ОПТОВОЛОКОННАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИНТРАОПЕРАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ ПРИ МИНИИНВАЗИВНЫХ ХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ

Кандурова К.Ю.[1*], Филина М.А.[1], Дрёмин В.В.[1], Жеребцов Е.А.[1,3], Потапова Е.В. [1], Альянов А.Л.[1,2], Мамошин А.В.[1,2], Дунаев А.В.[1]

[1] ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», *kandkseniya@gmail.com
[2] БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница»
[3] Aston Institute of Photonic Technologies, Aston University

Несмотря на высокий технический и интеллектуальный уровень современной медицины проблема диагностики и лечения патологии органов гепатопанкреатодуоденальной зоны все еще стоит достаточно остро. Значимость этой проблемы вызвана тенденцией к росту заболеваемости [1] и числа осложнений при высоких процентах летальности [2, 3].

В последние десятилетия во всем мире все больший интерес проявляется к внедрению в клиническую практику миниинвазивных технологий и методик диагностики и лечения. Это обусловлено снижением травматичности и объема хирургических вмешательств, а также количества послеоперационных осложнений. По сравнению с традиционными открытыми вмешательствами сокращается время пребывания на лечении и реабилитации. Однако, остается нерешенным ряд вопросов, от которых зависит выбор рациональной лечебной тактики для патологии данной области [4]. В частности, одна из проблем, с которой сталкиваются врачи-хирурги, это необходимость получения дополнительной диагностической информации интраоперационно.

«Золотым стандартом» анализа состояния биотканей считается гистологическое исследование, но для получения результатов требуется время. Развитие миниинвазивных технологий определяет потребность в разработке диагностических методов, позволяющих получить информацию *in vivo*, сравнимую с данными гистологического исследования. Разработка и внедрение таких методов позволит повысить уровень достоверности диагностики состояния и характера биотканей, а следовательно, и улучшить качество лечения.

Возможным вариантом решения данной проблемы могут выступить методы биофотоники. Оптические методы диагностики в течение многих лет находят применение во многих областях медицины. В хирургии активно проводятся исследования по приложению оптических методов спектрометрии и визуализации [5]. Одним из таких методов является флуоресцентная спектроскопия (ФС). В основе метода лежит способность ряда биомаркеров тканей флуоресцировать при воздействии монохромным оптическим излучением. Вызванное таким воздействием излучение биотканей регистрируется спектрометром. ФС направлена на изучение структуры клеток, их свойств и протекающих биохимических реакций. Оптические свойства флуорофоров зависят от метаболического статуса биотканей. В частности, оценивать метаболизм в клетках возможно, изучая соотношение коферментов никотинадениндинуклеотида (NADH) и флавиноадениндинуклеотида (FAD). По активности этих соединений, являющихся важными элементами дыхательной цепи, можно судить о функциональном состоянии клетки. Изменения содержания NADH и FAD вызывают изменения интенсивности эндогенной флуоресценции, возбуждаемой определенными длинами волн. Таким образом, применение ФС создает возможности к диагностике и мониторингу метаболической активности тканей при деструктивно-воспалительных процессах. В настоящее время флуоресцентная диагностика успешно применяется в ряде областей медицины [6,7].

