

Пендюрин И.В., Струц С.Г., Ступак В.В.

Определение оптических параметров ликвора и опухолевой жидкости при проведении лазерной фотодинамической терапии злокачественных внутримозговых опухолей

Pendjurin I.V., Strutz S.G., Stupak V.V.

Identification of optical parameters of the cerebrospinal fluid and tumor fluid during laser photodynamic therapy of malignant intracerebral tumors

ФГБУ «Новосибирский НИИТО им. Я.Л. Цивьяна» МЗ России, г. Новосибирск

Кратко изложена методика лечения злокачественных опухолей головного мозга с использованием лазерной фотодинамической терапии, основанная на введении фотосенсибилизатора непосредственно в ложе удаленной опухоли и послеоперационном его облучении. Рассмотрена проблема частичной потери лазерного света на пути к облучаемым тканям, обусловленной рассеянием и поглощением примесными частицами белка и крови, содержащимися в жидкости, заполняющей ложе резецированной опухоли. Экспериментально исследованы зависимости величины потерь световой мощности от концентрации белка и эритроцитов в ликворе и кистозной опухолевой жидкости. Приведены методики аналитического и графического определения величины поправок для световой мощности, обеспечивающих компенсацию потерь. *Ключевые слова:* фотодинамическая терапия, лазерное излучение, нейроонкология, внутримозговые опухоли головного мозга, оптические характеристики.

A technique for treating cerebral malignant tumors using laser photodynamic therapy (PDT) is briefly described by the authors. The described technique includes a direct photosensitizer's injection into a bed of removed tumours and its further postoperative irradiation. The authors discuss the problem of partial loss of laser light on its way to target tissues. This loss is caused by light dispersion and absorption in protein and blood additional particles which are present in the liquid accumulating in the bed of the resected tumor. In experiment, there have been analyzed relations between the lost light power and concentrations of protein and erythrocytes in the cerebrospinal fluid and in the cystic tumor liquid. The authors propose techniques for analytical and graphic estimation of light power corrections which could compensate light losses. *Key words:* photodynamic therapy, laser irradiation, neurooncology, intracranial tumours, optic characteristics.

Введение

Неудовлетворенность результатами лечения глиом головного мозга стимулирует поиск новых адъювантных методов воздействия на неудаленные комплексы опухолевых клеток [1, 5, 8, 9, 15, 18, 19]. Некоторые исследователи данной проблемы связывают определенные надежды с возможностями лазерной фотодинамической терапии (ЛФДТ) [10, 16, 17]. Отметим, что в описанных случаях лечения больных с глиомами мозга различной степени анаплазии [2, 3, 4, 13, 14] ФДТ (с использованием фотосенсибилизатора «Фотодитазин») применяли интраоперационно.

Нами по результатам комплексных клинико-экспериментальных исследований создана методика лечения злокачественных опухолей головного мозга с использованием ЛФДТ [6, 7], основанная на введении фотосенсибилизатора – производного фталоцианина алюминия (фотосенса) непосредственно в ложе удаленной опухоли. Лазерное облучение ложа проводили послеоперационно, что является главной отличительной особенностью данной методики. В этом случае лазерный свет на своем пути к облучаемым тканям частично рассеивается и поглощается примесями белка и крови, содержащимися в жидкости, заполняющей ложе резецированной опухоли. Поэтому при расчете дозы облучения перед каждым сеансом необходимо учитывать поправки, обусловленные потерями света за счет его рассеяния и поглощения фракциями белка и крови (эритроцитов). Величины этих поправок определяются концентрациями примесей и расстоянием от дистального наконечника световолоконного инструмента, применяемого для транспортировки

лазерного излучения, до облучаемой поверхности ложа опухоли. Сказанное относится к случаю облучения коллимированным лазерным пучком, когда поперечный размер облучаемого участка ложа опухоли равен диаметру светового пучка.

В публикациях, посвященных исследованию оптических характеристик биологических тканей [12], практически не содержится сведений по рассеянию и поглощению лазерного излучения красной области спектра ликвором или жидкостью опухолевой кисты за исключением экспериментов, описанных в единичных работах [11]. Вероятно, это обусловлено тем, что ранее не предпринималось попыток проводить ЛФДТ больным с нейроонкологическими патологиями в послеоперационном периоде путем локальной пункционной доставки световода в ложе опухоли.

В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение оптических характеристик ликвора, кистозной опухолевой жидкости с примесью белка и эритроцитов и зависимости степени ослабления мощности лазерного излучения от концентрации примесных частиц.

