

Комплексное применение оптических методов для повышения информативности оптической когерентной томографии в диагностике неопластических процессов

Р.В.Куранов, В.В.Сапожникова, Н.М.Шахова, В.М.Геликонов, Е.В.Загайнова, С.А.Петрова

Предложено комплексное применение оптических методов (оптической когерентной томографии, кроссполяризационной оптической когерентной томографии (ОКТ) и флуоресцентной спектроскопии) для получения информации о морфологических и биохимических изменениях здоровых и патологически измененных тканей. Показана возможность дифференциации неопластических и рубцовых изменений пищевода при комплементарном применении кроссполяризационной и стандартной ОКТ за счет различия деполяризующих свойств тканей, что обусловлено структурными особенностями коллагеновых волокон стромы. Продемонстрирована перспективность комплексного применения ОКТ и флуоресцентной спектроскопии с использованием 5-аминолевулиновой кислоты для определения границ карциномы шейки матки и вульвы. Доказано, что оптически детектируемая граница опухолей совпадает с морфологической и простирается за пределы кольпоскопически определяемых границ в среднем на 2 мм.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, кроссполяризационная оптическая когерентная томография, флуоресцентная спектроскопия, аминокислота

1. Введение

В настоящее время оптические методы находят все более широкое клиническое применение для ранней диагностики неопластических процессов в тканях и многих других видов патологий [1–4]. Метод оптической когерентной томографии (ОКТ) является одним из перспективных неинвазивных методов ранней диагностики структурных изменений, связанных с патологическими процессами [5–7]. Физические измерения в ОКТ основаны на интерферометрии с широкополосными источниками излучения видимого или ближнего ИК диапазона. В ближнем ИК диапазоне ($0.83 \leq \lambda \leq 1.3$ мкм) биоткани, являясь оптически мутными средами, слабо поглощают излучение, но достаточно сильно его рассеивают. В оптическом когерентном томографе временная селекция нерассеянной или слабо рассеянной компоненты зондирующего излучения используется для извлечения информации об оптических неоднородностях исследуемой среды. Метод ОКТ позволяет получать двумерные изображения (томограммы) биотканей с разрешением 10–20 мкм и визуализировать внутреннюю структуру покровных тканей на глубине до 1–2 мм. Универсальность и компактность оптического томографа, наличие эндоскопических щупов дают возможность использовать его *in vivo* диагностике всех покровных тканей человека.

Анализ накопленных клинических данных по применению ОКТ показал, что разные морфологические структуры и слои тканей имеют разные оптические характеристики, что обусловлено их пространственной организацией и показателями преломления [8–10]. На томограм-

мах здоровые ткани визуализируются в виде слоев с четкими границами. Вследствие различий в рассеивающих свойствах эпителия и волокнистых соединительно-тканых структур ОКТ способна выявлять послойную архитектуру здоровых покровных тканей.

Известно, что сильными рассеивающими свойствами обладают мелкие округлые частицы (внутриклеточные структуры) и тонкие длинные компоненты (волокна). Способность сильно рассеивать падающее излучение присуща раковым и другим метаболически активным клеткам, которые отличаются высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, имеют утолщенную мембрану и богаты мелкими внутриклеточными органеллами [11]. Цитоплазма клеток слабее рассеивает свет, и практически не рассеивают падающее излучение внутритканевая жидкость и содержимое кровеносных сосудов. Используя эти свойства, можно диагностировать при помощи ОКТ протекающие в ткани патологические процессы, приводящие к изменению характеристик рассеяния.

Однако в некоторых случаях с помощью ОКТ трудно дифференцировать принципиально различные состояния, имеющие сходные томографические изображения, затрудняющие диагностику, – некроз, рак, папиломатоз и рубцовые изменения. В то же время при многих видах патологий нарушению структурности предшествуют биохимические и начальные морфологические изменения. Следовательно, информация об этих изменениях имеет важное диагностическое значение. Специфичность метода ОКТ может быть повышена за счет исследования поляризационных свойств зондирующего излучения при его прохождении через изучаемый объект.

Данный подход реализован в методе поляризационно-чувствительной ОКТ (ПЧ ОКТ) [10, 12–18]. Применение ПЧ ОКТ позволяет получить важную информацию о внутренней структуре биологических объектов,

что невозможно осуществить с помощью обычной ОКТ, например о глубине поражения при ожоге [12–14] и о деминерализации зубов [15, 16], а также провести раннюю диагностику остеоартрита [17]. Для ранней диагностики рака необходим уверенный прием оптического сигнала с глубины 400–700 мкм, на которой располагается базальная мембрана, а для надежного определения фазовых характеристик, таких как двулучепреломление среды, следует обеспечить достаточно большое отношение сигнал/шум (не менее 10–15 дБ), что затруднительно для слоев глубиной более 300–500 мкм [12, 16].

