

ЛАЗЕРНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ОБЛАСТЕЙ ТКАНЕВОГО РОСТА

А.И. Трушин¹

¹ *Московский государственный институт электроники и математики*
E-mail: lmis@miem.edu.ru

The article discussed a new method and apparatus for visualization and diagnosing of areas of rapid tissue growth (proliferation). The basis of the method is image registration of laser-induced fluorescence of endogenous porphyrins. The block diagram of apparatus is represented. Also examples of diagnostics are represented.

Среди различных инструментальных методов диагностики в медицине оптические методы исследования различных состояний организма на всех его уровнях играют далеко не последнюю роль и продолжают бурно развиваться. Особенно они актуальны в онкологии, поскольку рак является одной из основных причин смерти во многих странах мира, а в некоторых странах стоит на первом месте.

Все оптические методы диагностики в онкологии можно разделить на методы исследования *in vitro* (исследование препаратов) и *in vivo* (исследование живых тканей). Далее оптические методы диагностики можно разделить на те, что исследуют строение и состав тканей и те, что исследуют состав продуктов клеточного метаболизма (обмена веществ) в тканях. Среди последних существенную роль играют методы, в основе которых лежит феномен селективного накопления порфиринов в пролиферирующих тканях. Здесь широко известны в настоящее время методы оптической диагностики и фотодинамической терапии с использованием экзогенных (вводимых принудительно) препаратов порфиринового ряда (фотофрин, фотосенс и др.), либо препаратов, стимулирующих повышенную выработку порфиринов в организме (на основе ALA – аминолевулиновой кислоты). Все эти препараты токсичны и их применение обосновано лишь при серьёзных показаниях. Наибольший интерес представляют оптические методы диагностики, не требующие применения каких-либо фармакологических препаратов. Среди них, использующие явление флуоресценции веществ, естественно находящихся в организме, получили название аутофлуоресцентных. Аутофлуоресцентные методы, в свою очередь, можно разделить по способу представления диагностической информации. Одни представляют информацию в виде спектральных распределений сигнала, последовательно поточечно снимаемого с исследуемого объекта, как правило, с использованием оптоволоконных зондов. Они трудоёмки, с точки зрения врача малоинформативны. Их применение оправдано лишь на исследовательской стадии. Другие методы (к которым относится и наш метод) представляют информацию в виде изображений. К этим последним методам в последнее время значительно возрос интерес во всём мире и, соответственно возрос поток инвестиций.

В работе представлен неинвазивный метод и соответствующий аппаратный

комплекс для визуализации областей быстрого тканевого роста (пролиферации) в живых биологических тканях *in vivo*, без применения каких-либо фармацевтических препаратов [1-3]. Метод основан на определении пространственного распределения в тканях естественных маркеров пролиферативной активности – эндогенных порфиринов, по их характерной флуоресценции, индуцированной лазером.

Среди эндогенных флуорохромов порфирины имеют в видимой области спектра наиболее длинноволновые полосы флуоресценции. Это позволяет путём соответствующего выбора длины волны возбуждающего излучения селективно возбуждать только эндогенные порфирины. При прочих равных условиях интенсивность флуоресцентного сигнала пропорциональна приведённой к поверхности концентрации возбуждённых флуорохромов. Благодаря свойству эндогенных порфиринов накапливаться в делящихся клетках, появляется возможность визуализировать зоны роста тканей, что несомненно важно в онкодиагностике.

Современные высокочувствительные средства регистрации изображений, построенные на основе матричных ССD-приёмников, сопряжённых с компьютером, позволяют регистрировать очень слабые флуоресцентные изображения давая легко интерпретируемую, строго документированную диагностическую информацию. Применение современных высокочувствительных матричных ССD-приёмников изображения делает необязательным применение дорогостоящих электронно-оптических усилителей яркости изображения, что на порядок увеличивает разрешающую способность. Немаловажным является и тот факт, что появляется возможность проводить диагностическое обследование при малых экспозициях возбуждающего флуоресценцию излучения.

На рис.1 представлена блок-схема диагностической установки ЛВА-1 (производства предприятия ООО «Дельтатех»). В качестве источника возбуждающего флуоресценцию излучения используется 20 мВт полупроводниковый лазер с длиной волны излучения 637 нм. Время экспозиции не превышает 1 сек. Освещённость диагностируемой поверхности составляет ~ 50 мкВт/см². Отражённое диагностируемой поверхностью лазерное излучение гасится в тракте регистрации флуоресцентного изображения на 6-8 порядков с помощью абсорбционных фильтров. Флуоресцентное изображение регистрируется в диапазоне длин волн 660-730 нм. С целью корректной идентификации местоположения исследуемого участка поверхности наряду с регистрацией флуоресцентного изображения осуществляется регистрация обычного цветного изображения с тем же ракурсом, масштабом и полем зрения.

На рис. 2 - 4 приведены примеры флуоресцентных изображений, регистрируемых при проведении диагностических исследований.

