Д. Гайнутдинова // Практическая медицина. – 2019. – Т. 17. – № 1. – С. 24–27.

104. Шахова, М.А. Оптическая когерентная томография в оториноларингологии: возможности и перспективы использования / М.А. Шахова, В.А. Фокеев, А.Е. Меллер, А. Б. Терентьева, М.Ю. Кириллин, А.В. Шахов // Альманах клинической медицины. – 2025. – Т. 53. – № 5. – С. 268–284. – DOI: 10.18786/2072–0505-2025-53-021.

105. Шиленкова В.В., Шиленков К.А. EPOS-2020. Что нового? Российская ринология. – 2020. – 28(2):94–100. https://doi.org/10.17116/rosrino20202802194.

106. Широкая, А.В. Оценка эффективности лечения больных полипозным риносинуситом и прогноз его течения / А.В. Широкая, В.М. Свистушкин, С.Н. Шатохина, В.Н. Шабалин // РО. – 2013. – № 2 (63).

107. Шулешова, А.Г. и др. Конфокальная лазерная эндомикроскопия в диагностике неоплазий желудка / А.Г. Шулешова, Е.И. Брехов, М.О. Завьялов // Эндоскопическая хирургия. – 2014. – Т. 20. – № 5. – С. 24–30.

108. Янов, Ю. К. Концепция комплексного подхода к диагностике и лечению больных с оториносинусогенными гнойно-воспалительными внутричерепными осложнениями в современных условиях / Ю.К. Янов, А.А. Кривопалов, А.Ю. Щербук, А.Н. Рубин, Н.А. Тузиков // РМЖ. – 2016. – Т. 21. – С. 1447–1455.

109. Aaboubout, Y. Intraoperative assessment of resection margins by Raman spectroscopy to guide oral cancer surgery / Y. Aaboubout, M. R. Nunes Soares, T. C. Bakker Schut, E. M. Barroso, M. van der Wolf, E. Sokolova, V. Artyushenko, A. Bocharnikov, I. Usenov, C. G. F. van Lanschot, L. Ottevanger, H. Mast, I. Ten Hove, B. P. Jonker, S. Keereweer, D. A. Monserez, A. Sewnaik, J. A. Hardillo, R. J. Baatenburg

de Jong, S. Koljenović, G. J. Puppels // Analyst. – 2023. – Т. 148. – № 17. – С. 4116–4126. – DOI: 10.1039/d3an00650f.

110. Abramczyk, H. Raman spectroscopy, medical applications: A new look inside human body with Raman imaging / H. Abramczyk, M. Kopeć, M. Jędrzejczyk // Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. – 3rd ed. – London : Academic Press Ltd, Elsevier Science Ltd, 2017. – С. 915–918.

111. Abuduruk, S.H. Factors Contributing to the Recurrence of Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps After Endoscopic Sinus Surgery: A Systematic Review / S. H. Abuduruk, B. K. Sabb Gul, S. M. AlMasoudi, E. H. Alfattani, M. A. Mohammad, H. M. Alshehri, A. D. Alosaimi, R. F. Almnjwami, J. A. Alnafie, A. N. Jabbari, A. H. Althumali // Cureus. – 2024. – Т. 16. – № 8. – e67910. – DOI: 10.7759/cureus.67910.

112. Acri, G. Raman spectroscopy as noninvasive method of diagnosis of pediatric onset inflammatory bowel disease / G. Acri, V. Venuti, S. Costa [и др.] // Appl Sci. – 2020. – Т. 10. – № 19. – С. 6974. – DOI: 10.3390/app10196974.

113. Alekseeva, P. Devices and Methods for Dosimetry of Personalized Photodynamic Therapy of Tumors: A Review on Recent Trends / P. Alekseeva, V. Makarov, K. Efendiev, A. Shiryaev, I. Reshetov, V. Loschenov // Cancers (Basel). – 2024. – Т. 16. – № 13. – С. 2484. – DOI: 10.3390/cancers16132484.

114. Almehmadi, L. M. Surface enhanced Raman spectroscopy for single molecule protein detection / L. M. Almehmadi, S. M. Curley, N. A. Tokranova [и др.] // Sci Rep. – 2019. – Т. 9. – № 1. – С. 12356. – DOI: 10.1038/s41598-019-48650-y.

115. Alobid, I. When the Nose Meets the Lab: Histopathological Analysis in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps for Routine Clinical Practice / I. Alobid, M. Armengot-Carceller, M. Pinilla Urraca, J. Maza-Solano, I. González Guijarro, S. Umbria Jiménez, P. San Miguel Fraile, J. Mullol // Curr Allergy Asthma Rep. – 2024. – Т. 24. – № 12. – С. 657–665. – DOI: 10.1007/s11882-024-01180-8.

116. Alsaleh, S. Assessment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: Development of the Nasal Polyp Patient Assessment Scoring Sheet tool / S. Alsaleh, N. Kamal, C. Hopkins [и др.] // Laryngoscope Investigative Otolaryngology. – 2024. – Т. 9. – № 3. – С. e1277. – DOI: 10.1002/lio2.1277.

117. Amber, A. Surface-enhanced Raman spectroscopy for the characterization of different anatomical subtypes of oral cavity cancer / A. Amber, H. Nawaz, H. N. Bhatti, Z. Mushtaq // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2023. – Т. 42. – С.103607. – DOI: 10.1016/j.pdpdt.2023.103607.

118. Amirapu, S. Sinonasal Tissue Remodelling during Chronic Rhinosinusitis / S. Amirapu, K. Biswas, F. J. Radcliff, B. Wagner Mackenzie, S. Ball, R. G. Douglas // Int J Otolaryngol. – 2021. – С. 7428955. – DOI: 10.1155/2021/7428955.

119. Anthony, D. J. Fluorescence spectra in lung with porphyrin injection / D. J. Anthony, A. E. Profio, O. J. Balchum // Photochem Photobiol. – 1989. – Т. 49. – № 5. – С. 583–6. – DOI: 10.1111/j.1751-1097. 1989.tb08427. x.

120. Asadipour, B. Label-free nonlinear microscopy probes cellular metabolism and myelin dynamics in live tissue / B. Asadipour, J. Morizet, R. Ronzano [и др.] // Commun Biol. – 2025. – Т. 8. – С. 1811. – DOI: 10.1038/s42003-025-09192-4.

121. Auner, G. W. Applications of Raman spectroscopy in cancer diagnosis / G. W. Auner, S. K. Koya, C. Huang [и др.] // Cancer Metastasis Rev. – 2018. – Т. 37. – № 4. – С. 691–717. – DOI: 10.1007/s10555-018-9770-9.

122. Baek, S.-J. Baseline Correction Using Asymmetrically Reweighted Penalized Least Squares Smoothing / S.-J. Baek, A. Park, Y.-J. Ahn, J. Choo // Analyst. – 2015. – Т. 140. – № 1. – С. 250–257. – DOI: 10.1039/C4AN01061B.

123. Bailey, L. Panitumumab-IRDye800 Improves Laryngeal Tumor Mapping During Transoral Laser Microsurgery / L. Bailey, L. D. Stone, M. L. Gonzalez, C. M. Thomas, H. Jeyarajan, J. M. Warram, B. Panuganti // Laryngoscope. – 2024. – Т. 134. – № 4. – С. 1837–1841. – DOI: 10.1002/lary.31078.

124. Baker, M. Clinical applications of infrared and Raman spectroscopy: State of play and future challenges / M. Baker, H. J. Byrne, J. Chalmers [и др.] // Analyst. – 2018. – Т. 143. – № 8. – С. 1735–1757. – DOI: 10.1039/C7AN01871A.

125. Bali, A. Establishment of a clinical workflow for in vivo Raman spectroscopy during head and neck cancer surgery / A. Bali, T. Bitter, M. Kouka, J. Ballmaier, I. Latka, F. Windirsch, D. Pertzborn, N. Ziller, M. Mafra, N. Gaßler, J. Popp, A. Mühlig, F. von Eggeling, O. Guntinas-Lichius, I. W. Schie // Sci Rep. – 2025. – Т. 15. – № 1. – С. 24230.

– DOI: 10.1038/s41598-025-08222-9.

126. Banerjee, A. Metabolomics Profiling of Pituitary Adenomas by Raman Spectroscopy, Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy, and Mass Spectrometry of Serum Samples / A. Banerjee, A. Halder, P. Jadhav, R. Bankar, J. Pattarkine, A. Hole, A. Shah, A. Goel, C. Murali Krishna, S. Srivastava // Anal Chem. – 2022. – Т. 94. – № 34. – С. 11898–11907. – DOI: 10.1021/acs.analchem.2c02487.

127. Barik, A. K. In vivo spectroscopy: optical fiber probes for clinical applications / A. K. Barik, S. P. M, J. Lukose, R. Upadhya, M. V. Pai, V. B. Kartha, S. Chidangil // Expert Rev Med Devices. – 2022. – Т. 19. – № 9. – С. 657–675. – DOI: 10.1080/17434440.2022.2130046.

128. Benjamin, M. R. Clinical Characteristics of Patients with Chronic Rhinosinusitis without Nasal Polyps in an Academic Setting / M. R. Benjamin, W. W. Stevens, N. Li, S. Bose, L. C. Grammer, R. C. Kern, B. K. Tan, D. B. Conley, S. S. Smith, K. C. Welch, R. P. Schleimer, A. T. Peters // J Allergy Clin Immunol Pract. – Т. 7. – № 3. – С. 1010–1016. – DOI: 10.1016/j.jaip.2018.10.014.

129. Bergholt, M. S. Combining near-infrared-excited autofluorescence and Raman spectroscopy improves in vivo diagnosis of gastric cancer / M. S. Bergholt, W. Zheng, K. Lin, K. Y. Ho, M. Teh, K. G. Yeoh, J. B. So, Z. Huang // Biosens Bioelectron. – 2011. – Т. 26. – № 10. – С. 4104–10. – DOI: 10.1016/j.bios.2011.04.005.

130. Beton-Mysur, K. A new modality for cholesterol impact tracking in colon cancer development – Raman imaging, fluorescence and AFM studies combined with chemometric analysis / K. Beton-Mysur, B. Brożek-Płuska // Anal Methods. – 2023. – Т. 15. – № 39. – С. 5199–5217. – DOI: 10.1039/d3ay01040f.

131. Beton-Mysur, K. Raman-AFM-fluorescence-guided impact of linoleic and eicosapentaenoic acids on subcellular structure and chemical composition of normal and cancer human colon cells / K. Beton-Mysur, J. Surmacki, B. Brożek-Płuska // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. – 2024. – Т. 315. – С. 124242. – DOI: 10.1016/j.saa.2024.124242.

132. Bhattacharyya, N. Do maxillary sinus retention cysts refl ect obstructive sinus phenomena? / N. Bhattacharyya // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2000. – Т. 126.

– № 11. – С. 1369–1371.

133. Bocklitz, T. Novel workflow for combining Raman spectroscopy and MALDI-MSI for tissue based studies / T. Bocklitz, K. Bräutigam, A. Urbanek [и др.] // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2015. – Т. 407. – № 26. – С. 7865–7873. – DOI: 10.1007/s00216-015-8987-5.

134. Borșa, R. M. Developing New Diagnostic Tools Based on SERS Analysis of Filtered Salivary Samples for Oral Cancer Detection / R. M. Borșa, V. Toma, A. Onaciu, C. S. Moldovan, R. Mărginean, D. Cenariu, G. F. Știufiuc, C. M. Dinu, S. Bran, H. O. Opriș, S. Văcăraș, F. Onișor-Gligor, D. Sentea, M. F. Băciuț, C. A. Iuga, R. I. Știufiuc // Int J Mol Sci. – 2023. – Т. 24. – № 15. – С. 12125. – DOI: 10.3390/ijms241512125.

135. Brézillon, S. Probing glycosaminoglycan spectral signatures in live cells and their conditioned media by Raman microspectroscopy / S. Brézillon, V. Untereiner, H. T. Mohamed, J. Hodin, A. Chatron-Colliet, F. X. Maquart, G. D. Sockalingum // Analyst. – 2017. – Т. 142. – № 8. – С. 1333–1341. – DOI: 10.1039/c6an01951j.

136. Brietzke, S. E. Clinical consensus statement: pediatric chronic rhinosinusitis / S. E. Brietzke, J. J. Shin, S. Choi, J. T. Lee, S. R. Parikh, M. Pena // Otolaryngology – Head and Neck Surgery. – 2014. – Т. 151. – № 4. – С. 542–553. – DOI: 10.1177/0194599814549302.

137. Bro, R. Principal component analysis / R. Bro, A. K. Smilde // Analytical Methods. – 2014. – Т. 6. – № 9. – С. 2812–2831. – DOI: 10.1039/C3AY41907J.

138. Čabanová, K. Identification of the phase composition of solid microparticles in the nasal mucosa of patients with chronic hypertrophic rhinitis using Raman microspectroscopy / K. Čabanová, O. Motyka, H. Bielniková [и др.] // Sci Rep. – 2021. – Т. 11. – С. 18989. – DOI: 10.1038/s41598-021-98521-8.

139. Calkovsky, V. Laryngeal cancer: 12-year experience of a single center / V. Calkovsky, P. Wallenfels, A. Calkovska [и др.] // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2016. – Т. 911. – С. 9–16. – DOI: 10.1007/5584_2015_201.

140. Cals, F. L. Investigation of the potential of Raman spectroscopy for oral cancer detection in surgical margins / F. L. Cals, T. C. Bakker Schut, J. A. Hardillo [и др.] // Laboratory Investigation. – 2015. – Т. 95. – № 10. – С. 1186–1196. – DOI:

10.1038/labinvest.2015.85.

141. Cebi, N. Nondestructive Metabolomic Fingerprinting: FTIR, NIR and Raman Spectroscopy in Food Screening / N. Cebi, H. Bekiroglu, A. Erarslan // Molecules. – 2023. – Т. 28. – № 23. – С. 7933. – DOI: 10.3390/molecules28237933.

142. Chan, H. P. Comparison of FDG-PET/CT for cancer detection in populations with different risks of underlying malignancy / H. P. Chan, W. S. Liu, W. S. Liou [и др.] // In Vivo. – 2020. – Т. 34. – № 1. – С. 469–478. – DOI: 10.21873/invivo.11797.

143. Chang, H. In vivo surface-enhanced Raman scattering techniques: nanoprobes, instrumentation, and applications / H. Chang, W. Hur, H. Kang [и др.] // Light Sci Appl. – 2025. – Т. 14 (1). – С. 79. – DOI: 10.1038/s41377-024-01718-5.

144. Charvat, H. Age-specific larynx cancer incidence rate in the world / H. Charvat, E. Saito // Japanese Journal of Clinical Oncology. – 2021. – Т. 51. – № 7. – С. 1181–1182. – DOI: 10.1093/jjco/hyab097.

145. Chen, B. Application of surface-enhanced Raman scattering combined with artificial intelligence for multiplex detection of chemotherapeutic agents used in solid tumors / B. Chen, J. Gao, H. Sun [и др.] // Anal Bioanal Chem. – 2025. – DOI: 10.1007/s00216-025-06241-z.

146. Chen, L. AI-Driven Deep Learning Techniques in Protein Structure Prediction / L. Chen, Q. Li, K. F. A. Nasif, Y. Xie, B. Deng, S. Niu, S. Pouriyeh, Z. Dai, J. Chen, C. Y. Xie // Int J Mol Sci. – 2024. – Т. 25. – № 15. – С. 8426. – DOI: 10.3390/ijms25158426.

147. Chen, W. The accuracy of Fiber-Optic Raman Spectroscopy in the detection and diagnosis of head and neck neoplasm in vivo: a systematic review and meta-analysis / W. Chen, Y. Chen, C. Wu, X. Zhang, X. Huang // PeerJ. – 2023. – Т. 11. – С. e16536. – DOI: 10.7717/peerj.16536.

148. Chen, X. Advanced mass spectrometric and spectroscopic methods for in vitro diagnostics / X. Chen [и др.] // VIEW. – 2023. – Т. 4. – С. 20220038. – DOI: 10.1002/VIW.20220038.

149. Chen, Y. Serum Proteomic Analysis Revealed Biomarkers for Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps Pathophysiology / Y. Chen, R. Gao, H. Liu, M. Ye, L. Chu, T. Wang // J Inflamm Res. – 2024. – Т. 17. – С. 805–821. – DOI:

10.2147/JIR.S444280.

150. Chen, Y. Fluorescence molecular optomic signatures improve identification of tumors in head and neck specimens / Y. Chen, S. S. Streeter, B. Hunt, H. S. Sardar, J. R. Gunn, L. J. Tafe, J. A. Paydarfar, B. W. Pogue, K. D. Paulsen, K. S. Samkoe // Front Med Technol. – 2023. – Т. 5. – С. 1009638. – DOI: 10.3389/fmedt.2023.1009638.

151. Chiwo, F. S. Design and implementation of an experimental Raman spectrometer / F. S. Chiwo, F. J. González // Rev Mex Fis. – 2019. – Т. 65. – № 3. – DOI: 10.31349/revmexfis.65.274.

152. Choi, B. H. The Diverse Functions of Non-Essential Amino Acids in Cancer / B. H. Choi, J. L. Coloff // Cancers. – 2019. – Т. 11. – № 5. – С. 675. – DOI: 10.3390/cancers11050675.

153. Chrysafis, A. Surface-enhanced Raman spectroscopy: A new modality for cancer imaging / A. Chrysafis, S. A. Kishore, M. F. Kircher // J Nucl Med. – 2015. – Т. 56. – № 9. – С. 1295–1299. – DOI: 10.2967/jnumed.115.158196.

154. Ciolofan, M. S. Clinical, Histological and Immunohistochemical Evaluation of Larynx Cancer / M. S. Ciolofan, A. N. Vlăescu, C. A. Mogoantă, E. Ioniță, I. Ioniță, A. N. Căpitănescu, M. R. Mitroi, F. Anghelina // Curr Health Sci J. – 2017. – Т. 43. – № 4. – С. 367–375. – DOI: 10.12865/CHSJ.43.04.14.

155. Corden, C. Time-gated Raman spec-troscopy for biomedical application under ambient or strong background light conditions / C. Corden, R. Boitor, I. Notingher // J Phys D Appl Phys. – 2021. – Т. 54. – С. 504003.

156. Cordero, E. In-vivo Raman spectroscopy: from basics to applications / E. Cordero, I. Latka, C. Matthäus, I. Schie, J. Popp // J Biomed Opt. – 2018. – Т. 23. – № 7. – С. 1–23. – DOI: 10.1117/1.JBO.23.7.071210.

157. Croizat, G. Identification of excimer delayed fluorescence by Protoporphyrin IX: A novel access to local chromophore concentration / G. Croizat, A. Gregor, J. Joniova, E. Gerelli, G. Wagnières // J Photochem Photobiol B. – 2022. – Т. 229. – С. 112408. – DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2022.112408.

