

## Экспериментальные лазерные нанохирургические технологии. Первые результаты и перспективы

В.В.АЛИПОВ, М.С.ЛЕБЕДЕВ, Х.М.ЦАЦАЕВ, Н.В.АЛИПОВ, Е.А.ДОБРЕЙКИН, А.И.УРУСОВА

**Experimental laser nanosurgery technology. The first result and perspectives**  
V.V.ALIPOV, M.S.LEBEDEV, X.M.CACAIEV, N.V. ALIPOV, E.A.DOBREIKIN, A.I.URUSOVA

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского

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 транскутанной 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

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

Одним из актуальных и перспективных направлений в современной медицине, в частности в хирургии и онкологии, считается применение нанотехнологий [1, 6-9]. При использовании нанохирургических технологий минимизируется повреждающее действие на здоровые ткани при проведении хирургического лечения, что позитивно отражается на послеоперационной реабилитации [2].

В современных нанотехнологиях используются золотые, серебрянные, медные, а также наночастицы других металлов и углеродистые наночастицы. При поступлении наночастиц в ткань опухоли, они концентрируются в просвете сосудов и регистрируются там как «квантовые точки». Вследствие объединения 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 новообразования.

Одно из самых перспективных направлений в нанотехнологиях – лазерный фототермолиз опухолей в ИК-диапазоне с использованием светопоглощающих наночастиц. Достоинствами лазерного фототермолиза является векторная доставка конъюгатов наночастиц со специфическими биомолекулами, что позволяет достигнуть большей глубины проникновения лазерного облучения и меньшего повреждения биоткани [6].

Цель исследования – изучить особенности накопления золотых наночастиц в различных органах

и тканях, а также экспериментально обосновать возможности эндоскопических нанотехнологий для внутриорганный подведения наночастиц и проведения фототермолиза при лечении новообразований желудка и печени.

Задачи исследования: в условиях эксперимента определить сроки накопления наночастиц в различных органах и тканях; разработать эндоскопические способы и определить параметры лазерного облучения слизистой стенки желудка в эксперименте, пригодные для фототермолиза раковых клеток и способы закрытия перфоративного дефекта для коррекции возможных осложнений фототермолиза; разработать модель кисты (шаровидного образования) печени и способ малоинвазивной чрескожной ее пункции под УЗИ-контролем для внутриорганный введения наночастиц и проведения фототермолиза.

### Материалы и методы

Совместно с первой ветеринарной клиникой г. Саратова нами 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, куда вводили 1 мл суспензии золотых наночастиц по направлению тока крови. Вы-

полнялось рентгенологическое исследование и количественное определение содержания наночастиц.

Крыса подвергалась этаназии спустя 4 часа после введения частиц, когда предположительно их накопление 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.

Для разработки способов эндоскопического лазерного фототермолиза при опухолях органов брюшной полости, в частности желудка, проведены эксперименты на 25 органах комплексах и 10 беспородных собаках. В итоге разработана методика облучения слизистой желудка через биопсийный канал фиброгастроуденоскопа. Для проведения лазерного воздействия на стенку желудка под визуальным эндоскопическим контролем в желудок вводили 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 возможных перфоративных осложнений желудочной стенки при проведении фототермолиза нами разработан и запатентован эндоскопический способ закрытия перфоративного дефекта [3]. Данный способ хирургического лечения перфораций пилородуоденальной зоны в эксперименте характеризуется тем, что проводят фиброгастроуденоскопию (ФГДС), в желудок вводят катетер типа Фогерти с баллоном из силиконизированной резины на дистальном конце. Под контролем ФГДС дистальный конец катетера проводится через перфоративное отверстие в свободную брюшную полость на глубину 3-4 см. Выполняют лапароскопию, накладывают Z-образный шов на центр коллагеновой пластины «ТахоКомб», размер которой превышает диаметр перфоративного отверстия на 1,5 см. Прикрепляют пластину к катетеру, завязывая шов дистальнее баллона, лигатуру срезают. После выведения катетера в просвет желудка, наложенную на дефект стенки коллагеновую пластину «ТахоКомб» фиксируют на серозе привратника. Баллон катетера постепенно раздувают введением 5 мл физиологического раствора до контакта со стенкой желудка, что обеспечивает механическую прочность аллотрансплантата и полную герметичность запломбированного отверстия. Производят лапароскопическую санацию и дренирование брюшной полости. Удаляют фиброгастроуденоскоп, а по истечении необходимого времени, под эндоскопическим контролем - катетер с опорожненным баллоном.

