Письма в ЖЭТФ, том 123, вып. 3, с. 228 – 236

Диагностика рака молочной железы на основе спектроскопии комбинационного рассеяния света[1)]

Е. Н. Римская[+ 2)], *А. В. Горевой*[+], *А. А. Бугаец*[*], *В. В. Кометова*[×], *С. И. Кудряшов*[+]

[+]*Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, 119991 Москва, Россия*

[*]*Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", 115409 Москва, Россия*

[×]*"Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997 Москва, Россия*

Поступила в редакцию 1 ноября 2025 г.
После переработки 1 декабря 2025 г.
Принята к публикации 9 декабря 2025 г.

Представлена методика биохимического анализа на основе микрокартирования методом спектроскопии комбинационного рассеяния света с длиной волны возбуждения 532 нм и многомерного анализа данных и проведена ее апробация для дифференциальной диагностики злокачественных новообразований в *ex vivo* образцах тканей молочной железы. Выделенные спектральные биомаркеры и предложенный метод отбора спектров позволили достичь точности 76 %, чувствительности 80 % и специфичности 73 % для различения здоровой (59 образцов) и опухолевой (59 образцов) тканей по точечным измерениям.

DOI: 10.7868/S3034576626020035

1. Введение. Рак молочной железы (МЖ) остается одним из наиболее распространенных и несущих угрозу для жизни онкологических заболеваний среди женщин во всем мире [1–3]. Несмотря на значительные успехи в профилактике, диагностике и лечении рака МЖ [4], важным фактором, определяющим успех терапии и выживаемость пациенток, является точная диагностика [5]. Современные стандарты диагностики, такие как маммография, магнитно-резонансная томография, ультразвуковое исследование и биопсия, обладают рядом ограничений, включая зависимость от плотности тканей, риск ложноположительных результатов, инвазивность и субъективность интерпретации [6–8]. В связи с этим сохраняется высокая потребность в разработке новых, высокочувствительных методов диагностики заболеваний, в число которых входят неинвазивные оптические методы.

Одним из перспективных подходов является спектроскопия комбинационного рассеяния света (КРС), которая позволяет детально анализировать молекулярный состав биологических образцов на основе их уникальных спектральных профилей. Способность спектроскопии КРС выявлять тонкие молекулярные изменения открывает возможности для достоверной дифференциации здоровых и опухолевых тканей [9–13]. Так, с ее помощью в работах [14–16] были выявлены биофизические изменения в тканях кожи при канцерогенезе, связанные с нарушением клеточного метаболизма в злокачественных опухолях. В частности, снижение интенсивности полос $1268\,\text{см}^{-1}$ в базальноклеточной карциноме свидетельствовало об изменении α-спиральной структуры белков и деградации коллагена, а усиление полосы $1336\,\text{см}^{-1}$ в плоскоклеточной карциноме отражало нарушения кератинизации и увеличение содержания триптофана. Ряд исследований [1, 10, 17] подтверждает, что спектроскопия КРС выявляет специфические изменения молекулярного состава тканей МЖ при канцерогенезе по сдвигам в интенсивности полос липидного ($1080–1400\,\text{см}^{-1}$) и белкового ($800–960\,\text{см}^{-1}$) профилей, обеспечивая точность дифференциации 80 % и более. Основным признаком является увеличение относительного содержания белков в злокачественных тканях [18–20], что отражается в значительном усилении интенсивности амидных полос (Амид I при $1655\,\text{см}^{-1}$ и Амид III при $1265\,\text{см}^{-1}$) и снижении интенсивности липидных полос, таких как $1440\,\text{см}^{-1}$ (деформационные колебания CH_2) и $1745\,\text{см}^{-1}$ (валентные колебания C=O эфиров триглицеридов). Более того, спектроскопия КРС позволяет классифицировать различные молекулярные подтипы злокачественных опухолей МЖ (люминальный А и В, HER2,

[1)]См. дополнительный материал к данной статье на сайте нашего журнала www.jetpletters.ru

[2)]e-mail: rimskaya@lebedev.ru

тройной негативный фенотип) по характерным колебательным полосам липидов, коллагена и нуклеиновых кислот [17], а также прогнозировать малигнизацию новообразований по фосфатным и карбонатным полосам в спектрах микрокальцинатов [1, 21]. Помимо перечисленных выше исследований тканей МЖ *ex vivo* и клеточных линий *in vitro*, заметное внимание было уделено спектроскопии КРС тканей МЖ *in vivo* для интраоперационной визуализации границ опухолей [22, 23], а также поиску спектрально-различимых биомаркеров для дифференциальной диагностики рака МЖ по образцам сыворотки или плазмы крови, слюны и мочи (жидкостная биопсия) [1, 24, 25].

Ввиду значительной неоднородности как здоровых, так и опухолевых тканей МЖ [26, 27], большинство разработанных методов, сфокусированных преимущественно на относительном содержании белков/липидов, имеют ограниченную точность при съемке малого числа спектров или сборе данных с ограниченного участка образца. В отличие от них, данная работа направлена на комплексный анализ как белковых, так и липидных профилей, полученных при помощи спектроскопии КРС, с целью их последующего раздельного использования для дифференциальной диагностики злокачественных новообразований. В работе представлены как результаты спектрального микрокартирования тканей МЖ *ex vivo* с анализом пространственного распределения основных биохимических компонент, так и результаты классификации с использованием предложенного метода при регистрации спектров КРС в произвольно выбранных точках образцов.

2. Материалы и методы. Спектры КРС были получены *ex vivo* для образцов здоровой и опухолевой ткани МЖ (размером от 5 до 10 мм, инвазивный рак МЖ неспецифического типа, люминальных подтипов, Grade 1–3) от 59 пациенток в ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова" Министерства здравоохранения РФ. Все образцы были заморожены при температуре $-80\,^{\circ}$C для сохранения морфологии и биологической активности. Перед анализом образцы размораживали в течение одного часа при комнатной температуре ($25\,^{\circ}$C) и помещали на стеклянную подложку, покрытую слоем алюминия толщиной 300 нм. Такой материал подложки подходит для спектроскопии КРС благодаря своим оптическим свойствам и химической и биологической инертности [28, 29]. Дополнительно было проанализировано по 10 гистологических срезов здоровой и опухолевой ткани толщиной 6 мкм на предметных стеклах.