158. Crosby, D. Early detection of cancer / D. Crosby, S. Bhatia, K. M. Brindle, L. M. Coussens, C. Dive, M. Emberton, S. Esener, R. C. Fitzgerald, S. S. Gambhir, P. Kuhn,

T. R. Rebbeck, S. Balasubramanian // Science. – 2022. – Т. 375. – № 6586. – С. eaay9040. – DOI: 10.1126/science. aay9040.

159. Cui, S. Raman spectroscopy and imaging for cancer diagnosis / S. Cui, S. Zhang, S. Yue // J Health Eng. – 2018. – Т. 2018. – С. 8619342. – DOI: 10.1155/2018/8619342.

160. Cutshaw, G. Monitoring Metabolic Changes in Response to Chemotherapies in Cancer with Raman Spectroscopy and Metabolomics / G. Cutshaw, N. Hassan, S. Uthaman, X. Wen, B. Singh, A. Sarkar, R. Bardhan // Anal Chem. – 2023. – Т. 95. – № 35. – С. 13172–13184. – DOI: 10.1021/acs.analchem.3c02073.

161. Cutshaw, G. The Emerging Role of Raman Spectroscopy as an Omics Approach for Metabolic Profiling and Biomarker Detection toward Precision Medicine / G. Cutshaw, S. Uthaman, N. Hassan, S. Kothadiya, X. Wen, R. Bardhan // Chem Rev. – 2023. – Т. 123. – № 13. – С. 8297–8346. – DOI: 10.1021/acs.chemrev.2c00897.

162. Cutshaw, G. Metabolic Response to Small Molecule Therapy in Colorectal Cancer Tracked with Raman Spectroscopy and Metabolomics / G. Cutshaw, N. Joshi, X. Wen, E. Quam, G. Bogatcheva, N. Hassan, S. Uthaman, J. Waite, S. Sarkar, B. Singh, R. Bardhan // Angew. Chem. Int. Ed. – 2024. – Т. 63. – С. e202410919. – DOI: 10.1002/anie.202410919.

163. D’Acunto, M. Contribution of Raman spectroscopy to diagnosis and grading of chondrogenic tumors / M. D’Acunto, R. Gaeta, R. Capanna, A. Franchi // Sci Rep. – 2020. – Т. 10. – № 1. – С. 2155. – DOI: 10.1038/s41598-020-58848-0.

164. Danielides, G. Periostin as a biomarker in chronic rhinosinusitis: A contemporary systematic review / G. Danielides, S. Lygeros, M. Kanakis, S. Naxakis // Int Forum Allergy Rhinol. – 2022. – Т. 12. – № 12. – С. 1535–1550. – DOI: 10.1002/alr.23018.

165. Desroches, J. A new method using Raman spectroscopy for in vivo targeted brain cancer tissue biopsy / J. Desroches, M. Jermyn, M. Pinto, F. Picot, M. A. Tremblay, S. Obaid, E. Marple, K. Urmey, D. Trudel, G. Soulez, M. C. Guiot, B. C. Wilson, K. Petrecca, F. Leblond // Sci Rep. – 2018. – Т. 8. – № 1. – С. 1792. – DOI: 10.1038/s41598-018-20233-3.

166. Dinish, U.S. Sensitive multiplex detection of serological liver cancer biomarkers using SERS-active photonic crystal fiber probe / U.S. Dinish, G. Balasundaram, Y.T. Chang, M. Olivo // J Biophotonics. – 2014. – Т. 7. – № 11–12. – С. 956–65. – DOI: 10.1002/jbio.201300084.

167. Dirheimer, L. Fluorescence Imaging-Assessed Surgical Margin Detection in Head and Neck Oncology by Passive and Active Targeting / L. Dirheimer, S. Cortese, G. Dolivet, J. L. Merlin, F. Marchal, R. Mastronicola, L. Bezdetnaya // Mol Diagn Ther. – 2025. – Т. 29. – № 4. – С. 465–481. – DOI: 10.1007/s40291-025-00781-x.

168. Dodo, K. Raman Spectroscopy for Chemical Biology Research / K. Dodo, K. Fujita, M. Sodeoka // J Am Chem Soc. – 2022. – Т. 144. – № 43. – С. 19651–19667. – DOI: 10.1021/jacs.2c05359.

169. Domingues, K. Z. A. Chemometric Methods Applied to Infrared and Raman Spectroscopy for Arboviruses Diagnosis: A Systematic Review With Meta-Analysis / K. Z. A. Domingues, R. E. L. Lazo, L. S. do Amaral, A. F. Cobre, L. M. Ferreira, R. Pontarolo // Anal Sci Adv. – 2025. – Т. 6. – № 2. – e70056. – DOI: 10.1002/ansa.70056.

170. Dos Santos, R.F. Alzheimer's disease diagnosis by blood plasma molecular fluorescence spectroscopy (EEM) / R. F. dos Santos, M. Paraskevaidi, D. M. A. Mann [и др.] // Sci Rep. – 2022. – Т. 12. – 16199. – DOI: 10.1038/s41598-022-20611-y.

171. Douglas, C. M. The effect of tonsillectomy on the morbidity from recurrent tonsillitis / C. M. Douglas, K. Lang, W. M. Whitmer, J. A. Wilson, K. Mackenzie // Clin Otolaryngol. – 2017. – Т. 42. – № 6. – С. 1206–1210. – DOI: 10.1111/coa.12850.

172. Duraipandian, S. In vivo diagnosis of cervical precancer using Raman spectroscopy and genetic algorithm techniques / S. Duraipandian, W. Zheng, J. Ng [и др.] // Analyst. – 2011. – Т. 136. – С. 4328–4336. – DOI: 10.1039/C1AN15296C.

173. Dustin, W. Raman spectroscopy: techniques and applications in the life sciences. – Adv / W. Dustin Shipp, F. Sinjab, I. Notingher // Opt. Photon. – 2017. – Т. 9. – С. 315–428.

174. Ember, K. J. I. Raman spectroscopy and regenerative medicine: A review / K. J. I. Ember, M. A. Hoeve, S. L. McAughtrie [и др.] // NPJ Regen Med. – 2017. – Т. 2. – С. 12. – DOI: 10.1038/s41536-017-0014-3.

175. Falamas, A. Rapid and noninvasive diagnosis of oral and oropharyngeal cancer based on micro-Raman and FT-IR spectra of saliva / A. Falamas, C. I. Faur, S. Ciupe, M. Chirila, H. Rotaru, M. Hedesiu, S. Cinta Pinzaru // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. – 2021. – Т. 252. – 119477. – DOI: 10.1016/j.saa.2021.119477.

176. Fang, C. Y. High HMGA2 expression correlates with reduced recurrence-free survival and poor overall survival in oral squamous cell carcinoma / C. Y. Fang, P. L. Liew, C. L. Chen [и др.] // Anticancer Res. – 2017. – Т. 37. – № 4. – С. 1891–1899. – DOI: 10.21873/anticanres.11527.

177. Faur, C. I. A New Detection Method of Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma Based on Multivariate Analysis of Surface Enhanced Raman Spectra of Salivary Exosomes / C. I. Faur, C. Dinu, V. Toma, A. Jurj, R. Mărginean, A. Onaciu, R. C. Roman, C. Culic, M. Chirilă, H. Rotar, A. Fălămaș, G. F. Știufiuc, M. Hedeșiu, O. Almășan, R. I. Știufiuc // J Pers Med. – 2023. – Т. 13. – № 5. – 762. – DOI: 10.3390/jpm13050762.

178. Faur, C. I. Raman spectroscopy in oral cavity and oropharyngeal cancer: a systematic review / C. I. Faur, A. Falamas, M. Chirila, R. C. Roman, H. Rotaru, M. A. Moldovan, S. Albu, M. Baciut, I. Robu, M. Hedesiu // Int J Oral Maxillofac Surg. – 2022. – Т. 51. – № 11. – С. 1373–1381. – DOI: 10.1016/j.ijom.2022.02.015.

179. Feng, X. Biophysical basis of skin cancer margin assessment using Raman spectroscopy / X. Feng, M. C. Fox, J. S. Reichenberg, F. C. P. S. Lopes, K. R. Sebastian, M. K. Markey, J. W. Tunnell // Biomedical Optics Express. – 2018. – Т. 10. – № 1. – С. 104–118. – DOI: 10.1364/BOE.10.000104.

180. Filip, P. 5-Aminolevulinic Acid Fluorescence-Guided Surgery in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma / P. Filip, D. K. Lerner, E. Kominsky, A. Schupper, K. Liu, N. M. Khan, S. Roof, C. Hadjipanayis, E. Genden, A. M. C. Iloreta // Laryngoscope. – 2024. – Т. 134. – № 2. – С. 741–748. – DOI: 10.1002/lary.30910.

181. Fitzgerald, C. W. R. Stimulated Raman Histology for Rapid Intra-Operative Diagnosis of Sinonasal and Skull Base Tumors / C. W. R. Fitzgerald, S. Dogan, R. Bou-Nassif, T. Mclean, R. Woods, J. R. Cracchiolo, I. Ganly, V. Tabar, M. A. Cohen // Laryngoscope. – 2022. – Т. 132. – № 11. – С. 2142–2147. – DOI: 10.1002/lary.30233.

182. Fleskens, S. Grading systems in head and neck dysplasia: their prognostic value, weaknesses and utility / S. Fleskens, P. Slootweg // Head Neck Oncol. – 2009. – T. 1. – 11. – DOI: 10.1186/1758-3284-1-11.

183. Flores, A. R. Pharyngitis / A. R. Flores, M. T. Caserta // Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. – 2015. – C. 753e2–759.e2. – DOI: 10.1016/B978-1-4557-4801-3.00059-X.

184. Fokkens, W. J. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020 / W. J. Fokkens, V. J. Lund, C. Hopkins, P. W. Hellings, R. Kern, S. Reitsma, S. Toppila-Salmi, M. Bernal-Sprekelsen, J. Mullol, I. Alobid, W. Terezinha Anselmo-Lima, C. Bachert, F. Baroody, C. von Buchwald, A. Cervin, N. Cohen, J. Constantinidis, L. De Gabory, M. Desrosiers, Z. Diamant, R. G. Douglas, P. H. Gevaert, A. Hafner, R. J. Harvey, G. F. Joos, L. Kalogjera, A. Knill, J. H. Kocks, B. N. Landis, J. Limpens, S. Lebeer, O. Lourenco, C. Meco, P. M. Matricardi, L. O'Mahony, C. M. Philpott, D. Ryan, R. Schlosser, B. Senior, T. L. Smith, T. Teeling, P. V. Tomazic, D. Y. Wang, D. Wang, L. Zhang, A. M. Agius, C. Ahlstrom-Emanuelsson, R. Alabri, S. Albu, S. Alhabash, A. Aleksic, M. Aloulah, M. Al-Qudah, S. Alsaleh, M. A. Baban, T. Baudoin, T. Balvers, P. Battaglia, J. D. Bedoya, A. Beule, K. M. Bofares, I. Braverman, E. Brozek-Madry, B. Richard, C. Callejas, S. Carrie, L. Caulley, D. Chussi, E. de Corso, A. Coste, U. El Hadi, A. Elfarouk, P. H. Eloy, S. Farrokhi, G. Felisati, M. D. Ferrari, R. Fishchuk, W. Grayson, P. M. Goncalves, B. Grdinic, V. Grgic, A. W. Hamizan, J. V. Heinichen, S. Husain, T. I. Ping, J. Ivaska, F. Jakimovska, L. Jovancevic, E. Kakande, R. Kamel, S. Karpischenko, H. H. Kariyawasam, H. Kawauchi, A. Kjeldsen, L. Klimek, A. Krzeski, G. Kopacheva Barsova, S. W. Kim, D. Lal, J. J. Letort, A. Lopatin, A. Mahdjoubi, A. Mesbahi, J. Netkovski, D. Nyenbue Tshipukane, A. Obando-Valverde, M. Okano, M. Onerci, Y. K. Ong, R. Orlandi, N. Otori, K. Ouennoughy, M. Ozkan, A. Peric, J. Plzak, E. Prokopakis, N. Prepageran, A. Psaltis, B. Pugin, M. Raftopulos, P. Rombaux, H. Riechelmann, S. Sahtout, C. C. Sarafoleanu, K. Searyoh, C. S. Rhee, J. Shi, M. Shkoukani, A. K. Shukuryan, M. Sicak, D. Smyth, K. Sindvongs, T. Soklic Kosak, P. Stjarne, B. Sutikno, S. Steinsvag, P. Tantilipikorn, S. Thanaviratananich, T. Tran, J. Urbancic, A. Valiulius, C. Vasquez de Aparicio, D. Vicheva, P. M. Virkkula, G. Vicente, R. Voegels, M. M.

Wagenmann, R. S. Wardani, A. Welge-Lussen, I. Witterick, E. Wright, D. Zabolotniy, B. Zsolt, C. P. Zwetsloot // Rhinology. – 2020. – Т. 58. – № Suppl S29. – С. 1–464. – DOI: 10.4193/Rhin20.600.

185. Francisco, A. L. Fluorescence spectroscopy for the detection of potentially malig-nant disorders and squamous cell carcinoma of the oral cavity / A. L. Francisco, W. R. Correr, L. H. Azevedo [и др.] // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2014. – Т. 11. – № 2. – С. 82–90. – DOI: 10.1016/j.pdpdt.2014.03.009.

186. Fu, Y. M. Specific amino acid dependency regulates the cellular behavior of melanoma / Y. M. Fu, G. G. Meadows // Journal of Nutrition. – 2007. – Т. 137. – № 6 Suppl 1. – С. 1591S–1596S. – DOI: 10.1093/jn/137.6.1591S.

187. Gao, T. Non-Destructive Spatial Mapping of Glycosaminoglycan Loss in Native and Degraded Articular Cartilage Using Confocal Raman Microspectroscopy / T. Gao, A. J. Boys, C. Zhao, K. Chan, L. A. Estroff, L. J. Bonassar // Front Bioeng Biotechnol. – 2021. – Т. 9. – С. 744197. – DOI: 10.3389/fbioe.2021.744197.

188. Ge, S. Pump-free microfluidic chip based laryngeal squamous cell carcinoma-related microRNAs detection through the combination of surface-enhanced Raman scattering techniques and catalytic hairpin assembly amplification / S. Ge, G. Li, X. Zhou [и др.] // Talanta. – 2022. – Т. 245. – 123478. – DOI: 10.1016/j.talanta.2022.123478.

189. Gelardi, M. NASAL cytology: practical aspects and clinical relevance / M. Gelardi, L. Iannuzzi, N. Quaranta, M. Landi, G. Passalacqua // Clin Exp Allergy. – 2016. – Т. 46. – № 6. – С. 785–92.

190. Gessel, M. Decellularization of intact tissue enables MALDI imaging mass spectrometry analysis of the extracellular matrix / M. Gessel, J. M. Spraggins, P. Voziyan, B. G. Hudson, R. M. Caprioli // J Mass Spectrom. – 2015. – Т. 50. – № 11. – С. 1288–1293. – DOI: 10.1002/jms.3696.

191. Gevaert, P. The roles of eosinophils and interleukin-5 in the pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyps / P. Gevaert, J. K. Han, S. G. Smith, A. R. Sousa, P. H. Howarth, S. W. Yancey, R. Chan, C. Bachert // Int Forum Allergy Rhinol. – 2022. – Т. 12. – № 11. – С. 1413–1423. – DOI: 10.1002/alr.22994.

192. Ghaffari, K. Microbiological and Molecular Study of Paranasal Sinus

Infections of Children with Malignancy and Unknown Origin Fever in Markazi Province, Iran / K. Ghaffari, V. Falahati, T. Motallebirad, M. Safarabadi, A. H. Tashakor, D. Azadi // Curr Ther Res Clin Exp. – 2024. – Т. 100. – 100745. – DOI: 10.1016/j.curtheres.2024.100745.

193. Giotakis, E. I. Cysts of the maxillary sinus: a literature review / E. I. Giotakis, R. K. Weber // International Forum of Allergy and Rhinology. – 2013. – Т. 3. – № 9. – С. 766–771. – DOI: 10.1002/alr.21177.

194. Gong, H. Composition and abundance of microbiota in the pharynx in patients with laryngeal carcinoma and vocal cord polyps / H. Gong, B. Wang, Y. Shi [и др.] // J Microbiol. – 2017. – Т. 55. – № 8. – С. 648–654. – DOI: 10.1007/s12275-017-6636-8.

195. Goodilin, E. A. Promising methods for noninvasive medical diagnosis based on the use of nanoparticles: Surface-enhanced Raman spectroscopy in the study of cells, cell organelles and neurotrans-mitter metabolism markers / E. A. Goodilin, A. A. Semenova, O. E. Eremina [и др.] // Bulletin of Russian State Medical University. – 2018. – Т. 6. – С. 57–67. – DOI: 10.24075/brsmu.2018.077.

196. Green, C. R. Branched-chain amino acid catabolism fuels adipocyte differentiation and lipogenesis / C.R. Green, M. Wallace, A.S. Divakaruni [и др.] // Nature Chemical Biology. – 2016. – Т. 12. – С. 15–21.

197. Hajian-Tilaki, K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation / K. Hajian-Tilaki // Caspian Journal of Internal Medicine. – 2013. – Т. 4. – № 2 – С. 627–635.

198. Hamdy, O. Enhanced laser-induced fluorescence and Raman spectroscopy with gold nanoparticles for the diagnosis of oral squamous cell carcinoma / O. Hamdy, M. Nour, S. S. Kamel [и др.] // Discov Appl Sci. – 2024. – Т. 6. – 157. – DOI: 10.1007/s42452-024-05817-1.

199. Hamet, P. Artificial intelligence in medicine / P. Hamet, J. Tremblay // Metabolism. – 2017. – Т. 69S. – С. S36–S40. – DOI: 10.1016/j.metabol.2017.01.011.

200. Han, J. Data Mining: Concepts and Techniques / J. Han, M. Kamber, J. Pei. – 3rd ed. – Morgan Kaufmann, 2012. – 744 с. – ISBN 978-0-12-381479-1.

201. Han, R. Diagnostic accuracy of Raman spectroscopy in oral squamous cell

carcinoma / R. Han, N. Lin, J. Huang, X. Ma // Front Oncol. – 2022. – T. 12. – C. 925032. – DOI: 10.3389/fonc.2022.925032

202. Hanna, K. Advances in Raman spectroscopy for characterising oral cancer and oral potentially malignant disorders / K. Hanna, A. L. Asiedu, T. Theurer, D. Muirhead, V. Speirs, Y. Oweis, R. Abu-Eid // Expert Rev Mol Med. – 2024. – T. 26. – e25. – DOI: 10.1017/erm.2024.26.

