

ПРИЛАДОБУДУВАННЯ ТА ІНФОРМАЦІЙНО-ВИМІРЮВАЛЬНА ТЕХНІКА

УДК 681.785.5:616-07

М.О. Денисов

СИСТЕМА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ ДІАГНОСТИКИ ОНКОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Вступ

Дослідження та розробки, спрямовані на використання методів ранньої діагностики онкологічних захворювань внутрішніх органів людини та їх лікування за методом фотодинамічної терапії, є одним із пріоритетних напрямків сучасної медицини високих технологій. Проблеми ранньої діагностики онкологічних захворювань та необхідність пошуку нових методик їх ефективного лікування для України є особливо актуальними із врахуванням довготривалих наслідків аварії на Черnobильській АЕС, що відповідає пріоритетному напрямку державної науково-технічної програми (ДНТП) “Нові технології і засоби діагностики та лікування найбільш поширених захворювань”.

Флуоресцентна діагностика онкологічних захворювань є одним із найбільш сучасних діагностичних методів. Метод ґрунтується на тому, що морфологічні відмінності між нормальними біотканинами та атипovими новоутвореннями призводять до відмінностей їх спектральних характеристик, що дає можливість використовувати з діагностичними цілями випромінювання автогенної або екзогенної флуоресценції біотканин [1–3]. У загальному випадку має місце оптичний контраст між нормальними і патологічними ділянками біотканин, який характеризується формою та інтенсивністю спектрів флуоресценції, які апаратно реєструються при надходженні сигналів від досліджуваних ділянок біотканин. Для підсилення оптичного контрасту та, як наслідок, підвищення діагностичних можливостей методу широко використовуються спеціальні хіміко-фармацевтичні препарати – фотосенсибілізатори (ФС), які вибірково накопичуються в морфологічно атипovих клітинах. При цьому під дією дозованого оптичного випромінювання специфічних довжин хвиль продукуються спектри флуоресценції або здійснюється вибіркова деструкція ракових клітин, що використовується відповідно при флуоресцентній діагностиці або при лікуванні онкологічних захворювань за методом фотодинамічної терапії [4].

На сучасному етапі розвиток методу флуоресцентної діагностики відбувається двома шляхами: по-перше, створенням нових фотосенсибілізаторів із більшим накопиченням у злoякісних новоутвореннях та високим квантовим виходом флуоресценції і, по-друге, удосконаленням апаратної частини діагностичних систем і комплексів [5, 6]. В Україні розроблений та виробляється (ЗАТ “НВЦ “Борщaгівський хіміко-фармацевтичний завод”, м. Київ) вітчизняний фотосенсибілізатор “Гіперфлав”, який не має аналогів у світі. “Гіперфлав” запатентований як флуоресцентний маркер для діагностики онкологічних захворювань [7]; пройшов всебічні лабораторні дослідження і клінічні випробування та був зареєстрований у Фармкомітеті України.

