

# ФОТОНИКА НАНОСТРУКТУР И БИОФОТОНИКА

УДК 535.243 + 615.471 + 681.7

## ТОЧНОСТЬ, ДОСТОВЕРНОСТЬ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ *in vivo* ЛАЗЕРНОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ В СПЕКТРАЛЬНОМ ДИАПАЗОНЕ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ

© 2009 г. Д. А. Рогаткин, доктор техн. наук; О. А. Быченков, канд. мед. наук;  
Л. Г. Лапаева, канд. техн. наук

Московский областной научно-исследовательский клинический институт “МОНИКИ  
им. М.Ф. Владимирского”, Москва

E-mail: rogatkin@monikiweb.ru

Недавно на основе анализа различных клинических данных было высказано предположение, что часто наблюдаемая *in vivo* повышенная флюоресценция эндогенных порфиринов в живых биологических тканях является следствием состояния хронической гипоксии в тканях. С этих позиций в статье обсуждается точность, воспроизводимость и информативность методов *in vivo* лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД) в реальной клинической практике. Показано, что, несмотря на установленную ранее случайную погрешность единичных измерений в ЛФД 30–40%, точность и достоверность при интерпретации результатов диагностики может достигать достаточно высокого уровня. Формальный “случайный” разброс в результатах единичных измерений в большинстве своем определяется не приборной, а методической погрешностью и живым и изменчивым характером объекта диагностики, особенно на уровне системы микроциркуляции крови.

**Ключевые слова:** *неинвазивная лазерная флюоресцентная диагностика, автофлюоресценция эндогенных порфиринов.*

Коды OCIS: 170.6510

Поступила в редакцию 28.04.2009

### Введение

Неинвазивная (*in vivo, in situ*) лазерная флюоресцентная диагностика сегодня широко используется и изучается в различных областях медицины, таких как онкология, дерматология, гастроэнтерология и др. [1]. Наиболее интересные приложения ЛФД связывают сегодня, как правило, с возможностью быстрого и неинвазивного “оптического детектирования” заболеваний и патологий в тканях, особенно злокачественных новообразований, на основе анализа наведенной внешним оптическим (лазерным) излучением эндогенной флюоресценции различных природных (эндогенных) флюорофоров в тканях [2, 3]. Часто это явление называют автофлюоресценцией (АФ) биотканей [4]. Одними из типичных и наиболее легко детектируемых *in vivo* флюорофоров в

тканях являются порфирин и его производные, например, протопорфирин IX [1]. Порфирины имеют хорошо известный, ярко выраженный “двугорбый” спектр “красной” АФ с максимумами на длинах волн 630 и 690 нм [5], что позволило наблюдать сильную АФ порфиринов некротизирующихся опухолей уже в 1924 г. [6, 7]. Позднее было установлено, что повышенной и специфической “порфириновой” (красной) АФ обладают не только ткани злокачественных новообразований, но и другие живые мягкие ткани с различными опухолевыми, воспалительными, гнойными и другими деструктивно-дегенеративными процессами [5, 8]. Однако, вплоть до настоящего времени во многих клинических ситуациях единые теоретические биологические или биофизические предпосылки возникновения повышенной порфириновой АФ

в пораженных заболеваниями живых биотканях до конца не ясны [1]. Рядом авторов, например, указывается, что повышенное накопление порфиринов в живых биотканях, вызывающее повышенную АФ, может быть следствием повышенной клеточной пролиферативной активности, что часто наблюдается в опухолевых тканях [5, 8, 9]. Другие авторы интерпретируют факт повышенной АФ порфиринов в тканях как следствие утилизации в них ряда продуктов метаболизма присутствующих там анаэробных микробов [5, 10], как следствие снижения показателя кислотности среды (рН) в тканях [11], следствие повышенного потребления патологически измененными биотканями порфиринов, приносимых с током крови [1, 12, 13] и т. п. Но единого подхода к объяснению наблюдаемого явления пока так и не выработано [1]. Между тем, он принципиально важен для проблемы медицинской интерпретации результатов ЛФД, в том числе и для задач разработки программного обеспечения диагностических систем ЛФД, когда на третьем, медицинском уровне интерпретации результатов диагностики необходимо на экране монитора выдавать врачу конечную информацию о наблюдаемых медико-биологических процессах [14].

Недавно было высказано предположение, что повышенное накопление в тканях эндогенных порфиринов тесно связано с состоянием хронической гипоксии в тканях [15]. В свете этой гипотезы важным является оценка точности и воспроизводимости результатов ЛФД в реальной клинической практике. Известно, что точность любых неинвазивных спектрофотометрических методов в медицине пока не очень высока, а погрешность метода, например, ЛФД может достигать 35–40% [16]. Поэтому цель данной работы – исследование и обсуждение вопросов точности, воспроизводимости и достоверности результатов ЛФД применительно к проблеме интерпретации результатов ЛФД в терминах хронической гипоксии тканей.

