

鲜红斑痣光动力治疗中皮肤光谱特点的变化

王颖¹, 廖小华², 顾瑛^{1*}, 陈荣³, 曾晶¹

1. 中国人民解放军总医院激光医学科, 北京 100853

2. 福建省计量科学研究院, 福建 福州 350003

3. 福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建 福州 350007

摘要 尝试利用漫反射光谱和荧光光谱检测鲜红斑痣皮肤在光动力治疗中的变化特点, 用于分析治疗中组织光学特性的变化, 指导光剂量的制定。在光动力治疗中, 采用微型光纤光谱仪监测 PWS 皮肤的漫反射光谱和荧光光谱, 结合 PWS 结构特点以及皮肤中主要吸光基团的吸收光谱, 分析术中、术后相关组织成分变化及对应的光学特性变化。PDT 治疗中 PWS 皮肤的反射光谱的变化主要是血红蛋白和黑色素吸收波段的反射率增加或降低; 部分患者伴有反射光谱形态的变化, 主要是两种血红蛋白吸收光谱差异明显的波段。PWS 组织的荧光光谱也反映了组织中血液含量的信息。漫反射光谱监测可反映组织中血液含量、血氧含量、黑色素含量变化引起的组织光学特性变化, 进一步进行深入研究可提供 PDT 中组织光学特性动态变化的信息。

关键词 漫反射光谱; 荧光光谱; 光学特性; 光动力疗法; 鲜红斑痣

中图分类号: Q631 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)11-2969-04

引言

光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)中组织内光分布的研究是 PDT 光剂量学研究的一个重要内容^[1-3], 也是组织光学以及光生物效应方面的一个研究热点。目前的研究都是在假定组织光学特性参数固定不变的条件下进行的, 而在实际光动力治疗中皮肤血液含量、黑色素含量以及氧含量是动态变化的, 组织的光学特性是动态变化的^[4, 5]。因此, 很有必要对 PDT 中组织光学特性的变化进行深入的分析。本研究以鲜红斑痣(port wine stain, PWS)的光动力治疗为例, 采用漫反射光谱和荧光光谱对 PDT 中的皮肤光谱以及光学特性的变化规律进行了初步的分析。

1 实验部分

1.1 仪器

光谱仪主要包括光源、微型光纤光谱仪(USB2000 型, Oceanoptics Inc 生产)、Y 型光纤、计算机四部分。测量时为减少表面反射光对测量结果的影响, 探头与皮肤表面呈 45°

角。反射光谱检测光源为 LS-1 钨卤素灯(光谱范围 360~2 500 nm), 测量前需用 WS-1-SS 标准反射白板(Ocean Optics Inc 生产, 反射率>95%, 最高耐受温度为 280 摄氏度)进行校准。荧光光谱检测光源为波长 440 nm 的半导体激光器(B & WTEK INC 生产), 最大输出功率 14 mW。

1.2 对象

选取 2007 年 6 月至 2008 年 2 月在我科门诊就诊的 40 例鲜红斑痣病人, 性别年龄不限。20 例进行漫反射光谱监测, 20 例进行荧光光谱监测。

1.3 方法

按设计的测量部位, 在术前、术中每 10min 和术后即刻分别测定一次漫反射光谱或荧光光谱, 测量时停止激光输出。选择治疗区 3 个测量点和对侧正常皮肤 1 个测量点, 并详细标记测量位置以保证整个治疗过程中测量部位为同一位置。并于治疗后 1 个月的时间内对部分患者进行随访, 检测漫反射光谱和荧光光谱。

1.4 光谱分析

分析 PDT 术中及术后 PWS 漫反射光谱和荧光的变化, 并结合 PWS 组织的结构特点及皮肤组织中主要吸光基团(如氧合血红蛋白、还原血红蛋白和黑色素)的吸收光谱, 分

收稿日期: 2011-01-12, 修订日期: 2011-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(60878055, 61036014)和福建省科技厅项目(2008I0015)资助

作者简介: 王颖, 女, 1979 年生, 中国人民解放军总医院激光医学科主治医师 e-mail: 25wy@sohu.com

* 通讯联系人 e-mail: guyinglaser@sina.com

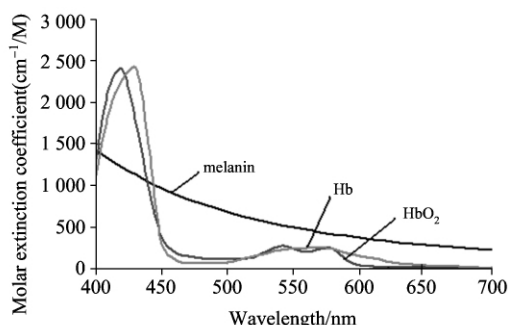


Fig 1 Absorption spectra of melanin, haemoglobin and oxyhaemoglobin in water^[6]

