

## **Построение моделей диагностики глиом с помощью ИК-спектроскопии и оценивание их надежности**

Шохзода Алижон кизи Тухтаева  
shohzoda.toxtayeva@mail.ru

Узбекско-Финский педагогический институт  
Муратали Ирисалиевич Базарбаев  
m.bazarbaev@tma.uz

Ташкетская медицинская академия  
Фаррух Ахмадович Киличев  
klichevfarrux@mail.ru

Республиканский специализированный научно-практический медицинский  
центр Кардиологии Самаркандский филиал

**Аннотация:** В статье представляется обзор данных по применению инфракрасной-Фурье-спектроскопии для диагностики глиом головного мозга. Описываются объекты исследования - оценки надежности модельных систем для изучения процесса неоплазии, с приведенными особенностями метода работы с каждым исследуемым биоптатом. Приводятся примеры построенных моделей классификации с помощью статистических методов обработки данных ИК-спектров.

**Ключевые слова:** ИК-спектроскопия, глиомы головного мозга, статистическая обработка данных, классификация

## **Construction of models for the diagnosis of glioma using IR spectroscopy and assessment of their reliability**

Shokhzoda Alizhon kizi Tukhtaeva  
shohzoda.toxtayeva@mail.ru

Uzbek-Finnish Pedagogical Institute  
Farrukh Akhmadovich Kilichev  
Muratali Irisalievich Bazarbaev  
m.bazarbaev@tma.uz

Tashkent Medical Academy  
klichevfarrux@mail.ru

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Cardiology  
Samarkand branch

**Abstract:** The article presents an overview of data on the use of infrared-Fourier spectroscopy for the diagnosis of brain gliomas. The objects of research are described - assessments of the reliability of model systems for studying the process of neoplasia, with the given features of the method of working with each biopsy sample under study. Examples of classification models constructed using statistical methods for processing IR spectra data are given.

**Keywords:** IR-spectroscopy, cerebral gliomas, statistical data processing, classification

Опухоль - это многоступенчатый процесс, возникающий в результате накопления необратимых и передаваемых генетических aberrаций вместе с одновременным наличием эпигенетических изменений в восприимчивых клетках [1].

Глиомы наиболее частый вид первичных опухолей головного мозга (далее - ОГМ). Они могут развиваться в любом отделе центральной нервной системы (далее - ЦНС), но большинство глиальных новообразований первоначально локализуется в головном мозгу. Они составляют 31 % всех опухолей ЦНС и 81% всех злокачественных ОГМ [2,3]. Наиболее часто встречающиеся типы глиом включают астроцитомы (от I до IV степеней злокачественности), олигодендроглиомы (II и III степеней анаплазии) и олигоастроцитомы (II и III степени злокачественности) [4].

Спектры поглощения в среднем ИК-диапазоне с преобразованием Фурье является одним из наиболее информативных и кратких способов представления всей "омики" клетки и, как таковой, соответствует всем характеристикам для разработки клинически полезного биомаркера [5].

В качестве объекта исследования рассмотрим оценку надежности моделей диагностики, преследуя цель анализа алгоритмов для построения модели оценки эффективности применения ИК-спектров больных и здоровых биоматериалов в биомедицине.

#### *Запись спектров и их предобработка*

С помощью ИК-Фурье-спектрометров спектры получают в два этапа. Сначала регистрируется интерферограмма т.е. выходной световой поток как функция разности хода входной волны от источника расщепляется на когерентные пучки. Затем путём обратного преобразования Фурье (по разности хода) вычисляется спектр. Последующий этап требует достаточно большого объема вычислений, поэтому метод стал широко распространенным только с возникновением современных компьютеров.

Спектральные данные записываются как зависимость коэффициента поглощения от длины волны, т.е. выражаются с помощью двух переменных

величин - фактора интенсивности и фактора длины волны. Выбор наиболее подходящих выражений для этих двух факторов зависит от условий эксплуатации, области исследования и будущего применения полученных значений.

Формы ИК-спектров часто имеют вид, затрудненный для непосредственной визуальной и количественной интерпретации: характеристические пики, находящиеся рядом, могут сливаться, образуя один или несколько уширенных асимметричных пиков, которые необходимо разделить; спектры могут содержать высокочастотные шумы, которые необходимо удалить; для правильной количественной интерпретации спектров (интегральная площадь пиков, полуширина на половине амплитуды и др.) необходимо вычитать из них базовую линию. В связи с чем, для правильной качественной и количественной интерпретации спектров необходима их предобработка. По необходимости можно фильтровать, аппроксимировать, нормировать спектры, корректировать базовую линию и пр., для дальнейшей обработки с помощью алгоритмов анализа [6,7].

#### *Модели обработки сигналов, их надежность*

На сегодняшний день, экспериментальные исследования остаются практически единственным источником достоверных информации и исходных данных в целях расчетов надежности разработанных моделей. Методы статистического моделирования в процессе исследования могут определять не только чисто надежность характеристики и показатели, но и показатели эффективности. А результаты решения представляются в виде численных (статистических) оценок.

Выбор модели надежности может быть произведен на основании статистического анализа полученных при испытаниях или в условиях ее использования.