Материалы и методы

При прохождении коллимированного пучка света через мутную светорассеивающую или светопоглощающую среду доля световой мощности, достигшая объекта облучения, может быть определена следующим образом:

$$W_{\text{оп}} = KW, \quad (1)$$

где W – исходная световая мощность, $W_{\text{оп}}$ – световая мощность на облучаемом участке поверхности, K – ко-

эффект, учитывающий потери света, обусловленные поглощением и рассеянием на всем пути светового луча. В нашем случае световые потери вызываются тремя факторами: светорассеянием при прохождении слоя натурального ликвора, содержащего в состоянии физиологической нормы примесные частицы в малых концентрациях, рассеянием света примесью белка и поглощением света эритроцитами – два последних вклада вызваны присутствием частиц белка и эритроцитов, обусловленных патологией. Каждый из этих факторов вносит свой вклад в общие световые потери независимо от двух остальных: это означает, что результирующий коэффициент потерь света K может быть определен как произведение трех составляющих: $K = K_d K_b K_z$, где K_d – коэффициент ослабления света ликвором, K_b – коэффициент ослабления света, вызванного рассеянием на белковой фракции, K_z – коэффициент поглощения света эритроцитами. Подставив в формулу (1) вместо K парциальные коэффициенты K_d , K_b и K_z , получим:

$$W_{\text{оп}} = K_d K_b K_z W. \quad (2)$$

В наших исследованиях в качестве источника света был использован лазерный терапевтический аппарат «Кристалл-М» с длиной волны излучения 675 нм. Экспериментальные зависимости пропускания света от потерь в ликворе или опухолевой жидкости и от концентраций белка и эритроцитов определяли с использованием модели на основе образцов физиологического раствора с примесью белка и/или эритроцитов различной концентрации. Прежде всего, следовало выяснить, сколь велик вклад в потери света растворов белка с концентрацией, соответствующей или близкой к физиологической норме, по сравнению с характерными концентрациями примесей, обусловленными патологией. Измерения пропускания растворов с различным содержанием белка проводили на спектрофотометре с использованием сменных кювет различной толщины. Результаты измерений представлены на рис. 1. Показатели пропускания света растворами приведены в относительных единицах, где 100% = 1.

Было обнаружено, что потери света при прохождении через белковый раствор увеличиваются с ростом концентрации и расстояния.

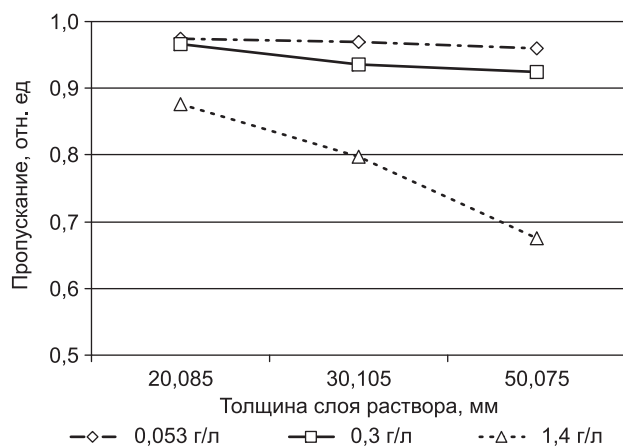


Рис. 1. Зависимости пропускания раствора белка от толщины исследуемого образца для трех фиксированных значений концентрации

Учитывая, что среднестатистический поперечный размер кистозных полостей (туморозных или послеоперационных кист) головного мозга составляет ~2–5 см, а при выполнении ЛФДТ дистальный наконечник световода можно приблизить к стенке ложа опухоли на расстояние ~1,5–2,5 см, значимыми для нас становятся исследования растворов с толщиной слоя, лежащей в диапазоне 1–5 см.

Из графиков также следует, что для таких значений толщины при концентрациях белка, близких к физиологической норме, уровни потерь света не превышают 1% и становятся существенными для концентраций, имеющих место при наличии патологии. Это означает, что влиянием слоя ликвора с естественной концентрацией белка можно пренебречь, то есть значение K_d положить равным единице. Тем самым мы сводим изучаемое явление к модели «прозрачный раствор – поглощающие примеси» (белок и эритроциты), когда для количественного определения потерь света при прохождении его коллимированного пучка через поглощающий раствор применим закон Бугера–Ламберта–Бера, а выражение (2) принимает вид:

$$W_{\text{оп}} = K_b K_z W. \quad (3)$$

Далее мы более подробно определили величины потерь света при прохождении его через растворы белка с различными значениями концентрации. Исследованы растворы с концентрацией белка, равной: 0,039; 0,090; 0,140; 0,310; 0,670; 1,280 и 2,560 г/л. Измерения проводили на спектрофотометре с использованием кюветы толщиной 10 мм. Результаты представлены на рис. 2, где экспериментальные точки соединены кривой, построенной с использованием метода наименьших квадратов.