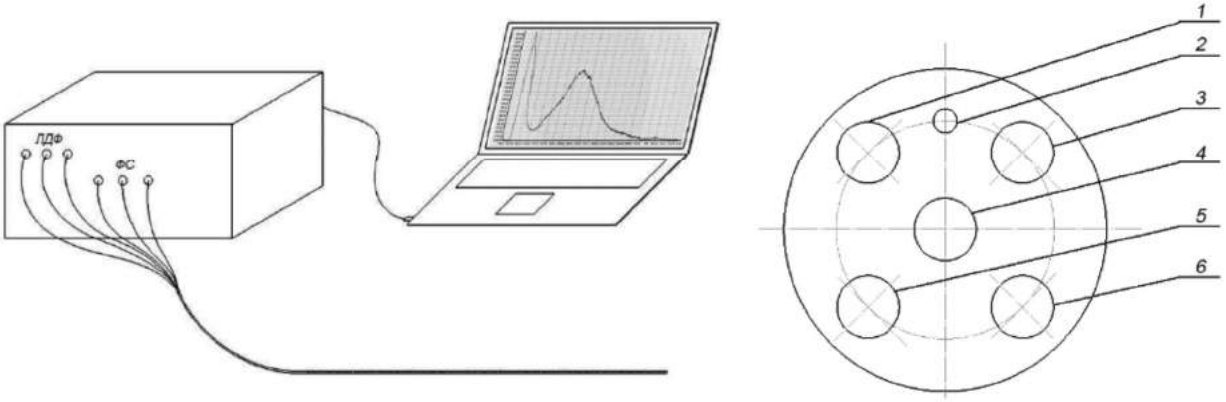
Нормальная перфузия кровью тканей брюшной области необходима для обеспечения их оксигенации и питания на клеточном уровне. Ишемия, или недостаточность перфузии, является общим механизмом для гибели или дегенерации ткани. При миниинвазивных хирургических вмешательствах измерение показателя микроциркуляции крови в патологических тканях может быть необходимо для оценки относительного вклада ишемии в патогенез заболевания. Метод лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) основан на определении перфузии ткани кровью путём измерения допплеровского сдвига частот, возникающего при зондировании биоткани монохроматическим лазерным излучением с последующей регистрацией и анализе изменений в спектре отраженного излучения. Так как ЛДФ дает непрерывные и в реальном масштабе времени измерения параметров микрососудистого кровотока и высокочувствителен к быстрым изменениям перфузии в капиллярном кровообращении, он зарекомендовал себя как метод, который может быть включен в мультимодальные диагностические устройства, в том числе в при хирургических операциях на органах желудочно-кишечного тракта [8].

ФС и ЛДФ могут быть ценными высокочувствительными инструментами для исследования состояния тканей, в том числе, и при миниинвазивных вмешательствах. Однако, в настоящее время приложение этих методов в данной области сопряжено с рядом технологических и методологических трудностей. Таким образом, целью данной работы явилось изучение возможностей технической реализации устройства для ФС и ЛДФ и интраоперационного применения данных методов при патологиях органов гепатопанкреатодуоденальной зоны.

Для проведения измерений была специально разработана волоконно-оптическая система (рис. 1, а), основные блоки которой были спроектированы совместно с ООО НПП «ЛАЗМА» (г. Москва). Данная установка позволяет реализовать оба вышеописанных метода.

Отличительной особенностью системы является наличие лапароскопического оптического зонда длиной 30 см и диаметром 3 мм, предназначенного для доступа к исследуемым органам через стандартные инструменты для минимальных манипуляций. В зонде имеется 6 волокон (рисунок 1, б). В допплеровском канале применялся лазерный модуль с длиной волны излучения 1064 нм, для возбуждения флуоресценции использовались источники на длинах волн излучения 365 нм и 450 нм. Это обусловлено оптическими свойствами коферментов NADH и FAD и стромального коллагена. Восстановленная форма NADH имеет максимум флуоресценции на длине волны 490 нм при длине волны возбуждения 365 нм. Окисленная форма FAD, в свою очередь, флуоресцирует на длине волны 520-540 нм при возбуждении излучением 450 нм [9].

Зондирующее волокно канала ЛДФ разработанного устройства имеет диаметр 6 мкм, 2 приемных волокна имеют диаметр 400 мкм. Расстояние источник-приемник для канала ЛДФ составляет 1,5 мм. В канале ФС диаметры зондирующих и приемных волокон составляют 400 мкм. Из соображений безопасности, а также для минимизации эффекта фотобличинга, мощность излучения для длины волны 365 нм на выходе волоконного зонда не превышает 1,5 мВт [10]. Выходная мощность для длины волны возбуждения 450 нм не превышает 3,5 мВт. Расстояние между источником и приемником излучения для канала ФС составляет 1 мм.



