

**ІНТРАОПЕРАЦІЙНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ СТОРОЖЕВИХ ЛІМФОВУЗЛІВ
ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ З ВИКОРИСТАННЯМ ICG-КАМЕРИ
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)**

kosha.v@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження проведені в рамках наукової теми кафедри хірургії №1 "Розробка уніфікованих протоколів організації надання допомоги, діагностики та лікування захворювань органів черевної порожнини і позаочеревинного простору, що потребують хірургічного лікування та визначення ефективності сучасних методів інтраопераційної візуалізації кровообігу в тканинах оперованого органу", № державної реєстрації 0117U004786

Вступ. Останніми роками вдосконалення методики визнання оптимального методу ідентифікації сигнальних ЛВ, відбувається шляхом пошуку більш наочних способів візуалізації лімфатичного апарату, тому майже всі сучасні методики БСЛВ полягають у введенні в пухлину, оточуючі її тканини та підшкірну клітковину препаратів-маркерів, які транспортуються лімфатичними колекторами до ЛВ, безпосередньо пов'язаними із первинним злоякісним новоутворенням [1, 2]. Лімфатичні вузли є основними гомеостатичними органами внутрішнього середовища організму. Статус регіонарного лімфатичного вузла має діагностичне значення і для визначення інтенсивності злоякісного росту, так як метастазування пухлини до регіонарних лімфатичних вузлів є першим кроком поширення пухлини більшості злоякісних новоутворень. Одним з важливих прогностичних факторів метастазування пухлини визнаний статус сторожового лімфатичного вузла щільність судинного сплетення в периферійній зоні [3, 4, 5].

На жаль, й досі не розроблено стандартів щодо застосування методики, показань та протипоказань до її використання, існує багато невирішених суперечливих питань, що стосуються визнання оптимального методу ідентифікації сигнальних ЛВ, виявлення мікрометастазів і обмеження виконання повних дисекцій лімфатичного колектору уздовж загальної клубової артерії [6, 7].

В даний час для ідентифікації СЛВ використовують радіологічний метод як самостійно, так і в поєднанні з барвником. Використання барвника дозволяє виявляти СЛВ у 82-87% випадків, а комбіноване використання барвника і радіоізоотопу – в 99%. Хоча радіоізоотопний метод і є світовим стандартом, але не варто забувати, що ця процедура є дорогою, вимагає спеціального обладнання, а також чималу роль відіграє радіоактивне опромінення персоналу при роботі з пацієнтом.

Мета дослідження. Встановити шляхи відтоку від простати та накопичення контрастної діагностичної речовини в лімфатичних вузлах в нормі та при патології.

Об'єкт і методи дослідження.

Нами проводилася серія експериментів на щурах, з застосуванням індоціаніна зеленого (ICG) та ICG-камери для визначення сторожового лімфовузла з

подальшим визначенням його розподілу в органі і оточуючих тканинах.

У дослідженні було задіяно 20 тварин. Усі щури, які прийняли участь у експерименті, мали здоровий вигляд і були активні. Нами проведено дослідження щурів масою 180 – 200 г віком 6-7 місяців.

Під загальним тіопенталовим наркозом щурам в простаті вводили індоціанін зелений. Засікався час з моменту введення препарату і при контролі ICG-камери ми спостерігали за динамікою розповсюдження препарату.

Моделювання простатиту проводилось за загальною методикою, з використанням суміші скипидару (метаксілола або ортоксілола) з 10% розчином димексиду (як провідник) в співвідношенні 1:4, яку перед застосуванням енергійно струшували протягом однієї хвилини для більшої гомогенності її та утворення дрібнодисперсної емульсії, потім вливали в пряму кишку щурів спеціальним атравматичним напівжорстким катетером діаметром 3 мм і довжиною 25 мм. При використанні цієї моделі, простатит було виявлено у 100% піддослідних тварин. У половини експериментальних тварин простатит ускладнився хронічним везикулітом. Для моделювання простатиту вводили одноразово в пряму кишку щурів 1 мл вищезазначеної суміші. Пропонована глибина введення патогенної суміші обґрунтована особливостями розташування передміхурової залози і прямої кишки. Вони тісно прилягають один до одного на відстані 20-25 мм від ануса. За даною методикою виникнення простатиту виникало на 28 добу.