析出现相应光谱变化的组织光学基础。

2 结果与讨论

2.1 漫反射光谱

鲜红斑痣皮肤含有大量扩张毛细血管,其血液含量很高,是一种强吸收低散的组织。PDT 术中及术后其漫反射光谱会发生多种变化,这些变化实际上是皮肤组织中血液含量、黑色素含量以及氧含量变化造成组织光学特性的变化引起的(表 1)。

下面对反射光谱在治疗中和治疗后的变化分别进行描述。

Table 1 Change of reflection spectra of PWS skin during PDT and corresponding change of tissue components

漫反射光谱	反射率降低/增加(520~600 nm 为主)	反射率降低(全波段)	“W”型向“U”型变化	600 nm~段斜率增加
组织成分	血液含量增加/减少	黑色素含量增加	氧含量降低	黑色素含量增加
光学特性	吸收系数增加/缩小	吸收系数增加	吸收系数改变	吸收系数增加

2.1.1 治疗中的变化

PDT 治疗中 PWS 皮肤的漫反射光谱的变化主要是反射率增加或降低(图 2),主要体现在血红蛋白吸收峰波段(520~600 nm),部分患者伴有漫反射光谱形态的变化(图 3),形态变化主要有两种:一是血红蛋白吸收峰的波段“W”形向“U”形的变化,二是 600 nm~段整体反射率的降低。

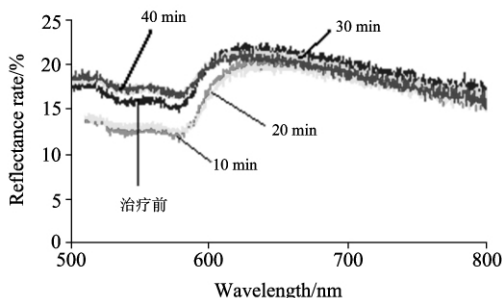


Fig 2 Reflectance spectra of PWS during PDT

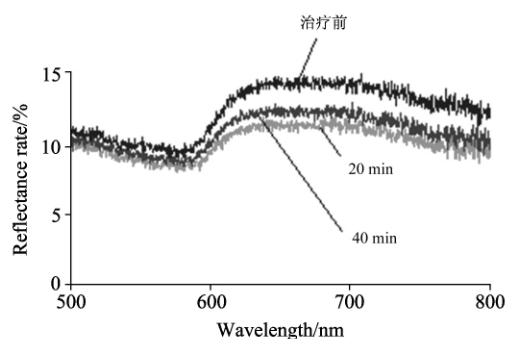


Fig 3 Reflectance spectra of PWS during PDT

2.1.2 治疗后反射光谱的变化

图 4 为 PDT 治疗后 1 个月 PWS 皮肤的反射光谱,其变化主要是整体反射率增加,这是由于血管封闭、血液含量减

少造成的组织吸收减少。术后少数光敏感型患者皮肤会出现色素沉着(表皮黑色素含量增加),其反射光谱会出现 600 nm~段斜率增加(图 5)。此波段是黑色素吸收较多而血红蛋白吸收较少的波段,黑色素含量增加会出现此段斜率的增加。