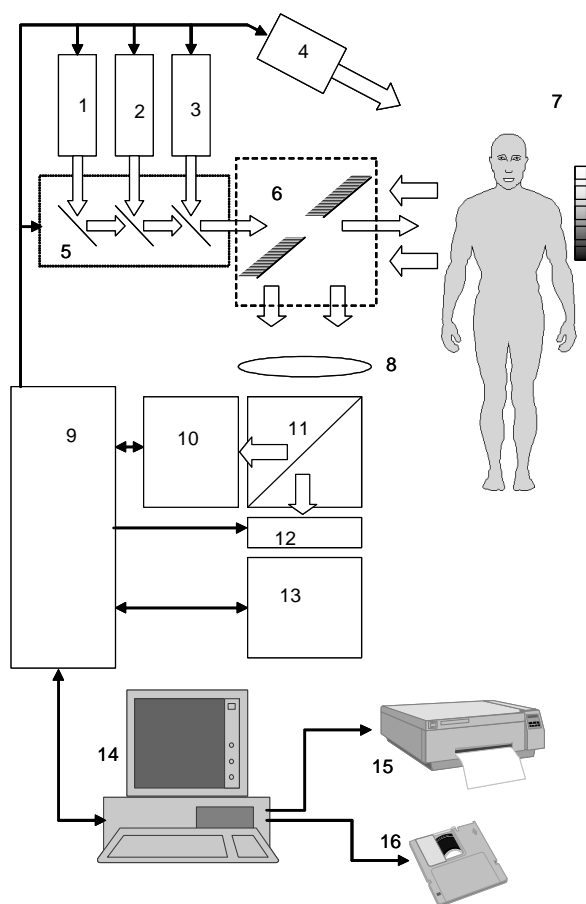


Рис. 1. Блок-схема системы лазерно-флуоресцентной визуализации поверхностных злокачественных новообразований кожи и слизистых.

1 – источник белого света для подсветки поверхности исследуемой ткани при регистрации цветного опорного изображения; 2 – источник монохроматического излучения в диапазоне длин волн 650 – 730 нм для подсветки исследуемой ткани при регистрации монохромного вспомогательного изображения; 3 – источник возбуждающего флуоресценцию эндогенных порфиринов и их комплексов с белками монохроматического излучения (длина волны 637 нм); 4 – источник освещения лабораторного помещения видимого диапазона спектра, не излучающий в диапазоне длин волн выше 650 нм; 5 – блок коммутации излучения источников 1, 2, 3 и сведения лучей в коллинеарную схему; 6 – блок коллинеарной подсветки от источников 1, 2, 3 исследуемой ткани и приёма отражённых и флуоресцентного сигнала; 7 – исследуемый и тест- объекты; 8 – объектив; 9 – процессор видеосигналов, сигналов синхронизации и управления; 10 – блок регистрации цветного опорного изображения; 11 – блок деления изображения; 12 – блок фильтрации излучения; 13 – блок регистрации флуоресцентных изображений и вспомогательных монохроматических изображений (регистрация вспомогательных монохроматических изображений может проводиться также блоком 10); 14 – компьютер с устройством отображения графической информации; 15 – устройство вывода и документирования графической информации; 16 – устройство хранения информации.

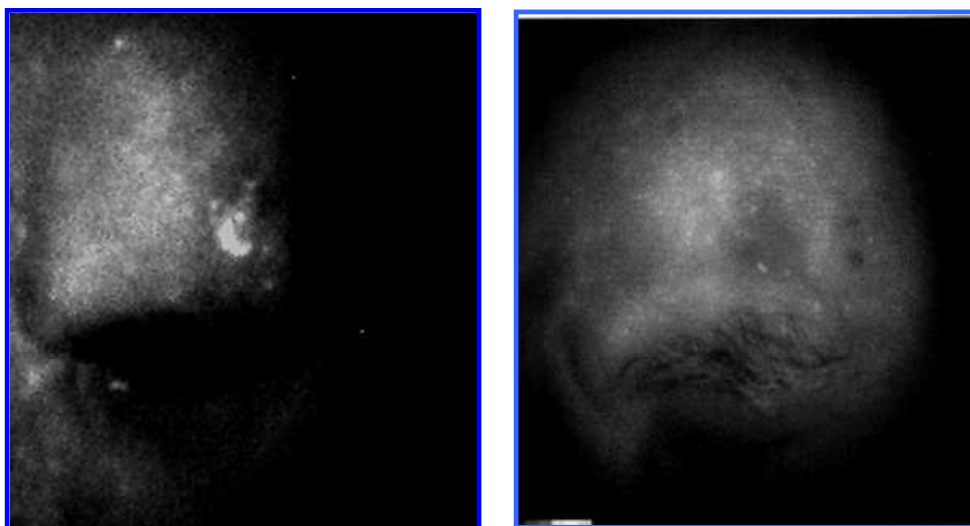


Рис. 2. Больной Г. 15 месяцев назад был оперирован по поводу базальноклеточного рака кожи височной области слева. При предшествующих осмотрах и исследованиях признаков рецидива выявлено не было. При последнем осмотре признаки рецидива глазом не определялись, однако исследование нашим методом четко выявило признаки злокачественного роста, что на изображении отражено в виде высококонтрастной области повышенной интенсивности флуоресценции на месте послеоперационного рубца (правый рисунок). Это послужило основанием для выполнения скарификационной биопсии. Цитологическое исследование скарификата позволило подтвердить наличие рецидива базальноклеточного рака. Больному проведено лазерное иссечение опухоли, а спустя 6 месяцев проведено повторное исследование, при котором области повышенной интенсивности флуоресценции в зоне операции не выявлено (левый рисунок).

