

© Р.Т. Меджидов, А.И. Гаджакаева, 2010  
УДК 616.381-006-072.1-073.56

Р.Т. Меджидов, А.И. Гаджакаева

## ЛАЗЕРНАЯ АУТОФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

ГОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия ФАЗ СР» (ректор — проф. А.О. Османов),  
г. Махачкала

**Ключевые слова:** диагностика, лазерная аутофлюоресцентная спектроскопия (ЛАС), лапароскопия, лапаротомия.

**Введение.** Своевременная диагностика опухолевых образований является одной из самых актуальных задач онкологии и хирургии. От этого во многом зависит эффективность противоопухолевых мероприятий [1, 2, 5, 10, 15]. Последние годы характеризуются широким внедрением в клиническую практику различных картиноформирующих методов диагностики (компьютерная томография, эхотомоскопия, видеоэндоскопия), позволяющие совершенствовать диагностику и лечение многих заболеваний органов брюшной полости, в том числе и онкологических [1, 3, 5, 8].

В настоящее время одним из перспективных методов ранней диагностики злокачественных опухолей является метод люминесцентной лазерной спектроскопии [2, 7, 9, 11–14]. В отечественной и зарубежной литературе имеются единичные сообщения о люминесцентной спектроскопии во время торакоскопических, гастроскопических исследований и интраоперационно при опухолевых образованиях легких, пищевода, желудка и щитовидной железы [4, 6, 7, 9, 16, 17]. В лапароскопической практике лазерная аутофлюоресцентная спектроскопия (ЛАС) до сих пор не получила широкого применения. Поэтому разработка эффективного метода эндоскопической экспресс-диагностики опухолевого процесса органов брюшной полости, основанной на ЛАС, является весьма актуальной проблемой абдоминальной хирургии.

**Материал и методы.** В течение последних двух лет в клинике общей хирургии и усовершенствования по эндоскопической хирургии ДагГМА ЛАС выполнена 93 пациентам с опухолевыми образованиями брюшной полости. Средний возраст пациента равнялся (53,6±14,3) года (медиана ~ 51 год, квартили — 38 и 72 года). Мужчин было 42 (45,1%), женщин — 51 (54,9%).

В обследованной группе больных опухоли печени в различных клиничко-морфологических вариантах выявлены у 33 (35,5%) пациентов, желудка — у 15 (16,1%), поджелудочной железы — у 22 (23,6%), толстой кишки — у 4 (4,3%), желч-

ного пузыря — у 19 (20,5%) больных, при внепеченочных локализациях опухолевого процесса метастазы в печени имелись у 21 (35%). Таким образом, у 54 (58%) больных имели место опухолевые поражения печени.

Всем пациентам была выполнена видеолапароскопия. При этом достоверные признаки опухолевого поражения органов имелись у 75 (83,9%) больных, а у 15 (16,1%) — возникли трудности в эндоскопической верификации диагноза. У всех была выполнена многоточечная щипковая биопсия тканей.

Среди пациентов с опухолевым поражением печени у 52 были злокачественные новообразования, у 2 — опухоль доброкачественного характера (гепатома — у 1, аденома — у 1). По гистологической структуре гепатоцеллюлярная карцинома имела у 25 (46,3%) человек, холангиоцеллюлярная карцинома — у 8 (14,7%), аденокарцинома — у 21 (39%). Почти у всех больных (96,4%) наблюдалось множественное поражение печени, лишь у 2 пациентов имела одиночная карцинома больших размеров. Оперированы двое пациентов, им выполнены атипические резекции печени.

