

Lézeres diagnosztika a bőrgyógyászatban



Az újabb és újabb képalkotási lehetőségek új diagnosztikai módszereket teremthetnek, amelyek megreformálhatják a gyógyítást – sokkal könnyebb lesz tetten érni az anyagcserezavarokat, gyorsabban eldönthető, hogy az anyagjegy elváltozása kóros, vagy sem. Egyebek között a bőrgyógyászat területén elért legújabb eredményeiket ismertetik a lapunk által megkeresett szakemberek.

Hagyományosan a CT és MRI felvételek csak kétdimenziós statikus kép létrehozására képesek, azonban a technika fejlődésének köszönhetően ma már a CT, MRI és ultrahang szoftverek háromdimenziós képet is előállítanak. Ahhoz, hogy háromdimenziós felvételeket szolgáltatassanak, nagyon sok felvételt kell készíteni, illetve kombinálni megfelelő számítógépes műveletekkel, hogy egy háromdimenziós modellhez jussunk. A fenti módszerek vitathatatlan előnye, hogy vizsgálati mélység korlát nélkül képes megállapítani a szöveti elváltozásokat (például a tumorformálódást). Ugyanakkor ezeknek a módszereknek a felbontása jóval a sejtek jellemző mérete felett van.

A 3D képalkotás egyik új, még kiaknázatlan lehetőségeket rejtő módszere a különböző nemlineáris folyamatokon, például a kétfotonos abszorpciós fluoreszcencián alapuló pásztázó lézermikroszkópiás rendszer, ahol két (vagy több), egy időpillanatban beeső fénykvantum (foton) hoz létre egy adott molekulára jellemző optikai jelet, tipikusan egy köbmikrométer térfogatnál kisebb tér részben. A sejteket alkotó különböző molekulák szelektív gerjesztésével lehetőség nyílik például a bőralkító elasztin és kollagén detektálására, amely rendkívül hasznos információt szolgáltat az anyagjegyek, illetve az úgynevezett diszpláziák elkülönítésére.

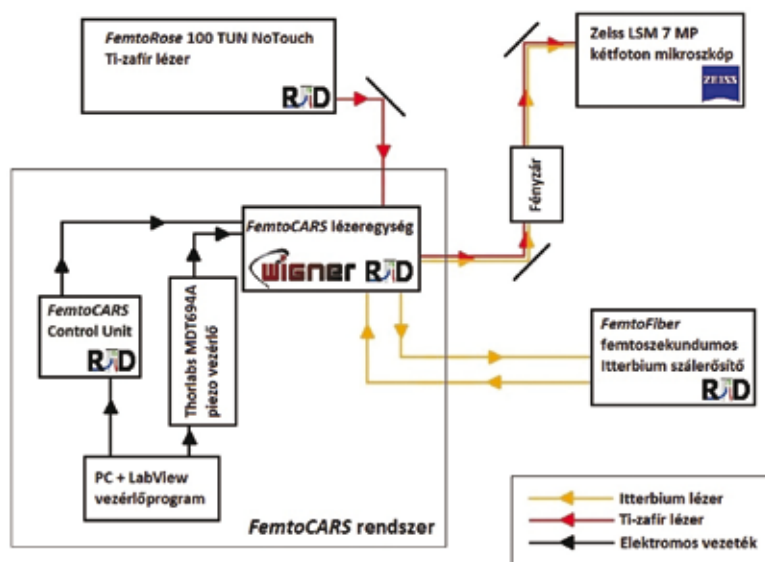
Hasonló nemlineáris folyamatokon alapul egy másik rendkívül hasznos képalkotó eljárás, az úgynevezett CARS módszer, amellyel egyes molekuláris rezgési állapotok szelektív gerjesztése révén jutunk számunkra hasznos optikai jelhez. A CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) módszeren alapuló képalkotási eljárás azért is rendkívül érdekes, mert ezzel úgy lehet háromdimenziós képet alkotni, hogy közben a vizsgálandó minta

egyres kémiai összetevőit nem kell specifikus festékjelölésekkel ellátni, illetve arra sincs szükség, hogy azok természetes fluoreszcenciával rendelkezzenek.

A Nemzeti Technológia Program támogatásával létrejött konzorcium munkatársai nemrégiben az MTA Wigner Szilárdtestfizikai és Optikai Intézetében fejlesztették ki egyebek között a CARS méréseket lehetővé tevő, optikai szállézeres technológiát alkalmazó, két hullámhosszon szinkron működő femtoszekundumos lézer-, illetve 3D mikroszkópiás képalkotó rendszerüket. Most a viszonylag kis koncentrációban jelen lévő molekulák kimutatására is alkalmas, úgynevezett SRS (Stimulated Raman Scattering) detektor rendszert fejlesztenek, tesztelik. A több lézeres, illetve optikai egységet is magába foglaló CARS/SRS mérőrendszer gépészeti, elektronikai fejlesztéseit az R&D Ultrafast Lasers Kft.

munkatársai végzik, míg az MTA Wigner Kutatóközpont szakembereinek a feladata a lézerrendszer optimális kialakítása, valamint a mikroszkóp továbbfejlesztése, átalakítása. De miért hasznos a nyomokban jelen lévő anyagok kimutatása?

