

ЛАЗЕРНА ЛЮМІНЕСЦЕНТНА ДІАГНОСТИКА В ОНКОЛОГІЇ

С целью преодоления недостатков существующих методов диагностики онкологических заболеваний (невозможность выявления опухолей на ранних стадиях развития, сложности диагностики метастазов) был предложен и применен метод люминесцентного анализа опухолей на разных стадиях развития. Показана принципиальная возможность употребления метода лазерной флуоресцентной диагностики для выявления опухоли на ранней стадии развития. Было обнаружено расхождение люминесцентных спектров между здоровой биологической тканью и злокачественной опухолью при облучении лазерным светом. Показано, что для повышения эффективности флуоресцентного метода диагностики и расширения спектра биологических объектов целесообразно использовать излучение с перестраиваемой длиной волны.

In order to overcome lacks of existing techniques for cancer diagnostics (inability to detect tumors at early stages, complexities in metastases' diagnostics) there was developed method of luminescent analysis of tumors at different stages of development). A feasibility of implementation of this technique for the exposure of tumor on the early stage of development was investigated. The divergence in luminescent spectrum of laser irradiated healthy biological tissues and malignant tumor was observed. . It was shown that for the increase in the efficiency of fluorescent diagnostic method and for widening the range of biological objects that could be analyzed it is necessary to use laser radiation with tunable wavelength.

Останнім часом спостерігається інтенсивне впровадження лазерів в експериментальну та практичну медицину, що пов'язано з унікальними властивостями цих джерел енергії, специфікою їх дії на біологічні тканини, високою ефективністю застосування [1].

Хоча найбільше поширення лазери отримали в хірургії, урології та офтальмології, де використовується переважно руйнівний ефект високо інтенсивного опромінювання при проведенні безкровних операцій, вони також успішно застосовуються в інших галузях медицини, починаючи від терапевтичного опромінювання крові і закінчуючи діагностикою захворювань внутрішніх органів.

Розвиток лазерної техніки в даний час досяг такого рівня, що за її допомогою стає можливим вирішувати багато різних проблем, в тому числі пов'язаних з живою природою. Вона застосовується для опромінювання об'єктів з найрізноманітніших матеріалів, що знаходяться в різних агрегатних станах, серед яких найцікавішими і найскладнішими є біологічні.

Лазерна біотехнологія має безпосереднє відношення до ряду глобальних проблем людства, таких, як рак, СНІД, захист довкілля від забруднень і т.п. Серед великого кола питань, що розглядаються в рамках сучасної лазерної біотехнології, можна виділити:

- лазерну хірургію і деструкцію біотканин;
- лазерну терапію;
- лазерну діагностику.

Особливі властивості світла використовувалися в медицині задовго до винаходу лазерів. Так, традиційна фотобіологія з використанням звичайних (теплових) джерел світла, таких як: електричні лампочки, газорозрядні прилади, Сонце, досить успішно розвивалася протягом багатьох років. На сьогодні отримані істотні досягнення в розумінні процесів фотосинтезу рослин і бактерій.

Поява лазерів стимулювала подальший швидкий розвиток фотобіології, постановку і успішне вирішення багатьох проблем, які раніше зовсім не ставилися (через відсутність відповідних джерел випромінювання) або вирішувалися частково.

На відміну від теплових джерел світла, лазерне випромінювання характеризується монохроматичністю, часовою та просторовою когерентністю, поляризацією, високим ступенем спрямованості при значній його інтенсивності та яскравості. Деякі лазери можуть перебудовуватися за довжинами хвиль, випромінювати світлові імпульси рекордно короткої тривалості.

За період розвитку лазерної фізики і техніки був створений широкий арсенал лазерних систем з параметрами, що значною мірою задовольняють потреби лазерної технології, включаючи біотехнологію. Проте складність будови біологічних об'єктів, значна різноманітність в характері їх взаємодії зі світлом визначають необхідність використання багатьох типів лазерів і лазерних систем. Така ситуація стимулює розробку нових лазерних систем, включаючи і засоби доставки лазерного випромінювання до об'єкту дослідження або дії [2].

Пухлина або новоутворення – це результат неконтрольованого патологічного розмноження клітин різних тканин організму, яке спостерігається як у представників тваринного світу, так і в рослин. Дати точне визначення пухлини на сьогодні не представляється можливим зважаючи на відсутність уявлень про глибинні причини перетворення нормальних клітин в патологічні.

З клінічної точки зору розрізняють злоякісну і доброякісну пухлину. Галузь медицини, яка вивчає появу, поширення та профілактику та лікування пухлин, називається онкологією. Злоякісна пухлина має пряму загрозу для

життя людини незалежно від її походження і локалізації в організмі, а доброякісна - небезпечна лише у виняткових випадках (наприклад, в області черепа або кишки) [3].

