

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.33-002.44-007.251-089.8191-092.9

В. В. Алипов, М. С. Лебедев, Х. М. Цацаев

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В ХИРУРГИИ ЖЕЛУДКА И ПЕЧЕНИ

Аннотация. Разработана методика проведения эндоскопического лазерного воздействия на стенку желудка и комбинированная эндоскопическая пластика в эксперименте. Определены возможности рентгенологической визуализации и сроки накопления золотых наночастиц. При моделировании очагового образования печени доказана возможность неинвазивной транскutánной пункции печени под контролем УЗИ с последующим введением наночастиц в полость кисты и проведением фототермолиза.

Ключевые слова: эксперимент, фототермолиз желудка, наночастицы, моделирование, пункция, киста печени.

Abstract. The technique of an endoscopic laser influence on a stomach wall and combined endoscopic plasty in experiment are worked out. Possibilities of a radiological visualisation and terms of gold nanoparticles accumulation are defined. In modeling of the liver focal lesion it is proved the possibility of the noninvasive percutaneous liver puncture under the control of ultrasonic examination with the subsequent introduction of nanoparticles in the cyst cavity and carrying out of photothermolysis.

Keywords: experiment, photothermolysis of stomach, nanoparticles, modeling, puncture, liver cyst.

Новообразования, и особенно злокачественные опухоли, устойчиво занимают второе место в структуре заболеваемости и смертности человека. Ежегодно в промышленно развитых странах количество смертельных исходов от злокачественных новообразований достигает 23–29 % от всех случаев гибели людей, вызванных болезнями. За столетний период существования онкологии многие вопросы решены: по российской статистике, до 60 % пациентов излечиваются, а справиться с остальными сложными случаями, используя традиционные методы диагностики и лечения, медицина не в силах [1].

Одним из актуальных и перспективных направлений в современной медицине, в частности в хирургии и онкологии, считается применение нанотехнологий. К задачам нанотехнологий в области онкологии относятся прежде всего: свободное прохождение наночастиц через барьеры, обнаружение клеток-мишеней, «адресная» доставка к ним, в частности к опухолевым клеткам препаратов, для диагностики и лечения. При использовании нанохирургических технологий возникает минимизация повреждающего действия на здоровые ткани при проведении хирургического лечения, что позитивно отражается на послеоперационной реабилитации [2].

В современных нанотехнологиях используются золотые, серебряные, углеродистые наночастицы, а также наночастицы других металлов [3]. При поступлении наночастиц в ткань опухоли они концентрируются в просвете сосудов и регистрируются там как «квантовые точки». При объединении наночастицы с белковым маркером соответствующей опухоли образуются конъюгаты, которые при их внутривенном введении осаждаются на стенках сосудов опухоли и только в раковых клетках, что приводит к деградации опухоли [4].

Связывание наночастиц золота со специфическими антителами для клеток рака может значительно упростить диагностику онкологических заболеваний и получить описание мельчайших подробностей объекта. Это возможно осуществить с помощью наночипов, микрочипов и конфокальной микроскопии. При контакте с опухолевой клеткой, имеющей зону повышенного метаболизма, происходит гиперфиксация наночастиц в ней. Это обстоятельство можно использовать для «контрастирования» как границ опухоли, так и выявления метастазов, т.к. конъюгаты наночастиц с вторичными антителами селективно прикрепляются к раковым клеткам. В основе лежат диагностические возможности атомарно-силовой, базово-когерентной и конфокальной микроскопии, позволяющих описывать полную жизненную энергию, активно функционирующую живую клетку [5]. Для оценки безопасности применения наночастиц необходимо исследовать их возможное накопление в различных органах и тканях.

Одно из самых перспективных направлений в нанотехнологиях – лазерный фототермолиз опухолей в ИК-диапазоне с использованием светопоглощающих наночастиц. Достоинством лазерного фототермолиза является векторная доставка конъюгатов наночастиц со специфическими биомолекулами, что позволяет достигнуть большей глубины проникновения лазерного облучения и меньшего повреждения биоткани [6]. Приоритетными являются разработки мирового уровня, проводимые сотрудниками Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, а также учеными Саратовского государственного университета за последнее десятилетие. Впервые в мире проведены исследования по лазерному фототермолизу при спонтанных опухолях у животных в первой ветеринарной клинике учеными д.в.н. Г. С. Терентюком и к.ф.-м.н. Г. Е. Акчуриным.