Рассмотрим ниже некоторые методы хемометрики, применимых в нашей научной теме. Основная задача хемометрики состоит в извлечении из данных нужной химической информации, используя математические, графические, символьных и статистические методы. Тем самым обеспечивает спектроскопистов эффективными методами решения проблемы калибровки спектральных данных.

#### *Простейшая модель классификации*

Классификация - простейшая абстрактная модель разнообразия реальности. Задача выделения признаков более специализирована. А поскольку признаки по существу являются тем же, что и переменные в научном эксперименте, они характеризуют какой-либо наблюдаемый феномен и их можно как-то количественно измерить.

Попробуем рассмотреть модель, изложенную в работе [8]. Усредненные ИК-спектры контрольной ткани и соответствующие средние значения для степени астроцитомы II и III степени и ткани глиобластомы показаны на рисунке 1. Спектральные профили на первый взгляд могут показаться очень похожими друг на друга, внешнее сходство объясняется только доминирующим вкладом белковых компонентов, которые превосходят спектры всех спектров мягких тканей. При более внимательном рассмотрении обнаруживается две четко выделяющиеся области спектра как сильно различаются для разных тканей типы. Профиль поглощения между  $1050$  и  $1100$   $\text{cm}^{-1}$  становится все менее интенсивным в порядок контроля астроцитомы II степени и глиобластомы III степени. Хорошо известно, что углеводные части дают начало заметны полос в этой спектральной области (соответствует ганглиозидам основные углеводы ЦНС).

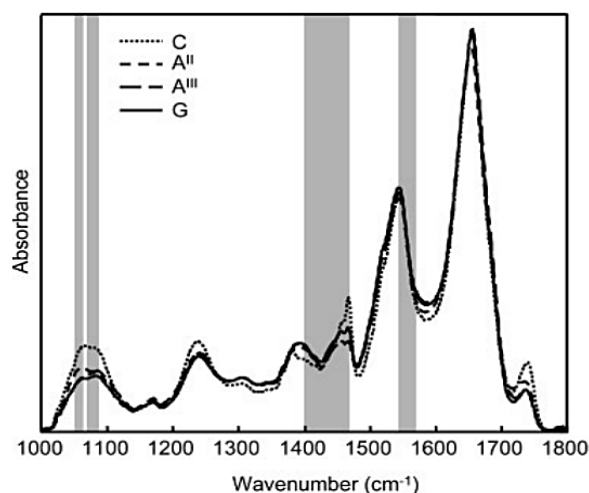


Рис. 1. Средние ИК-спектры в средней ИК-области отпечатков пальцев для контрольной ткани (С), астроцитомы степени II (АII), астроцитомы III степени (АIII) и глиобластома (G). Выделенные регионы обозначены алгоритм выбора оптимальной генетической области с четырьмя областями как информативный при классификации спектров в различные классы [8].

Рисунок 2 показывает, что простейшая модель классификации с четырьмя областями уже успешно распознает контрольную ткань, астроцитому II и III степени как такие со значениями чувствительности 85, 83 и 88%, соответственно. Однако низкая вероятность успеха в классификация спектров глиобластомы только с 47% чувствительность диктует необходимость изучения более гибких моделей классификации, включая дополнительные спектральные области. Классификация из восьми регионов испытание дала существенное улучшение точности классификации до 67% для спектров с глиобластомой; но были заметные менее драматические ухудшения для спектров контроля, астроцитомы II и III степени.

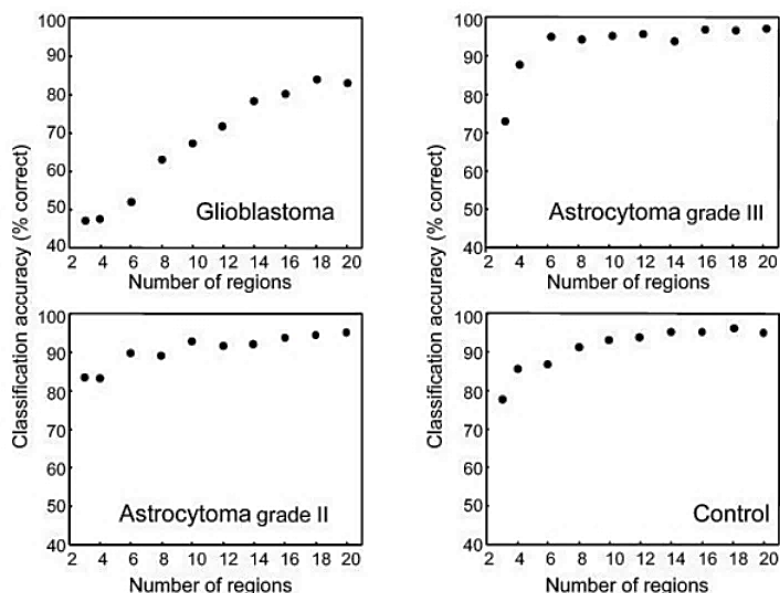


Рис. 2. Общая точность классификационных испытаний (на основе линейного дискриминантного анализа) при различении контроля, астроцитомы II степени, астроцитомы III степени и ткани глиобластомы в зависимости от количества спектральных регионов, включенные в классификационную схему [8].

Дальнейшая тонкая настройка, включающая 16 спектральных областей в модель классификации, дала общую классификацию, где процент успеха приблизился к 89%, а спектры глиобластомы были успешно классифицированы точностью 85%.

