

СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Л.Э.Айдинян, А.М.Галстян, А.А.Лалаян, В.А.Оганесян,
А.М.Саакян

*/ОНЦ РА, НПО "Лазерная техника" при ЕГУ/
375052 Ереван, Канакер, ул. Фанарджяна, 76*

Ключевые слова: онкологические заболевания, флуоресцентная диагностика, флюоренат, наносекундный лазер

Проблема раннего распознавания онкологических заболеваний имеет исключительно важное значение, так как своевременное адекватное лечение существенно повышает вероятность выздоровления онкологических больных. В последние годы получил развитие новый метод лазерной диагностики, основанный на явлении селективного накопления некоторых красителей в злокачественных новообразованиях и последующего выявления очагов поражения флуоресцентными методами. Об эффективности метода флуоресцентной диагностики в онкологии свидетельствуют литературные данные [1, 2, 4-7]. Выявлены определенные закономерности, способствующие выявлению малых по размерам очагов злокачественного роста. Особенно результативным оказался метод флуоресцентной лапароскопии [1,2].

Наиболее полно требованиям, предъявляемым к диагностическим красителям, соответствует разрешенная к клиническому применению динариевая соль флуоресцеина (флюоренат). Флюоренат имеет высокий квантовый выход флуоресценции (0,8) [2], обладает высокой селективностью накопления в злокачественных тканях. Краситель малотоксичен, относительно быстро выводится из организма, хорошо растворяется в воде и может применяться внутривенно или перорально.

Цель настоящего исследования состоит в изучении флуоресцентных свойств нормальных и злокачественно перерожденных тканей пациентов, которым вводили флюоренат, а также выборе оптимальных длин волн, при которых необходимо осуществлять возбуждение и регистрацию флуоресценции.

Материал и методы

Для спектрально-люминесцентных исследований нами создана автоматизированная волоконно-лазерная система. В качестве источника возбуждения применен наносекундный лазер на основе иттрий-алюминиевого граната (ИАГ) с неодимом. На выходе излучение имело следующие параметры: $\lambda_1=355\text{ нм}$, $\lambda_2=440\text{ нм}$, $E_1=5\text{ мДж}$, $E_2=2\text{ мДж}$, частота следования импульсов 25 Гц . Отметим, что предлагаемый твердотельный ИАГ:Nd лазер в отличие от широко используемых в настоящее время газовых и жидкостных лазеров более удобен для практического применения, поскольку имеет больший ресурс работы, прост при техническом обслуживании и его стоимость существенно ниже.

Оптическое возбуждение и сбор сигнала флуоресценции тканей осуществлялись с помощью многожильного световода, центральная жила которого использовалась для транспортировки лазерного излучения, а остальные — для ввода флуоресценции в монохроматор МДР-23. Далее сигнал регистрировался ФЭУ-79, и после введения данных в IBM PC с помощью аналого-цифрового преобразователя и обработки информации спектр флуоресценции объекта отображался на экране дисплея.

Исследование проведено у 37 больных, из них 10 — с локализацией опухоли в желудочно-кишечном тракте, 13 — в молочной железе, 9 — с саркомой мягких тканей, 2 — с базалиомой и 3 — с липомой. Для селективного окрашивания опухолей использовали 10% раствор флюорената (НПО "Вирион", Томск), который вводили внутривенно в концентрации 10 мг активного вещества на кг массы тела. Образцы тканей были взяты из резецированных органов больных, которым был введен флюоренат за 6, 12, 18 ч до операции (основная группа), а также больных, которым не вводили краситель (контрольная группа). Исследование образцов тканей проводилось через 1,5–2 ч после операции. Для получения усредненной картины спектров измерения проводились в 5–10 различных точках образца одного типа. Диаметр лазерного луча на поверхности объекта составлял 1–2 мм, расстояние от конца волновода до образца 5–10 мм. Спектральное разрешение системы — 1 нм.

Результаты и обсуждение

Анализ материала показал, что флуоресцентные спектры злокачественной опухоли и нормальных тканей существенно различаются (рисунок). Практически для всех типов злокачественных новообразований наблюдается более интенсивная флуоресценция в области 515 нм, которая обусловлена высокой степенью аккумуляции красителя в них.

Интенсивность флуоресценции красителя неоднородна в целом по опухоли и зависит от размеров опухоли, степени васкуляризации новообразования и площади некроза. Положение максимума сигнала в зависимости от спектральных свойств опухолей менялось в области 508–520 нм.