В рамках подписанного договора между Саратовским государственным медицинским университетом и названными учреждениями перед авторами была поставлена **цель исследования** – изучить особенности накопления золотых наночастиц и экспериментально обосновать эндоскопические нанотехнологии проведения фототермолиза в хирургии желудка и печени.

Задачи исследования

1. Разработать эндоскопические способы и параметры лазерного облучения слизистой стенки желудка в эксперименте, пригодные для фототермолиза раковых клеток, и способы закрытия перфоративного дефекта для коррекции возможных осложнений фототермолиза (эксперимент 1).
2. В условиях эксперимента определить сроки накопления наночастиц в различных органах и тканях (эксперимент 2).
3. С целью подведения наночастиц к очаговым образованиям печени разработать модель кисты (шаровидного образования) печени и способ мало-

инвазивной чрескожной (транскутанной) пункции кисты печени под ультразвуковым контролем (УЗК) для подведения к ней наночастиц и проведения фототермолиза (эксперимент 3).

Материалы и методы исследования

Эксперимент 1. Для разработки способов эндоскопического лазерного фототермолиза при опухолях органов брюшной полости, в частности желудка, на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии СГМУ проведены серии экспериментов на 25 органных комплексах и 10 лабораторных животных (беспородные собаки). В итоге разработана методика проведения облучения слизистой желудка через биопсийный канал фиброгастро-дуоденоскопа. Для проведения лазерного воздействия на стенку желудка под визуальным эндоскопическим контролем в желудок проводят световод лазера «Lasermid 01-10» с длиной волны 1064 нм в постоянном режиме. Диаметр световода 600 нм; мощность излучения на торце световода 8–10 Вт.

Специально для интраоперационной коррекции перфоративных осложнений желудочной стенки при проведении фототермолиза авторами разработан и запатентован эндоскопический способ закрытия перфоративного дефекта [7].

Эксперимент 2. Совместно с первой ветеринарной клиникой г. Саратова (главный врач – д.в.н. Г. С. Терентюк) авторами проведены исследования, оценивающие сроки накопления наночастиц в тканях экспериментальных животных. В ходе эксперимента оценивали сроки накопления наночастиц в некоторых органах белых лабораторных крыс весом 150–200 г. Под наркозом (золетил 0,15 мл) рассекали кожу на передней поверхности шеи, тупым способом разделяли мышцы и выделяли яремную вену. Яремная вена бралась на лигатуру. В яремную вену вводилось 1 мл суспензии золотых наночастиц по направлению от головы к хвосту. После введения на кожу накладывались швы. Крыса подвергалась эвтаназии спустя 4 ч после введения частиц, когда предположительно накопление частиц в печени достигало максимума. Проводился эмиссионный спектральный анализ почек, мочевого пузыря и печени. Количественное содержание золота оценивалось по интенсивности эмиссионных линий на тестовых длинах волн 267 и 312,2 нм.

Эксперимент 3. С целью подведения наночастиц к очаговым образованиям печени с помощью баллонного способа авторами смоделирована киста (шаровидное образование) печени [8], а для уменьшения травматичности и инвазивности, профилактики кровотечения и желчеистечения разработан малоинвазивный способ чрескожной пункции смоделированной кисты печени под УЗК для подведения к ней наночастиц и лазерного облучения (фототермолиза) [9].

В эксперименте на 15 лабораторных животных (кролики-самцы) в установленной проекции соответствующей доли печени под УЗК производят чрескожную пункцию печени. В ходе эксперимента установлено, что длина внутripеченочного канала должна быть 1,0–1,5 см, что обеспечивает диаметр формируемой кисты 1,0–1,5 см. Далее через иглу вводят двухканальный катетер с баллоном из силиконизированной резины на дистальном конце. Первый канал катетера соединен с баллоном и предназначен для его дозированного наполнения, второй канал (санирующий) открывается на дистальном конце и

служит для введения в созданную полость склерозирующих, контрастных и других растворов. Затем по катетеру иглу удаляют из сформированного канала, катетер фиксируют.

Под ультразвуковым контролем через первый канал катетера, соединенного с баллоном, вводят физиологический раствор до заданного объема полости. Для ускорения формирования фиброзной капсулы ежедневно через второй канал катетера вводят 0,5 мл 70 % раствора этилового спирта с эвакуацией его через 15 мин. По истечении 4–5 сут, времени, необходимого для формирования фиброзной кисты, опорожняют баллон.