Після введення в наркоз, щурам проводили середню лапоротомію. Вибиралась максимально ефективна відстань до об'єкта і закріплювалась ICG камера (відстань постійна для всіх фаз експерименту). Камеру ICG включали відразу після введення індоціаніна і була постійно включена протягом усього етапу експерименту.

Після премедикації та загального тіопенталового наркозу, щурам вводили індоціанін зелений безпосередньо в простату. Фіксували час введення препарату і при постійному контролі ICG-камери спостерігали за динамікою розповсюдження його по прилеглим тканинам і органам. Дозування 0,02 мг/кг маси = 0,004 мг в обсязі 0,03 мл в кожен частку простати (в межах частки – 0,01 мл – в апікальну, 0,01 мл в середню і 0,01 в базальну частину) [8].

Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

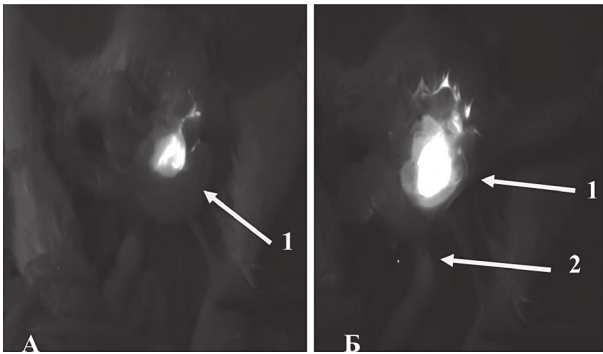


Рисунок 1 – Етапи накопичення контрастної речовини А, Б. Позначення: 1 – простата; 2 – перший лімфатичний вузол.

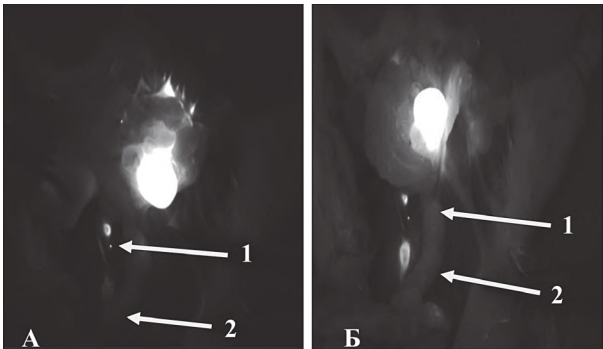


Рисунок 2 – Етапи введення контрастної речовини в простату щура А, Б. Позначення: 1 – перший лімфатичний вузол; 2 – другий лімфатичний вузол.

Результати дослідження та їх обговорення.

Використання флуоресцентного контролю при оперативних втручаннях (FGS) дозволяє візуалізувати структури, які в іншому випадку не видно неозброєним оком. Використовуючи індоціанін зелений (ICG), і, висвітлюючи тканину ближнім інфрачервоним світлом, збуджений ICG може бути виявляється камерою з оптичним фільтром. Таким чином ми вивчали шляхи відтоку від простати, швидкості розподілення речовини в тканинах і його накопичення.

Після введення контрастної речовини безпосередньо в простату в

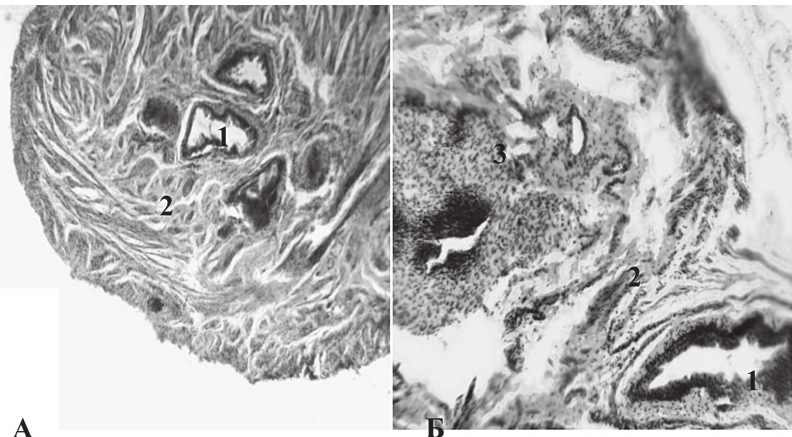


Рисунок 3 – Простата щура. Забарвлення гематоксилін еозином. 36. А: ок.10; об.4. Б: ок.10; об.40. Позначення: 1 – просвіт залози; 2 – м'язові волокна; 3 – лейкоцитарна інфільтрація.