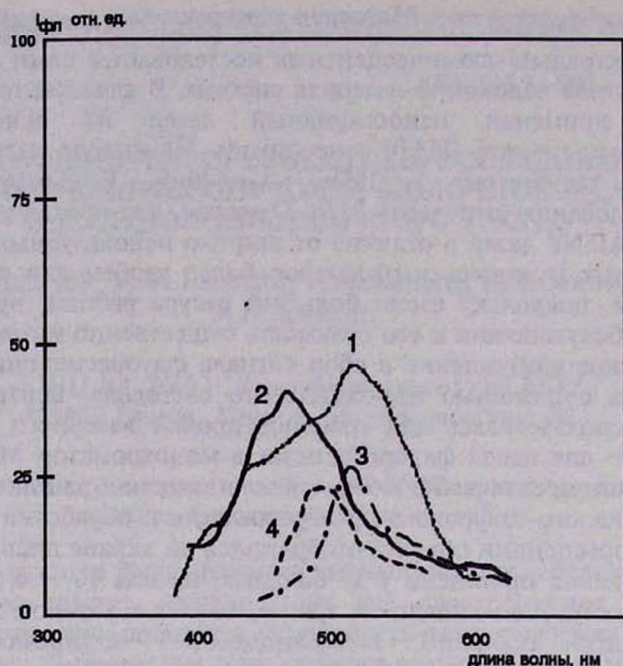


Рис. Спектры флуоресценции рака желудка человека (1,3) и окружающих нормальных тканей (2,4) через 12ч после инъекции флорената. Длина волны возбуждения — 355 (1,2) и 440 нм (3,4).

Для получения достоверных результатов по спектральным исследованиям введен нормированный параметр контрастности $A = A_{525}/A_\lambda$, где A_{525} — амплитуда флуоресценции образцов на длине волны 525 нм, при которой отношение свечений сенсibilизированных флоренатом опухолей и нормальных тканей максимально; A_λ — амплитуда флуоресценции при некоторой другой длине волны λ , где вклад флуоресценции красителя несуществен. Оперирование с A позволяет исключить геометрические факторы, а также зависимость величины сигнала от интенсивности лазерного излучения и тем самым увеличить чувствительность метода. В случае возбуждения при 355 нм отчетливо проявляется аутофлуоресценция тканей с максимумом при 470 нм, которая в основном обусловлена свечением коферментов НАД(Ф)Н. В связи с тем, что при некоторых опухолях наблюдается снижение уровня флуоресценции в этой области [3,4,6], выбор нормировочной длины волны $\lambda = 470$ нм позволяет увеличить величину A для опухоли по сравнению с нормальной тканью. В случае же возбуждения при 440 нм аутофлуоресценция тканей сравнительно слабая, и в качестве нормировочной выбрана $\lambda = 490$ нм — длина волны максимального поглощения флорената. Этот выбор обусловлен

тем, что в опухолях имеет место более сильное поглощение как возбуждающего излучения, так и флуоресценции (вследствие высокой концентрации туморотропного красителя), что также может привести к увеличению параметра контрастности. Значение A определяется за один импульс лазерного излучения при одновременной регистрации флуоресценции на двух длинах волн с помощью узкополосных спектральных фильтров. Следовательно, надежное обнаружение признаков злокачественного роста флуоресцентным методом на поверхности исследуемой ткани площадью 2 мм^2 возможно за несколько секунд.

Во время диагностического обследования удобно оперировать параметром чувствительности $K=A_i/A_n$, где A_i определяется для исследуемого участка, а A_n — для окружающих нормальных тканей. В таблице приведены средние арифметические значения параметра K , полученные для различных типов опухолей человека в зависимости от временного интервала T (в часах) между введением красителя и резекцией тканей.

Таблица

Диагноз	Число случаев	$\lambda_{\text{возб.}}, \text{ нм}$	T	K
Рак молочной железы	3	440	-	1.0 ± 0.3
	3	440	6	1.2 ± 0.3
	5	440	12	1.2 ± 0.3
	2	440	18	1.2 ± 0.4
	3	355	-	1.3 ± 0.4
	3	355	6	1.3 ± 0.4
	5	355	12	1.4 ± 0.4
	2	355	18	1.3 ± 0.4
Саркома	4	440	6	2.5 ± 0.6
	5	440	12	3.82 ± 1.0
	4	355	6	2.0 ± 0.4
	3	355	12	2.2 ± 0.4
Рак желудочно-кишечного тракта	4	440	-	1.0 ± 0.3
	6	440	12	3.5 ± 1.0
	4	355	-	1.3 ± 0.3
	6	355	12	3.0 ± 0.6
Липома	3	440	12	1.2 ± 0.3
Базалиома	2	440	12	1.2 ± 0.4

Примечание. Величина K для контрольной группы (7 пациентов) составляла 1–1,3.