Предлагаемый способ иллюстрирован на рис. 1, где 1 – брюшная стенка, 2 – печень, 3 – катетер, 4 – первый канал катетера, 5 – второй канал катетера, 6 – баллон катетера в раздутom состоянии, 7 – стенка кисты.

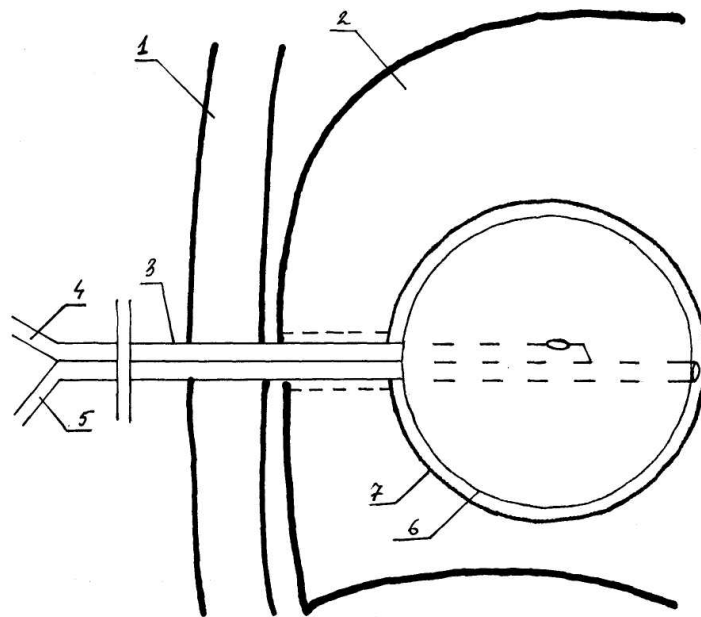


Рис. 1. Способ моделирования фиброзной кисты печени в эксперименте

Динамический рентгенологический контроль за создаваемой полостью осуществляется при ее контрастировании. Для оценки параметров сформированной полости фиброзной кисты через второй канал катетера вводят рентгенконтрастное вещество (омнипак, ультравист-300) 1,5 мл и производят рентгенографию, затем контраст эвакуируют.

В другом эксперименте на 15 лабораторных животных (кролики, белые крысы) в проекции расположения созданного очагового образования проведена пункция брюшной стенки иглой с мандреном. Мандрен удаляют тотчас по достижении края паренхиматозного органа. Далее через просвет иглы проводят световод лазера (Лазермед 0110 с λ 1064 нм в постоянном режиме, диаметр световода 600 нм; мощность излучения на торце 8–10 Вт) до дистального края иглы. При этом край световода не выступает из просвета иглы, что контролируется предварительно установленной меткой на световоде лазера. При мощности излучения 10 Вт через паренхиму органа продвигают иглу со световодом лазера тотчас до границ очагового образования. Световод лазера

удаляется. В дальнейшем осуществляется введение наночастиц и лазерный фототермолиз очагового образования с целью его ускоренной облитерации и замещения соединительной тканью.

Предлагаемый способ иллюстрирован на рис. 2, где 1 – брюшная стенка, 2 – печень, 3 – пункционная игла, 4 – световод лазера, 5 – внутripеченочный канал. Суть предлагаемого способа состоит в том, что в соответствующей доле печени 2 производят пункцию брюшной стенки 1 иглой 3. Далее через просвет иглы 3 проводят световод лазера 4. Формируют внутripеченочный канал 5. Удаляют световод лазера 4 из иглы 3.

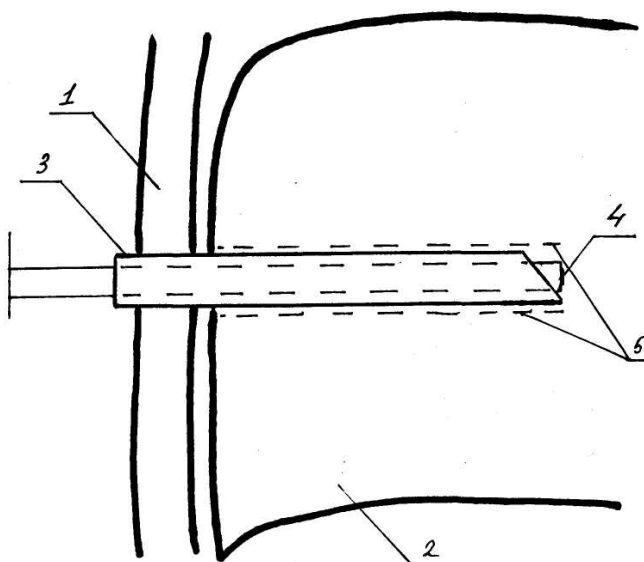


Рис. 2. Способ транскutánной пункции очаговых образований паренхиматозных органов

