

НЕИНВАЗИВНАЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ В СОВРЕМЕННОЙ РАДИОЛОГИИ: ВОПРОСЫ ТОЧНОСТИ И ИНФОРМАТИВНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Рогаткин Д.А., Быченков О.А., Поляков П.Ю.
МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, rogatkin@monikiweb.ru

Современная радиология располагает очень небольшим набором методов и средств для индивидуального прогноза эффективности лучевого лечения опухолей. Одним из наиболее перспективных направлений медицинской физики в этом плане является неинвазивная медицинская спектрофотометрия (НМС). Результаты проводимых исследований показывают, что с помощью НМС потенциально можно ставить задачи динамической оценки кислородного статуса опухоли, прогноза ее радиорезистентности, оценки пролиферативной клеточной активности в различных участках новообразований до и в процессе курса радиотерапии и т.д. Точность и информативность спектрофотометрических исследований во многом определяются совокупностью используемых диагностических технологий и возможностью формирования интегральной диагностической концепции по результатам анализа данных отдельных методов и приборов. Часто наблюдаемый разброс в результатах единичных измерений во многом связан не с приборной погрешностью, а с живым и изменчивым характером объекта диагностики.

Подавляющее большинство последних достижений в современной медицине связано с внедрением в практику здравоохранения новых, сложных и наукоемких инновационных технологий, основанных на передовых достижениях микроэлектроники, оптики, компьютерной и лазерной техники и т.д. Одной из таких технологий является *неинвазивная медицинская спектрофотометрия* (НМС) [5]. Она базируется на факте зависимости интегральных оптических свойств биологических тканей и жидкостей от их функционального и патофизиологического состояний. Оптические свойства большинства биотканей различаются для состояний нормы, травмы или патологии различного генеза, что открывает возможность оценивать их клиническое состояние на основе *in vivo* измерений их спектральных коэффициентов поглощения, рассеяния, люминесценции и т.п. В свою очередь, сами спектральные оптические свойства биотканей зависят от оптических свойств наполняющих ткань биохимических составляющих (гемоглобина и оксигемоглобина крови, воды, жира, меланина) и их общего процентного содержания в зоне обследования. Т.е. методы НМС через интегральные оптические свойства биотканей реализуют принцип косвенных измерений их биохимического состава, а также его прижизненной динамики в зоне обследования во времени [4, 5].

Такой принцип и предмет исследований *in vivo* может быть востребован сегодня во многих областях медицины, и, в частности, в радиологии. Современная радиология располагает очень небольшим набором методов и средств индивидуализации прогноза эффективности лучевого лечения опухолей, количественной оценки кислородного статуса опухоли, визуализации и объективизации *in situ* процессов пролиферативной клеточной активности и т.п. Методы же НМС в той или иной степени потенциально могут быть использованы для решения любой из указанных выше задач [1-5 и др.].

В своих исследованиях мы используем методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД) и оптической тканевой оксиметрии (ОТО) для фонового наблюдения за пациентами, проходящими курс лучевой и сочетанной химиолучевой терапии по поводу злокачественных новообразований кожи и орофарингеальной зоны. Основной целью клинических исследований является определение информативности методов НМС для решения задач индивидуального прогноза и мониторинга эффективности лучевого лечения онкологических больных. Параллельно ставятся и задачи медицинской физики по оценке точности и воспроизводимости результатов отдельных измерений с целью развития методического обеспечения НМС и создания научно обоснованных практических методик диагностики, обладающих наибольшей достоверностью и метрологической надежностью.

При использовании методов ЛФД основным диагностическим критерием в наших исследованиях является коэффициент флюоресцентной контрастности биоткани в разных спектральных диапазонах длин волн [6]:

$$K_f = 1 + (I_f \cdot \beta - I_{bs}) / (I_f \cdot \beta + I_{bs}) \quad (1)$$

где: K_f – коэффициент флюоресцентной контрастности биоткани ($0 < K_f < 2$); I_f – амплитуда регистрируемого сигнала в максимуме спектра флюоресценции; I_{bs} – то же в максимуме спектра обратного рассеяния; β – приборный коэффициент ($\beta \approx 1000$ для длины волны возбуждения 632 нм).

