

ОПТИЧЕСКОЕ ПРИБОРОСТРОЕНИЕ

УДК 621.391.837.681.3]:[621 + 681:723

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА

В БЛИЖНЕМ ИНФРАКРАСНОМ ДИАПАЗОНЕ: АППАРАТУРА, ПРИМЕНЕНИЕ

© 2016 г. Г. В. Папаян, канд. техн. наук; А. Л. Акопов, доктор мед. наук

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

E-mail: pgarry@mail.ru

Распространение флуоресцентной диагностики в ближнюю инфракрасную область перспективно благодаря более глубокому проникновению этого излучения в биологические ткани, большему контрасту из-за отсутствия собственной флуоресценции ткани, возможности работы в светлых операционных помещениях, а также разработке новых препаратов, обладающих способностью специфически накапливаться в патологических очагах. Разработанная мультиспектральная система FLUM-808 обеспечивает возможность визуализации и проведения количественных оценок одновременно в свете инфракрасной флуоресценции и отраженном белом свете или до 4-х спектрально разделенных флуоресценций в диапазоне 410–950 нм. На примере исследований, проведенных на экспериментальных животных и при выполнении открытых, микрохирургических и эндоскопических операций с использованием в качестве инфракрасного флуоресцентного маркера препарата индоцианин зеленый, показаны возможности применения системы для решения актуальных медицинских задач: обнаружения злокачественных опухолей, метастазов и сторожевых лимфатических узлов при раке, визуализации кровеносной и лимфатической систем, желчных протоков.

Ключевые слова: флуоресцентная диагностика, ближний инфракрасный диапазон, индоцианин зеленый.

Коды OCIS: 170.0110, 170.6280

Поступила в редакцию 08.04.2016

Введение

Визуализация патологических процессов является одной из основ медицинской диагностики. В этом аспекте все большее внимание привлекает диагностика, основанная на флуоресценции, которая использует собственную флуоресценцию тканей (автофлуоресценцию), позволяет визуализировать степень ишемии миокарда [1], оценивать возрастные изменения кожи [2], обнаруживать злокачественные опухоли, в том числе на ранних стадиях [3–7]. Точное определение зон преимущественного накопления в организме различных экзогенных фотосенсибилизаторов позволяет развивать тераностический подход, при котором флуоресцентная диагностика совмещается с фотодинамической терапией [8, 9].

Флуоресцентная визуализация в ближней инфракрасной (ИК) области спектра характеризуется целым рядом преимуществ, прежде всего большей глубиной проникновения, слабой зависимостью от окружающего света, более высоким контрастом благодаря отсутствию собственной флуоресценции тканей. Для этого в организм пациента необходимо ввести специальный краситель, флуоресцирующий в ИК области. В настоящее время единственным разрешенным препаратом для клинического применения является индоцианин зеленый (ИЦЗ). Инфракрасная флуоресценция ИЦЗ широко используется в сердечно-сосудистой хирургии, в пластической и реконструктивной хирургии, хирургии головы и шеи, офтальмологии, получает все большее распространение в онкологии для определения границ опухолевого роста

и поиска метастазов [10–14]. Этот диагностический метод нередко сочетается с лечебным этапом, включающим открытую и эндоскопическую хирургию, микрохиргию, фотодинамическую терапию, фототермотерапию, химиотерапию. Наибольший прогресс в диагностике и лечении в ИК области ожидается при использовании наночастиц, которые снабжаются направляющими молекулами для их связывания с определенными мишенями [15–19].

Для визуализации в ИК области требуется специальная аппаратура. В настоящее время имеются коммерчески доступные системы, а также продолжаются работы над созданием экспериментальных образцов. Для работы с мелкими животными применяется мультиспектральная система визуализации *Caliper IVIS Lumina II* производства *Perkin Elmer* [20]. Спектральная селекция осуществляется набором полосовых интерференционных светофильтров, среди которых предусмотрены фильтры для работы с ИЦЗ. Из-за большого времени экспозиции, обусловленного слабой яркостью используемого источника возбуждающего излучения (галогенная лампа), изображения можно регистрировать только в виде фотографий, что неприемлемо для клинических условий.

Условиям клинического использования соответствует система *FLARE*, с помощью которой выполнен широкий круг исследований в области ИК флуоресцентной диагностики [21]. В выносной головке системы, которая подвешивается над операционным столом, расположены две монохромные телевизионные (ТВ) камеры и одна цветная. Там же находится комбинированный светодиодный осветитель, включающий светодиоды с длинами волн излучения 670 и 760 нм, предназначенные для возбуждения флуоресценции, и белые светодиоды для проведения обычного наблюдения. Спектральный состав излучений, воспринимаемых монохромными камерами, определяется двумя полосовыми фильтрами (689–725 и 800–848 нм). Разделение излучения по ТВ каналам осуществляется дихроичным светоделителем. Система может проводить одновременный захват всех трех изображений в режиме реального времени с разрешением 640×480 пикселей. При дистанции до объекта 45 см поле зрения, в зависимости от установленного фокусного расстояния объектива, составляет 2,2–15 см.

