

## Программно-аппаратный комплекс флуоресцентно-отражательной спектроскопии для интраоперационной диагностики тканевого метаболизма

### Аннотация

Предлагается мультимодальное устройство для оценки метаболического статуса тканей при проведении минимально инвазивных хирургических вмешательств. Программно-аппаратный комплекс и специально разработанные тонкоигольные оптоволоконные зонды позволяют оценивать флуоресценцию основных тканевых флуорофоров, а также тканевую сатурацию. Предложенный подход позволяет решать различные клинические задачи, в том числе дифференциации здоровых и опухолевых тканей, определения метаболического статуса новообразований и функционального состояния органов. Разработанный комплекс может использоваться для интраоперационной диагностики в различных областях минимально инвазивной хирургии.

### Введение

Область минимально инвазивных хирургических вмешательств (МИХВ) в настоящее время стремительно развивается. Оптическая биопсия, представленная методами оптической спектроскопии, имеет большой потенциал для улучшения диагностических возможностей МИХВ [1], [2]. Преимуществом спектроскопических методов исследования является возможность их реализации через оптические волокна малых диаметров, которые могут быть интегрированы в инструменты для проведения МИХВ. Это позволяет проводить спектроскопический анализ на основе результатов измерений ткани, которую планируется исследовать патоморфологически. Конечная цель внедрения методов оптической диагностики в инструменты МИХВ состоит в том, чтобы на основе спектроскопических измерений проводить оценку состояния ткани и диагностику патологических изменений в режиме реального времени.

Существующие предложения устройств для проведения оптической биопсии с помощью стандартных инструментов для МИХВ основаны на применении таких технологий, как спектроскопия комбинационного рассеяния [3], спектроскопия диффузного отражения (СДО) [4], флуоресцентная спектроскопия (ФС) [5] и лазерная доплеровская флоуметрия [6]. Большая часть работ посвящена в первую очередь автофлуоресцентной спектроскопии в связи с тем, что важные биохимические изменения, связанные с патологическими метаболическими перестройками, изменяют собственный спектр флуоресценции

ткани. При этом метод СДО позволяет получать информацию об уровне насыщения тканей кислородом, что также может быть использовано для анализа тканевого метаболизма.

Предлагаемое совместное применение методов ФС и СДО в одном приборе с возможностью регистрации спектров через тонкоигольный зонд при проведении МИХВ может предоставить возможность комплексного анализа состояния тканей и патологических изменений в них, что потенциально увеличит информативность и достоверность получаемых диагностических результатов на основе мультимодального подхода [7].

**Целью рассматриваемой работы** является разработка программно-аппаратного комплекса (ПАК) флуоресцентно-отражательной спектроскопии с набором оптоволоконных зондов для интраоперационной диагностики тканевого метаболизма, позволяющего решать медицинские клинические задачи в различных областях минимально инвазивной хирургии.

### Описание программно-аппаратного комплекса

Разработка программно-аппаратного комплекса флуоресцентно-отражательной спектроскопии включала в себя следующие основные этапы:

- 1) обоснование специализированных медико-технических требований к устройству и оригинальным оптоволоконным зондам для различных клинических задач;
- 2) проектно-конструкторский этап создания устройства, включающий в себя выбор оптоэлектронных компонентов, проектирование и изготовление корпуса, изготовление оптоволоконных зондов различных диаметров и длины;

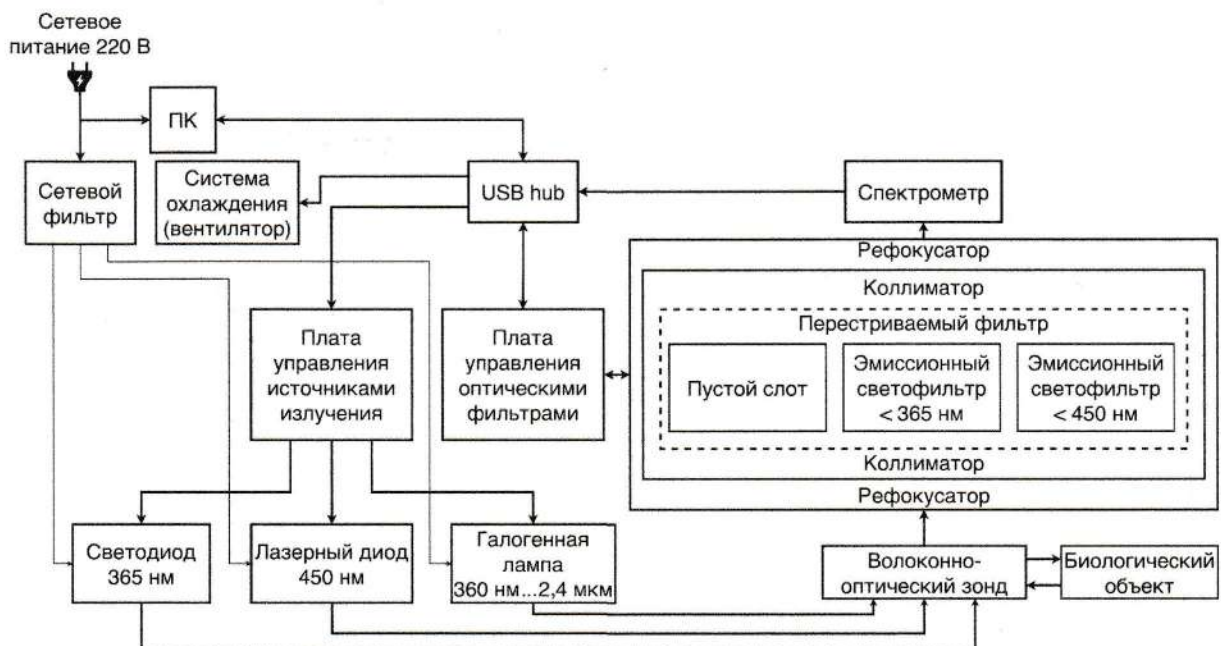


Рис. 1. Функциональная схема ПАК для интраоперационной диагностики тканевого метаболизма



- 3) верификацию разработанного макета ПАК путем оценки чувствительности тонкоигольного оптического зонда к изменениям флуоресценции коферментов клеточного дыхания, а также к изменениям сатурации в тканях;
- 4) апробацию ПАК в клинических условиях.

Функциональная схема разработанного ПАК для интраоперационной диагностики тканевого метаболизма (патент РФ № 2709830) представлена на *рис. 1*.

Для возбуждения эндогенной флуоресценции биологических тканей используются два источника излучения: светодиод с длиной волны 365 нм и лазерный диод с длиной волны 450 нм. Выходная мощность используемых источников составляет не более 1,5 и 3,5 мВт соответственно, что обеспечивает соблюдение требований безопасности и уменьшает влияние эффекта фотообесцвечивания. Выбор данных длин волн в канале ФС обусловлен максимальным количеством возбуждаемых ими эндогенных флуорофоров, в том числе коферментов энергетического метаболизма НАДН и ФАД. В канале СДО ткань освещается полихроматическим излучением (360...2 400 нм) галогенной лампы. Для регистрации спектров флуоресценции и диффузного отражения используется малогабаритный ПЗС-спектрометр (рабочий диапазон длин волн – 350...1 000 нм). Сбор и передача оптического излучения осуществляются с помощью тонкоигольного оптоволоконного зонда малого диаметра, позволяющего вводить его в стандартные медицинские иглы или дренажные системы, а также подвергать стерилизации. Свет от источников через тонкоигольный оптоволоконный зонд идет к биологическому объекту, отражается или переизлучается в форме флуоресценции, собирается оптическим волокном и поступает на спроектированный рефокусатор, который состоит из двух коллиматоров, между которыми помещены эмиссионные фильтры. Эмиссионные светофильтры устанавливаются в оптический тракт измерительных каналов автоматически и предназначены для ослабления обратно отраженного излучения от источников монохроматического светового излучения в канале ФС. Связь пользователя с блоком управления осуществляется через специализированную разработанную программу, установленную на персональный компьютер.

В зависимости от поставленных медицинских задач могут использоваться оптоволоконные зонды различных диаметров (0,5...1 мм), длины и конфигурации приемопередаточных оптических волокон (*рис. 2*). Торцевой скос зондов (20°) соответствует скосу пункционной иглы и обеспечивает наибольшую площадь соприкосновения с тканью, а при необходимости изменения позиции зонда (динамическое измерение) обеспечивает возможность проведения измерений по ходу траектории движения инструмента в ткани, позволяя хирургу проводить ряд последовательных измерений в диагностируемой области.

## Результаты экспериментальных исследований

Внешний вид рабочего макета ПАК и набор тонкоигольных оптоволоконных зондов представлены на *рис. 3а*. Управление комплексом осуществляется при помощи графического интерфейса, разработанного на языке программирования Python (*рис. 3б*). Интерфейс включает в себя следующие элементы: индикаторы поочередной работы источников излучения, спектров диффузного отражения и флуоресценции, возбужденной на длинах волн 365 и 450 нм, рассчитанного значения тканевой сатурации и амплитуд флуоресценции  $AF_{365}$  и  $AF_{450}$ .

Для верификации разработанного ПАК проведены экспериментальные измерения интенсивности флуоресценции внутренних органов лабораторной крысы *in vivo* при воздействии на поверхность ткани митохондриальным ингибитором для индуцирования изменений клеточного дыхания. Полученные результаты показали способность разработанного канала регистрировать изменения интенсивности флуоресценции, обусловленные изменениями в процессах окислительного фосфорилирования митохондрий. Также были проведены исследования изменения тканевой сатурации в результате проведения окклюзионной пробы на пальцах руки условно здоровых добровольцев.

Апробация разработанного ПАК была осуществлена в клинических условиях. Все исследования были проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, одобрены этическим комитетом, участники были ознакомлены с содержанием исследования и подписывали бланк информированного согласия.

ПАК флуоресцентно-отражательной спектроскопии применялся в исследованиях, направленных на повышение диагностической эффективности пункционной биопсии (ПБ) печени. В клинических исследованиях приняли участие 20 пациентов хирургического отделения Орловской областной клинической больницы. Регистрация спектров осуществлялась во время стандартной процедуры ПБ под ультразвуковым контролем по ходу траектории движения пункционной иглы в тканях паренхимы печени и новообразования, характер которого подтверждался патоморфологическим исследованием. Использовался тонкоигольный оптоволоконный зонд диаметром 1 мм и длиной 220 мм. При анализе амплитуд спектров флуоресценции было обнаружено, что на обеих длинах волн возбуждения (365 и 450 нм) пики интенсивности флуоресценции опухолевой ткани отличаются от пиков неизменной паренхимы печени, для которой характерно «красное» смещение длины волны спектров. Вероятно, это связано с тем, что неизменные ткани печени содержат более чем в пять раз больше желчи, чем опухоли. Также была зарегистрирована статистически зна-



Рис. 2. Различные типы тонкоигольных оптоволоконных зондов

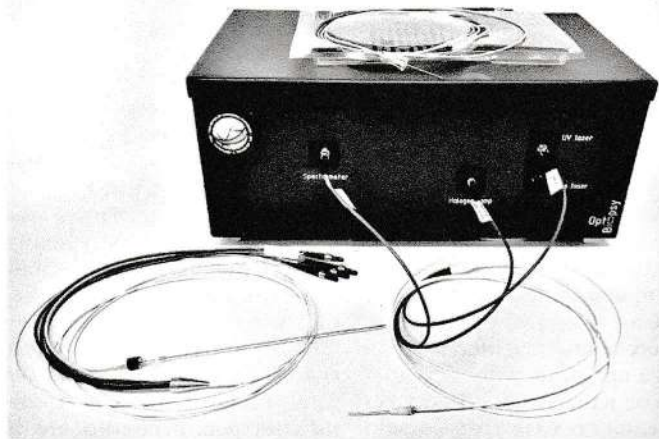


чимая разница в насыщении кислородом двух типов тканей (опухолевой и неизменной паренхимы печени). Предложенные на основе полученных параметров (сдвиг пиков амплитуд ФС и тканевая сатурация) классификаторы, основанные на методе опорных векторов, позволяют дифференцировать новообразования и условно здоровые ткани печени с чувствительностью и специфичностью 0,90 и 0,95 соответственно [8]. Таким образом, разработанный ПАК является перспективным инструментом для дифференциации опухолевой ткани и неизменной паренхимы печени во время проведения ТПБ.

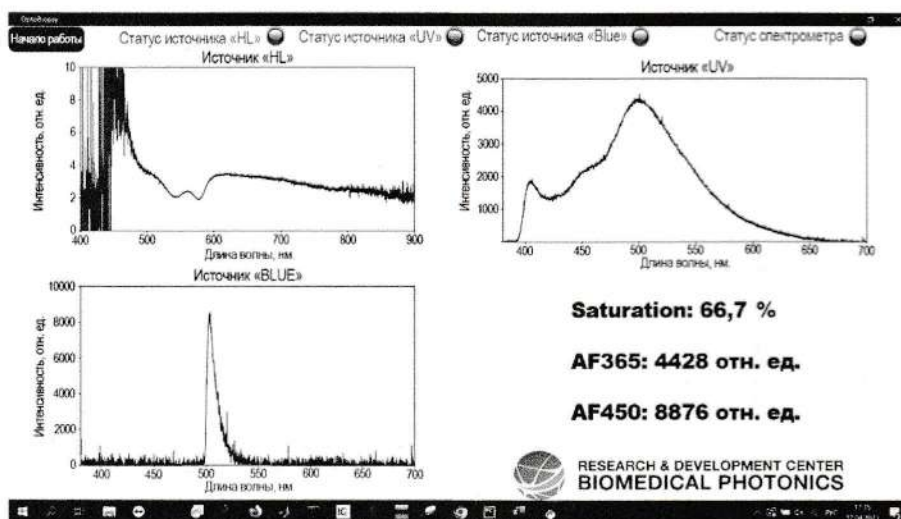
Еще одной из возможностей применения разработанного ПАК является оценка функционального состояния печени у пациентов с синдромом механической желтухи (МЖ). На базе Орловской областной клинической больницы были проведены исследования с участием 20 пациентов с синдромом МЖ. Измерения проводились во время формирования первичного доступа в желчевыводящую систему для достижения антеградной билиарной декомпрессии методом ФС на длинах волн 365 и 450 нм. Для передачи оптического излучения применялся тот же волоконно-оптический зонд диаметром 1 мм и длиной 220 мм. Полученные спектры анализировались методом деконволюции с целью выделения комбинации гауссовых кривых, отражающих вклад отдельных флуорофоров [9]. Результаты сравнивались с данными 11 пациентов без МЖ, полученными при проведении ПБ объемных образований печени [8]. Анализ кривых показал статистически значимое увеличение вклада флуоресценции НАДН, билирубина и флавинов в группе пациентов с МЖ. В качестве потенциальных маркеров нарушения функционального состояния печени были отмечены изменение вклада витамина А как косвенного признака сни-

жения выделительной функции, а в отдельных случаях у пациентов с негативной динамикой наблюдалось увеличение вкладов порфиринов и липофусцина [10]. В настоящее время данная технология развивается в сторону разработки алгоритма определения степени печеночной недостаточности путем сопоставления полученных данных с результатами клинико-лабораторных анализов и инструментальных методов диагностики (ультразвуковое и магнитно-резонансное исследования).

Другим клиническим примером применения разработанного ПАК является определение метаболического статуса опухолей молочной железы. Исследования проводились на базе Смоленского областного онкологического клинического диспансера с участием 21 пациента с новообразованиями молочных желез, которым, помимо стандартных методик обследования, проводилась оценка метаболизма опухолевого образования методами ФС и СДО с помощью данного ПАК и специально разработанного тонкоигольного оптоволоконного зонда диаметром 0,7 мм и длиной 55 мм. Установлено, что злокачественные опухоли молочных желез обладают более низкими значениями тканевой сатурации по сравнению с доброкачественными новообразованиями молочных желез. Также обнаружено, что злокачественные опухоли имеют более высокие значения интенсивности флуоресценции на длине волны возбуждения 365 нм по сравнению с доброкачественными, что может быть связано с накоплением кофермента НАДН или изменениями коллагенового матрикса. Предложенный метод оценки метаболизма новообразований молочных желез может применяться для улучшения результатов ПБ под ультразвуковым контролем и оценки лечебного патоморфоза рака молочной железы.



а)



б)

Рис. 3. Вид рабочего макета ПАК для интраоперационной диагностики тканевого метаболизма (а) и интерфейс управления (б)



## Заключение

Разработанный ПАК для интраоперационной оценки тканевого метаболизма в режиме реального времени на основе методов оптической диагностики (ФС и СДО) отвечает современным трендам персонализированной медицины и высокотехнологичного здравоохранения. Комплекс имеет удобный интерфейс для регистрации сигналов ФС и СДО, а также укомплектован набором оптоволоконных зондов различного диаметра и длины для удобства проведения исследований в разных областях минимально инвазивной хирургии.

Работоспособность предложенного ПАК проверена клинически с сопоставлением полученных данных с клинико-лабораторными анализами и результатами патоморфологического исследования. Дальнейшие работы по усовершенствованию комплекса будут направлены на доработку классификаторов с внедрением их в интерфейс ПАК для реализации системы поддержки принятия врачебных решений и получение регистрационного удостоверения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00487, <https://rscf.ru/project/23-25-00487>.

### Список литературы:

1. Ellebrecht D.B., Latus S., Schlaefel A., Keck T., Gessert N. Towards an optical biopsy during visceral surgical interventions // *Visceral Medicine*. 2020. Vol. 36. № 2. PP. 70-79.
2. Nie Z., Yeh S.-C.A., Le Palud M., Badr F., Tse F., Armstrong D., Liu L.W.C., Deen M.J., Fang Q. Optical biopsy of the upper gastrointestinal tract using fluorescence lifetime and spectra // *Frontiers in Physiology*. 2020. Vol. 11. P. 339.
3. Desroches J., Jermyn M., Pinto M., Picot F., Tremblay M.-A., Obaid S., Marple E., Urmey K., Trudel D., Soulez G. A new method using Raman spectroscopy for in vivo targeted brain cancer tissue biopsy // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8. P. 1792.
4. De Boer L.L., Bydlon T.M., Van Duijnhoven F., Vranken Peeters M.-J.T.F.D., Loo C.E., Winter-Warnars G.A.O., Sanders J., Sterenborg H.J.C.M., Hendriks B.H.W.,

- Ruers T.J.M.* Towards the use of diffuse reflectance spectroscopy for real-time in vivo detection of breast cancer during surgery // *Journal of Translational Medicine*. 2018. Vol. 16. № 367. PP. 1-14.
5. Бабкина А.С. Лазер-индуцированная флуоресцентная спектроскопия в диагностике тканевой гипоксии (обзор) // *Общая реаниматология*. 2019. Т. 15. № 6. С. 50-61.
  6. Haj-Hosseini N., Richter J.C.O., Milos P., Hallbeck M., Wårdell K. 5-ALA fluorescence and laser Doppler flowmetry for guidance in a stereotactic brain tumor biopsy // *Biomedical Optics Express*. 2018. Vol. 9. № 5. PP. 2284-2296.
  7. Дунаев А.В. Мультимодальная оптическая диагностика микроциркуляторно-тканевых систем организма человека. – Старый Оскол: ТНТ, 2022. 440 с.
  8. Dremir V., Potapova E., Zherebtsov E., Kandurova K., Shupletsov V., Alekseyev A., Mamoshin A., Dunaev A. Optical percutaneous needle biopsy of the liver: A pilot animal and clinical study // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 10. P. 1420.
  9. Croce A.C., Bottiroli G. Autofluorescence spectroscopy and imaging: A tool for biomedical research and diagnosis // *European Journal of Histochemistry*. 2014. Vol. 58. № 4. PP. 320-337.
  10. Kandurova K.Y., Sumin D.S., Mamoshin A.V., Potapova E.V. Deconvolution of the fluorescence spectra measured through a needle probe to assess the functional state of the liver // *Lasers in Surgery and Medicine*. 2023. Vol. 55. PP. 690-701.

Елена Владимировна Потапова,  
канд. техн. наук, доцент,  
ст. научный сотрудник,  
Научно-технологический центр  
биомедицинской фотоники,  
ФГБОУ ВО «Орловский государственный  
университет им. И.С. Тургенева»,  
г. Орел,  
e-mail: potapova\_ev\_ogu@mail.ru

М.К. Полковников, А.П. Воробьев, В.Ф. Головкин, С.А. Горохов, С.В. Иванов,  
А.А. Киряков, П.П. Коробчук, А.П. Солдатов, Е.А. Устинов

## Многолепестковый коллиматор для экспериментального клинического комплекса ионной лучевой терапии

### Аннотация

В настоящей статье описана конструкция и приведены характеристики многолепесткового коллиматора, разработанного для экспериментального клинического комплекса ионной лучевой терапии ускорителя У-70 НИЦ «Курчатовский институт» – ИФВЭ.

### Введение

Целью адронной дистанционной лучевой терапии является облучение раковой опухоли дозой радиации, переносимой пучками протонов и ионов, достаточной (за несколько сеансов облучения – фракций) для ее уничтожения. При этом необходимо потенциально низкое облучение окружающих здоровых тканей и критических органов пациента. Одним из элементов системы, обеспечивающей облучение нужной области пациента, является многолепестковый коллиматор (МЛК), предназначенный для формирования терапевтическим пучком дозового поля необходимой формы посредством полного поглощения части пучка в материале коллиматора и прохождения оставшейся части пучка без искажения. Апертура коллиматора должна максимально точно соответствовать проекции формы поперечного сечения области интереса на плоскость, перпендикулярную центральной оси пучка, при выбранном

направлении облучения. МЛК способен изменять форму апертуры за счет множества подвижных тонких пластин-поглотителей («лепестков»), собранных в блоки по обе стороны от оси пучка, чье перемещение управляется компьютером. МЛК предлагаются к использованию и используются как в пассивных, так и в активных методах формирования дозовых полей [1]-[9]. В настоящей статье описана конструкция и приведены характеристики МЛК, разработанного для экспериментального клинического комплекса ионной лучевой терапии ускорителя У-70 НИЦ «Курчатовский институт» – ИФВЭ [10]. МЛК входит в состав оборудования комплекса и будет использоваться при его эксплуатации.

### Материалы и методы

Принцип действия разработанного МЛК состоит в перекрытии пучка набором пластин-поглотителей длиной 20 см вдоль пучка и «эффективной» толщиной 5 мм поперек. Каж-