

激光光谱荧光寿命测定诊断动脉粥样斑块 及栓塞动脉血栓栓子

卢尔滨 王凌燕 祁功才

郭川

(白求恩医科大学第三临床医学院, 长春 130021)

(中国科学院长春应化所, 长春 130022)

蒋占魁

(吉林大学物理系, 长春 130023)

Diagnosis of atherosclerotic plaques and thrombo-emboli in the embolic arteries by measuring the lifetime of the laser-induced fluorescence

LU Erbin, WANG Liengyan, QI Guongchai

(Third Teaching Hospital, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021)

GUO Chuan

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

JIANG Zhankui

(Department of Physics, Jilin University, Changchun 130023)

Abstract Using nitrogen laser at the wavelength of 337.1 nm as an excitation source, the fluorescence lifetimes of normal intima, atherosclerotic plaques and thrombo-emboli were measured. Results indicated that time-resolved fluorescence can be utilized for diagnosis of the lesions in the artery vessels.

Key words laser-induced fluorescence, lifetime, atherosclerosis

防止激光血管成形术中造成穿孔损伤是促进该技术在心血管领域内广泛应用的关键问题^[1]。为此必须对血管内激光辐射靶部位进行准确的诊断和定位。采用激光感生荧光方法,以特征峰来确定生物组织成份是国内外研究较多的一种诊断和定位方案,但该方案由于血层的吸收影响而受到限制,几十微米的血层就会使特征峰产生很大干扰,因为血液吸收与波长有关,以至给诊断和定位带来困难,本文采用氮分子激光(337 nm)作为激光光源,通过时间分辨光谱方法测定血管内膜及血管内栓子荧光寿命,从而对动脉粥样斑块及血栓栓子进行诊断初

步研究。该方法受血层的影响很小,可以在较厚的血层下进行定位和诊断^[2]。预计两种方案的结合将会大大提高临床应用的可靠性。

1 方法与结果

1.1 标本制备与测定

12份动脉粥样硬化斑块标本取自6名行截肢术的闭塞性动脉硬化患者的股动脉,8份血栓栓子标本取自4名行截肢术的急性动脉栓塞患者的股动脉,14份正常血管采自7名新鲜健康尸体股动脉,将取之股动脉标本切成0.5~1cm长节段,纵行切开,翻开露出血管内膜,浸入生理盐水,4℃冰箱保存,24h内进行荧光寿命测定。本文实验测520nm波长处荧光寿命,每份标本测2~3次,取平均值,作为该份标本520nm处荧光辐射寿命值。测定后用福尔马林固定标本,石蜡包埋,病理切片,H-E染色,再进行镜下病理检查。本文所取动脉硬化斑块均为纤维斑块、无脂肪斑块及钙化斑块。血栓栓子也均新鲜。

1.2 原理

构成生物组织的分子被光照射时,将会吸收光子的能量,使生物分子从低能态被激发至高能态,处于高能态的生物分子将自发地释放能量回到低能态去,其中一部分以光的形式释放能量,称之为荧光。这种释放能量的过程叫衰变过程,荧光的强度随着时间的延长逐渐减弱,通常荧光强度随着时间的变化满足指数衰减规律。

$$I = I_0 e^{-t/\tau}$$

I_0 表示时间为零时的荧光强度, τ 表示激发态分子的平均辐射寿命,不同的分子、不同的激发态,平均辐射寿命 τ 的值是不同的。例如正常血管壁组织平均辐射寿命就与斑块组织的平均寿命不同,因此如能用实验方法测量组织分子的平均辐射寿命,就可以区分组织成份。本实验就是用脉冲激光激发生物分子,然后测量分子荧光的时间衰变曲线,再用计算机拟合的方法,给出 τ 的数值。