## Материалы и методы

Прежде всего, в свете высказанной новой гипотезы, авторы проанализировали еще раз свои предыдущие данные по *in vivo* регистрации спектров флюоресценции эндогенных порфиринов от нормальных и пораженных заболеваниями различного генеза биотканей, полученные ранее при решении ряда задач в трех областях медицины – онкологии [17, 18], гастроэнтеро-

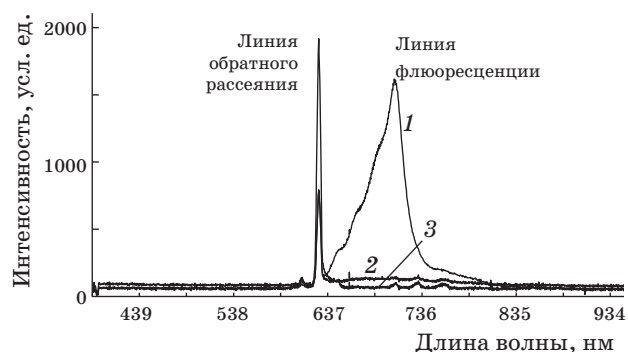
логии [19] и профпатологии (медицины труда) [20]. Во всех этих исследованиях использовался оптоволоконный лазерный эндоскопический спектроанализатор “ЛЭСА-01 БИОСПЕК” базовой конструкции группы доктора физ.-мат. наук Лощенова В.Б. [8]. В качестве источника возбуждения флюоресценции использовался He-Ne-лазер (10 мВт, 632 нм). Расстояние между освещающим и приемным оптическими волокнами – 0,5 мм. Чувствительность фотоприемника была на уровне  $10^{-11}$  Вт в области 600–750 нм, а отношение сигнал/шум не менее 10:1.

Типовой вид регистрируемых в этих экспериментах спектров обратного рассеяния и флюоресценции представлен на рис. 1. Во всех регистрируемых в работе спектрах интенсивность линии обратного рассеяния (632 нм) была уменьшена примерно в 1000 раз ступенчато-селективным оптическим фильтром. А в качестве количественного медицинского диагностического критерия для анализа полученных результатов использовался введенный ранее модифицированный коэффициент флюоресцентной контрастности  $K_f$ , определяемый по формуле [16]

$$K_f = 1 + (\beta I_f - I_l) / (\beta I_f + I_l), \quad (1)$$

где  $I_f$  – амплитуда регистрируемого сигнала в максимуме спектра АФ,  $I_l$  – амплитуда регистрируемого сигнала в линии обратно рассеянного излучения накачки (He-Ne-лазера),  $\beta$  – коэффициент ослабления фильтра ( $\beta \approx 10^3$ ).

Далее были проанализированы еще раз и повторены предыдущие эксперименты по статистической оценке погрешностей ЛФД в лабо-



**Рис. 1.** Типовой вид регистрируемых спектров обратного рассеяния и флюоресценции. 1 – видимый центр опухоли слизистой оболочки полости рта, 2 – окружающая нормальная ткань, 3 – небиологический светорассеивающий материал (эталон).

раторных и клинических условиях, когда авторами были установлены случайные погрешности единичных измерений в ЛФД на уровне 3–5% для небиологических светорассеивающих сред (приборная погрешность) и на уровне 30–40% для реальных пациентов со злокачественными новообразованиями [16]. В то время не представлялось возможности дать полного объяснения этим результатам и ряду наблюдавшихся других явлений, например, по частой регистрации повышенной АФ у онкологических больных со здоровых, интактных тканей. В настоящей работе сделана попытка дополнить эти результаты данными других оптических неинвазивных методов диагностики, в частности данными оптической тканевой оксиметрии (ОТО) и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Такая возможность была получена благодаря созданию многофункционального лазерного неинвазивного диагностического комплекса (МЛНДК), имеющего три соответствующих диагностических канала (рис. 2) [21].

