

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
CHIRURGIE GENERALĂ**



TEZĂ DE DOCTORAT

**Chirurgia asistată de imagine fluorescentă-NIR
Metodă emergentă și variante tehnice**

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. SORIN MIRCEA OPRESCU**

**Student-doctorand:
ALIUȘ CĂTĂLIN**

2019

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
CHIRURGIE GENERALĂ**



**Chirurgia asistată de imagine fluorescentă -NIR
Metodă emergentă și variante tehnice**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. SORIN MIRCEA OPRESCU**

**Student-doctorand:
ALIUȘ CĂTĂLIN**

2019

Listă de abrevieri

- 1. ICG - Indocianină verde**
- 2. NIR- Near infra red**
- 3. RE -Radiație electromagnetică**
- 4. UEM- Unde electromagnetice**
- 5. IR- Infraroșu**
- 6. IMC- Indice de masă corporală**
- 7. CBP - Cale biliară principală**
- 8. CCD - Charged coupled device**
- 9. CMOS- Complementary metal-oxide semiconductor**
- 10. SNR- Signal to noise ratio**
- 11.RA - Realitate augmentată**
- 12. SMD- Surface mounted device**

Cuprins

Introducere	7
-------------------	---

I.PARTEA GENERALĂ

1. Noțiuni fundamentale despre fluorescență și spectroscopie.....	11
1.1 Generalități	11
1.2 Natura radiației electromagnetice	12
1.3 Orbitali, stare fundamentală și stare excitată	14
1.4 Emisia și absorbția moleculară a radiației	15
1.5 Spectroscopia	19
1.6 Legea lui Stokes	19
1.7 Randamentul cuantic al fluorescenței	21
1.8 Stingerea fluorescenței	22
1.9 Depolarizarea fluorescenței, agregarea și dimerizarea	23
2. Proprietățile fizico-chimice și farmacologice ale indocianinei verde...	26
2.1 Generalități	26
2.2 Structura moleculară a ICG	26
2.3 Proprietățile fizico-chimice ale ICG	27
2.4 Relația ICG - fluorescență.....	30
2.5 Elemente de farmacodinamică și toxicologie ale ICG	30

3. Translația clinică și aplicațiile chirurgicale ale fluorescenței NIR cu indocianină verde	33
3.1 Generalități	33
3.2 Condițiile pentru translația clinică a fluorescenței NIR cu ICG ...	34
3.3 Aplicațiile fluorescenței NIR în chirurgia cancerului de sân	35
3.4 Aplicațiile fluorescenței NIR în chirurgia colorectală	38
3.5 Aplicațiile fluorescenței NIR în chirurgia de urgență	39
3.6 Aplicațiile fluorescenței NIR în chirurgia endocrinologică.....	40
3.7 Aplicațiile fluorescenței NIR în chirurgia plastică.....	40
3.8 Aplicațiile fluorescenței NIR în chirurgia digestivă superioară ...	41
3.9 Aplicațiile fluorescenței NIR în situații speciale și experimentale.	42

II. PARTEA SPECIALĂ - CONTRIBUȚII PERSONALE

4. Studiu in vitro asupra proprietăților ICG în solvenți biologici	45
4.1 Introducere	45
4.2 Studiu fluorimetric pe soluții de ICG în apă	46
4.3 Studiu fluorimetric pe soluții de ICG în albumină	49
4.4 Studiu fluorimetric pe soluții de ICG în matrice biologice complexe	54
4.5 Concluziile experimentelor.....	57

5. Colecistectomia asistată de imagine fluorescentă – studiu clinic.....	59
5.1 Introducere	59
5.2 Materiale și metode	60
5.3 Rezultate și discuții	66
5.4 Concluzii	83
6. Model de prototip pentru intervenții asistate de imagine fluorescentă NIR în chirurgia deschisă.....	84
6.1 Introducere	84
6.2 Schema bloc a prototipului Indo-viewer	86
6.3 Sursa de tensiune a prototipului.....	88
6.4 Sursa de lumină de excitație a prototipului	89
6.5 Filtrele optice ale prototipului	95
6.6 Sistemul de achiziție, modulare și digitalizare a imaginilor	99
6.3 Sursa de tensiune a prototipului.....	88
7. Propunere de variante constructive ale modelelor de prototipuri pentru intervenții asistate de imagine fluorescentă NIR în chirurgia deschisă și laparoscopică	119
7.1 Pistol optic pentru chirurgia deschisă	119
7.2 Tub optic pentru abord laparoscopic.....	123
7.3 Variante de proiectare a imaginilor achiziționate.....	127