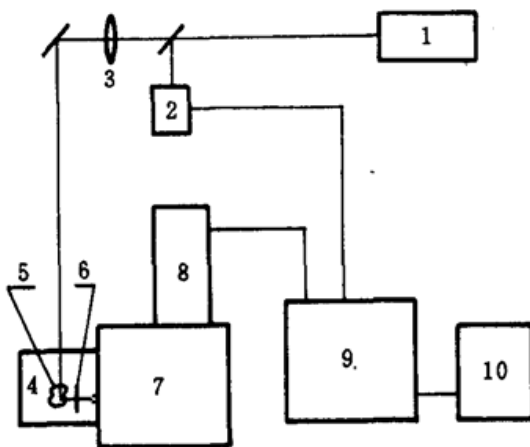


Fig. 1 Experimental set-up for lifetime measurement

- 1—nitrogen laser; 2—photodiode; 3—quartz lens;
4—sample chamber; 5—sample; 6—filter;
7—monochromater; 8—photomultiplier;
9—4400 system; 10—printer

1.3 实验装置

实验装置如图1所示。激发光源使用自制的氮分子激光器,脉冲重复率为50Hz,峰值功率为100kW,激光波长为337.1nm,脉宽为3ns。荧光经过WDG-1A型强光单色仪被R456型光电倍增管接收。光电流信号用4400型信号探测和分析系统(简称4400系统)记录并处理。电子学探测系统的时间响应约2ns。4400型系统的同步触发脉冲取自快响应(1GHz)光电二极管。

1.4 结果

取自新鲜健康尸体的14份正常股动脉标本内膜520nm波长处荧光寿命为 9.2 ± 12.2 ns($X \pm SD$,下同)。图2为其中一例520nm处荧光衰变曲线,该例 τ 值为10.7ns。

12例纤维斑块在520nm波长处荧光寿命为 19.3 ± 2.9 ns。图3为其中1份标本在520nm波长处的荧光衰变曲线,该例 τ 值为19.5ns。

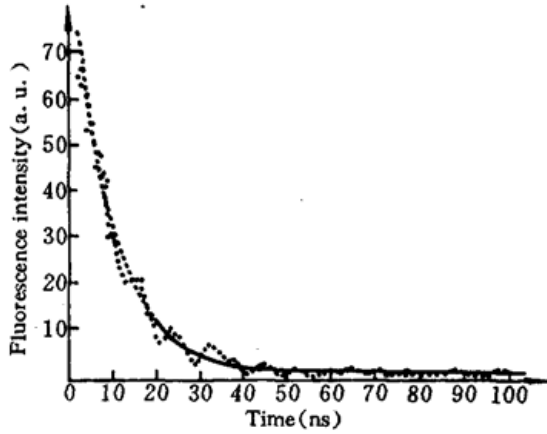


Fig. 2 Fluorescence decay curve for normal femoral arterial intima at 520 nm

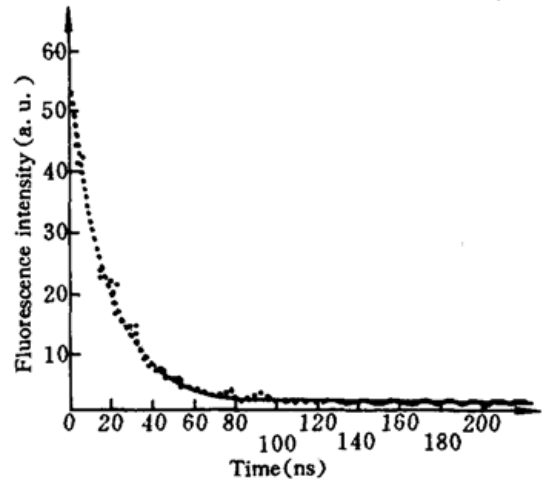


Fig. 3 Fluorescence decay curve for fibrous atherosclerotic plaque at 520 nm

8 份新鲜血栓栓子标本在 520 nm 波长处荧光寿命为 6.3 ± 0.7 ns。图 4 为其中 1 份标本在 520 nm 波长处的荧光寿命衰变曲线,其 τ 值为 5.6 ns。

图 5 为三组标本在 520 nm 波长处荧光寿命的测量图,表示三组数值处于不同区域范围。纤维斑块组、血栓栓子组荧光寿命与正常内膜组值比较均有非常显著差异(均 $P < 0.001$)。