203. Hanna, K. Raman spectroscopy: current applications in breast cancer diagnosis, challenges and future prospects / K. Hanna, E. Krzoska, A. M. Shaaban [и др.] // Br J Cancer. – 2022. –126(8). – C.1125-1139. DOI: 10.1038/s41416-021-01659-5.

204. Harar, R. P. Are maxillary mucosal cysts a manifestation of infl ammatory sinus disease? / R. P. Harar, N. K. Chadha, G. Rogers // J Laryngol. Otol. – 2007. – T. 121. – № 8. – C. 751–754.

205. Hassan, M. A. Enhancing Label-Free Fluorescence Lifetime Imaging for Intraoperative Tumor Margin Delineation in Head and Neck Cancer using Data-Centric AI / M. A. Hassan, L. Kraft, M. A. Azam, J. Bec, K. T. Hadfield, J. Qi, D. Gui, A. Bewley, M. Abouyared, J. Sorger, G. Farwell, A. C. Birkeland, L. Marcu // Res Sq [Preprint]. – 2025. – 23: rs.3.rs-6673642. – DOI: 10.21203/rs.3.rs-6673642/v1.

206. He, Y. Pathogenesis and treatment of chronic rhinosinusitis from the perspective of sinonasal epithelial dysfunction / Y. He, Y. Fu, Y. Wu, T. Zhu, H. Li // Front Med (Lausanne). – 2023. – T. 10. – 1139240. – DOI: 10.3389/fmed.2023.1139240.

207. He, Z. Artificial Intelligence for Decoding Diet-Gut Microbiome-Health Interactions: A Systematic Scoping Review / Z. He, F. Zhou, Y. Hao, B. Fan, J. Tong, Z. Guo, F. Wang, P. Ma // Food Nutrition. – 2026. – 2(2): 100087. DOI: 10.1016/j.fnutr.2026.100087.

208. Heath, S. Assessment of glycosaminoglycan content in bone using Raman spectroscopy / S. Heath, Y. Han, R. Hua, A. Roy, J. Jiang, J. S. Nyman, X. Wang // Bone. – 2023. – T. 171. –116751. – DOI: 10.1016/j.bone.2023.116751.

209. Hernández, B. Disulfide linkage Raman markers: a reconsideration attempt / B. Hernández, F. Pflüger, E. López-Tobar, S. G. Kruglik, J. V. Garcia-Ramos, S. Sanchez-Cortes, M. Ghomi // J. Raman Spectrosc. – 2014. – T. 45. – C. 657–664. – DOI:

10.1002/jrs.4521.

210. Hernandez-Herrera, G. A. Imaging Modalities for Head and Neck Cancer: Present and Future / G. A. Hernandez-Herrera, G. A. Calcano, A. A. Nagelschneider, D. M. Routman, K. M. Van Abel // Surg Oncol Clin N Am. – 2024. – Т. 33. – № 4. – С. 617–649. – DOI: 10.1016/j.soc.2024.04.002.

211. Holtkamp, H. U. Raman spectroscopy and mass spectrometry identifies a unique group of epidermal lipids in active discoid lupus erythematosus / H. U. Holtkamp, C. Aguergaray, K. Prangnell [и др.] // Sci Rep. – 2023. – Т. 13. – 16452. – DOI: 10.1038/s41598-023-43331-3.

212. Hu, D. Detecting urine metabolites of bladder cancer by surface-enhanced Raman spectroscopy / D. Hu, X. Xu, Z. Zhao, C. Li, Y. Tian, Q. Liu, B. Shao, S. Chen, Y. Zhao, L. Li, H. Bi, A. Chen, C. Fu, X. Cui, Y. Zeng // Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. – 2021. – Т. 247. – 119108. – DOI: 10.1016/j.saa.2020.119108.

213. Hung, S. H. A Taiwanese population-based study on the association between chronic tonsillitis and tonsil cancer / S. H. Hung, L. T. Kao, C. C. Huang, B. C. Shia, H. C. Lin // Oncotarget. – 2018. – Т. 9. – № 7. – С. 1–7. – DOI: 10.18632/oncotarget.24262.

214. Ibrahim, O. The Potential of Raman Spectroscopy in the Diagnosis of Dysplastic and Malignant Oral Lesions / O. Ibrahim, M. Toner, S. Flint, H. J. Byrne, F. M. Lyng // Cancers (Basel). – 2021. – Т. 13. – № 4. – 619. – DOI: 10.3390/cancers13040619.

215. Jahn, I. J. Surface enhanced Raman spectroscopy for medical diagnostics / I. J. Jahn, A. I. Radu, K. Weber [и др.] // Nanotechnology Characterization Tools for Biosensing and Medical Diagnosis / под ред. C. Kumar. – Berlin; Heidelberg: Springer, 2018. – DOI: 10.1007/978-3-662-56333-5_1.

216. Jones, R. R. Raman Techniques: Fundamentals and Frontiers / R. R. Jones, D. C. Hooper, L. Zhang, D. Wolverson, V. K. Valev // Nanoscale Res Lett. – 2019. – Т. 14. – № 1. С. 231. – DOI: 10.1186/s11671-019-3039-2.

217. Jung, K. Squamous cell carcinoma of head and neck: what internists should know / K. Jung, M. Narwal, S. Y. Min [и др.] // Korean Journal of Internal Medicine. – 2020. – Т. 35. – № 5. – С. 1031–1044. – DOI: 10.3904/kjim.2020.078.

218. Kalady, M. F. Thin Melanomas. Predictive Lethal Characteristics From a 30-Year Clinical Experience / M. F. Kalady, R. R. White, J. L. Johnson, D. S. Tyler, H. F. Seigler // Annals of Surgery. – 2003. – Т. 238. – № 4. – С. 528–537.

219. Kao, S. S. Proteomic analysis of nasal mucus samples of healthy patients and patients with chronic rhinosinusitis / S. S. Kao, A. Bassiouni, M. Ramezanpour, J. Finnie, N. Chegeni, A. D. Colella, T. K. Chataway, P. J. Wormald, S. Vreugde, A. J. Psaltis // J Allergy Clin Immunol. – 2021. – Т. 147. – № 1. – С. 168–178. – DOI: 10.1016/j.jaci.2020.06.037.

220. Kashoob, M. Label-Free Quantitative Proteomics Analysis of Nasal Lavage Fluid in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis / M. Kashoob, A. Masood, A. A. Alfadda, S. S. Joy, W. Alluhaim, S. Nawaz, M. Abaalkhail, O. Alotaibi, S. Alsaleh, H. Benabdelkamel // Biology. – 2024. – Т. 13. – 887. – DOI: 10.3390/biology13110887.

221. Keith, B. A. Intraoperative fluorescence in solid head and neck cancer: A scoping review / B. A. Keith, A. R. Marrero-Gonzalez, I. J. Chau, S. A. Nguyen, W. G. Albergotti, A. E. Kejner, J. G. Newman // Eur Arch Otorhinolaryngol. – 2025. – Т. 282. – № 11. – С. 5469–5484. – DOI: 10.1007/s00405-025-09442-5.

222. Khadem, H. Correlative Raman Imaging: Development and Cancer Applications / H. Khadem, M. Mangini, S. Farazpour, A. C. De Luca // Biosensors (Basel). – 2024. – Т. 14. – № 7. – 324. С. 324. – DOI: 10.3390/bios14070324.

223. Kim, D. K. Diagnostic accuracy of Raman spectroscopy for the diagnosis of bladder cancer: A systematic review and meta-analysis / D. K. Kim, Y. H. Kim, H. Y. Lee [и др.] // J Can Res Ther. – 2021. – Т. 17. – № 2. – С. 426–433. – DOI: 10.4103/jcrt.jcrt_891_19.

224. Kim, J. A. Optical spectroscopy for in vivo medical diagnosis – a review of the state of the art and future perspectives / J. A. Kim, D. J. Wales, G. Z. Yang // Prog Biomed Eng. – 2020. – Т. 2. – № 4. – DOI:10.1088/2516-1091/abaaa3

225. Knipfer, C. Raman difference spectroscopy: A non-invasive method for identification of oral squamous cell carcinoma / C. Knipfer, J. Motz, W. Adler [и др.] // Biomed Opt Express. – 2014. – Т. 5. – № 9. – С. 3252–3265. – DOI: 10.1364/BOE.6.002675.

226. Kong, K. Raman spectroscopy for medical diagnostics. From in-vitro biofluid assays to in-vivo cancer detection / K. Kong, C. Kendall, N. Stone, I. Notingher // Adv Drug Deliv Rev. – 2015. – Т. 89. – С. 121–134. – DOI: 10.1016/j.addr.2015.03.009.

227. Kook, E. Elucidating the Role of Lipid Metabolism-Related Signal Transduction and Inhibitors in Skin Cancer / E. Kook, D. H. Kim // Metabolites. – 2024. – Т. 14 (6). – С. 309. – DOI: 10.3390/metabo14060309.

228. Koster, H. J. Fused Raman spectroscopic analysis of blood and saliva delivers high accuracy for head and neck cancer diagnostics / H. J. Koster, A. Guillen-Perez, J. S. Gomez-Diaz [и др.] // Sci Rep. – 2022. – Т. 12 (1). – 18464. – DOI: 10.1038/s41598-022-22197-x.

229. Kouri, M. A. Raman spectroscopy: a personalized decision-making tool on clinicians' hands for in situ cancer diagnosis and surgery guidance / M. A. Kouri, E. Spyratou, M. Karnachoriti [и др.] // Cancers (Basel). – 2022. – Т. 14. – № 5. – 1144. – DOI: 10.3390/cancers14051144.

230. Krafft, C. Micro-Raman spectroscopy in medicine / C. Krafft, J. Popp // Phys Sci Rev. – 2020. – Т. 4. – № 10. – С. 147-172. – DOI: 10.1515/9783110515312-007.

231. Krishnan, G. Fluorescent Molecular Imaging Can Improve Intraoperative Sentinel Margin Detection in Oral Squamous Cell Carcinoma / G. Krishnan, N. S. van den Berg, N. Nishio, S. Kapoor, J. Pei, L. Freeman, Y. J. Lee, Q. Zhou, S. van Keulen, S. Farkurnejad, J. Condon, F. M. Baik, B. A. Martin, E. L. Rosenthal // J Nucl Med. – 2022. – Т. 63. – № 8. – С. 1162–1168. – DOI: 10.2967/jnumed.121.262235.

232. Kumar, P. Detection of inaccessible head and neck lesions using human saliva and fluorescence spectroscopy / P. Kumar // Lasers Med Sci. – 2022. – Т. 37. – № 3. – С. 1821–1827. – DOI: 10.1007/s10103-021-03437-4.

233. Lai, H. Surface-enhanced Raman spectroscopy for classification of laryngeal cancer and adjacent tissues / H. Lai, Z. Wan, Q. Wu [и др.] // Laser Physics. – 2019. – Т. 29. – № 10.

234. Lasalvia, M. A comparison of PCA-LDA and PLS-DA techniques for classification of vibrational spectra / M. Lasalvia, V. Capozzi, G. Perna // Applied Sciences. – 2022. – Т. 12. – № 11. – 5345. – DOI: 10.3390/app12115345.

235. Lauwerends, L. J. Current intraoperative imaging techniques to improve surgical resection of laryngeal cancer: a systematic review / L. J. Lauwerends, H. A. Galema, J. A. U. Hardillo [и др.] // Cancers (Basel). – 2021. – Т. 13. – № 8. – 1895. – DOI: 10.3390/cancers13081895.

236. LeCun, Y. Deep learning / Y. LeCun, Y. Bengio, G. Hinton // Nature. – 2015. – Т. 521. – № 7553. – С. 436–444. – DOI: 10.1038/nature14539.

237. Lednev, I. Raman spectroscopy and machine learning for medical diagnostics and forensic purposes / I. Lednev // Advanced laser technologies ALT`21: Book of abstracts the 28th International Conference. – Moscow, 2021. – Т. 21.

238. Lennon, Á. M. Fluorescence Spectroscopy Shows Porphyrins Produced by Cultured Oral Bacteria Differ Depending on Composition of Growth Media / Á. M. Lennon, L. Brune, S. Techert, W. Buchalla // Caries Res. – 2023. – Т. 57. – № 1. – С. 74–86. – DOI: 10.1159/000528731.

239. León-Bejarano, F. Improved Vancouver Raman Algorithm Based on Empirical Mode Decomposition for Denoising Biological Samples / F. León-Bejarano, M. O. Méndez, M. G. Ramírez-Elías, A. Alba // Appl. Spectrosc. – 2019. – Т. 73. – С. 1436–1450.

240. Lewis, J. S. Jr. Human Papillomavirus Testing in Head and Neck Carcinomas: Guideline Update / J. S. Lewis Jr., B. Beadle, J. A. Bishop, R. D. Chernock, C. Colasacco, T. Kalicanin, J. F. Krane, C. Lacchetti, J. T. Moncur, J. W. Rocco, M. R. Schwartz, R. R. Seethala, W. C. Faquin // Arch Pathol Lab Med. – 2025. – Т. 149. – № 6. – С. e115–e150. – DOI: 10.5858/arpa.2024-0388-CP.

241. Lewis, S. Scalable emulation of protein equilibrium ensembles with generative deep learning / S. Lewis, T. Hempel, J. Jiménez-Luna [и др.] // Science. – 2025. – Т. 389. – № 6761. – eadv9817. – DOI: 10.1126/science. adv9 817.

242. Li, J. Artificial intelligence-augmented, label-free molecular imaging method for tissue identification, cancer diagnosis, and cancer margin detection / J. Li, J. Liu, Y. Wang [и др.] // Biomedical Optics Express. – 2021. – Т. 12. – № 9. – С. 5559–5582. – DOI: 10.1364/BOE.428738.

243. Li, J. X. Untargeted metabolomic profiling identifies disease-specific and

outcome-related signatures in chronic rhinosinusitis / J. X. Li, Z. Z. Wang, G. T. Zhai, C. L. Chen, K. Z. Zhu, Z. Yu, Z. Liu // J Allergy Clin Immunol. – 2022. – Т. 150. – № 3. – С. 727–735.e6. – DOI: 10.1016/j.jaci.2022.04.006.

244. Li, X. Rapid multi-task diagnosis of oral cancer leveraging fiber-optic Raman spectroscopy and deep learning algorithms / X. Li, L. Li, Q. Sun, B. Chen, C. Zhao, Y. Dong, Z. Zhu, R. Zhao, X. Ma, M. Yu, T. Zhang // Front Oncol. – 2023. – Т. 13. – 1272305. – DOI: 10.3389/fonc.2023.1272305.

245. Li, Z. Machine-learning-assisted spontaneous Raman spectroscopy classification and feature extraction for the diagnosis of human laryngeal cancer / Z. Li, Z. Li, Q. Chen, J. Zhang, M. E. Dunham, A. J. McWhorter, J. M. Feng, Y. Li, S. Yao, J. Xu // Comput Biol Med. – 2022. – Т. 146. –105617. – DOI: 10.1016/j.compbiomed.2022.105617.

246. Lieu, E. L. Amino acids in cancer / E. L. Lieu, T. Nguyen, S. Rhyne, J. Kim // Experimental & Molecular Medicine. – 2020. – Т. 52. – № 1. – С. 15–30. – DOI: 10.1038/s12276-020-0375-3.

247. Lin, H. Human blood test based on sur-face-enhanced Raman spectroscopy technology using dif-ferent excitation light for nasopharyngeal cancer detection / H. Lin, J. Zhou, Q. Wu [и др.] // IET Nanobiotechnol. – 2019. – Т. 13. – № 9. – С. 942–945. – DOI: 10.1049/iet-nbt.2019.0221.

248. Lin, K. Optical diagnosis of laryngeal cancer using high wavenumber Raman spectroscopy / K. Lin, D. L. P. Cheng, Z. Huang // Biosens Bioelectron. – 2012. – Т. 35. – № 1. – С. 213–217. – DOI: 10.1016/j.bios.2012.02.050.

249. Lin, K. Real-time in vivo diagnosis of laryngeal carcinoma with rapid fiber-optic Raman spectroscopy / K. Lin, W. Zheng, C. M. Lim, Z. Huang // Biomed Opt Express. – 2016. – Т. 7. – № 9. – С. 3705–3715. – DOI: 10.1364/BOE.7.003705.

250. Lin, K. Real-time in vivo diagnosis of nasopharyngeal carcinoma using rapid fiber-optic Raman spectroscopy / K. Lin, W. Zheng, C. M. Lim, Z. Huang // Theranostics. – 2017. – Т. 7. – № 14. – С. 3517–3526. – DOI: 10.7150/thno.16359.

251. Litjens, G. A survey on deep learning in medical image analysis / G. Litjens, T. Kooi, B. E. Bejnordi, A. A. A. Setio, F. Ciompi, M. Ghafoorian, J. A. W. M. van der

Laak, B. van Ginneken, C. I. Sánchez // Med Image Anal. – 2017. – Т. 42. – С. 60–88. – DOI: 10.1016/j.media.2017.07.005.

252. Liu, C. H. Ultrasound Examinations of the Head and Neck – From the Beginning to Now / C. H. Liu, S. Y. Hsu, C. P. Wang // J Med Ultrasound. – 2019. – Т. 28. – № 1. – С. 5–6. – DOI: 10.4103/JMU.JMU_85_19.

253. Liu, W. Raman spectroscopy in colorectal cancer diagnostics: Comparison of PCA-LDA and PLS-DA models / W. Liu, Z. Sun, J. Chen, C. Jing // J Spectrosc. – 2016. – Т. 2016. – С. 1–6. – DOI: 10.1155/2016/1603609.

254. Lu, H. Fluorescence Spectroscopy Study of Protoporphyrin IX in Optical Tissue Simulating Liquid Phantoms / H. Lu, F. Floris, M. Rensing, S. Andersson-Engels // Materials (Basel). – 2020. – Т. 13. – № 9. – 2105. – DOI: 10.3390/ma13092105.

255. Luczaj, W. Differences in the phospholipid profile of melanocytes and melanoma cells irradiated with UVA and treated with cannabigerol and cannabidiol / W. Luczaj, I. Dobrzynska, E. Skrzydlewska // Scientific Reports. – 2023. – Т. 13. – № 1. – 16121. – DOI: 10.1038/s41598-023-43363-9.

256. Lunter, D. Novel aspects of Raman spectroscopy in skin research / D. Lunter, V. Klang, D. Kocsis, Z. Varga-Medveczky, S. Berko, F. Erdo // Experimental Dermatology. – 2022. – Т. 31. – № 9. – С. 1311–1329. – DOI: 10.1111/exd.14645.

257. Machiels, J. P. Squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx, oropharynx and hypopharynx: EHNS-ESMO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / J. P. Machiels, C. René Leemans, W. Golusinski, C. Grau, L. Licitra, V. Gregoire; EHNS Executive Board; ESMO Guidelines Committee ; ESTRO Executive Board // Ann Oncol. – 2020. – Т. 31. – № 11. – С. 1462–1475. – DOI: 10.1016/j.annonc.2020.07.011.