Предложенный способ транскutánной пункции паренхиматозного органа прост в техническом исполнении, экономически доступен, обеспечивает малоинвазивность манипуляции, надежную профилактику осложнений в ходе пункции, а также в периоде после проведения данной манипуляции. Санация полости осуществляется через двухпросветный катетер с баллоном, что позволяет проводить динамическую диагностику и следить за эффектом лечения до полной облитерации полости. Подобный метод может быть применен и при лечении метастазов печени.

Полученные результаты

Эксперимент 1. Разработанный в эксперименте эндоскопический способ бесконтактного лазерного воздействия на слизистую стенки желудка обеспечивает лазер с длиной волны 1064 нм в ИК-диапазоне. При оценке различных параметров лазерного излучения были определены оптимальные сроки и температурный режим фототермолиза: за 1 мин нагрев стенки желудка достигал температуры 50–70 °С. В данном режиме обеспечивалось лишь бесконтактное облучение слизистой оболочки без распространения воздействия на подслизистые структуры. При увеличении сроков и температуры нагрева при мощности излучения 10 Вт непосредственное контактное воздействие на

все стенки желудка приводит к образованию коагуляционного некроза, вплоть до образования перфоративного отверстия (от 600 нкм до 10 мм и более).

При контрольном ФГС-исследовании на третьи, седьмые, 14 сутки после использования эндоскопической оментопластики отмечены ранняя эпителизация и полноценное восстановление подслизистой соединительной основы и дефекта слизистой. При этом констатируется уменьшение выраженности воспалительной реакции и сроков заживления слизистой без ее деформации и образования грубого рубца. При развитии перфоративных осложнений лазерного фототермолиза подобная методика фиброгастроскопической «пломбировки» перфоративного отверстия аутопластическим материалом может быть проведена как с помощью видеолапароскопической поддержки, так и при использовании минилапаротомического доступа. Таким образом, в результате проведенных экспериментов были определены предварительные параметры лазерного излучения и изучено состояние стенки органа в зоне нагрева биоткани.

Эксперимент 2. Как показали проведенные исследования, наночастицы при внутривенном введении накапливаются в почках через $10 \pm 2,7$ мин ($M \pm m$) после введения. Спустя $58 \pm 5,3$ мин ($M \pm m$) наночастицы золота накапливаются в мочевом пузыре и далее основная их часть выводится из организма. Через $4,2 \pm 0,5$ ч ($M \pm m$) после введения наночастиц наиболее значительная концентрация их определяется в печени. Наблюдать наночастицы на рентгенограммах можно только при их введении в очень высоких концентрациях, значительно (на три порядка) превышающих дозировки, используемые для фототермолиза.

Эксперимент 3. Проведенные исследования показали возможность моделирования очагового образования печени с помощью катетера с баллоном. Предложенный способ моделирования фиброзной кисты является малотравматичным, обеспечивает точно заданный объем формируемой кисты, возможность динамического контроля параметров кисты, укорочение сроков формирования фиброзной капсулы до пяти дней по сравнению с прототипом. Санация полости осуществляется через двухпросветный катетер с баллоном, что позволяет проводить динамическую диагностику и следить за эффектом лечения до полной облитерации полости. Подобный метод может быть применен и при лечении метастазов печени.

Доказана целесообразность применения малоинвазивной транскутанной пункции печени под контролем УЗИ с последующим введением наночастиц в полость кисты и проведением фототермолиза. При выполнении пункции предложенным нами способом в результате лазерного воздействия на паренхиму органа образуется коагуляционный некроз стенки пройденного канала, обеспечивающий надежный желче- и гемостаз. Предложенный способ транскутанной пункции паренхиматозного органа прост в техническом исполнении, экономически доступен, обеспечивает малоинвазивность манипуляции, надежную профилактику осложнений в ходе пункции, а также в периоде после проведения данной манипуляции.