В предыдущих работах нами указывалась возможность проведения ранней диагностики с помощью варианта ПЧ ОКТ – метода кроссполяризационной ОКТ (КП ОКТ) [10, 19, 20]. Его подробный сравнительный анализ с другими методами ПЧ ОКТ можно найти в [10]. Метод КП ОКТ основан на выявлении способности биотканей рассеивать назад зондирующее излучение в ортогональной поляризации, что может быть связано как с их деполяризующими свойствами, так и с макроскопическим линейным двулучепреломлением, присущим некоторым биотканям [20]. Влиять на состояние поляризации могут, например, коллагены, составляющие основу стромальной ткани. Определить локализацию коллагеновых волокон и их ориентацию позволяет дополнительное гистохимическое исследование. По нашему мнению, совместное применение гистохимии и КП ОКТ позволяет лучше интерпретировать данные последнего.

Другой подход к повышению специфичности метода ОКТ заключается в его комплексном использовании с флуоресцентной спектроскопией (ФС), которая основана на различии спектральных характеристик патологических зон и здоровых участков ткани. Для повышения интенсивности свечения опухолей применяют экзогенные флуорофоры или индуцирующие флуоресценцию препараты (например, 5-аминолевулиновую кислоту, 5-ALA) [21]. Препарат 5-ALA при внутреннем применении индуцирует селективное накопление эндогенных порфиринов в раковых клетках, вызывая резкое усиление интенсивности флуоресценции опухолей по сравнению с нормальной тканью, в которой порфирины не накапливаются. Интенсивность флуоресцентного сигнала отражает степень накопления порфиринов опухолевыми клетками и, соответственно, злокачественность процесса.

Необходимо, однако, отметить, что порфирины накапливаются не только в злокачественных, но и в доброкачественных опухолях, а также в пролиферирующих тканях, т.е. во всех растущих популяциях клеток, что несколько снижает диагностическую информативность этого показателя. Следовательно, метод ФС имеет низкую специфичность в отношении дифференциации воспалительных и онкологических процессов. В то же время метод ОКТ хорошо визуализирует структурные изменения в тканях, а метод ФС дает интегральный показатель накопления протопорфиринов в них с глубины 1–2 мм. Таким образом, совместное использование этих методов повышает диагностическую точность при выявлении опухолевых заболеваний.

Целью настоящей работы является исследование возможностей использования комплексных методов оптической диагностики неопластических процессов. Для расширения возможностей ОКТ предлагается ее комбинированное использование с другими оптическими методами – КП ОКТ и флуоресцентной спектроскопией.

2. Комплексное применение стандартной ОКТ и КП ОКТ

Известно, что некоторые структурные единицы биологических объектов, например коллагены стромальной ткани, составляющей основу здоровой слизистой оболочки, способны сильно деполяризовать падающее излучение [22]. Различные по природе патологические процессы характеризуются как разным содержанием коллагеновых волокон, так и их разной пространственной организацией. Следовательно, сравнительное изучение деполяризующих свойств биологических объектов может быть положено в основу метода диагностики неопластического процесса. В работе [20] было показано, что сигнал на КП ОКТ-образцах патологически измененных тканей связан с их деполяризующими свойствами. Поскольку методом КП ОКТ исследовались только патологически измененные биоткани, далее не будем принимать во внимание то, что сигнал на КП ОКТ-образцах может быть связан также с макроскопическим линейным двулучепреломлением в исследуемых объектах. Для верификации как ОКТ-, так и КП ОКТ-образов нами проведен сравнительный анализ биопсийных образцов, полученных из одного места. Они были окрашены двумя различными методами – гематоксилин-эозином (для постановки общего диагноза) и техникой окрашивания соединительной ткани по Ван-Гизону, специфичной в отношении дифференциации коллагеновых волокон соединительной ткани [22].

Схема экспериментальной установки, используемой при исследовании биотканей методом КП ОКТ, приведена на рис.1. Низкокогерентное излучение от суперлюминесцентного диода 1 оптически совмещается с излучением полупроводникового красного лазера 2, используемого в юстировочных целях, на мультиплексоре 3. Далее с помощью контроллера поляризации Лефевра 4 запитывается одна из собственных осей анизотропного 3-децибельного волоконного делителя. Сохраняющее поляризацию волокно используется для транспортировки излучения с определенным состоянием поляризации как в сигнальном, так и в опорном плече. В случае, когда в опорном плече отсутствует фарадеевский вращатель 10, регистрируется недеполяризованная компонента