Светодиодное освещение применяется также в более компактных ручных приборах, разработанных для проведения ИЦЗ-мониторинга при

открытых операциях и амбулаторном осмотре – *PDE (Hamamatsu)* [22] и *HyperEye (Mizuho Medical Co. Ltd)* [23]. Габаритные размеры *HyperEye* – 102×188×102 мм, масса 0,5 кг. Для возбуждения ИК флуоресценции используют светодиоды, излучающие в диапазоне 690–780 нм. Поле зрения – 10–13 см при дистанции до объекта наблюдения 12–20 см. Приемником излучения служит сенсор ПЗС, созданный с использованием технологии *LOD*, позволяющий принимать изображения одновременно в видимой и ИК областях. С использованием светодиода одного освещения функционирует также ручной прибор *Quest Spectrum™ Platform (Quest Medical Imaging, Netherlands)*, в котором для спектральной селекции используется система цветоделительных призм, обеспечивающих работу трехматричной камеры [24]. В системе *SPY (Novadaq Tech, Canada)*, предназначенной для открытых операций, ИК возбуждение проводится матрицей лазерных диодов (806 нм), освещающих поле 18,5×13,5 см². Для приема используется только черно-белая камера с разрешением 750×480 пикселей. Изображение рассматривается на экране в процессе видеозаписи, длящейся от 0,5 до 4,5 мин [25]. Эта же компания выпускает системы для лапароскопической хирургии и для оснащения эндохирургического роботизированного комплекса *da Vinci*.

Комбинация из стандартного ксенонового осветителя и обычной цветной ТВ камеры с переключаемыми ИК фильтрами применяется при флуоресцентной ангиографии в специализированных операционных микроскопах для нейрохирургии *Leica FL800* и *ZEISS OPMI PENTERO 800*, а также в видеоэндоскопической стойке фирмы “*Karl Storz*”. Наблюдать флуоресцентные и обычные изображения в этом случае можно только порознь.

Особенность современного этапа ИК флуоресцентной диагностики определяется тем, что разрешенный для применения препарат ИЦЗ еще недостаточно совершенен в отношении специфичности как диагностический агент и малоэффективен как фотосенсибилизатор, а новые более совершенные препараты находятся в разработке. На стадии становления метода особенно желательно, чтобы аппаратура для его реализации наряду с высокими техническими характеристиками обладала определенной универсальностью и гибкостью, что позволит решать разнообразные текущие задачи экспериментальной и клинической медицины.

Этим условиям отвечает ориентированный на проведение широкого круга исследований описываемый в данной статье многофункциональный комплекс FLUM-808. На примерах исследований, выполненных с помощью этого комплекса, демонстрируются возможности решения ряда актуальных медицинских задач методом ИК флуоресцентной диагностики.

Мультиспектральный флуоресцентный органоскоп FLUM-808

Комплекс “FLUM-808” пополнил ряд ранее созданных моделей мультиспектральных флуоресцентных органоскопов семейства FLUM [26].

Комплекс позволяет проводить исследования как в экспериментах на животных, так и в клинической практике – в амбулаторных условиях и при выполнении открытых и эндоскопических операций, позволяет отображать на одном экране ИК изображение одновременно с обычным изображением в белом свете с возможностью выбора врачом способа отображения, наиболее соответствующего особенностям текущей задачи. Технические характеристики комплекса приведены в таблице.

Технические характеристики FLUM-808 (комплектация МАКРО)

Характеристика	Значение
Поле зрения, см	5×5 (фокусное расстояние 25 мм на дистанции 25 см)
Разрешение, пиксел	960×960
Кадровая частота, Гц	25
Канал связи	USB-3
Спектральные каналы, нм	B (410–500), G (490–585), R (575–730), ИК (820–950)
Освещение белым светом	металлогалогенная лампа, светодиодный светильник
Возбуждение флуоресценции	УФ-металлогалогенная лампа с фильтром 390 нм, ИК диодный лазер 808 нм (5 Вт)
Режимы отображения кадров в ИК и видимом диапазонах	расположение рядом, наложение друг на друга, ИК мигание
Измерения	в зоне интереса по 4 спектральным каналам. Калибровка по образцу сравнения.
Габариты, мм	60×70×120
Масса, г	200

“FLUM-808” способен количественно оценивать яркость флуоресценции с использованием образца сравнения, применять несколько флуоресцентных красителей, излучающих в различных спектральных участках ИК и видимого диапазонов, осуществлять фотодинамическое воздействие с одновременным контролем эффективности облучения по степени фотовыгорания.

Эти свойства определяются двумя ключевыми устройствами комплекса, обеспечивающими одновременную его работу в видимом и ближнем ИК диапазонах – 2-х чиповой телевизионно-компьютерной системой и лазерно-ламповой системой освещения. Они работают на принципах, изложенных в соответствующих патентных материалах [27, 28].

Блок-схема FLUM-808 приведена на рис. 1. Изображение объекта (исследуемый участок биологической ткани) 1 с помощью оптической системы 2 прибора 3 поступает в ТВ камеру 4 и далее в компьютер 5. В качестве прибора применяются телевизионный объектив, операционный

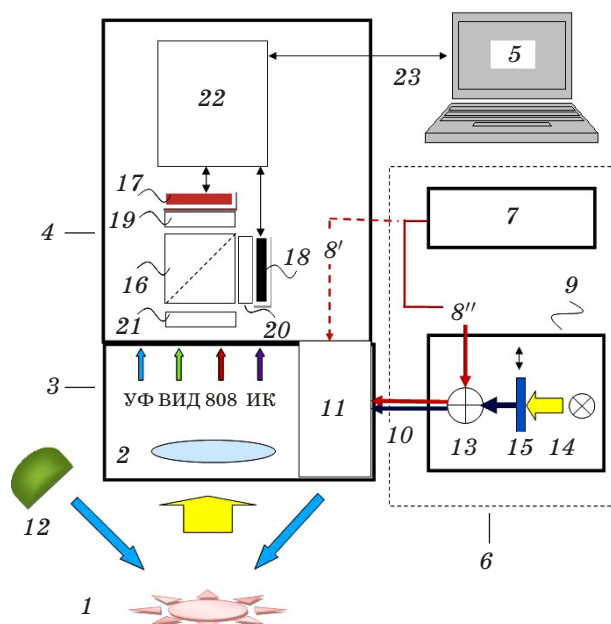


Рис. 1. Блок-схема комплекса FLUM-808 (подробные пояснения в тексте). Объект – 1, изображающая оптическая система – 2, прибор – 3 (ВИД – видимый диапазон спектра), ТВ камера – 4, компьютер – 5, осветительная система – 6, лазерный аппарат – 7, оптоволоконный кабель – 8, ламповый осветитель – 9, световодный кабель – 10, осветительный канал – 11, внешний светильник – 12, сумматор излучений – 13, лампа – 14, переключатель светофильтров – 15, дихроичная призма – 16, “цветной” сенсор – 17, “черно-белый” сенсор – 18, световодные фильтры – 19, 20, 21, видеопроцессор – 22, кабель – 23 (USB-3).