Выводы

1. Проведение эндоскопического лазерного воздействия на стенку желудка в ИК-диапазоне обеспечивает нагрев слизистой оболочки желудка до

50–70 °С за 1 мин, что возможно использовать для проведения фототермолиза в экспериментальной онкологии. Экспериментально обоснована комбинированная эндоскопическая пластика.

2. Определены возможности рентгенологической визуализации и сроки накопления золотых наночастиц при их внутривенном введении экспериментальному животному.

3. При моделировании очагового образования печени доказана возможность неинвазивной транскутанной пункции печени под УЗК с последующим введением наночастиц в полость кисты и проведением фототермолиза.

Список литературы

1. **Решетов, И. В.** Нанотехнологии – прорыв в области медицины / И. В. Решетов // Стратегия. Русский проект. – Столетие.РУ. – 2007. – 23 авг.
2. **Колесников, С.** Блеск и опасности наносубстанций / С. Колесников // Нанотехнология. Обучение и карьера. – DP.RU. – 2007. – 2 авг.
3. **Maksimova, I. L.** Diagnostic potentialities of plasmon-resonant nanoparticles as contrast agents for the diffuse back scattering spectroscopy of biotissues / I. L. Maksimova [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – V. 6536. – P. 65360C (1–10) (doi: 10.1117/12.753447).
4. **Terentyuk, G. S.** Application of gold nanoparticles to x-ray diagnostics and photothermal therapy of cancer / G. S. Terentyuk [et al.] // Saratov Fall Meeting: Coherent Optics of Ordered and Random Media VII / ed. D. A. Zimnyakov and N. G. Khlebtsov. – Bellingham, WA. Proc. SPIE. 2007. – V. 6536. – P. 65360B (1–12). (doi: 10.1117/12.753446).
5. **Терентюк, Г. С.** Нейросетевой подход в диагностике злокачественных новообразований молочных желез / Г. С. Терентюк, И. Л. Максимова // Альманах клинической медицины. Т. XII: II Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине» (16–19 мая 2006 г.). – М.: МОНКИ, 2006. – С. 63.
6. **Максимова, И. Л.** Управление оптическими свойствами биотканей / И. Л. Максимова, Д. А. Зимняков, В. В. Тучин // Оптика и спектр. – 2000. – Т. 89. – Вып. 1. – С. 86–95.
7. Патент 2393778 Российская Федерация. Способ комбинированной бесшовной коррекции перфорации желудка в эксперименте / Алипов В. В., Лебедев М. С., Цацаев Х. М., Алипов Н. В. – № 2008149481/14 ; заявл. 15.12.2008 ; опубл. 10.07.2008, Бюл. № 19.
8. Патент 2394278 Российская Федерация. Способ моделирования фиброзной кисты печени в эксперименте / Алипов В. В., Лебедев М. С., Цацаев Х. М., Алипов Н. В. – № 2008149496 ; заявл. 15.12.2008 ; опубл. 10.07.2008, Бюл. № 19.
9. Патент 2393812 Российская Федерация. Способ транскутанной пункции очаговых образований паренхиматозных органов / Алипов В. В., Капралов С. В., Лебедев М. С., Цацаев Х. М., Алипов Н. В. – № 2008149361 ; заявл. 15.12.2008 ; опубл. 10.07.2008, Бюл. № 19.

Алипов Владимир Владимирович
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой оперативной
хирургии и топографической анатомии,
Саратовский государственный
медицинский университет
им. В. И. Разумовского

E-mail: vladimir.alipov@yandex.ru

Alipov Vladimir Vladimirovich
Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of operative
surgery and topographic anatomy,
Saratov State Medical University
named after V. I. Razumovsky

Лебедев Максим Сергеевич

аспирант, Саратовский
государственный медицинский
университет им. В. И. Разумовского

E-mail: vladimiralipov@yandex.ru

Lebedev Maksim Sergeevich

Postgraduate student,
Saratov State Medical University
named after V. I. Razumovsky

Цацаев Хумид Мамедович

аспирант, Саратовский
государственный медицинский
университет им. В. И. Разумовского

E-mail: vladimiralipov@yandex.ru

Tsatsaev Khumid Mamedovich

Postgraduate student,
Saratov State Medical University
named after V. I. Razumovsky

УДК 616.33-002.44-007.251-089.8191-092.9

Алипов, В. В.

Экспериментальное обоснование использования нанотехнологий в хирургии желудка и печени / В. В. Алипов, М. С. Лебедев, Х. М. Цацаев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2010. – № 3 (15). – С. 22–10.