Ранее в [6] нами было показано, что оценка K_f при единичных измерениях на образцах светорассеивающих эталонов (не биологических) может быть выполнена с погрешностью не более 4-5%, однако при переходе к измерениям *in vivo* в клинике случайная погрешность измерений возрастает до 8-10% для здоровых (интактных) тканей и до 30-35% для участков с опухолевой патологией. Поэтому в данных исследованиях в целях минимизации случайных погрешностей был применен метод усреднения выборки из 5-6 измерений по всей видимой поверхности опухоли. Оценивался K_f опухолей полости рта в области флюоресценции эндогенных порфиринов (640-710 нм) и флавиновых дыхательных ферментов (510-540 нм) до начала курса лучевой терапии (ЛТ) с целью поиска корреляции начальных K_f с эффективностью ЛТ. Параллельно изучался неоднозначный пока вопрос медицинской интерпретации повышенных значений K_f опухоли для эндогенных порфиринов [2]. Результаты исследований на выборке из 20 онкобольных и 20 человек контрольной группы представлены в таблице:

		Количество наблюдений	Начальный (до начала курса ЛТ) K_f			
			Флавины, интактная ткань	Порфирины, интактная ткань	Флавины, опухоль	Порфирины, опухоль
Группа контроля		20	0,52± 0,23	0,10± 0,06	-	-
Исследуемая группа	Непосредственный положительный результат ЛТ	14	0,50± 0,21	0,16± 0,09	0,43± 0,20	0,25± 0,13
	Отсутствие явного положительного результата ЛТ	6	0,51± 0,25	0,18± 0,15	0,12± 0,09	0,78± 0,35

Одной из причин неудач современной ЛТ в онкологии является частое наличие в опухоли фракции радиорезистентных клеток, пониженная чувствительность которых к ионизирующему излучению вызвана недостаточным снабжением этих клеток кислородом. Полученные нами данные качественно подтверждают это. Известно, что кофакторы FAD и FMN (производные рибофлавина) ярко флюоресцируют в окисленном состоянии, а восстановленная их форма, например, FADH₂ практически не флюоресцирует [5]. Поэтому совокупные наши результаты по K_f опухолей для флавиновых и порфириновых молекул позволяют говорить о том, что флюоресценция эндогенных порфиринов в тканях также может быть интерпретирована в терминах гипоксии ткани [2].

В своих исследованиях мы попытались оценить и возможности НМС по прямой объективизации кислородного статуса опухолей на основе использования оптического оксиметра «Спектротест». Он может применяться для непосредственной регистрации показателей объемного кровенаполнения ($V_{кр}$) и средней артериовенозной сатурации (SO_2) оксигемоглобина крови микроциркуляторного русла опухоли [4]. Поскольку в зону обследования прибора попадает большое количество разных сосудов (капилляры, венулы, артериолы) с разной степенью оксигенации протекающей по ним крови, а потребление кислорода клетками ткани может оцениваться как разница между SO_2 венозной и артериальной крови, одним из вопросов является соотношение показаний прибора отдельно с венозной и артериальной сатурацией. Ответ на него был получен в [1] путем анализа степени кровенаполнения разных звеньев микроциркуляторного русла биотканей. Было показано, что показания оксиметра ближе к венозной сатурации и лишь незначительно (5-7%) превышают ее. Это открывает возможности оценивать потребление кислорода в опухоли непосредственно по результатам измерений средней SO_2 .

Пример. Больная Л., 1929г.р., диагноз: Базалиома кожи лица Пст., T2N0M0. Цитологически: базальноклеточный рак. Показатели прибора «Спектротест» перед началом курса ЛТ: а) интактная кожа $SO_2=88\%$, $V_{кр}=21\%$; край опухоли $SO_2=81\%$, $V_{кр}=21\%$; центр опухоли $SO_2=96\%$, $V_{кр}=59\%$.