Измерение спектров КРС проводилось на конфокальном микроскопе-спектрометре Confotec MR520 (SOL Instruments, Минск, Беларусь). В качестве источника возбуждения использовался лазер с длиной волны 532 нм, мощность излучения которого в плоскости образца составляла 20 мВт, время накопления сигнала составляло до 10 с. Для фокусировки и сбора обратно рассеянного излучения применялся объектив MPlanFL 40× (Nikon, Токио, Япония) с числовой апертурой NA = 0.75. Поперечное и продольное оптическое разрешение системы составляло < 1 мкм и < 10 мкм соответственно. Для каждого из 118 образцов было зарегистрировано по 15–20 спектров в произвольно выбранных точках для апробации метода дифференциальной диагностики, а на гистологических срезах было выполнено сканирование по сетке 20×20 точек с шагом 9 мкм для исследования пространственного распределения биохимических компонентов методом картирования спектров КРС.

Предварительная обработка полученных спектральных данных включала два этапа. Вычитание широкополосного сигнала флуоресценции производилось с использованием Ванкуверского алгоритма (Vancouver Raman Algorithm) [30], реализованного в среде MATLAB (R2022b, MathWorks, USA), с итеративной аппроксимацией базовой линии полиномом пятой степени. Последующее сглаживание спектров и подавление шума выполнялось методом Савицкого–Голея с длиной окна 15–19 точек и полиномом второй степени. Оптимальность выбранных методов и настроек для обработки спектров биотканей с учетом характеристик использованного оборудования была подтверждена ранее [14, 15]. Примеры исходных и обработанных спектров приведены в дополнительных материалах (рис. S1).

Для анализа обработанных спектров КРС и выделения биохимически интерпретируемых спектральных компонентов применялись методы разрешения многомерных кривых (MCR) и главных компонент (PCA). Метод MCR с алгоритмом чередующихся наименьших квадратов (ALS) и неотрицательными ограничениями использовался для декомпозиции объединенной матрицы спектров на спектральные профили компонент и их весовые коэффициенты (концентрации) [31]. Анализ выполнялся с 16 случайными инициализациями, при этом выбиралось решение с минимальной ошибкой. Для выделения основных полос колебаний в полученных спектральных профилях был использован анализ вторых производных и аппроксимация спектров набором псевдорас-

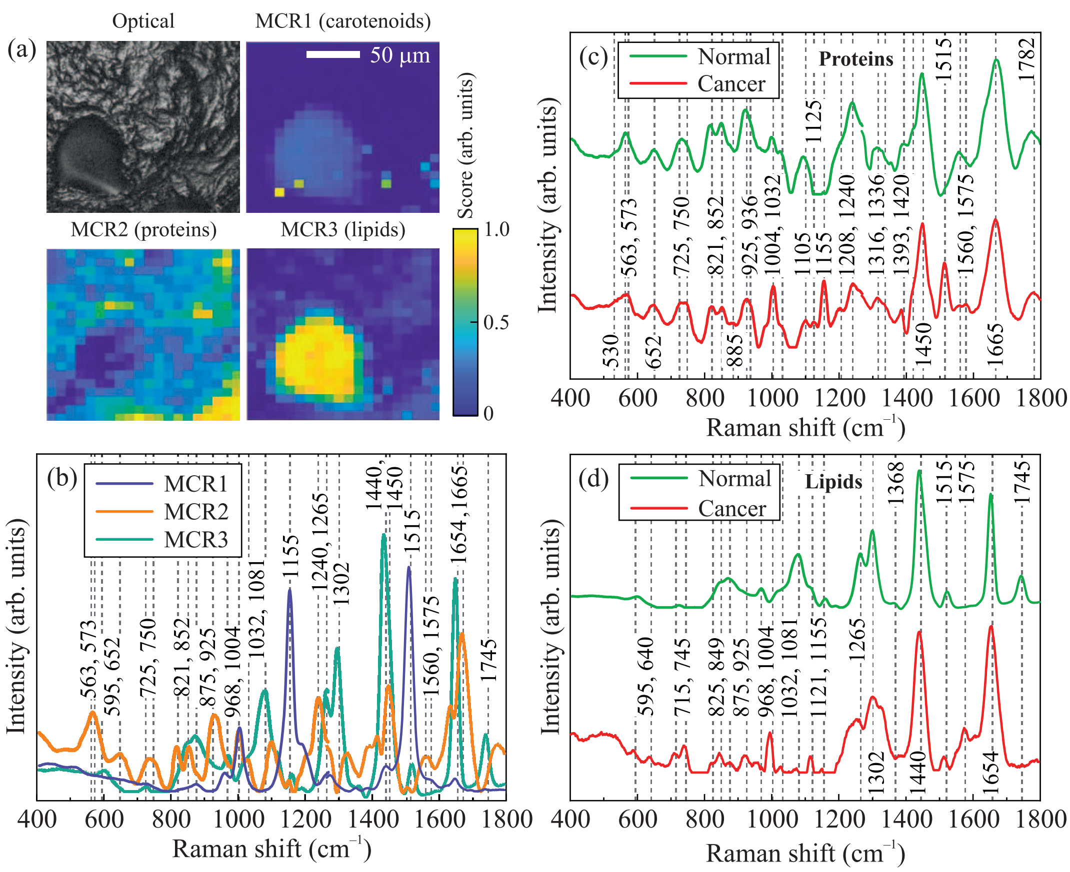

Рис. 1. (Цветной онлайн) Оптическое изображение и карты пространственных распределений весовых коэффициентов MCR1 (каротиноиды), MCR2 (белки) и MCR3 (липиды) для образца здоровой ткани МЖ с липидной каплей (a) и спектральные профили выделенных компонент MCR (b). Сравнение спектральных профилей белковых (c) и липидных (d) участков образцов здоровой ткани и опухоли