Эта диагностическая система также использует жгут оптических волокон в качестве рабочего датчика с примерно одинаковой геометрией, что и у комплекса “ЛЭСА-01 БИОСПЕК”, поэтому методика проведения всех лабораторных и клинических экспериментов была идентичной применявшейся ранее. Но в качестве небиологического объекта диагностики в новой серии экспериментов использованы новые имитационные эталоны, воспроизводящие все основные оптические свойства биотканей, включая их эндогенную порфириновую АФ [22]. Эти эталоны выполнены из светорассеивающего материала – основы и спектрально-селективных светопоглощающих, светорассеивающих и флуоресцирующих слоев (рис. 3), что позволяет их одновременно использовать не только для метода ЛФД, но и для других диагностических каналов МЛНДК, например, для канала ОТО. С помощью этих эталонов авторами вновь была проведена статистическая оценка математического ожидания результата диагностики на небиологическом объекте ( $M$ ), среднего квадратического отклонения ( $\sigma$ ) и относительной случайной погрешности измерений  $\delta = 100 \sigma / M$  в процентах в серии из 30 повторяющихся идентичных разовых (мгновенных) измерений. Дополнительно была сделана попытка ответить и на следующие вопросы:

Возможно ли воспроизвести предыдущие статистические результаты (10 лет спустя!) с использованием нового диагностического оборудования и новых эталонов?

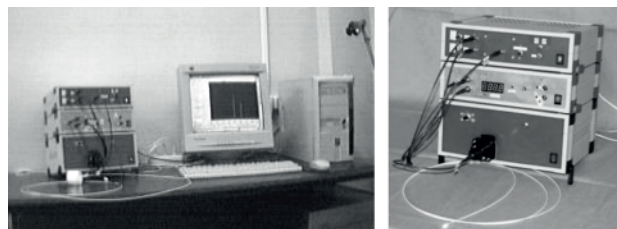


Рис. 2. Пилотный образец МЛНДК.

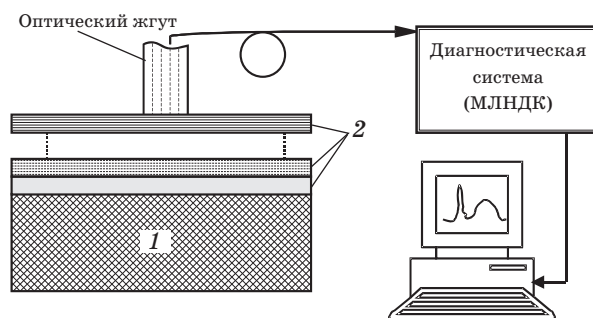


Рис. 3. Схема лабораторного эксперимента и конструкция имитационных эталонов. 1 – светорассеивающая основа, 2 – различные светопоглощающие, светорассеивающие и флуоресцирующие слой-пленки.

Является ли установленная ранее случайная погрешность измерений 3–5% для метода ЛФД на неживых эталонах и 30–40% для живых биотканей с патологией, специфичной лишь для метода ЛФД, или она проявляется и для других диагностических каналов МЛНДК, в частности для канала ОТО, и является объективно существующей погрешностью при таких методах и объектах диагностики?

Как можно объяснить предыдущие полученные авторами результаты исследований в свете новой гипотезы о корреляции спектров АФ эндогенных порфиринов в тканях с состоянием хронической тканевой гипоксии?

Является ли в свете этой гипотезы погрешность метода ЛФД 30–40% для живых биотканей с патологией критичной для проведения диагностики в практическом здравоохранении, или она не сильно влияет на конечное медицинское заключение по результатам диагностики и может объясняться какими-либо другими объективными причинами, также имеющими определенную диагностическую значимость для врача?

### Новые статистические результаты

Фрагмент новых статистических результатов для методов ЛФД и ОТО, полученных при

**Таблица 1.** Статистические результаты ЛФД при единичных (мгновенных) измерениях

| Объект исследования           | Статистические параметры | Регистрируемые физические параметры (сигналы), усл. ед. |       | Вычисляемый $K_f$ |
|-------------------------------|--------------------------|---|-------|-------------------|
|                               |                          | $I_l$   | $I_f$ |                   |
| эталон                        | $M$                      | 1918  | 227,9 | 0,212             |
|                               | $\sigma$                 | 37,6  | 9,3   | 0,007             |
|                               | $\delta, \%$             | 1,96  | 4,08  | 3,21              |
| здоровая ткань                | $M$                      | 1207  | 57,95 | 0,091             |
|                               | $\sigma$                 | 30,39   | 4,73  | 0,006             |
|                               | $\delta, \%$             | 2,52  | 8,16  | 6,85              |
| злокачественный процесс (рак) | $M$                      | 768   | 341,5 | 0,621             |
|                               | $\sigma$                 | 35,88   | 40,13 | 0,047             |
|                               | $\delta, \%$             | 4,75  | 11,75 | 7,61              |