При желудочной локализации опухоли (у 15 человек) злокачественные заболевания по стадиям распределились следующим образом: рак IIВ стадии (Т3N0M0) — у 2, IIIА (Т3N1–2M0) — у 3, IIIВ (Т3N1–3M0) — у 3, IV (Т3–4N1–4M1) — у 7, т. е. у 7 больных из 21 метастазирование опухоли в печень возникло из ее первичной желудочной локализации. По гистологической структуре рак желудка был представлен аденокарциномой разной степени дифференцировки. Распределение новообразований поджелудочной железы по стадиям выглядело следующим образом: рак IIIВ стадии (Т1–3N3M0 или Т4N1–3M0) — у 14, IV (Т1–4N1–4M1) — у 8. При раке желчного пузыря IIВ стадии (Т2N1M0 или Т3N0M0) была у 4 пациентов, IIIА (Т1–2N2M0 или Т3N1–2M0) — у 5, IIIВ (Т4N1–3M0) — у 2, IV (Т1–4N1–4M1) — у 8. При раке толстой кишки IIIА стадии (Т3N1–2M0) имела у 3 пациентов и IIIВ (Т4N1–3M0) — у 1. По гистологической структуре рак поджелудочной железы был представлен: протоковой аденокарциномой у 12 больных, из них ацинарно-клеточная карцинома — у 5, солидно-псевдопапиллярная аденокарцинома — у 7. Светлоклеточная аденокарцинома была в 5 наблюдениях, низкодифференцированная аденокарцинома — в 4. При раке желчного пузыря в 83% наблюдений имелись аденокарциномы разной степени дифференцировки и в 17% — недифференцированный рак (анapластический, полиморфный, саркоматоидный). Гистологическая структура рака ободочной кишки была представлена аденокарциномой.

Из 15 больных с опухолью желудка оперированы 8 пациентов, окончательный диагноз у них был сформулирован после гистологического исследования макропрепарата, у 7 — поставлен на основании данных гистологического исследования опухолевых тканей, взятых во время лапаро-

скопии. Среди пациентов с опухолью поджелудочной железы оперированы 16, окончательный диагноз им также был поставлен после гистологического исследования макропрепарата или же взятых во время операции опухолевых тканей, у 6 — диагноз верифицирован путем исследования биопсированных во время лапароскопии тканей. В группе больных с опухолью желчного пузыря операции проведены у 10 человек. Им окончательный диагноз был поставлен после гистологического исследования удаленного желчного пузыря в 6 наблюдениях и биопсийного материала — в 4, у остальных 9 — диагноз верифицирован путем исследования тканей, взятых во время видеолапароскопического исследования. Больным с опухолью толстой кишки оперативное вмешательство было выполнено у всех, и окончательный диагноз у них был сформулирован после гистологического исследования макропрепарата. Характер и количество оперативных вмешательств в зависимости от заболевания представлены в таблице.

В большинстве наблюдений послеоперационный период протекал гладко. Осложнения отмечены у 4 (4,3%) больных. У одного из них после панкреатодуоденальной резекции отмечена несостоятельность панкреатоюнонального анастомоза, в последующем сформировался панкреатический свищ, который закрылся самостоятельно. У одного больного после резекции желудка отмечена несостоятельность гастроэнтероанастомоза с образованием абсцесса в зоне анастомоза, который был дренирован перкутаным способом под контролем УЗИ. В остальных наблюдениях имело место нагноение послеоперационной раны. В ближайшем послеоперационном периоде летальных исходов не было. Все пациенты были выписаны из клиники на 14–17-е сутки.

Всем наблюдавшимся нами пациентам проводили общеклиническое обследование и специальные инструментальные исследования. В дальнейшем, учитывая данные стандартного алгоритма обследования, формировали предварительный диагноз и принимали решение о показаниях к лапароскопической и интраоперационной ЛАС. Последнюю проводили с помощью разработанного нами комплекта оборудования (рис. 1).

В комплект используемой для аутофлюоресцентной спектроскопии входят: 1) источник возбуждения аутофлюоресценции тканей (азотный лазер с длиной волны излучения  $\lambda_{ex}=337,1$  нм, импульс длины —  $\frac{1}{2}$  высоты  $\sim 5-7$  нс, пик мощности  $\sim 30$  кВ, импульс частоты составляет 1000 Гц и средняя величина мощности  $\sim 120$  мВ); 2) многоканальный волоконно-оптический зонд собственной конструкции (рис. 2) для доставки возбуждающего лазерного излучения и собирания флюоресцентного света; 3) спектроанализатор, который выполняет линейное сканирование всей длины

волны интервалом от 300 до 800 нм; 4) персональный компьютер типа «Notebook».