пределений Фойгта (pseudo-Voigt) [16]. Метод PCA применялся для снижения размерности данных и выделения наиболее информативных признаков при последующей классификации. Для построения диагностической модели и разделения образцов на классы "здоровая ткань" и "опухоль" использовался квадратичный дискриминантный анализ (QDA). Устойчивость моделей оценивалась с помощью перекрестной проверки (k-fold cross validation) с 10 подвыборками ($k = 10$) и 10 повторениями, чтобы избежать переобучения [32]. Стратификация данных выполнялась по пациентам, что гарантировало попадание спектров от одного пациента только в одну подвыборку. Для автоматизированного выбора спектральных полос или главных компонент, дающих наилучший результат при классификации, использовался метод перебора всех возможных вариантов, включая выбор спектральной полосы для нормировки [15].

3. Спектральное картирование образцов ткани МЖ. Полученные карты спектров КРС для гистологических срезов тканей МЖ были обработаны с использованием MCR-анализа, в результате чего были выделены четыре значимые компоненты, соответствующие стеклянной подложке (с характерными полосами 574 и 1105 см$^{-1}$), а также, согласно литературным данным [33–35], белкам, липидам и каротиноидам. Примеры полученных спектральных профилей компонент и пространственных распределений их весовых коэффициентов, показывающих зональную организацию липидов и белков, приведены на рис. 1a, b для образца здоровой ткани МЖ. Усредненные по набору гистологических срезов спектральные профили белковых и липидных участков показаны раздельно для образцов здоровой ткани и опухоли на рис. 1c, d.

В липидных компонентах обнаружены такие характерные полосы, как 715 (C–N симметричные валентные колебания [35]), 745 (маятниковые деформационные колебания CH_2 [36]), 825 (кольцевое колебание тирозина [37]), 875, 1081, 1265 (=C–H плоские деформационные колебания [33]), 1302 (колебания скручивания CH_2 [38]), 1440 (ножничные колебания CH_2 [15]) и 1654 см$^{-1}$ — колебания фосфолипидов [15], а также 1745 см$^{-1}$ – валентные колебания C=O эфиров холестерина [34]. Ключевым отличием опухолевой ткани является увеличение отношения интенсивностей полос 1654 см$^{-1}$/1440 см$^{-1}$, что свидетельствует о повышении содержания ненасыщенных жирных кислот (ЖК) и снижении жесткости мембран [39, 40]. В белковых компонентах выявлено изменение интенсивности полос в области 850–890 см$^{-1}$, которые соответствуют валентным колебаниям C–C связей пролина и гидроксипролина [35, 41]. Повышенный уровень пролина может быть связан с ростом, пролиферацией и агрессивностью рака, что подтверждается активацией ферментов биосинтеза пролина и их ролью в метаболическом перепрограммировании опухолевых клеток [42]. Помимо этого, о наличии пролина и гидроксипролина свидетельствуют полосы КРС при 852, 876, 918 и 938 см$^{-1}$ [35, 41]. Кроме того, увеличение относительной доли ядер в опухолевой ткани [19] может быть причиной роста интенсивности полос 1316, 1336, 1575 и 1665 см$^{-1}$, относящихся к нуклеиновым кислотам, которые в этом случае также входят в компоненту MCR2. Интенсивность полосы около 1450 см$^{-1}$, соответствующей деформационным колебаниям CH_2 и CH_3 групп белков, возрастает в опухолевой ткани, указывая на увеличение общего содержания белков и отражая структуру пептидных связей, вместе с полосой Амид II при 1560 см$^{-1}$ являясь маркером изменения вторичной структуры белков [33]. Картирование показало пространственную организацию липидных капель в здоровой ткани и их значительное уменьшение в опухолевых образцах, что согласуется с активацией липолиза в ходе канцерогенеза [1, 43, 44].

4. Анализ спектральных различий образцов тканей МЖ. В результате применения MCR-анализа к набору спектров двух групп образцов (59 образцов нормальной ткани МЖ и 59 – опухолевой) были аналогично идентифицированы три основные биохимические составляющие (рис. 2): каротиноиды (MCR1), белки (MCR2) и липиды (MCR3). На основании сравнения с литературными источниками [35], характерные полосы MCR1 совпадают с основными полосами в спектрах каротиноидов: 1005 (деформационные колебания CH_3), 1155 (валентные колебания C–C) и 1515 см$^{-1}$ (валентные колебания C=C). Заметный разброс относительного содержания MCR1 как в нормальных, так и в опухолевых тканях для нашей выборки значительно ограничивает ее диагностическую значимость для дифференциации, в связи с чем эта компонента была исключена из дальнейшего анализа. Спектральный

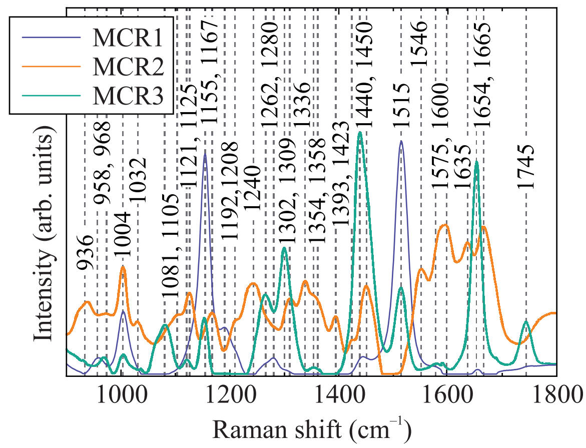

Рис. 2. (Цветной онлайн) Основные полосы в спектрах КРС образцов нормальной и опухолевой ткани МЖ после разделения на три компоненты при помощи MCR-анализа: MCR1 (каротиноиды), MCR2 (белки) и MCR3 (липиды)