258. Mahdjoub, J. Fluorescence Spectroscopy for Real-Time Intraoperative Detection of Middle-Ear Cholesteatoma / J. Mahdjoub, O. Gaiffe, R. Altaisan, N. Zirganos, N. Passilly, B. Wacogne, E. Ramasso, L. Tavernier // Otolaryngol Head Neck Surg. – 2026. – Т. 174. – С. 1593–1598. – DOI: 10.1002/ohn.70207.

259. Mahmood, H. Artificial Intelligence-based methods in head and neck cancer diagnosis: an overview / H. Mahmood, M. Shaban, N. Rajpoot, S. A. Khurram // Br J

Cancer. – 2021. – T. 124. – № 12. – C. 1934–1940. – DOI: 10.1038/s41416-021-01386-x.

260. Maldonado, S. T. A Novel Imaging Technique to Identify Vocal Fold Scar Formation / S. T. Maldonado, A. Yu, Y. Alhiyari, R. Santuray, L. Nicolas, M. St John, J. L. Long // Laryngoscope Investig Otolaryngol. – 2026. – T. 11. – № 1. – e70350. – DOI: 10.1002/lio2.70350.

261. Maryam, S. Label-Free Optical Spectroscopy for Early Detection of Oral Cancer / S. Maryam, M. S. Nogueira, R. Gautam, S. Krishnamoorthy, S. K. Venkata Sekar, K. W. Kho, H. Lu, R. Ni Riordain, L. Feeley, P. Sheahan, R. Burke, S. Andersson-Engels // Diagnostics (Basel). – 2022. – T. 12. – № 12. – 2896. – DOI: 10.3390/diagnostics12122896.

262. Mat Lazim, N. Autofluorescence Image-Guided Endoscopy in the Management of Upper Aerodigestive Tract Tumors / N. Mat Lazim, A. H. Kandhro, A. Menegaldo, G. Spinato, B. Verro, B. Abdullah // Int J Environ Res Public Health. – 2022. – T. 20. – № 1. – 159. – DOI: 10.3390/ijerph20010159.

263. Matthies, L. Optical diagnosis of oral cavity lesions by label-free Raman spectroscopy / L. Matthies, M. T. Gebrekidan, J. F. Tegtmeyer, N. Oetter, M. Rohde, T. Vollkommer, R. Smeets, W. Wilczak, F. Stelzle, M. Gosau, A. S. Braeuer, C. Knipfer // Biomed Opt Express. – 2021. – T. 12. – № 2. – C. 836–851. – DOI: 10.1364/BOE.409456.

264. Maxfield, A. Z. Periostin as a Biomarker for Nasal Polyps in Chronic Rhinosinusitis / A. Z. Maxfield, L. D. Landegger, C. D. Brook, A. E. Lehmann, A. P. Campbell, R. W. Bergmark, K. M. Stankovic, R. Metson // Otolaryngol Head Neck Surg. – 2018. – T. 158. – № 1. – C. 181–186. – DOI: 10.1177/0194599817737967.

265. McGregor, H. Clinical utility of Raman spectroscopy: Current applications and ongoing developments / H. McGregor, W. Wang, M. Short, H. Zeng // Adv Health Care Technol. – 2016. – T. 2. – C. 13–29.

266. Melnikova, V. O. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer / V. O. Melnikova, H. N. Ananthaswamy // Mutation Research. – 2005. – T. 571. – № 1–2. – C. 91–106. – DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2004.11.015.

267. Meyer, T. J. Pilot study on the value of Raman spectroscopy in the entity

assignment of salivary gland tumors / T. J. Meyer, E. Gerhard-Hartmann, N. Lodes, A. Scherzad, R. Hagen, M. Steinke, S. Hackenberg // PLoS One. – 2021. – Т. 16. – № 9. – e0257470. – DOI: 10.1371/journal.pone.0257470.

268. Milligan, K. Raman spectroscopy and supervised learning as a potential tool to identify high-dose-rate-brachytherapy induced biochemical profiles of prostate cancer / K. Milligan, S. J. Van Nest, X. Deng [и др.] // Journal of Biophotonics. – 2022. – Т. 15. – № 11. – e202200121. – DOI: 10.1002/jbio.202200121.

269. Ming, L. C. Real time near-infrared Raman spectroscopy for the diagnosis of nasopharyngeal cancer / L. C. Ming, N. R. Gangodu, T. Loh, W. Zheng, J. Wang, K. Lin, H. Zhiwei // Oncotarget. – 2017. – Т. 8. – № 30. – С. 49443–49450. – DOI: 10.18632/oncotarget.17703.

270. Moon, I. J. Mucosal cysts in the paranasal sinuses: long-term follow-up and clinical implication / I. J. Moon, S. W. Kim, D. H. Han, J. M. Shin, C. Rhee, C. H. Lee, Y. Min // American Journal of Rhinology. – 2011. – Т. 25. – № 2. – С. 98–102. – DOI: 10.2500/ajra.2011.25.3567.

271. Moon, I. J. Characteristics and risk factors of mucosal cysts in the paranasal sinuses / I. J. Moon, J. E. Lee, S. T. Kim, D. H. Han, C. S. Rhee, C. H. Lee, Y. G. Min // Rhinology. – 2011. – Т. 49. – № 3. – С. 309–314.

272. Movasaghi, Z. U. Raman spectroscopy of biological tissues / Z. Movasaghi, S. Rehman, I. Rehman // Applied Spectroscopy Reviews. – 2007. – Т. 42. – № 5. – С. 493–541. – DOI: 10.1080/05704920701551530.

273. Mustorgi, E. An analytical approach based on excitation-emission fluorescence spectroscopy and chemometrics for the screening of prostate cancer through urine analysis: A proof-of-concept study / E. Mustorgi, C. Durante, C. Malegori, P. Greco, R. Bartoletti, M. Cocchi, M. Casale // Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. – 2023. – Т. 234. – 104752. – ISSN 0169-7439. – DOI: 10.1016/j.chemolab.2023.104752.

274. Namazi, H. Diagnosis of skin cancer by correlation and complexity analyses of damaged DNA / H. Namazi, V. V. Kulish, F. Delaviz, A. Delaviz // Oncotarget. – 2015. – Т. 6. – № 40. – С. 42623–42631. – DOI: 10.18632/oncotarget.6003.

275. Narayanan, S. Bimodal multispectral imaging system with cloud-based

machine learning algorithm for real-time screening and detection of oral potentially malignant lesions and biopsy guidance / S. Narayanan, S. Anand, R. Prasanna, S. Managoli, R. Suvarnadas, V. Shyamsundar, K. Nagarajan, S. K. Mishra, M. Johnson, M. Dathurao Ramanand, S. C. Jogigowda, V. Rao, K. S. Gopinath // J Biomed Opt. – 2021. – Т. 26. – № 8. – 086003. – DOI: 10.1117/1.JBO.26.8.086003.

276. Nunes, R. B. Clinical diagnosis and histological analysis of vocal nodules and polyps / R. B. Nunes, M. Behlau, M. B. Nunes, J. G. Paulino // Braz J Otorhinolaryngol. – 2013. – Т. 79. – № 4. – С. 434–40. – DOI: 10.5935/1808-8694.2013007.

277. Omar, E. O. R. The role of immuno-histochemistry in the workup of malignant neoplasms of unknown primary origin at Khartoum oncology hospital / E. O. R. Omar, N. Haussein, A. Ismail // Asian Pac J Cancer Care. – 2021. – Т. 6. – № 4. – С. 441–447. – DOI: 10.31557/APJCC.2021.6.4.441.

278. Pahlow, S. Application of vibrational spectroscopy and imaging to point-of-care medicine: A review / S. Pahlow, K. Weber, J. Popp [и др.] // Appl Spectrosc. – 2018. – Т. 72. – № 1_suppl. – С. 52–84. – DOI: 10.1177/0003702818791939.

279. Pan, L. Classification of chronic rhinosinusitis with nasal polyps based on eosinophilic inflammation / L. Pan, Z. Liu // Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. – 2019. – Т. 54. – № 3. – С. 222–226. – DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2019.03.013.

280. Pandey, R. Discerning the differential molecular pathology of proliferative middle ear lesions using Raman spectroscopy / R. Pandey, S. K. Paidi, J. W. Kang, N. Spegazzini, R. R. Dasari, T. A. Valdez, I. Barman // Sci Rep. – 2015. – Т. 5. – 13305. – DOI: 10.1038/srep13305.

281. Pawłowska-Góral, K. Glycosoaminoglycans in nasal polyps / K. Pawłowska-Góral, T. Gierek, K. Majzel, P. Wardas, M. Wardas // Acta Otolaryngol. – 2005. – Т. 125. – № 2. – С. 177–9. – DOI: 10.1080/00016480410017116.

282. Peng, Y. Single-Cell Raman Spectroscopy Combined with Metabolomics Reveals Distinct Metabolic Profiles in Medulloblastoma Subtypes / Y. Peng, M. Li, Y. Liu, R. Zhang, B. Liu, K. Zhang // Anal Chem. – 2025. – Т. 97. – № 39. – С. 21358–21365. – DOI: 10.1021/acs.analchem.5c02816.

283. Pereira, L. Prevalence of adenoid hypertrophy: A systematic review and meta-analysis / L. Pereira, J. Monyror, F. T. Almeida, F. R. Almeida, E. Guerra, C. Flores-Mir, C. Pachêco-Pereira // Sleep Med Rev. – 2018. – Т. 38. – С. 101–112. – DOI: 10.1016/j.smrv.2017.06.001.

284. Petersson, F. Nasopharyngeal carcinoma: a review / F. Petersson // Semin Diagn Pathol. – 2015. – Т. 32. – № 1. – С. 54–73. – DOI: 10.1053/j.semdp.2015.02.021.

285. Pezzotti, G. Raman Spectroscopic Algorithms for Assessing Virulence in Oral Candidiasis: The Fight-or-Flight Response / G. Pezzotti, T. Adachi, H. Imamura, S. Ikegami, R. Kitahara, T. Yamamoto, N. Kanamura, W. Zhu, K. I. Ishibashi, K. Okuma, O. Mazda, A. Komori, H. Komatsuzawa, K. Makimura // Int J Mol Sci. – 2024. – Т. 25. – № 21. – 11410. – DOI: 10.3390/ijms252111410.

286. Phyo, J. B. Label-Free SERS Analysis of Urine Using a 3D-Stacked AgNW-Glass Fiber Filter Sensor for the Diagnosis of Pancreatic Cancer and Prostate Cancer / J. B. Phyo, A. Woo, H. J. Yu, K. Lim, B. H. Cho, H. S. Jung, M. Y. Lee // Anal Chem. – 2021. – Т. 93. – № 8. – С. 3778–3785. – DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04200.

287. Pietruszewska, M. Raman spectroscopy of lymphocytes from patients with the Epstein-Barr virus infection / M. Pietruszewska, G. Biesiada, J. Czepiel, M. Birczyńska-Zych, P. Moskal, A. Garlicki, A. Wesełucha-Birczyńska // Sci Rep. – 2024. – Т. 14. – № 1. – 6417. – DOI: 10.1038/s41598-024-56864-y.

288. Podo, F. Activation of Phosphatidylcholine-Specific Phospholipase C in Breast and Ovarian Cancer: Impact on MRS-Detected Choline Metabolic Profile and Perspectives for Targeted Therapy / F. Podo, L. Paris, S. Cecchetti [и др.] // Frontiers in Oncology. – 2016. – Т. 6. – 171. – DOI: 10.3389/fonc.2016.00171.

289. Qi, Y. Applications of Raman Spectroscopy in Clinical Medicine / Y. Qi [и др.]. – 2023. – URL: https://arxiv.org/abs/2304.07740.

290. Ralbovsky, N. M. Towards development of a novel universal medical diagnostic method: Raman spectroscopy and machine learning / N. M. Ralbovsky, I. K. Lednev // Chem Soc Rev. – 2020. – Т. 49. – № 20. – С. 7428–7453. – DOI: 10.1039/D0CS01019G.

291. Ramírez-Elías, M. G. Raman spectroscopy for in vivo medical diagnosis / M.

G. Ramírez-Elías, F. J. González // Raman Spectroscopy. – London: IntechOpen. – 2018. – P. 293–311. – DOI: 10.5772/intechopen.73030.

292. Rebrosova, K. Raman Spectroscopy-A Novel Method for Identification and Characterization of Microbes on a Single-Cell Level in Clinical Settings / K. Rebrosova, O. Samek, M. Kizovsky, S. Bernatova, V. Hola, F. Ruzicka // Front Cell Infect Microbiol. – 2022. – T. 12. – 866463. – DOI: 10.3389/fcimb.2022.866463.

293. Resteghini, C. Sinonasal malignancy: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up / C. Resteghini, B. Baujat, P. Bossi, A. Franchi, L. de Gabory, J. Halamkova, F. Haubner, J. A. U. Hardillo, M. A. Hermsen, N. A. Iacovelli, R. Maroldi, S. Mattheis, A. Moya-Plana, P. Nicolai, E. Orlandi, J. Thariat, A. Trama, M. W. M. van den Brekel, C. M. L. van Herpen, B. Verillaud, E. Kinloch, L. Licitra, C. Even; ESMO Guidelines Committee // ESMO Open. – 2025. – T. 10. – № 2. – 104121. – DOI: 10.1016/j.esmoop.2024.104121.

294. Righi, V. Metabolomic Analysis of Actinic Keratosis and SCC Suggests a Grade-Independent Model of Squamous Cancerization / V. Righi, C. Reggiani, E. Tarentini, A. Mucci, A. Paganelli, A. M. Cesinaro [и др.] // Cancers. – 2021. – T. 13. – № 21. –5560. – DOI: 10.3390/cancers13215560.

295. Rimskaya, E. Multi-Wavelength Raman Differentiation of Malignant Skin Neoplasms / E. Rimskaya, A. Gorevoy, S. Shelygina, E. Perevedentseva, A. Timurzieva, I. Saraeva, N. Melnik, S. Kudryashov, A. Kuchmizhak // Int J Mol Sci. – 2024. – T. 25. – № 13. – 7422. – DOI: 10.3390/ijms25137422.

296. Rimskaya, E. Multispectral Raman Differentiation of Malignant Skin Neoplasms In Vitro: Search for Specific Biomarkers and Optimal Wavelengths / E. Rimskaya, S. Shelygina, A. Timurzieva, I. Saraeva, E. Perevedentseva, N. Melnik, K. Kudrin, D. Reshetov, S. Kudryashov // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – T. 24 (19). – 14748.

297. Salvador-Coloma, C. Multidisciplinary care of laryngeal cancer / C. Salvador-Coloma, E. Cohen // Journal of Oncology Practice. – 2016. – T. 12. – № 8. – C. 717–724. – DOI: 10.1200/JOP.2016.014225.

298. Sandison, A. Update from the 5th Edition of the World Health Organization

Classification of Head and Neck Tumours: Tumours of the Ear / A. Sandison // Head Neck Pathol. – 2022. – Т. 16. – № 1. – С. 76–86. – DOI: 10.1007/s12105-022-01450-9.

299. Shah, S. A. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyp and a prominent T2 endotype / S. A. Shah, M. Kobayashi // Heliyon. – 2023. – Т. 9. – № 9. – e19249. – DOI: 10.1016/j.heliyon. 2023.e19249.

300. Savitzky, A. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures / A. Savitzky, M. J. E. Golay // Analytical Chemistry. – 1964. – Т. 36. – № 8 – С. 1627–1639. – DOI: 10.1021/ac60214a047.

301. Schiffman, J. D. Early detection of cancer: past, present, and future / J. D. Schiffman, P. G. Fisher, P. Gibbs // Am Soc Clin Oncol Educ Book. – 2015. – С. 57–65. – DOI: 10.14694/EdBook_AM.2015.35.57.

302. Senger, R. S. Disease-associated multimolecular signature in the urine of patients with lyme disease detected using Raman spectroscopy and chemometrics / R. S. Senger, A. Sayed Issa, B. Agnor [и др.] // Appl Spectrosc. – 2022. – Т. 76. – № 3. – С. 284–299. – DOI: 10.1177/00037028211061769.

303. Sharma, M. Developing an Algorithm for Discriminating Oral Cancerous and Normal Tissues Using Raman Spectroscopy / M. Sharma, M. J. Jeng, C. K. Young, S. F. Huang, L. B. Chang // J Pers Med. – 2021. – Т. 11. – № 11. – 1165. – DOI: 10.3390/jpm11111165.

304. Sharma, M. Identification of Healthy Tissue from Malignant Tissue in Surgical Margin Using Raman Spectroscopy in Oral Cancer Surgeries / M. Sharma, Y. C. Li, S. N. Manjunatha, C. L. Tsai, R. M. Lin, S. F. Huang, L. B. Chang // Biomedicines. – 2023. – Т. 11. – № 7. – 1984. – DOI: 10.3390/biomedicines11071984.

305. Sheen, J. H. Defective regulation of autophagy upon leucine deprivation reveals a targetable liability of human melanoma cells in vitro and in vivo / J. H. Sheen, R. Zoncu, D. Kim, D. M. Sabatini // Cancer Cell. – 2011. –19(5):613-28. С. 613–628. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.03.012.

306. Shu, C. Real-time in vivo cancer staging of nasopharyngeal carcinoma patients with rapid fiberoptic Raman endoscopy / C. Shu, W. Zheng, K. Lin, C. M. Lim, Z. Huang // Talanta. – 2023. – Т. 259. – 124561. – DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124561.

307. Sieroń, A. The role of fluorescence diagnosis in clinical practice / A. Sieroń, K. Sieroń-Stołtny, A. Kawczyk-Krupka, W. Latos, S. Kwiatek, D. Straszak, A. M. Bugaj // Onco Targets Ther. – 2013. – Т. 6. – С. 977–982. – DOI: 10.2147/OTT.S42074.

308. Sim, A. J. A review of the role of MRI in diagnosis and treatment of early stage lung cancer / A. J. Sim, E. Kaza, L. Singer, S. A. Rosenbeg // Clin Transl Radiat Oncol. – 2020. – Т. 24. – С. 16–22. – DOI: 10.1016/j.ctro.2020.06.002.

309. Simonato, L. E. Fluorescence visualization efficacy for detecting oral lesions more prone to be dysplastic and potentially malignant disorders – a pilot study / L. E. Simonato, S. Tomo, G. I. Miyahara [и др.] // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2017. – Т. 17. – С. 1–4. – DOI: 10.1016/j.pdpdt.2016.10.010.

310. Simons, D. C. Fluorescence-Guided Surgery in Pediatric Oncology: Current Practice and Future Directions / D. C. Simons, L. H. M. van Schalkwijk, M. A. J. van de Sande, A. L. Vahrmeijer, M. H. W. A. Wijnen, A. F. W. van der Steeg, W. S. F. J. Tummers // Cancers (Basel). – 2025. – Т. 18. – № 1. – 149. – DOI: 10.3390/cancers18010149.