(а) (б)

Рисунок 1 – Схема установки для экспериментальных исследований (а) и расположения волокон в лапароскопическом зонде (б):
1 – зондирующее волокно канала ФС от источника 365 нм; 2 – зондирующее волокно канала ЛДФ от источника 1064 нм; 3 – зондирующее волокно канала ФС от источника 450 нм; 4 – принимающее волокно канала ФС; 5,6 – принимающие волокна канала ЛДФ

Для регистрации спектров флуоресценции используется спектрометр в диапазоне 350-820 нм. Данные с устройства передаются на персональный компьютер для сохранения и дальнейшей обработки.

Внешний вид разработанной оптоволоконной системы доставки лазерного излучения представлен на рисунке 2, а.

(а) (б)

Рисунок 2 – Оптоволоконная система доставки лазерного излучения (а); во время проведения измерений на общем желчном протоке под рентгенологическим контролем (б)

С помощью спроектированного устройства были проведены тестовые исследования, в которых приняли участие пациенты, находящихся на лечении в хирургическом отделении БУЗ Орловской области «Орловская

областная клиническая больница». Исследования были одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» (протокол заседания №10 от 16.11.2017). Участники подписывали информированное согласие с указанием их добровольной готовности к участию в исследовании. Областями исследования в зависимости от патологии были: общий желчный проток (механическая желтуха, обусловленная раком поджелудочной железы или желчнокаменной болезнью); желчный пузырь (острый деструктивный холецистит); абсцесс печени; очаговые гнойно-некротические осложнения при деструктивном панкреатите поджелудочная железа. Исследования проводились во время диагностических и лечебных вмешательств под ультразвуковым и флуороскопическим контролем (рис. 2, б).

В каждой точке выбранной области исследования регистрировались трижды пары спектров при возбуждении длинами волн 365 и 450 нм, которые затем усреднялись. Примеры регистрируемых спектров для каждой области представлены на рисунке 3.