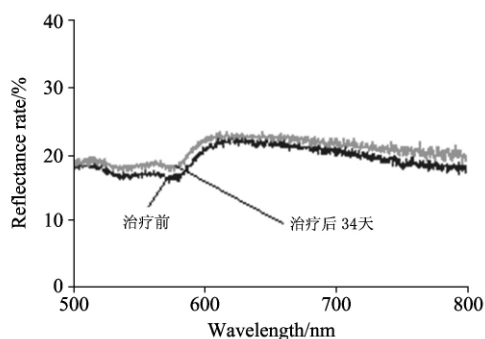


Fig 4 Reflectance spectra of PWS one month after PDT

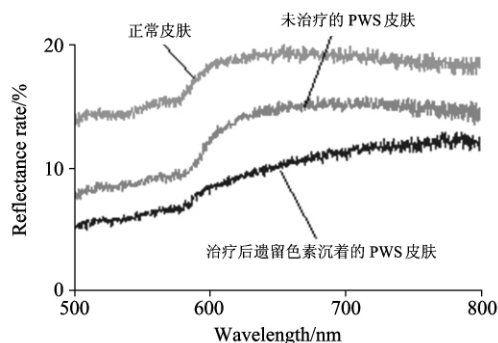


Fig 5 Reflectance spectra of PWS after PDT

2.2 荧光光谱

2.2.1 治疗中的变化

图 6 为一个患者在治疗中 PWS 皮肤不同时刻的荧光光

谱, 治疗前为皮肤的自体荧光光谱(主峰位于 510 nm 左右), 给药即刻出现了光敏剂的荧光峰(波长 627 和 690 nm 左右), 此后光敏剂荧光峰继续升高, 30 min 时达到最高, 40 min 时开始下降。此外, 照光开始后, 荧光光谱在 670 nm 左右出现一个新峰。在整个治疗过程中, 此荧光峰的强度没有明显变化。

治疗过程中皮肤血液含量的变化在荧光光谱也有反映, 皮肤自体荧光光谱强度出现了不同程度的降低, 在对应血红蛋白的两个吸收峰(530 和 580 nm 附近)出现两个凹陷。此外, 还发现部分患者的荧光光谱中光敏剂的主峰随治疗时间延长逐渐红移。

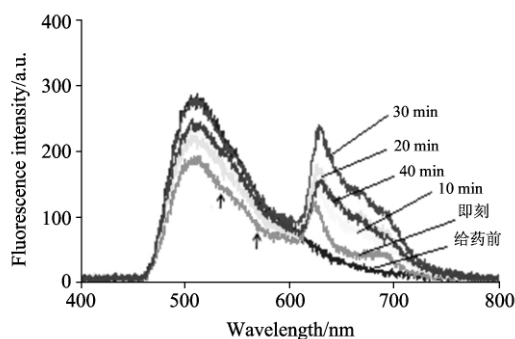


Fig 6 Fluorescence spectra of PWS during PDT

在给药即刻, 10, 20, 30, 40 min, PSD-007 主峰逐渐红移, 波长分别为 627.7, 629.1, 630.8, 631.5, 633.3 nm。

2.2.2 治疗后的变化

PDT 治疗后荧光光谱中光敏剂在 627 和 690 nm 左右的荧光峰逐渐降低, 反应了术后皮肤内光敏剂的排泄情况, 13

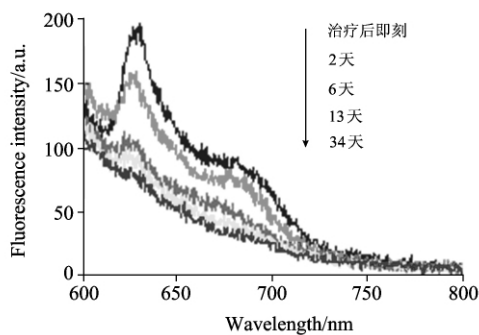


Fig 7 Fluorescence spectra of PWS after PDT

天时光敏剂荧光峰仍比较明显, 1 个月时荧光峰已非常微弱, 提示光敏剂已基本代谢完。

3 结 论

通过对 PDT 术中漫反射光谱的监测, 分析出 PDT 中漫反射光谱的主要变化特点及其对应的组织血液含量、黑色素含量以及氧含量的变化。结果提示在反射率变化显著的波段, 组织光学特性变化明显, 进而会对组织内光分布产生影响。荧光光谱监测可以提供组织光敏剂含量的信息^[7], 便于医生和患者了解术后的皮肤中光敏剂的排泄情况, 指导患者术后避光。本实验的结果显示 PDT 术后 13 天皮肤中光敏剂含量仍较高, 仍需要严格避光。除此之外荧光光谱监测还可以提供组织血液含量的信息, 但由于皮肤在 510 nm 的自体荧光组成成分复杂(包括 NADH、胶原、氨基酸和黑色素等)^[8]、谱线宽, 其与血红蛋白吸收谱线重叠较大, 不利于血液含量的准确提取, 需进一步探寻更优的光谱分析方法。

