

УДК 535.361 + 535.375.5

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

© 2013 В.П. Захаров¹, С.В. Козлов², А.А. Морятов², Е.В. Тимченко¹,
П.Е. Тимченко¹, Л.А. Таскина¹

¹ Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королева
(национальный исследовательский университет)

² Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 15.01.2013

Представлены экспериментальные результаты определения границы меланомы кожи методом дифференциального обратного рассеяния. В качестве порогового условия обнаружения границы предложено использовать дифференциальный коэффициент обратного рассеяния. На основании исследования кожи 14 пациентов показано, что введенный коэффициент позволяет выделять границу новообразования с погрешностью 1 мм.

Ключевые слова: новообразование, неинвазивная диагностика, дифференциальное обратное рассеяние, дифференциальный оптический коэффициент, меланома.

1. ВВЕДЕНИЕ

Увеличение кожных онкологических заболеваний среди населения в последние десятилетия связано с увеличением влияния экологических и техногенных факторов, вызывающих рак. Одним из наиболее опасных видов новообразований кожи, в большинстве случаев, приводящих к летальному исходу, является меланома. Данный тип злокачественного образования может иметь 5-летнюю выживаемость, однако обнаружение образования на ранних этапах резко повышает выживаемость пациентов до 99%. Ранняя диагностика пациентов основана на выявлении клинических симптомов опухоли и применении специальных диагностических методов, необходимых для постановки в кратчайшие сроки диагноза злокачественного новообразования и выбора оптимального метода лечения [1]. Во многих случаях диагноз остается неизвестным и требует проведения биопсийного анализа для подтверждения предварительного диагноза. Одна-

ко, данная процедура является инвазивной и трудоёмкой. Так для меланомы при толщине 0,75 мм - 1,5 мм минимальная граница отступа составляет 1 см по всем направлениям. Заведомо большая величина отступа для такой опухоли, например, превышающая 2 см, считается неоправданной. Меланому, имеющую толщину 4 мм и более, рекомендуется удалять, отступив от края опухоли не менее чем на 2 см [2].

В результате, остается актуальным вопрос о проведении дополнительного обследования пациентов с новообразованиями кожи на дооперационном этапе с целью определения истинных границ новообразований до их удаления, что может значительно снизить количество рецидивов опухолевого роста.

Среди одних из развивающихся и перспективных направлений неинвазивной диагностики опухолевых тканей являются оптические методы. К таким методам относятся методы дифференциального обратного рассеяния (ДР) [3], комбинационного рассеяния (КР) [4], компьютерная томография [5], методы флуоресцентного анализа и конфокальной микроскопии. Компьютерная томография и магнитно – резонансная томография, а также флуоресцентные методы, являющиеся трудоемкими и дорогостоящими методами диагностики, не позволяют точно определить истинные границы опухоли во время операции и оценить состояние перифокальных зон вокруг опухоли. Однако, на дооперационном этапе обследования пациентов зачастую главную роль играет быстрота обнаружения типа и границ новообразований кожи.

В связи с этим, целью работы являлось развитие оптических методов диагностики меланомы кожи для выявления ее границ, а также учитывающие индивидуальные особенности кожи человека.

Захаров Валерий Павлович, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой радиотехнических устройств. E-mail: zakharov@ssau.ru

Козлов Сергей Васильевич, доктор медицинских наук, профессор. E-mail: MoryatovAA@alfastrah.ru

Морятов Александр Александрович, кандидат медицинских наук, врач-онколог отделения эндоскопии ГБУЗ СОКОД. E-mail: MoryatovAA@alfastrah.ru

Тимченко Елена Владимировна, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, ассистент кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности. E-mail: vorobjeva.82@mail.ru

Тимченко Павел Евгеньевич, кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры радиотехнических устройств. E-mail: timpavel@mail.ru

Таскина Лариса Анатольевна, студентка. E-mail: retuo@mail.ru

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объектов исследований были использованы 24 образца новообразований кожи: меланома (злокачественное образование кожи), пигментныйnevus (доброположительное образование кожи) и образцы здоровой кожи. После хирургического удаления новообразования кожи производилась вырезка материала для проведения планового морфологического (гистологического) исследования, оставшаяся часть препарата использовалась в эксперименте. После получения планового, окончательного гистологического диагноза данные сопоставлялись с результатами экспериментального исследования.