микроскоп общего или специального назначения, например для микрохирургии, жесткий эндоскоп необходимого типа (лапароскоп, тораоскоп, артроскоп и др.). Освещение исследуемого объекта белым светом и возбуждающим флуоресценцию излучением проводится комбинированной осветительной системой 6, включающей лазерный аппарат 7 с оптоволоконным кабелем для вывода лазерного излучения 8 и ламповый осветитель 9 с выводом комбинированного излучения через световодный кабель 10, присоединяемый к осветительному каналу 11 оптического прибора 3. Функцию освещения белым светом может выполнять внешний светильник 12. Комплект устройств, используемых для освещения объекта и формирования его изображения в каждом конкретном случае, зависит от особенностей объекта и методики его исследования.

Возможны следующие варианты.

“Макро” – изображение образуется обычным ТВ объективом с увеличением, обеспечивающим наблюдение нужного поля зрения на заданной дистанции. Этот вариант применяется при выполнении открытых операций, а также при проведении экспериментальных исследований на животных или при наружном осмотре во время амбулаторного обследования. Возбуждение ИК флуоресценции излучением длиной волны 808 нм осуществляется диодным лазером 7 через оптоволоконный кабель 8', подключаемый к световодному каналу ТВ камеры 4. При использовании наружного освещения должна отсутствовать ИК компонента. Для этих целей могут подойти операционная лампа на светодиодах или имеющиеся в помещении люминесцентные лампы.

“Микро” – изображение формируется с помощью операционного микроскопа. В этом случае для освещения применяется комбинированная лазерно-ламповая система, которая строится на основе специализированного лампового осветителя 9, имеющего сумматор излучений 13 от лампы 14 и лазера 7. Такое устройство (волоконный сумматор) есть в осветителе ОРЛ (НПК “ВОЛО”, Санкт-Петербург) и в осветителе, входящем в комплекс для флуоресцентной кольпоскопии [29] (сумматор на интерференционном светофильтре). Смешанное излучение подводится к осветительному порту операционного микроскопа по кабелю 10, представляющему собой жидкостный световод. В зависимости от положения переключателя светофильтров 15

освещение объекта проводится возбуждающим излучением или белым светом.

“Эндо” – изображение формируется с помощью телескопической системы какого-либо жесткого эндоскопа. Эндоскопическому применению благоприятствует небольшой размер камерной головки 4, которая подключается к эндоскопу через оптический адаптер вместо стандартной камеры. В этом случае, как и в варианте “Микро”, освещение может осуществляться с помощью комбинированной лазерно-ламповой системы 6 и осветительного канала эндоскопа, либо освещение лазером происходит с помощью волоконного световода, устанавливаемого в инструментальном канале эндоскопа, а для освещения белым светом используется его собственный осветитель. Проводить возбуждение ультрафиолетом (УФ) и излучением с длиной волны 808 нм можно как порознь, так и совместно. Последнее позволяет исследовать видимую и ИК флуоресценцию одновременно.

Спектральный состав поступающих в ТВ камеру 4 излучений может включать набор компонент, имеющих различную природу. Среди них излучение в спектральной полосе 350–400 нм является паразитным, возникающим в результате отражения от объекта УФ-лучей при возбуждении видимой флуоресценции. Излучение в интервале 400–750 нм – это отраженный объектом видимый свет при проведении обычного наблюдения либо флуоресцентное излучение объекта в видимой области. Паразитное излучение на длине волны 808 нм возникает в результате отражения от объекта лазерных лучей при возбуждении ИК флуоресценции. Излучения с длинами волн более 810 нм – ИК флуоресценция объекта при возбуждении излучением 808 нм.

Задача оптического модуля камеры 4 состоит в пространственном разделении излучения по двум направлениям – видимый и ИК диапазоны, в которых работают соответствующие ТВ сенсоры, и в подавлении паразитных излучений. Пространственное разделение реализуется с помощью дихроичной призмы 16, пропускающей видимое излучение на “цветной” сенсор 17 и отражающей ИК излучение на “черно-белый” сенсор 18. Вторая – с помощью светофильтров 19, 20 и 21. Светофильтр 19 предназначен для отсечки ИК излучения, а 20 – для блокирования видимого света и излучения с длиной волны 808 нм. Светофильтр 21 служит барьером для УФ-лучей. Спектральные кривые

указанных светофильтров, а также паразитные спектральные компоненты приведены на рис. 2. Для компенсации хроматизма изображающей оптической системы 2 сенсоры 17 и 18 располагаются на различном расстоянии. Они идентичны между собой с той разницей, что в “цветном” сенсоре 17 имеется матричный светофильтр RGB, позволяющий сформировать в видимой области три спектральных канала: В (410–500 нм), G (490–585 нм) и R (575–730 нм). Спектральная чувствительность четвертого (ИК) канала лежит в пределах 820–950 нм: коротковолновая граница определяется фильтром 20, а длинноволновая – краем чувствительности в ИК области используемого приемника ПЗС. В результате указанной селективности камера 4 позволяет проводить мульти-спектральную регистрацию изображений одновременно в четырех спектральных каналах, включающих видимую и ИК области спектра (рис. 2).