Многоканальный волоконно-оптический зонд собственной конструкции (см. рис. 1, «2»; 2) имеет рабочую часть, она помещена в полую металлическую трубку длиной 30 см и диаметром 10 мм. Такая конструкция зонда позволяет проводить его в брюшную полость во время лапароскопического исследования через гильзу троакара диаметром 11–12 мм. Центральный канал (см. рис. 1, «4») состоит из одного кварцевого моноволокна диаметром 200 мкм и используется для доставки лазерного излучения к поверхностям органов. Оптические волокна (см. рис. 1, «5»), каждый диаметром 100 мкм, размещены по краю световода. Они собирают и трансформируют сигнал во входное отверстие спектроанализатора (см. рис. 1, «3»).

Во время видеолапароскопического исследования органов брюшной полости через гильзу троакара диаметром 11–12 мм в брюшную полость проводят рабочую часть волоконно-оптического зонда и под лапароскопическим контролем подводят к исследуемому участку органа (рис. 3).

Далее свет от лазерного источника фокусируется на входной конец волоконно-оптического зонда и передается по нему к исследуемому объекту. Облучение последнего производится как при непосредственном контакте с ним зонда, так и на расстоянии (1–4 мм). Флюоресцентный и рассеянный свет поступает в приемные волокна волоконно-оптического зонда, которые окружают кварцевый световод для доставки лазерного излучения. Полученная длина сигнала отправляется через систему фильтров (см. рис. 1, «б») и фокусируется конденсором (см. рис. 1, «7») во входное отверстие спектроанализатора. Принимаемой системой сигнал подвергается аналогово-цифровому преобразованию, передается на оперативную память компьютера и отображается на дисплее в реальном масштабе времени в виде кривой.

ЛАС производили из 3–5 точек измененного и интактного участков органа. Измерения проводили под визуальным контролем, обеспечиваемым светом от лазера при выключенном источнике света лапароскопа. Многофункциональность системы обеспечивается также специальным программным обеспечением, созданным для работы в операционной среде Microsoft Windows. Спектроскопическая система позволяет получать спектр аутофлюоресценции тканей с интервалом 0,1 с, что достаточно для мониторинга в реальном масштабе времени.

При проведении лапароскопической и интраоперационной аутофлюоресцентной спектроскопии анализ данных производится немедленно в операционной на том же аппарате, что и само исследование. Среднее время исследования составило 3,5–4 мин. Результаты ЛАС сравнивали с данными

### Характер оперативных вмешательств

Характер оперативного вмешательства	Локализация опухолевого процесса					
	Печень	Желчный пузырь	Поджелудочная железа	Желудок	Толстая кишка	Итого
Биопсия	31	9	6	7	–	53 (57,0%)
Резекция печени	2	–	–	–	–	2 (2,2%)
Панкреатодуоденальная резекция	–	–	6	–	–	6 (6,4%)
Резекция желудка	–	–	–	6	–	6 (6,4%)
Резекция толстой кишки	–	–	–	–	4	4 (4,3%)
Холецистэктомия	–	6	–	–	–	6 (6,4%)
Паллиативные вмешательства	–	4	10	2	–	16 (17,3%)
Всего	33	19	22	15	4	93 (100%)

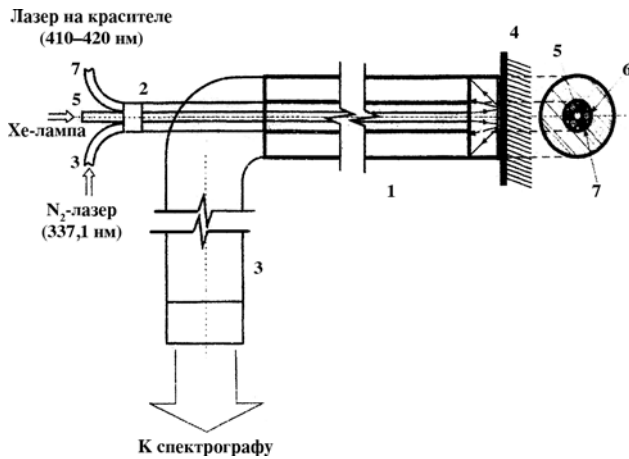


Рис. 1. Схема устройства для лапароскопической лазерной флуоресцентной спектроскопии (ЛАС).