С целью подведения наночастиц к очаговым образованиям печени с помощью баллонного способа нами моделирована киста (шаровидное образование) печени [4], а для уменьшения травматичности, профилактики кровотечения и желчеистечения, разработан малоинвазивный способ чрескожной пункции смоделированной кисты печени под УЗ-контролем и, в пер-

спективе, для подведения к ней наночастиц с последующим лазерным фототермолизом [9].

В эксперименте на 15 лабораторных животных (кролики-самцы), в установленной проекции соответствующей доли печени под УЗ-контролем производили чрескожную пункцию печени. В ходе эксперимента установлено, что протяженность внутрипечёночного канала должна быть 1,0–1,5 см, что обеспечивает диаметр формируемой кисты 1,0–1,5 см. Далее через иглу вводили 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 удаляли из сформированного канала, а катетер фиксировали.

Под УЗ-контролем через первый канал катетера, соединенного с баллоном, вводили физиологический раствор до заданного объема полости. Для ускорения формирования фиброзной капсулы ежедневно через второй канал катетера вводили 0,5 мл 70% раствора этилового спирта с эвакуацией его через 15 минут. По истечении 4-5 суток (времени, необходимым для формирования фиброзной кисты) опорожняли баллон.

Динамический рентгенологический контроль за создаваемой полостью осуществляли при её контрастировании. Для оценки параметров сформированной кисты через второй канал катетера вводили рентгеноконтрастное вещество (омнипак, ультравист-300 – 1,5 мл) и производили рентгенографию.

В другом эксперименте на 15 лабораторных животных (кролики, белые крысы) в проекции расположения созданного очагового образования проводили пункцию брюшной стенки иглой с мандреном. Мандрен удаляли по достижению края паренхиматозного органа. Далее через просвет иглы вводили световод лазера («Lasermid 01-10» с длиной волны 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 выступал из просвета иглы, что контролировали предварительно установленной на нем меткой. При мощности излучения 10 Вт через паренхиму органа продвигали иглу со световодом до границ очагового образования. Световод удаляли. В дальнейшем осуществляется введение наночастиц и лазерный фототермолиз очагового образования с целью его ускоренной облитерации и замещения соединительной тканью.

### Результаты и их обсуждение

Как показали проведенные исследования, наночастицы при внутривенном введении накапливаются в почках через  $10 \pm 2,7$  минут ( $M \pm m$ ) после введения. Спустя  $58 \pm 5,3$  минуты ( $M \pm m$ ) наночастицы золота накапливаются в мочевом пузыре и далее основная

их часть выводится из организма. Через  $4,2 \pm 0,5$  часа ( $M \pm m$ ) после введения наночастиц максимальная концентрация их определяется в печени. Наблюдать наночастицы на рентгенограммах можно только при их введении в очень высоких концентрациях, значительно (на три порядка) превышающих дозировки, используемых для фототермолиза.

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 минуту нагрев стенки желудка достигал температуры 50-70°C. 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 перфорации (от 600 нкм до 10 мм и более).

При контрольной ФГДС на 3, 7 и 14-е сутки после фототермолиза отмечены ранняя эпителизация и полноценное восстановление подслизистой соединительной основы дефекта слизистой. При этом констатировано уменьшение выраженности воспалительной реакции и сроков заживления слизистой без ее деформации и образования грубого рубца. При развитии перфоративных осложнений лазерного фототермолиза методика эндоскопической «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, изучено состояние стенки органа в зоне нагрева биоткани и способы бесшовной коррекции дефекта при развитии перфоративных осложнений. Проведенные исследования показали возможность моделирования очагового образования пе-

чени 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 5 дней. Санация полости осуществляется через двухпросветный катетер с баллоном, что позволяет проводить динамическую диагностику и следить за эффектом лечения до полной облитерации полости. Доказана целесообразность применения малоинвазивной транскutánной пункции печени под УЗ-контролем 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 пункционного канала, обеспечивающий надежный желче- и гемостаз. Предложенный способ транскutánной пункции паренхиматозного органа прост в техническом исполнении, экономически доступен, обеспечивает малоинвазивность манипуляции, надёжную профилактику осложнений. В перспективе подобный метод может быть применен и при лечении метастазов в печени.