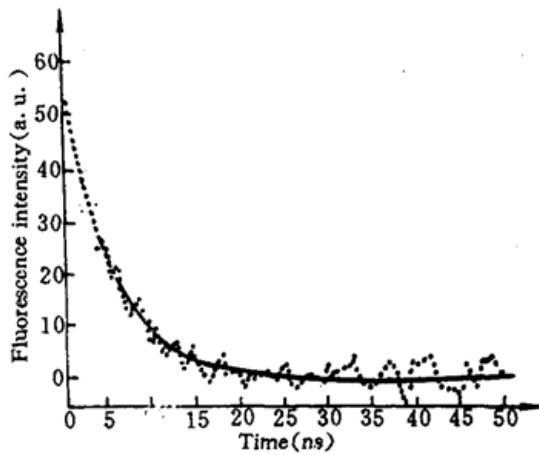


Fig. 4 Fluorescence decay curve for thrombo-embolism in a femoral artery at 520 nm

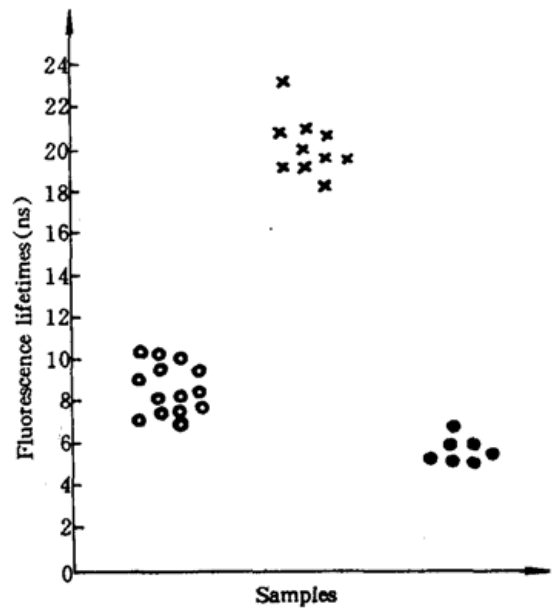


Fig. 5 Fluorescence lifetimes for some samples
o — shows normal arterial intimae; × — shows atherosclerotic plaques; • — shows fresh thrombo-emboli

2 讨 论

本文实验用脉宽 3 ns 的氮分子激光器作为激发光源,分别测定正常内膜组织、纤维斑块以及新鲜血栓栓子的 520 nm 处荧光辐射寿命时间。如图 5 所示三组寿命时间值有显而易见的区别,统计学处理结果表明,两病变组 τ 值与正常内膜组 τ 值之比较均有非常显著差异,表明此方法具有一定的意义,可为进一步研究提供基础。

通过测定激光诱导荧光寿命时间来鉴别正常血管内膜和纤维斑块的生物物质基础,目前还不清楚。有作者认为区别在于二者有着不同的胶原蛋白与弹性硬蛋白的比例,纤维斑块荧光

谱与胶原蛋白标样的荧光光谱几乎是一致的^[3]。但是粥样斑块十分复杂,于不同个体、不同部位、粥样硬化不同发展阶段成份也不一样。斑块脂质比例的多少,是否有钙盐沉积、斑块是否破溃有粥样物质暴露等等,都也会使粥样斑块激光诱导荧光光谱及其寿命不一致。本文测定了栓塞动脉内栓子的荧光寿命,其时间短于另外二个组。究竟是血栓的哪些成份起主要作用,目前还不清楚。因此有待进一步研究提高激光诱导荧光光谱以及时间分辨激光诱导光谱的诊断价值。

本文实验承蒙张静菊、赵文光、于英宁等同志大力支持,在此表示致谢。

参 考 文 献

- 1 J. M. Isner *et al.*, *IEEE J. Quant. Electr.*, **QE-23**, 1756(1987)
- 2 S. Andersson-Engels *et al.*, *IEEE J. Quant. Electr.*, **QE-26**, 2207(1990)
- 3 L. I. Laifer *et al.*, *Circulation*, **8**, 1893(1989)

(收稿日期:1992年2月9日;收到修改稿日期:1993年3月17日)