#### *Метод главных компонент*

В основе Метода главных компонент (англ. Principal Components Analysis, PCA) лежит нахождение линейно некоррелированных переменных, называемых главными компонентами. Метод часто применим в статистике и машинном обучении, помогая выделить наиболее важную для исследователя информацию [9].

PCA была впервые предпринята для изучения общих различий между элементами отдельных групп опухолей головного мозга. В работе [10] были вырезаны области отпечатков пальцев, где находятся биомолекулы. Известно о вибрации полос ( $1800-900 \text{ см}^{-1}$ ) с применением коррекции базовой линии и векторной нормализации. На рисунке 3 представлены спектры тканей пациентов с глиобластомой (далее ГБМ) и здоровых людей.

Замечается, как средние спектры образцов от пациентов с патологией имеют более низкое поглощение по сравнению с образцами от здоровых людей. Рисунок 3(b) отражает оценку графика второй и четвертой главной компоненты (PC2, PC4) с соответствующим процентным соотношением объясненной дисперсии в скобках.

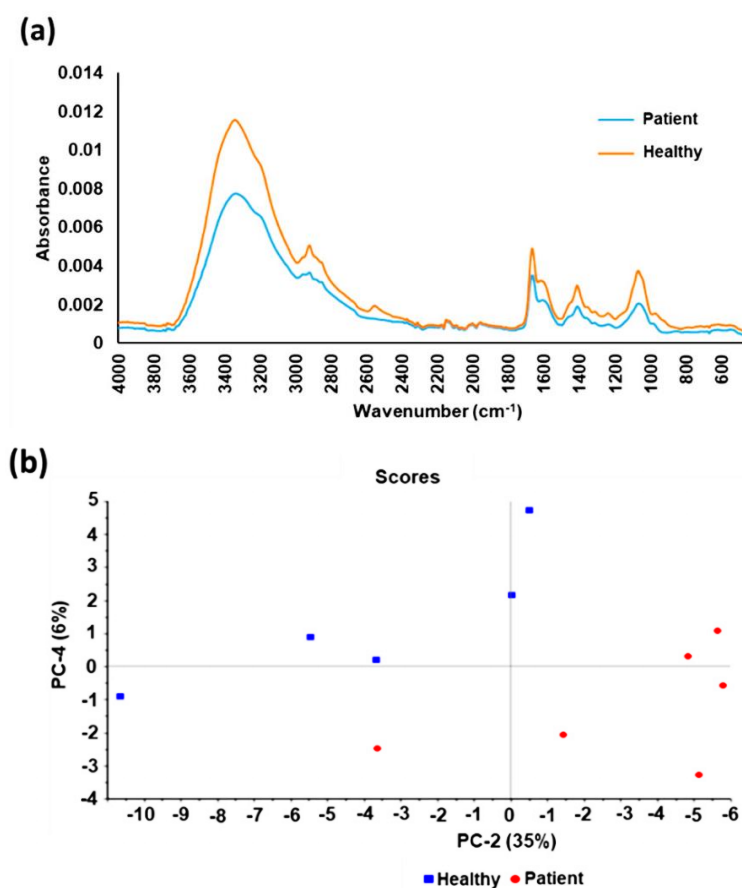


Рис. 3. Средние спектры и анализ главных компонент (PCA) опухоли [10].

Автор подробно рассматривает и сравнивает области поглощения таких белков, как амид I ( $1647 \text{ см}^{-1}$ ), амид II ( $1541 \text{ см}^{-1}$ ) и амид III ( $1304 \text{ см}^{-1}$ ).

#### *Дискриминантный анализ методом наименьших квадратов*

Дискриминантный анализ методом наименьших квадратов (англ. Partial Least Squares - Discriminant Analysis, PLS-DA) представляет собой эффективный инструмент для разделения различных классов данных с большой размерностью [11]. Он строит модель линейной регрессии, проецируя наблюдаемые переменные в новое редуцированное пространство.

Каждый исследуемый объект описывается набором дескрипторов, формирующих матрицу данных  $X$  (любые характеристики, которые можно вычислить или определить экспериментально), и набором откликов, формирующих матрицу  $Y$  (класс объекта). PLS-DA определяет новую систему координат для матриц  $X$  и  $Y$  одновременно, как линейную комбинацию дескрипторов и, таким образом, позволяет уменьшить размерность исходных данных, сохраняя большую часть полезной информации.

В основе работы [12] был использован PLS-DA для классификации каждого набора данных и тестирования диагностических картин. Первоначально каждая модель была протестирована без дополнительной выборки перед использованием.



На рисунке 4(a) показан график оценок PLS между PLS1 и PLS2, а на 5(b) - нагрузки для 1-го компонента PLS на основе набора данных GBM по сравнению с контрольным. Загрузки PLS1 на рисунке 4(b) в целом согласны нагрузкам PCA (рисунок 4). Наиболее отличительные регионы в опухоли головного мозга по сравнению с контрольными наборами данных обычно находились между  $1000-1100\text{ см}^{-1}$  и  $1500-1700\text{ см}^{-1}$ , вместе с некоторыми небольшими липидными вкладами.