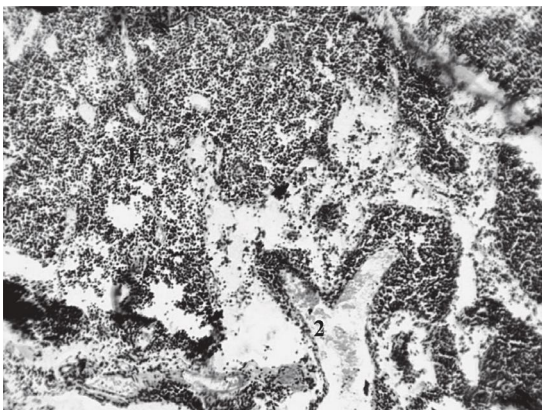


Рисунок 4 – Лімфатичний вузол щура забарвлення гематоксилін еозином. 36. ок.10; об.40. Позначення: 1 – лімфатична тканина; 2 – формені елементи в просвіті судин.

середньому на 31,4 хвилини вона почала розповсюджуватися на перший лімфатичний вузол, на 36,6 хвилину контрастувалися лімфатичні судини і відмічалось максимальне накопичення, а на 34 хвилини починав візуалізуватися другий лімфатичний вузол, а максимальна накопичення відбувалося на 51 хвилині. Середня швидкість розповсюдження 0,0322 (рис. 1, 2).

Після моделювання простатиту в досліджуваній дорсолатеральній частині простати щурів простежувався різний по вираженості запальний процес, гемодинамічні порушення.

Інфільтрати з еозинофільними клітинами, домішкою лімфоцитів і гістіоцитів розташовувалися в межацінарній стромі, а також тканинах сім'явиносних протоках. Продуктивна запальна реакція простежувалася і в парастатичній тканині. У кровоносних судинах межацінарної стромі і парастатичній тканині спостерігали ознаки застою: різке розширення просвіту, повнокров'я судин, часто стаз еритроцитів. Крім того, ацинуси частини простатичних залоз були розтягнутими, іноді деформованими (рис. 3.).

Також для підтвердження візуалізованого лімфовузла нами досліджувався він гістологічно (рис. 4.)

Після введення контрастної речовини безпосередньо в простату в середньому на 3,5 хвилини вона почала розповсюджуватися на перший лімфатичний вузол, на 21,25 хвилину контрастувалися лімфатичні

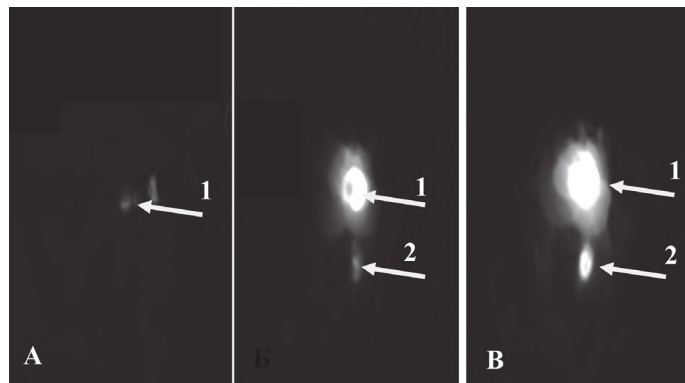


Рисунок 5 – Етапи накопичення контрастної речовини А, Б. Позначення: 1 – простата; 2 – лімфатичний вузол.

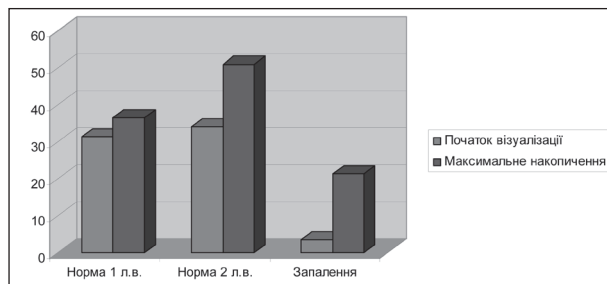


Рисунок 6 – Швидкість накопичення контрастної речовини в лімфатичних вузлах в нормі і при запаленні.