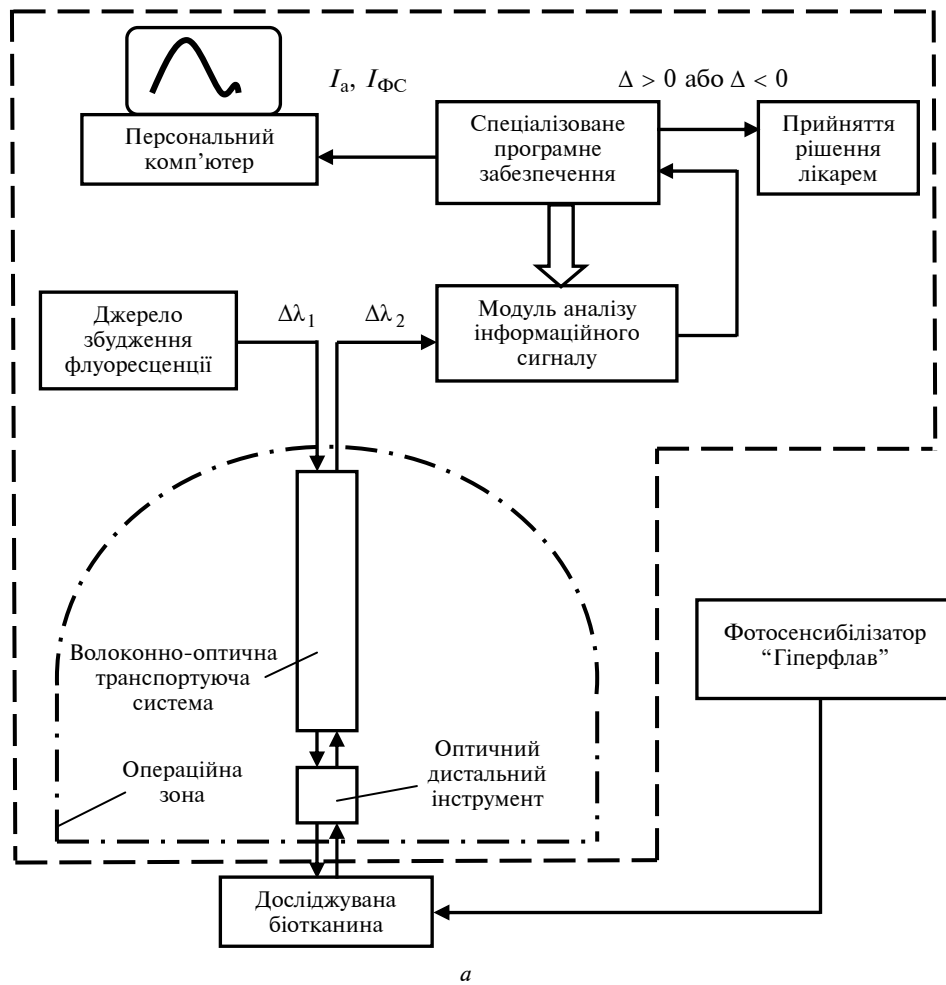
Постановка задачі

Метою статті є створення вітчизняної системи флуоресцентної діагностики онкологічних захворювань (СФДОЗ) з використанням фотосенсибілізатора “Гіперфлав” для діагностування в клінічних умовах диспластичних змін та злoякісних новоутворень внутрішніх органів людини на ранніх стадіях, коли традиційні діагностичні методи є малоефективними.

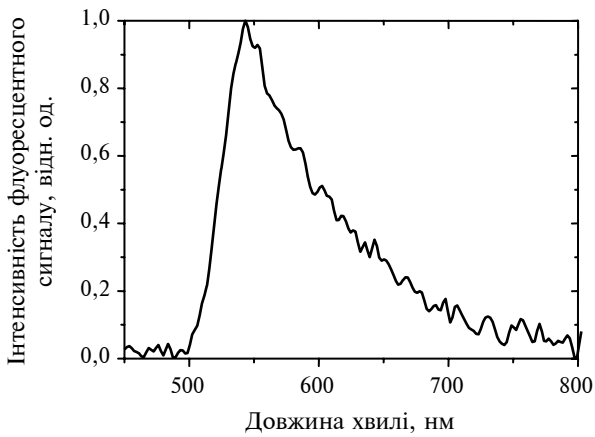
Принцип дії та апаратні реалізації СФДОЗ

Метод флуоресцентної діагностики, який реалізує СФДОЗ (рис. 1, а), базується на відмінностях спектрів автофлуоресценції I_a , характерних для незміненої слизової з $\lambda_{\max} = 535\text{--}545$ нм (рис. 1, б), та спектрів індукованої фотосенсибілізатором “Гіперфлав” флуоресценції $I_{\text{ФС}}$, характерних для морфологічної атипії з $\lambda_{\max} = 605\text{--}610$ нм (рис. 1, в), які апаратно реєструються в спектральному діапазоні $\Delta\lambda_2 = 500\text{--}800$ нм при надходженні сигналу від ділянок слизової внутрішніх органів людини після дозованого перорального введення фотосенсибілізатора “Гіперфлав” ($m_{\text{ФС}} = 0,1\text{--}0,2$ мг/кг м.т.), його вибіркового накопичення в морфологічно змінених клітинах з наступним ($\Delta t = 4\text{--}8$ год) опромінюванням зазначених ділянок слизової оптичним випромінюванням збудження флуоресценції ($\Delta\lambda_1 = 450\text{--}480$ нм) [8].

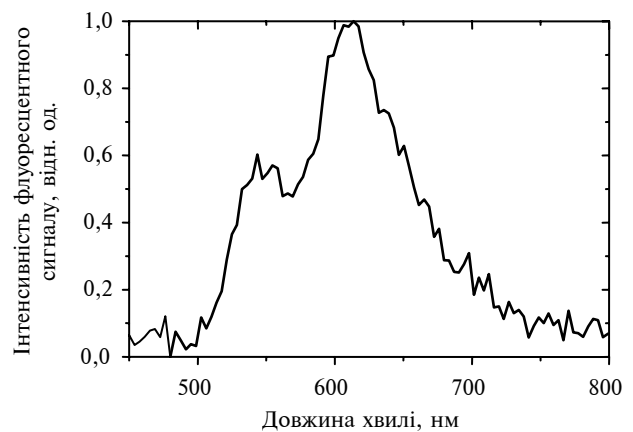
Метод флуоресцентної діагностики дає можливість у реальному масштабі часу диферен-



a



б



в

Рис. 1. Принцип дії системи флуоресцентної діагностики онкологічних захворювань

ціювати здорові та уражені ділянки слизової внутрішніх органів для своєчасного призначення консервативного лікування з метою запобігання їх переродженню в онкологічні захворювання.