Доброякісні пухлини можна виявити практично у кожній людині, але статистика за ними не ведеться. В більшості країн світу реєструються виключно злоякісні пухлини, поширення яких в розвинених країнах варіює в межах 200-400 на 100 000 населення. Тому, коли згадуються онкологічні захворювання, мають на увазі винятково злоякісні пухлини, які називаються загальним терміном «рак».

Існуючі в даний час в онкології лазерні установки можна умовно розділити на дві групи. До першої відносяться потужні лазери, які викликають в тканинах виражені деструктивні зміни термічного характеру. До цієї групи відносяться лазери на неодимі, рубіні, вуглекислому газі, аргоні, парах металів і ін.

Друга група об'єднує лазери, що генерують випромінювання малої потужності у видимій та ультрафіолетовій областях спектру (гелій-неонові, гелій-кадмієві і ін.) і не викликають в органах і тканинах помітних змін, але істотно змінюють активність обмінних процесів. Лазери цієї групи активно застосовуються для діагностики. Випромінювання цих лазерів істотно впливає на післяопераційний перебіг захворювання. Тут, залежно від довжини хвилі випромінювання, його дози і способів опромінення, може спостерігатися прискорення або гальмування зростання пухлин. Застосування лазерів в онкології представляє великий теоретичний і практичний інтерес. Лазерне випромінювання здатне діагностувати і зруйнувати пухлину, самостійно, або вибірково активувати деякі речовини, які здатні руйнують ракові клітини [4].

Аналіз проблеми.

Існуючі методи ранньої і звичайної діагностики онкологічних захворювань [3] мають певні недоліки, а саме:

- рентгенологічний метод виявляє лише пухлини великих розмірів (від 1см), і не дає можливості виявити метастази;
- комп'ютерна томографія при дослідженні внутрішніх органів не дає можливості отримувати зображення від крупних ділянок в поздовжніх і фронтальних проєкціях;
- до недоліків магнітно-резонансної томографії слід віднести досить високу вартість дослідження, неможливість його проведення за наявності у пацієнта феромагнітних імплантатів, а також при введенні контрастів барвників, вони осідають і накопичуються в органах;
- недоліком методу фотодинамічної діагностики є те, що барвники окрім пухлини осідають і в інших органах (приблизно 5%) і дуже повільно виводяться з організму;
- головним недоліком самої процедури діагностики є підбір методу до певного органу тому, що не існує єдиного методу діагностики для всіх органів;
- недоліком методу лазерної флуоресцентної діагностики є те, що лазери, які застосовуються в медицині, мають строго визначений набір довжин хвиль випромінювання і тому даний метод є малоефективним для більшості органів, зокрема, пухлин;
- складності застосування існуючих методів для виявлення пухлин на ранніх стадіях розвитку, проблеми діагностики метастазів;

Метою даного дослідження є з'ясування можливостей застосування методу люмінесцентного аналізу для виявлення пухлин на різних стадіях розвитку.

Для цього була розроблена методика та застосовано обладнання з використанням апаратно-програмного комплексу, приведенного на рис. 1, 2.

При проведенні експериментальних досліджень було використано два лазери. Перший лазер «Verdi V10» 1 представляє собою твердотільний, одночастотний випромінювач на кристалі ND:YVO4 з діодною накачкою. Його випромінювання за допомогою додаткового лазера «Mira Optima 900-F» 2 перетворюється в імпульсне випромінювання фемтосекундної тривалості зі змінною довжиною хвилі в межах 700 - 900 нм. Додатково комплекс оснащено генератором гармонік «9300» 3, який перетворює частоту вихідного випромінювання фемтосекундного лазера в діапазоні 350 ÷ 450 нм.