Из графика следует, что при расчете суммарной экспозиции для сеанса ЛФДТ необходимо учитывать влияние примесного белка: например, при концентрации белка 3 г/л потери энергии лазерного излучения превышают 10%.

Попробуем, используя экспериментальные результаты, определить аналитическое выражение для коэффициента ослабления света белковой фракцией при прохождении его через ликвор, содержащий белок. При прохождении пучка света через рассеивающую среду толщиной d мощность прямопрошедшего света (коллимированное пропускание) определяется в соответствии с экспоненциальным законом Бугера–Ламберта–Бера:

$$W = W_0 \exp(-A_b c d), \quad (4)$$

где W_0 и W – мощность излучения соответственно на входе в слой поглощающего вещества и на выходе из него, d – толщина слоя в см, c – концентрация растворенного вещества в г/л, A_b [л/(г·см)] – нормирующая константа, зависящая от свойств растворенного вещества, в данном случае, белка.

Поскольку толщина слоя раствора и его концентрация нам известны из эксперимента, попробуем определить значение константы A_b и получить рабочую формулу для вычисления коэффициента K_b в (3). Преобразуем выражение (1) с учетом (4):

$$W_{\text{оп}} = W \exp(-A_b c d), \text{ или } W_{\text{оп}}/W = \exp(-A_b c d). \quad (5)$$

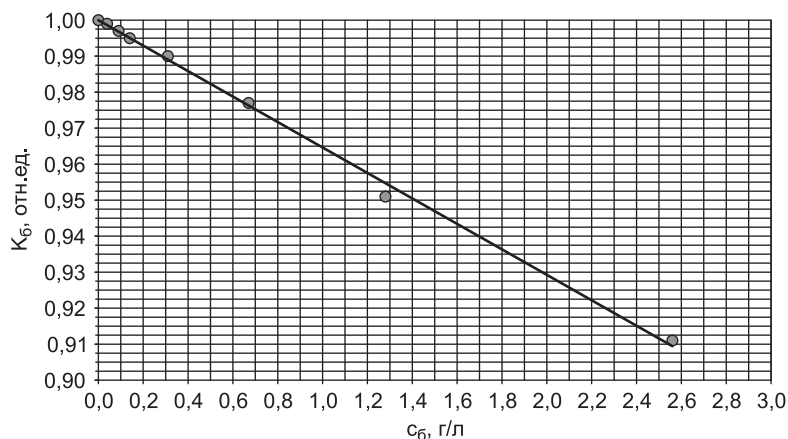


Рис. 2. Зависимость пропускания раствора белка от концентрации

Отметив, что величина $W_{\text{оп}}/W$ есть коэффициент пропускания света белковым раствором K_6 , определенный нами экспериментально, перепишем (5) в следующем виде:

$$K_6 = \exp(-A_6 cd). \quad (6)$$

Вычислив для каждой пары заданных точек c и экспериментально измеренных K_6 значения A_6 и определив среднюю величину этого параметра (с сохранением двух значащих цифр), получим рабочее значение $A_6 = 0,034$ л/(г·см). Подставив этот результат в (6), получим рабочую формулу для поправочного коэффициента K_6 :

$$K_6 = \exp(-0,034c_6d), \quad (7)$$

где c_6 – концентрация белка в г/л, d – расстояние от дистального конца световода до облучаемой поверхности в сантиметрах.

Подобным же образом были экспериментально получены зависимости пропускания света от концентрации взвеси эритроцитов в физиологическом растворе и определено аналитическое выражение для коэффициента K_3 :

$$K_3 = \exp(-0,00013c_3d), \quad (8)$$

где расстояние d взято в сантиметрах, а концентрация c_3 – в абсолютном количестве эритроцитов в микролитре взвеси.

Подставляя в (3) полученные выражения для K_6 (7) и K_3 (8), получим в окончательном виде:

$$W_{\text{оп}} = \exp[-(0,034c_6 + 0,00013c_3)d]W. \quad (9)$$

Данное выражение представляет собой рабочую формулу для подсчета фактической мощности излучения, достигшего облучаемого участка при прохождении коллимированного пучка света сквозь слой нашей модели ликвора с примесью белка и эритроцитов. Для применения данной формулы к реальному ликвору, содержащему вызванные патологией примеси крови и белка, необходимо предварительно определить численные значения параметров A_3 и A_6 для проб жидкого содержимого кистозной полости по вышеописанной методике.