Визначення наявності або відсутності злоякісного новоутворення здійснюється за знаком коефіцієнта Δ :

$$\Delta = (I_{FC} - I_a) / (I_{FC} + I_a),$$

причому, якщо $\Delta < 0$, то дана ділянка тканини діагностується як здорова, тоді як при $\Delta > 0$ вона діагностується як уражена злоякісним новоутворенням.

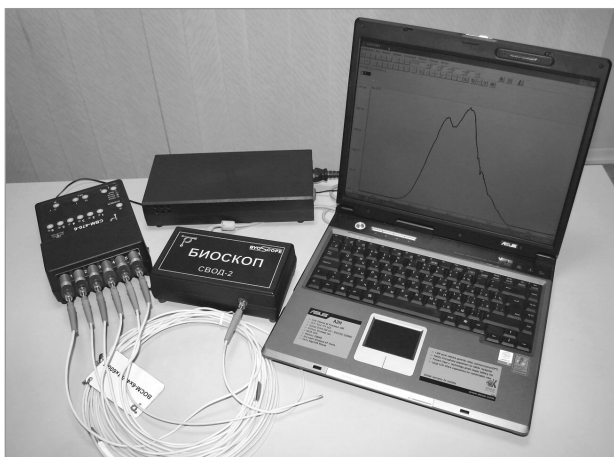


Рис. 2. Система флуоресцентної діагностики онкологічних захворювань СФД.М6-1С.2

Наявність розробленого та освоєного у виробництві вітчизняного фотосенсибілізатора

“Гіперфлав” дає змогу вести розробку наукоємних, патентно- та конкурентоспроможних клінічних діагностичних та лікувальних систем і комплексів.

Система флуоресцентної діагностики СФД.М6-1С.2 (рис. 2) є четвертим поколінням апаратної реалізації методу флуоресцентної діагностики онкологічних захворювань із використанням фотосенсибілізатора “Гіперфлав” (табл. 1).

До СФД.М6-1С.2 входять (рис. 2):

- медичний блок живлення МЕДЖ-19-2;
- багатоканальне джерело випромінювання MultiLED СВМ-470-6 на базі надлюмінесцентних світловипромінюючих діодів, призначене для генерації оптичного випромінювання збудження флуоресценції біотканин [9, 10];
- багатоканальна волоконно-оптична транспортуюча система із спряженим оптичним дистальним інструментом ВОСМ 6×400/1×600-5, яка здійснює ефективне транспортування випромінювання збудження від світлодіодів до внутрішніх органів людини через інструментальні канали стандартного ендоскопічного обладнання, а також ефективне збирання випро-

Таблиця 1. Варіанти технічної реалізації СФДОЗ

Характеристики, апаратура	Варіанти технічної реалізації СФДОЗ				
	1996–1998 рр.	1998–2000 рр.	2001–2007 рр.		2008 р.
Період реалізації	1996–1998 рр.	1998–2000 рр.	2001–2007 рр.		2008 р.
Апарати реалізації	СФДЛ	СФДЛ-О	СФД.М6-О	СФД.М6-1С1	СФД.М6-1С2
Джерело збудження флуоресценції	He-Cd-лазер		Багатоканальне джерело випромінювання на світлодіодах MultiLED (Україна)		
Енергоживлення	Високовольтний блок (до 2 кВ)		Мережевий адаптер (9В)		МЕДЖ-19-2 (19В)
Габарити та маса	Лазер: 700×120×120 мм; 3 кг Блок живлення: 350×250×120 мм; 5 кг		MultiLED: 225×135×65 мм; 0,5 кг		260×130×55 мм; 2 кг
Модуль аналізу інформаційного сигналу	Монохроматор “Спектр-1” (Україна) з механічною розгорткою спектра	Волоконно-оптичний спектрометр			
		S2000 (Ocean Optics, Inc., США)	БІОСКОП (Україна)	БІОСКОП СВВД-2 (Україна)	
Габарити та маса	400×300×200 мм; 6 кг	150×120×40 мм; 1 кг	260×130×55 мм; 1,2 кг		180×100×55 мм; 0,8 кг
Підключення до комп’ютера	Зовнішній спеціальний пристрій	Конвертер в ISA-слоті	COM-порт		USB-порт
Програмне забезпечення	“Спектр”, спеціальне	ООІBase (США), універсальне	БІОСОФТ (Україна), адаптоване для лікаря-практика		
Час реєстрації спектра	3–5 с	Реальний масштаб часу	Реальний масштаб часу		
Запам’ятовування спектрів	По одному спектру	По одному спектру	Серіями до 10 спектрів		
Наявність баз даних	Немає	Немає	Є, з відповідними коментарями лікаря		