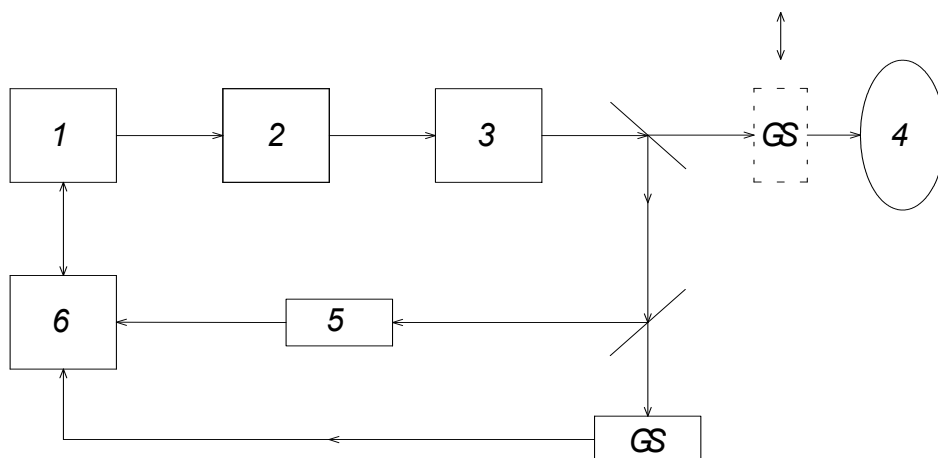


Рис. 1. Блок-схема комплексу

Все наведене обладнання встановлено на оптичному столі OWIS з пневмосистемою демпфування вібрацій. Для контролю потужності лазерного випромінювання було використано вимірювач Fieldmaster GS. Контроль

частоти, форми імпульсу випромінювання здійснюється за допомогою спектрометра 5 з високою роздільною здатністю Hg2000+. Візуальне спостереження параметрів біотканини 4 та регулювання параметрів комплексу проводилось за допомогою комп'ютера 6.

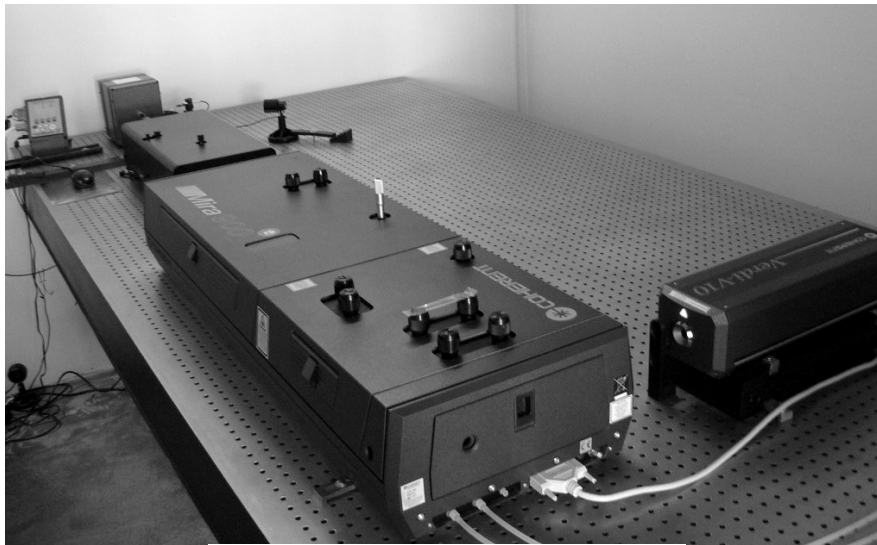


Рис. 2. Лазерний апаратно програмний комплекс

Даний комплекс було використано для отримання спектрів люмінесценції як пухлини, так і здорової тканини, для їх порівняльного аналізу. При цьому проводилось візуальне спостереження люмінесценції на екрані монітора з можливістю виділення за допомогою вузькосмугових фільтрів тільки сигналу від пухлини.

Аналіз спектрів люмінесценції здорової біологічної тканини і злоякісної пухлини під час опромінення лазерним світлом проводився в діапазоні перебудови довжини хвилі 350-450 нм. Дослідження виконувались на пухлинах різних органів. Типові спектрограми приведені на рис. 3-4.

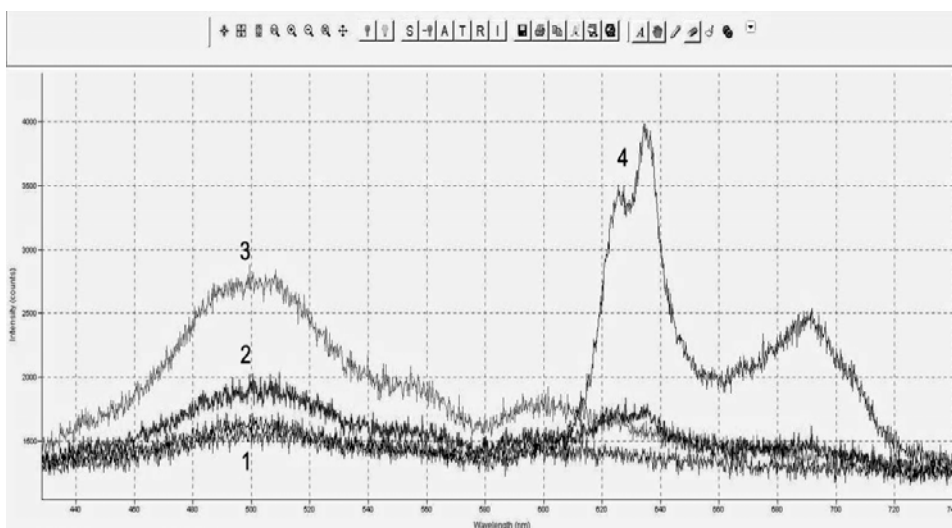


Рис. 3. Люмінесцентні спектри стравоходу

1 – Люмінесценція здорової тканини, 2 – Люмінесценція середини пухлини, 3 – Люмінесценція пухлини недалеко від границі, 4 – Люмінесценція границі пухлини

