DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT

(12) Wirtschaftspatent

(19) DD (11) 221 556 A1

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

4(51) G 01 N 21/64
A 61 B 5/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP G 01 N / 260 070 7 (22) 14.02.84 (44) 24.04.85

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Patentabt., 1199 Berlin, Rudower Chaussee 5, DD
(72) Schramm, Werner, Dr.-Ing. Dipl.-Ing.; Grabosch, Gerhard, DD

(54) Verfahren und Anordnung zur Ermittlung des Stoffwechselzustandes an der Oberfläche von lebenden Organen

(57) Die Erfindung ist anwendbar für die Untersuchung des zellulären Stoffwechselzustandes an der Oberfläche von isolierten oder operativ freigelegten Organen. Derartige Untersuchungen z. B. am schlagenden Herz sind zur Ermittlung von in der Durchblutung gestörten Gebieten von besonderem Interesse. Die Aufgabe besteht darin, den Stoffwechselzustand auf einem Oberflächenabschnitt eines Organs durch flächenhafte Messung der NADH-bedingten Fluoreszenzintensität zu erfassen und nach sofortiger elektronischer Auswertung darzustellen. Erfindungsgemäß wird der Oberflächenabschnitt durch ultraviolette Laserimpulse homogen ausgeleuchtet und auf einen flächenhaften photoelektrischen Empfänger abgebildet, wonach das gewonnene Bild mit elektronischen Mitteln unmittelbar ausgewertet wird. Zwischen der Laserimpulsquelle und der Organoberfläche ist ein telezentrisches optisches System und zwischen der Organoberfläche und einem flächenhaften photoelektrischen Empfänger eine Abbildungsoptik angeordnet. Der Empfänger ist Bestandteil einer elektronischen Bildaufnahmekamera. An sie schließen sich Analog/Digitalwandler, Speicher, Rechner und Display an.

ISSN 0433-6461

4 Seiten

Erfindungsansprüche:

1. Verfahren zur Ermittlung des Stoffwechselzustandes an der Oberfläche von lebenden Organen mit Bestrahlung des Organs durch eine UV-Lichtimpulse liefernde Quelle sowie Erfassung und Auswertung der vom Organ ausgesandten Fluoreszenzstrahlung, **dadurch gekennzeichnet,** daß ein Oberflächenabschnitt des Organs durch UV-Lichtimpulse homogen ausgeleuchtet und auf einen flächenhaften photoelektrischen Empfänger abgebildet wird, wonach das gewonnene Bild mit elektronischen Mitteln unmittelbar quantitativ ausgewertet wird.
2. Anordnung zur Ermittlung des Stoffwechselzustandes an der Oberfläche von lebenden Organen mit UV-Lichtquelle und photoelektrischem Empfänger für das Fluoreszenzsignal, **dadurch gekennzeichnet,** daß zwischen dem als UV-Lichtimpulsquelle dienendem Lasergenerator und der Organoberfläche ein telezentrisches optisches System mit Feldblende angeordnet ist.
3. Anordnung nach Punkt 2, **dadurch gekennzeichnet,** daß der beleuchtete Abschnitt der Organoberfläche über ein abbildendes optisches System auf das Target eines flächenhaften, photoelektrischen Empfängers abgebildet wird.
4. Anordnung nach Punkt 2 und 3, **dadurch gekennzeichnet,** daß in dem Strahlengang zwischen Organoberfläche und photoelektrischem Empfänger ein synchron mit dem UV-Blitz öffnender Kurzzeitverschluß angeordnet ist.
5. Anordnung nach Punkt 2 bis 4, **dadurch gekennzeichnet,** daß in den Strahlengang zwischen Organoberfläche und photoelektrischem Empfänger abwechselnd ein UV-Filter oder ein Filter für die Fluoreszenzstrahlung eingebracht wird.
6. Anordnung nach Punkt 2 bis 5, **dadurch gekennzeichnet,** daß der flächenhafte, photoelektrische Empfänger Bestandteil einer elektronischen Bildaufnahmekamera ist.
7. Anordnung nach Punkt 2 bis 6, **dadurch gekennzeichnet,** daß das den Bildinhalt der elektronischen Kamera darstellende Analogsignal über Analog-Digitalwandler in Digitalwerte umgesetzt wird.
8. Anordnung nach Punkt 2 bis 7, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Digitalwerte gespeichert, in einem Mikrorechner weiterverarbeitet und die Ergebnisse auf einem Bildschirm, Plotter oder Drucker ausgegeben werden.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung ist anwendbar für die Untersuchung des zellulären Stoffwechselzustandes an der Oberfläche von isolierten oder operativ freigelegten Organen.
Derartige Untersuchungen, z. B. am schlagenden Herz, sind zur Ermittlung von in der Durchblutung gestörten Gebieten von besonderem Interesse.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