Дополнительно проводились исследования структурных изменений опухоли с помощью метода конфокальной микроскопии. Микроснимки различных типов новообразований кожи представлены на рис. 1.

Из гистологического и микроскопического анализа видно, что структура в зависимости от типа опухоли имеет различное строение, так на рис. 1а визуализируется расширенный кровеносный сосуд (1), картина характерная для злокачественного новообразования. На рис. 1б представлено изображение, характерное для нормальной структуры кожи с наличием развитых придатков кожи, что соответствует доброкачественной природе новообразования (2) (в правой части визуализируется срез волоса, с элементами многослойного плоского эпителия по периферии).

Как видно из микроснимков, морфологическая структура злокачественного новообразования существенно отличается от доброкачественной природы новообразования, что приводит к изменению интенсивности обратно рассеянного

сигнала. Поэтому для контроля изменения оптических свойств новообразований кожи был использован метод дифференциального обратного рассеяния.

Экспериментальный стенд, реализующий метод дифференциального обратного рассеяния и комбинационного рассеяния, представлен на рис. 2. Экспериментальная установка включала в себя источник излучения, волоконную систему сбора и подачи излучения 1, и 3х зеркальный спектрометр Shamrock SR-303i (фокальная длина 303 мм) с интегрированной цифровой камерой ANDOR DV-420A-OE (1024*256, 26 мкм², 16 бит) 8, транспортёр 10 с линейным шаговым двигателем оси X, рамановский пробник RPB785, подсоединеный к лазерному модулю 13 LuxxMaster Raman Boxx и источнику питания лазерного модуля. Однокоординатный шаговый привод позволяет достаточно точно и быстро сканировать образцы, что даёт более полное представление о произошедших изменениях в исследуемых тканях. Сканирование проводилось в 16-19 точках объекта по оси X с помощью шагового двигателя 10 (скорость перемещения 2 мм/секунда, шаг 1 мм). Значение интенсивности обратного рассеяния от исследуемого объекта обрабатывались с помощью программы «MathCad» 14.

Эксперименты проводились в одинаковых температурных условиях, освещенности помещения и при определенной геометрии установки (рис. 3).

Как было показано ранее (рис. 1), для злокачественной меланомы характерным является расширенный кровеносный сосуд. В связи с этим в качестве основного оптического коэффициента, определяющего границы и тип новообразований, был введен следующий дифференциальный оптический коэффициент:

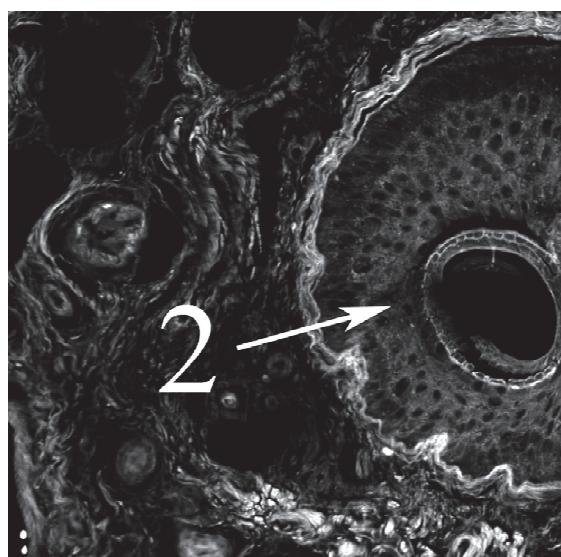
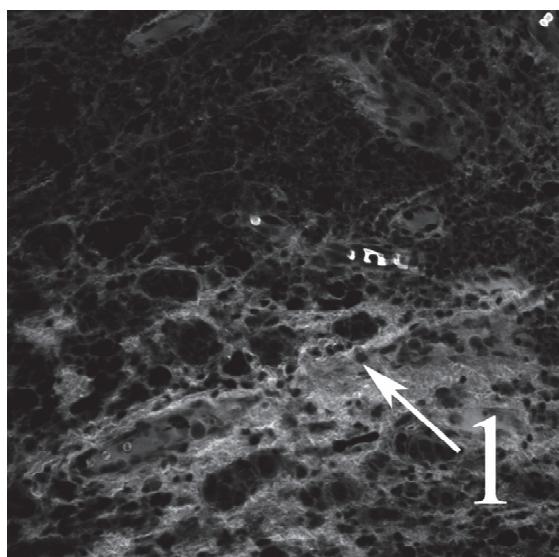