Як видно з приведеної спектрограми, існує суттєва відмінність в люмінесценції здорової тканини та злоякісної пухлини. Важливим є наявність сигналу люмінесценції в діапазоні 600 – 720 нм на границі пухлини, який відсутній в сигналі від здорової тканини.

Спектрограма наведена на рис. 3 показує відмінність в люмінесценції здорової тканини та злоякісної пухлини. Важливим є посилення інтенсивності та поява піку люмінесценції в діапазоні 575 – 625 нм на границі пухлини, який відсутній в сигналі здорової тканини. Слід особливо відмітити відсутність цього піку люмінесценції в сигналі доброякісної пухлини.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було виявлено розбіжність люмінесцентних спектрів між здоровою тканиною та злоякісною пухлиною при опроміненні лазерним світлом. Наявність суттєвого додаткового сигналу на границі пухлини дає можливість визначати місце розташування та розміри пухлин, що є дуже важливим, особливо в хірургії під час операцій.

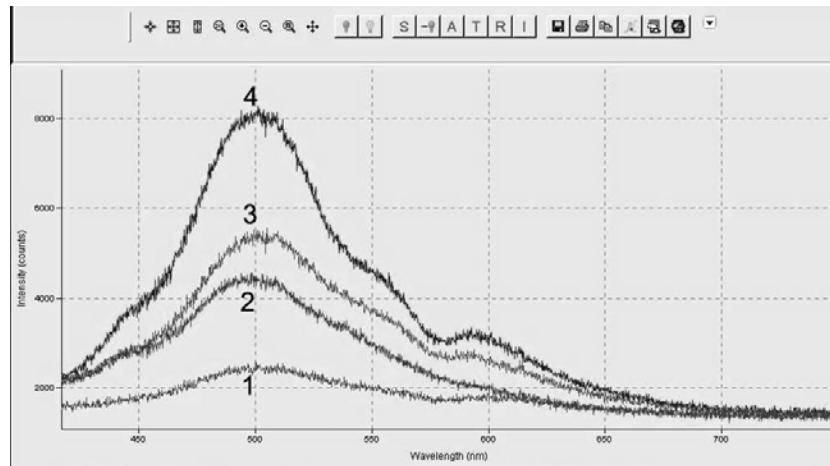


Рис. 4. Люмінесцентні спектри тіла матки
 1 – Люмінесценція здорової тканини, 2 – Люмінесценція доброякісної пухлини, 3 – Люмінесценція пухлини недалеко від границі, 4 – Люмінесценція границі пухлини

Висновки.

Доведено можливість використання методу лазерної флуоресцентної діагностики для виявлення пухлин на ранній стадії розвитку. Для підвищення ефективності методу діагностики і розширення спектру біологічних об'єктів доцільно використовувати випромінювання зі змінною довжиною хвилі.

При проведенні досліджень було виявлено розбіжність люмінесцентних спектрів між здоровою тканиною та злоякісною пухлиною при опроміненні лазерним світлом. Особливо важливим є наявність суттєвого додаткового люмінесцентного сигналу на границі пухлини, що дає можливість визначити їх форму, розміри та місце розташування.

Перспективи подальших досліджень.

Удосконалення методики виявлення злоякісних пухлин та місця їх розташування, створення бази даних люмінесцентних спектрів патологічних та здорових тканин.

Визначення оптичних характеристик біологічних тканин (глибини проникнення безперервного та фемтосекундного лазерного випромінювання, поляризаційних характеристик), теплових процесів та розподілу температур в тканинах під дією лазерного випромінювання, що є інформативним для діагностичного аналізу та перспективним для лазерної терапії, як онкологічних, так і інших видів захворювань.

Список літератури.

1. В.В. Тучин, Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. Саратов: Изд-во Сарат. Университета, 1998. 384 с.
2. А.В. Беликов, А.В. Скрипник, Лазерные биомедицинские технологии (часть 1) Учебное пособие Санкт-Петербург, 2008. 116с.
3. Б.Т. Білинський, Ю.М. Стернюк, Я.В. Шпарик, Онкологія, Київ 2004. 527с.
4. А.В. Беликов, А.В. Скрипник Лазерные биомедицинские технологии (часть 2) Учебное пособие Санкт-Петербург, 2009. 100с.