Видеопроцессор 21 телевизионной камеры 4 выполняет обработку сигналов от обоих сенсоров и управляет их работой. Он обеспечивает независимую регулировку чувствительности цветного и черно-белого каналов путем изменения времени экспозиции и коэффициентов усиления в ручном и автоматическом режимах. Оцифрованные кадры поступают по кабелю 22 (USB-3) в компьютер 5, осуществляющий их обработку и отображение на мониторе в виде комбинированных изображений в видимом и ИК диапазонах. С его помощью проводится управление работой ТВ камеры, цифровая регистрация фото- и видеоизображений, количественные оценки сигналов в зоне интереса в каждом из 4-х спектральных каналов отдельно.

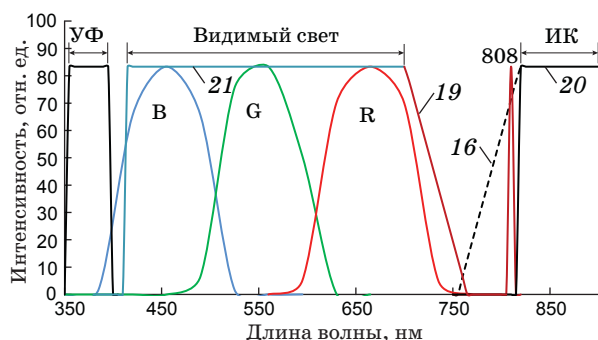


Рис. 2. Спектральная характеристика системы FLUM-808 при флуоресцентных исследованиях. Цифрами обозначены спектральные кривые, соответствующие оптическим элементам схемы рис. 1.

Отображение ИК флуоресценции

Наблюдать картину распределения флуоресцирующего агента в исследуемом органе, не видя его в обычном свете, чаще всего недостаточно, поскольку это затрудняет идентификацию места его сосредоточения. Для анатомической привязки в системе FLUM-808 предусмотрено три способа одновременного отображения монохромного и цветного кадров, из которых врач в зависимости от сюжета и решаемой задачи выбирает наиболее подходящий [28].

В первом способе формируются парные кадры, которые располагаются рядом друг с другом. Такое отображение обеспечивает наилучшие условия наблюдения каждого из них. Трудности в этом случае возникают при попытке точной привязки зон повышенной флуоресценции к определенным структурным элементам, поскольку обе картины находятся на некотором расстоянии друг относительно друга.

Этого недостатка лишен второй способ, при котором кадр с ИК изображением накладывается на кадр, полученный в видимом свете. Для того чтобы ИК изображение можно было отличить от полученного в видимом свете, проводится его представление в псевдоцвете. Применение синего цвета обеспечивает наиболее высокий цветовой контраст благодаря тому, что этот цвет слабо представлен в живой биологической ткани.

Встречаются сюжеты, на которых флуоресцирующие участки малы. Их можно не заметить особенно при эндоскопическом обследовании, когда быстро меняются поля зрения. В этом случае применяется третий способ, использующий особенность глаза реагировать, прежде всего, на быстрые изменения в наблюдаемой картине. Для реализации этого способа лазер переводится в импульсно-периодический режим с частотой 1–2 Гц. Возникающий эффект мигания заметно облегчает обнаружение зон повышенной ИК флуоресценции.

Измерения ИК флуоресценции

Необходимость измерений ИК флуоресценции возникает при различных диагностических задачах: обнаружении сторожевых лимфатических узлов, оценке эффективности накопления препарата, дозиметрии при фотодинамическом облучении и др. Проблема таких измерений состоит в зависимости сигнала от многих параметров системы, которые от эксперимента к эксперименту

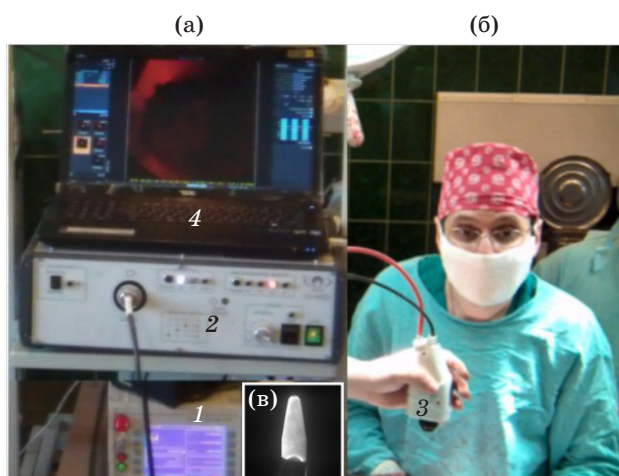


Рис. 3. Внешний вид системы FLUM-808 при открытой торакальной операции (а, б). 1 – лазерный аппарат (808 нм, 9 Вт) с оптоволоконным выводом излучения, 2 – ламповый осветитель, 3 – камера, 4 – компьютер. (в) – изображение образца сравнения в свете ИК флуоресценции.

могут неконтролируемо изменяться. Для их учета нужен образец сравнения, по которому время от времени система калибруется. Таким образцом в описываемых исследованиях служит фотосенсибилизатор ИЦЗ, растворенный в 20-процентном растворе альбумина; концентрация ИЦЗ 2,5 мг/мл. Получаемый конъюгат обладает высокой яркостью флуоресценции, превышающей в 180 раз флуоресценцию исходного водного раствора ИЦЗ, а также высокой стабильностью во времени при условии его хранения в холодильнике.

Внешний вид системы FLUM-808 при проведении открытой операции представлен на рис. 3.