Анализируемый набор сывороток с GBM по сравнению с контролем содержал 96 пациентов GBM и 87 контролей. После 100 итераций модель PLS-DA показала 95,5% и 94,9% чувствительности и специфичности, соответственно. Стандартные отклонения были минимальными как для чувствительности, так и для специфичности ( $\sim 4\%$ ), что позволяет предположить, что модель является подходящей, надежной и воспроизводимой.

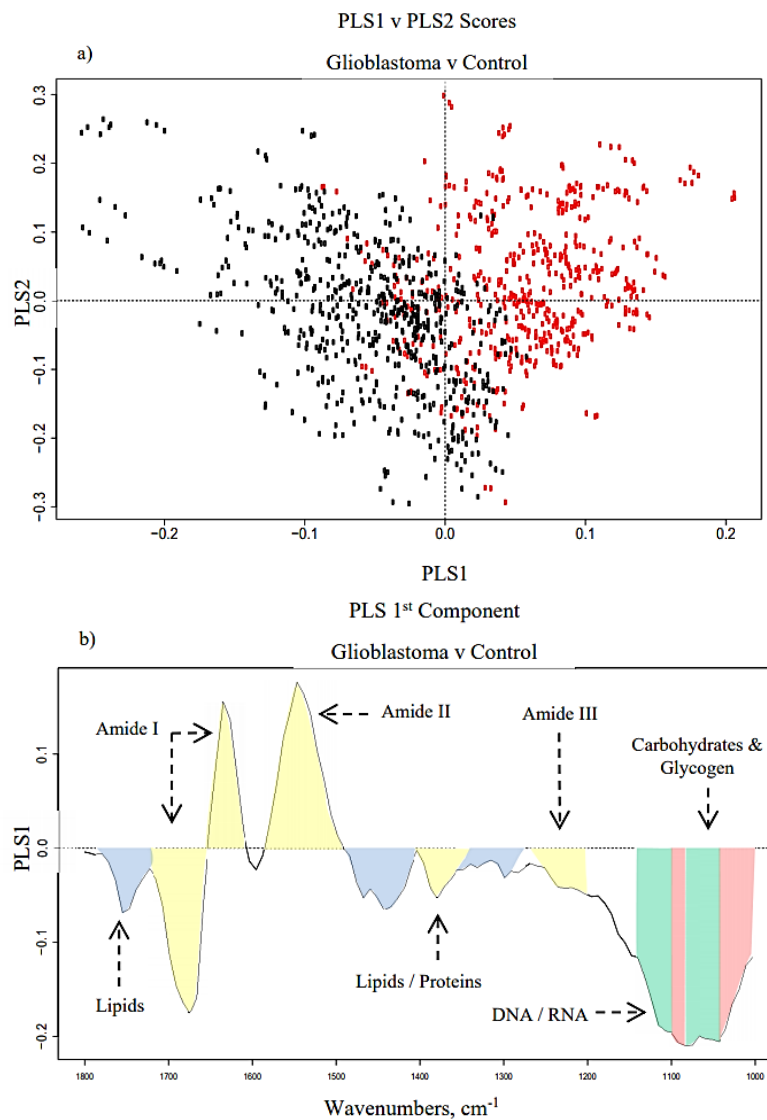


Рис. 4. (a) График оценок методом наименьших квадратов (PLS) между PLS1 и PLS2 для GBM (черный) и контрольным (красный) наборами данных, и (b) нагрузки для 1-го компонента PLS с предварительными биологическими

назначения: липиды (синий), белки (желтый), фосфаты (зеленый) и углеводы (красный) [10].

### Линейный дискриминантный анализ (LDA)

Линейный дискриминантный анализ (англ. Linear Discriminant Analysis, LDA) представляет собой раздел многомерного статистического анализа, содержанием которого является разработка методов решения задач различения (дискриминации) объектов наблюдения по набору признаков. Иными словами, он позволяет изучать различия между двумя и более группами объектов по нескольким признакам одновременно и пытается моделировать разницу между классами данных.

В работе [13] приводятся ИК-изображения срезов тканей от одного пациента со злокачественной глиомой и отнесенных к шести классам: нормальной мозговой ткани, астроцитомы II степени, астроцитомы III степени, мультиформной глиобластомы IV степени, кровоизлияния и других тканей с помощью модели линейного дискриминантного анализа LDA, которая была обучена по данным одноканального детектора. Предварительная обработка данных была выполнена с помощью процедур, написанных на платформе MatLab.

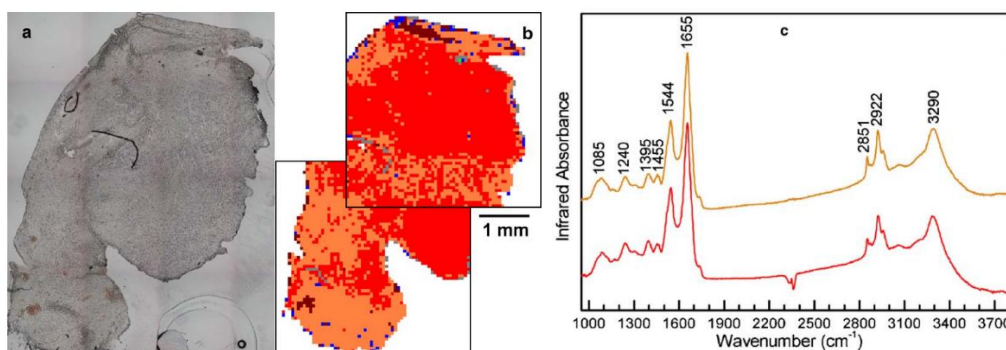


Рисунок 5. Неокрашенный криосрез ткани головного мозга (а), ИК-изображения (b), и одиночные ИК-спектры основные классы тканей глиобластома мультиформная и астроцитома III степени (с) [13].