311. Smolsky, J. Surface-enhanced Raman scattering-based immunoassay technologies for detection of disease biomarkers / J. Smolsky, S. Kaur, C. Hayashi [и др.] // Biosensors (Basel). – 2017. – Т. 7. – № 1. – 7. – DOI: 10.3390/bios7010007.

312. Song, X. Genotypic and Phenotypic Characterisation of Staphylococcus aureus Enterotoxins Using Single-Cell Raman Spectroscopy and Metabolomics / X. Song, Z. Zhang, T. Zhan, L. Liu, X. Wei, Y. Liu, J. Tao, M. Xie, G. Liu, D. Wang, Y. V. Fu, X. Yan, Q. Wei // Pathogens. – 2026. – Т. 15. – № 3. – 255. – DOI: 10.3390/pathogens15030255.

313. Sood, R. Ultrasound for breast cancer detection globally: A systematic review and meta-analysis / R. Sood, A. F. Rositch, D. Shakoor [и др.] // J Glob Oncol. – 2019. – Т. 5. – С. 1–17. – DOI: 10.1200/JGO.19.00127.

314. Souto, E. B. Lipid Nanocarriers for Hyperproliferative Skin Diseases / E. B. Souto, A. L. R. de Souza, F. K. Dos Santos [и др.] // Cancers. – 2021. – Т. 13. – № 22. – Ст. 5619. – DOI: 10.3390/cancers13225619.

315. Srinivasan, A. The Use of Fluorescent Markers to Detect and Delineate Head

and Neck Cancer: A Scoping Review / A. Srinivasan, V. Kaminskaite, S. C. Winter // Clin Otolaryngol. – 2025. – T. 50. – № 2. – C. 220–240. – DOI: 10.1111/coa.14263.

316. St John, M. A. Multidisciplinary approach to head and neck cancer / M. A. St John // Otolaryngologic Clinics of North America. – 2017. – T. 50. – № 4. – DOI: 10.1016/j.otc.2017.06.002.

317. Staritzbichler, R. Raman spectroscopy on blood serum samples of patients with end-stage liver disease / R. Staritzbichler, P. Hunold, I. Estrela-Lopis [и др.] // PLoS One. – 2021. – T. 16. – № 9. – e0256045. – DOI: 10.1371/journal.pone.0256045.

318. Stathas, T. MIF attenuates the suppressive effect of dexamethasone on IL-6 production by nasal polyp / T. Stathas, S. D. Athanassiou, S. Drakouli, E. Giannopoulou, N. S. Mastronikolis, S. Naxakis, A. J. Aletras // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2013. – T. 17. – № 11. – C. 1455–66.

319. Steinkamp, P. J. A Standardized Framework for Fluorescence-Guided Margin Assessment for Head and Neck Cancer Using a Tumor Acidosis Sensitive Optical Imaging Agent / P. J. Steinkamp, F. J. Voskuil, B. van der Vegt, J. J. Doff, K. P. Schepman, S. A. H. J. de Visscher, W. Kelder, Y. Jayalakshmi, J. Gao, B. D. Sumer, G. M. van Dam, M. J. H. Witjes // Mol Imaging Biol. – 2021. – T. 23. – № 6. – C. 809–817. – DOI: 10.1007/s11307-021-01614-z.

320. Steuer, C. E. An update on larynx cancer / C. E. Steuer, M. El-Deiry, J. R. Parks [и др.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2017. – T. 67. – № 1. – C. 31–50. – DOI: 10.3322/caac.21386.

321. Sung, H. Global cancer statistics 2024: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 34 cancers in 186 countries / H. Sung, A. M. Filho, M. Laversanne, J. Ferlay, R. L. Siegel, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray // CA Cancer J Clin. – 2026. – T. 76. – № 4. – e70090. – DOI: 10.3322/caac.70090.

322. Swinson, B. Optical techniques in diagnosis of head and neck malignancy / B. Swinson, W. Jerjes, M. El-Maaytah [и др.] // Oral Oncol. – 2006. – T. 42. – № 3. – C. 221–228. – DOI: 10.1016/j.oraloncol-ogy.2005.05.001.

323. Szekely, D. Histopathological and Molecular Insights into Chronic Nasopharyngeal and Otic Disorders in Children: Structural and Immune Mechanisms

Underlying Disease Chronicity / D. Szekely, F. Zara, R. Patrascu, C. S. Dumitru, D. Novacescu, A. Manole, C. A. Mogoanta, D. Iovanescu, G. Iovanescu // Life. – 2025. – T. 15. – 1228. – DOI: 10.3390/life15081228.

324. Szlasa, W. Lipid composition of the cancer cell membrane / W. Szlasa, I. Zendran, A. Zalesinska, M. Tarek, J. Kulbacka // Journal of Bioenergetics and Biomembranes. – 2020. – T. 52. – № 5. – C. 321–342. – DOI: 10.1007/s10863-020-09846-4.

325. Tang, Y. Sensorineural damage in chronic suppurative otitis media with and without cholesteatoma: a comparative study / Y. Tang, B. Lian, M. Zhang, X. Tu, T. Zhang, H. Wang // Ann Transl Med. – 2022. – T. 10. – № 14. – 778. – DOI: 10.21037/atm-22-2606.

326. Teh, S. K. Spectroscopic diagnosis of laryngeal carcinoma using near-infrared Raman spectroscopy and random recursive partitioning ensemble techniques / S. K. Teh, W. Zheng, D. P. Lau, Z. Huang // Analyst. – 2009. – T. 134. – № 6. – C. 1232–1239. – DOI: 10.1039/b811008e.

327. Tharwat, A. Linear discriminant analysis: a detailed tutorial / A. Tharwat, T. Gaber, A. Ibrahim, A. E. Hassanien // AI Communications. – 2017. – T. 30. – № 2. – C. 169–190. – DOI: 10.3233/AIC-170729.

328. Thomas Robbins, K. Surgical margins in head and neck cancer: intra- and postoperative considerations / K. Thomas Robbins, A. Triantafyllou, C. Suárez [и др.] // Auris Nasus Larynx. – 2019. – T. 46. – № 1. – C. 10–17. – DOI: 10.1016/j.anl.2018.08.011.

329. Tian, W. Explainable Artificial Intelligence-Driven Salivary Exosome Spectroscopic Profiling for Clinical Diagnosis and Metastasis Detection of Oral Cancer / W. Tian, Y. Xie, H. Su, C. Zheng, M. Li // Nano Lett. – 2026. – T. 26. – № 6. – C. 2279–2288. – DOI: 10.1021/acs.nanolett.5c06160.

330. Tozar, T. Case series about ex vivo identification of squamous cell carcinomas by laser-induced autofluorescence and Fourier transform infrared spectroscopy / T. Tozar, I. R. Andrei, R. Costin [и др.] // Lasers in Medical Science. – 2018. – T. 33. – № 4. – C. 861–869. – DOI: 10.1007/s10103-018-2445-5.

331. Tsuda, T. The current findings in eosinophilic chronic rhinosinusitis / T. Tsuda, M. Suzuki, Y. Kato, M. Kidoguchi, T. Kumai, S. Fujieda, M. Sakashita // Auris Nasus Larynx. – 2024. – Т. 51. – № 1. – С. 51–60. – DOI: 10.1016/j.anl.2023.08.002.

332. Tuchin, V. V. Optical technologies in monitoring mobility and delivery of drugs and metabolic agents / V. V. Tuchin, T. Dai, L. M. Oliveira // Adv Drug Deliv Rev. – 2025. – Т. 226. – С. 115699. – DOI: 10.1016/j.addr.2025.115699.

333. Uckermann, O. Optical biochemical imaging: Potential new applications in neuro-oncology / O. Uckermann, R. Galli, L. Mackenroth [и др.] // Eur Assoc NeuroOncol. – 2014. – Т. 4. – № 1. – С. 20–26.

334. Udensi, J. Quantitative Raman Analysis of Carotenoid Protein Complexes in Aqueous Solution / J. Udensi, E. Loskutova, J. Loughman, H. J. Byrne // Molecules. – 2022. – Т. 27. – № 15. – 4724. – DOI: 10.3390/molecules27154724.

335. Valenzuela, C. Y. Confiabilidad de la sensibilidad y especificidad del 100% [Confidence of 100 per cent sensitivity and specificity] / C. Y. Valenzuela // Rev Med Chil. – 1997. – Т. 125. – № 2. – С. 228–235.

336. van Lanschot, C. Raman spectroscopy to discriminate laryngeal squamous cell carcinoma from non-cancerous surrounding tissue / C. van Lanschot, T. B. Schut, E. Barroso, A. Sewnaik, J. Hardillo, D. Monserez, C. Meeuwis, S. Keereweer, R. B. de Jong, G. Puppels, S. Koljenović // Lasers Med Sci. – 2023. – Т. 38. – № 1. – 193. – DOI: 10.1007/s10103-023-03849-4.

337. Velísková, M. The role of spectral characteristics of urine in bladder cancer diagnostics / M. Velísková, D. Masarovičová, I. Waczulíková [и др.] // Sci Rep. – 2025. – Т. 15. – 29979. – DOI: 10.1038/s41598-025-15801-3.

338. Vonk, J. Improving oral cavity cancer diagnosis and treatment with fluorescence molecular imaging / J. Vonk, J. G. de Wit, F. J. Voskuil, M. J. H. Witjes // Oral Dis. – 2021. – Т. 27. – № 1. – С. 21–26. – DOI: 10.1111/odi.13308.

339. Vyas, B. Raman hyperspectroscopy of saliva and machine learning for Sjögren's disease diagnostics / B. Vyas, A. Khatiashvili, L. Galati, K. Ngo, N. Gildener-Leapman, M. Larsen, I. K. Lednev // Sci Rep. – 2024. – Т. 14. – № 1. – 11135. – DOI: 10.1038/s41598-024-59850-6.

340. Wang, J. Y. Temporal trends in incidence and mortality rates of laryngeal cancer at the global, regional and national levels, 1990–2017 / J. Y. Wang, Q. W. Zhang, K. Wen [и др.] // BMJ Open. – 2021. – Т. 11. – № 10. – e050387. – DOI: 10.1136/bmjopen-2021-050387.

341. Wang, Y. Current Trends of Raman Spectroscopy in Clinic Settings: Opportunities and Challenges / Y. Wang, L. Fang, Y. Wang, Z. Xiong // Adv Sci (Weinh). – 2024. – Т. 11. – № 7. – e2300668. – Epub 2023 Dec 10. – DOI: 10.1002/advs.202300668.

342. Weerarathna, I. N. Engineering with Biomedical Sciences Changing the Horizon of Healthcare-A Review / I. N. Weerarathna, P. Kumar, A. Luharia, G. Mishra // Bioengineered. – 2024. – Т. 15. – № 1. – 2401269. – DOI: 10.1080/21655979.2024.2401269.

343. Wei, Y. The association of tryptophan and phenylalanine are associated with arsenic-induced skin lesions in a Chinese population chronically exposed to arsenic via drinking water: a case-control study / Y. Wei, C. Jia, Y. Lan [и др.] // BMJ Open. – 2019. – Т. 9. – e025336. – DOI: 10.1136/bmjopen-2018-025336.

344. Wilson, A. D. Noninvasive Early Disease Diagnosis by Electronic-Nose and Related VOC-Detection Devices / A. D. Wilson // Biosensors. – 2020. – Т. 10. – № 7. – С. 73. – DOI: 10.3390/bios10070073.

345. Workman, A.D. Translating transcription: proteomics in chronic rhinosinusitis with nasal polyps reveals significant discordance with messenger RNA expression / A.D. Workman, A.L. Nocera, S.K. Mueller, H.H. Otu, T.A. Libermann, B.S. Bleier // Int Forum Allergy Rhinol. – 2019. – Т. 9. – № 7. – С. 776–786. – DOI: 10.1002/alr.22315.

346. Xie, S. Serum metabolomics identifies uric acid as a possible novel biomarker for predicting recurrence of chronic rhinosinusitis with nasal polyps / S. Xie, C. Zhang, Z. Xie, J. Zhang, H. Zhang, W. Jiang // Rhinology. – 2023. – Т. 61. – № 6. – С. 541–551.; eubopen.org; opg. optica. orgSpectroscopy Online. – URL: https://pubs.rsc.org/; – DOI: 10.4193/Rhin23.236.

347. Xie, S. The Role of Serum Metabolomics in Distinguishing Chronic

Rhinosinusitis with Nasal Polyp Phenotypes / S. Xie, H. Zhang, Y. Liu, K. Gao, J. Zhang, R. Fan, S. Xie, Z. Xie, F. Wang, W. Jiang // Front Mol Biosci. – 2021. – T. 7. – 593976. – DOI: 10.3389/fmolb.2020.593976.

348. Xu, J. Raman Flow Cytometry and Its Biomedical Applications / J. Xu, H. Chen, C. Wang, Y. Ma, Y. Song // Biosensors (Basel). – 2024. – T. 14. – № 4. – 171. – DOI: 10.3390/bios14040171.

349. Yang, B. Application of surface-enhanced Raman spectroscopy in head and neck cancer diagnosis / B. Yang, X. Dai, S. Chen, C. Li, B. Yan // Analytical Chemistry. – 2025. – T. 97. – № 7. – C. 3781–3798. – DOI: 10.1021/acs.analchem.4c02796.

350. Yang, B. Noninvasive surface-enhanced Raman spectroscopy outperforms combined positive score in predicting sensitivity to neoadjuvant immunotherapy in head and neck squamous cell carcinoma / B. Yang, X. Dai, Z. Li, Z. Wu, S. Chen, C. Li, B. Yan // Oral Oncol. – 2024. – T. 159. – 107105. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2024.107105.

351. Yang, X. Application of Artificial Intelligence to the Diagnosis and Therapy of Nasopharyngeal Carcinoma / X. Yang, J. Wu, X. Chen // J. Clin. Med. – 2023. –12(9). – 3077. – DOI: 10.3390/jcm12093077.

352. Yanina, I. Y. Optical Clearing of Ex Vivo Adipose Tissue / I. Y. Yanina, E. A. Genina, D. K. Tuchina, P. A. Timoshina, N. A. Navolokin, A. B. Bucharskaya, G. N. Maslyakova, V. V. Tuchin // Lasers Surg Med. – 2024. – T. 56. – № 10. – C. 829–835. – DOI: 10.1002/lsm.23860.

353. Yilmaz, G. O. The diagnostic importance of periostin as a biomarker in chronic rhinosinusitis with nasal polyp / G. O. Yilmaz, E. A. Cetinkaya, H. Eyigor [и др.] // Eur Arch Otorhinolaryngol. – 2022. – T. 279. – C. 5707–5714. – DOI: 10.1007/s00405-022-07492-7.

354. Yin, X. Phototheranostics for multifunctional treatment of cancer with fluorescence imaging / X. Yin, Y. Cheng, Y. Feng, W. R. Stiles, S. H. Park, H. Kang, H. S. Choi // Adv Drug Deliv Rev. – 2022. – T. 189. – 114483. – DOI: 10.1016/j.addr.2022.114483.

355. Zhang, C. Coherent Raman scattering microscopy in biology and medicine /

C. Zhang, D. Zhang, J.-X. Cheng // Annu Rev Biomed Eng. – 2015. – Т. 17. – С. 415–445. – DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040554.

356. Zhang, Y. Recent advances of photodiagnosis and treatment for head and neck squamous cell carcinoma / Y. Zhang, Z. Li, C. Zhang, C. Shao, Y. Duan, G. Zheng, Y. Cai, M. Ge, J. Xu // Neoplasia. – 2025. – Т. 60. – 101118. –DOI: 10.1016/j.neo.2024.101118.

357. Zhang, Y. Structural biology of the purine biosynthetic pathway / Y. Zhang, M. Morar, S. E. Ealick // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2008. – Т. 65. – С. 3699–3724.

358. Zhang, Y. Raman Spectroscopy: A Potential Diagnostic Tool for Oral Diseases / Y. Zhang, L. Ren, Q. Wang, Z. Wen, C. Liu, Y. Ding // Front Cell Infect Microbiol. – 2022. – Т. 12. – 775236. – DOI: 10.3389/fcimb.2022.775236.

359. Zhang, Z.-M. Baseline Correction Using Adaptive Iteratively Reweighted Penalized Least Squares / Z.-M. Zhang, S. Chen, Y.-Z. Liang // Analyst. – 2010. – Т. 135. – № 5. – С. 1138–1146. – DOI: 10.1039/B922045C.

360. Zhao, Y. Accuracy of Raman spectroscopy in laryngeal carcinoma diagnosis: a meta-analysis / Y. Zhao, Z. Qiu, J. Guo, W. Chang // Eur J Med Res. – 2025. – Т. 30. – № 1. – 1101. – DOI: 10.1186/s40001-025-03309-5.

361. Zheng, Q. Diagnosis accuracy of Raman spectroscopy in colorectal cancer / Q. Zheng, W. Kang, C. Chen [и др.] // Medicine (Baltimore). – 2019. – Т. 98. – № 34. – e16940. – DOI: 10.1097/MD.0000000000016940.

362. Zhou T, AI-empowered human microbiome research / T. Zhou, F. Zhao // Gut. – 2026. – 75(7):1432-1446. doi: 10.1136/gutjnl-2025-335946.

