

2. Гнеушев, Р.Ю. Моделирование прохождения зондирующего излучения через верхнечелюстную пазуху методом монте-карло при цифровой диафаноскопии / Р.Ю. Гнеушев, Е.О. Брянская, В.В. Дрёмин, А.Г. Букин, И.Н. Маковик // Биотехнические, медицинские и экологические системы, измерительные устройства и робототехнические комплексы – Биомедсистемы-2019: сб. тр. XXXII Всерос. науч.-техн. конф. студ., мол. ученых и спец., 4-6 декабря 2019 г. / под общ. ред. В.И. Жулева. – Рязань: ИП Коняхин А.В. – 2019. – С. 137 – 139.
3. Bryanskaya, E. Diagnosis of inflammatory diseases of the paranasal sinuses using digital diaphanoscopy [Text] / E. Bryanskaya, I. Makovik, A. Bukin, O. Bibikova, B. Shuraev, O. Minet, U. Zabarilo, A. Dunaev, V. Artyushenko // Proc. SPIE 11073. – 2019. – V. 11073. – P. 110731P.
4. Турапова Ж. М. Кисты придаточных пазух носа (Обзор литературы) // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2020. – Т. 20. – №. 5. – С. 89-94.
5. Пальчун, Н. Т. Руководство по практической оториноларингологии / Н. Т. Пальчун, Л. А. Лучихин, М. М. Магомедов. – МИА, 2011. – С. 166.
6. Бабияк, В. И. Клиническая оториноларингология / В. И. Бабияк, Я. А. Накатис. — М.: Медицина, 2005. — С. 253-254.

УДК 535.372+616-089.819

**ИЗМЕРЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ИНТЕНСИВНОСТИ И ВРЕМЕНИ
ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ТОНКОИГОЛЬНОГО ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКОГО ЗОНДА
НА МОДЕЛИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ МЫШЕЙ**

К.Ю. Кандурова¹, В.В. Шуплецов¹, Е.В. Потапова¹, Е.А. Жеребцов^{1,2},
А.В. Мамошин^{1,3}, А.В. Дунаев¹

¹ Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел

² University of Oulu, Oulu, Finland

³ Орловская областная клиническая больница, Орел

В работе показаны результаты измерений параметров флуоресценции (интенсивность, компоненты времени жизни) в здоровых и злокачественных тканях печени на примере лабораторных мышей с объединением системы для время-коррелированного счета одиночных фотонов и специального тонкоиглольного волоконно-оптического зонда.

Ключевые слова: *оптическая биопсия, время жизни флуоресценции, рак печени, гепатоцеллюлярная карцинома.*

OF FLUORESCENCE INTENSITY AND LIFETIME MEASUREMENTS WITH A FINE-NEEDLE FIBER-OPTIC PROBE IN A MODEL OF MOUSE HEPATOCELLULAR CARCINOMA

K.Y. Kandurova¹, V.V. Shupletsov¹, E.V. Potapova¹, E.A. Zherebtsov^{1,2},
A.V. Mamoshin^{1,3}, A.V. Dunaev¹

¹ Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel

² University of Oulu, Oulu, Finland

³ Orel Regional Clinical Hospital, Orel

The work demonstrates the results of fluorescence parameters measurements (intensity, lifetime decay components) in healthy and malignant liver tissues of laboratory mice. The setup used combined a system for time-correlated single photon counting and the specially designed fine-needle fiber optic probe.

Key words: *optical biopsy, fluorescence lifetime, liver cancer, hepatocellular carcinoma.*

В настоящее время сохраняет свою актуальность проблема своевременной диагностики и лечения онкологических заболеваний печени. Данный вид опухолей характеризуется неспецифичными симптомами, затрудняющими раннюю диагностику, и быстрым прогрессированием, что приводит к высокому уровню смертности.

Неотъемлемой частью предоперационной диагностики в течение многих лет остается морфологический анализ опухоли [1]. Забор материала для данного исследования производится во время проведения пункционной биопсии. Метод обеспечивает низкую травматичность и вероятность осложнений, однако существуют ограничения, самыми значительными из которых являются вероятность получения неинформативных образцов и невозможность получения результатов исследования в режиме реального времени (морфологический анализ занимает 5-10 дней).

Внедрение дополнительных методов биофотоники в стандартные миниинвазивные процедуры представляется перспективным как для повышения точности забора образцов, так и для предоставления дополнительной диагностической информации. В процессе злокачественной трансформации клетки претерпевают значительные изменения, в том числе, метаболические. Для оценки состояния энергетического обмена биологических тканей в режиме реального времени широко применяются различные флуоресцентные методы. Ряд эндогенных флуорофоров активно участвуют в клеточном метаболизме, в частности восстановленная форма кофермента митохондрий никотинамидадениндинуклеотида (НАДН). Такие характеристики, как интенсивность и время жизни флуоресценции, несут информацию о метаболическом состоянии клеток, содержании и биохимическом взаимодействии НАДН с окружающими веществами [2]. Выявление изменений данных параметров может стать ценным дополнением к стандартной пункционной биопсии.