Рис. 1. Объекты исследований (увеличение 900x, размер снимков 400*400 мкм)[^]
а – меланома; б – пигментныйnevus

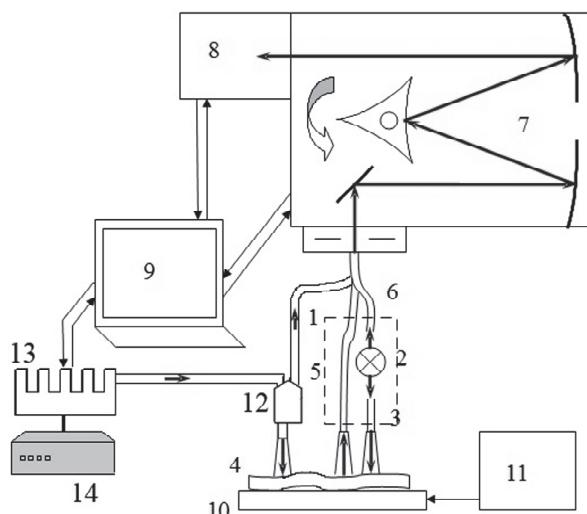


Рис. 2. Экспериментальный стенд для исследования спектральных свойств патологических тканей:

1 – волоконный блок, 2 – широкополосный источник, 3 – излучающее волокно, 4 – объект, 5 – диагностическое волокно, 6 – опорное волокно, 7 – спектрометр Shamrock sr-303i, 8 – цифровая камера ANDOR DV-420A-OE, 9 – компьютер, 10 – транспортёр с шаговым двигателем, 11 – блок управления транспортёром, 12 – рамановский пробник RPB785, 13 - лазерный модуль LuxxMaster Raman Boxx, 14 – источник питания лазерного модуля.

$$K = \frac{R_{760}}{R_{560}}, \quad (1)$$

где К – коэффициент, равный отношению интенсивностей обратного рассеяния на длине волны 760 нм (область минимума поглощения гемоглобина) и 560 нм (область максимума поглощения гемоглобина). Данный коэффициент, учитывает индивидуальные оптические особенности кожи и позволяет идентифицировать здоровый участок на фоне участка кожи с новообразованием.

Погрешность определения дифференциального оптического коэффициента не превышает 5 %.

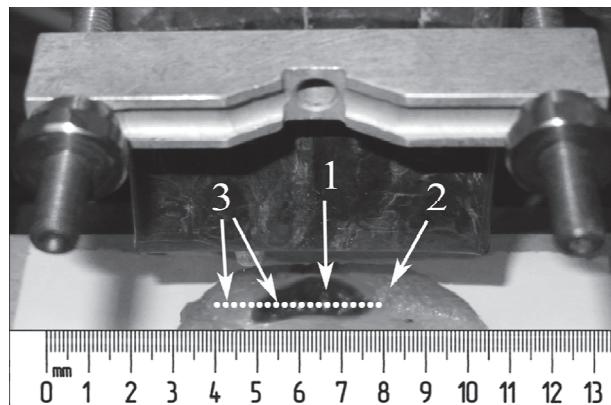


Рис. 3. Методика проведения экспериментов: 1 – место злокачественной области; 2 – участок здоровой кожи, 3 – точки сканирования.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Далее приведены результаты по исследованию введенного оптического коэффициента К для различных типов новообразований кожи.