Определение поправочных коэффициентов с помощью номограмм

Определение численных значений поправочных коэффициентов K_6 или K_3 по заданным концентрациям белка или, соответственно, эритроцитов в ликворе можно

упростить, используя графический метод – номограммы. В нашем случае номограмма представляет собой двухмерное графическое поле, каждой точке которого однозначно соответствует тройка чисел – для заданных значений расстояния d и концентрации c вполне определенное значение поправочного коэффициента K .

Номограммы были получены расчетным путем. Поскольку аналитические выражения для зависимости величин указанных коэффициентов от уровня концентрации белка (или, соответственно, эритроцитов) и соответствующих расстояний имеют одинаковый вид, то и номограммы для их определения составлялись схожим образом.

Рассмотрим методику построения номограмм на примере белка (рис. 3, а). По оси абсцисс вправо от начала координат отложены значения расстояния d от излучающего наконечника световода до поверхности облучаемого участка ложа опухоли, на оси ординат нанесены значения поправочного коэффициента K_6 от 0 до 1. Семейство кривых представляет собой изолинии, рассчитанные по формуле (7), где независимой переменной является расстояние d , для нескольких дискретных значений концентрации белка в ликворе c_6 . Каждая кривая семейства помечена справа соответствующим значением концентрации белка. Промежуточные значения концентрации (не лежащие на изолиниях) подбираются визуальной экстраполяцией.

Номограмма для отыскания значения множителя K_3 (рис. 3, б) построена аналогичным образом (с использованием формулы (8), только вместо концентрации белка в ней фигурирует концентрация эритроцитов).

Использование номограмм позволяет при подготовке сеанса ЛФДТ обойтись без вычисления значений алгебраических функций (в нашем случае – экспонент) и свести процедуру определения численного значения поправочного множителя для мощности излучения лазера к простому перемножению коэффициентов K_6 и K_3 , найденных из графиков, соответственно, на рис. 3, а и 3, б.

Описанная методика применима и в тех ситуациях, когда концентрация белка и эритроцитов в ликворе или опухолевой жидкости достигает таких уровней, при которых лазерный свет полностью поглощается примесями и не достигает поверхности подлежащего облучению

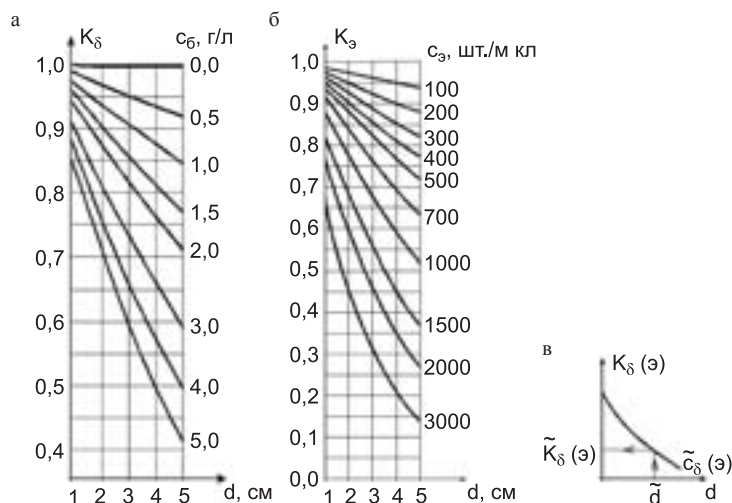


Рис. 3. Номограммы для определения значения коэффициента K_δ (а) и K_ϵ (б) по известным значениям расстояния от световода до ложа опухоли d (см) и соответственно концентрации белка c_δ (г/л) и эритроцитов c_ϵ (шт./мкл). Схема работы с номограммой (в): $\tilde{d}$ – исходное значение расстояния от световода до стенки опухоли, $\tilde{c}_\delta$, $\tilde{c}_\epsilon$ – исходное значение концентрации белка и соответственно эритроцитов в ликворе, $\tilde{K}_\delta$, $\tilde{K}_\epsilon$ – определенное по номограмме значение коэффициента ослабления света, вызванного примесью белка и соответственно эритроцитов

участка ложа опухоли. В таких случаях перед процедурой ЛФДТ выполняется предварительное отмывание кистозной полости физиологическим раствором с целью снижения потерь света и подбора максимально щадящего режима облучения.