Из представленного примера видно, что в центре опухоли объективно регистрировалось существенное снижение потребления кислорода по сравнению с интактной кожей и существенно повышенное $V_{кр}$. Т.е. с большой долей вероятности можно констатировать, что там наблюдалось стойкое снижение кровоснабжения, способствующее увеличению доли клеток в состоянии гипоксии. По краю же опухоли достоверных изменений в кровоснабжении, наоборот, выявлено не было, но отмечалось более высокое потребление кислорода. Это позволило сделать предположительный вывод о повышенной активности пролиферативных клеточных процессов по краю опухоли.

Дополнительным и достаточно информативным параметром по нашим данным является параметр *удельного потребления кислорода* в тканях ($SO_{2уд}$):

$$SO_{2уд} = (100 - SO_2) / V_{кр} \cdot \quad (2)$$

Он условно характеризует удельное потребление O_2 на единицу объема циркулирующей в опухоли крови [1]. У разных наших пациентов наблюдалось разное значение этого параметра до начала курса лечения. В приведенном примере он составил: интактная кожа $SO_{2уд}=0.57$; край опухоли $SO_{2уд}=0.9$; центр опухоли $SO_{2уд}=0.07$, что еще более наглядно характеризует гипоксию в центре опухоли. Такие данные, видимо, могут являться показателями назначения пациенту различных радиосенсибилизаторов.

Разброс результатов единичных измерений для метода ОТО оценивался путем многократных замеров прибором «Спектротест» мгновенных значений $V_{кр}$ и SO_2 с выбранных участков биотканей. Также как и для метода ЛДФ, относительная погрешность в ОТО единичных измерений *in vivo* в клинике оказалась в диапазоне 10-30%. Однако возможности прибора «Спектротест» по непрерывной во времени записи показателей $V_{кр}$ и SO_2 с частотой выборки до 4 Гц, а также совместная запись показателей оксиметром «Спектротест» и лазерным доплеровским флоуметром «ЛАКК-01» (метод ЛДФ, параметр перфузии «М») позволили однозначно выявить один из источников возникновения этой «погрешности» - ритмичный и динамический характер процесса микроциркуляции крови в тканях. В качестве примера на рис. 1 и 2 приведены данные синхронной записи показателей SO_2 и М методами ОТО и ЛДФ соответственно.

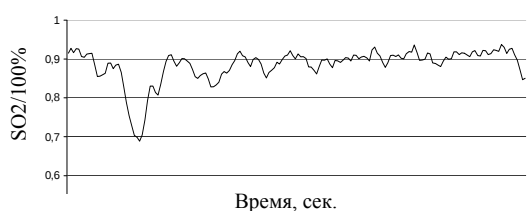


Рис. 1. Данные оптического оксиметра.

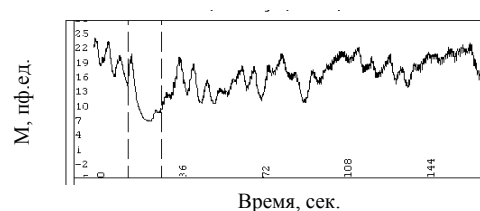


Рис. 2. Данные лазерной доплерографии.

Очевидно, что случайный разброс в мгновенных значениях SO_2 связан во многом с тем, что единичные измерения выполняются в разные моменты времени, которые случайно приходятся на максимумы или минимумы ритмов микрогемодинамики. Непрерывная же запись показателей не только позволяет реально увидеть этот «разброс», но и принципиально дает более глубокую информацию о протекающих физиологических процессах в системе микроциркуляции. При этом достоверность и воспроизводимость регистрации ритмов микрогемодинамики подтверждается независимой их записью одновременно двумя разными методами и приборами НМС.

В процессе курса ЛТ ритмы микроциркуляции крови в опухоли часто подавляются, а общая перфузия тканей кровью падает. Это происходит вследствие разрушения и стаза микрососудов опухоли под действием ионизирующего излучения (Рис. 3 и 4).

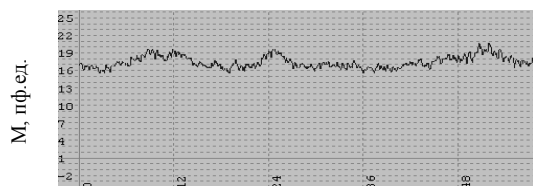


Рис. 3. Выраженные ритмы микроциркуляции.