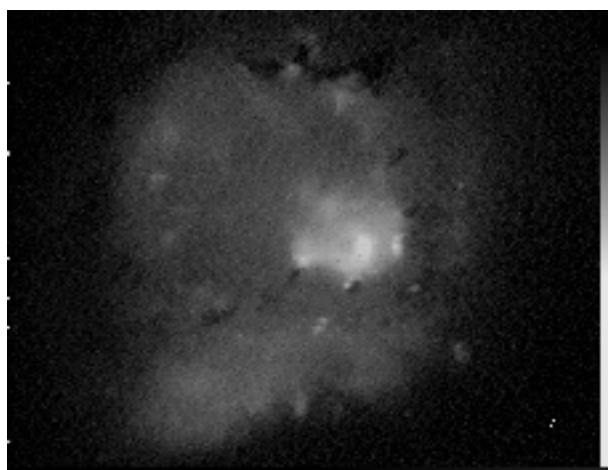


Рис 3. Изображение области опухоли пациента Г. (верхний рисунок). На фоне вялогранулирующей раны, образовавшейся в результате иссечения злокачественной опухоли кожи (метатипический рак), выявлен очаг продолженного роста опухоли, не определяемый визуально. Данные подтверждены морфологическим исследованием операционного материала, полученного при повторной операции. На изображении раневая поверхность соответствует светло-серому фону. В правом нижнем квадранте раны имеется более яркий участок, полностью соответствующий зоне продолженного роста опухоли.

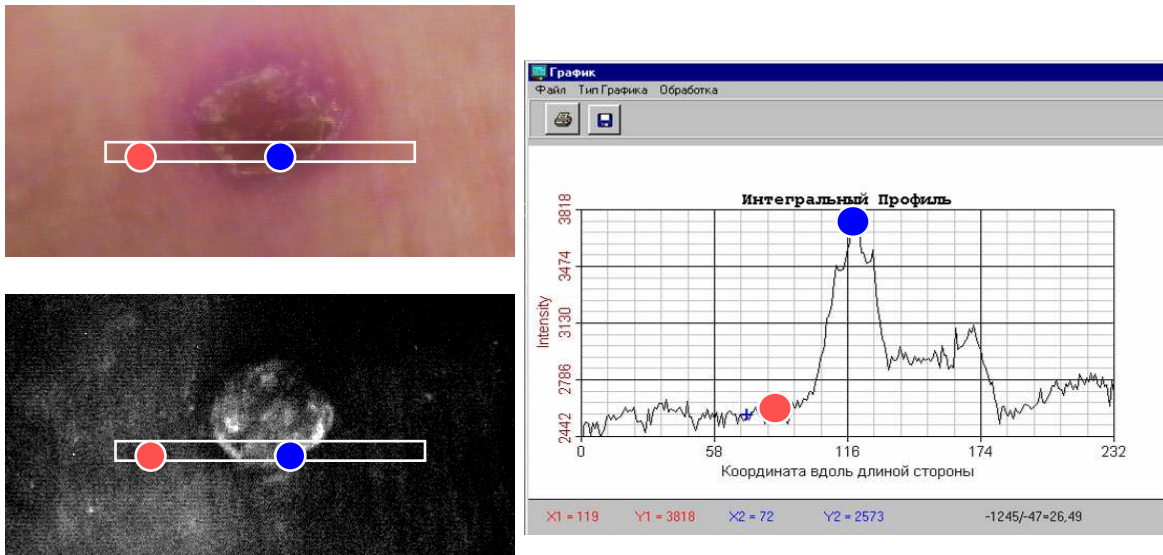


Рис.4 Базалиома кожи шеи

Интенсивность флуоресцентного отклика резко меняется в области интенсивной пролиферации, т.е. в области активного роста опухоли. Метод позволяет количественно оценить степень пролиферативной активности.



Рис. 5. Общий вид лазерной диагностической установки, работающей в ЦКБ №2 ОАО «РЖД».

1. A.V.Vinogradov , A.I.Trushin, P.G.Leonov, M.L.Stahanov, "Spectral-selective fluorescence imaging for diagnostics of surface cancer", SPIE Proceedings Vol. 3259, San Jose, CA, USA, 1998, pp. 48 – 53.
2. А.И.Трушин и др. «Способ диагностики областей пролиферации и устройство для его осуществления», Патент на изобретение РФ № 2169922, приоритет от 12.02.1999 г.
3. А.И.Trushin et al, "Method for diagnosing proliferation regions and device for realizing the same", USA Patent No. US 6,584,342, 2003 г.