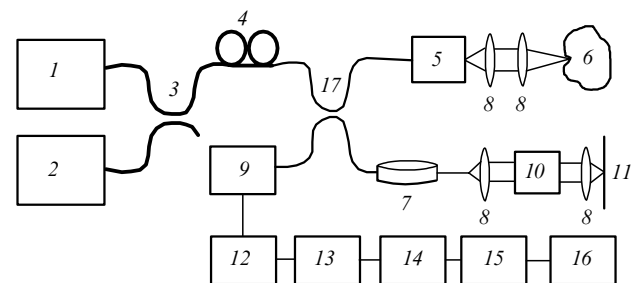


Рис.1. Экспериментальная установка для кроссполяризационной ОКТ:

1 – суперлюминесцентный диод; 2 – полупроводниковый лазер; 3 – мультиплексор; 4 – контроллер поляризации; 5 – поперечный сканер; 6 – исследуемый объект; 7 – сканер продольного хода; 8 – линзы; 9 – фотодиод; 10 – 45°-ный фарадеевский вращатель; 11 – глухое зеркало; 12 – селективный усилитель; 13 – логарифмический усилитель; 14 – амплитудный детектор; 15 – аналого-цифровой преобразователь; 16 – персональный компьютер; 17 – волоконный 3-децибельный делитель. Жирная линия соответствует изотропному одномодовому волокну, тонкая – поляризационно-сохраняющему волокну.

рассеянного назад излучения. При наличии 45° -ного фарадеевского вращателя в опорном плече назад возвращается излучение, поляризованное ортогонально исходному, поэтому интерferирует только деполаризованная биообъектом компонента света.

Необходимо отметить, что при перенастройке системы для получения изображения в ортогональной поляризации положение гибкого щупа было фиксировано, что обеспечивало получение обоих типов изображений одного и того же места. Время перенастройки системы составляло 30 с. Реализация данной схемы на анизотропном волокне позволяет создать переносной прибор с гибким щупом, удобный для клинических применений, в том числе и эндоскопических [10].

Томограммы рака пищевода получены на резецированном органе в условиях *ex vivo* (не более 60 мин после экстирпации). ОКТ-изображения рубцовых изменений сняты при эзофагоскопии в условиях *in vivo*. Все экспериментальные исследования проведены с согласия пациента и одобрения администрации Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А.Семашко.

На рис.2 представлены результаты исследования карциномы и рубцовой ткани пищевода соответственно. Стандартные ОКТ-образы данных патологий (рис.2,а) трудноразличимы, поскольку обе томограммы характеризуются бесструктурностью. Таким образом, с помощью стандартной ОКТ отличить рак от рубцовых изменений практически невозможно. Основаниями для диагноза в этом случае являются визуальные наблюдения и гистологическое исследование биопсийного материала (рис.2,б).

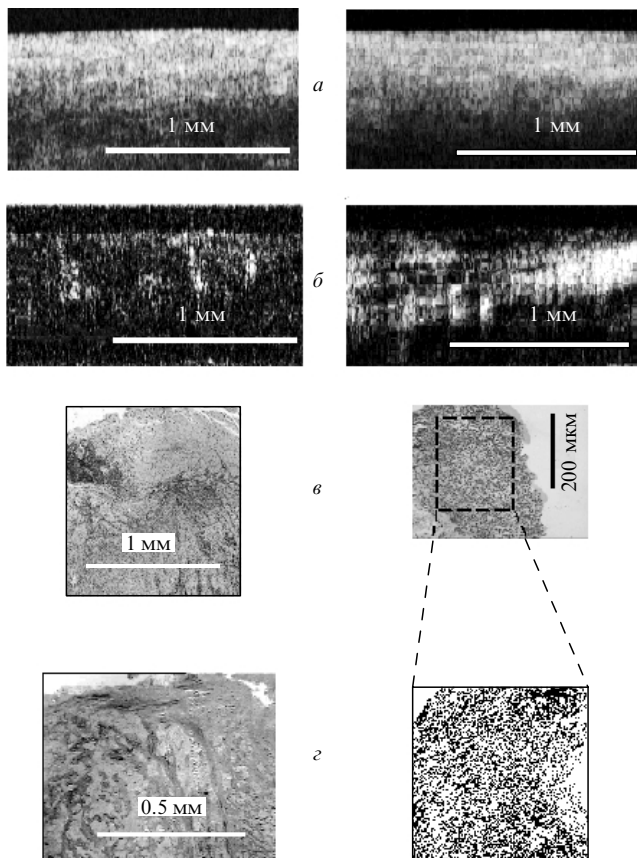


Рис.2. Комплексная оптическая диагностика рака пищевода (слева) и рубцовой ткани (справа) – стандартный ОКТ-образ (а), КП ОКТ-образ (б), окраска гематоксилин-эозином (в) и окраска по Ван Гизону (г).