**Таблица 2.** Статистические результаты ОТО при единичных (мгновенных) измерениях

| Объект исследования           | Статистические параметры | Регистрируемые физические сигналы, мВ |       |          | Вычисляемые медицинские параметры, отн. ед. |       |
|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|-------|----------|---|-------|
|                               |                          | $V_G$                                 | $V_R$ | $V_{IR}$ | $S_tO_2$                                    | $V_b$ |
| эталон                        | $M$                      | 897,8                                 | 2264  | 2114     | 0,89  | 0,22  |
|                               | $\sigma$                 | 16,23                                 | 38,79 | 24,12    | 0,04  | 0,01  |
|                               | $\delta, \%$             | 1,81                                  | 1,71  | 1,14     | 4,49  | 4,55  |
| здоровая ткань                | $M$                      | 821,9                                 | 2052  | 1358     | 0,81  | 0,13  |
|                               | $\sigma$                 | 65,71                                 | 73,95 | 47,13    | 0,09  | 0,02  |
|                               | $\delta, \%$             | 7,99                                  | 3,59  | 3,47     | 11,1  | 15,3  |
| злокачественный процесс (рак) | $M$                      | 774,5                                 | 2678  | 1594     | 0,93  | 0,16  |
|                               | $\sigma$                 | 39,76                                 | 83,18 | 40,51    | 0,06  | 0,01  |
|                               | $\delta, \%$             | 5,13                                  | 3,11  | 2,52     | 6,45  | 6,25  |

единичных (мгновенных) измерениях на небиологических имитационных эталонах в условиях лаборатории и пациентах, а также добровольных здоровых испытуемых в клинике, представлен в табл. 1 и 2 соответственно. В случае метода ОТО анализируемыми физическими параметрами были регистрируемые сигналы с фотоприемника (фотодиода) в милливольтгах в различных спектральных диапазонах длин волн (как представлено в табл. 2 – в зеленом ( $V_G$ ), красном ( $V_R$ ) и ближнем инфракрасном ( $V_{IR}$ ) диапазонах). А вычисляемыми медицинскими параметрами являлись параметры средней тканевой артериовенозной сатурации оксигемоглобина крови микроциркуляторного русла ( $S_tO_2$ ) и средней объемной фракции общего гемоглобина (крови) в тестируемом объеме биоткани ( $V_b$ ), т. е. обычные параметры в практике ОТО [26].

### Анализ предыдущих клинических данных

Как сообщалось ранее [17, 18], для онкологических больных авторы часто наблюдали сильные и объективные различия в спектрах АФ для разных пациентов, разных типов и разных

стадий развития опухолей. Но в то время авторами не было найдено соответствие в различиях наблюдаемых спектров АФ с различиями в локализации, морфологической форме рака, стадии его развития и др. Самые разнообразные спектры фиксировались как для отличающихся форм рака и стадий его развития, так и для полностью идентичных. В ряде клинических случаев (около 30%) не было отмечено видимого сигнала АФ для запущенного рака слизистых полости рта до начала курса радиотерапии и в течение всего курса лечения. Ряд пациентов (порядка 40%) обладал повышенной АФ не со всей поверхности опухоли, а только с 1–2 точек вокруг центра. Очень изменчивый характер спектров АФ наблюдался в течение курса радиотерапии. В целом было установлено, что среднее начальное значение  $K_f$  по всем пациентам с повышенной начальной порфириновой АФ с опухоли находится на уровне  $K_f = 0,6–0,7$ , в то время как для здоровых испытуемых значение  $K_f < 0,1$ .

Для пациентов с длительно незаживающими эрозивно-язвенными поражениями (ЭЯП) желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) среднее начальное значение  $K_f$  было установлено на уровне



0,25–0,35 [19]. И чем меньше регистрировалось индивидуальное начальное значение  $K_f$  с области ЭЯП ЖКТ, тем более эффективной оказывалась для этих пациентов лазерная терапия, приводящая к концу курса к выравниванию значений  $K_f$  для области патологии и интактных слизистых тканей на уровне 0,05–0,08.

Изучение эндогенной АФ порфиринов для кожи пальцев рук у больных профессиональной вибрационной болезнью (ВБ), которая вызывается длительным воздействием производственной вибрации на руки рабочего, также показало стойкое увеличение значения  $K_f$  [20]. На 2-й стадии ВБ с выраженными трофическими поражениями кожи пальцев рук среднее значение  $K_f$  было определено на уровне  $0,23 \pm 0,08$ . Для начальной (1-й) стадии ВБ значение  $K_f$  было также повышено, но не столь значительно – на уровне  $0,17 \pm 0,08$  при значениях  $K_f$  в контрольной группе добровольных испытуемых  $0,08 \pm 0,05$ .