В случае рака молочной железы для основной (10 пациентов) и контрольной (3 пациента) групп величины K близки в пределах ошибки измерения. По нашему мнению, отсутствие контрастного накопления красителя в этом случае обусловлено наличием фиброза и характерными нарушениями кровоснабжения тканей вследствие того, что данные пациенты предварительно прошли курс радио- или химиотерапии. Однако для окончательного вывода о существовании корреляции между предварительной терапией и накоплением красителя требуются более детальные исследования. Отметим, что контрастное накопление красителя не проявляется также в случае доброкачественной опухоли. В случаях рака желудка, кишечника и саркомы мягких тканей при возбуждении на длине волны 440 нм, величина K достигала максимальных значений (3,5—3,8), в то время как на 355 нм была несколько меньшей (2—3). Поскольку в случае обследования участка нормальной ткани $K=1$ (с точностью до 20—25%), то определяемый параметр K может служить надежным критерием для обнаружения малигнизированных участков.

Таким образом, установлены ясно выраженные, повторяющиеся флуоресцентные особенности фотосенсибилизированных опухолевых тканей при возбуждении твердотельным ИАГ:Nd лазером, что позволяет создать волоконно-оптическую автоматизированную аппаратуру для оперативной диагностики злокачественных новообразований и определения границ резекции пораженного органа с высоким пространственным разрешением при хирургических операциях.

Поступила 05.09.95

ԿՐԾՔԱԳԵՂՉԻ ԵՎ ԱՂԵՍԱՄՈՔՍԱՅԻՆ ԱՆՅՈՒՂՈՒ ՉԱՐՈՐԱԿ ՈՒՌՈՒՅՔՆԵՐԻ ՍՊԵԿՏՐԱԼ-ՖԼՈՒՈՐԵՍԾԵՆՏԱՅԻՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ

Լ.Է.Այդինյան, Հ.Մ.Գալստյան, Ա.Ա.Լալայան, Վ.Ա.Հովհաննիսյան,
Ա.Ս.Սահակյան

YAG:Nd լազերի հիման վրա ստեղծվաց է IBM PC համակարգիչով քաղցկեղի ֆլուորեսցենտային ավտոմատիզացված ախտորոշման համալիր, որը փորձարկվել է մարդկանցից վերցված մի քանի տիպի ուռուցքների ախտորոշման համար: Օգտագործվել է կլինիկական կիրառման համար թույլատրված դինատրիումի ֆլուորեսցենին ներկանյութը, որը ունի քաղցկեղային բջիջներում ընտրողաբար կուտակվելու հատկություն: Ուսումնասիրվել են ներկանյութի ներերակային ներարկումից հետո ստամոքսի, աղիքի, կրծքագեղձի եւ ուրիշ չարորակ ուռուցքների ու շրջապատող առողջ հյուսվածքների ֆլուորեսցենտային սպեկտրերը 355 եւ 440 նմ լազերային ճառագայթով զրգոման դեպքում: Հայտնաբերված են օրինաչափություններ, որոնք թույլ են տալիս ստեղծված համալիրը կիրառել վիրահատության ժամանակ քաղցկեղի տարածման սահմանները ճշտելու, մետաստազների առկայությունը որոշելու եւ էնդոսկոպի միջոցով ներքին օրգանների ուռուցքների վաղ ախտորոշման համար:

SPECTRAL-FLUORESCENT INVESTIGATIONS OF MAMMARY AND GASTROINTESTINAL MALIGNANT TUMORS

L.E.Aydinian, H.M.Galstian, A.A.Lalayan, V.A.Hovanessian,
A.M.Sahakian

A computerized system for tumor diagnosis based on the fiber-optic spectrofluorometer and the YAG:Nd laser was created. Permitted for clinical use sodium fluorescein have been used as tumor-localizing dye. The contrast accumulation of the dye in tumors of different localization was achieved. The optimization of fluorescent diagnosis and the application of the solid state laser system for determination of the tumor localization is discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дзбановский Н.Н., Полсачев В.И., Рахимов А.Т., Рубин Л.Б. ДАН СССР, 1986, 287, с.1478.
2. Дзбановский Н.Н., Полсачев В.И., Потемкина Е.В. и др. Хирургия, 1989, 5, с.112.
3. Оганесян В.А., Сейланов А.С. Журн. прикл. спектроскопии, 1992, 56, с.806.
4. Черницкий Е.А., Слобожанина Е.И. Спектральный флуоресцентный анализ в медицине. Минск, 1989.
5. Alfano R.R., Pradhan A., Tang G.J. Opt.Soc. Am.B., 1989, 6, p. 1015.
6. Andersson-Engels S., Johansson J., Svanberg S., Svanberg K. Analytical Chemistry, 1990, 62, p. 19.
7. Hirano T., Ishizuka M., Suzuki K. et al. Lasers in the Life Sciences, 1989, 3(2), p. 99.