Однако кроссполаризационные ОКТ-образы двух патологий (рис.2,б) существенно отличаются друг от друга. Раковая опухоль практически не деполаризует зондирующее излучение – уровень сигнала в среднем на 30 дБ меньше уровня сигнала этого показателя для здоровой ткани, что связано с разрушением компактно организованной подлежащей стромы при канцерогенезе. Выявить местоположение новых синтезированных опухолью незрелых коллагеновых волокон, которые имеют иные биохимические свойства и оптические параметры, можно при окраске пикрофуксином (окраска по Ван Гизону), т.к. дезорганизованные и незрелые коллагеновые волокна слабее окрашиваются пикрофуксином (в розовый цвет), в отличие от волокон зрелой соединительной ткани. Полного созревания коллагена стромы при канцерогенезе не наблюдается, поскольку одновременно с процессами перестройки стромы при опухолевом росте происходит непрерывное разрушение предшествующих коллагеновых структур – уменьшение их числа и замена более разрозненными незрелыми волокнами.

Гистологическое описание коллагеновых волокон, которые имеют вид удлиненных одиночных темных структур (рис.2,г, слева), хорошо коррелирует с полученными КП ОКТ-образами рака пищевода, где на фоне очень слабого сигнала видны вертикально ориентированные включения более сильного сигнала (рис.2,б, слева).

КП ОКТ-образы рубцовой ткани пищевода выявляют значительную деполаризацию зондирующего излучения, в среднем на 10 дБ превышающую уровень полезного сигнала деполаризации раковой опухоли (рис. 2,б, справа). При этом можно выделить достаточно большое количество хаотически ориентированных участков как интенсивного, так и слабого сигнала. Это связано с иным характером формирования рубцовой ткани по сравнению с раковой: заживление ран сопровождается образованием грануляционной ткани и усилением синтеза молодых коллагеновых волокон. Действительно, на рис.2,г (справа) наблюдается чередование более темных участков, соответствующих более зрелым коллагеновым волокнам, и белых и светло-серых участков – мест скопления клеток грануляционной ткани.

3. Комплексное применение ОКТ и флуоресцентной спектроскопии

Известно, что ткани, подвергшиеся неопластическим изменениям, часто не имеют четких, визуально определяемых границ с нормальной тканью. На основании феномена потери слоистой структуры на ОКТ-образах можно с достаточно высокой точностью выявлять границы патологически измененных участков. Проводимые ранее исследования показали, что определяемая методом ОКТ граница злокачественной опухоли, верифицированная морфологически, может простирается за пределы видимых границ в среднем на 3–5 мм [24]. Так как онкологический процесс сопровождается не только структурными, но и предшествующими им биохимическими изменениями ткани, нам показалось целесообразным провести сравнительный анализ методов ОКТ и индуцированной флуоресцентной спектроскопии с использованием 5-ALA. Экспериментальная процедура проводилась в области онкогинекологии, выбор объектов исследования (шейка матки и вульва) был обусловлен их доступностью и актуальностью проблемы.

Для измерения и анализа флуоресценции биологических тканей *in situ* используется лазерная электронно-спектральная установка ЛЭСА-01-БИОСПЕК (ЗАО «БИОСПЕК», Москва), предназначенная для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии рака [25]. Установка состоит из лазерного источника излучения ЛГН633-25-БИОСПЕК (длина волны 633 нм, мощность излучения находится в пределах от нуля до 12 мВт) и универсального спектрометра со спектральным диапазоном измерений 500–900 нм. Лазерное излучение по гибкому волокну подводится к исследуемому объекту. Флуоресценция ткани, индуцированная лазерным излучением, и часть рассеянного назад света принимаются регистрирующей частью волоконно-оптического катетера и подаются на блок, состоящий из системы оптических фильтров, используемых для приведения интенсивности рассеянного лазерного излучения к одному масштабу. В качестве диспергирующего элемента используется полихроматор с дифракционной решеткой. Рассеянное назад лазерное излучение, а также флуоресцентный сигнал измеряются спектрографом. Далее фотодиодная линейка (1024 канала) регистрирует спектральные распределения световых потоков в широком диапазоне длин волн. Обработка спектров осуществляется с использованием пакета прикладных программ.

Все получаемые в ходе эксперимента данные нормировались на максимум отражения лазерного излучения на длине волны 633 нм. Интенсивность флуоресцентного сигнала (коэффициент флуоресценции F_{Π}) была равна отношению площади S_1 под спектральной кривой (измерения проводились в интервале длин волн 675–715 нм, соответствующих флуоресцентному сигналу протопорфирина IX) к площади S_2 под кривой диффузно рассеянного лазерного излучения ($\lambda = 620 - 640$ нм). Следовательно, коэффициент флуоресценции

$$F_{\Pi} = S_1/S_2. \quad (1)$$

Коэффициент флуоресценции определялся в реальном масштабе времени в процессе проводимого исследования. В дальнейшем нами был найден коэффициент контрастности C_c , равный отношению интенсивности флуоресцентного сигнала на ранее определяемых длинах волн 675–715 нм пораженной ткани к интенсивности флуоресцентного сигнала окружающей здоровой ткани.