Что может объединять все эти клинические результаты в свете изучаемой проблемы медицинской достоверности и интерпретации данных ЛФД? Если предположить, что повышенное накопление эндогенных порфиринов в биотканях вызывается повышенной клеточной пролиферацией, тогда невозможно объяснить полученные результаты в области гастроэнтерологии [19] и медицины труда [20], так как, например, хорошо известно, что в пальцах кожи рук при ВБ нет никакой повышенной клеточной пролиферации. Также ее нет и в случае длительно незаживающих ЭЯП ЖКТ. Эти результаты не могут быть объяснены и микробной этиологией, так как в общем случае она не применима для пациентов с ВБ.

По мнению авторов, без явных противоречий все эти результаты с единых позиций могут быть объяснены только одним образом – наличием хронической тканевой гипоксии и ее вариабельностью в процессе курсов лечения, особенно курсов радиотерапии, если принять гипотезу о влиянии хронической гипоксии на процесс накопления порфиринов в биотканях. Во всех описанных выше случаях тканевая гипоксия является принципиально важным, общим и объективным присутствующим фактором. Например, в соответствии с общими радиобиологическими предпосылками злокачественные новообразования часто имеют стойкую фракцию гипоксических клеток, являющихся фактором радиорезистентности опухолей [23]. Часто она наблюдается не по всему объему опухоли, а в отдельных ее фрагментах, и колеблется в течение

курса лучевого лечения. Именно хроническая гипоксия может влиять на метаболизм порфиринов в тканях [13, 15].

Поэтому, проанализировав еще раз все полученные ранее результаты, в целях создания обоснованной системы медицинской интерпретации данных ЛФД с учетом гипотезы о влиянии на результаты ЛФД тканевой гипоксии, была установлена следующая предварительная классификация полученных авторами значений  $K_f$  в терминах тканевой гипоксии:

$K_f < 0,1$  – отсутствие видимой хронической гипоксии,

$K_f = 0,1–0,2$  – начальная (легкая стадия) гипоксии,

$K_f = 0,2–0,4$  – хроническая гипоксия средней тяжести,

$K_f > 0,4$  – тяжелая стадия хронической гипоксии тканей.

### Обсуждение полученных результатов

Что касается воспроизводимости данных ЛФД (табл. 1), то, очевидно, был получен результат по относительной погрешности измерений того же порядка, что и ранее. Небольшое снижение общей относительной погрешности для каждого из объектов диагностики можно объяснить более совершенным диагностическим оборудованием, чем использованное 10 лет назад. В общем же, ситуация, когда случайная погрешность единичных (мгновенных) измерений возрастает при переходе от неживого к живому объекту диагностики и от нормы к патологии (например, злокачественному процессу на слизистой полости рта), полностью качественно воспроизводится.

Более важно, что тот же самый результат был зафиксирован и для метода ОТО (табл. 2), т. е. данная закономерность не является специфичной только для метода ЛФД. Кроме того, полученный результат для ОТО показывает, что вычисляемые медико-биологические параметры в ОТО имеют существенно более ощутимую случайную погрешность (разброс данных от измерения к измерению), чем регистрируемые физические параметры (сигналы). Это говорит о том, что вычислительные алгоритмы методов и приборов ОТО вносят основной вклад в суммарную погрешность измерений в виде методической погрешности<sup>1</sup>. Причем значительная часть этой методической

<sup>1</sup> Необходимо особо подчеркнуть, что диагностический критерий  $K_f$  был специально разработан и предложен авторами для метода ЛФД в целях снижения общей погрешности метода [16].

погрешности, видимо, формируется на самых заключительных этапах вычислений при решении обратной задачи и определении непосредственно параметров  $S_tO_2$  и  $V_b$  по вычисленным оптико-физическим характеристикам среды, так как решение прямой задачи на поглощение и рассеяние света в биоткани может быть сегодня выполнено достаточно точно для большинства практически важных случаев в ОТО [24]. Общая же приборная погрешность без учета вычислительных алгоритмов для обоих методов ЛФД и ОТО, оцениваемая на имитационных эталонах по уровням регистрируемых первичных физических данных, оказывается не очень существенной (1–2%) и того же порядка, что и был получен ранее [16].

Хотя общая случайная погрешность в данной серии экспериментов на живом объекте исследований и не превысила 20%, тем не менее, очень важно с точки зрения метрологии оценить значимость и возможное влияние этой “биологически наведенной погрешности” на конечное медицинское заключение по результатам диагностического обследования пациента методом ЛФД. В предложенной в предыдущем разделе классификации значений  $K_f$  в терминах гипоксии числовые значения  $K_f$  меняются от стадии к стадии в 2 раза или более, поэтому, очевидно, что даже погрешность в определении  $K_f$  30–40% не будет иметь существенного значения. Хотя сам факт увеличивающейся случайной погрешности, видимо, мог бы стать предметом дополнительного подробного исследования.