1 — катетер; 2 — возбуждающий канал; 3 — собирающий канал; 4 — поверхность исследуемого образца; 5 — оптический жгут для Хе-ламп; 6 — оптический жгут для N<sub>2</sub>-лазера; 7 — оптический жгут для лазера на красителе.

гистологического исследования удаленной опухоли либо биопсийного материала.

Анализ получаемых спектрограмм производили с использованием критерия оценки спектров из каждого исследуемого участка: смещение максимума флуоресценции, появление дополнительных максимумов и пиков флуоресценции, формы спектра, сравнение формы кривых, сравнение максимумов флуоресценции, отклонение пиков флуоресценции от нормы или от полученных кривых из патологически измененных участков. Обработка полученных спектрограмм включала также расчет площади аутофлуоресценции и площади лазерной линии.

**Результаты и обсуждение.** Сопоставительный анализ результатов ЛАС с

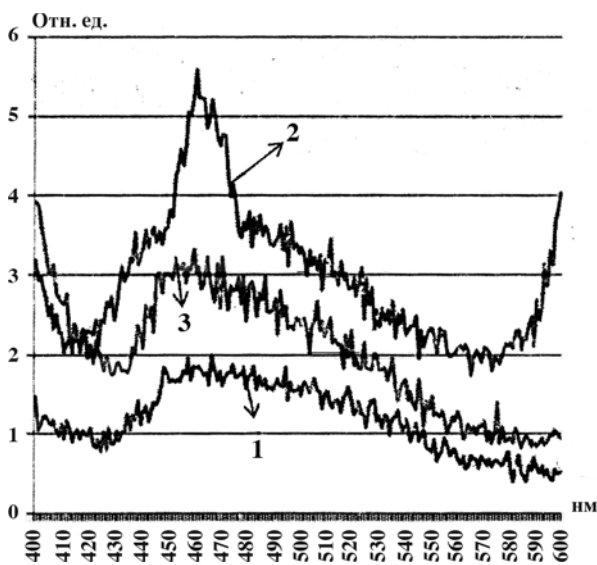


Рис. 3. Спектр аутофлуоресценции печени.

1 — неизменная ткань печени; 2 — гепатоцеллюлярная карцинома печени; 3 — гепатома.

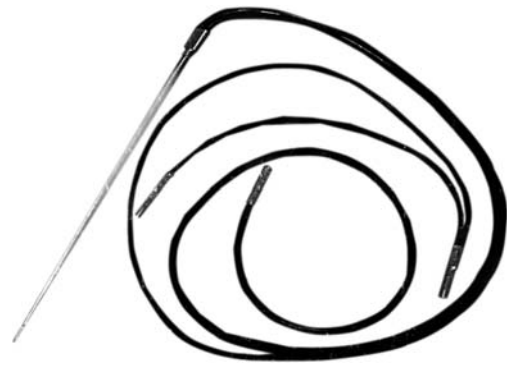


Рис. 2. Внешний вид волоконно-оптического зонда для ЛАС.

данными морфологических исследований показал, что формы спектрограмм, их смещение при различных опухолях органов брюшной полости имеют много общих черт. Во многих случаях подъем интенсивности аутофлуоресценции наблюдается в диапазоне 410–520 нм. Самый низкий пик находится в диапазоне 550–710 нм. В последующем регистрируется постепенное снижение интенсивности аутофлуоресценции и наступает полное ее прекращение в диапазоне 750–900 нм.