### Выводы

1. Определены возможности рентгенологической визуализации и сроки накопления золотых наночастиц при их внутривенном введении в эксперименте.
2. Проведение эндоскопического лазерного воздействия на стенку желудка в ИК-диапазоне обеспечивает нагрев слизистой оболочки желудка до 50–70°C за 1 минуту, что возможно использовать для подведения к слизистой наночастиц и проведения фототермолиза. При развитии перфоративных осложнений экспериментально обоснована комбинированная эндоскопическая пластика дефекта.
3. При моделировании очагового образования печени доказана возможность неинвазивной транскutánной пункции печени под УЗ-контролем с последующим, в перспективе, введением наночастиц в полость кисты и проведением фототермолиза.

### Список литературы

1. Колесников С. Блеск и опасности наносубстанций. Нанотехнология. Обучение и карьера. DP.RU 02.08.2007.
2. Максимова И.Л., Зимняков Д.А., Тучин В.В. Управление оптическими свойствами биотканей. Оптика и спектр 2000; 89; 1: 86-95.
3. Патент РФ 2008 149 481 от 14.01.2010 г. на изобретение «Способ комбинированной бесшовной коррекции перфорации желудка в эксперименте». Авторы Алипов В.В., Лебедев М.С., Цацаев Х.М., Алипов Н.В.
4. Патент РФ 2008 149 496 от 25.12.2009 г. на изобретение «Способ моделирования фиброзной кисты печени в эксперименте». Авторы Алипов В.В., Лебедев М.С., Цацаев Х.М., Алипов Н.В.
5. Патент РФ 2008 361 от 19.01.2010 г. на изобретение «Способ транскutánной пункции очаговых образований паренхиматозных органов». Авторы Алипов В.В., Капралов С.В., Лебедев М.С., Цацаев Х.М., Алипов Н.В.
6. Решетов И.В. Нанотехнологии – прорыв в области медицины. Стратегия. Русский проект, Столетие. РУ. 23 августа 2007.
7. Терентюк Г.С., Максимова И.Л. Нейросетевой подход в диагностике злокачественных новообразований молочных желез. Альманах клинической медицины. Т.ХII. II Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине» (16-19 мая 2006 г.). М.:МОНИКИ 2006; 63.

8. *Maksimova I.L., Terentyuk G.S., Genina E.A., Skaptsov A.A., Tuchin V.V., Khlebtsov B.N., Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Khlebtsov N.G.* Diagnostic potentialities of plasmon-resonant nanoparticles as contrast agents for the diffuse back scattering spectroscopy of biotissues. Proc. SPIE. 2007. V. 6536. P. 65360C (1-10) (doi: 10.1117/12.753447).
9. *Terentyuk G.S., Maksimova I.L., Tuchin V.V., Zharov V.P., Khlebtsov B.N., Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Khlebtsov N. G.* Application of gold nanoparticles to x-ray diagnostics and photothermal therapy of cancer. Saratov Fall Meeting: Coherent Optics of Ordered and Random Media VII Ed. D.A. Zimnyakov and N.G. Khlebtsov. Bellingham, WA. Proc. SPIE. 2007; 6536: 65360B (1-12). (doi: 10.1117/12.753446).  
Поступила 25.12.2010 г.

### Информация об авторах

1. Алипов Владимир Владимирович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского; e-mail: vladimiralipov@yandex.ru
2. Лебедев Максим Сергеевич – аспирант кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И.Разумовского; e-mail: vladimiralipov@yandex.ru
3. Цацаев Хумид Мамедович – аспирант кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И.Разумовского; e-mail: vladimiralipov@yandex.ru
4. Алипов Никита Владимирович – сотрудник Саратовского государственного медицинского университета им. В.И.Разумовского; e-mail: vladimiralipov@yandex.ru
5. Добрейкин Евгений Алексеевич – аспирант кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И.Разумовского; e-mail: vladimiralipov@yandex.ru
6. Урусова Алина Ивановна – соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И.Разумовского; e-mail: vladimiralipov@yandex.ru