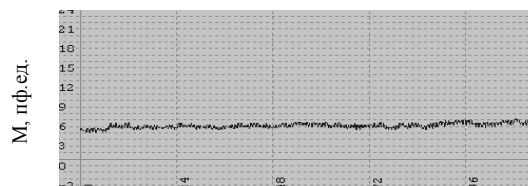


Рис. 4. Подавление ритмов микроциркуляции.

Если предположить достоверность всех полученных выше выводов, в том числе и по K_f эндогенных порфиринов в опухоли, можно попытаться на этой основе объяснить и полученные нами ранее данные по частому наблюдению падения K_f порфиринов в опухоли в ходе курса ЛТ [5]. Эффективное разрушение сосудистого русла опухоли приводит к ослаблению всех обменных процессов в клетках опухоли и, соответственно, к затруднению поступления к ним молекул порфирина с током крови.

Таким образом, сочетанное применение разных методов НМС позволяет потенциально формировать достаточно цельную и интегральную диагностическую концепцию, нивелирующую случайные погрешности единичных измерений. Сами же эти погрешности в НМС в большой степени связаны не с приборной случайной погрешностью измерений, а с живым и изменчивым характером объекта диагностики.

Представленная работа поддержана грантом РФФИ № 08-02-00769а.

1. Быченков О.А., Поляков П.Ю., Рогаткин Д.А. Методика оценки кислородного статуса поверхностных опухолей на основе данных неинвазивной оптической оксиметрии // Материалы 8-й междунар. Научно-техн. конференции «Измерение, контроль, информатизация» (ИКИ-2007) / Под ред. О.И.Хомутова и Л.И.Сучковой. – Барнаул, АГТУ им. И.И. Ползунова, 2007. – стр.153-155.
2. Горенков Р.В., Карпов В.Н. и др. Хроническая гипоксия как один из факторов повышенной флуоресценции эндогенных порфиринов в живых биотканях // Биофизика, т.52, № 4, 2007. – с.711-717.
3. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови // Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова – М.: Медицина, 2005. – 260с.
4. Рогаткин Д.А. Новые неинвазивные лазерные диагностические технологии в современной медицине // В сб. «Лазерные технологии в оториноларингологии» под. ред. В.Г.Зенгера и А.Н.Наседкина / Мат. научно-практической конф. оториноларингологов ЦФО РФ. – Тула: Изд-во «Триада», 2007. – с. 20-26.
5. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г. Перспективы развития неинвазивной спектрофотометрической диагностики в медицине // Медицинская техника, № 4, 2003. – с.31-36.
6. Рогаткин Д.А., Приснякова О.А., Моисеева Л.Г., Черкасов А.С. Анализ точности лазерной клинической флуоресцентной диагностики // Измерительная техника, №7, 1998. - стр.58-61.

NONINVASIVE SPECTROPHOTOMETRY IN THE MODERN RADIOLOGY: PROBLEMS OF ACCURACY AND INFORMATIVENESS OF DIAGNOSTIC RESULTS

Rogatkin D.A., Bychenkov O.A., Polyakov P. Yu.
MONIKI named after M.F.Vladimirskiy, roгатkin@monikiweb.ru

There are in the modern radiology only few methods and equipment for individual prognosis of a positive radiation therapy outcome in a case of malignant tumor. In that means one of the promising branches of the modern medical physics is the noninvasive medical spectrophotometry (NMS). Results of our carrying investigations show that potentially with the help of NMS there are possibilities to set tasks of dynamical evaluation of an oxygen status of a tumor, prognosis of a radiation resistance of a tumor, evaluation of proliferate cells' activity into different areas of tumors before and during radio-treatment course, etc. Both an accuracy and informativeness of the spectrophotometrical examination of patients are determined by a set of the used diagnostic methods as well as by possibilities of the forming an integral diagnostic conception on the base of the complex diagnostic data of different separated methods and apparatus. Frequently observed disperse in the results of single measurements is mainly associated not with the equipments' errors but with the changeable and alive character of the object of diagnostics in a total case. This study is supported by RFBR grant No. 08-02-00769a.