профиль компоненты MCR2 демонстрирует характерные полосы ароматических аминокислот: фенилаланина (652, 1004, 1032, 1105 см$^{-1}$) и триптофана (573, 750, 1208, 1336, 1560 см$^{-1}$), а также алифатических аминокислот, таких как валин (936, 1032, 1126, 1393, 1450 см$^{-1}$) и пролин (725, 852, 936, 1032, 1208, 1240, 1336, 1450 см$^{-1}$) [15, 38]. Полосы КРС при 1080, 1316, 1336, 1575 и 1665 см$^{-1}$ могут быть отнесены к нуклеиновым кислотам [35]. Весовой коэффициент MCR2 также связан с содержанием коллагена, что подтверждает наличие следующих полос КРС: 936, 1004, 1032, 1173, 1636 см$^{-1}$, и эластина – с полосами КРС при 1004, 1032, 1208, 1562, 1586, 1782 см$^{-1}$ [15]. Компонента MCR3 была ассоциирована с липидами на основе полос КРС при 968, 1081, 1265, 1302, 1440, 1654, 1745 см$^{-1}$ [34, 35]. Детальный анализ выявил совпадение со спектральным профилем липидных капель [46], представляющих собой структуры из триацилглицеринов и эфиров холестерина, окруженные фосфолипидным монослоем, которые играют ключевую роль в энергетическом метаболизме и клеточном гомеостазе [34], а также существенно влияют на различные аспекты развития рака [46].

В соответствии с полученными соотношениями весовых коэффициентов компонент MCR2 и MCR3 (без учета MCR1), все спектры были разделены на три группы (рис. 3): группа P (белковые спектры) – содержащие менее 0.3 отн. ед. липидов (MCR3), группа M (смешанные спектры) – с промежуточным соотношением липидов (0.3–0.7 отн. ед.) и белков (MCR2), и группа L (липидные спектры) – с преоб-

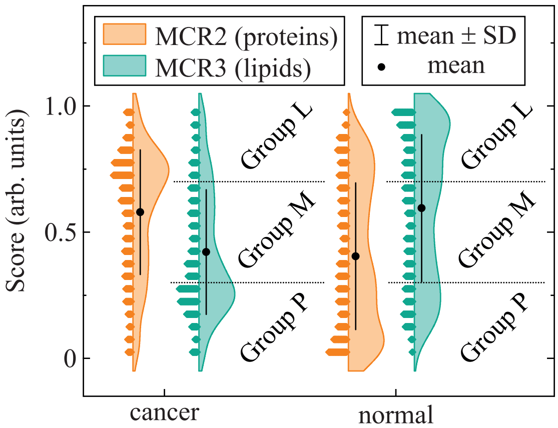

Рис. 3. (Цветной онлайн) Распределение относительных весовых коэффициентов MCR2 (белки) и MCR3 (липиды) (без учета MCR1) для спектров КРС образцов нормальной и опухолевой ткани МЖ, среднее значение (mean) и среднеквадратичное отклонение (СКО, SD), а также разделение спектров на группы (P, M, L)

ладанием липидного компонента (более 0.7 отн. ед.). Показанная на рис. 3 статистика подтверждает увеличение вклада белкового профиля (MCR2) в опухолевых тканях по сравнению со здоровыми, вызванное метаболической перестройкой преобладающих в здоровой ткани адипоцитов, что приводит к усиленному расщеплению липидов и высвобождению ЖК для энергетического обеспечения раковых клеток. Этот механизм частично объясняет клинические наблюдения, согласно которым у женщин с высокой маммографической плотностью (характеризующейся пониженным содержанием жировой ткани) чаще диагностируют агрессивные формы рака МЖ [46]. Ограниченное количество адипоцитов в такой ткани потенциально способствует более интенсивному метаболическому стрессу и активному перепрограммированию оставшихся жировых клеток в микроокружении опухоли.

Для выделенных групп были раздельно рассчитаны средние спектры и среднеквадратичные отклонения (СКО) для образцов здоровой и опухолевой ткани после вычитания компоненты MCR1 (рис. 4). Ключевые отличия для всей совокупности образцов (желтые полосы на рис. 4a) локализованы в спектральных диапазонах 1220–1400 и 1560–1660 $см^{-1}$. В то же время, для образцов белковой группы (P, рис. 4b) в опухолевых тканях заметно увеличена интенсивность полос Амид III (1240–1260 $см^{-1}$), деформационных колебаний CH_3 (1336 $см^{-1}$) и нуклеиновых кислот (1374 $см^{-1}$). Для смешанной группы (M, рис. 4c) существенные различия между здоровой тканью и раком МЖ наблюдаются в области 1004 $см^{-1}$ (колебания C–C), 1265 $см^{-1}$ (C=H колебания ненасыщенных ЖК), а также 1336 $см^{-1}$ (колебания деформации CH_3), 1654 $см^{-1}$ (валентные колебания C=C) и 1745 $см^{-1}$ (валентные колебания C=O сложных эфиров триглицеридов). В спектрах опухоли наблюдается уменьшение интенсивности полосы 1745 $см^{-1}$ и сдвиг полосы с 1654 к 1665 $см^{-1}$, что указывает на снижение общего содержания триглицеридов, и одновременное усиление сигналов белковых полос (1004, 1265, 1336 и 1655 $см^{-1}$), в частности полос фенилаланина и триптофана, что указывает на повышенную экспрессию специфических белков в злокачественной ткани.

Для количественной оценки степени ненасыщенности липидов в спектрах группы L (рис. 4d) было рассчитано отношение интенсивностей полос КРС при 1265 и 1654 $см^{-1}$ к полосе при 1440 $см^{-1}$, которая относительно нечувствительна к конформации. Отмеченное увеличение этих отношений в образцах рака МЖ согласуется с повышенным содержанием ненасыщенных ЖК вблизи опухоли МЖ [39, 40] для поддержания ее быстрого роста и выживания [34, 45]. Также в исследовании [44] было показано, что клетки рака МЖ стимулируют мобилизацию ЖК из запасов триглицеридов в адипоцитах в непосредственной близости от опухоли для пролиферации и миграции раковых клеток.

5. Разработка метода диагностики рака МЖ. Чтобы определить оптимальные критерии для дифференциации двух классов образцов (здоровая ткань и рак МЖ), мы использовали автоматический перебор возможных признаков (полосы КРС и главные компоненты – PCA) и полос для нормировки для всех групп (P, L и M) и их комбинаций (например, L + M). Выбранные наборы признаков и соответствующие показатели точности, чувствительности (TPR) и специфичности (TNR) для QDA представлены в табл. 1.

Несмотря на статистически значимое повышение степени ненасыщенности липидов в опухолевой ткани, точность классификации по спектрам группы L оказывается недостаточной, в то время как дифференциация по спектрам группы P обеспечивает максимальные показатели. Использование того же набора признаков (отношений интенсивности полос КРС 1265, 1336 и 1374 $см^{-1}$ к интенсивности полосы 1302 $см^{-1}$) для комбинации белковой и смешанной групп (P + M) позволяет достичь TNR = 70 % при фиксированной TPR = 80 % для значительно большего числа спектров. Распределения значений выбранных критериев для групп (P + M), представленные на рис. 5a, b, подтверждают установленные

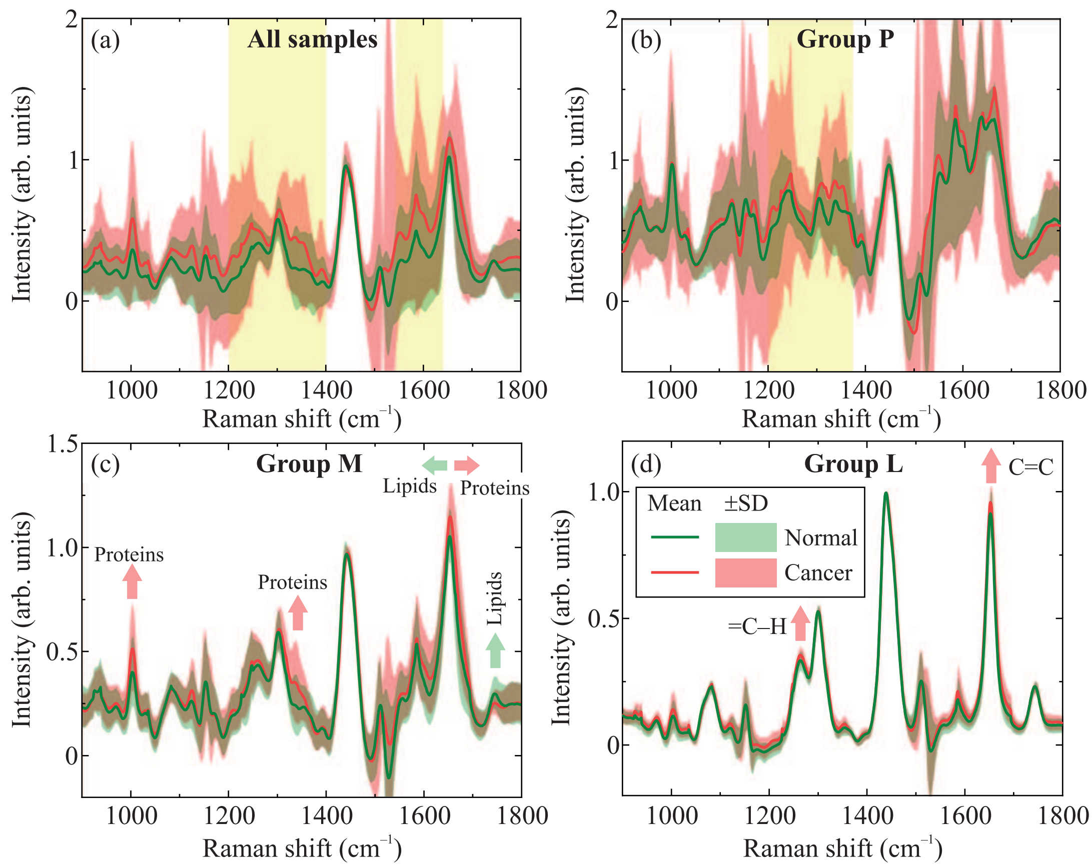

Рис. 4. (Цветной онлайн) Усредненные спектры КРС для образцов здоровой (зеленые) и опухолевой (красные) ткани МЖ после вычитания компоненты MCR1: усреднение по всем спектрам (a), по спектрам из группы P (b), группы M (c) и группы L (d). Общие обозначения показаны на (d): среднее значение (mean) и СКО (SD)

Таблица 1. Результаты классификации с помощью метода PCA и выбранных полос КРС для всех групп образцов

Group	Model	Sample	Metrics, %		ROC AUC
			Accuracy	TNR at TPR = 80 %	
L	1265, 1549, 1654	training	72	65	0.771
		test	66	54	0.729
M	1313, 1336, 1374	training	71	80	0.882
		test	69	71	0.838
P	1265, 1336, 1374	training	80	81	0.880
		test	78	73	0.844
M + P	1265, 1336, 1374	training	72	77	0.851
		test	70	70	0.817
M + P	PCA 2, 8, 10	training	78	78	0.867
		test	76	73	0.848

ранее закономерности. Увеличение количества признаков повышает показатели для обучающей выборки, но обеспечивает лишь незначительное улучшение результатов для тестовой выборки, свидетельствуя о переобучении модели. Аналогичные результаты получены при использовании PCA: оптимальный набор из трех главных компонент (PCA 2, PCA 8, PCA 10) обеспечивает TNR = 73 % при TPR = 80 %. Распределения их коэффициентов (рис. 5c, d) и спектральных профилей (рис. 5e) хорошо согласуются с результатами анализа отдельных полос КРС, подтверждая обоснованность выбора полос 1265, 1336 и 1374 $см^{-1}$

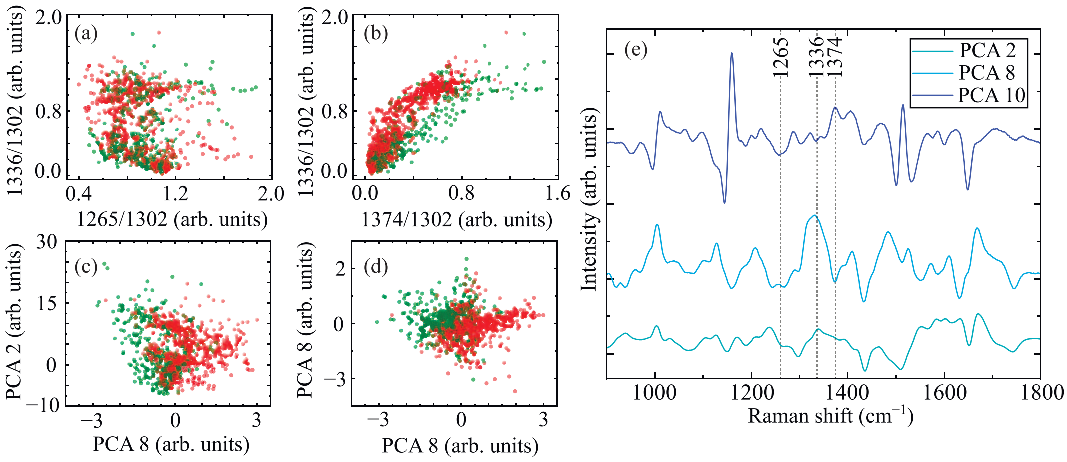

Рис. 5. (Цветной онлайн) Распределение отношений значений интенсивности для выбранных полос КРС (a), (b) и коэффициентов главных компонент (c), (d), а также спектральные профили главных компонент (e), обеспечивающих максимальные показатели дифференциации здоровой и опухолевой тканей МЖ для комбинации белковой и смешанной групп спектров

в качестве эффективного признакового пространства для классификации.

6. Заключение. В данной работе продемонстрирована эффективность спектроскопии КРС с возбуждением лазерным излучением с длиной волны 532 нм для диагностики рака МЖ. Предложенная методика исследования с использованием спектрального микрокартирования и MCR-анализа позволила визуализировать пространственную организацию основных биохимических компонент в образцах здоровой и опухолевой ткани. Комплексный анализ полученных спектральных данных подтвердил общее снижение концентрации липидов при одновременном увеличении относительного содержания белков и нуклеиновых кислот, а также повышение ненасыщенности липидов в опухолях, свидетельствующее о метаболическом перепрограммировании адипоцитов вблизи раковых клеток. Разработанный диагностический метод, основанный на предварительном отборе спектров и сочетании PCA с QDA, показал высокую эффективность (точность 76 %, чувствительность 80 % и специфичность 73 %). Полученные результаты доказывают, что спектроскопия КРС в сочетании с многомерным анализом данных представляет собой перспективный инструмент для дифференциальной диагностики рака МЖ, обладающий значительным потенциалом для использования в качестве неинвазивного *ex vivo* или интраоперационного *in vivo* метода оценки метаболического статуса новообразований.

Авторы благодарят Лабораторию за сбор и хранение биологического материала (Биобанк) и за предоставление образцов тканей.

Финансирование работы. Исследование выполнено в рамках государственного задания Физического института имени П. Н. Лебедева Российской академии наук # FFMR-2024-0009.

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова (протокол # 9 от ноября 2018 г.). Информированное согласие было получено от всех пациентов, участвовавших в исследовании.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

1. K. Hanna, E. Krzoska, A. Shaaban, D. Muirhead, R. Abu-Eid, and V. Speirs, "Raman spectroscopy: current applications in breast cancer diagnosis, challenges and future prospects", Br. J. Cancer **126**, 1125 (2022).
2. *Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность)*, ред. А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова (МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Москва, 2024), 276 с. [*Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2023 godu (zabolevaemost' i smertnost')*, ed. by A. D. Kaprin, V. V. Starinskii, and A. O. Shakhzadova (MNIOI im. P. A. Gertsena – filial FGBU NMIC radiologii Minzdrava Rossii, Moscow, 2024), 276 p.] [in Russian].
3. World Health Organization, "Breast cancer", 2024, https://www.who.int/ru/news-room/factsheets/detail/breast-cancer.
4. N. Harbeck, F. Penault-Llorca, J. Cortes, M. Gnant, N. Houssami, P. Poortmans, K. Ruddy, J. Tsang, and

F. Cardoso, “Breast cancer”, Nat. Rev. Dis. Primers **5**, 66 (2019).

5. M. Milosevic, D. Jankovic, A. Milenkovic, and D. Stojanov, “Early diagnosis and detection of breast cancer”, Technol Health Care **26**, 729 (2018).
6. L. J. Esserman, “The wisdom study: breaking the deadlock in the breast cancer screening debate”, npj Breast Cancer **3**, 34 (2017).
7. M. Loberg, M.L. Lousdal, M. Bretthauer, and M. Kalager, “Benefits and harms of mammography screening”, Breast Cancer Res. **17**, 63 (2015).
8. Е. А. Бусько, “Мультипараметрическое ультразвуковое исследование в ранней диагностике и мониторинге лечения рака молочной железы”, дис. ... док. мед. наук: 14.01.12, ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова, Санкт-Петербург, 2021, 325 с. [E. A. Bus’ko, “Mul’tiparametricheskoe ul’trazvukovoe issledovanie v rannei diagnostike i monitoringe lecheniya raka molochnoi zhelezy”, diss. ... dok. med. nauk: 14.01.12, FGBU NMIC onkologii im. N. N. Petrova, St. Petersburg, 2021, 325 p.] [in Russian].
9. О. О. Мякинин, “Системы анализа биомедицинских данных для диагностики злокачественных новообразований кожи”, дис. ... канд. техн. наук : 05.11.17, ФГАОУ ВО “Самарский университет”, Самара, 2021, 186 с. [O. O. Myakinin, “Sistemy analiza biomeditsinskikh dannykh dlya diagnostiki zlokachestvennykh novoobrazovanii kozhi”, diss. ...kand. tekh. nauk : 05.11.17, FGAOU VO Samarskiy universitet, Samara, 2021, 186 p.] [in Russian].
10. D. Lazaro-Pacheco, A. M. Shaaban, S. Rehman, and I. Rehman, “Raman spectroscopy of breast cancer”, Appl. Spectrosc. Rev. **55**, 439 (2020).
11. M. A. Kouri, E. Spyratou, M. Karnachoriti, D. Kalatzis, N. Danias, N. Arkadopoulos, I. Seimenis, Y. S. Raptis, A. G. Kontos, and E. P. Efstathopoulos, “Raman spectroscopy: A personalized decision-making tool on clinicians’ hands for in situ cancer diagnosis and surgery guidance”, Cancers **14**, 1144 (2022).
12. G. W. Auner, S. K. Koya, C. Huang, B. Broadbent, M. Trexler, Z. Auner, A. Elias, K. C. Mehne, and M. A. Brusatori, “Applications of Raman spectroscopy in cancer diagnosis”, Cancer Metastasis Rev. **37**, 691 (2018).
13. J. Bufka, L. Vankova, J. Sykora, V. Krizkova, J. Schwarz, and P. Bour, “Advancing clinical medicine with Raman spectroscopy: Current trends and future perspectives”, Advanced Photonics Research **6**, 2500087 (2025).
14. E. Rimskaya, S. Shelygina, A. Timurzieva, I. Saraeva, E. Perevedentseva, N. Melnik, K. Kudrin, D. Reshetov, and S. Kudryashov, “Multispectral Raman differentiation of malignant skin neoplasms in vitro: Search for specific biomarkers and optimal wavelengths”, Int. J. Mol. Sci. **24**, 14748 (2023).
15. E. Rimskaya, A. Gorevoy, S. Shelygina, E. Perevedentseva, A. Timurzieva, I. Saraeva, N. Melnik, S. Kudryashov, and A. Kuchmizhak, “Multi-wavelength Raman differentiation of malignant skin neoplasms”, Int. J. Mol. Sci. **25**, 7422 (2024).
16. I. N. Saraeva, E. N. Rimskaya, A. B. Timurzieva, A. V. Gorevoy, S. N. Sheligyna, V. I. Popadyuk, E. V. Perevedentseva, and S. I. Kudryashov, “Analysis of skin neoplasms’ Raman spectra using the Lorentz approximation method: Pilot studies”, JETP Lett. **119**, 556 (2024).
17. A. C. S. Talari, “Raman spectroscopic analysis to identify chemical changes associated with different subtypes of breast cancer tissue samples”, Ph. D. thesis (Department of Material Science and Engineering, The University of Sheffield, UK, 2015), 180 p.
18. J. Surmacki, B. Brozek-Pluska, R. Kordek, and H. Abramczyk, “The lipid-reactive oxygen species phenotype of breast cancer. Raman spectroscopy and mapping, PCA and PLSDA for invasive ductal carcinoma and invasive lobular carcinoma. Molecular tumorigenic mechanisms beyond Warburg effect”, The Analyst **140**, 2121 (2015).
19. R. Kothari, V. Jones, D. Mena, V. Bermúdez Reyes, Y. Shon, J. P. Smith, D. Schmolze, P. D. Cha, L. Lai, Y. Fong, and M. C. Storrie-Lombardi, “Raman spectroscopy and artificial intelligence to predict the Bayesian probability of breast cancer”, Sci. Rep. **11**, 6482 (2021).
20. D. Ma, L. Shang, J. Tang, Y. Bao, J. Fu, and J. Yin, “Classifying breast cancer tissue by Raman spectroscopy with one-dimensional convolutional neural network”, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **256**, 119732 (2021).
21. R. Vanna, C. Morasso, B. Marcinnó, F. Piccotti, E. Torti, D. Altamura, S. Albasini, M. Agozzino, L. Villani, L. Sorrentino, O. Bunk, F. Leporati, C. Giannini, and F. Corsi, “Raman spectroscopy reveals that biochemical composition of breast microcalcifications correlates with histopathologic features”, Cancer Res. **80**, 1762 (2020).
22. A. S. Haka, Z. Volynskaya, J. A. Gardecki, J. Nazemi, J. Lyons, D. Hicks, M. Fitzmaurice, R. R. Dasari, J. P. Crowe, and M. S. Feld, “*In vivo* margin assessment during partial mastectomy breast surgery using Raman spectroscopy”, Cancer Res. **66**, 3317 (2006).
23. J. Haskell, T. Hubbard, C. Murray, B. Gardner, C. Ives, D. Ferguson, and N. Stone, “High wavenumber Raman spectroscopy for intraoperative assessment of breast tumour margins”, The Analyst **148**, 4373 (2023).
24. S. Feng, S. Huang, D. Lin, G. Chen, Y. Xu, Y. Li, Z. Huang, J. Pan, R. Chen, and H. Zeng, “Surface-enhanced Raman spectroscopy of saliva proteins for the noninvasive differentiation of benign and malignant breast tumors”, Int. J. Nanomed. **10**, 537 (2015).

25. H. Nargis, H. Nawaz, H. Bhatti, K. Jilani, and M. Saleem, "Comparison of surface enhanced Raman spectroscopy and Raman spectroscopy for the detection of breast cancer based on serum samples", Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **246**, 119034 (2021).
26. G. Turashvili and E. Brogi, "Tumor heterogeneity in breast cancer", Front. Med. **4**, 227 (2017).
27. M. Kopec, A. Imiela, and H. Abramczyk, "Monitoring glycosylation metabolism in brain and breast cancer by Raman imaging", Sci. Rep. **9**, 166 (2019).
28. П. В. Кривошапкин, "Физико-химические основы модификации поверхности целлюлозных, углеродных и керамических материалов наноразмерными оксидами металлов", дис. ... док. хим. наук: 02.00.04, Институт химии Коми НЦ УрО РАН, НИУ ИТМО, Санкт-Петербург, 2019, 261 с. [P. V. Krivoshapkin, "Fiziko-himicheskie osnovy modifikatsii poverkhnosti cellyuloznyh, uglerodnykh i keramicheskikh materialov nanorazmernymi oksidami metallov", diss. ... dok. khim. nauk : 02.00.04, Institut himii Komi NC UrO RAN, NIU ITMO, St. Petersburg, 2019, 261 p. [in Russian]].
29. L. T. Kerr, H. J. Byrne, and B. M. Hennelly, "Optimal choice of sample substrate and laser wavelength for Raman spectroscopic analysis of biological specimen", Anal. Methods **7**, 5041 (2015).
30. J. Zhao, H. Lui, D. I. McLean, and H. Zeng, "Automated autofluorescence background subtraction algorithm for biomedical Raman spectroscopy", Appl. Spectrosc. **61**, 1225 (2007).
31. A. De Juan and R. Tauler, "Multivariate Curve Resolution: 50 years addressing the mixture analysis problem – A review", Anal. Chim. Acta **1145**, 59 (2021).
32. L. Bratchenko and I. Bratchenko, "Avoiding overestimation and the "black box" problem in biofluids multivariate analysis by Raman spectroscopy: Interpretation and transparency with the SP-LIME algorithm", J. Raman Spectrosc. **56**, 353 (2025).
33. A. Rygula, K. Majzner, K. Marzec, A. Kaczor, M. Pilarczyk, and M. Baranska, "Raman spectroscopy of proteins: a review", J. Raman Spectrosc. **44**, 1061 (2013).
34. K. Czamara, K. Majzner, M. Z. Pacia, K. Kochan, A. Kaczor, and M. Baranska, "Raman spectroscopy of lipids: a review", J. Raman Spectrosc. **46**, 4 (2015).
35. Z. Movasaghi, S. Rehman, and I. Rehman, "Raman spectroscopy of biological tissues", Spectroscopy **22**, 493 (2007).
36. K. Katsara, K. Psatha, G. Kenanakis, M. Aivaliotis, and V. M. Papadakis, "Subtyping on live lymphoma cell lines by Raman spectroscopy", Materials (Basel, Switzerland) **15**, 546 (2022).
37. G. Cutshaw, N. Joshi, X. Wen, E. Quam, G. Bogatcheva, N. Hassan, S. Uthaman, J. Waite, S. Sarkar, B. Singh, and R. Bardhan, "Metabolic response to small molecule therapy in colorectal cancer tracked with Raman spectroscopy and metabolomics", Angewandte Chemie (International ed. in English) **63**, e202410919 (2024).
38. J. De Gelder, K. De Gussem, P. Vandenabeele, and L. Moens, "Reference database of Raman spectra of biological molecules", J. Raman Spectrosc. **38**, 1133 (2007).
39. C. J. Frank, R. L. McCreery, and D. C. B. Redd, "Raman spectroscopy of normal and diseased human breast tissues", Anal. Chem. **67**, 777 (1995).
40. L. Shang, J. Tang, J. Wu, H. Shang, X. Huang, Y. Bao, Z. Xu, H. Wang, and J. Yin, "Polarized micro-Raman spectroscopy and 2D convolutional neural network applied to structural analysis and discrimination of breast cancer", Biosensors **13**, 65 (2022).
41. M. S. Bergholt, J.-P. St-Pierre, G. S. Offeddu, P. A. Parmar, M. B. Albro, J. L. Puetzer, M. L. Oyen, and M. M. Stevens, "Raman spectroscopy reveals new insights into the zonal organization of native and tissue-engineered articular cartilage", ACS Cent. Sci. **2**, 885 (2016); pMID: 28058277.
42. K. Tiedemann, O. Hussein, and S. Komarova, "Role of altered metabolic microenvironment in osteolytic metastasis", Front. Cell. Dev. Biol. **8**, 435 (2020).
43. A. Cruz, E. Barreto, N. Fazolini, J. Viola, and P. Bozza, "Lipid droplets: platforms with multiple functions in cancer hallmarks", Cell Death Dis. **11**, 105 (2020).
44. S. Balaban, R. F. Shearer, L. S. Lee, M. Van Geldermalsen, M. Schreuder, H. C. Shtein, R. Cairns, K. C. Thomas, D. J. Fazakerley, T. Grewal, J. Holst, D. N. Saunders, and A. J. Hoy, "Adipocyte lipolysis links obesity to breast cancer growth: adipocyte-derived fatty acids drive breast cancer cell proliferation and migration", Cancer Metab **5**, 1 (2017).
45. J. Xu and K. J. Morten, "Raman micro-spectroscopy as a tool to study immunometabolism", Biochem. Soc. Trans. **52**, 733 (2024).
46. H. Abramczyk, J. Surmacki, M. Kopec, A. K. Olejnik, K. Lubecka-Pietruszewska, and K. Fabianowska-Majewska, "The role of lipid droplets and adipocytes in cancer. Raman imaging of cell cultures: MCF10a, MCF7, MDA-MB-231 compared to adipocytes in cancerous human breast tissue"', Analyst **140**, 2224 (2015).