Определение коэффициента F_{Π} здоровой ткани проводилось на здоровых участках шейки матки пациентки. Усреднялись флуоресцентные данные, полученные как минимум с 10 различных патологически неизмененных участков ткани. Таким образом, для каждой шейки матки была установлена собственная интенсивность флуоресцентного сигнала, которая у разных женщин изменялась от 0.3 до 0.5. Коэффициент контрастности C_c был рассчитан как отношение коэффициента флуоресценции патологически измененного участка ткани ($F_{\Pi i}$, индекс i соответствует номеру участка) к таковому для окружающей здоровой ткани ($F_{\Pi n}$):

$$C_c = F_{\Pi i}/F_{\Pi n}. \quad (2)$$

Коэффициент контрастности здоровых участков ткани близок к единице. Полученные в (1), (2) коэффициенты позволяют оптимизировать контраст свечения флуорес-

ценции между здоровыми и патологически измененными участками ткани. Для обработки данных использовалась специальная компьютерная программа.

Флуоресцентный анализ проводился с использованием 5-ALA (НИОПИК, Москва), которая является предшественником эндогенных порфиринов. Кристаллическая свежеприготовленная 5-ALA в дозе 15 мг на 1 кг веса пациента растворялась в 200 мл дистиллированной воды и вводилась *per os*. Через 2.5–3 ч после введения регистрировались данные ОКТ и флуоресцентной спектроскопии под кольпоскопическим контролем. Для минимизации эффекта ложноположительной флуоресценции, связанной с воспалительными реакциями, пациенткам проводилась санация влагалища с использованием препарата бетадин. Непосредственно перед исследованиями слизистая обрабатывалась 3 %-ным раствором перекиси водорода для очищения и снижения фоновой бактериальной флуоресценции. Стандартное клиническое обследование состояло из простой и расширенной кольпоскопии шейки матки. Расширенная кольпоскопия проводилась с применением теста с 3 %-ной уксусной кислотой для визуализации измененного эпителия и определения визуальной границы поражения ткани.

Всего было исследовано шесть пациенток с неоплазией шейки матки и вульвы (предрак, неинвазивный и инвазивный рак). Для определения границ патологической зоны данные о флуоресценции и рассеянии тканей из центра опухоли, с ее периферии и из прилегающих тканей регистрировали с одних и тех же участков здоровой и патологически измененной ткани последовательно, начиная от центра опухоли к периферии, двигаясь по одному миллиметру к границе поражения и далее, вплоть до расстояния 1 см от визуальной границы, определяемой кольпоскопически. Затем на этом же участке снимались ОКТ-образы ткани. Все измерения проводились в режиме реального времени. Оптические исследования проводились на одном-двух участках, но только на одном из них был осуществлен забор биопсийного материала с подозрительных участков ткани – из центра опухоли и с ее оптической границы. ОКТ-образы, фиксирующие границу перехода оптически бесструктурной ткани опухоли в неизмененную, обладающую четкой слоистостью, были получены с визуально здоровых участков шейки матки на расстоянии ~ 2 мм от кольпоскопической границы поражения (2.3 ± 0.75 мм с колебаниями от 1 до 4 мм). Оптическая граница определялась по данным ОКТ как место перехода бесструктурных образов в структурированные. Оптической флуоресцентной границей патологической зоны считалось место резкого падения интенсивности флуоресцентного сигнала до значений, характерных для здоровой ткани.

При помощи ОКТ удается достаточно точно определить границы поражения ткани (рис.3). На томограмме отчетливо (рис.3,б) визуализируется место перехода патологического эпителия в неизмененный; это дает возможность четко локализовать границу опухоли, что подтверждается при гистологическом анализе биопсийного материала и морфологически соответствует гиперплазированному эпителию. Спектры флуоресценции (рис.4), полученные из центра поражения, имели типичную форму с двумя пиками – на длине волны 675 нм (порфирины) и около 700 нм (протопорфирин IX). Для здоровой ткани характерны минимальные значения первого пика флуоресценции и отсутствие пика на $\lambda \sim 700 - 705$ нм.