При сравнении спектральных кривых с участков, пораженных опухолевым процессом, и интактных зон отмечены несколько отличительных признаков. В частности, отмечена высокая скорость возрастания интенсивности аутофлуоресценции с участков со злокачественным опухолевым поражением. В то же время, у пациентов с неопухолевыми заболеваниями органов брюшной полости, а также с интактных зон было отмечено плавное нарастание спектра аутофлуоресценции. Кроме того, имело место смещение максимума аутофлуоресценции на 6–10 нм в коротковолновую часть спектра у пациентов с раком печени, поджелудочной железы, желудка, желчного пузыря и толстой кишки. Отношение площади аутофлуоресценции к площади лазерного пика находилось в пределах от 6,04 до 71,04, коэффициент диагностической контрастности (ДК) колебался от 0,6 до 3,2. Характеристика спектра устойчивых состояний аутофлуоресценции неизменных тканей печени (кривая «1») с опухолевого очага (кривая «2») и печеночной ткани с эндоскопической картиной гепатомы (кривая «3») представлена на рис. 3. Спектры аутофлуоресценции с интактной зоны желудка и толстой кишки (кривая «3» и «4» соответственно) и с пораженной опухолевым процессом участков (кривые «1» и «2» соответственно) даны на рис. 4.

Во всех наблюдениях коэффициент ДК составил в среднем для печени  $1,15 \pm 0,07$ ; желудка —  $1,13 \pm 0,03$ ; толстой кишки —  $1,07 \pm 0,01$ ; для лимфатических узлов —  $1,12 \pm 0,02$ ; саль-



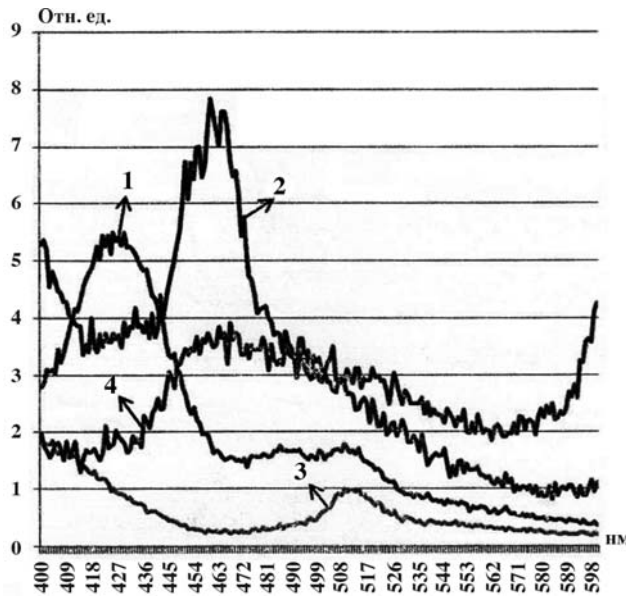


Рис. 4. Спектр аутофлуоресценции желудка и толстой кишки.

1 — спектр рака желудка; 2 — рак толстой кишки; 3 — спектр неизменной стенки желудка; 4 — спектр неизменной стенки толстой кишки.

ника —  $1,16 \pm 0,04$ . При злокачественном опухолевом поражении ДК в среднем составил  $2,9 \pm 0,06$  у пациентов с раком печени;  $2,75 \pm 0,08$  — с раком желудка;  $2,73 \pm 0,09$  — с раком толстой кишки;  $2,86 \pm 0,07$  — с раком желчного пузыря;  $2,69 \pm 0,03$  — с раком поджелудочной железы.

Среди 93 пациентов со злокачественными новообразованиями органов брюшной полости достоверно положительные результаты получены при раке печени у 94,5% из них, раке желудка — у 93,6%, раке желчного пузыря — у 92,6%, раке поджелудочной железы — у 94,8%, раке толстой кишки — у 92,8%.

**Выводы.** 1. Лазерный спектральный анализ, основанный на аутофлуоресценции органов и тканей, является эффективным методом диагностики злокачественных новообразований.

2. Особенно метод представляет большой практический интерес в экспресс-диагностике опухолевого процесса во время лапароскопии, когда визуально невозможно определить характер поражения органов и тканей брюшной полости. Разработанное нами устройство позволяет с большой точностью осуществить данный метод диагностики.