Цветовая кодировка представляет задания класса модели LDA: глиобластома мультиформная (красный), астроцитома III степени (оранжевый), астроцитома степени II (синий), нормальная ткань (зеленый), кровоизлияние (коричневый), и другие ткани (серые). В спектры нормированы на равные интенсивности при  $1,655 \text{ см}^{-1}$  и сдвинуты, чтобы избежать перекрытия.

На рисунке 6 сравнивается микрофотография неокрашенного среза ткани (а) с цветными ИК-изображениями на основе модели классификации LDA (b).

Большинство ИК-спектров были отнесены к мультиформной глиобластоме (верхние 67%, нижние 53%) и астроцитоме III степени (верхние 27%, нижние 43%). Это означает что в среднем 95% среза ткани было отнесено к злокачественные глиомы с остальными спектрами, отнесенными к



кровоизлиянию до астроцитомы II степени рядом с тканями края и другим тканям.

После нормализации ИК-спектров до равных интенсивностей при  $1,655 \text{ см}^{-1}$ , которые компенсирует небольшие различия в толщине образца, наиболее интенсивные отклонения обнаружены на  $2851$  и  $2922 \text{ см}^{-1}$ .

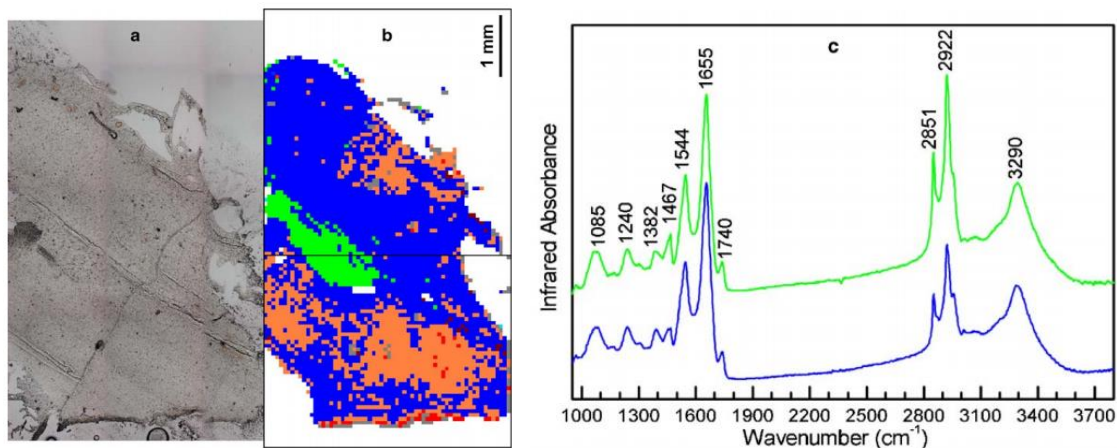


Рис. 6. Неокрашенный криосрез ткани головного мозга (а), ИК-спектр (б), и одиночные ИК-спектры классы тканей степень астроцитомы II и нормальная ткань (с). Цветовое кодирование представляет класс назначения модели LDA: мультиформная глиобластома (красная), астроцитомы III степени (оранжевый), астроцитомы II степени (синяя), нормальная ткань (зеленый), кровоизлияние (коричневый) и другие ткани (серый). Спектры нормированы на равные интенсивности при  $1,655 \text{ см}^{-1}$  и сдвинуты во избежание перекрывать [13].

LDA был использован для получения диагностического классификатора ткани глиом, достигший чувствительности 83,33% и специфичности 60%.

#### *Метод генетического алгоритма*

Генетические алгоритмы - адаптивные методы поиска, которые используются для решения задач функциональной оптимизации. Они основаны на механизмах и моделях эволюции, и генетических процессов биологических алгоритмов. Говоря проще: генетический алгоритм - это метод перебора решений для тех задач, в которых невозможно найти решение с помощью математических формул. Алгоритм берёт группу решений и ищет среди них наиболее подходящие. Затем немного изменяет их - получает новые решения, среди которых снова отбирает лучшие, а худшие отбрасывает.

Происходит моделирование путём случайного подбора, комбинирования и вариации искомым параметров с использованием механизмов, аналогичных естественному отбору в природе.

