

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 618.19-006.6-091.8-073.524

С. В. Пушкарев, С. А. Наумов, С. М. Вовк, В. А. Воловоденко

(Новосибирск)

**ОПТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ
ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ *in vivo***

Описан светооптический прибор, состоящий из двух источников излучения, и способ диагностики патологических состояний ткани молочной железы *in vivo*. Предложена формула подсчета диагностического критерия, позволяющего конкретизировать вид опухолевого процесса и, следовательно, возможность создания новой методологии доморфологической диагностики.

Проблема выявления ранних стадий злокачественных новообразований является наиболее актуальной во всех развитых странах. При этом предполагаемый рост процента пятилетней выживаемости к 2004 году будет происходить в основном за счет улучшения ранней диагностики (10–20%), в то время как усовершенствование всех методов лечения даст по прогнозу увеличение не более 5%.

Объектом исследования выбрана молочная железа исходя из следующих соображений: 1) в последние годы заболеваемость раком молочной железы значительно возросла и продолжает увеличиваться [1], что является причиной смертности особенно женщин молодого возраста [2]; 2) используемый на этапе скрининга цитологический метод исследования несет большой процент ошибок (до 31%) [3], не позволяет судить о гистотипе опухоли и, следовательно, о выборе оптимального вида лечения и прогнозе заболевания; 3) недостаточно разработана технология контроля за динамикой патологического процесса на этапах системной химиотерапии и лучевого лечения; 4) молочная железа наиболее доступна для исследования *in vivo*.

В настоящее время для диагностики объемных образований, особенно малых размеров, и их нозологической принадлежности используются такие методы медицинской визуализации, как рентгеновская маммография, ультразвуковая диагностика, термография, рентгеновская компьютерная томография, ЯМР-диагностика, диагностика с применением радиоизотопов [4–11].

Однако результаты диагностики известными способами и приборами, особенно при минимальном проявлении нарушений формообразовательных

процессов, искажаются значительными ошибками из-за большого многообразия форм злокачественных образований, воспалительных процессов в тканях, артефактов и т. д.

Одними из наиболее перспективных являются оптические методы диагностики с помощью осветительной техники, так как они позволяют проводить исследования особенностей молекулярного состава опухолей без отбора пробы. Анализ разработанных на данный момент оптических методов диагностики показывает, что для решения проблемы необходим комплексный подход. Следует создать универсальный комплекс оптического диагностического оборудования, который позволял бы проводить более глубокие исследования внутритканевых и внутриклеточных биохимических процессов, происходящих при появлении опухолевых образований.

Известны спектральные люминесцентные способы и приборы для диагностики крови и других биотканей, основанные на спектроскопии собственной флуоресценции клеточных структур или введении в объект дополнительных экзогенных фотосенсибилизаторов [12–14].

Однако упомянутые способы и приборы не обеспечивают устойчивой регистрации различий в спектрах нормальной и раковой тканей, не позволяют снизить время диагностики (время определения занимает минимум 2–3 ч), могут вызвать проявление побочных реакций со стороны организма человека. Известны оптические способы диагностики рака, включающие измерение коэффициентов диффузного отражения и пропускания нормальных тканей и опухолей молочной железы [15]. Указанные способы, как правило, реализуются *in vitro* на образцах, полученных после операции, и поскольку кровенаполнение их нарушено, точность измерений низка.

Наиболее близкими по технической сущности к разработанному нами прибору являются устройство и способ диагностики онкологических заболеваний [12], включающий исследование подозреваемой ткани путем возбуждения ее монохроматическим светом с получением спектра флуоресценции и сравнение этого спектра с аналогичным спектром нормальной ткани. Прибор для реализации известного способа состоит из источника светового излучения (галогенная лампа или аргоновый лазер), оптического блока связи, системы подачи и сбора излучения, анализатора спектров и компьютера [12].