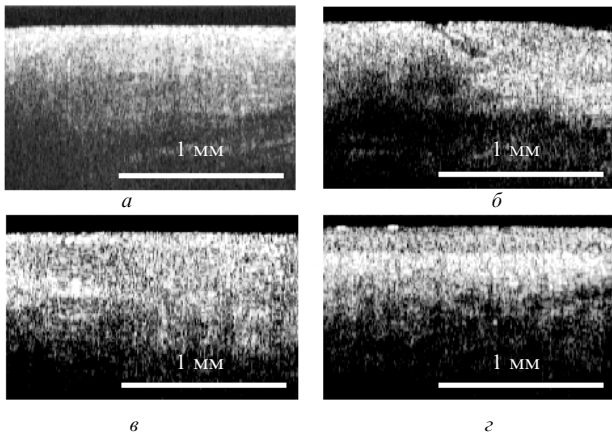


Рис.3. ОКТ-образы шейки матки – центр опухоли (а), кольпоскопическая граница опухоли с визуально нормальной тканью (б), ОКТ-граница опухоли с нормальной тканью (слева – норма) и нормальная ткань шейки матки (з).

Для получения количественной зависимости нами был рассчитан коэффициент флуоресценции F_{fl} здоровых и патологически измененных участков ткани пациенток. Для здоровой ткани $F_{\text{fl}} = 0.3 - 0.5$, для неоплазии он варьируется в широких пределах – от 1.8 до 5.4. В зависимости от стадии злокачественного процесса его среднее значение составляет 3.1 ± 0.99 . В дальнейшем нами был рассчитан коэффициент контрастности C_c . На рис.5 изображена гистограмма распределения C_c в направлении от центра пораженной ткани к здоровым участкам. Падение коэффициента флуоресценции протопорфирина IX до нормы также отмечено на расстоянии 2 мм (2 ± 0.57 мм с колебаниями 1–3 мм) от кольпоскопической границы. В некоторых случаях наблюдалось резкое снижение интенсивности флуоресцентного сигнала на расстоянии 1–3 мм от визуальной границы практически до нормы. В других случаях при продвижении от центра к периферии флуоресценция снижалась постепенно, достигая уровня флуоресценции нормальной эпителии. В 6 случаях из 10 наблюдалось совпадение флуоресцентной и ОКТ-границ. Взятые с этих участков биопсийные образ-

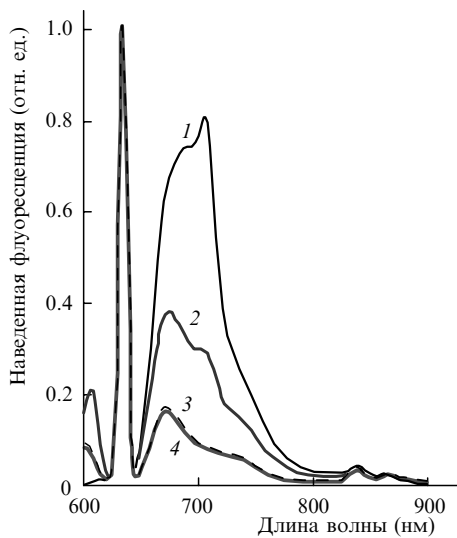


Рис.4. Спектры индуцированной флуоресценции с использованием 5-ALA опухоли больной В. – из центра опухоли (1), с визуальной границы опухоли и нормальной ткани (2), с ОКТ-границы опухоли и ткани (3) и здорового участка ткани (4).

цы ткани подтвердили предположение о несовпадении при онкологических процессах визуальных границ поражения с оптическими. В двух случаях гистологического анализа материала, полученного с кольпоскопически определяемой границы, обнаружены изменения, подобные таковым в центре опухоли (рис.3,а). ОКТ-образы визуальной границы характеризуются бесструктурностью, отражающей опухолевые реакции ткани. Интенсивность флуоресцентного сигнала с данного участка ткани в основном была меньше, чем из центра образования, тем не менее она значительно превышала интенсивность флуоресценции здоровой ткани, окружающей опухоль (рис.4).

Таким образом, можно заключить, что оптические границы, определяемые двумя разными методами, в основном не совпадают с кольпоскопическими (8 из 10 случаев). Однако в двух случаях, при исследовании экзофитных образований, оптические границы совпали с визуальными, что мы связываем с характером роста этих опухолей.

4. Обсуждение

Предыдущие эксперименты показали, что метод ОКТ позволяет выявлять структурные изменения тканей, связанные с такими патологическими процессами, как воспаление, опухоли и опухолеподобные образования [26]. Однако стандартная ОКТ является менее чувствительной к изменению состояния соединительной ткани, чем КП ОКТ, в связи с возможностью получения дополнительных данных о биологическом объекте, основанных на деполаризующих свойствах составляющих его структур. Если ОКТ по информативности можно сравнивать со стандартным морфологическим анализом, то КП ОКТ является в какой-то мере *in vivo* аналогом гистохимического исследования. Комплексное применение стандартной ОКТ и КП ОКТ может существенно повысить диагностическую ценность метода за счет увеличения показателя специфичности.