PWS 组织主要为血液成分, 所以血液中血红蛋白的变化对反射光谱影响最显著。已有研究表明 PDT 前 10 min, 病变血管会发生扩张、血液含量增加^[9], 造成组织吸收增加, 反射率降低。因此, 在利用 520~600 nm 段波长激光进行 PDT 治疗时, 血液含量的变化会影响其穿透深度, 但具体影响程度还需进一步研究。PDT 中氧消耗的增加会使氧和血红蛋白含量降低、还原血红蛋白增多, 血液的吸收光谱形态发生改变^[10], 这些光学特性的变化会对某些波长的激光在组织中的穿透产生影响。本实验的测量结果显示 PDT 术中 630 nm 段的漫反射光谱变化比较明显, 这与 Mitra 等^[11]报道的结果一致, Mitra 等的实验显示在肿瘤光动力治疗中 630 nm 激光的穿透深度会随肿瘤组织中氧含量的降低而减小, 其主要原因是组织中氧含量降低后, 血液在 630 nm 的吸收系数增加, 造成 630 nm 激光的有效衰减系数增加^[12]。Nielsen 等采用数学仿真的方法^[13]探讨了最佳波长的选择。目前临床上鲜红斑痣光动力治疗的常用波长为 532 nm^[14], 此波长位于氧和血红蛋白和还原血红蛋白的等吸收点(两种物质吸收光谱的交叉点)处, 氧含量变化不会影响等吸收点的吸光度值。本实验的测量结果也显示 PDT 术中 532 nm 处的漫反射光谱变化最小, 因此 532 nm 激光在 PWS 皮肤中的分布不会随氧含量的变化的发生改变。而 510, 578, 630 nm 等波段的漫反射光谱变化也有一定的变化, 推测这些波长在 PDT 治疗中的分布会有一定的动态变化。

References

- [1] Chen Q, Hetzel F W. J. Clin. Laser Med. Surg., 1998, 16(1): 9.
- [2] Davidson S R, Weersink R A, Haider M A, et al. Phys. Med. Biol., 2009, 54(8): 2293.
- [3] Johansson A, Axelsson J, Andersson-Engels S, et al. Med. Phys., 2007, 34(11): 4309.
- [4] Solonenko M, Cheung R, Busch T M, et al. Phys. Med. Biol., 2002, 47: 857.
- [5] Chen Q, Wilson B C, Shetty S D, et al. Radiat Res., 1997, 147(1): 86.
- [6] Steven L Jacques. Oregon Medical Laser Center News. Jan. 1998.
- [7] Wang Ying, Gu Ying, Liao Xiaohua. Exp. Biol. and Med., 2010, 235: 175.

- [8] Schomacker K T, Frisoli J K, Compton C C, et al. *Lasers Surg. Med.*, 1992, 12: 63.
- [9] GU Ying, ZHANG Li, LIU Fan-guang(顾 瑛, 张 丽, 刘凡光, 等). *Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery*(中国激光医学杂志), 2005, 14(4): 222.
- [10] Chen Q, Chen H, Hetzel F W. *Photochem Photobiol.*, 1996, 63: 128.
- [11] Mitra S, Foster T H. *Phy. Med. Biol.*, 2004, 49(10): 1891.
- [12] Chen Q, Wilson B C, Shetty S D, et al. *Radiat. Res.*, 1997, 147(1): 86.
- [13] Nielsen K P, Juzeniene A, Juzenas P, et al. *Photochem. Photobiol.*, 2005 81(5): 119.
- [14] GU Ying, LIU Fan-guang, WANG Kai, et al(顾 瑛, 刘凡光, 王 开, 等). *Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery*(中国激光医学杂志), 2001, 10(2): 86.

The Change of Reflection Spectra and Fluorescence Spectra of Port Wine Stains During PDT

WANG Ying¹, LIAO Xiao-hua², GU Ying^{1*}, CHEN Rong³, ZENG Jing¹

1. Department of Laser Medicine, Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China

2. Fujian Metrology Institute, Fuzhou 350003, China

3. Institute of Laser, Fujian Normal University, Key Laboratory of Photonic Technology of Fujian Province, Fuzhou 350007, China

Abstract To analyze the change of optical property of PWS skin during photodynamic therapy, the reflection spectra and fluorescence spectra of PWS skin during PDT treatment were measured using mini-optical fiber spectrograph. The change of reflection spectra and fluorescence spectra were analyzed according to the histological structure of PWS skin and the absorption spectra of the main chromophores in skin (melanin and hemoglobin). The result showed that the spectra changed significantly at the wavelength at which melanin and hemoglobin have high absorption, or at which obvious difference existed in the absorption between HbO₂ and Hb. The monitoring of reflection spectra and fluorescence spectra during PDT can provide information about the dynamic change of the optical property of PWS tissue.

Keywords Diffuse reflection spectra; Fluorescence spectra; Photometric characteristics; Photodynamic therapy; Port wine stain

(Received Jan. 12, 2011; accepted May 26, 2011)

* Corresponding author