Таблиця 2. Порівняння СФДОЗ із закордонними аналогами

Апаратура, показники, призначення, параметри та характеристики	Система флуоресцентної діагностики СФД.М6-1С.2 (Україна)	Закордонні аналоги		
		USB2000-FL (Ocean Optics Inc., США) [13]	Ava-Fluorescence (Avantes, Нідерланди) [14]	ЛЭСА-01-БИОСПЕК (ЗАО БіоСпек, Росія) [15]
Волоконно-оптичний спектрометр	БІОСКОП СВОД-2	USB2000-FL	AvaSpec2048FT	ЛЭСА-6
Спектральний діапазон реєстрації, нм	350–800	360–1000	350–1100	300–800
Роздільна здатність, нм	30 (10)	20 (10)	20 (8)	10
Волоконний вхід, мкм	∅ 600	∅ 400	∅ 400	∅ 200
Габарити, мм	180×100×55	89×63×34	175×110×44	–
Джерело випромінювання збудження флуоресценції	MultiLED СВМ-470-6	LS-475	AvaLight-LED475	LSS532-10-BIOSPEC
Тип джерела випромінювання	6 світлодіодів	Світлодіод	Світлодіод	Лазер
Довжина хвилі випромінювання, нм	450–480	450–480	475	532
Вихідна потужність, мВт	6×1,0	1,0	0,66	0–12
Габарити випромінювача, мм	225×135×65	89×57×34,5	175×110×44	800×65×65
Габарити блока живлення, мм	260×130×55	Адаптер	Адаптер	250×250×100
Волоконно-оптичні транспортуючі системи та зонди	ВОСМ-6×400/1×600-5	R400-7-UV-VIS	FCR-7UV 400-2-ME	DC-R-1-6
Зовнішній діаметр, мм	2,8	6,35	6,35	< 2,8
Довжина, м	5,0	2,0	2,0	1,8
Кількість і діаметр (мкм) світловодів збудження флуоресценції та реєструючих волокон	6×400 1×600	6×400 1×400	6×400 1×400	1×200 10×200
Фотосенсибілізатор (ФС)	“Гіперфлав”	Photofrin	Photofrin	Фотосенс
Максимум флуоресценції, нм	603–607	630	630	675
Час повного виведення ФС, год	24	96–120	96–120	96–120
Дозування та спосіб введення	0,1–0,15 мг/кг Перорально	1–2 мг/кг Ін’єкція	1–2 мг/кг Ін’єкція	0,5–1 мг/кг Ін’єкція
Програмне забезпечення	БІОСОФТ	SpectraSuite	AvaSoft-Full	LESA Spectra

мінювання флуоресценції біотканин з наступним його транспортуванням на вхід спектрореєструючого приладу [11];

- волоконно-оптичний спектрометр БІОСКОП СВОД-2, призначений для апаратної реєстрації в режимі реального часу спектрів флуоресценції досліджуваних біотканин [12];

- наперед установлене на персональному комп’ютері програмне забезпечення БІОСОФТ, яке здійснює керування роботою спектрометра, а також програмну реєстрацію в режимі реального часу спектрів флуоресценції біотканин з формуванням баз даних спектрометричних досліджень [12].

Запропонована система флуоресцентної діагностики онкологічних захворювань СФД.М6-1С.2 за своїми технічними характеристиками не по-

ступається кращим закордонним зразкам аналогічного призначення (табл. 2).

У період 1996–2007 рр. із застосуванням різних модифікацій системи проведені клінічні дослідження більш ніж 130 пацієнтів (локалізація – кишково-шлунковий тракт) у відділенні ендоскопії Інституту хірургії та трансплантології АМН України, на кафедрі клінічної хірургії № 1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця. Ефективність ранньої діагностики злоякісних новоутворень за методом флуоресцентної діагностики, яка визначалася за загальноприйнятими в медичній діагностиці параметрами, становила: точність – 84 %, чутливість – 97 %, специфічність – 71 % [16, 17], що перевищує на 3–6 % ефективність традиційних методів діагностики.