Выводы

1. При проведении послеоперационной ЛФДТ большое значение имеет оптическое состояние среды (ликвор, кистозная жидкость), разделяющей выходной торец световода и облучаемую поверхность опухоли. Эти среды практически всегда содержат примеси белка и эритроцитов в концентрациях, превышающих физиологическую норму, вследствие чего имеет место заметное поглощение лазерного излучения, которое должно быть учтено при подготовке сеанса ЛФДТ.
2. Методика, описанная в настоящей работе, позволяет аналитически или графически определять корректирующие поправки для величины экспозиции, компенсирующие потери лазерного света на пути от световода до поверхности опухоли.

Литература

1. Галанов А.В., Коришунов А.Г. Результаты комбинированного лечения глиобластом больших полушарий головного мозга // Мат. III съезда нейрохирургов России. СПб., 2002. С. 88–89.
2. Гейниц А.В. и др. Фотодинамическая терапия. История создания метода и ее механизмы // Лазерная медицина. 2007. Т. 11. № 3. С. 42–46.
3. Куржупов М.И. Интраоперационная флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия у больных с метастатическими поражениями головного мозга: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2011. 24 с.
4. Олюшин В.Е., Комфорт А.В., Улитин Ю.А. Новый способ фотодинамической терапии в комплексном лечении глиальных опухолей головного мозга // Росс. биотерапевт. журнал. 2007. Т. 6. № 1. С. 23.
5. Олюшин В.Е. и др. Итоги и перспективы комплексной терапии больных глиомами больших полушарий мозга // Мат. III съезда нейрохирургов России. СПб., 2002. С. 136.
6. Патент РФ № 2 214 293 (опубл. 20.10.2003, Бюл. № 29). Способ лечения злокачественных опухолей головного мозга с

- использованием фотодинамической лазерной терапии. Заявка № 2001120426, приоритет от 20.07.2001 / А.П. Огиренко, С.Д. Никонов, В.В. Ступак, А.Н. Денисов, И.В. Пендюрин.
7. Патент РФ № 2 225 233 (опубл. 10.03.2004, Бюл. № 7). Способ доставки фотосенсибилизатора в опухолевую ткань мозга. Заявка № 2001112141, приоритет от 03.05.2001 / А.П. Огиренко, С.Д. Никонов, В.В. Ступак, А.Н. Денисов, И.В. Пендюрин.
 8. Пендюрин И.В. Экспериментально-клиническое обоснование применения лазерной фотодинамической терапии в лечении злокачественных опухолей головного мозга: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2003. 22 с.
 9. Розуменко В.Д. Нейроонкология: современное состояние проблемы // Онкология. 2006. № 2 (8). С. 189–191.
 10. Розуменко В.Д., Отман О. Дифференциальное применение лазерных технологий в хирургии глиом полушарий большого мозга // Укр. нейрохирург. журнал. 2004. № 1. С. 26–32.
 11. Ступак В.В. Низкоинтенсивное лазерное излучение в комплексном лечении больных с позвоночно-спинномозговой травмой (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 1997. 43 с.
 12. Тучин В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике. М.: Физматлит, 2013. 812 с.
 13. Церковский Д.А. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей головного мозга: современное состояние проблемы // Онколог. журнал. 2011. Т. 5. № 1 (17). С. 129–138.
 14. Чеснокова Е.А. и др. Фотодинамическая терапия в нейроонкологии: первый опыт проведения и краткий обзор // Росс. биотерапевт. журнал. 2004. Т. 3. № 1. С. 83–89.
 15. Ярцев В.В., Коришунов А.Г., Непомнящий В.П. Некоторые аспекты эпидемиологии и классификации опухолей нервной системы // Вопр. нейрохирургии. 1997. № 3. С. 9–13.
 16. Kostron H., Obwegeser A., Jacher R. Photodynamic therapy in neurosurgery: a review // J. Photochem. Photobiol. B. 1996. Nov; 36 (2): 157–168.
 17. Muller Paul J., Wilson Brian C. Neuro-Oncology. The Essentials. Edited by Mark Bernstein, Mitchel S. Berger // Thieme Medical Publishers, inc. New York. 2000.
 18. Stieber V.W. Low-grade gliomas // Curr. Treat. Options Oncol. 2001. V. 2. № 6. P. 495–506.
 19. Tjoa B.A., Salgaller M.L. Progress in active-specific immunotherapy of brain malignancies // Expert. Op. in Investig. Drugs. 2000. Sep. № 9. V. 9. P. 2093–2101.

Поступила в редакцию 28.08.2015 г.

Для контактов: Пендюрин Иван Викторович
E-mail: ivan75nsk@yandex.ru