судини і відмічалось його максимальне накопичення (табл.).

Таблиця – Середні показники розповсюдження контрастної речовини

група	час	Початок візуалізації	Максимальне накопичення	Швидкість розповсюдження
Норма 1 л.в.		31,4	36,6	0,0322
Норма 2 л.в.		34	51	0,029
Запалення		3,5	21,25	0,29

Середня швидкість розповсюдження 0,29 (рис. 5-7).

Висновки. Встановлено, що при введенні контрастної речовини після моделювання запального процесу в простаті дана речовина розповсюджувалась більш швидше. Таким чином, введення контрастних

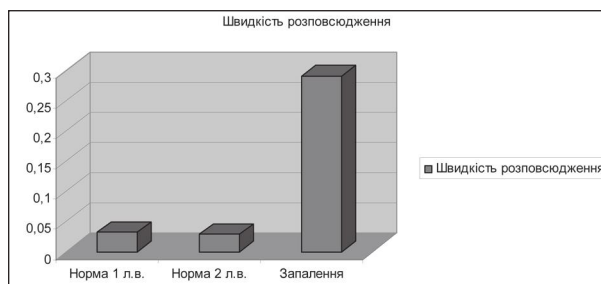


Рисунок 7 – Швидкість розповсюдження контрастної речовини по лімфатичним шляхам в нормі і при запаленні.

речовин під час запалення свідчить про те, що лімфовідтік посилюється, що ми можемо бачити по часовим термінам розповсюдження речовини по лімфатичним судинам. Далі фактично виходячи з цього ми можемо констатувати, що методика введення контрастної речовини в орган інтраопераційно дозволяє вивчати особливості відтоку лімфи від органів, дивитися за особливостями відтоку, спостерігати за часовими термінами, а також робити корекцію при проведенні операції.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується використання методики для вивчення лімфовідтоку як в експерименті так і при виконанні операцій на людині.

Література

1. Manny TB, Patel M, Hemal AK. Fluorescence-enhanced robotic radical prostatectomy using real-time lymphangiography and tissue marking with percutaneous injection of unconjugated indocyanine green: the initial clinical experience in 50 patients. *European urology*. 2014;65(6):1162-1168.
2. Jeschke S, Lusuadi L, Myatt A. Visualisation of the lymph node pathway in real time by laparoscopic radioisotope- and fluorescence-guided sentinel lymph node dissection in prostate cancer staging. *Urology*. 2012;80(5):1080-1086.
3. Kosharnyy VV, Pilin EV, Molchanov RM, Abdul-Ohly LV, Dem'yanenko IA. Vykorystannya diahnostychnykh rechovyh dlya vyvchennya rehional'noho krovoobihu v normi ta pry patolohiyi. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2019;3(152):260-263. [in Ukrainian]
4. Yuen K, Miura T, Sakai I, Kiyosue A, Yamashita M. Intraoperative Fluorescence Imaging for Detection of Sentinel Lymph Nodes and Lymphatic Vessels during Open Prostatectomy using Indocyanine Green. *The Journal of urology*. 2015;194(2):371-377.
5. Alyaev YUH, Bezrukov EA, Syrota ES, Morozov AO. Fluorescentnaya vyzualizatsiya s Yndotsyanynom Zel'nyym v urolohiyye. *Urolohiyya*. 2016;1:106-111. [in Russian].
6. Ysmahylov AKH, Asnyina NH, Azarov HA. Byopsyia syhnal'nykh lympfateskykh uzlov: ystoriya y sovremennost'. *Opukholy zhenskoy reproduktyvnoy systemy*. 2018;14(1):38-46. [in Russian].
7. Ybrahymov ZN. Otsenka éffektivnosti fluoristsentnoho metoda v detektsyy syhnal'nykh lympfateskykh uzlov u bol'nykh rakom éndometriyya [dissertatsiya]. Sankt-Peterburg: NMITS onkologii im. NN Petrova; 2019. 110 s. [in Russian].
8. Pilin EV, Molchanov RM, Kosharnyy VV, Abdul-Ohly LV. Vyvchennya limfatychnoho vidtoku vid orhaniv maloho tazhu. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2021;54(2):45-8.

ІНТРАОПЕРАЦІЙНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ СТОРОЖЕВИХ ЛІМФОВУЗЛІВ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ З ВИКОРИСТАННЯМ ICG-КАМЕРИ

Пілін Є. В., Молчанов Р. М., Кошарний В. В., Абдул-Огли Л. В., Губаренко О. В.

Резюме. Нами проводилася серія експериментів на щурах, з застосування індоціаніна зеленого (ICG) та ICG-камери для визначення сторожового лімфовузла з подальшим визначенням його розподілу в органі, а також оточуючих тканинах. Після введення контрастної речовини безпосередньо в простату в середньому на 31,4 хвилині вона почала розповсюджуватися на перший лімфатичний вузол, на 36,6 хвилину контрастувалися лімфатичні судини і нами відмічалось максимальне накопичення, на 34 хвилині починав візуалізуватися другий лімфатичний вузол, а максимальне накопичення відбувалося на 51 хвилині. Середня швидкість розповсюдження 0,0322. Після моделювання простатиту в досліджуваній дорсолатеральній частині простати щурів простежувався різний по вираженості запальний процес, гемодинамічні порушення. Після введення контрастної речовини безпосередньо в простату в середньому на 3,5 хвилині вона почала розповсюджуватися на перший лімфатичний вузол, на 21,25 хвилину контрастувалися лімфатичні судини і відмічалось його максимальне накопичення. Ми бачимо, що при введенні контрастної речовини після моделювання запального процесу в простаті ця речовина розповсюджувалась більш швидше. Таким чином, введення контрастних речовин під час запалення свідчить про те, що лімфовідтік посилюється, що ми можемо бачити по часовим термінам розповсюдження речовини по лімфатичним судинам. Далі, фактично виходячи з цього, ми можемо констатувати, що методика введення контрастної речовини в орган інтраопераційно дозволяє вивчати особливості відтоку лімфи від органів, дивитися за особливостями відтоку, спостерігати за часовими термінами,

а також робити корекцію при проведенні операції. Це є перспективною методикою для подальшого вивчення лімфовідтоку, як в експерименті, так і при виконанні операцій на людині.

Ключові слова: простата, сторожовий лімфовузол, діагностичні речовини, лімфовідтік.

INTRAOPERATIVE VISUALIZATION OF GUARD LYMPH NODES IN INFLAMMATORY PROCESSES USING ICG-CAMERA

Pilin E. V., Molchanov R. M., Kosharniy V. V., Abdul-Ogli L. V., Gubarenko O. V.

Abstract. The use of fluorescent surgery control (FGS) allows you to visualize structures that are not otherwise visible to the naked eye. Using indocyanine green (ICG), and illuminating the tissue with near-infrared light, the excited ICG can be detected by a camera with an optical filter. Thus, we studied the ways of outflow from the prostate, the rate of distribution of the substance in the tissues and its accumulation. We conducted a series of experiments on rats, using indocyanine green (ICG) and ICG-camera to determine the sentinel lymph node, followed by determination of its distribution in the body and surrounding tissues. After the contrast agent was injected directly into the prostate for an average of 31.4 minutes, it began to spread to the first lymph node, for 36.6 minutes the lymph vessels were contrasted and the accumulation was maximal, at 34 minutes the second lymph node was visualized, and the maximum accumulation occurred at 51 minute. The average rate of spread was 0.0322. After modeling prostatitis in the studied dorsolateral part of the prostate of rats, a different inflammatory process and hemodynamic disorders were observed. After the introduction of the contrast agent directly into the prostate for an average of 3.5 minutes, it began to spread to the first lymph node, for 21.25 minutes the lymph vessels were contrasted and its maximum accumulation was observed.

Conclusions. Introduction of a contrast agent after modeling the inflammatory process in the prostate, this substance spread faster, so the introduction of contrast agents during inflammation indicates that lymph flow increases, we can see by the time of distribution of the substance through lymphatic vessels. Further, in fact, based on this, we can state that the method of introducing a contrast agent into the body intraoperatively allows you to study the features of lymph outflow from the organs, look at the features of the outflow, observe the timing and make adjustments during surgery. This is a promising technique for studying lymph outflow both in experiment and in performing operations on humans.

Key words: prostate, sentinel lymph node, diagnostic substances, lymph outflow.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 18.12.2020 року*