In der Literatur sind einige Methoden und Anordnungen beschrieben worden, bei denen die durch Einstrahlung von ultraviolettem Licht erzeugte Fluoreszenzintensität des r eduzierten Koenzyms Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NADH) als Maß für den oxidativen Stoffwechselzustand des betrachteten Organs, wie z. B. Herz, Leber, Niere, Gehirn ausgewertet wird. Von Chance und Legallais wurde ein Mikrofluorometer beschrieben (IEEE Trans. Bio-Med. Electron. 10 (1963) 40), das zur Messung der Fluoreszenzintensität von NADH aus der Oberflächenschicht lebender Organe (Gehirn, Herz, Leber) eingesetzt wurde. Dabei wurde in ein Mikroskop über einen Umlenkspiegel von der Seite das aus dem Spektrum einer Quecksilberdampflampe ausgefilterte ultraviolette Anregungslicht eingekoppelt und auf die auf dem Objekttisch liegende Probe fokussiert. Das dort entstehende Fluoreszenzsignal wurde auf der Okularseite mit einem Sekundärelektronenvervielfacher in ein elektronisches Signal umgesetzt. Nachteilig war dabei, daß nur Flächen mit sehr geringem Durchmesser (z. B. d = 30 µm) betrachtet werden konnten und die Halterung auf dem Objekttisch des Mikroskops eine Einschränkung darstellte.
In einer Weiterentwicklung des Gerätes (Chance, B., Legallais, V., Sorge, J. Graham, N. Analytical Biochemistry 66 (1975) 498) wurde die Verbindung zwischen Gerät und Untersuchungsobjekt über Lichtleiter flexibel ausgeführt. Die Durchmesser der Lichtleitbündel betrugen bis zu 4mm. Auch in der DE-OS 3210593 wurde eine Lichtleitfaser verwendet, in der UV-Anregungs- und IR-Vergleichslichtimpulse von Laserimpulsgeneratoren zum untersuchten Organ übertragen und von dort die reflektierten Vergleichslicht- und Fluoreszenzimpulse zu einer Auswerteelektronik zurückgeführt wurden. Als UV-Lichtgenerator wurde ein Stickstoffimpulslaser eingesetzt, dessen Licht auf das Eintrittsende des Lichtleitkabels fokussiert wurde. Nachteilig ist hierbei, wie auch im vorerwähnten Gerät, daß die meßtechnische Auswertung nur auf ein punktförmiges Gebiet der Organoberfläche beschränkt ist. Die Kenntnis der NADH-Fluoreszenzintensität in einzelnen Punkten reicht jedoch wegen der im allgemeinen heterogenen Verteilung von normoxischen und anoxischen Bereichen auf der Organoberfläche nicht aus, um den Stoffwechselzustand eines Organs zu bewerten. Eine umfassendere Übersicht über den Stoffwechselzustand an der Organoberfläche erhält man, wenn man von Abschnitten der Organoberfläche, die mit Xenon-Impulslampen angeblitzt werden, eine Fluoreszenzphotographie herstellt (Barlow, Ch., Chance, B., Science 193 (1976) 909). Um quantitative Ergebnisse über die Verteilung der Fluoreszenzintensität zu bekommen, wurde anschließend die Filmaufnahme densitometrisch ausgewertet (Williamson, J., R. Dabis, K. N., Medina Ramirez, G., J. molecular and cellular cardiology 14 (1982) suppl. 3, 29).
Nachteilig ist dabei, daß das Ergebnis nicht sofort zur Verfügung steht, da das photographische Verfahren gekoppelt mit der densitometrischen Auswertung des Filmes relativ zeitaufwendig ist.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Gerät zur Verfügung zu haben, das den jeweils aktuellen Stoffwechselzustand auf einem Abschnitt der Oberfläche eines Organs bildhaft erfaßt und sofort darstellt bzw. auswertet.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, den Stoffwechselzustand auf einem Oberflächenabschnitt eines Organs durch flächenhafte Messung der NADH-bedingten Fluoreszenzintensität zu erfassen und nach sofortiger elektronischer Auswertung unmittelbar darzustellen.
Erfindungsgemäß wird der zu untersuchende Oberflächenabschnitt durch Laserimpulse homogen ausgeleuchtet, auf einen flächenhaften photoelektrischen Empfänger abgebildet und die quantitative Auswertung des Bildinhalts auf elektronischem Wege unmittelbar vorgenommen.