363. Zhu X. Recent advances in applications of artificial intelligence-assisted Raman spectroscopy in diagnosis of cancers / X. Zhu, Y. Zhao, C. Zan, H. Ma, J. Liu // Front Mol Biosci. –2025. – 12:1690063. doi: 10.3389/fmolb.2025.1690063.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Наименование иллюстративного материала	№ стр.
Список рисунков	
Рисунок 1 – Концепция и дизайн исследования	52
Рисунок 2 – Полосы КРС слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (парафиновые блоки). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	79
Рисунок 3 – Спектр парафина. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	80
Рисунок 4 – Спектральные особенности криогеля, применяемого для фиксации образца. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	81
Рисунок 5 – Линии комбинационного рассеяния света слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (фиксация образцов в криогеле). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	81
Рисунок 6 – Сравнительный анализ спектров при хроническом риносинусите без формирования полипов после фиксации в парафине (1 группа) и геле (2 группа). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	82
Рисунок 7 – Диаграмма Венна, отражающая пересечение пиков группы 1, группы 2 и спектра геля	84
Рисунок 8 – Образцы слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите (криогель, стекло с алюминиевым напылением): участки слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов (1,3), интактная слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи (2)	84
Рисунок 9 – Спектральные характеристики слизистой оболочки при хроническом риносинусите без формирования полипов (группа 3) с иллюстрацией наиболее значимых линий КРС. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	85
Рисунок 10 – Сопоставление усредненных спектров исследуемых групп. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	85

Рисунок 11 – Спектральные характеристики интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух (группа 4, нативный материал). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	86
Рисунок 12 – Сравнение спектральных характеристик интактной слизистой оболочки верхнечелюстных пазух (группа 4) и слизистой оболочки при хроническом риносинусите без формирования полипов (группа 3). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	87
Рисунок 13 – Примеры обработанных спектров КРС базальноклеточной карциномы, интактной кожи и плоскоклеточной карциномы [295]	90
Рисунок 14 – Спектральные характеристики кисты верхнечелюстной пазухи. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	96
Рисунок 15 – Спектральные характеристики интактной слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	96
Рисунок 16 – Спектральные характеристики слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи при хроническом риносинусите без формирования полипов. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	97
Рисунок 17 – Спектральные характеристики лимфоидной ткани аденоидных вегетаций. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	97
Рисунок 18 – Спектральные особенности ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	98
Рисунок 19 – Спектральные особенности ткани голосовых складок при плоскоклеточной карциноме гортани. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	98
Рисунок 20 – Спектральные особенности ткани небных миндалин при плоскоклеточной карциноме небных миндалин. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	99
Рисунок 21 – Спектр слизистой оболочки верхнечелюстных пазух при хроническом риносинусите без формирования полипов. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	106
Рисунок 22 – Спектр ткани полипа при хроническом риносинусите. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	107

Рисунок 23 – Спектр участка дисплазии слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи на фоне длительно протекающего хронического риносинусита. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	107
Рисунок 24 – Спектр инвертированной папилломы верхнечелюстной пазухи. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	108
Рисунок 25 – Спектр меланомы слизистой оболочки полости носа. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	108
Рисунок 26 – Спектр ткани синоназальной карциномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	109
Рисунок 27 – Спектры КРС интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	110
Рисунок 28 – Спектральные особенности слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, вовлеченных в воспалительный процесс при полипозном риносинусите (спектры ткани полипов). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	112
Рисунок 29 – Спектр КРС, зарегистрированный с поверхности полипозной ткани при риносинусите. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	113
Рисунок 30 – Спектр КРС белка периостина. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	113
Рисунок 31 – Усредненные спектры КРС исследуемых групп. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	116
Рисунок 32 – Спектры КРС групп после предобработки. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	116
Рисунок 33 – ROC-кривые, позволяющие охарактеризовать ложноположительные и ложноотрицательные результаты при дифференциации интактной ткани и ткани, вовлеченной в полипозный процесс при хроническом риносинусите (А) и ткани кист верхнечелюстных пазух (Б)	117
Рисунок 34 – Модель с использованием метода случайного леса (Random forest)	118
Рисунок 35 – Модель случайного леса для исследуемых групп	119

Рисунок 36 – Спектры КРС полипозной ткани верхнечелюстной пазухи при полипозном риносинусите и кист верхнечелюстных пазух. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	120
Рисунок 37 – График зависимости MSE от количества PLS-компонент (А), ROC-кривая (Б)	120
Рисунок 38 – Наиболее информативные линии КРС (VIP-полосы) для дифференциальной диагностики полипозного риносинусита и кист околоносовых пазух	121
Рисунок 39 – Спектры КРС для дифференциации интактной ткани слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух и полипозной ткани при полипозном риносинусите после удаления базовой линии и сглаживания	121
Рисунок 40 – График зависимости MSE (среднеквадратичной ошибки) от количества PLS компонент (А), ROC кривая (Б)	122
Рисунок 41 – Наиболее информативные линии КРС (VIP-полосы) для дифференциации полипозного риносинусита, интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух	122
Рисунок 42 – Микропрепарат. Гистологическая картина воспалительного полипа верхнечелюстной пазухи, гематоксилин и эозин, 600 мкм	128
Рисунок 43 – Гистологическая картина плоскоклеточной метаплазии слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи – мерцательный эпителий с очаговой лимфо-макрофагальной инфильтрацией, гематоксилин и эозин, 300 мкм (1), гистологические признаки дисплазии слизистой оболочки low grade, 200 мкм (2)	128
Рисунок 44 – Гистологическая картина слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи при хроническом риносинусите: очаговый фиброз, диффузная выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью полиморфноядерных лейкоцитов (микропрепарат)	129
Рисунок 45 – Усредненные спектры интактной слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух, и плоскоклеточной карциномы полости носа и околоносовых пазух. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	131
Рисунок 46 – Усредненный спектр плеоморфной аденомы глотки. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	133
Рисунок 47 – Спектральные особенности ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы (гиперпластическом и фиброзирующем процессе). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	133

Рисунок 48 – Спектр ткани небной миндалины при p16-позитивной орофарингеальной карциноме. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	134
Рисунок 49 – Спектр низкодифференцированной неороговевающей плоскоклеточной p16-позитивной орофарингеальной карциномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	135
Рисунок 50 – Спектр крови при хроническом тонзиллите декомпенсированной формы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	135
Рисунок 51 – Наиболее информативные линии КРС при дифференциации форм хронического тонзиллита. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	136
Рисунок 52 – Гистологические признаки гиперплазии фолликулов в небной миндалине, гематоксилин и эозин, 300 мкм	137
Рисунок 53 – Колонии грибов, гематоксилин и эозин, 300 мкм	137
Рисунок 54 – Гистологические признаки паракортикальной гиперплазии, гематоксилин и эозин, 300 мкм (1), фокусы фолликулярной гиперплазии, гематоксилин и эозин, 400 мкм (2)	138
Рисунок 55 – Модель, построенная после предварительной обработки спектральных характеристик ткани ПК небных миндалин и лимфоидной ткани небных миндалин при хроническом воспалении (ПК небных миндалин и хронический тонзиллит компенсированной формы (ХТ КФ), модель после сглаживания, выделения сигнала КРС, нормирования и центрирования). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	139
Рисунок 56 – Наиболее информативные полосы при сравнении ПК небных миндалин и тканей небных миндалин при хроническом воспалении (ПК небных миндалин и воспалительный процесс в области лимфоидной ткани при ХТ КФ). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	140
Рисунок 57 – Спектральные характеристики после предварительной обработки при проведении дифференциальной диагностики ПК небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы (ХТ ДФ). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	141

Рисунок 58 – Наиболее информативные полосы КРС при дифференциации ПК небных миндалин и ХТ ДФ. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	141
Рисунок 59 – Чувствительность, специфичность и точность при дифференциации плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита декомпенсированной формы по распределению Пуассона	143
Рисунок 60 – Гистологическая картина изъязвленной орофарингеальной плоскоклеточной ВПЧ-ассоциированной карциномы: пласты плоскоклеточной карциномы, гематоксилин и эозин, 200 мкм (1); ИГХ-реакция с антителом к p16, цитоплазматическое и ядерное окрашивание в эпителии (2). Иммунопероксидазная реакция с ДАП (3,3`-диаминобензидином); продукт реакции – коричневого цвета, 300 мкм	144
Рисунок 61 – Усредненный спектр аденоидных вегетаций с наиболее характерными линиями КРС. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	145
Рисунок 62 – Модель после сглаживания, выделения сигнала КРС, нормирования и центрирования дифференциации воспалительного и опухолевого процесса (ПК носоглотки и лимфоидная ткань миндалин). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	146
Рисунок 63 – Наиболее информативные линии КРС для дифференциации спектров лимфоидной ткани миндалин и тканей носоглотки при ПК. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	147
Рисунок 64 – Чувствительность, специфичность и точность с 95% доверительными интервалами по Пуассону	148
Рисунок 65 – Нормированная матрица неточностей	149
Рисунок 66 – Спектры Candida albicans (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)	153
Рисунок 67 – Спектры Candida dubliniensis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)	154
Рисунок 68 – Спектры E. Faecalis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)	154
Рисунок 69 – Спектры Klebsiella pneumoniae	155
Рисунок 70 – Спектры Proteus mirabilis (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)	155
Рисунок 71 – Спектры колонии Staphylococcus aureus	156
Рисунок 72 – Спектры Streptococcus pneumoniae	156
Рисунок 73 – Спектры Streptococcus pyogenes (чистая монокультура на нефлюоресцирующих подложках)	157

Рисунок 74 – Спектральные флюоресцентные характеристики интактной ткани небных миндалин	158
Рисунок 75 – Спектральные флюоресцентные характеристики ткани небных миндалин при ХТ КФ	159
Рисунок 76 – Спектры ткани небных миндалин при ХТ КФ до промывания лакун небных миндалин раствором антисептика (0,01%-ного раствора бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрата)	160
Рисунок 77 – Спектры ткани небных миндалин пациента с хроническим тонзиллитом непосредственно после промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата	161
Рисунок 78 – Спектры ткани небных миндалин пациента с ХТ ДФ, 1-й день после вскрытия паратонзиллярного абсцесса	162
Рисунок 79 – Спектры ткани небных миндалин пациентки с ХТ ДФ на 6-й день после вскрытия паратонзиллярного абсцесса	162
Рисунок 80 – Спектры ткани небных миндалин пациента с ХТ КФ до курса промывания лакун небных миндалин	163
Рисунок 81 – Спектры ткани небных миндалин пациентки с ХТ КФ непосредственно после промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил[3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата)	164
Рисунок 82 – Спектры ткани небных миндалин пациента с ХТ КФ после полного курса промывания лакун небных миндалин 0,01%-ным раствором бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорида моногидрата	165
Рисунок 83 – Спектры ткани глотки в области миндаликовых ниш пациента спустя 2 недели после двусторонней тонзиллэктомии	166
Рисунок 84 – Фиброларингоскопическая картина гортани на вдохе (А) и при фонации (Б): признаки злокачественного роста опухоли	168
Рисунок 85 – Спектр интактной ткани гортани, не вовлеченной в опухолевый процесс и окружающей ПК. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	169
Рисунок 86 – Спектр плоскоклеточной неороговевающей карциномы гортани низкой степени дифференцировки (G3). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	170
Рисунок 87 – Спектр плоскоклеточной карциномы гортани при метастазировании в регионарные лимфатические узлы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	171

Рисунок 88 – Микропрепарат голосовых складок при низкодифференцированной плоскоклеточной ороговевающей карциноме с изъязвлением, гематоксилин и эозин после декальцинации, 200 мкм	171
Рисунок 89 – Спектр комбинационного рассеяния света и флюоресценции ткани гортани с ларингеальной интраэпителиальной неоплазией III степени (ЛИН III). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	172
Рисунок 90 – Гистологические признаки ларингеальной интраэпителиальной неоплазии плоского эпителия высокой степени (LSIN III: Laryngeal Squamous Intraepithelial Neoplasia/ ЛИН III, grade III), гематоксилин и эозин, 100 мкм (1), фрагменты слизистой оболочки гортани с наличием воспалительного инфильтрата и реактивных изменений эпителия (микропрепарат) (2)	172
Рисунок 91 – Спектры ларингеальной интраэпителиальной неоплазии (ЛИН III). Зеленой линией обозначен спектр ЛИН III в сочетании с выраженным воспалительным процессом, оранжевой и синей линией продемонстрированы спектральные характеристики ЛИН III. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	173
Рисунок 92 – Спектры ПК гортани и ЛИН III. Условные обозначения: «Рак гортани. Метастазы» –плоскоклеточная ороговевающая карцинома гортани, T2N1M0, III стадия. Метастаз в регионарном лимфатическом узле шеи (синяя кривая); «ПКК гортани, НО» – плоскоклеточная неороговевающая карцинома гортани, cT1N0M0, I стадия (оранжевая кривая); «ПКК гортани О» – плоскоклеточная ороговевающая карцинома гортани, T1N0M0, I стадия (зеленая кривая); «ЛИН III» – ларингеальная интраэпителиальная неоплазия (красная кривая). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	174
Рисунок 93 – График усредненных спектров сравниваемых нозологий: плоскоклеточной карциномы голосовых складок и полипов гортани. Сопоставление важности спектральных признаков Random Forest и усредненных спектров классов рака гортани (изображено на графике фиолетовым цветом) и полипов гортани (изображено на графике бирюзовым цветом). По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	175
Рисунок 94 – Матрица ошибок модели Random Forest при попарной классификации классов рака гортани и полипов гортани	176
Рисунок 95 – Чувствительность, специфичность и точность с 95% ДИ по Пуассону	177
Рисунок 96 – Усредненный спектр интактной слизистой оболочки среднего уха	179

Рисунок 97 – Спектр слизистой оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы, ремиссия	180
Рисунок 98 – Усредненный спектр рубцово-измененной ткани при адгезивном среднем отите	180
Рисунок 99 – Усредненный спектр ранней грануляционной ткани среднего уха непосредственно после стихания острого процесса	181
Рисунок 100 – Спектры рубцово-измененной ткани при адгезивном отите в сравнении с грануляционной тканью на ранней стадии формирования адгезивного процесса в среднем ухе	182
Рисунок 101 – Усредненный спектр холестеатомы среднего уха	182
Рисунок 102 – Усредненный спектр гломусной опухоли среднего уха	183
Рисунок 103 – Спектры интактной слизистой оболочки среднего уха, слизистой оболочки среднего уха при хроническом гнойном среднем отите без формирования холестеатомы и при формировании холестеатомы	184
Рисунок 104 – Спектры тканей среднего уха при хроническом среднем отите с развитием холестеатомы, адгезивном отите, гломусной опухоли среднего уха и интактной слизистой оболочки среднего уха	185
Рисунок 105 – Чувствительность и специфичность метода СКРСФ при заболеваниях уха	186
Рисунок 106 – Алгоритм диагностики заболеваний ЛОР-органов in vivo (общая схема)	192
Рисунок 107 – Алгоритм ранней диагностики опухолевых заболеваний in vivo и ex vivo	193
Рисунок 108 – Алгоритм диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний ЛОР-органов с использованием СКРСФ и спектрально-метаболомного анализа	194
Рисунок 109 – Спектр ткани языка при отсутствии признаков злокачественного процесса. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	195
Рисунок 110 – Спектр плоскоклеточной карциномы основания языка. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	196
Рисунок 111 – Спектр ткани лимфатического узла, пораженного метастазами p16-положительной орофарингеальной карциномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	196
Рисунок 112 – Спектр опухолевой ткани шеи, морфологически соответствующей низкодифференцированной ПК. По оси абсцисс – величины волновых чисел ($см^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	197

Рисунок 113 – Спектр ткани липомы шеи. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	198
Рисунок 114 – Спектр меланомы слизистой оболочки полости носа при метастазировании в регионарные лимфатические узлы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	198
Рисунок 115 – Спектр высокодифференцированной плоскоклеточной карциномы шейного отдела пищевода. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	199
Рисунок 116 – Спектр акустической невриномы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	200
Рисунок 117 – Спектр ткани эпителиоидной меланомы оклоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	200
Рисунок 118 – Спектр плоскоклеточной карциномы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	201
Рисунок 119 – Спектр плеоморфной аденомы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	201
Рисунок 120 – Спектр аденокарциномы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	202
Рисунок 121 – Спектр ткани поднижнечелюстной слюнной железы при хроническом воспалительном процессе. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	202
Рисунок 122 – Спектр ткани регионарного лимфатического узла, пораженного метастазами аденокарциномы околоушной слюнной железы. По оси абсцисс – величины волновых чисел (см$^{-1}$), по оси ординат – интенсивность в относительных единицах (ОЕ)	203
Список таблиц	
Таблица 1 – Распределение по диагнозу, полу и возрасту с 95% доверительными интервалами (половозрастные показатели внутри различных нозологий)	53
Таблица 2 – Линии КРС в корреляции с биомолекулярным составом тканей при использовании длин волн лазерного излучения 532 нм и 785 нм [295]	115
Таблица 3 – Значимые линии КРС при полипозном риносинусите	125
Таблица 4 – Попарные сравнения на уровне количества пациентов	132

Таблица 5 – Чувствительность и специфичность метода СКРСФ в дифференциальной диагностике плоскоклеточной карциномы небных миндалин и хронического тонзиллита компенсированной формы	141
Таблица 6 – Чувствительность и специфичность метода СКРСФ в дифференциации интактной ткани носоглотки и ткани ПК носоглотки	150
Таблица 7 – Спектральные характеристики некоторых порфиринов	151
Таблица 8 – Показатели чувствительности и специфичности метода СКРСФ при дифференциальной диагностике патологии среднего уха	185
Таблица 9 – Алгоритм действий врача-оториноларинголога при подозрении на хронический воспалительный, опухолевый и/или предопухолевый процесс в области глотки, гортани, уха, полости носа и околоносовых пазух и других органов головы и шеи	190

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Таблица А.1 – Распределение пациентов по клиническому диагнозу, полу и возрасту с 95% доверительными интервалами (половозрастные показатели внутри различных нозологий)

Диагноз	N	Мужчины, n (%)	Женщины, n (%)	Возраст, M ± SD; SE, лет	95% ДИ среднего возраста, лет	Количество спектров
Кисты околоносовых пазух	558	259 (46,4%)	299 (53,6%)	53,8 ± 14,6; SE=0,619	52,61–55,04	6138
Хронический риносинусит без формирования полипов (ХР)	571	253 (44,3%)	318 (55,7%)	54,2 ± 14,5; SE=0,607	53,01–55,40	6281
Хронический риносинусит с формированием полипов (ПР)	664	321 (48,3%)	343 (51,7%)	54,5 ± 14,3; SE=0,556	53,43–55,62	7304
Плоскоклеточная карцинома (ПК) полости носа и околоносовых пазух	288	142 (49,3%)	146 (50,7%)	54,9 ± 14,2; SE=0,837	53,22–56,51	4320
Плоскоклеточная карцинома (ПК) небных миндалин	272	135 (49,6%)	137 (50,4%)	54,8 ± 14,2; SE=0,860	53,13–56,52	4080
Лимфоидная ткань миндалин (объединенный класс)	775	339 (43,7%)	436 (56,3%)	53,9 ± 14,6; SE=0,524	52,83–54,89	8525
Хронический средний отит с формированием холестеатомы (ХСО ХС)	137	65 (47,4%)	72 (52,6%)	54,1 ± 14,6; SE=1,244	51,66–56,58	2055
Хронический средний отит без формирования холестеатомы (ХСО)	129	60 (46,5%)	69 (53,5%)	54,1 ± 14,4; SE=1,270	51,60–56,63	1935
Адгезивный отит	131	60 (45,8%)	71 (54,2%)	54,7 ± 14,5; SE=1,263	52,20–57,20	1965
Гломусная опухоль среднего уха	75	32 (42,7%)	43 (57,3%)	55,1 ± 14,3; SE=1,652	51,79–58,37	1350
Плоскоклеточная карцинома (ПК) гортани	149	74 (49,7%)	75 (50,3%)	54,9 ± 14,1; SE=1,158	52,61–57,19	2235
Полипы гортани	131	64 (48,9%)	67 (51,1%)	54,4 ± 14,6; SE=1,272	51,91–56,94	2057
Плоскоклеточная карцинома (ПК) носоглотки	109	54 (49,5%)	55 (50,5%)	54,7 ± 14,2; SE=1,359	52,00–57,39	1199
Базальноклеточная карцинома кожи (БКК) (парафиновые блоки, криосрезы, нативный материал)	272	129 (47,4%)	143 (52,6%)	54,7 ± 14,5; SE=0,878	52,93–56,39	2992
Плоскоклеточная карцинома кожи (ПКК) (парафиновые блоки, криосрезы, нативный материал)	261	128 (49,0%)	133 (51,0%)	54,7 ± 14,6; SE=0,901	52,93–56,48	3132
Метастазы плоскоклеточной карциномы в лимфатические узлы	89	44 (49,4%)	45 (50,6%)	54,7 ± 14,2; SE=1,500	51,75–57,71	1691
Плоскоклеточная карцинома слюнных желез	112	55 (49,1%)	57 (50,9%)	55,0 ± 14,3; SE=1,349	52,35–57,70	1232
Итого	4723	2214 (46,9%)	2509 (53,1%)	54,37 ± 14,42; SE=0,210*	53,96–54,78*	58 491