В способе, взятом за прототип, отсутствует диагностический параметр, позволяющий классифицировать «вид» опухоли. Кроме того, известный способ, хотя и характеризуется экспрессностью, не учитывает степень деградации образцов, происходящей во время его подготовки к исследованию *in vitro*. Необходимо также отметить, что в известном изобретении исследования проведены на лабораторных животных, поэтому экстраполировать результаты на человека в условиях *in vivo* некорректно.

Задачей нашего исследования явилось создание оптического прибора для визуализации собственного состояния исследуемых тканей, а также разработка способа повышения диагностической эффективности определения патологического состояния ткани молочной железы *in vivo* с обеспечением возможности постановки диагноза в соответствии с морфологической принадлежностью опухолей.

Прибор для диагностики онкологических заболеваний в результате нашего усовершенствования содержит дополнительный источник излучения, а система подачи и сбора излучения смонтирована в разовой медицинской игле. На рис. 1 представлена схема прибора для диагностики онкологических заболеваний. Световое излучение от источников 1 или 2 через кон-

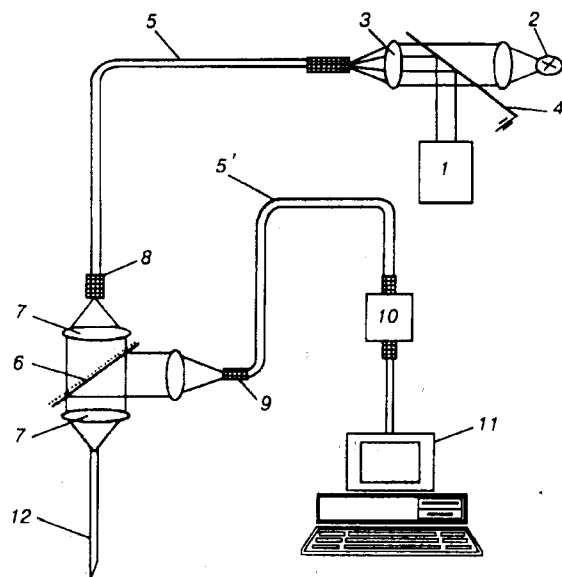


Рис. 1. Схема прибора для диагностики онкологических заболеваний:
 1 – лазер ЛТН-402; 2 – галогенная лампа; 3 – объектив; 4 – поворотное зеркало; 5 и 5' – передающий кабель; 6 – полупрозрачное зеркало; 7 – объектив (ахроматический); 8 – универсальный разъем стандарта SMA (входной); 9 – универсальный разъем стандарта SMA (выходной); 10 – анализатор спектров (многоканальный); 11 – компьютер; 12 – разовая медицинская игла с внутренним моноволоконным жестким световодом (не показан)

денсор и объектив 3 с помощью поворотного зеркала 4 по волоконно-передающему кабелю 5 подается на входной разъем 8. Световое излучение может подаваться как от лазера 1 (для наблюдения флуоресценции), так и от галогенной лампы 2 (для наблюдения диффузно отраженного излучения). Затем излучение фокусируется объективами 7 в световод медицинской иглы 12 (внешний диаметр иглы не более 1 мм) и по нему подается непосредственно на участок диагностируемой ткани. Флуоресцентное либо диффузно отраженное излучение по выходному световоду подается на полупрозрачное зеркало 6 и фокусируется на выходной разъем 9, с которого по волоконно-оптическому передающему кабелю 5' поступает на многоканальный анализатор спектров 10. С выхода анализатора спектров 10 сигнал подается на вход компьютера 11, на экране которого отображается спектр флуоресценции либо диффузного отражения в графическом виде.