Die dazu erforderliche Anordnung ist in der nachstehend beschriebenen Weise ausgebildet:
Zwischen einem Impulslaser und der Organoberfläche ist ein optisches System angeordnet, während sich zwischen der Organoberfläche und einem flächenhaften photoelektrischen Empfänger eine Abbildungsoptik befindet. An den Empfänger schließt sich eine quantitative elektronische Bildauswertung an. Das optische System zwischen dem Impulslaser, der ultraviolette Lichtimpulse liefert, und der Organoberfläche erzeugt einen durch eine Feldblende begrenzten telezentrischen Strahlengang. In dem Strahlengang zwischen Organoberfläche und photoelektrischem Empfänger ist in weiterer Ausgestaltung der Anordnung ein synchron mit dem UV-Blitz öffnender Kurzzeitverschluß und ein Filterhalter vorhanden, mit dem wechselweise ein UV-Filter oder ein Filter für die Fluoreszenzstrahlung in den Strahlengang gebracht wird.
Der flächenhafte, photoelektrische Empfänger ist Bestandteil einer elektronischen Bildaufnahmekamera. An diese ist ein schneller Analog-Digitalwandler angeschlossen, der den analogen Bildinhalt in Digitalwerte umsetzt. Die Digitalwerte werden gespeichert und in einem Mikrorechner weiterverarbeitet. Die Ergebnisse werden auf einem Bildschirm, Plotter oder Drucker dargestellt.
Die Aufgabe der Erfindung wurde also dadurch gelöst, daß eine Methode und eine Anordnung zur Ermittlung des Stoffwechselzustandes an der Oberfläche von lebenden Organen entwickelt wurde, wobei man durch Bestrahlung des Organs mit Hilfe einer UV-Lichtimpulse liefernden Quelle die vom Organ ausgesandte Fluoreszenzstrahlung erfaßt und auswertet. Dabei wird ein Oberflächenabschnitt des Organs durch UV-Lichtimpulse homogen ausgeleuchtet und auf einen flächenhaften photoelektrischen Empfänger abgebildet. Danach wird das gewonnene Bild mit elektronischen Mitteln unmittelbar quantitativ ausgewertet.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll nachstehend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden. Die zugehörige Zeichnung zeigt schematisch eine erfindungsgemäße Anordnung (Figur 1).
Von einem Taktgenerator (1) wird ein Stickstoffimpulslaser (2) gesteuert, dessen Lichtimpulse der Wellenlänge 337 nm über ein telezentrisches optisches System (3), bestehend aus den Quarzsammellinsen (3a) und (3b) mit dazwischen angeordneter Feldblende (4), so auf die Oberfläche eines Organs (5), gegeben werden, daß diese im zu untersuchenden Abschnitt homogen ausgeleuchtet ist. Das im beleuchteten Abschnitt entstehende Fluoreszenzlicht wird ebenso wie rückgesteuertes Anregungslicht über ein abbildendes optisches System (6) auf den Flächensensor (9a) einer elektronischen Bildaufnahmekamera (9) gegeben. In diesem Strahlengang sind nacheinander wirksame optische Filter (7a) bzw. (7b) und ein Kurzzeitverschluß (8) angeordnet, der vom Taktgenerator (1) angesteuert und in bestimmter zeitlicher Zuordnung zu dem Laserimpuls für eine kurze Zeit geöffnet wird. Auch das wechselweise Einbringen des UV-Filters (7a) oder des Fluoreszenzfilters (7b) in den Strahlengang wird über einen Schaltantrieb (10), wie z. B. einen Schrittmotor, vom Taktgenerator gesteuert.
Das Bildsignal aus der Kamera (9) wird vom Analog/Digital-Wandler (11) in Digitalsignale umgesetzt, die an den Speicher (12a) eines Mikrorechners (12) weitergegeben werden. Die Ausgabedaten des Mikrorechners werden auf einem Display (13) dargestellt.
Der Betriebsablauf kann beispielsweise wie folgt organisiert werden: Vor Auslösung des Impulslasers wird das UV-Filter (7a) in den Strahlengang gebracht, ein bestimmter zeitlicher Abstand zum Laserimpuls und eine bestimmte Öffnungszeit des Kurzzeitverschlusses festgelegt und die Speicherung der Intensitätsverteilung des reflektierten UV-Lichtes gewährleistet. Nach erfolgter Auslösung des Lasers und Speicherung der Intensitätsverteilung über die Oberfläche, was ggf. zur Mittelwertbildung mehrmals erfolgen kann, wird das UV-Filter (7a) im Strahlengang gegen ein Filter für die Fluoreszenzwellenlänge (7b) ausgetauscht. Bei einem ggf. mehreren Laserimpulsen wird die Intensitätsverteilung des Fluoreszenzlichtes in den Speicher gebracht. Über den Mikrorechner wird die Mittelwertbildung und eine Korrektur der Fluoreszenzintensitätsverteilung entsprechend der gespeicherten Intensitätsverteilung des reflektierten UV-Anteils vorgenommen. Dabei ist es möglich, andere Einflußgrößen, z. B. Schwankungen der Lichtimpulse oder die Empfindlichkeitskurve des Flächensensors zu berücksichtigen und eine bestimmte Aufbereitung der Daten vorzunehmen.

Figur 1