Целью работы явилось внедрение метода регистрации интенсивности и времени жизни флуоресценции НАДН в тонкоигольную систему для пункционной биопсии и проведение предварительных измерений на модельных животных.

Для регистрации параметров интенсивности и времени жизни флуоресценции применялся метод время-коррелированного счета одиночных фотонов. Блоки измерительной системы (Becker & Hickl, Германия) включали в себя гибридный фотодетектор HPM-100-40-CMOUNT с флуоресцентным фильтром (445 ± 25 нм), лазер BDS-SM-375-FBC-101 и монохроматор MonoScan2000 (OceanOptics), позволяющий гарантировать возбуждение флуоресценции НАДН излучением на длине волны 365 нм. Лазерный источник и детекторы были подключены к специально разработанному тонкоигольному волоконно-оптическому зонду (\varnothing 1 мм, скос торца 20°).

Для сравнения параметров флуоресценции здоровых и злокачественных тканей в качестве модели использовались 8 мышей линии BDF, которым в ткани печени были перевиты клетки гепатоцеллюлярной карциномы мыши H33 (50000 клеток/мкл, 100 мкл на мышь). Исследования были одобрены Этическим комитетом Орловского государственного университета (протокол заседания № 12 от 6.09.2018). Эксперименты проводились *in vivo* через три месяца после операции. Оптический зонд вводили в несколько участков здоровой печени и опухолевых тканей. Образцы тканей исследуемых органов далее были отправлены на гистологическое исследование, результаты которого были использованы для подтверждения типа тканей при обработке полученных данных. Также проводились измерения в контрольной группе из 3 мышей без опухоли.

Полученные результаты показали высокую индивидуальную вариабельность и увеличение средней интенсивности флуоресценции у мышей с опухолями по сравнению с контрольной группой. Две компоненты времени жизни флуоресценции τ_1 и τ_2 продемонстрировали статистически значимую разницу между анализируемыми типами тканей, при этом указанные параметры в опухоли были снижены на 35 и 22% в сравнении с контрольной группой, соответственно (таблица 1). Вклад в общую флуоресценцию быстрой компоненты α_1 в злокачественных тканях был увеличен на 12-14%, что свидетельствует о преобладании свободного НАДН.

Таблица 1-
Сравнение параметров времени жизни флуоресценции

Исследуемая область	τ_1 , пс	τ_2 , пс	α_1 , %	α_2 , %
Контрольная группа	540±5	2721±11	61,4±0,4	38,6±0,4
Здоровая печень	848±26	3259±60	63,0±0,7	36,9±0,7
Опухоль	552±15	2532±26	75,6±0,6	24,4±0,6

Результаты соответствуют литературным данным о доминировании гликолиза в указанном типе опухоли, что выразилось в увеличении вклада быстрой компоненты затухания флуоресценции в общий уровень регистрируемой флуоресценции [3]. В свою очередь, разброс полученных значений может указывать на индивидуальные различия в процессе роста каждой опухоли.

Предлагаемый подход позволяет выявить атипичную метаболическую активность злокачественных клеток, следовательно внедрение измерений параметров времени жизни флуоресценции во время пункционной биопсии является перспективным для дальнейших исследований, в том числе при изучении метаболической активности опухолей различной степени злокачественности.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта №18-15-00201.

Библиографический список

1. Fine-needle aspiration biopsy of hepatocellular carcinoma and related hepatocellular nodular lesions in cirrhosis: controversies, challenges, and expectations / A. Wee // Patholog. Res. Int., 2011, 2011, 587936.
2. Люминесцентная микроскопия на основе многопараметрического время-коррелированного счета фотонов / В.И. Щеславский, М.В. Ширманова, А. Ельцов и др. // Успехи биологической химии, 2019, 59, с. 103-138.
3. Многофотонная микроскопия с эндогенным контрастом: природа флуорофоров и возможности в исследовании биохимических процессов / Е.А. Ширшин, Б.П. Якимов, М.Е. Дарвин и др. // Успехи биологической химии, 2019, 59, с. 139-180.

УДК 615.471+681.784.8

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ МНОГОКАНАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ В СИСТЕМЕ ЖЁСТКОЙ ЭНДОСКОПИИ

Н.В. Голубова¹, В.В. Шуплецов¹, Д.Д. Ставцев¹,
Е.В. Потапова¹, В.В. Дремин^{1,2}

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орел, РФ

²College of Engineering and Physical Sciences, Aston University, Birmingham, United Kingdom

Рассмотрена возможность реализации оптических методов визуализации в канале жесткого эндоскопа. Проведены исследования на разработанных фантомах, моделирующих варибельность скорости кровотока, а также различные содержания хромофоров и флуорофоров в биологических тканях. Получены качественные и количественные результаты.

Ключевые слова: оптические методы, жесткая эндоскопия, лазерная спекл-контрастная визуализация, флуоресцентная визуализация, гиперспектральная визуализация.