„A nanomedicinában alapvető annak bizonyítása, hogy a készítmény valóban a megfelelő sejtekhez jut el, illetve nemcsak eljut, hanem ki is váltja a kívánt hatást. A nemlineáris mikroszkópián alapuló eljárásunk alkalmas lehet például a bőrbe juttatott, illetve az eleve ott lévő anyagok követésére” – tájékoztatta lapunkat **Kolonics Attila** molekuláris biológus, a kutatási konzorcium orvosi szaktanácsadója. A CARS/SRS módszer előnye, hogy segítségével – az alkalmazott ultrarövid impulzusú lézerek viszonylag kis átlagteljesítményének köszönhetően – a biológiai minták károsodása nélkül is láthatóvá lehet



A Wigner FK-ban kifejlesztett, két hullámhosszon szinkron működő femtoszekundumos lézer rendszer fluoreszcens jelölés mentes, 3D mikroszkópiás képalkotó eljárásokhoz (CARS/SRS, 2P, SHG)

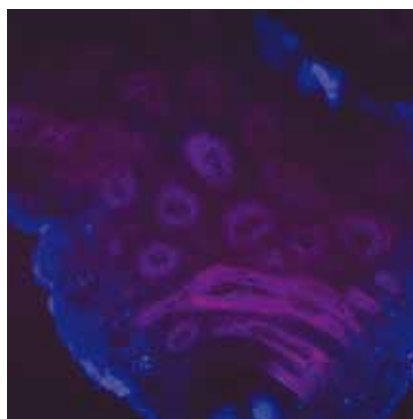
Kép: Molnár Gábor (SZTE), Szipócs Róbert (Wigner FK)

Patkányagy fehérállományában lévő myelinhüvelyekről készült CARS mikroszkópiás kép, in vivo mintaelőkészítés után

tenni az élő sejteket alkotó molekulákat, így a telített és telítetlen zsírokat, amelyek például hasznos információkat szolgáltatnak a szövetek metabolikus állapotáról. A CARS, illetve a még ennél is érzékenyebb SRS módszer minden más eljárásnál adekvátabb képet nyújt ezeknek a vegyületeknek az elhelyezkedéséről. Ugyancsak alkalmas lehet a módszer például a sclerosis multiplex (SM) betegség kutatásában, a többi között a vonatkozó állatmodellek *in vitro*, esetleg *in vivo* vizsgálatánál. Ennél a ma még gyógyíthatatlan betegségnél az idegsejteket borító védőburok, az úgynevezett myelinhüvely sérül – az idegsejtek ingerületvezetése szabálytalanná válik. A CARS módszer megmutathatja, hogy milyen biológiai, kémiai folyamatok sora vezet az idegsejteket támogató neuroglia sejtek pusztulásához, a burok sérüléséhez. A CARS eljárás szintén hasznos lehet a patológusok számára, akik általánosan fixált mintákból mutatják ki az elváltozásokat – rendkívül költséges és munkaigényes előkészítési folyamat során. Ma már lehetséges a DNS, a fehérjék és zsírok egyidejű kimutatására a sejt méreténél lényegesen jobb felbontás mellett a CARS/SRS módszerrel, akár friss szövetmintákból is – a fent említett előkészítési folyamatok elhagyásával.

A kutatási konzorcium lézerfizikai és optikai fejlesztéseket is magába foglaló szakmai irányítását végző **Szipócs Róbert** lézerfizikus szerint ahhoz, hogy az ilyen jellegű orvosi diagnosztikai méréseket biztonságosan és gyorsan el lehessen végezni, olyan berendezéseket kell építeni, amelyek a lehető legalacsonyabb szintű termikus, illetve fotokémiai terhelés mellett a lehető