Что же может являться причиной увеличения случайной погрешности измерений в случае живых биологических тканей? Сегодня полученные новые совокупные данные диагностики по методам ОТО и ЛДФ позволяют дать определенный ответ на этот вопрос. Хорошо известно, что в классической ЛДФ объективно наблюдаются ярко выраженные ритмы в микроциркуляции крови для живых биологических тканей [25]. Такие же ритмы неоднократно наблюдались авторами и методами ОТО [15, 17]. Поэтому при разовых (мгновенных) измерениях, например параметра  $S_tO_2$ , выполняемых время от времени, врач может наблюдать картину, изображенную на рис. 4а. И этот результат может быть интерпретирован им как случайный разброс в диагностических данных.

Но если измерения выполняются во времени непрерывно, как это показано на рис. 4б, тогда параметр  $S_tO_2$ , представленный как функция времени, будет интерпретирован врачом как про-

явление ритмов микрогемодинамики в системе микроциркуляции крови, т. е. как абсолютно корректный и объяснимый результат. Таким образом, живой и изменчивый характер объекта диагностики, особенно на уровне системы микроциркуляции крови, не принимаемый во внимание, может быть легко и ложно интерпретирован как случайная погрешность метода.

То же самое, вероятно, можно сказать и о методе ЛФД. Кровь в микроциркуляторном русле биоткани является сильным спектральным поглотителем света, особенно для синего и зеленого диапазонов видимого спектра, а также сильным светорассеивающим компонентом в красном диапазоне длин волн. Поэтому колебания объема крови в микрососудах биоткани ( $V_b$ ) и разная степень ее оксигенации ( $S_tO_2$ ) могут сильно влиять на регистрируемые сигналы в ЛФД. Чем более изменчивая наблюдается перфузия тканей кровью, тем больший “случайный” разброс в регистрируемых данных ЛФД можно наблюдать *in vivo* в клиническом эксперименте. Результаты в табл. 1 хорошо отражают эту тенденцию.

Интересно отдельно отметить, что эти последние данные позволяют по-новому взглянуть на

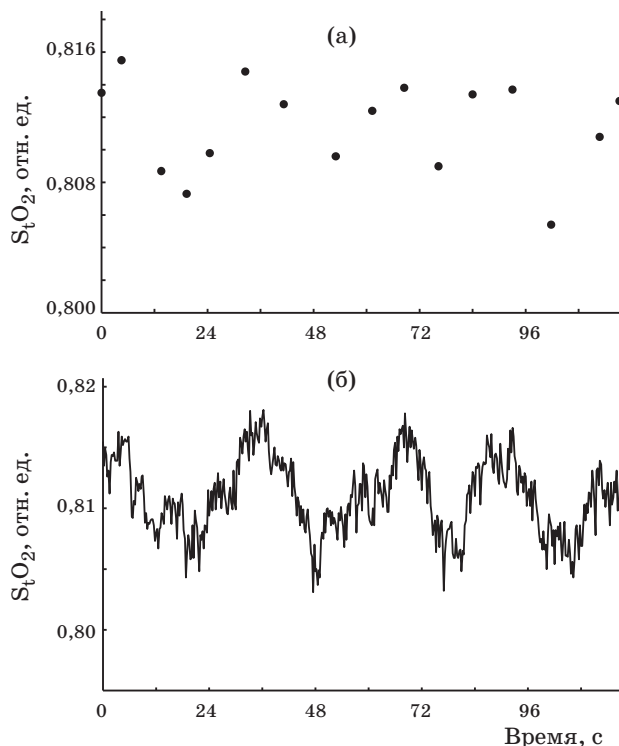


Рис. 4. Различный “случайный” разброс в результатах однократных (а) и непрерывных (б) во времени результатов измерений.

предыдущие результаты авторов, полученные задолго до написания этой статьи, и дать ряд новых объяснений наблюдавшимся ранее явлениям, не получившим в свое время должного обоснования. Так, например, 10 лет назад сообщалось о наблюдавшейся повышенной АФ порфиринов с окружающих опухолей интактных тканей и даже с других здоровых тканей по всему организму для ряда онкологических больных [16]. В то время исследовались опухоли III–IV стадии, и повышенные значения  $K_f$  с интактных (здоровых) тканей могли быть следствием общей интоксикации организма больного на терминальной стадии развития рака, вызывающей общую ишемию и гипоксию тканей по всему организму пациента. Изменчивый характер АФ опухолей, наблюдавшийся в течение курса радиотерапии [17], мог отражать развитие деструктивных процессов в системе микроциркуляции крови под действием сильного ионизирующего излучения, что хорошо известно в теоретической радиологии (разрушение микрососудов опухоли, неоангиогенез и проч.). А общее уменьшение  $K_f$  к концу курса радиотерапии [18] могло свидетельствовать о полном разрушении микрососудов опухоли, если принять гипотезу о поступлении порфиринов в клетки опухоли с током крови, или, наоборот, о восстановлении и усилении процессов микроциркуляции крови в опухоли с общим уменьшением уровня тканевой гипоксии. В любом случае в настоящее время можно отметить явную корреляцию данных ЛФД с процессами микрогемодинамики и кислородного обмена в тканях.