На рис. 4(а) и в областях исследований 1 и 2 наблюдаются некоторые флуктуации дифференциального оптического коэффициента К. Это связано с тем, что для всех новообразований кожи характерным является поверхностная структурная неоднородность.

Из рис. 4 видно, что используемый оптический коэффициент позволяет идентифицировать тип новообразований. Так для меланомы значение коэффициента К составляет более 1,25, а для здоровой кожи значение коэффициента К составляет не более 1,2.

Граница новообразований определялась исходя из значений оптического коэффициента К в области опухоли. Так, например, значения оптического коэффициента К для здоровой кожи составляет 1 - 1,2, а для центра опухоли свыше 1,25. Переходная зона от здоровой кожи к опухоли соответствует значениям оптического коэффициента 1,2 – 1,25 и характеризуется комбинирован-

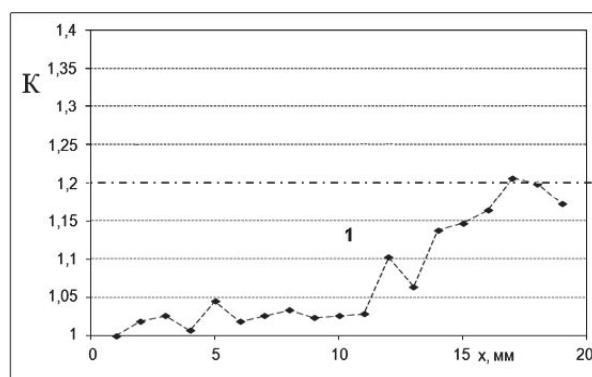
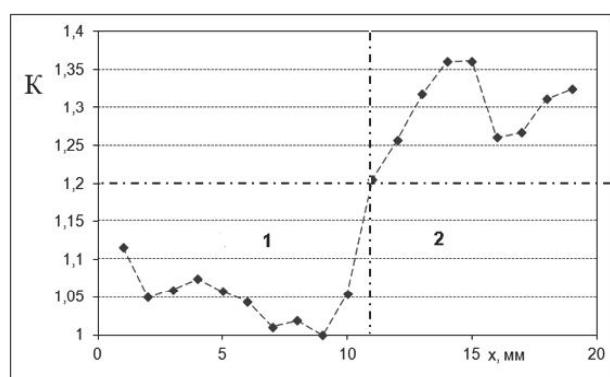


Рис. 4. Зависимость оптического коэффициента К от координаты х сканирования для: а – меланомы; б – невуса кожи (1 – область доброкачественного образования или здоровый участок кожи, 2 – область злокачественного новообразования кожи)

Таблица 1. Критерии определения границы меланомы кожи

№	Наименование новообразований кожи	Гистологический анализ/ Количество пациентов	Область новообразований кожи	Оптический коэффициент K, отн.ед.
1	Меланома	10	участок 2 (рис. 4,а)	1,25 - 1,4
			участок 1 (рис. 4,а)	1 - 1,2
2	Пигментныйnevus	4	участок 1 (рис. 4,б)	1 - 1,2
3	Здоровая кожа	10	участок 1 (рис. 4,а)	1 - 1,2

ем здоровых и раковых клеток в исследуемой области кожи.

На основе проведенных исследований были введены критерии для определения границ меланомы кожи, которые сведены в табл. 1.