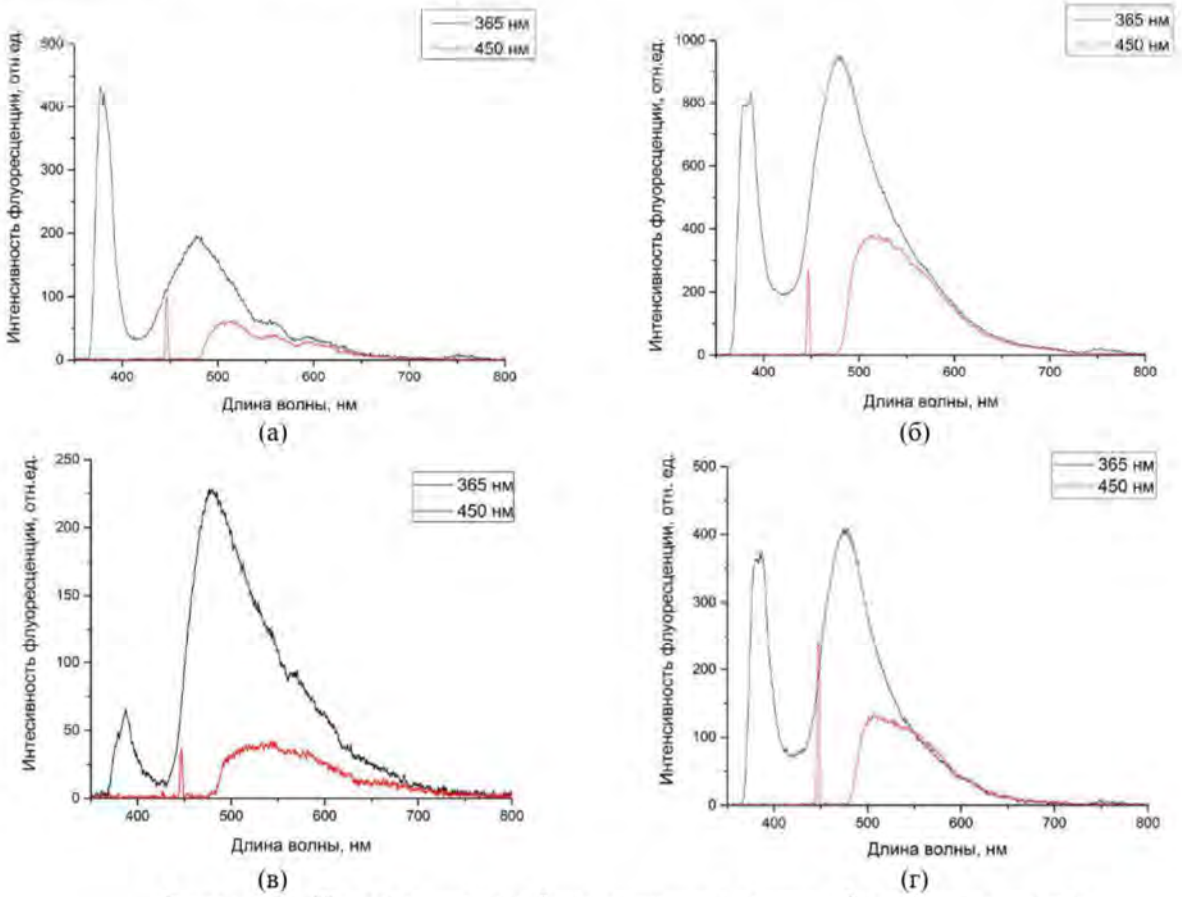
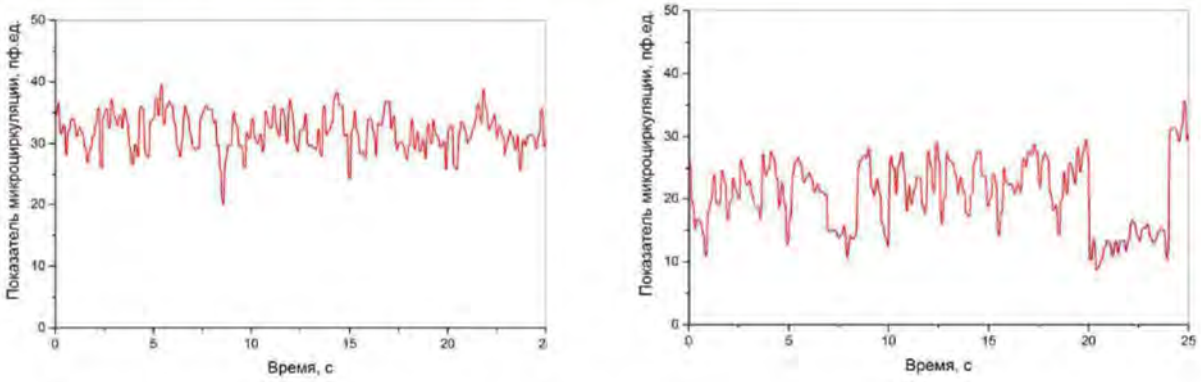


Рисунок 3 – Примеры спектров флуоресценции с разных областей исследования:
(а) – желчный пузырь; (б) – общий желчный проток; (в) – абсцесс печени; (г) – поджелудочная железа

На приведенных примерах можно заметить одну из главных особенностей полученных данных – высокую вариабельность интенсивностей флуоресценции, причем это было замечено как среди разных областей исследования, так и среди нескольких точек в пределах одного органа. Предполагается, что это связано как с индивидуальной вариабельностью, так и с рядом факторов, например, как состояние и характер изменений в тканях, фазовое развитие патологических процессов, в том числе с учетом проводимого лечения. В некоторых случаях не удавалось получить спектры флуоресценции и наблюдались значительные помехи, что может быть обусловлено наличием желчи, крови и гноя, которые экранировали часть оптического излучения, что также требуется учитывать при проведении диагностики и интерпретации получаемых данных.