В предлагаемом способе перед диагностикой подозреваемой ткани осуществляли исследование нормальной ткани того же органа путем возбуждения ее пучком монохроматического света с получением спектра флуоресценции, с последующим возбуждением ее пучком полихроматического света в диапазоне длин волн 400–800 нм и получением спектра отражения. При исследовании подозреваемой ткани перед получением спектра флуоресценции ткань возбуждали пучком полихроматического света с получением спектра отражения, который сравнивали с аналогичным спектром нормаль-

ной ткани. О состоянии патологически измененной ткани судили только по флуоресцентному отклику, составив соотношение:

$$q = \left[1 - \frac{I_{\max c} I(578)_n}{I_{\max n} I(578)_c} \right] 100 \%,$$

где q – диагностический параметр (условное обозначение); I_{\max} – интенсивность максимума линии спектра в области 590–605 нм; $I(578)$ – интенсивность минимума линии спектра в точке 578 нм, соответствующего пику поглощения крови; $I_{\max n}$, $I(578)_n$ – для нормальной ткани; $I_{\max c}$, $I(578)_c$ – для подозреваемой ткани.

П р и м е р. Больная З. Поступила в клиническое отделение с диагнозом: узловое образование левой молочной железы. После тестирования молочной железы известными физическими методами (пальпация, маммография) предварительно установили наличие объемного процесса. При спектрофотометрии перед диагностикой подозреваемой ткани осуществили исследование нормального участка того же органа (молочной железы), для чего разовую медицинскую иглу 12 (см. рис. 1) ввели на глубину 15 мм, включили лазер 1 и сняли спектр флуоресценции нормальной ткани после возбуждения ее пучком монохроматического света с длиной волны 532 нм, плотностью мощности 2,1 мВт/мм, время исследования 5 с (рис. 2). После этого выключили лазер, включили галогенную лампу 2 (см. рис. 1) и, не двигая иглу, сняли спектр отражения нормальной ткани после возбуждения ее пучком полихроматического света в диапазоне длин волн 400–800 нм (рис. 3). Не удаляя иглу, начали продвигать ее к месту опухолевого образования, возбуждая ткань пучком полихроматического света (от галогенной лампы) в диапазоне длин волн 400–800 нм с одновременным снятием спектра отражения (рис. 4) и сравнением его с аналогичным спектром нормальной ткани (см. рис. 3). Затем выключили галогенную лампу, включили лазер и сняли спектр флуоресценции подозреваемой ткани (рис. 5) после возбуждения ее пучком монохроматического света с длиной волны 532 нм, плотностью мощности 2,1 мВт/мм (время исследования 5 с). Полученный спектр флуоресценции подозреваемой ткани (см. рис. 5) сравнили со спектром флуоресценции нормальной ткани (см. рис. 2) с одновременной компьютерной

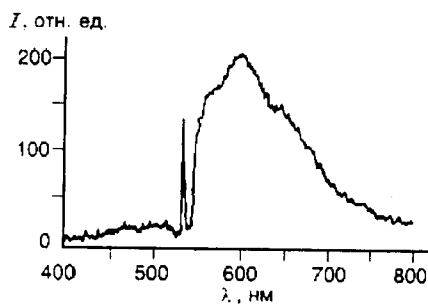


Рис. 2. Спектр флуоресценции нормальной ткани молочной железы

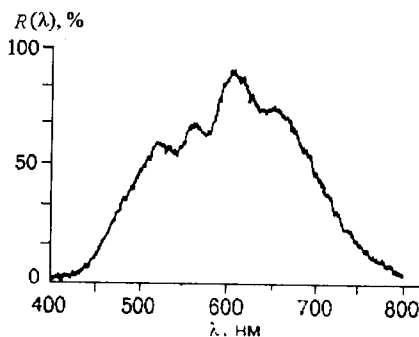


Рис. 3. Спектр отражения нормальной ткани молочной железы. $R(\lambda)$ – коэффициент отражения