Для подтверждения адекватности результатов исследований по определению типа новообразований кожи методом дифференциального рассеяния был использован метод комбинационного рассеяния (КР). Далее приведены спектры КР для меланомы и нормальной кожи.

В спектре меланомы кожи проявляются линии, характерные для липидов, белков, аминокислот. Было установлено, что в среднем спектры меланомы были выражены пики на 1116, 1155, 1210, 1313, 1360, 1420 и 1450 см⁻¹, соответствующие CH³CH² колебаниям в коллагене, которые приводят к изменению молекулярной структуры белков и липидов (1360, 1450 см⁻¹), C-N связи в нуклеиновых кислотах (1116, 1155 см⁻¹).

Наиболее значимым критерием наличия в коже образования является общее увеличение интенсивности комбинационного рассеяния в области 1100 см⁻¹ – 1500 см⁻¹ для меланомы по сравнению с нормальной кожей [6]. Меланома образуется на месте пигментных клеток (меланоцитов), вырабатывающих пигмент меланин, определяющий увеличение интенсивности полос КР в области 1200 - 1600 см⁻¹. Дальнейшее увеличение интенсивности ком-

бинационного рассеяния фактически является отражением того факта, что в новообразовании кожи накапливается меланин [7].

После проведения сравнительного анализа оказалось, что дифференциальный сигнал в 1116 и 1450 см⁻¹ интенсивности КР слабо изменяется в зависимости от вида новообразования, более существенным является уменьшение пика 1650 см⁻¹, относящегося C=O группы белков. Существенные изменения в спектрах КР для меланомы по сравнению с нормальной кожей проявились в полосах спектра 1116 - 1210 см⁻¹, что может быть связано с изменениями в структуре белка, происходящей при замещении нормальных клеток патологическими. Группа 1155 см⁻¹ соответствует C-C (и C-N) участку белков (также каротиноидов), а группа 1446 см⁻¹ соответствует изменению интенсивности CH² изгибным колебаниям в клетках белков и липидов [8]. Так, исследование формы спектра КР позволяет выявлять злокачественные новообразования.

4. ВЫВОДЫ

1. Экспериментально установлено, что введенный оптический коэффициент обратного рассеяния позволяет идентифицировать типы новообразований кожи. Для меланомы значение дифференциального оптического коэффициента составляет более 1,25;

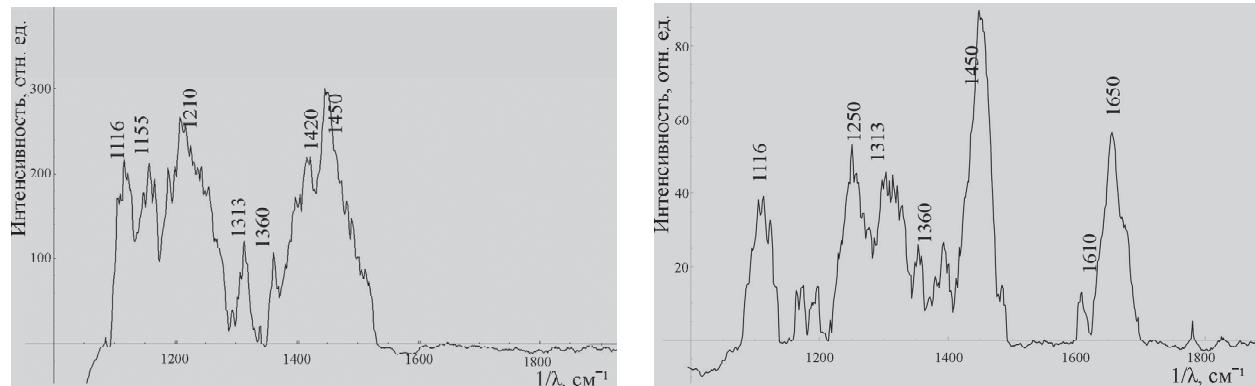


Рис. 5. Спектры комбинационного рассеяния:
а – меланомы; б – нормальной кожи

2. Показано, что с помощью метода дифференциального обратного рассеяния можно определять границы меланомы кожи с погрешностью 1 мм.