### Заключение

Приведенные данные исследований показывают, что сегодня есть все основания утверждать, что результаты ЛФД в любых лабораторных и клинических экспериментах являются достаточно достоверными с медицинской точки зрения и легко воспроизводимыми. Более того, несмотря на факт наличия формальной “случайной” погрешности разовых (мгновенных) измерений в ЛФД на уровне 20–40%, точность диагностического результата в свете выявленной корреляции данных ЛФД с состоянием хронической гипоксии в тканях может быть достаточно высока. Формальный “случайный” разброс в результатах единичных измерений, который часто наблюдается в тестовых клинических экспериментах, в большинстве своем определяется не приборной, а методической по-

грешностью и живым и изменчивым характером объекта диагностики, особенно на уровне системы микроциркуляции крови. Соответственно, чем больше информации будет у врача о различных особенностях процесса микроциркуляции крови в тестируемом объеме биоткани, тем более точную и корректную интерпретацию наблюдаемых данных ЛФД он сможет дать.

Необходимо отдельно подчеркнуть, что в проводимых клинических исследованиях не ставилась специальная цель изучения каких-либо биохимических или биофизических механизмов накопления порфиринов в биологических тканях на молекулярном или клеточном уровне. Изучались лишь диагностические возможности ЛФД в эксперименте в клинике для объяснения с единых теоретических позиций наблюдаемых экспериментальных данных с точки зрения информативности диагностики и их медицинской интерпретации. Тем не менее, полученные в работе результаты позволяют сегодня с определенной долей уверенности говорить и о возможных биофизических механизмах повышенного накопления порфиринов в тканях. Они могут быть связаны с состоянием хронической гипоксии в тканях и с мобилизацией порфиринов в этих условиях из потока циркулирующей в тканях крови. Это, конечно, не исключает и другие механизмы, влияющие на метаболизм порфиринов в клетках, например, часто обсуждаемого в литературе механизма, связанного с понижением уровня рН в клетках и тканях. Однако, видимо, можно достаточно легко показать, что начальным фактором и спусковым механизмом изменения рН в тканях и клетках также является хроническая тканевая гипоксия [27, 28].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-02-00769.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Handbook of biomedical fluorescence / Ed. by Mycek M.A., Pogue B.W. N-Y: Marcel Dekker Inc., 2003. 665 p.
2. Harris D.M., Werkhaven J. Endogenous porphyrin fluorescence in tumors // *Lasers in Surgery and Medicine*. 1987. V. 7. № 4. P. 472–476.
3. Kato H., Aizawa K., Ono J., Konaka C., Kawate N., Yoneyama K., Kinoshita K., Nishimiya K., Sakai H., Noguchi M. Clinical measurement of tumor fluorescence using a new diagnostic system with hematoporphyrin derivative, laser photoradiation and spectroscopy // *Lasers in Surgery and Medicine*. 1984. V. 4. № 1. P. 49–58.
4. Demos S. G., Gandour-Edwards R., Ramsamooj R., de-Vere White R. Near-infrared autofluorescence