Изучение биохимических процессов, происходящих в биотканях при развитии неоплазии, возможно с использованием флуоресцентной спектроскопии с применением 5-ALA [27]. Однако этот метод не является специфичным для неоплазии, поскольку высоким остается процент ложноположительных результатов, связанных с усилением интенсивности флуоресценции при воспалительных процессах. Комплементарное применение лазерно-индуцированной флуоресценции и ОКТ позволяет получить комплексную информацию как о структурных, так и о биохимических изменениях, что делает оптические методы диагностики более информативными.

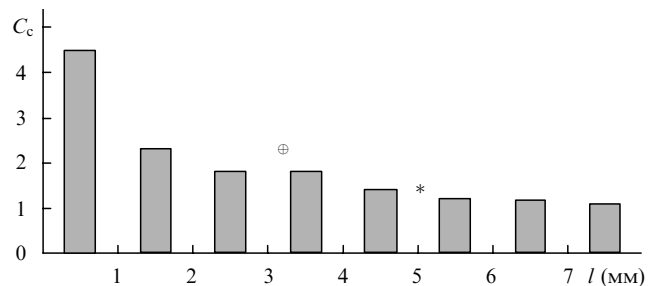


Рис.5. Гистограмма зависимости коэффициента контраста флуоресценции C_c от расстояния до центра опухоли, усредненного по десяти направлениям; символами \oplus и $*$ обозначены кольпоскопическая и оптическая (ФС + ОКТ) границы опухоли соответственно.

Сравнивая наш комплексный подход к выявлению опухолей с другими, необходимо отметить, что его потенциальным преимуществом является относительная дешевизна и отсутствие побочных эффектов со стороны лазерного излучения на данных длинах волн. Источники излучения обеих установок, используемых в нашем исследовании, обладают низкоинтенсивным излучением в ближнем ИК и видимом диапазонах длин волн, что обеспечивает их неинвазивность, высокую проникающую способность и позволяет проводить диагностику визуально скрытых опухолей с эндофитным характером роста на глубине 1–2 мм.

Таким образом, комплементарное применение ОКТ, КП ОКТ и флуоресцентной спектроскопии приближает реализацию идеи «оптической биопсии». Ее место в диагностическом процессе определено ее возможностью с высоким разрешением выявлять структурные и биохимические изменения биотканей. Прежде всего это прицельная биопсия, а также точное детектирование линейных параметров опухолей, что является актуальным для определения стадии процесса и планирования линии резекции при органосохраняющих операциях [28, 29]. Неинвазивность и отсутствие побочных эффектов делают эти методы привлекательными для применения в клинической практике. Быстродействие методов определяет их место в экспресс-диагностике. Необходимо отметить и относительную дешевизну используемого оборудования. Все перечисленное позволяет надеяться на широкое внедрение оптических методов диагностики в практическую медицину.

5. Заключение

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что с помощью КП ОКТ может быть получена дополнительная информация о биохимических изменениях в ткани, влияющих на деполяризующие свойства. На примере рака и рубцовых изменений пищевода показано, что применение КП ОКТ в комплексе со стандартной ОКТ позволяет дифференцировать данные патологии. Подобная диагностика не может быть проведена одним оптическим методом – стандартной ОКТ.

Совместное использование ОКТ и флуоресцентной спектроскопии с применением 5-ALA способствует уточнению границ опухолевого процесса в ткани. Как показали исследования, оптическая граница расположена дальше визуальной в среднем на 2 мм. Гистологические исследования ткани подтвердили несовпадение визуальных границ поражения ткани с оптическими при раке. В работе показана перспективность применения комплексной оптической диагностики неопластических процессов на основании исследования происходящих в них морфологических (стандартная ОКТ) и биохимических изменений (КП ОКТ и флуоресцентная спектроскопия с применением 5-ALA).

Авторы благодарны Е.В.Загайнову и А.Н.Денисенко за помощь в получении ОКТ-образов в клинических условиях, а также Л.Б.Сноповой за помощь в трактовке результатов гистологических исследований.