3. Введены критерии определения границы меланомы кожи, что позволит на дооперационном периоде определять зону иссечения опухоли с целью уменьшения ее рецидива.

4. Исследование формы спектра КР позволяет выявлять злокачественные новообразования: изменения в спектре КР для меланомы по сравнению с нормальной кожей проявились в полосах спектра 1116 - 1210 см⁻¹.

5. В результате исследований можно создать прибор для экспресс неинвазивной диагностики локализации новообразований кожи.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang L.V. Skin cancer detection by spectroscopic oblique-incidence reflectometry: classification and physiological origins // Appl. Opt. 43, 2004.2643–2650.
2. Analysis of skin basaloma and melanoma by multispectral imaging / I. Diebele [et al.] – Proc. of SPIE, 2012. Vol. 8427 842732–1.
3. Применение метода обратного дифференциального рассеяния для исследования биообъектов / В.П. Захаров, П.Е. Тимченко, Р.В. Козлов, С.П. Котова, Е.В. Тимченко, В.В. Якуткин // Физика волновых процессов и радиотехнические системы. 2008. Т 11. №4. С. 89–97.
4. Prospects for in vivo Raman spectroscopy / E.B. Hanlon [et al] // Phys. Med. Biol., 2000. 45, R1–R59.
5. Магнитно-резонансная и рентген-компьютерная томография при исследовании сердечно-сосудистой системы / G.M. Pohost, D.J. Sarma, P.M. Colletti, M. Doyle // Основы кардиологии. Принципы и практика. 2005. С. 295–323.
6. Huang Z., Mcwilliams A. [et al.] Near-Infrared Raman Spectroscopy for optical diagnosis of lung cancer // Int. J. Cancer: 107, 2003, 1047–1052.
7. Huang Z. [et al.] Raman spectroscopy of in vivo cutaneous melanin // Journal of Biomedical Optics 9(6), 2004, 1198–1205.
8. Yao H. [et al.] Raman spectroscopic analysis of apoptosis of single human gastric cancer cells // Vibrational Spectroscopy 50, 2009, 193–197.

OPTICAL METHODS FOR THE DIAGNOSTICS OF MELANOMA

© 2013 V.P. Zakharov¹, S.V. Kozlov², A.A. Moryatov², E.V.Timchenko¹,
P.E.Timchenko¹, L.A. Taskina¹

¹Samara State Aerospace University named after Academician S.P. Korolyov
(National Research University)

²Samara State Medical University

The experimental results determine the boundaries of melanoma by differential backscatter were presented. As a threshold condition detecting boundaries suggested to use differential backscatter coefficient. Based on the research of the skin of 14 patients showed that the introduction coefficient allows you to select the boundary neoplasm with an error of 1 mm.

Key words: neoplasm, noninvasive diagnostics, differential backscatter, differential optical coefficient, melanoma.

Valery Zakharov, Doctor of Physics and Mathematics,
Professor, Head at the Radio Engineering Devices Department.
E-mail: zakharov@ssau.ru

Sergey Kozlov, Doctor of Medical Sciences, Professor.
E-mail: MoryatovAA@alfastrah.ru

Alexander Moryatov, Candidate of Medical Sciences,
Oncologist of Endoscopy Department GBUZ SOKOD.
E-mail: MoryatovAA@alfastrah.ru

Elena Timchenko, Candidate of Physics and Mathematics,
Research Fellow, Assistant Lecturer at the Ecology and Life
Safety Department. E-mail: vorobjeva.82@mail.ru

Pavel Timchenko, Candidate of Physics and Mathematics,
Assistant Lecturer at the Radio Engineering Devices
Department. E-mail: timpavel@mail.ru

Taskina Larisa Anatolevna, Student. E-mail: retuo@mail.ru