Таблица А.1.1 – Распределение пациентов по полу и возрасту в сравниваемых группах

Нозология	N	Мужчины, n (%)	Женщины, n (%)	18–44 лет, n (%)	45–59 лет, n (%)	60–74 года, n (%)	75–89 лет, n (%)	≥90 лет, n (%)
Патология полости носа и околоносовых пазух								
Кисты околоносовых пазух	558	259 (46,4%)	299 (53,6%)	123 (22,0%)	223 (40,0%)	184 (33,0%)	28 (5,0%)	0 (0,0%)
Хронический риносинусит без формирования полипов	571	253 (44,3%)	318 (55,7%)	120 (21,0%)	228 (39,9%)	194 (34,0%)	29 (5,1%)	0 (0,0%)
Хронический риносинусит с формированием полипов	664	321 (48,3%)	343 (51,7%)	133 (20,0%)	266 (40,1%)	232 (34,9%)	33 (5,0%)	0 (0,0%)
Плоскоклеточная карцинома полости носа и околоносовых пазух	288	142 (49,3%)	146 (50,7%)	55 (19,1%)	115 (39,9%)	104 (36,1%)	14 (4,9%)	0 (0,0%)
Интактная слизистая оболочка полости носа/ОНП исследовалась у тех же пациентов; ее половая и возрастная структура идентична сравниваемой группе и повторно в N не учитывается.								
Патология глотки								
Плоскоклеточная карцинома небных миндалин	272	135 (49,6%)	137 (50,4%)	52 (19,1%)	109 (40,1%)	98 (36,0%)	13 (4,8%)	0 (0,0%)
Хронический тонзиллит, компенсированная форма	386	169 (43,8%)	217 (56,2%)	85 (22,0%)	155 (40,2%)	127 (32,9%)	19 (4,9%)	0 (0,0%)
Хронический тонзиллит, декомпенсированная форма	389	170 (43,7%)	219 (56,3%)	85 (21,9%)	155 (39,8%)	129 (33,2%)	20 (5,1%)	0 (0,0%)
Патология среднего уха								
Хронический средний отит с формированием холестеатомы	137	65 (47,4%)	72 (52,6%)	29 (21,2%)	55 (40,1%)	46 (33,6%)	7 (5,1%)	0 (0,0%)
Хронический средний отит без формирования холестеатомы	129	60 (46,5%)	69 (53,5%)	27 (20,9%)	52 (40,3%)	44 (34,1%)	6 (4,7%)	0 (0,0%)
Адгезивный отит	131	60 (45,8%)	71 (54,2%)	26 (19,8%)	52 (39,7%)	46 (35,1%)	7 (5,3%)	0 (0,0%)
Гломусная опухоль среднего уха	75	32 (42,7%)	43 (57,3%)	14 (18,7%)	30 (40,0%)	27 (36,0%)	4 (5,3%)	0 (0,0%)
Патология гортани								
Плоскоклеточная карцинома гортани	149	74 (49,7%)	75 (50,3%)	28 (18,8%)	60 (40,3%)	54 (36,2%)	7 (4,7%)	0 (0,0%)
Полипы гортани	131	64 (48,9%)	67 (51,1%)	27 (20,6%)	52 (39,7%)	45 (34,4%)	7 (5,3%)	0 (0,0%)
Интактная слизистая оболочка гортани- парный контроль тех же пациентов; распределение по полу и возрасту идентично соответствующей группе сравнения								
Патология носоглотки / лимфоидная ткань								
Плоскоклеточная карцинома носоглотки	109	54 (49,5%)	55 (50,5%)	21 (19,3%)	44 (40,4%)	39 (35,8%)	5 (4,6%)	0 (0,0%)
Лимфоидная ткань миндалин	775	339 (43,7%)	436 (56,3%)	170 (21,9%)	310 (40,0%)	256 (33,0%)	39 (5,0%)	0 (0,0%)
Патология кожи наружного слухового прохода и наружного носа								
Базальноклеточная карцинома кожи	272	129 (47,4%)	143 (52,6%)	54 (19,9%)	109 (40,1%)	95 (34,9%)	13 (4,8%)	1 (0,4%)

Продолжение таблицы А.1.1

Нозология	**N**	**Мужчины, n (%)**	**Женщины, n (%)**	**18–44 лет, n (%)**	**45–59 лет, n (%)**	**60–74 года, n (%)**	**75–89 лет, n (%)**	**≥90 лет, n (%)**
Плоскоклеточная карцинома кожи	261	128 (49,0%)	133 (51,0%)	52 (19,9%)	104 (39,8%)	91 (34,9%)	13 (5,0%)	1 (0,4%)
Интактная кожа – парный контроль тех же пациентов; распределение по полу и возрасту идентично сравниваемой группе								
Плоскоклеточная карцинома лимфатических узлов / слюнных желез								
Метастазы плоскоклеточной карциномы в регионарные лимфатические узлы	89	44 (49,4%)	45 (50,6%)	17 (19,1%)	36 (40,4%)	32 (36,0%)	4 (4,5%)	0 (0,0%)
Плоскоклеточная карцинома слюнных желез	112	55 (49,1%)	57 (50,9%)	21 (18,8%)	45 (40,2%)	40 (35,7%)	6 (5,4%)	0 (0,0%)
Итого по 17 уникальным классам (без повторного учета подгрупп и парно сравниваемых участков интактной ткани)	4723	2214 (46,9%)	2509 (53,1%)	969 (20,5%)	1890 (40,0%)	1627 (34,4%)	235 (5,0%)	2 (0,0%)

Таблица А.1.2 – Статистическая оценка сопоставимости клинически сравниваемых групп по полу и возрасту

Блок сравнения	**Пол: χ^2 Пирсона; df; p; V Крамера**	**Возрастные периоды: χ^2 Пирсона; df; p; V Крамера**	**Статистический вывод**
Полость носа и ОНП	χ^2=2,8158; df=3; p=0,421; V=0,0368	χ^2=1,6933; df=9; p=0,995; V=0,0165	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы. Интактная слизистая оболочка аналогичной анатомической локализации- парный контроль тех же пациентов
Небные миндалины	χ^2=2,8200; df=2; p=0,244; V=0,0519	χ^2=1,3450; df=6; p=0,969; V=0,0253	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы
Среднее ухо	χ^2=0,4663; df=3; p=0,926; V=0,0314	χ^2=0,3706; df=9; p=1,000; V=0,0162	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы
Гортань	χ^2=0,0183; df=1; p=0,892; V=0,0081	χ^2=0,2517; df=3; p=0,969; V=0,0300	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы. Интактная слизистая оболочка гортани – парный контроль тех же пациентов
Носоглотка / лимфоидная ткань	χ^2=1,3016; df=1; p=0,254; V=0,0384	χ^2=0,5726; df=3; p=0,903; V=0,0255	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы. В сравнении с ПК носоглотки объединенная контрольная группа обозначена как «Лимфоидная ткань»

Продолжение таблицы А.1.2

Блок сравнения	Пол: χ^2 Пирсона; df; p; V Крамера	Возрастные периоды: χ^2 Пирсона; df; p; V Крамера	Статистический вывод
Кожа	χ^2=0,1393; df=1; p=0,709; V=0,0162	χ^2=0,0141; df=4; p=1,000; V=0,0051	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы. Интактная кожа наружного слухового прохода и наружного носа- парный контроль тех же пациентов
Лимфатические узлы / слюнные железы	χ^2=0,0022; df=1; p=0,963; V=0,0033	χ^2=0,0791; df=3; p=0,994; V=0,0198	Статистически значимых различий по полу и возрастной структуре не выявлено; размеры эффекта малы/пренебрежимо малы
Все 17 уникальных пациентских пулов (N=4723)	χ^2=9,2874; df=16; p=0,901; V=0,0443	χ^2=20,7690; df=64; p=1,000; V=0,0332	Статистически значимых различий по полу и возрастным периодам не выявлено. Объединенный класс N=775 учитывается однократно; его повторное использование как «Лимфоидная ткань» не формирует новую независимую выборку

Таблица А.1.3 – Попарная проверка сопоставимости нозологий по полу и возрасту

Сравнение	Пол: OR мужчин (95% ДИ); χ^2; p; pHolm	Возрастные периоды: χ^2; df; p; pHolm; V Крамера	Вывод
Полость носа и ОНП: Кисты околоносовых пазух и Хронический риносинусит без формирования полипов	OR=1,089 (0,861–1,376); χ^2=0,5058; p=0,477; pHolm=1,000	χ^2=0,2249; df=3; p=0,973; pHolm=1,000; V=0,0141	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Полость носа и ОНП: Кисты околоносовых пазух и Хронический риносинусит с формированием полипов	OR=0,926 (0,739–1,160); χ^2=0,4518; p=0,501; pHolm=1,000	χ^2=0,9324; df=3; p=0,818; pHolm=1,000; V=0,0276	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Полость носа и ОНП: Кисты околоносовых пазух и Плоскоклеточная карцинома полости носа и околоносовых пазух	OR=0,891 (0,670–1,184); χ^2=0,6362; p=0,425; pHolm=1,000	χ^2=1,3417; df=3; p=0,719; pHolm=1,000; V=0,0398	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал
Полость носа и ОНП: Хронический риносинусит без формирования полипов и Хронический риносинусит с формированием полипов	OR=0,850 (0,679–1,064); χ^2=2,0094; p=0,156; pHolm=0,938	χ^2=0,2369; df=3; p=0,971; pHolm=1,000; V=0,0139	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Полость носа и ОНП: Хронический риносинусит без формирования полипов и Плоскоклеточная карцинома полости носа и околоносовых пазух	OR=0,818 (0,616–1,087); χ^2=1,9248; p=0,165; pHolm=0,938	χ^2=0,6157; df=3; p=0,893; pHolm=1,000; V=0,0268	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Полость носа и ОНП: Хронический риносинусит с формированием полипов и Плоскоклеточная карцинома полости носа и околоносовых пазух	OR=0,962 (0,730–1,269); χ^2=0,0744; p=0,785; pHolm=1,000	χ^2=0,1723; df=3; p=0,982; pHolm=1,000; V=0,0135	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)

Продолжение таблицы А.1.3

Сравнение	Пол: OR мужчин (95% ДИ); χ^2; p; pHolm	Возрастные периоды: χ^2; df; p; pHolm; V Крамера	Вывод
Небные миндалины: Плоскоклеточная карцинома небных миндалин и Хронический тонзиллит, компенсированная форма	OR=1,265 (0,927–1,727); χ^2=2,1969; p=0,138; pHolm=0,397	χ^2=1,1094; df=3; p=0,775; pHolm=1,000; V=0,0411	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Небные миндалины: Плоскоклеточная карцинома небных миндалин и Хронический тонзиллит, декомпенсированная форма	OR=1,269 (0,930–1,732); χ^2=2,2655; p=0,132; pHolm=0,397	χ^2=1,0043; df=3; p=0,800; pHolm=1,000; V=0,0390	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Небные миндалины: Хронический тонзиллит, компенсированная форма и Хронический тонзиллит, декомпенсированная форма	OR=1,003 (0,755–1,333); χ^2=0,0005; p=0,982; pHolm=0,982	χ^2=0,0297; df=3; p=0,999; pHolm=1,000; V=0,0062	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Среднее ухо: Хронический средний отит с формированием холестеатомы и Хронический средний отит без формирования холестеатомы	OR=1,038 (0,641–1,681); χ^2=0,0232; p=0,879; pHolm=1,000	χ^2=0,0363; df=3; p=0,998; pHolm=1,000; V=0,0117	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Среднее ухо: Хронический средний отит с формированием холестеатомы и Адгезивный отит	OR=1,068 (0,661–1,727); χ^2=0,0727; p=0,787; pHolm=1,000	χ^2=0,1135; df=3; p=0,990; pHolm=1,000; V=0,0206	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Среднее ухо: Хронический средний отит с формированием холестеатомы и Гломусная опухоль среднего уха	OR=1,213 (0,688–2,139); χ^2=0,4459; p=0,504; pHolm=1,000	χ^2=0,2371; df=3; p=0,971; pHolm=1,000; V=0,0334	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Среднее ухо: Хронический средний отит без формирования холестеатомы и Адгезивный отит	OR=1,029 (0,632–1,676); χ^2=0,0132; p=0,909; pHolm=1,000	χ^2=0,1249; df=3; p=0,989; pHolm=1,000; V=0,0219	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Среднее ухо: Хронический средний отит без формирования холестеатомы и Гломусная опухоль среднего уха	OR=1,168 (0,658–2,074); χ^2=0,2832; p=0,595; pHolm=1,000	χ^2=0,2158; df=3; p=0,975; pHolm=1,000; V=0,0325	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Среднее ухо: Адгезивный отит и Гломусная опухоль среднего уха	OR=1,136 (0,641–2,013); χ^2=0,1896; p=0,663; pHolm=1,000	χ^2=0,0459; df=3; p=0,997; pHolm=1,000; V=0,0149	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Гортань: Плоскоклеточная карцинома гортани и Полипы гортани	OR=1,033 (0,646–1,652); χ^2=0,0183; p=0,892; pHolm=0,892	χ^2=0,2517; df=3; p=0,969; pHolm=0,969; V=0,0300	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Носоглотка / лимфоидная ткань: Плоскоклеточная карцинома носоглотки и Лимфоидная ткань	OR=1,263 (0,845–1,886); χ^2=1,3016; p=0,254; pHolm=0,254	χ^2=0,5726; df=3; p=0,903; pHolm=0,903; V=0,0255	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)
Кожа: Базальноклеточная карцинома кожи и Плоскоклеточная карцинома кожи	OR=0,937 (0,667–1,317); χ^2=0,1393; p=0,709; pHolm=0,709	χ^2=0,0141; df=4; p=1,000; pHolm=1,000; V=0,0051	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)

Продолжение таблицы А.1.3

Сравнение	Пол: OR мужчин (95% ДИ); χ^2; p; pHolm	Возрастные периоды: χ^2; df; p; pHolm; V Крамера	Вывод
Лимфатические узлы / слюнные железы: Метастазы плоскоклеточной карциномы в лимфатические узлы и Плоскоклеточная карцинома слюнных желез	OR=1,013 (0,581–1,768); χ^2=0,0022; p=0,963; pHolm=0,963	χ^2=0,0791; df=3; p=0,994; pHolm=0,994; V=0,0198	Сопоставимы по полу и возрастной структуре (p>0,05; размер эффекта мал/пренебрежимо мал)

Таблица А.1.4 – Параметрическая оценка сопоставимости возраста по сгруппированным данным: ANOVA и Welch ANOVA

Анатомические локализации сравниваемых нозологий	k; N	Однофакторный ANOVA	Welch ANOVA	Вывод
Полость носа и ОНП	4; 2081	F(3; 2077)=0,412; p=0,744; η^2<0,001	F(3; 969,3)=0,412; p=0,744	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Небные миндалины	3; 1047	F(2; 1044)=0,455; p=0,634; η^2<0,001	F(2; 658,4)=0,468; p=0,627	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Среднее ухо	4; 472	F(3; 468)=0,107; p=0,956; η^2<0,001	F(3; 234,0)=0,107; p=0,956	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Гортань	2; 280	F(1; 278)=0,076; p=0,784; η^2<0,001	F(1; 271,1)=0,075; p=0,784	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Носоглотка / лимфоидная ткань	2; 884	F(1; 882)=0,318; p=0,573; η^2<0,001	F(1; 142,1)=0,332; p=0,565	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Кожа	2; 533	F(1; 531)=0,001; p=0,973; η^2<0,001	F(1; 529,9)=0,001; p=0,973	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Лимфатические узлы / слюнные железы	2; 201	F(1; 199)=0,022; p=0,883; η^2<0,001	F(1; 189,6)=0,022; p=0,883	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал
Все 17 групп исследования	17; 4723	F(16; 4706)=0,229; p=0,999; η^2<0,001	F(16; 1016,7)=0,227; p=0,999	Различий среднего возраста не выявлено; эффект пренебрежимо мал

Таблица А.2 – Сравнительная характеристика приборов и аппаратно-программных комплексов

Характеристика	**Renishaw inVia Basis (inVia InSpect)**	**Confotec MR520**	**АПК IN VIVO (**EnSpectr L405/ R532/ M785, M532/785/ R1064/ «ФОТОН-БИО» и другие АПК с использованием длин волн лазерного излучения 405, 532, 785, 1064 нм)
Тип/назначение системы	Конфокальный микроскоп-спектрометр	Конфокальный микроскоп-спектрометр	Аппаратно-программный комплекс для спектроскопии комбинационного рассеяния света и флюоресценции (СКРСФ)
Производитель / место	Renishaw, UK	SOL instruments, Беларусь	Российская Федерация
Длины волн возбуждающего лазерного излучения, использованные в описанной методике	532, 785 и 1064 нм	532, 785 и 1064 нм	405, 532, 785 и 1064 нм
Мощность лазерного излучения	45 мВт в плоскости образца	20 мВт	10 мВт
Время регистрации / накопления / экспозиции одного спектра	20 с	2 с (накопление сигнала)	1 с (экспозиция одного спектра)
Объектив	N Plan 50/0.50, Leica	MPlanFL, Nikon	Объектив с 10-кратным увеличением
Увеличение объектива	50×	40×	10×
Спектральное разрешение	1–1,5 $см^{-1}$	1–1,5 $см^{-1}$	4 $см^{-1}$
Количество точек / спектров на образец	10–20 спектров в различных точках поверхности образца	10–20 спектров в различных точках поверхности образца	Измерения в 10–20 точках каждого образца
Условия измерения	Комнатная температура; стандартизированные условия	Комнатная температура; стандартизированные условия	Отсутствие внешнего освещения; перед каждым измерением – дезинфекция световода