(а) (б)

Рисунок 4 – Примеры сигналов ЛДФ общего желчного протока (а) и желчного пузыря (б)

К сожалению, метод ЛДФ в хирургии не получил широкого распространения, так как существует ряд методологических сложностей, к основным из которых относится сложность оценки влияния надавливания зонда на регистрируемый сигнал. Кроме этого, немногочисленные исследователи микроциркуляции органов брюшной полости используют оборудование различных производителей, поэтому при отсутствии соглашений о стандартах для оборудования ЛДФ нет возможности сравнивать значения перфузии. Но исследования, проведенные раннее, подтверждают факт, что применение ЛДФ в мультимодальных оптических устройствах для исследования гастродуоденальной зоны является полезным дополнением в послеоперационном наблюдении пациентов с желудочно-кишечными болезнями, поскольку никакие другие методы не обеспечивают непрерывную оценку перфузии [11, 12]. Известен пример анализа патофизиологических изменений кровотока при исследовании доброкачественных и злокачественных новообразований в желудке *in vivo* [13]. Показанные примеры свидетельсвтуют, что в перспективе оценка перфузии ткани кровью может стать дополнительным диагностическим инструментом для оценки жизнеспособности тканей, что позволит врачу-хирургу, в том числе, более точно отделять живую ткань от мертвой во время операций.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить возможность применения метода ФС и ЛДФ в миниинвазивной хирургии органов брюшной полости. При этом были выявлены пути дальнейшего развития исследований по данной теме. Планируется дальнейшая оптимизация технической части и выработка нового диагностического критерия по результатам дальнейших исследований.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-15-00201).

Библиографический список

1. Чистяков, С.С. Онкология для практикующих врачей / С.С. Чистяков. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – 634 с.

2. Ганиева, Д. К. Патология гепатопанкреатодуоденальной системы и факторы риска ее развития / Д.К. Ганиева // Молодой ученый, 2016. – №22. – 97–99.

3. Ермолов, А.С. и др. Диагностика и лечение острого панкреатита / А.С. Ермолов – М.: Видар, 2013. – 384 с.

4. Ветшев, П.С. Диагностический подход при обтурационной желтухе / П.С. Ветшев // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 1999. – № 6. – 18-24.

5. Арутюнян, А.В. Интраоперационная лазер-индуцированная флуоресцентная спектроскопия при экспериментальном панкреатите / А.В. Арутюнян, Д.В. Черданцев, В.В. Салмин, Д.П. Скомороха, А.Б. Салмина // Сибирское медицинское обозрение, 2012 – № 5. – 20-24.

6. Bulgakova, N. In vivo local fluorescence spectroscopy in PDD of superficial bladder cancer / N. Bulgakova, R. Ulijanov, K. Vereschagin, A. Teplov, I. Rusakov, V. Chissov // Medical Laser Application, 2009. – 24. – №4. – 247-255.

7. Dremin, V.V. Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus / V.V. Dremin, E.A. Zherebtsov, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, I.N. Makovik, A.I. Zherebtsova, E.V. Zharkikh, E.V. Potapova, A.V. Dunaev, A.A. Doronin, A.V. Bykov, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // Journal of Biomedical Optics. 2017. – 22. – №8.

8. Hoff, D.A. Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring / D.A. Hoff, H. Gregersen, J.G. Hatlebakk // World J Gastroenterol. 2009. – 5. №2. – 198-203.

9. Bartolome, F. Measurement of mitochondrial NADH and FAD auto-fluorescence in live cells / F. Bartolome, A.Y. Abramov // Methods Molecular Biology, 2015. – №1264. – 263-270.

10. Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelengths between 180 nm and 400 nm (incoherent optical radiation) // Health Phys, 2004. Vol. – 87. – № 2. – 171-186.

11. Christoforidis, E.C. Continuous measurement of gastric blood flow by laser Doppler flowmetry during gastroscopy / E.C. Christoforidis, C. Hovendal, P. Bjerring, A. Kruse // Scand J Gastroenterol. 1989. – 24. №1. – 16-20.