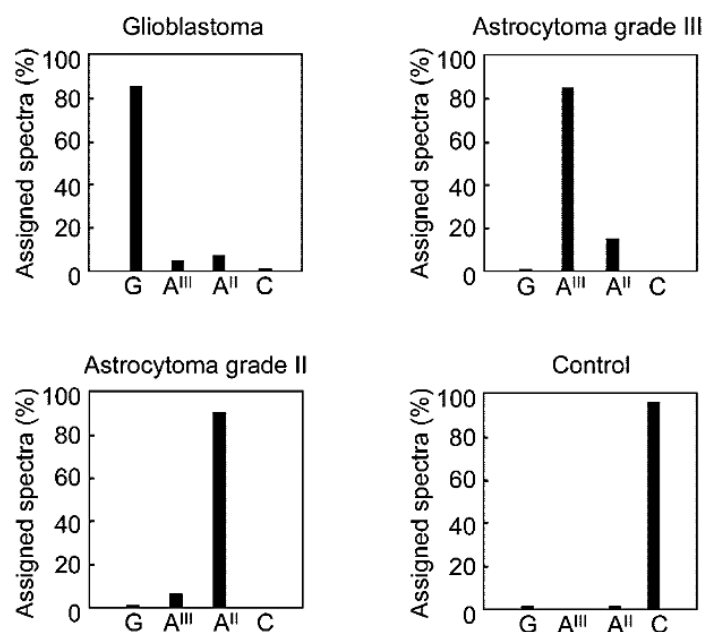


Рис. 7. Распределение классификации спектры контрольной (С) ткани астроцитомы II степени (AII), астроцитомы III степени (AIII) и глиобластомы (G). Классификация основана на 16 отдельных подобластях ИК-спектров, идентифицированных алгоритмом выбора оптимальной области [13].

На рисунке 7 показано распределение спектров среди четырех возможных классов с использованием 16 спектральных областей; точность классификации для различные классы колебались от 95 до 96%, что обеспечивает явное подтверждение того, что подход, сочетающий ИК-спектроскопия с методом генетического алгоритма обоснованно. Для построения данной модели были использованы спектрограммы из работы [8] с выделенным биомаркером в профиле поглощения между  $1050$  и  $1100\text{ см}^{-1}$ , что соответствует хорошо известным ганглиозидам ЦНС.

В конечном итоге может оказаться полезным использование модели такой сложности, но необходимо соблюдать осторожность, чтобы избежать возможности переобучения набора спектральных данных; безусловно, потребуется больший набор образцов для обоснования и проверки использования более 16 спектральных областей. Наиболее поразительно то, что двое из четырех областей попадают в спектральный диапазон  $1050\text{-}1100\text{ см}^{-1}$ , которые соответствуют группировкам ганглиозидных сахаров; этот несубъективный генетический алгоритм выявил особенности поглощения, которые соответствуют подозреваемым маркерам злокачественности как основание для классификации.

#### *Результаты собственных исследований*

В ходе исследовательской работы нами разрабатывался хемометрический способ отличия ткани мозга перифокального участка (в качестве контроля) от пораженной опухолевыми клетками на основе обработки ИК-спектров. Для

создания полноценной модели отличия здоровой ткани от раковой необходимо создать репрезентативную выборку ИК-спектров.

В сравнении здоровой и опухолевой ткани примерно известны расположения биомаркеров. Это различия ИК-спектров в областях, которые касаются как липидных, так и белковых и углеводных областей спектра. Большая часть различий между нормальной тканью и тканью опухоли связана с амидом I ( $1647\text{ см}^{-1}$ ), амидом II ( $1541\text{ см}^{-1}$ ), амидом III ( $1304\text{ см}^{-1}$ ), гликогеном ( $1030\text{ см}^{-1}$ ), углеводов ( $1173\text{ см}^{-1}$ ) и  $\nu_{\text{as}}\text{PO}_2^-$  ( $1234\text{ см}^{-1}$ ), хотя есть также важный вклад от полос белка ( $1454$  и  $1489\text{ см}^{-1}$ ) и липидных полос ( $2965$ ,  $2922$ ,  $2870$  и  $1740\text{ см}^{-1}$ ). На основе этих изменений мы не можем сделать вывод о причине болезни, но можем либо подтвердить статистически существующие гипотезы, либо дать толчок для рассмотрения более подробно данного диапазона и поиска в нем новых факторов болезни.

Это, в свою очередь может позволить использовать ИК-спектроскопию в перспективе как замену гистологическим исследованиям тканей.

Для иллюстрации по имеющимся образцам мы провели предварительную работу по возможности построения модели отличия здоровой и пораженной раком тканей мозга.

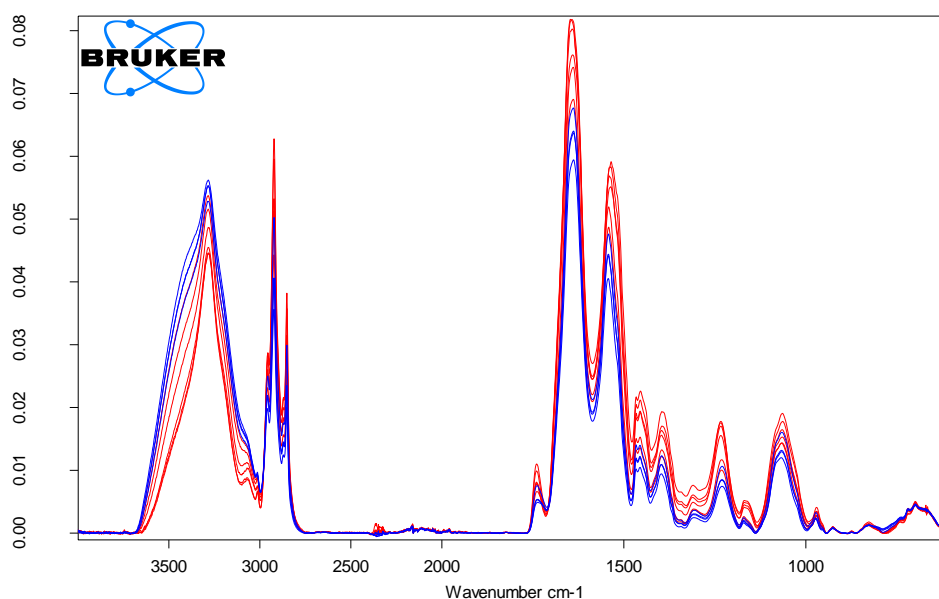


Рис.8. ИК-спектры тканей здоровых тканей и пораженных раком. Была проанализирована предварительная выборка ИК-спектров.

Проведена предобработка - коррекция базовой линии, затем векторное нормирование спектров. ИК-спектры предобрабатывались в пакете OPUS 9.7, затем проводилась хемометрическая обработка методом наименьших частичных квадратов, являющимся одним из регрессионных методов. В результате анализа образцов получены проекции ИК спектров на оси главных компонент ГК1 и ГК2 (рис.9). Рассчитаны эллипсы Хотеллинга для взятых в анализ образцов,

статистика Хотелинга сгруппировывает информацию, полученную из многомерного наблюдения, и превращает ее в значение, которое является статистическим расстоянием этого наблюдения от среднего значения. Определено отсутствие пересечения эллипсов Хотеллинга для проекций ИК-спектров здоровых образцов и пораженных раком.

Точность измерения в работе определялась точностью ИК-Фурье-спектрометра фирмы BRUKER Tenzor 37. Использован режим получения ИК-спектров - НПВО в диапазоне  $4000 - 600 \text{ см}^{-1}$ , с разрешением  $2 \text{ см}^{-1}$ , с количеством сканов усреднения.

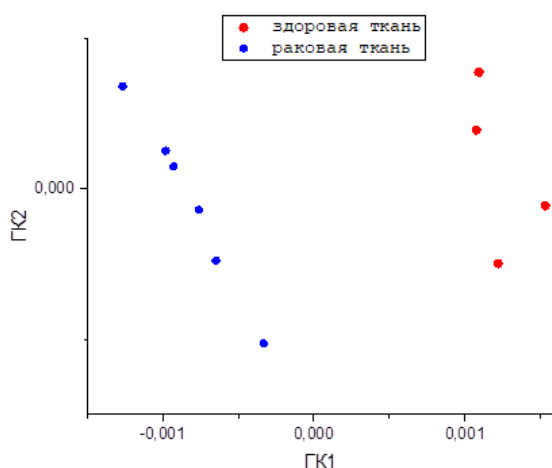


Рис.9. Проекция ИК-спектров на оси GK1 и GK2.

Для оценивания модели были использованы величины RMSE стандартные ошибки модели.

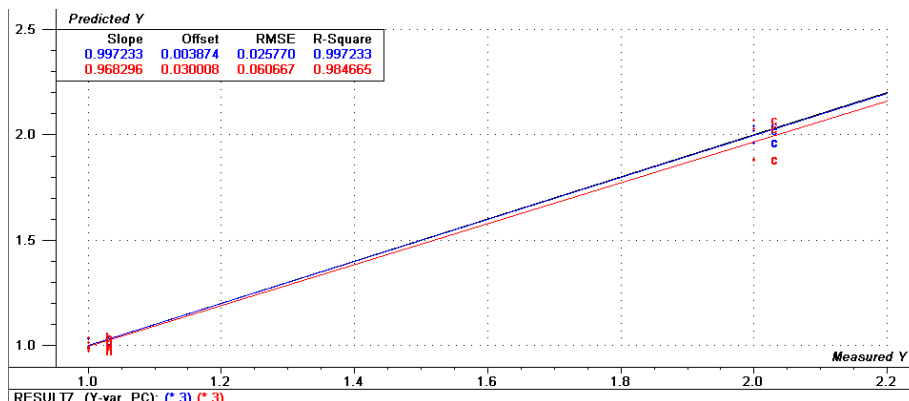


Рис 10. Оценка модели. Измеренные (синие) значения против прогнозных (красные).

В процессе анализа вычислены стандартная ошибка моделирования RMSEC и стандартная ошибка прогноза RMSEP. Эти ошибки должны быть как можно ближе к нулю. Для предварительной выборки ИК-спектров и созданной на их основе предварительной модели получены значения  $RMSEC=0.02577$  и  $RMSEP=0.060667$ , что характеризует модель как достаточно точную, однако с ростом выборки, это значение может измениться как в ту, так и в другую

сторону. Показатели чувствительности и специфичности равны 83,6% и 68,9% соответственно.

### *Заключение*

В настоящее время развитие цифровых технологий позволяет быстро осуществить анализ практически любых данных. Особенно это важно в области здравоохранения, где быстрота получения результата иногда связана с жизнью человека.

Интерес к спектроскопии биологических тканей стремительно растет, поскольку как клинические, так и неклинические исследователи признают, что методы оптической спектроскопии, в частности ИК-спектроскопические методы потенциально могут стать неинвазивными инструментами для диагностики заболеваний.

В данной работе мы постарались проиллюстрировать некоторые принципы преобразования Фурье-ИК-спектроскопии как полезного метода исследования опухоли в образцах средним ИК-излучением.

Из литературных источников известно, что метод главных компонент (PCA) в сочетании с методом опорных векторов (SVM) дает наивысшую точность (99,9%), за которым следуют комбинация PCA и искусственных нейронных сетей (98%) и логистический регрессионный анализ (LRA) - 97%. Метод обработки PCA + LDA (латентное размещение Дирихле) является самым популярным (45%), который также может сопровождаться PCA-ANN (33%) и SVM (22%) [14].

Видно, что эффективность анализа спектрограмм и обнаружения типовых для опухолевой ткани и сывороточных измерений, достигаемая с помощью различных методов обработки сигналов, различается.

Нам пока неизвестно, какой из моделей возложится в недалеком будущем в основу решения задачи получения оперирующими хирургами-онкологами информации о составе тканей в наиболее короткое время для дальнейшего определения хода операции. Кроме того, экономическая оценка современной диагностической практики показала, что сывороточный тест на обнаружение опухолей головного мозга мог бы быть рентабельным для Национальной службы здравоохранения [15].

Таким образом, рассматривая примеры зарубежных научных исследований в области биомедицины, перед нами не ставилась цель изучения всех алгоритмов для построения моделей оценивания ИК-спектроскопии как надежного способа диагностики глиом. Но опираясь на их опыт, мы в процессе построения собственной, не уступающей в эффективности.

### Использованная литература

1. Tsai HC, Baylin SB. Cancer epigenetics: linking basic biology to clinical medicine. *Cell Res.* 2011;21:502–517.
2. Солтан П. С. Клинико-генетическая характеристика глиальных опухолей у детей, Диссертация, Санкт-Петербург. 2019.
3. Louis D.N., Perry A., Reifenberger G. et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary // *Acta Neuropathologica.* – 2016. – Vol. 131. – P. 803–820.
4. Ostrom, Q.T. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007-2011 / Q.T. Ostrom, H. Gittleman, P. Liao [et al.] // *Neuro Oncol.* – 2014. – Vol. 16. – P. 1-63
5. Даценко В.И., Житов А.В., Умаров А.С. Метрология – основа научно-технического прогресса // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2015. – № 8-2. – С. 400-401
6. Rogers, L.R. Morphological magnetic resonance imaging features of therapy-induced cerebral necrosis / L.R. Rogers, J. Gutierrez, L. Scarpace [et al.] // *J. Neurooncol.* – 2011. – Vol. 101, № 1. – P. 25-32.
7. Павлов В.Н., Билялов А.Р., Гильманова Р.Ф., Якупов Р.Р., Ковтуненко А.С. Использование интеллектуальных методов обработки данных раман-спектроскопии для диагностики злокачественных опухолей // *Медицинский вестник Башкортостана.* 2018, с. 43-46
8. Steiner, G., Shaw, A., Choo-Smith, L.-P., Abuid, M. H., Schackert, G., Sobottka, S., ... Mantsch, H. H. (2003). Distinguishing and grading human gliomas by IR spectroscopy. *Biopolymers*, 72(6), 464–471
9. Темлякова, Е. А., Камзолова, С. Г., Джелядин, Т. Р. и др. Применение метода PLS-DA для разделения промоторных и непромоторных последовательностей различных классов.
10. Cameron J. M., Ch Rinaldi Ch. , Butler H. J. , Hegarty M. G., Brennan P. M., Jenkinson M. D., Syed K. Stratifying Brain Tumour Histological Sub-Types: The Application of ATR-FTIR Serum Spectroscopy in Secondary Care // *Cancers.* 2000
11. Baker, M.J.; Trevisan, J.; Bassan, P.; Bhargava, R.; Butler, H.J.; Dorling, K.M.; Fielden, P.R.; Fogarty, S.W.; Fullwood, N.J.; Heys, K.A.; et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nat. Protoc.* 2014, 9, 1771–1791.
12. Krafft, C., Sobottka, S. B., Geiger, K. D. et al. Classification of malignant gliomas by infrared spectroscopy and linear discriminant analysis. *Anal Bioanal Chem* 387, 1669-1677 (2007).



13. Матинян, А. А. Распределение Хотеллинга и его применение / А. А. Матинян. // Исследования молодых ученых : материалы X Междунар. науч. конф. (г. Казань, май 2020 г.). — Казань : Молодой ученый, 2020. — С. 1-5.

14. Jermyn M., Desroches J., Aubertin K. et al. A review of FTIR spectroscopy advances with an emphasis on clinical translation challenges in oncology. *Phys. Med. Biol.*, 2016, Vol. 61, № 23, P. 370-400.

15. Cameron, J.M.; Butler, H.J.; Smith, B.R.; Hegarty, M.G.; Jenkinson, M.D.; Syed, K.; Brennan, P.M.; Ashton, K.; Dawson, T.; Palmer, D.S.; et al. Developing infrared spectroscopic detection for stratifying brain tumour patients: Glioblastoma multiforme vs. lymphoma. *Analyst* 2019, 144, 6736–6750.