Примеры исследований

Обнаружение сторожевых лимфатических узлов

Сторожевыми лимфатическими узлами (СЛУ) называются узлы, которые являются первыми на пути лимфогенного метастазирования злокачественных опухолей. Поэтому, если в СЛУ опухолевые клетки (метастазы) не обнаружены, то можно обойтись без тотального удаления регионарного лимфатического аппарата вокруг злокачественной опухоли (лимфодиссекции), что при многих формах онкологических заболеваний практикуется сейчас повсеместно, заметно удлиняя операцию и повышая частоту послеоперационных осложнений. Поэтому в настоящее время

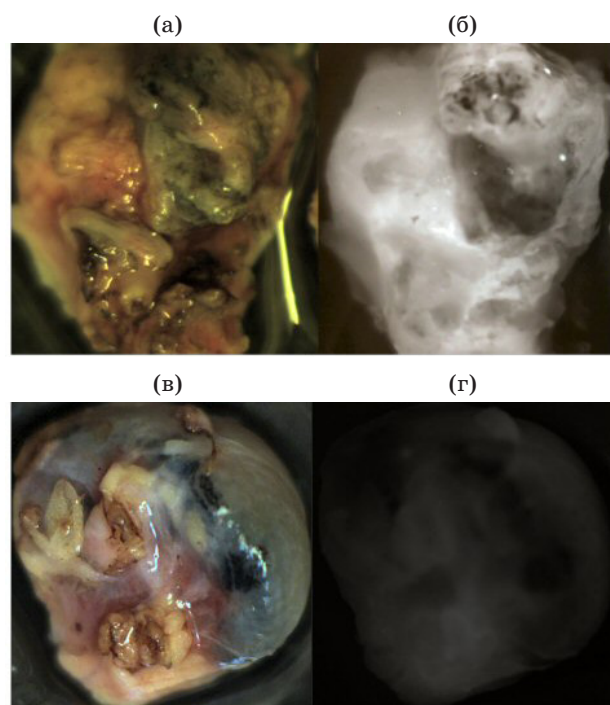


Рис. 4. Образцы двух лимфатических узлов (а, б – сторожевого, в, г – несторожевого), полученные при выполнении операции по поводу рака легкого, в белом свете (а, в), в свете ИК флуоресценции (б, г).

при некоторых злокачественных опухолях проводятся исследования по отработке методов надежного и эффективного интраоперационного картирования СЛУ. Золотым стандартом считается радиоактивный метод. В клинике национального университета Сеула проводилось его сравнение с методом ИЦЗ-флуоресценции при эндовидеохирургических операциях по поводу рака желудка [30]. Флуоресцентный метод позволил обнаружить на 17% больше СЛУ и оказался существенно более простым в использовании.

В клинике ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова с помощью FLUM-808 проводятся систематические исследования по картированию СЛУ при раке легкого [31–34]. Вид двух образцов лимфатических узлов – сторожевого и не сторожевого, в белом свете и свете ИК флуоресценции после обкалывания опухоли раствором ИЦЗ приведен на рис. 4. Видно, что их можно различить только по наличию ИЦЗ-флуоресценции.

Визуализация сосудистого русла

Визуализация сосудистой системы при выполнении операций позволяет хирургу подтвердить герметичность сосудистых анастомозов,

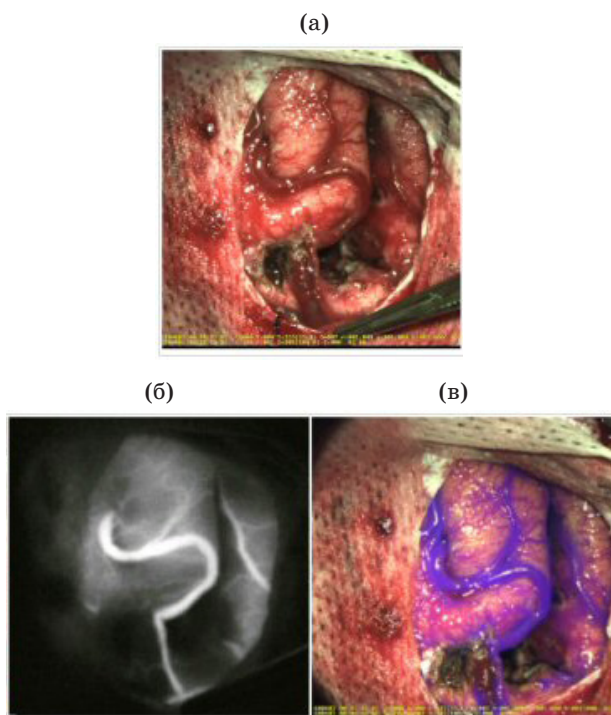


Рис. 5. Интраоперационные картины сосудов головного мозга в белом свете (а), в свете ИК флуоресценции (б), при использовании в совмещенном кадре синей раскраски для визуализации ИК изображения (в).

выявить дефекты наполнения, участки стенозирования или расширения.

Вид получаемых с помощью FLUM-808 изображений кровеносных сосудов при выполнении операции на сосудах головного мозга в клинике нейрохирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова приведен на рис. 5. Они демонстрируют возможность одновременной визуализации картин в видимом и ИК диапазонах спектра при их представлении кадрами, расположенными рядом, или наложенными друг на друга с использованием синего цвета для выделения структур, обладающих повышенной ИК флуоресценцией.

Визуализация желчных протоков

Возможность визуализации желчных протоков демонстрирует рис. 6. Желчные протоки обычно окружены жировой клетчаткой, без удаления которой точно локализовать протоки и оценить их проходимость невооруженным глазом не представляется возможным. Метод ИК флуоресценции позволяет определить проходимость протоковой системы даже без визуа-

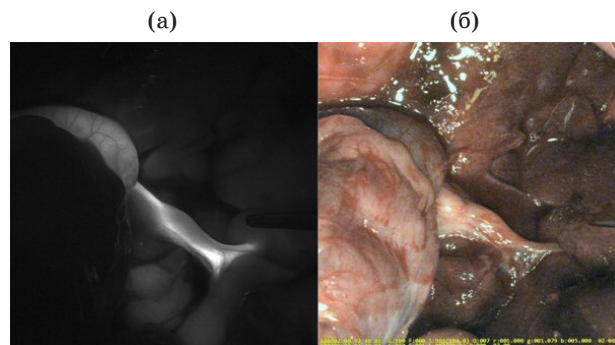


Рис. 6. ИК визуализация (а) и изображение, полученное в видимом свете (б), общего желчного протока кролика.