3. Предполагаемое нами устройство также можно использовать (позволяет его конструкция) для интраоперационного определения распространенности злокачественного опухолевого процесса.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Бахина Н.В., Кутуков В.В., Сизова Н.Ф. и др. Ультразвуковое исследование при злокачественных опухолях желудка // Актуальные вопросы современной хирургии: Материалы Всерос. конф.—Астрахань, 2006.—С. 330–331.
- Ветшев С.П. Лазерная аутофлуоресцентная спектроскопия в экспресс-диагностике хирургических заболеваний щитовидной железы: Дис. ... канд. мед. наук.—М., 2001.—137 с.
- Кубышкин Е.А., Вишневский В.А. Рак поджелудочной железы.—М., 2003.—С. 375.
- Мерзляков А.Е. Лазерная спектроскопическая диагностика хирургических заболеваний желудка: Дис. ... канд. мед. наук.—М., 1995.—128 с.
- Онкология / Под ред. Д.Касчиато: Пер. с англ.—М., 2008.—С. 270–331.
- Охотникова Н.Л. Дифференциальная диагностика хирургических заболеваний желудка с использованием аутофлуоресценции и аласенсининдуцированной флуоресценции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.—М., 2001.—24 с.
- Рыбин В.К. Дифференциальная диагностика хирургических заболеваний легких с помощью флуоресцентной спектроскопии: Дис. ... канд. мед. наук.—М., 1993.—143 с.
- Старков Ю.Г. Лапароскопическое ультразвуковое исследование при очаговых заболеваниях печени и поджелудочной железы. Методика и техника // Анн. хир. гепатол.—2000.—№ 1.—С. 49–58.
- Успенский Л.В., Кузин М.И., Аблицов Ю.А. и др. Лазерная флуоресцентная спектроскопия в интраоперационной диагностике и оценке распространенности рака легкого // Хирургия.—1996.—№ 3.—С. 31–33.
- Шевченко Ю.Л. Щадящая хирургия.—М., 2005.—С. 137–151.
- Эскин В.Г. Регистрация двухмерного аутофлуоресцентного изображения в диагностике опухолей кожи: Дис. ... канд. мед. наук.—М., 2002.—136 с.
- Andersson-Engels S., Klinteberg C., Svanberg K. et al. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics // Phys. Med. Biol.—1997.—Vol. 42, № 5.—P. 815–824.
- Bigio I.J., Mourant J.R. Ultraviolet and visible spectroscopies for tissue diagnosis: fluorescence and elastic-scattering spectroscopy // Phys. Med. Biol.—1997.—Vol. 42, № 5.—P. 803–814.
- Giraev K.M., Ashurbekov N.A., Medzhidov R.T. Fluorescent spectroscopic research of in vivo tissues' pathological conditions // Internat. J. Modern Phys. B.—2004.—Vol. 18, № 6.—P. 899–910.
- Jackson M., Sowa M.G., Mantsch H.H. Infrared spectroscopy: a new frontier in medicine // Biophys. Chem.—1997.—Vol. 68, № 10.—P. 109–125.
- Liovet J.M. Hepatocellular carcinoma // Lancet.—2003.—Vol. 362.—P. 1907.
- Tang G.C., Pradchan A., Alfano R.R. Spectroscopic differences between human cancer and normal lung and breast tissues // Lasers Surg. Med.—1989.—Vol. 9, № 3.—P. 90–95.

Поступила в редакцию 15.04.2010 г.

R.T.Medzhidov, A.I.Gadzhakaeva

#### LASER AUTOFLUORESCENT SPECTROSCOPY IN THE DIAGNOSTICS OF TUMOR MASSES IN THE ABDOMINAL CAVITY

Laser autofluorescent spectroscopy was fulfilled to 93 patients during laparoscopy. A device of the authors' construction was used for the excitation of autofluorescence and the method of performing laser autofluorescent spectroscopy during laparoscopy is described. Parallel morphological investigations of the affected tissues showed high sensitivity (93.6%) and specificity (98.6%) of the method.