1. Choi B., Barton J.K., Chan E.K., Welch A.J. *Las. Surg. Med.*, **23**, 185 (1998).

2. Farkas D.L., Du C., Fisher G.W., Lau C., Niu W., Wachman E.S., Levenson R.M. *Comput. Med. Imaging Graph.*, **22**, 89 (1998).
3. Manni J. *Biophotonics International*, No.1–2, 44 (1996).
4. Messmann H., Kullmann F., Wild T., Knuchel-Clarke R., Ruschhoff J., Gross V., Scholmerich J., Holstege A. *Endoscopy*, **30**, 333 (1998).
5. Геликонов В.М., Геликонов Г.В., Гладкова Н.Д., Куранов Р.В., Никулин Н.К., Петрова Г.А., Починко В.В., Правденко К.И., Сергеев А.М., Фельдштейн Ф.И., Ханин Я.И., Шабанов Д.В. *Письма в ЖЭТФ*, **61**, 149 (1995).
6. Huang D., Wang J., Lin C.P., Shuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A., Fujimoto J.G. *Science*, **254**, 1178 (1991).
7. Schmitt J.M. *IEEE J. Sel. Top. in Quantum Electron.*, **5**, 1205 (1999).
8. Gladkova N.D., Petrova G.A., Nikulin N.K., Radenska-Lopovok S.G., Snopova L.B., Nasonova V.A., Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Kuranov R.V., Sergeev A.M., Feldchtein F.I. *Skin Research and Technology*, **6**, 6 (2000).
9. Pitris C., Jesser C., Boppart S.A., Stember D., Brezinski M.E., Fujimoto J.G. *J. Gastroenterol.*, **35**, 87 (2000).
10. Shakhova N.M., Gelikonov V.M., Kamensky V.A., Kuranov R.V., Turchin I.V. *Laser Phys.*, **12**, 617 (2002).
11. Hittinger J. W., Mattozzi M., Myers W. R., Williams M. E., Reeves A., Parsons R. L., Haskell R. C., Petersen D. C., Wang R., Medford J. I. *Plant Physiol.*, **123**, 3 (2000).
12. Schoenenberger K., Colston B.W., Jr., Maitland D.J., DaSilva L.B., Everett M.J. *Appl. Opt.*, **37**, 6026 (1998).
13. De Boer J.F., Srinivas S.M., Malekafzali A., Chen Z.P. Nelson J.S. *Opt. Expr.*, **3**, 212 (1998).
14. De Boer J.F., Srinivas S.M., Park B.H., Pham T.H., Chen Z.P., Milner T.E., Nelson J.S. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **5**, 1200 (1999).
15. Feldchtein F.I., Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Iksanov R.R., Kuranov R.V., Sergeev A.M., Gladkova N.D., Ourutina M.N., Warren J.A., Reitze D.H. *Opt. Expr.*, **3**, 239 (1998).
16. Baumgartner A., Dichtl S., Hitzberger C.K., Sattmann H., Robl B., Moritz A., Fercher Z.F., Sperr W. *Caries Research*, **34**, 59 (2000).
17. Drexler W., Stamper D., Jesser C., Li X.D., Pitris C., Saunders K., Martin S., Lodge M.B., Fujimoto J.G., Brezinski M.E. *J. Rheumatol.*, **28**, 1311 (2001).
18. Schmitt J.M., Xiang S.H. *Opt. Lett.*, **23**, 1060 (1998).
19. Kuranov R.V., Gelikonov V.M., Shakhov A.V., Terentyeva A.B., Turchin I.V., Kamensky V.A. In *OSA Biomed. Top. Meeting. OSA Tech. Digest* (Washington: Opt. Soc. of America, 2002, p.275).
20. Kuranov R.V., Sapozhnikov V.V., Turchin I.V., Zagainova E.V., Gelikonov V.M., Kamensky V.A., Snopova L.B., Prodanetz N.N. *Opt. Expr.*, **10**, 707 (2002).
21. Успенский Л.В., Кузин М.И., Лощенов В.Б., Аблицов Ю.А., Рыбин В.К., Логинов Л.Е., Барышев М.В., Заводнов В.И. *Хирургия*, № 5, 21 (1994).
22. Jacques S.L., Roman J.R., Lee K. *Lasers Sur. Med.*, **26**, 119 (2000).
23. Лилли Р. *Патогистологическая техника и практическая гистология* (М.: Мир, 1969, гл. 15).
24. Shakhova N.M., Kuznetzova I.A., Gladkova N.D., Snopova L.B., Pochinko V.V., Chumakov Yu. P., Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Feldchtein F.I., Kuranov R.V., Sergeev A.M. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Ing.*, **3251**, 59 (1998).
25. Stratonnikov A.A. Loshchenov V.B., Klimov D.V., et. al. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Ing.*, **3197**, 119 (1997).
26. Sergeev A.M., Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Felchtein F.I., Gladkova N.D., Shahova N.M., Snopova L.B., Shahov A.V., Kusnetzova I.A., Denisenko A.N., Pochinko V.V., Chumakov Y.P., Strelzova O.S. *Opt. Expr.*, **1**, 432 (1997).
27. Тучин В.В. *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях* (Саратов: изд. СГУ, 1998, с.382).
28. Creasman W.T., Zaino R.J., Major F.J., DiSaia P.J., Hatch K.D., Homesley H.D. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, **178**, 62 (1998).
29. Gonzalez D.I., Zahn C.M., Retzlöff M.G., Moore W.F., Kost E.R., Snyder R.R. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, **184**, 315 (2001).