Таблица А.3 – Стадии опухолевого процесса по классификации ВОЗ

Стадия	**Название стадии**
LIN 1	Легкая дисплазия
LIN 2	Умеренная дисплазия
LIN 3	Тяжелая дисплазия; исторически также carcinoma in situ
Carcinoma in situ (CIS)	Рак in situ
Инвазивный плоскоклеточный рак	Invasive squamous cell carcinoma (SCC)

Таблица А.4 – Чувствительность и специфичность метода СКРС, согласно данным мировой литературы

№	Нозология	Источник	Se, %	Sp, %
1	Рак гортани	Teh S.K. et al., 2009	88,0	91,4
2	Рак гортани	Lin K. et al., 2012	90,3	90,9
3	Рак гортани	Lin K. et al., 2016	93,3	90,1
4	Рак гортани	Li Z. et al., 2022	95,2	96,9
5	Рак гортани	Chen, W. et al., 2025	88	91
6	Рак носоглотки	Lin K. et al., 2017	93,6	92,6
7	Рак носоглотки	Chang H. et al., 2002	95	93
8	Холестеатома / миринготсклероз	Pandey R. et al., 2015	95,48	99,06
9	Холестеатома среднего уха	Mahdjoub J. et al., 2026	94,7	94,2

Таблица А.5 – Итоговые показатели чувствительности и специфичности метода

Сравнение (положительный / отрицательный класс)	**Se, %**	**95% ДИ Se, %**	**Sp, %**	**95% ДИ Sp, %**
Киста околоносовых пазух / хронический риносинусит без полипов	100,0	99,34–100	100,0	99,35–100
Киста околоносовых пазух / полипозный риносинусит	100,0	99,34–100	100,0	99,44–100
Киста околоносовых пазух / плоскоклеточная карцинома околоносовых пазух	100,0	99,34–100	100,0	98,72–100
Хронический риносинусит без полипов / полипозный риносинусит	100,0	99,35–100	100,0	99,44–100
Хронический риносинусит без полипов / плоскоклеточная карцинома околоносовых пазух	100,0	99,35–100	100,0	98,72–100
Полипозный риносинусит / плоскоклеточная карцинома околоносовых пазух	100,0	99,44–100	100,0	98,72–100
Плоскоклеточная карцинома небных миндалин / интактная слизистая оболочка	100,0	98,64–100	100,0	98,64–100
Хронический тонзиллит, компенсированная форма / интактная слизистая оболочка	100,0	99,04–100	100,0	99,04–100
Плоскоклеточная карцинома небных миндалин / хронический тонзиллит, компенсированная форма	100,0	98,64–100	100,0	99,04–100
Плоскоклеточная карцинома небных миндалин / хронический тонзиллит, декомпенсированная форма	90,0	85,6–93,5	95,8	93,3–97,6
Плоскоклеточная карцинома носоглотки / лимфоидная ткань миндалин	86,3	77,3–92,3	87,8	85,0–90,1
Плоскоклеточная карцинома носоглотки / интактная ткань	94,50	88,02–97,98	100,0	96,62–100
Плоскоклеточная карцинома гортани / полипы гортани	100,0	97,5–100	100,0	97,2–100
Адгезивный отит / хронический средний отит с холестеатомой	95,42	90,03–98,32	99,27	95,93–99,98
Адгезивный отит / хронический средний отит без холестеатомы	94,66	88,99–97,85	98,45	94,40–99,81
Хронический средний отит с холестеатомой / хронический средний отит без холестеатомы	97,08	92,52–99,20	99,22	95,68–99,98
Адгезивный отит + хронический средний отит с холестеатомой / гломусная опухоль среднего уха	96,27	93,14–98,21	98,67	92,57–99,97

Приложение Б

Таблица Б.1 – Алгоритм диагностики патологии полости носа и околоносовых пазух с использованием СКРСФ

Ранняя неинвазивная экспресс-диагностика / скрининг / оптическая биопсия / мониторинг терапии / оценка рецидива / оценка биомаркеров	
↓	
Выбор режима исследования в зависимости от клинической ситуации	
↓	↓
IN VIVO	**EX VIVO**
Осмотр: передняя и задняя риноскопия, эндоскопическое исследование полости носа и носоглотки; КТ/МРТ – при наличии показаний	Биопсийный материал из полости носа/околоносовых пазух; выделение участка патологии и сравнение его с интактной тканью аналогичной локализации
↓	↓
Выбор участка ткани, потенциально задействованного в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной референсной точки аналогичной локализации; проведение спектрально-метаболомного анализа в нескольких анатомических точках	Стандартизация при подготовке образца и выбор нескольких точек регистрации спектральных характеристик; при наличии изменений патологического характера– сравнение с интактной зоной сравнения
↓	↓
СКРСФ через оптоволоконный световод: регистрация флюоресценции и спектра КРС в нескольких точках (405/532/785/1064 нм)	СКРСФ ex vivo: конфокальный микроскоп и спектроскоп; регистрация флюоресценции и КРС в нескольких точках образца (405/532/785/1064 нм)
↓	↓
Получение графических и числовых спектральных данных, критериев и показателей; сравнение спектров ткани, вовлеченной в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной ткани анатомической локализации	Сопоставление спектров интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс; последующая корреляция с гистологическим исследованием, при необходимости – биохимическим и морфометрическим анализом
↓	
Предобработка спектров (фильтр Савицкого–Голея) → статистический/многомерный анализ (PCA, LDA, PLS) → при наличии обученной модели машинное обучение/ИИ и сопоставление с базой спектров	
↓	
КЛАССИФИКАЦИЯ: референсные значения / воспалительный процесс / доброкачественное новообразование / злокачественное новообразование / предопухолевые изменения (дисплазия) и др. → формирование заключения и клиническая верификация	
↓	
СКРИНИНГ	Референсные значения → плановый осмотр. Отклонение от референсных значений→ диагностика методом СКРСФ и маршрутизация пациента
ОПТИЧЕСКАЯ БИОПСИЯ	In vivo: спектральная оценка очага патологии и выбор анатомической зоны для проведения прицельной биопсии. Ex vivo: неинвазивный спектрально-метаболомный анализ и выбор анатомических зон для проведения гистологического исследования
МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ	Повторное проведение метода СКРСФ в сопоставимых точках/образцах → динамика изменения спектров и качественного и количественного состава биомаркеров → оценка изменений на фоне лечения
ОЦЕНКА РЕЦИДИВА	Контроль после лечения → сравнение с исходным и референсными значениями→ подозрение на рецидив → повторное обследование и верификация полученного результата
БИОМАРКЕРЫ	Информативные линии КРС и флюоресценция → биохимическая/метаболомная интерпретация полученных спектров → пополнение базы спектров

Таблица Б.2 – Алгоритм диагностики патологии глотки с использованием СКРСФ

Ранняя неинвазивная экспресс-диагностика / скрининг / оптическая биопсия / мониторинг терапии / оценка рецидива / оценка биомаркеров	
↓	
Выбор режима исследования в зависимости от клинической ситуации	
↓	↓
IN VIVO	**EX VIVO**
Осмотр: мезофарингоскопия, эндоскопическое исследование носоглотки; NBI-эндоскопия – при наличии показаний	Биопсийный материал из ротоглотки/носоглотки; выделение участка, вовлеченного в воспалительный и/или опухолевый процесс, сравнение с интактной тканью аналогичной локализации
↓	↓
Выбор участка ткани, потенциально задействованного в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной референсной точки аналогичной локализации; проведение спектрально-метаболомного анализа в нескольких анатомических точках	Стандартизация при подготовке образца и выбор нескольких точек регистрации спектральных характеристик; при наличии изменений патологического характера– сравнение с интактной зоной сравнения
↓	↓
СКРСФ через оптоволоконный световод: регистрация флюоресценции и спектра КРС в нескольких точках (405/532/785/1064 нм)	СКРСФ ex vivo: конфокальный микроскоп и спектроскоп; регистрация флюоресценции и КРС в нескольких точках образца (405/532/785/1064 нм)
↓	↓
Получение графических и числовых спектральных данных, критериев и показателей; сравнение спектров ткани, вовлеченной в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной ткани анатомической локализации	Сопоставление спектров интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс; последующая корреляция с гистологическим исследованием, при необходимости – биохимическим и морфометрическим анализом
↓	
Предобработка спектров (фильтр Савицкого–Голея) → статистический/многомерный анализ (PCA, LDA, PLS) → при наличии обученной модели машинное обучение/ИИ и сопоставление с базой спектров	
↓	
КЛАССИФИКАЦИЯ: референсные значения / воспалительный процесс / доброкачественное новообразование / злокачественное новообразование / предопухолевые изменения (дисплазия) и др. → формирование заключения и клиническая верификация	
↓	
СКРИНИНГ	Референсные значения → плановый осмотр. Отклонение от референсных значений→ диагностика методом СКРСФ и маршрутизация пациента
ОПТИЧЕСКАЯ БИОПСИЯ	In vivo: спектральная оценка очага патологии и выбор анатомической зоны для проведения прицельной биопсии. Ex vivo: неинвазивный спектрально-метаболомный анализ и выбор анатомических зон для проведения гистологического исследования
МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ	Повторное проведение метода СКРСФ в сопоставимых точках/образцах → динамика изменения спектров и качественного и количественного состава биомаркеров → оценка изменений на фоне лечения
ОЦЕНКА РЕЦИДИВА	Контроль после лечения → сравнение с исходным и референсным профилем → подозрение на рецидив → повторное обследование и верификация
БИОМАРКЕРЫ	Информативные линии КРС и флюоресценция → биохимическая/метаболомная интерпретация полученных спектров → пополнение базы спектров

Таблица Б.3 – Алгоритм диагностики патологии гортани с использованием СКРСФ

Ранняя неинвазивная экспресс-диагностика / скрининг / оптическая биопсия / мониторинг терапии / оценка рецидива / оценка биомаркеров	
↓	
Выбор режима исследования в зависимости от клинической ситуации	
↓	↓
IN VIVO	**EX VIVO**
Осмотр: непрямая ларингоскопия, фиброларингоскопия, видеоларингостробоскопия; NBI-эндоскопия – при наличии показаний	Биопсийный материал из области гортани; выделение участка, потенциально вовлеченного в воспалительный и/или опухолевый процесс, сравнение с интактной тканью аналогичной локализации
↓	↓
Выбор участка ткани, потенциально задействованного в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной референсной точки аналогичной локализации; проведение спектрально-метаболомного анализа в нескольких анатомических точках	Стандартизация при подготовке образца и выбор нескольких точек регистрации спектральных характеристик; при наличии изменений патологического характера– сравнение с интактной зоной сравнения
↓	↓
СКРСФ через оптоволоконный световод: регистрация флюоресценции и спектра КРС в нескольких точках (405/532/785/1064 нм)	СКРСФ ex vivo: конфокальный микроскоп и спектроскоп; регистрация флюоресценции и КРС в нескольких точках образца (405/532/785/1064 нм)
↓	↓
Получение графических и числовых спектральных данных, критериев и показателей; сравнение спектров ткани, вовлеченной в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной ткани анатомической локализации	Сопоставление спектров интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс; последующая корреляция с гистологическим исследованием, при необходимости – биохимическим и морфометрическим анализом
↓	
Предобработка спектров (фильтр Савицкого–Голея) → статистический/многомерный анализ (PCA, LDA, PLS) → при наличии обученной модели машинное обучение/ИИ и сопоставление с базой спектров	
↓	
КЛАССИФИКАЦИЯ: референсные значения / воспалительный процесс / доброкачественное новообразование / злокачественное новообразование / предопухолевые изменения (дисплазия) и др. → формирование заключения и клиническая верификация	
↓	
СКРИНИНГ	Референсные значения → плановый осмотр. Отклонение от референсных значений→ диагностика методом СКРСФ и маршрутизация пациента
ОПТИЧЕСКАЯ БИОПСИЯ	In vivo: спектральная оценка очага патологии и выбор анатомической зоны для проведения прицельной биопсии. Ex vivo: неинвазивный спектрально-метаболомный анализ и выбор анатомических зон для проведения гистологического исследования
МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ	Повторное проведение метода СКРСФ в сопоставимых точках/образцах → динамика изменения спектров и качественного и количественного состава биомаркеров → оценка изменений на фоне лечения
ОЦЕНКА РЕЦИДИВА	Контроль после лечения → сравнение с исходным и референсным профилем → подозрение на рецидив → повторное обследование и верификация
БИОМАРКЕРЫ	Информативные линии КРС и флюоресценция → биохимическая/метаболомная интерпретация полученных спектров → пополнение базы спектров

Таблица Б.4 – Алгоритм диагностики патологии уха с использованием СКРСФ

Ранняя неинвазивная экспресс-диагностика / скрининг / оптическая биопсия / мониторинг терапии / оценка рецидива / оценка биомаркеров	
↓	
Выбор режима исследования в зависимости от клинической ситуации	
↓	↓
IN VIVO	**EX VIVO**
Осмотр: отоскопия; аудиометрия/тимпанометрия, КТ, МРТ – при наличии показаний; определение анатомически доступной зоны исследования	Биопсийный материал из области анатомических структур уха; выделение участка, потенциально задействованного в воспалительный и/опухолевый процесс, сравнение с интактной тканью соответствующей анатомической локализации
↓	↓
Выбор участка ткани, потенциально задействованного в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной референсной точки аналогичной локализации; проведение спектрально-метаболомного анализа в нескольких анатомических точках	Стандартизация при подготовке образца и выбор нескольких точек регистрации спектральных характеристик; при наличии изменений патологического характера– сравнение с интактной зоной сравнения
↓	↓
СКРСФ через оптоволоконный световод: регистрация флюоресценции и спектра КРС в нескольких точках (405/532/785/1064 нм)	СКРСФ ex vivo: конфокальный микроскоп и спектроскоп; регистрация флюоресценции и КРС в нескольких точках образца (405/532/785/1064 нм)
↓	↓
Получение графических и числовых спектральных данных, критериев и показателей; сравнение спектров ткани, вовлеченной в воспалительный и/или опухолевый процесс, и интактной ткани анатомической локализации	Сопоставление спектров интактной ткани и ткани, вовлеченной в патологический процесс; последующая корреляция с гистологическим исследованием, при необходимости – биохимическим и морфометрическим анализом
↓	
Предобработка спектров (фильтр Савицкого–Голея) → статистический/многомерный анализ (PCA, LDA, PLS) → при наличии обученной модели машинное обучение/ИИ и сопоставление с базой спектров	
↓	
КЛАССИФИКАЦИЯ: референсные значения / воспалительный процесс / доброкачественное новообразование / злокачественное новообразование / предопухолевые изменения (дисплазия) и др. → формирование заключения и клиническая верификация	
↓	
СКРИНИНГ	Референсные значения → плановый осмотр. Отклонение от референсных значений→ диагностика методом СКРСФ и маршрутизация пациента
ОПТИЧЕСКАЯ БИОПСИЯ	In vivo: спектральная оценка очага патологии и выбор анатомической зоны для проведения прицельной биопсии. Ex vivo: неинвазивный спектрально-метаболомный анализ и выбор анатомических зон для проведения гистологического исследования
МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ	Повторное проведение метода СКРСФ в сопоставимых точках/образцах → динамика изменения спектров и качественного и количественного состава биомаркеров → оценка изменений на фоне лечения
ОЦЕНКА РЕЦИДИВА	Контроль после лечения → сравнение с исходным и референсным профилем → подозрение на рецидив → повторное обследование и верификация
БИОМАРКЕРЫ	Информативные линии КРС и флюоресценция → биохимическая/метаболомная интерпретация полученных спектров → пополнение базы спектров

Таблица Б.5 – Дифференциально-диагностические критерии и показатели спектрального анализа при воспалительных и опухолевых заболеваниях ЛОР-органов

Диагностические критерии	**Диагностические показатели**
Характерные полосы КРС и их совокупность	Положение линий КРС ($см^{-1}$); интенсивность сигнала флюоресценции, интенсивность линий КРС; площадь; ширина; сдвиг; наличие/отсутствие воспроизводимых линий КРС
Соотношения спектральных полос КРС	Соотношения выбранных диагностических линий КРС
Интегральные характеристики КРС	Площадь, высота, полуширина линий КРС и сигнала флюоресценции; интегральная интенсивность выбранного диапазона; спектральные индексы
Интенсивность и форма флюоресцентного сигнала	Интегральная интенсивность флюоресценции; максимум; площадь; относительные показатели интенсивности; форма спектра
Пространственная однородность флюоресцентного сигнала (ИСТ)	Средняя интегральная интенсивность флюоресценции по исследуемым точкам ткани, отклонения индивидуальных значений от среднего и рассчитываемый на их основе индекс структурированности ткани (ИСТ), %
Многокомпонентный спектральный профиль	Набор линий КРС, индексов отношений интенсивностей и флюоресцентных переменных; нормированный показатель флюоресценции; индекс аэробности
Разделение классов многопараметрическим/многофакторным спектральным анализом	Счета главных компонент; дискриминантные функции; предсказанный класс; VIP-полосы выбранных диапазонов; доля голосов за диагностический класс; метка класса; важность признаков

Приложение В

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2716593

Способ экспресс-диагностики воспалительных заболеваний глотки с использованием флюоресцентной спектрометрии и специального алгоритма для оценки морфометрических, метаболических, функциональных изменений тканей в динамике

Патентообладатель: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU)***

Автор: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU)***

Заявка № **2018145669**
Приоритет изобретения **21 декабря 2018 г.**
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **13 марта 2020 г.**
Срок действия исключительного права на изобретение истекает **21 декабря 2038 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2726062

Способ дифференциальной и ранней диагностики заболеваний ЛОР-органов воспалительной и опухолевой этиологии с использованием раман-флюоресцентной спектрометрии

Патентообладатель: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU)***

Авторы: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU), Кукушкин Владимир Игоревич (RU), Артемьев Дмитрий Николаевич (RU)***

Заявка № **2018130130**
Приоритет изобретения **20 августа 2018 г.**
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **08 июля 2020 г.**
Срок действия исключительного права на изобретение истекает **20 августа 2038 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2723139

Способ дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита с использованием раман-флюоресцентной спектроскопии

Патентообладатель: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU)***

Автор: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU)***

Заявка № **2018105982**
Приоритет изобретения **16 февраля 2018 г.**
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **09 июня 2020 г.**
Срок действия исключительного права на изобретение истекает **16 февраля 2038 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2862795

Способ ранней неинвазивной многоволновой экспресс-диагностики полипозного риносинусита с использованием комбинационного рассеяния света

Патентообладатель: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU)***

Авторы: ***Тимурзиева Алина Борисовна (RU), Абрамов Юрий Евгеньевич (RU), Кукушкин Владимир Игоревич (RU), Артемьев Дмитрий Николаевич (RU)***

Заявка № **2025120700**
Приоритет изобретения **28 июля 2025 г.**
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **26 мая 2026 г.**
Срок действия исключительного права на изобретение истекает **28 июля 2045 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов