

УДК 543.424

РАСШИРЕННЫЙ СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОБРАБОТКИ

© Е. В. Тимченко^{1,2}, П. Е. Тимченко^{1,2}, О. О. Фролов^{1,2},
Л. Т. Волова², И. В. Бажутова², М. Ю. Власов^{1,2}

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

²Самарский государственный медицинский университет,
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89
E-mail: laser-optics.timchenko@mail.ru

Проведены эксперименты по применению математических методов обработки для расширенного сравнительного анализа состава биоматериалов и брeфоматриксoв. В качестве основных математических методов обработки спектров комбинационного рассеяния (КР) исследуемых биоматериалов использованы линейный дискриминантный анализ (LDA), ROC-анализ. Установлено, что деминерализованные биоматериалы из ювенильного дeн-тина обладают меньшей антигенностью по сравнению с брeфоматриксами.

Ключевые слова: спектроскопия комбинационного рассеяния, линейный дискриминантный анализ, ROC-анализ, биоматериалы, деминерализация.

DOI: 10.15372/AUT20240504

EDN: YVBAHG

Введение. Математические методы обработки нашли широкое распространение в биомедицинских задачах. На основе данных методов возможно изучение процессов, происходящих на уровне тканей и систем органов (в норме и при патологии), заболеваний и способов их лечения, приборов и систем медицинской техники [1, 2]. Математический анализ данных необходим для интерпретации медицинских исследований и является важнейшим этапом изучения клинических, диагностических, лечебных и профилактических мероприятий. Кроме того, статистический анализ — один из основополагающих разделов доказательной медицины [3].

Так, одной из важных прикладных задач по применению данных методов является оценка биоматериалов. Это связано с тем, что при использовании костных аллотрансплантатов высока вероятность иммуногенного ответа, а также существуют риски передачи инфекций, что приводит к ограниченности их применения. Концентрация примесей минеральной составляющей костной ткани оказывает значительное влияние на биологические, механические и оптические свойства [4].

Расширение источников получения аллогенных материалов является чрезвычайно важной и актуальной задачей.

Низкая антигенность и высокие остеоиндуктивные свойства обуславливают применение брeфокости в качестве пластического материала. Костный брeфоматрикс после деминерализации сохраняет эластичность, что позволяет облегчить процесс моделирования трансплантата [5].

Однако в настоящее время брeфоматриксy не изготавливаются в России в связи с изменением российского законодательства (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 03.12.2007 N 736 (ред. от 27.12.2011) «Об утверждении перечня медицинских показаний для искусственного прерывания беременности» (зарегистрировано в Минюсте РФ 25.12.2007

№ 10807), согласно которому прерывание беременности не проводится на поздних сроках гестации плода (18–24 недели), а строго по медицинским показаниям).

Аналогом брефоматрикса в качестве трансплантата могут служить деминерализованные ювенильные зубы или брефокость из утилизированных послеоперационных добавочных пальцев детей с полидактилией, которые содержат большое количество структурных белков, аналогичных костной ткани и брефоматриксу.

Поэтому целью работы являлось проведение расширенного сравнительного спектрального анализа различных биоматериалов с применением математических методов обработки.

Материалы и методы исследований. Материалами исследования являлись образцы ювенильного дентина, добавочные пальцы детей с полидактилией и брефоматрикс человека (губчатый и кортикальный). Исследуемые образцы разделены на четыре группы: I — ювенильный дентин (28 спектров комбинационного рассеяния (КР)), II — утилизированные послеоперационные добавочные пальцы детей с полидактилией (20 спектров), III — брефоматрикс деминерализованный губчатый (32 спектра), IV — брефоматрикс деминерализованный кортикальный (60 спектров).

Исследования образцов осуществлялись с помощью метода спектроскопии КР на стенде, включающем полупроводниковый лазер LML-785.0RB-04, совмещённый с пробником RPB-785, спектрометр Shamrock SR-303i с камерой ANDOR DV-420A-OE (захолаживание до $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, разрешение $0,15\text{ нм}$ по длине волны) [6, 7].

Чтобы не вызывать изменения образцов при исследовании подобраны мощность излучения лазера 150 мВт и время экспозиции 30 с , спектры КР регистрировались при помощи оптического зонда с фокусным расстоянием 7 мм в диапазоне $400\text{--}1800\text{ см}^{-1}$.

Обработка спектров проведена в системе Wolfram Mathematica 12.2: с помощью аппроксимации полиномом шестой степени из спектров КР была вычтена флуоресцентная составляющая, обработка также включала фильтрацию случайных шумовых эффектов. Исследование обработанных спектров проводилось с применением методов линейного регрессионного анализа в пониженном двумерном измерении и линейного дискриминантного анализа [8].

Исследования проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией, протокол был одобрен Комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (выписка из протокола № 210 заседания Комитета по биоэтике от 17.08.2020).

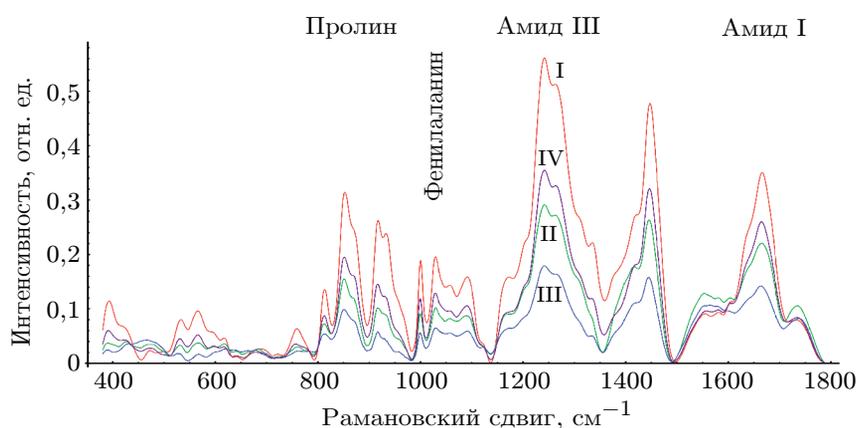


Рис. 1. Усреднённые спектры КР исследуемых образцов: I — ювенильный дентин, II — утилизированные послеоперационные добавочные пальцы детей с полидактилией, III — брефоматрикс деминерализованный губчатый, IV — брефоматрикс деминерализованный кортикальный

Таблица

Расшифровка спектров КР

Рамановский сдвиг, см ⁻¹	Колебания
~432	PO ₄ ³⁻ (ν_2) (P-O симметричное) (фосфат-ион гидроксиапатита)
584-593	PO ₄ ³⁻ (ν_4) (P-O симметричное) (фосфат-ион гидроксиапатита)
~612	Холестерин
752-759	Симметричная мода триптофана
~815	Пролин, гидроксипролин, тирозин, ν_2 PO ₂ -колебание нуклеиновых кислот
852-856	ν (C-C), пролин + δ (CCH) кольцевая дыхательная мода, тирозин (протеин и полисахариды)
870-880	ν (C-C), бензольное кольцо гидроксипролина (коллаген)
916-918	Пролин, гидроксипролин
~933	Пролин, гидроксипролин, ν (C-C)
955-961	PO ₄ ³⁻ (ν_1) (P-O симметричное)
1000-1008	Ароматическая мода фенилаланина ν_s (C-C)
1027-1035	Фенилаланин
~1045	PO ₄ ³⁻ (ν_3) (P-O симметричное)
~1075	CO ₃ ²⁻ (ν_1) В-тип замещения (C-O)
1200-1300	Амид III
1309-1314	CH ₃ CH ₂ крутильное колебание коллагена
1393-1420	CH деформация
1420-1424	Дезоксирибоза, (В,Z-маркер)
1446-1460	CH ₂ /CH ₃ деформация липидов и коллагена
1539-1585	Амид II (параллельная/антипараллельная структура β -слоя)
~1603	δ (C=C) тирозин, фенилаланин
1633-1700	Амид I
1720-1760	ν (C=O), фосфолипиды

Результаты. Рассмотрим нормированные усреднённые спектры комбинационного рассеяния исследуемых образцов (рис. 1). Интерпретация основных спектральных линий представлена в таблице.

Как видно из рис. 1, спектры КР имеют ярко выраженные спектральные различия между спектрами всех групп.

Наиболее значительные отличия групп выражены для линий ~855 см⁻¹, 918 см⁻¹, 933 см⁻¹ (пролин), ~1000 см⁻¹, ~1030 см⁻¹ (фенилаланин), 1200-1300 см⁻¹ (амид III), 1633-1700 см⁻¹ (амид I).

Для повышения информативности полученных спектров КР произведён нелинейный регрессионный анализ спектров, состоящий в их разложении на спектральные линии.

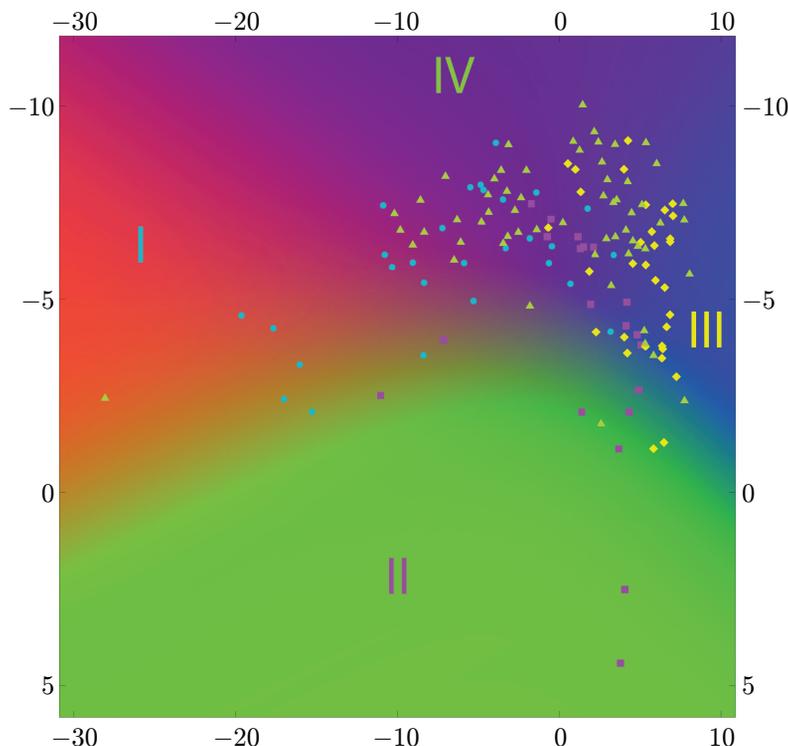


Рис. 2. Двумерное распределение вероятностей каждого класса как функция признаков: I — ювенильный дентин, II — костная ткань пальцев, III — брэфоматрикс деминерализованный губчатый, IV — брэфоматрикс деминерализованный кортикальный

Состав спектральных линий определён на основе автоматического многоитерационного моделирования 140 спектров КР в программной среде Wolfram Mathematica 12.2 с использованием методов машинного обучения и апробирован по результатам анализа литературы (см. таблицу). При моделировании спектрального контура у линий, используемых как шаблон, фиксировалось положение x_0 , ограничивалась полуширина линии (HWHM) dx и определялась лишь интенсивность линии из шаблона, а также добавлялись не включённые в шаблон линии. Это позволяло добиться высокой стабильности результатов при моделировании контура и учитывать все сдвиги линий КР. Критериальной переменной являлась амплитуда линий a , которая зависит от значений независимых регрессоров dx и x_0 , определяющих начальные условия анализа.

Среднее значение скорректированного коэффициента детерминации спектра от исходного в исследуемой области для всех 140 спектров составило $R_2 = 0,9981$.

Анализ полученных данных произведён в программной среде Wolfram Mathematica 12.2 методом логистической регрессии.

Визуализация результатов классификации методом логистической регрессии в пониженном двумерном измерении представлена на рис. 2 в виде распределения плотности вероятности отнесения каждого измерения к одному из четырёх классов. Видно, что области групп визуально плохо дифференцируются и имеют значительные пересечения между группами, тогда как группы I и II пересекаются с другими группами меньше.

В результате анализа методом логистической регрессии составлена дискриминантная модель характерных изменений интенсивностей линий КР для исследуемых образцов. Рассчитанное значение точности составило $85,3 \pm 3 \%$, а точность при прогнозировании наиболее распространённого класса $43 \pm 4 \%$.

	I	II	III	IV	
Фактический класс I	25	1	0	2	28
Фактический класс II	0	18	1	1	20
Фактический класс III	0	0	27	5	32
Фактический класс IV	1	1	8	50	60
	26	20	36	58	
	Предсказанный класс				

Рис. 3. Матрица решений

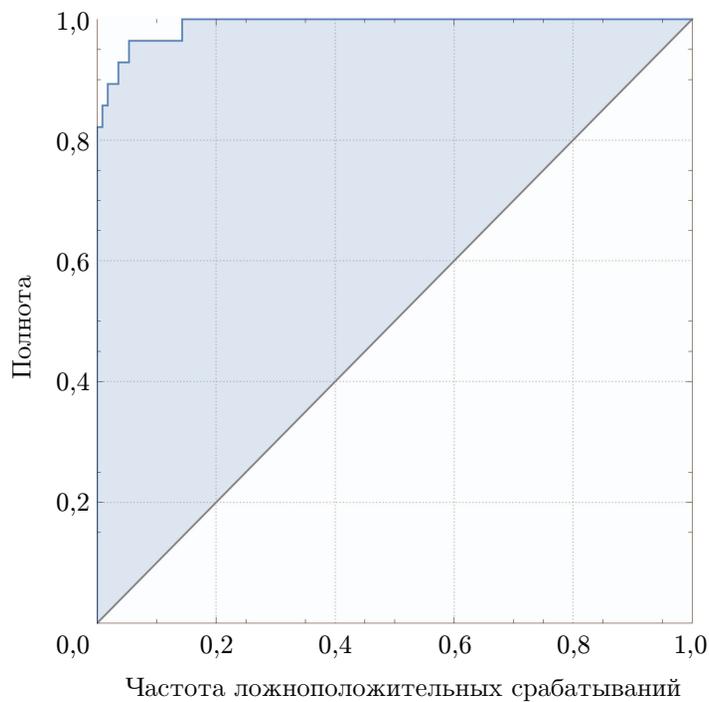


Рис. 4. ROC-кривая для исследуемых образцов

Результаты классификации групп представлены на рис. 3. Видно, что группы III и IV имеют больше неправильно классифицированных значений между собой, чем другие группы, что влияет на итоговую точность модели. Количество правильно классифицированных измерений для группы I составило 25 из 28, для группы II — 18 из 20.

На рис. 4 показаны ROC-кривые для каждой группы образцов. Рассчитанная специфичность разработанного алгоритма с помощью ROC-анализа составила 90–99 % в зависимости от определяемой группы.

Для дополнительного анализа полученных после разделения спектральных линий исследуемых объектов был выбран метод линейного дискриминантного анализа в программной среде IBM SPSS Statistics.

На рис. 5 представлены результаты LDA-сравнения (Linear Discriminant Analysis, LDA) четырёх групп образцов. Дискриминантная функция LD-1 описывает дисперсию на 60,7 %, LD-2 — на 24,8 %. Положительные значения LD-1 характерны для спектров КР-дентина. Области групп II, III и IV имеют пересечения.

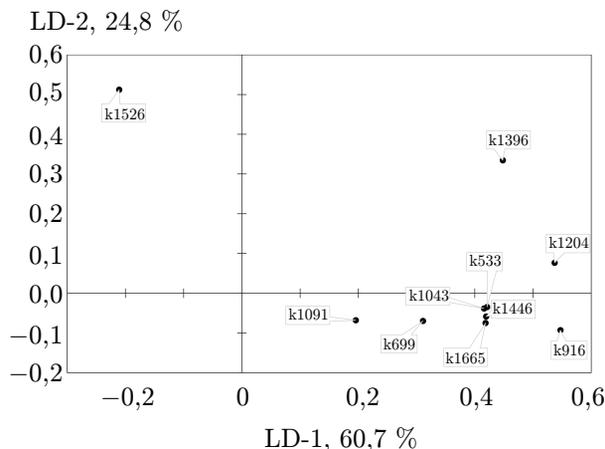


Рис. 5. График значений линейной дискриминантной функции

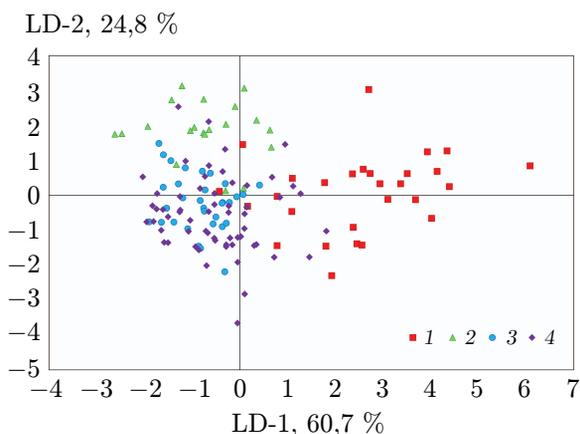


Рис. 6. Значения коэффициентов факторной структуры: 1 — ювенильный дентин, 2 — утилизированные послеоперационные добавочные пальцы детей с полидактилией, 3 — брефоматрикс деминерализованный губчатый, 4 — брефоматрикс деминерализованный кортикальный

На рис. 6 показаны коэффициенты матрицы факторной структуры для наиболее значимых линий КР, имеющие физический смысл корреляции между переменными в модели и дискриминирующей функцией. Чем выше по модулю значение LD-1 для переменной, тем в большей степени она определяет разницу в дискриминационной модели между группами образцов. Так, для группы образцов I относительная интенсивность линий, указанных в области LD-1 от 0 до 0,6, выше, чем для других групп.

Рис. 6 отражает вклад тех или иных линий в компоненты LD-1, LD-2.

Заключение. В результате линейного дискриминантного анализа составлена дискриминантная модель на основе 140 спектров КР. Рассчитанная точность дискриминантной модели составила 67,9 %, что говорит о степени сходства по спектральному составу между группами исследуемых образцов.

Разработанный алгоритм верифицирования биоматериалов, схожих с брефоматриksom, позволит осуществлять выбор биоматериалов с позиции регенеративной медицины. Точность модели на основе логистической регрессии составила 85,7 %.

Установлено, что ювенильный дентин обладает меньшей антигенностью по сравнению с материалами из брефокости, о чём свидетельствует увеличение интенсивности линий 1415 см^{-1} (ν_s COO-(IgG)) и 1526 см^{-1} (IgG). Биоматериалы из ювенильных зубов также содержат большее количество органических веществ, что обуславливает их применение в качестве трансплантатов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Mukhin S., Abakumov M., Borzov A. et al.** Application of hemodynamic modeling for solution of related physiological problems // Proc. of the 4th Int. Conf. on Computational & Mathematical Biomedical Engineering. Cachan, France, 29 June – 1 July, 2015. P. 52–53.
2. **Локтионова Н. Н., Фильчакова К. А.** Применение математических методов исследования в медицине // Инновационная наука. 2015. 1, № 3. С. 133–135.
3. **Сергиенко В. И., Бондарева И. Б.** Математическая статистика в клинических исследованиях. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 304 с.
4. **Чупрунов К. О.** Разработка метода получения наноструктурных сферических порошковых материалов на основе гидроксилалюмината с регулируемым фазовым составом и показателями дисперсности: Дис. ... канд. техн. наук. М.: НИТУ МИСИС, 2020. 137 с.
5. **Самсонов В. Е., Волова Л. Т., Васильев М. В.** Применение деминерализованного костного брeфоматрикса при лечении околокорневых кист и кистогранулем челюстей в амбулаторных условиях // Казанский медицинский журнал. 1993. 74, № 4. С. 294–296.
6. **Timchenko P. E., Timchenko E. V., Volova L. T. et al.** Raman spectroscopy method for the evaluation of bone bioimplants made using the “Lyoplast” technology from cadaveric and in vivo resected bone tissue // Journ. Phys.: Conf. Ser. 2018. 1038, Iss. 1. DOI: 10.1088/1742-6596/1038/1/012090.
7. **Timchenko E. V., Timchenko P. E., Frolov O. O. et al.** Optical Methods for Periodontitis Early Rapid Diagnosis // Proc. of the IEEE Int. Conf. on Electrical Engineering and Photonics (EExPolytech). St. Petersburg, Russia, 17–18 Oct., 2019. P. 298–300. DOI: 10.1109/EExPolytech.2019.8906802.
8. **Timchenko P. E., Timchenko E. V., Volova L. T. et al.** Spectral analysis of juvenile dentin biomaterials // Journ. Phys.: Conf. Ser. 2021. 2103, Iss. 1. DOI: 10.1088/1742-6596/2103/1/012160.

Поступила в редакцию 05.07.2024

После доработки 19.07.2024

Принята к публикации 24.07.2024