12. .Krohg-Sørensen, K. Perfusion of the human distal colon and rectum evaluated with endoscopic laser Doppler flowmetry. Methodologic aspects / .K. Krohg-Sørensen, O.C. Lunde // Scand J Gastroenterol. 1993. – 28. №2. – 104-108.

13. Schilling M, Redaelli C, Friess H, et al. Evaluation of laser Doppler flowmetry for the study of benign and malignant gastric blood flow in vivo. Gut. 1999;45(3):341-345.

FIBER-OPTIC SYSTEM FOR INTRAOPERATIVE STUDY OF ABDOMINAL ORGANS STATE UNDER MINIMALLY INVASIVE SURGICAL INTERVENTIONS

Kandurova K.Y.[1*], Filina M.A.[1], Dremin V.V.[1], Zherebtsov E.A.[1,3], Potapova E.V. [1], Dunaev A.V.[1], Alyanov A.L.[1,2], Mamoshin A.V.[1,2]

[1] Orel State University named after I.S. Turgenev, *kandkseniya@gmail.com
[2] Orel Regional Clinical Hospital
[3] Aston Institute of Photonic Technologies, Aston University

The paper presents the preliminary results of experimental measurements of endogenous fluorescence and blood perfusion in patients with hepatopancreatoduodenal pathologies. Specially developed setup for methods of fluorescence spectroscopy (excitation wavelengths of 365 nm and 450 nm) and laser Doppler flowmetry (1064 nm) with laparoscopic optical probe was considered. The possibility of obtaining fluorescence spectra and laser Doppler flowmetry signals *in vivo* during minimally invasive interventions was shown. Obtained data shows perspectives of further research on technical and methodological development of optical diagnostic methods application in this area. The ways of future studies are proposed.

———————— ♦ ————————

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Серёгина Е.С.[1*], Стельмащук О.А.[1], Пьявченко Г.А.[1] , Воробьев Е.В.[1], Кузнецова Е.А.[1], Алексеев А.Г.[1], Жеребцов Е.А. [3], Подмастерьев К.В.[2], Дунаев А.В. [1]

[1] ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»
[2] Центр доклинических исследований ЗАО ФНПП "Ретиноиды"
[3] AIPT, Aston University, Aston Triangle, Birmingham, UK,
*e.s.seryogina@gmail.com

Большое количество доказательств подтверждает концепцию, согласно которой увеличение производства свободных радикалов вызывает или усиливает повреждение нейронов и приводит к заболеваниям. Фактически, в биологических системах нормальные процессы окисления дают высокореактивные свободные радикалы, и каждое из этих назначенных соединений участвует в физиологическом редокс-балансе, предотвращающем повреждение тканей. Растущее количество доказательств указывает на то, что окислительный стресс играет важную роль в патогенезе многих клинических состояний, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, заболеваниями печени, заболеваниями легких, желудочно-кишечными расстройствами, неврологическими расстройствами, повреждением мышц, диабетом и старением.

Окислительный стресс обусловлен дисбалансом способности организма к образованию свободных радикалов. Двумя основными типами свободнорадикальных видов являются реакционноспособные формы кислорода (АФК) и реактивные формы азота[1]. Широко распространено мнение, что активные формы кислорода вызывают или усугубляют несколько патологий человека, таких как нейродегенеративные [2] заболевания, рак, инсульт и многие другие заболевания. Предполагается, что антиоксиданты противодействуют вредному воздействию АФК и, следовательно, предотвращают или лечат заболевания, связанные с окислительным стрессом.

Роль АФК состоит из иммуногистохимических и биохимические данные, демонстрирующие продукцию АФК при шоке, воспалении и повреждении ишемии / реперфузии. АФК может инициировать широкий спектр токсических окислительных реакций. К ним относятся инициирование перекисного окисления липидов, прямое ингибирование митохондриальных ферментов дыхательной цепи, инактивация глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, ингибирование активности АТФазы мембран натрия / калия, инактивация мембранных натриевых каналов и другие окислительные модификации белков. Все эти токсические эффекты, вероятно, будут играть роль в патофизиологии шока, воспаления и ишемии / реперфузии. Антиоксидантная терапия