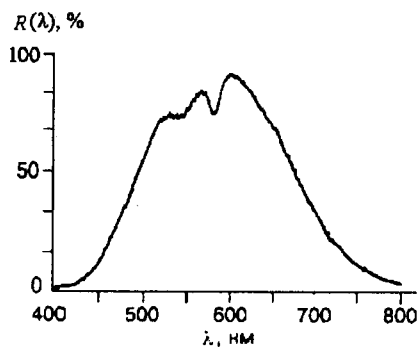


Рис. 4. Спектр отражения опухолевой ткани молочной железы

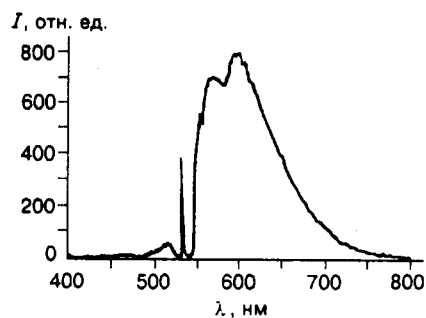


Рис. 5. Спектр флуоресценции опухолевой ткани молочной железы

обработкой результатов исследования и расчетом величины диагностического параметра q по формуле, приведенной выше. В результате получили $q = 30\%$, что соответствует наличию кистозного фиброаденоматоза (диагноз подтвержден данными гистологического исследования № 9663-67).

В условиях, аналогичных примеру, проведено исследование 140 пациентов, имеющих как доброкачественные, так и злокачественные новообразования в молочных железах. В результате этих исследований установлены величины диагностического параметра q , позволяющие классифицировать тип патологического процесса (см. таблицу).

Из приведенной таблицы однозначно следует вывод о тенденции диагностического параметра с определенной вероятностью принимать конкретные значения для различных типов опухолевого образования и, следовательно, о возможности создания новой методологии доморфологической диагностики, позволяющей идентифицировать характер патологического процесса.

Дополнительное использование в приборе метода регистрации спектров диффузного отражения обусловлено следующим: 1) при исследованиях *in vivo* на характер спектра флуоресценции может оказывать влияние феномен

Значение параметра q в зависимости от гистологического типа ткани молочной железы

$q, \%$	Тип патологического процесса
-50 – -40	Дисплазии
-40 – -20	Солидный рак
-20 – -2	Рак скirr
+2 – +15	Любые опухоли с включением рака скirr
+15 – +25	Железисто-солидный рак
+25 – +45	Фиброаденомы

гашения [16], хемиллюминесценция крови (ХЛ) (в спектре ХЛ присутствуют два пика в области от 500 до 600 нм) [17]; 2) на характер флуоресценции большое влияние также может оказывать функциональное состояние больного (так, выброс адреналина в кровь ведет к выраженному влиянию на цепь дыхательных ферментов, определяющих в конечном итоге вид кривой спектра флуоресценции) [12]. С учетом этих факторов, а также значительного прогресса в развитии спектроскопии диффузного отражения биологических тканей *in vitro* нами был введен в прибор блок исследования спектров диффузного отражения.

При сравнительном анализе спектров отражения здорового участка ткани с опухолью было выявлено, что в опухолевой ткани коэффициент отражения на длине волны 500 нм составляет $60 \pm 3,2$ %, а на длине волны 600 нм – $75 \pm 5,1$ %; при исследовании здорового участка ткани коэффициенты отражения на длинах волн 500, 600 нм соответственно равны $41 \pm 2,5$ и $53 \pm 3,3$ %. Проверка диагностической эффективности на уровне «рак – не рак» выявила, что специфичность данных параметров составила 86 % ($\lambda = 600$ нм), 81 % ($\lambda = 500$ нм) и чувствительность – 79 % ($\lambda = 600$ нм), 83 % ($\lambda = 500$ нм), что вполне удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диагностическим приборам.

Имеющиеся предварительные данные по этому вопросу позволяют считать, что предлагаемый прибор и способ диагностики обеспечивают следующие преимущества:

- повышение точности, достоверности и экспрессности определения за счет исключения ошибок, связанных с использованием усредненных эталонных образцов, вместо которых в качестве объекта сравнения используется нормальная ткань того же органа конкретного пациента, а также за счет изучения различных характеристик (флуоресценции и отражения) подозрительной ткани;
- расширение диапазона диагностируемых опухолей;
- возможность классификации вида опухоли (тип и степень развития опухолевого процесса);
- возможность использования данного метода и прибора в качестве базы для разработки нового метода индивидуализации лечения онкологических заболеваний.