лизации самих протоков в обычном свете, установить зоны наличия возможных препятствий току желчи.

Визуализация опухолей

Несмотря на успехи клинической хирургии, до настоящего времени не всегда удается точно визуализировать патологические структуры, которые нужно удалить во время операции или которые следует сохранить. Хирург традиционно ориентируется на результаты визуального осмотра и пальпации, хотя развитие малоинвазивных подходов все больше лимитирует информативность тактильной чувствительности. Современные тенденции в хирургии требуют внедрения объективных критериев определения границ опухолевого и иного патологического процесса.

Возможность ИК флуоресцентной диагностики злокачественных новообразований проверялась в клинических условиях при выполнении операций по поводу вторичной опухоли плевры, вызванной метастазом рака почки. Исследования проводились при выполнении миниинвазивной операции с использованием системы FLUM-808, подключенной к торакоскопу. На photographиях, представленных на рис. 7а, б, в свете ИЦЗ-флуоресценции (рис. 7а) отчетливо видна зона метастаза, мало отличимая в обычном свете (рис. 7б) от нормальной ткани.

Детали ИК флуоресцентной диагностики отработывались в эксперименте на модели лимфосаркомы Плисса [9, 35]. В качестве маркера использовали водный раствор ИЦЗ и его конъюгат с альбумином. Эксперименты показали, что с помощью ИЦЗ можно обнаружить патологический очаг в самые ранние сроки, когда другие методы его не обнаруживают.

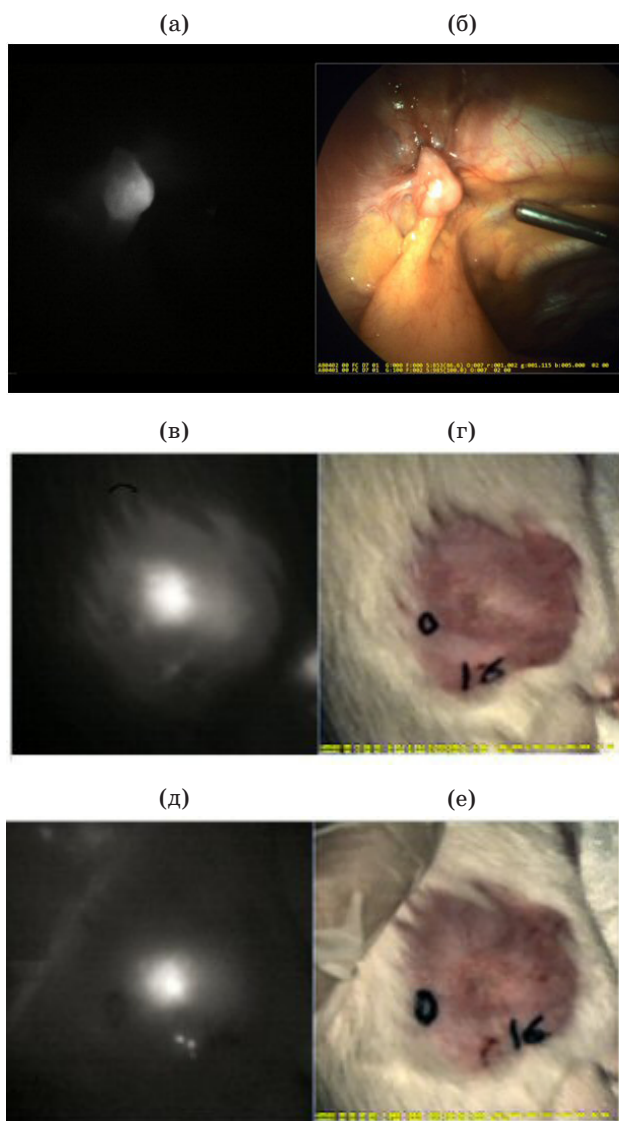


Рис. 7. Парные фотографии (в свете ИК флуоресценции – а, в, д, в белом свете – б, г, е) результатов визуализация опухолевого участка: метастаз рака почки в плевру (а, б), экспериментальная модель лимфосаркомы в свете ИК флуоресценции (в) – через 1 час после введения ИЦЗ и через 24 часа после введения ИЦЗ (д).

Визуализация происходит с высоким диагностическим контрастом, причем в случае конъюгата контраст на следующие сутки после введения был почти вдвое выше водного раствора ИЦЗ (рис. 7в, д). Этот эффект наблюдается на фоне снижения яркости флуоресценции здоровой ткани, что может объясняться разной скоростью выведения конъюгата ИЦЗ – из здоровой ткани происходит более интенсивное вымывание препарата, чем из опухолевой. Аналогичный результат был получен при асептическом воспалении.

Для выявления особенностей накопления ИЦЗ в очаге лимфосаркомы одновременно с рас-

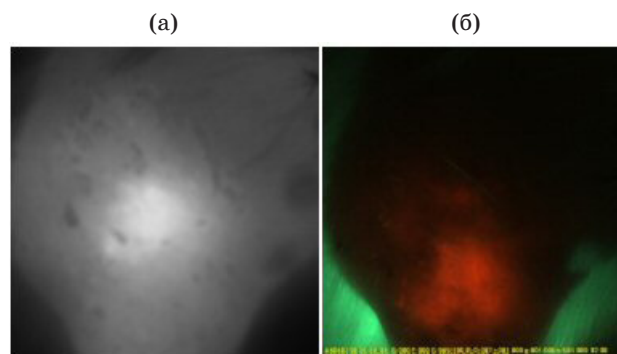


Рис. 8. Изображения одного и того же участка лимфосаркомы Плисса через 2,5 часа после введения в кровь фотосенсибилизаторов: а – в свете флуоресценции ИЦЗ, б – в свете хлорофилловой флуоресценции.

твором ИЦЗ животному вводили производное хлорина Е6 (радахлорин). Радахлорин является широко распространенным фотосенсибилизатором и используется с целью фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики благодаря тропности к опухолевой ткани. На рис. 8 приведены изображения одного и того же участка опухоли, полученные одновременно в свете ИЦЗ-флуоресценции (рис. 8а) и хлорофилловой флуоресценции (рис. 8б). Сопоставление этих изображений показывает, что области максимального свечения опухолевого узла при использовании обоих маркеров не совпадают, что может свидетельствовать о различии механизмов накопления красителей в опухоли.

Заключение

Распространение флуоресцентной диагностики в ИК область привлекает все большее внимание исследователей благодаря принципиальным преимуществам этого подхода. Для проведения широкого круга исследований разработан многофункциональный комплекс FLUM-808, обеспечивающий возможность визуализации ИК флуоресценции и измерение ее интенсивности одновременно с наблюдением того же участка в белом свете при выполнении открытых, эндоскопических и микрохирургических операций, а также при амбулаторном обследовании и экспериментах на животных.

На примерах исследований, проведенных в экспериментальных и клинических условиях, показаны возможности флуоресцентной диагностики в ИК области для решения ряда актуальных медицинских задач. Полученный

опыт использования ИЦЗ может быть востребован при разработке новых флуоресцентных диагностических и тераностических подходов, основанных на применении более совершенных экзогенных флуорофоров и фотосенсибилизаторов.

Авторы выражают благодарность Д.П. Плохих, В.Б. Березину и С.А. Слободенюку за участие в разработке видеосистемы, а также доктору Kang Uk, В.М.Журбе, С.Е. Гончарову за предоставление оборудования для проведения исследований.

* * * * *

ЛИТЕРАТУРА

1. Papayan G., Petrishchev N., Galagudza M. Autofluorescence spectroscopy for NADH and flavoproteins redox state monitoring in the isolated rat heart subjected to ischemia-reperfusion // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2014. V. 11. № 3. P. 400–408.
2. Papayan G.V., Petrishchev N.N., Krylova E.V., Kang U., Kim S.V., Berezin V.B., Bae S.-J. Method of estimating the biological age of skin by means of a fluorescence multispectral video dermatoscope // J. Opt. Technol. 2010. V. 77. № 2. P. 126–131.
3. Папаян Г.В., Петрищев Н.Н., Ким С.В., Ким Н.Но., Березин В.Б., Канг Ук. Возможности мультиспектральной аутофлуоресцентной визуализации злокачественных опухолей // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2014. № 4. С. 3–12.
4. Акопов А.Л., Русанов А.А., Молодцова В.П., Герасин А.В., Казаков Н.В., Уртеннова М.А., Чистяков И.В. Рандомизированное исследование эффективности предоперационной фотодинамической терапии при исходно нерезектабельном (неоперабельном) немелкоклеточном раке легкого // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2013. Т. 172. № 1. С. 020–024.
5. Анохина Ю.Е., Гайдар Б.В., Мартынов Б.В., Алексеев Д.Е., Свистов Д.В., Папаян Г.В. Влияние объема хирургического вмешательства с применением интраоперационной флуоресцентной диагностики на течение послеоперационного периода у пациентов со злокачественными глиомами головного мозга // Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова. 2014. Т. VI. № 2. С. 22–27.
6. Акопов А.Л., Русанов А.А., Папаян Г.В., Казаков Н.В., Герасин А.В. Эндобронхиальная фотодинамическая терапия под флуоресцентным контролем: фотодинамическая тераностика // Актуальные проблемы лазерной медицины / Под ред. Петрищева Н.Н. Санкт-Петербург, 2016. С. 151–162.
7. Папаян Г.В., Петрищев Н.Н. Новые возможности флуоресцентной диагностики в эксперименте и в клинике // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. Специальный выпуск. 2015. С. 12.
8. Хачатурян А.Р., Папаян Г.В., Петрищев Н.Н. Флуоресцентный контроль фотодинамической терапии доброкачественных вирус-ассоциированных заболеваний шейки матки // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. № 5. С. 59–65.
9. Папаян Г.В., Петрищев Н.Н., Акопов А. Л., Чефу С.Г. Возможность фотодинамической тераностики в ближнем инфракрасном диапазоне с использованием смеси индоцианина зеленого с альбуминами // Актуальные проблемы лазерной медицины / Под ред. Петрищева Н.Н. Санкт-Петербург, 2016. С. 227–245.
10. Marshall M.V., Rasmussen J.C., Tan I.-C., Aldrich M.B., Adams K.E., Wang X., Fife C.E., Maus E.A., Smith L.A., Sevik-Muraca E.M. Near-infrared fluorescence imaging in humans with indocyanine green: A review and update // Open. Surg. Oncol. J. 2012. V. 2. № 2. P. 2–23.
11. Alander J.T., Kaartinen I., Laakso A., Pätälä T., Spillmann T., Tuchin V.V., Venermo M., Vlisuo P. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery // Int. J. Biomed. Imaging. 2012. Apr. № 22. P. 1–26.
12. Schaafsma B.E., Mieog J.S., Hutteman M., van der Vorst J.R., Kuppen P.J., Lwik C.W., Frangioni J.V., van de Velde C.J., Vahrmeijer A.L. The clinical use of indocyanine green as a near-infrared fluorescent contrast agent for image-guided oncologic surgery // J. Surg. Oncol. 2011. Sep. 1. V. 104. № 3. P. 323–332.
13. Mondal S.B., Gao S., Zhu N., Liang R., Gruev V., Achilefu S. Real-time fluorescence image-guided oncologic surgery // Adv. Cancer Res. 2014. V. 124. P. 171–211.
14. Giraudeau C., Moussaron A., Stallivieri A., Mordon S., Frochot C. Indocyanine green: Photosensitizer or chromophore? Still a debate // Current Medicinal Chemistry. 2014. V. 21. № 16. P. 1871–1897.
15. Gioux S., Choi H.S., Frangioni J.V. Image-guided surgery using invisible near-infrared light: Fundamentals of clinical translation // Molecular Imaging. 2010. V. 9. № 5. P. 237–255.

16. *Nguyen Q.T., Tsien R.Y.* Fluorescence-guided surgery with live molecular navigation – a new cutting edge // *Nat. Rev. Cancer*. 2013. V. 13. P. 653–662.
17. *Serebryakov V.A., Papayan G.V., Astahov Yu.S., Ovnanyan A.Ju.* Alternative approach to laser methods of treating vascular pathologies of the eye // *J. Opt. Technol.* 2014. V. 81. № 11. P. 631–655.
18. *Sheng Z., Hu D., Xue M.J., He M., Gong P., Cai L.* Indocyanine green nanoparticles for theranostic applications // *Nano-Micro. Lett.* 2013. V. 5. № 3. P. 145–150.
19. *Galagudza M.M., Korolev D.V., Sonin D.L., Postnov V.N., Papayan G.V., Uskov I.S., Belozertseva A.V., Shlyakhto E.V.* Targeted drug delivery to ischemic heart with use of nanoparticulate carries. Concept, pitfalls and perspective // *J. Manufacturing Technology Management*. 2010. V. 21. № 8. P. 930–949.
20. <http://www.perkinelmer.com/product/ivis-lumina-lt-inst-series-iii-120v-cls136331>
21. *Troyan S.L., Kianzad V., Gibbs-Strauss S.L., Gioux S., Matsui A., Oketokoun R., Ngo L., Khamene A., Azar F., Frangioni J.V.* The FLARE intraoperative near-infrared fluorescence imaging system: A first-in-human clinical trial in breast cancer sentinel lymph node mapping // *Ann. Surg. Oncol.* 2009. V. 16. № 10. P. 1–10.
22. <http://www.hamamatsu.com/jp/en/C9830.html>
23. *Yoshida M., Kubota K., Kuroda J., Ohta K., Nakamura T., Saito J., Kobayashi M., Sato T., Beck Y., Kitagawa Y., Kitajima M.* Indocyanine green injection for detecting sentinel nodes using color fluorescence camera in the laparoscopy-assisted gastrectomy // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012. Suppl. 3. P. 29–33.
24. <http://www.quest-mi.com/spectrum-overview>
25. *Gurtner G.C., Jones G.E., Neligan P.C., Newman M.I., Phillips B.T., Sacks J.M., Zenn M.R.* Intraoperative laser angiography using the SPY system: Review of the literature and recommendations for use // *Ann. Surg. Innov. Res.* 2013. V. 7. № 1. P. 1–14.
26. *Papayan G.V., Petrishchev N.N., Kang U., Berezin V.B., Bae S.-J., Kim S.V.* Multispectral fluorescence organscopes for *in vivo* studies of laboratory animals and their organs // *J. Opt. Technol.* 2011. V. 78. № 9. P. 523–628.
27. *Kang U., Papayan G.V.* Fluorescent endoscope system having improved image detection module // *US Patent № 7635330*. 2009.
28. *Kang U., Papayan G.V.* Apparatus and method for detecting NIR fluorescence at sentinel lymph node // *US Patent Application № 2015/0018690*. 2015.
29. *Kang U., Papayan G.V., Obukhova N.A., Bae S.-J., Lee D.S., Jung M.W., Berezin V.B., Motyko A.A., Plokhikh D.P., Slobodenyuk S.A.* System for fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of cervical disease // *J. Opt. Technol.* 2015. V. 82. № 12. P. 815–823.
30. *Papayan G., Berezin V., Jung M., Lee D., Kang U., Kim H., Ahn S.H., Kim S.* ICG fluorescent and radioisotope methods comparison for sentinel lymph nodes detection in gastric cancer surgery // *Abstr. 10th Intern. Gastric Cancer Congr., Verona, Italy*. 2013. P. 129.
31. *Акопов А.Л., Папаян Г.В., Чистяков И.В.* Интраоперационное определение сторожевых лимфатических узлов при раке легкого // *Вестник хирургии*. 2015. № 1. С. 96–102.
32. *Акопов А.Л., Папаян Г.В., Чистяков И.В., Карлсон А., Герасин А.В., Агишев А.С.* Интраоперационное определение сигнальных лимфатических узлов при помощи системы инфракрасной визуализации при местнораспространенном немелкоклеточном раке легкого // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2015. № 4. С. 13–17.
33. *Акопов А.Л., Папаян Г.В., Чистяков И.В.* Интраоперационное определение «сторожевых» лимфатических узлов при раке легкого // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2015. № 1. С. 96–102.
34. *Акопов А.Л., Папаян Г.В., Чистяков И.В., Ильин А.А., Карлсон А.* Интраоперационная флуоресцентная визуализация путей лимфооттока у больных раком легкого // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. Специальный выпуск*. 2015. С. 44.
35. *Папаян Г.В., Чефу С.Г., Петрищев Н.Н., Чистяков И.В., Ефимов А.Н., Ильин А.А., Акопов А.Л.* Возможность использования конъюгата индоцианина зеленого с белками для инфракрасной флуоресцентной диагностики патологических процессов в эксперименте // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. Специальный выпуск*. 2015. С. 11–12.