legnagyobb optikai jelet produkálják, ami több szempontból is komoly műszaki feladat. Ilyen például a megfelelő ismétlési frekvenciával, impulzushosszal, átlagteljesítménnyel és középhullámhosszal rendelkező, olcsó, szálintegrált femtoszekundumos lézeres fényforrások kifejlesztése, vagy a 3D mikroszkópiás mérésekhez használt lézerimpulzusok alakhű átvitelét és megfelelő fókuszáltságot biztosító, polarizációtartó optikai szálak kifejlesztése és alkalmazása, ami a konzorcium szintén fontos feladata. A Semmelweis Egyetem (SE) kutatóival közösen végzett lézeres biztonságtechnikai vizsgálatok eredményei alapján ugyanis egyértelműen kiderült, hogy egy adott optikai elrendezés alkalmazása esetén adott hullámhosszon nem mehetnek egy bizonyos lézeres átlagteljesítmény fölé, ellenkező esetben a mintát káros fotokémiai hatások érhetik. A megfelelő nagyságú jelek előállításához ezért jól fókuszált lézernyalábok, megfelelően megtervezett optikai leképező rendszerek, spektrális szűrők, detektorok, valamint kellően érzékeny, gyors elektronikák kellenek. Biztonságtechnikai méréseik alapján már pontosan tudják, hogy adott orvosi diagnosztikai feladat esetén milyen hullámhosszon, milyen teljesítménnyel szabad a méréseket elvégezniük például egy hagyományos, 3D mikroszkópos rendszeren. Mindezek ellenére a fejlesztés időigényes része az engedélyeztetés és a biztonságtechnika, hiszen alapvető, hogy az egyszerűbb és olcsóbb szálintegrált készülékek se okozzanak káros elváltozásokat. (A lézeres biztonságtechnikai kockázatok átfogó analizisét célzó munkájukról, elért eredményeikről idén májusban Edinburgh-ban a dermatológus kongresszuson számoltak be.)



Kép: Haluszkó Dóra (SE), Szipócs Róbert (Wigner FK)

Humán bőrelváltozások ex vivo, fluoreszcens jelölés mentes vizsgálata nemlineáris mikroszkóppal: kollagén (SHC), sejtek (2P autofluoreszcencia)

A projekt célja olyan orvosi diagnosztikai eszközök kifejlesztése, amelyek a mikroszkópiás felbontású, 3D képi információk alapján hatékonyabbá teszik a gyógyítást például a sebészi beavatkozások területén. Az egyik célterület ugyanis a bőrben zajló kóros elváltozások minél pontosabb detektálása. „Néhány molekula, illetve biokémiai folyamat sajátosságait kihasználva próbálunk képet alkotni a bőrben lejátszódó folyamatokról úgy, hogy nem juttatunk be izotópokat vagy fluoreszcens jelölőanyagokat. Egyebek között a bőrben eleve ott lévő kollagén vagy a megfelelő gerjesztési feltételek esetén autofluoreszcens sejtek szerkezetét, eloszlását, méretét vagy egyéb jellemzőit vizsgáljuk nemlineáris mikroszkópunk segítségével. A fejlesztés jelenlegi fázisában állatkísérleteket folytatunk, biztonságtechnikai méréseket végzünk, ezek lényege, hogy ha valakit majd lézerezéssel vizsgálunk, az a későbbiekben még véletlenül se okozzon daganatos elváltozást a bőrön” – tudtuk meg **Wikonkál Norberttől**, a Semmelweis Egyetem Bőrgyógyászati Klinikájának docensétől. Nem árt az óvatosság, hiszen köztudott, hogy az UV-B sugárzás hatására a bőrben CPD (ciklobután-pririmidin-dimer) jön létre a DNS-molekulán belül, amely előhírnöke lehet egy DNS-mutációnak a hámsejtben, amely bőrdaganathoz vezethet. Megfelelően specifikus fluoreszcens jelölésekkel azonosítani tudjuk ezeket a CPD-molekulákat, ezért meg tudjuk vizsgálni, hogy milyen teljesítményű lézert alkalmazhatunk ahhoz, hogy még elég mélyen belelássunk a bőrbe, de CPD-molekulák még ne jöjjenek létre. Célunk olyan hordozható diagnosztikai eszköz létrehozása, amely a bőrgyógyászok mindennapi munkáját segíti, például azzal, hogy pontosan megmutatja egy adott kezelés hatását a kollagén struktúrára. (A kozmetikai ipar egyik nagy üzlete a kollagén struktúra javítása – hogy a hölgyek és az urak fiatalabbnak és szebbnek tűnjenek.)

A konzorcium tagjai olyan orvosi diagnosztikai, gyógyszeripari méréses technikai eljárásokat és eszközöket fejlesztenek ki, amelyekkel *in vivo* körülmények között – fluoreszcens jelölési technikák alkalmazása nélkül – háromdimenziós mikroszkópiás képeket tudnak készíteni, amelyek alapján az orvosok (például a neurológusok, bőrgyógyászok), agykutatók, gyógyszerészek, biológusok és kozmetikusok releváns információkhoz jutnak – foglalta össze tevékenységüket Szipócs Róbert.