Авторы выражают благодарность канд. физ.-мат. наук В. И. Петрову (ГОИ им. С. И. Вавилова) и д-ру мед. наук Е. С. Смольянинову (НИИ онкологии ТНЦ РАМН) за участие в обсуждении полученных результатов и планировании экспериментов, а также инженерам Техноцентра «Лазерные технологии» НИКИЭТ С. С. Олефиренко и С. А. Стафееву за техническое обеспечение проведенных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дятченко О. Т., Мерабишвили В. М., Шабашова Н. Я. и др. Организация лечебной помощи больным раком молочной железы в условиях крупного города // Актуальные проблемы профилактики и лечения рака молочной железы. СПб, 1993. С. 37.
2. Пинхосевич Е. Г., Синицин В. А., Бурдина Л. М. и др. Основные проблемы развития маммологической службы // Маммология. 1995. № 1. С. 4.
3. Голов Л. Б., Козлова Г. Г. Методика и некоторые результаты работы специализированного рентгеноморфологического отделения Московского маммологического диспансера. Диагностическая пункция молочной железы // Маммология. 1994. № 1–2. С. 15.

4. Качанова Т. Н. Варианты применения МРТ-маммографии // Международ. конф. «Магнитный резонанс в медицине», 8–10 сентября 1997. Казань, 1997. С. 81.
5. Насруллаев М. Н., Бахтиозин Р. Ф., Чувашев И. Р., Хамзина Ф. Т. Комплексная лучевая диагностика заболеваний молочной железы // Там же. С. 83.
6. Норманский В. Е. Перспективы использования фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики при раке молочной железы // Маммология. 1993. № 2. С. 38.
7. Рожкова Н. И. Рентгенодиагностика заболеваний молочной железы /Под ред. А. С. Павлова. М.: Медицина, 1993. С. 5.
8. Сергеев С. И., Власов П. В., Островская И. М. Комплексная диагностика рака молочной железы. М.: Медицина, 1978.
9. Трофимова Е. Ю. Ультразвуковая диагностика рака молочной железы // Российский онколог. журн. 1997. № 6. С. 26.
10. Хайленко В. А., Оджарова А. А., Комов Д. В. Сцинтимаммография с ^{99m}Tc технетрилом в диагностике рака молочной железы // Маммология. 1997. № 4. С. 44.
11. Cutrone J., Khalkhali I., Diggles L., Mishkin S. Scintimammography: a modality for breast diagnosis // Medical Imaging International. 1996. 6, N 4. P. 6.
12. Пат. 4930516 США. Метод определения раковой ткани с помощью видимого естественного свечения /Р. Альфано. Опубл. 05.06.90.
13. Полсачев В. И., Лазарев В. В., Степанянц Г. Р. и др. Возможности применения флуоресцентного анализа в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы // Маммология. 1993. № 3. С. 30.
14. Шенталь В. В., Пачес А. И., Лощенов В. Б. Аутофлуоресцентная диагностика злокачественных опухолей головы и шеи // Вестник АМН. 1996. № 1. С. 13.
15. Королевич А. Н., Олейник Т. В., Севковский Я. И., Хайруллина А. Я. Особенности спектров диффузного отражения и пропускания нормальных и опухолевых тканей // Журн. прикладной спектроскопии. 1993. 58, № 5–6. С. 555.
16. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. М., 1986.
17. Серкиз Я. И., Чеботарев Е. Е., Барбой В. А. Хемилюминесценция крови в экспериментальной и клинической онкологии. Киев, 1984.

Поступило в редакцию 4 ноября 1998 г.