- imaging for detection of cancer // *Journal of Biomed. Optics*. 2004. V. 9 № 3. P. 587–592.
5. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. М.: Мир, 1965. 484 с.
  6. Policard A. Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood // *Compte Rendus. Soc. Biol.* 1924. V. 91. P. 1423–1424.
  7. Ghadially F.N., Neish W.J.P. Porphyrin fluorescence of experimentally produced squamous cell carcinoma // *Nature*. 1960. V. 169. P. 1124–1135.
  8. Рогаткин Д.А. Неинвазивная лазерная флуоресцентная диагностика в медицине // *Лазерная медицина*. 2000. Т. 4. № 1. С. 30–35.
  9. Аскарров К.А., Березин Б.Д., Евстигнеева Р.П., Быстрицкая Е.В., Ениколопан Н.С. Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение. М.: Наука, 1987. 384 с.
  10. Orenstein A., Kostenich G., Rothmann C., Barshack I., Malik Z. Imaging of human skin lesions using multipixel Fourier transform spectroscopy // *Lasers in Surgery and Medicine*. 1998. V. 13. № 4. P. 112–118.
  11. Сорокатый А.Е., Ягудаев Д.М., Маркова М.В. Фотодинамическая терапия в урологии // *Лазерная медицина*. 2006. Т. 10. № 6. С. 58–61.
  12. El-Sharabasy M.M.H., El-Wassel A.M., Hafez M.M., Salim S.A. Porphyrin metabolism in some malignant diseases // *Br. J. Cancer*. 1992. V. 65. P. 409–412.
  13. Кубатиев А.А. Порфирины, витамин В-12 и рак. Тула: Приокское изд-во, 1973. 224 с.
  14. Рогаткин Д.А. Базовые принципы организации системного программного обеспечения многофункциональных неинвазивных спектрофотометрических диагностических приборов и комплексов // *Медицинская техника*. 2004. № 2. С. 8–12.
  15. Горенков Р.В., Карпов В.Н., Рогаткин Д.А., Шумский В.И. Хроническая гипоксия как один из факторов повышенной флуоресценции эндогенных порфиринов в живых биологических тканях // *Биофизика*. 2007. Т. 52. № 4. С. 711–717.
  16. Рогаткин Д.А., Приснякова О.А., Моисеева Л.Г., Черкасов А.С. Анализ точности лазерной клинической флуоресцентной диагностики // *Измерительная техника*. 1998. № 7. С. 58–61.
  17. Rogatkin D.A., Polyakov P.Yu., Bychenkov O.A., Stepanenko E.A. Noninvasive fluorescent diagnostics in radiotherapy of mucosal oral tumors // *Proc. SPIE*. 2002. V. 4707. P. 236–243.
  18. Tchernyi V.V., Rogatkin D.A., Bychenkov O.A., Polyakov P.Yu. Some results of multiwave in situ autofluorescence diagnostics // *Proc. SPIE*. 2005. V. 5693. P. 336–343.
  19. Клебанов Г.И., Рогаткин Д.А., Терещенко С.Г. Измерение поверхностной флуоресценции эндогенных порфиринов в процессе лазерной терапии язв желудка и 12-перстной кишки // *Биофизика*. 2004. Т. 49. № 5. С. 941–947.
  20. Любченко П.Н., Горенков Р.В., Рогаткин Д.А., Гинзбург М.Л., Карпов В.Н. Использование лазерных методов диагностики для оценки трофических нарушений в дистальных отделах тканей верхних конечностей у больных вибрационной болезнью // *Лазерная медицина*. 2005. Т. 9. № 3. С. 38–43.
  21. Sidorov V.V., Rogatkin D.A. Multifunctional laser noninvasive diagnostic system for medicine // *Proc. of Russian-Bavarian Conf. on Biomedical Engineering*. Moscow: MIET, 2008. P. 362–364.
  22. Ланаева Л.Г., Рогаткин Д.А. Простые рабочие эталоны для калибровки и поверки приборов неинвазивной спектрофотометрии // *Мат. 9-й междунац. конф. “Измерение, контроль, информатизация” (ИКИ-2008)* / Под ред. Хомутова О.И. и Сучковой Л.И. Барнаул: АГТУ им. И.И. Ползунова, 2008. С. 145–149.
  23. Harting C., Peschke P., Borkenstein K., Karger C.P. Single-cell-based computer simulation of the oxygen-dependent tumour response to irradiation // *Phys. Med. Biol.* 2007. V. 52. P. 4775–4789.
  24. Рогаткин Д.А. Об особенностях в определении оптических свойств мутных биологических тканей и сред в расчетных задачах медицинской неинвазивной спектрофотометрии // *Медицинская техника*. 2007. № 2. С. 10–16.
  25. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / Под ред. Крупаткина А.И., Сидорова В.В. М.: Медицина, 2005. 256 с.
  26. Amzina M.V., Mischev A.A., Rogatkin D.A., Sidorov V.V. Combined medical diagnostic system with separated Laser-Doppler and reflectance oximeter channels // *Proc. SPIE*. 2006. V. 6163. 616317.
  27. Soyemi O., Shear M., Landry M., Anunciacion D., Soller B. *In vivo*, noninvasive measurement of muscle pH during exercise using near infrared spectroscopy // *Proc. SPIE*. 2005. V. 6007. 60070N.
  28. Gallagher F.A., Kettunen M.I., Day S.E., Hu De-En, Ardenkjær-Larsen J.H., Zandt R., Jensen P.R., Karlsson M., Golman K., Lerche M.H., Brindle K.M. Magnetic resonance imaging of pH *in vivo* using hyperpolarized <sup>13</sup>C-labelled bicarbonate MR images reveal tumour pH // *Nature*. 2008. V. 453. № 7197. P. 940–943.