Висновки

Створена система флуоресцентної діагностики онкологічних захворювань СФД.М6-1С.2 не має аналогів в Україні та за своїми технічними характеристиками не поступається кращим закордонним зразкам аналогічного призначення. Флуоресцентний метод ранньої діаг-

ностики злоякісних новоутворень за ефективністю переважає традиційні методи ранньої діагностики. Подальші дослідження мають бути спрямованими на розробку системи лікування онкологічних захворювань за методом фотодинамічної терапії з використанням вітчизняного фотосенсибілізатора “Гіперфлав”.

Н.А. Денисов

СИСТЕМА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Исследован метод флуоресцентной диагностики с использованием отечественного фотосенсибилизатора “Гиперфлав”, который позволяет в реальном масштабе времени дифференцировать здоровые и пораженные участки слизистой внутренних органов для своевременного назначения консервативного лечения с целью предотвращения их перерождения в онкологические заболевания.

M.O. Denysov

CLINICAL APPARATUS FOR PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS OF EARLY CANCER

In this paper, we investigate the technique for fluorescence diagnosis using the Ukrainian “Hyperflav” photosensitizer to differentiate healthy and affected sites of internal organs’ mucosa in the real time mode. It makes for providing an early treatment to prevent degeneration of these sites into oncological diseases.

1. *Biomedical Photonics Handbook* / Ed. Tuan Vo-Dinh. – 2003. – 1864 p.
2. *Wagnieres G.A., Star W.M. and Wilson B.C.* In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications // *Photochemistry and Photobiology*. – 1998. – **68** (5). – P. 603–632.
3. *Van der Oord C.J., de Grauw C.J. and van Geest L.K.* Fluorescence lifetime attachment LIFA // *SPIE Proc.* – 2001. – **4252**. – P. 119–124.
4. *Vakulovskaya E.G.* Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics of head and neck cancer with second-generation photosensitizers // *Ibid.* – 2005. – **5973**. – P. 65–70.
5. *Reshetnikov A.V., Spaniol S.B., Neugodova N.P. et al.* Novel photosensitizers for prospective clinical usage and some of their properties // *Ibid.* – 2001. – **4156**. – P. 86–90.
6. *Loschenov V.B., Konov V.I. and Prokhorov A.M.* Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis // *Laser Physics*. – 2000. – **10**, N 6. – P. 1188–1207.
7. *Патент № 28774А (Україна) від 16.10.2000.* Флуоресцентний маркер для діагностики онкологічних захворювань / Л.В. Безпалько, А.С. Шаламай, З.В. Левицька, С.М. Дец. – Бюл. № 5-II.
8. *Патент №39979 (Україна) від 16.07.2001.* Спосіб ранньої діагностики онкологічних захворювань органів травлення / О.М. Бурій, М.О. Денисов, С.М. Дец та ін. – Бюл. № 6.
9. *Dets S.M., Denisov N.A.* Blue LED’s feasibility for tissue fluorescence analysis // *SPIE Proc.* – 2000. – **3917**. – P. 130–138.
10. *Денисов М.О., Дец С.М., Корольова Т.В. та ін.* Багатоканальне джерело випромінювання для флуоресцентної діагностики біотканин // *Вісн. НТУУ “КПІ”. Сер. Приладобудування*. – 2002. – № 24. – С. 129–133.
11. *Denisov N.A.* Comparison of competing fiber optic probes for tissue fluorescence analysis // *SPIE Proc.* – 2000. – **4161**. – P. 234–243.
12. *Денисов М.О., Коваленко Л.А., Редчук О.О. та ін.* Волоконно-оптичний спектрометр “БЮСКОП” для клінічної діагностики // *Вісн. НТУУ “КПІ”. Сер. Приладобудування*. – 2005. – **30**. – С. 137–143.
13. www.oceanoptics.com
14. www.avantes.com
15. www.biospec.ru
16. *Ioffe A.Y., Sayenko V.F., Denisov N.A. et al.* Early diagnosis of gastric cancer with laser-induced fluorescence // *SPIE Proc.* – 1998. – **3567**. – P. 10–17.
17. *Захараш М.П., Іоффе О.Ю., Денисов М.О.* Використання фотодинамічної діагностики при неспецифічному виразковому коліті // *Журн. АМН України*. – 2005. – **11**, № 1. – С. 157–165.