8. Concluzii și considerații de încheiere	133
8.1 Scurtă descriere a activității de cercetare	133
8.2 Obiective îndeplinite și noi direcții de cercetare	136
8.3 Cuvânt de încheiere.....	137
Bibliografie.....	139
Anexe	153

Introducere

Dezvoltarea fără precedent a tehnologiei în ultimul secol a avut un impact major și asupra științelor medicale. Idei din ce în ce mai îndrăznețe sunt transformate în aparate pentru uz medical exact cu aceeași cadență cu care metronomul progresului tehnologic și al cercetării științifice bifează noi cuceriri și realizări. În anul 1955, când a fost sintetizată Indocianina Verde (ICG) de către compania Kodak, pentru uz fotografic, nimeni nu prevedea multitudinea de aplicații clinice la care se pretează astăzi folosirea acestei substanțe. Prin simpla injectare a acestei substanțe cu proprietăți fluorescente chirurgul poate vizualiza detalii care transcend imaginile convenționale, oferind dimensiunea adâncimii și cea a informațiilor funcționale despre țesuturi. Prin suprapunerea unei imagini convenționale cu o imagine fluorescentă NIR (Near Infra Red) se obține o formă de realitate augmentată care ajută chirurgul să evidențieze detalii de o imensă valoare intraoperatorie precum: arborele biliar extern sub anvelopa de grăsime care îl înconjoară, canalul cistic în triunghiul Calot, calea biliară principală, arterele din vecinătatea oricărei structuri de interes până la o adâncime de 10-15mm, depozite metastatice, ganglioni santinelă și limite de rezecție tisulară. În afara acestor informații de anatomie chirurgicală, care contribuie la diminuarea timpilor operatori și reducerea leziunilor iatrogene prin recunoașterea mai facilă a reperelor anatomice, folosirea ICG oferă și informații de natură funcțională precum evaluarea microvascularizației intestinale, a partenerilor anastomotici sau a bonturilor tisulare (pancreatic, hepatic). Informațiile de natură funcțională permit optimizarea deciziilor intraoperatorii și reducerea complicațiilor fistulare, stabilesc limite de rezecție și contribuie la reducerea morbidității asociate actului operator. Lucrarea de față prezintă în partea generală principiile care stau la baza tehnologiei chirurgiei asistate de imagine fluorescența NIR, caracterizează proprietățile substanței fluorofore-ICG și descrie paleta de aplicații ale metodei în chirurgia generală și subspecialitățile acesteia.

În capitolul dedicat noțiunilor fundamentale despre fluorescență și spectroscopie sunt discutate pe scurt natura radiației electromagnetice, orbitalii moleculari, starea fundamentală și excitată a unei substanțe pentru a înțelege principiile emisie și absorbției moleculare a radiației. Prezentarea pe scurt a diagramelor Jablonski explică proprietățile fluorescente ale indocianinei verde, legea Stokes, randamentul cuantic, stingerea și depolarizarea fluorescenței, dimerizarea și agregarea ca fenomene care influențează rezultatul final al soluțiilor de ICG.

Proprietățile fizico-chimice și farmacologice ale indocianinei verde sunt discutate concret în capitolul al doilea, insistând pe relația dintre structura ICG și fenomenul fluorescenței precum și pe câteva elemente de farmacodinamică și toxicologie.

Partea generală se încheie cu capitolul care prezintă stadiul actual al cunoașterii aplicațiilor medicale ale indocianinei verde și cuprinde noutăți și indicații legate de chirurgia tiroidei și a paratiroidelor, chirurgia colorectală, oncologică și oncoplastică a sânelui, biliopancreatică, etc. cu emfază însă asupra aplicațiilor din chirurgia generală.

În partea specială, teza prezintă datele obținute în urma testelor in vitro, la fluorimetru, a ICG, pe baza cărora s-au elaborat câteva recomandări cu privire la concentrația optimă de lucru și dificultățile care pot apărea la utilizarea tehnologiei, precum efectul de autoquenching, dispersia și scatteringul. Deoarece ICG NIR este o tehnologie emergentă studiile clinice sunt extrem de puține. Fluorescența intravitală este mai puțin predictibilă decât cea in vitro, adesea fiind raportate rezultate contradictorii dacă se ignoră comportamentul complex al ICG în organism sau dacă nu se cunosc modalitățile de a evita provocările mai sus menționate. În acest sens am studiat prin determinări fluorimetrice comportamentul ICG în soluții simple precum cele apoase, urmate de baterii de teste în medii cu complexitate crescută. Am demonstrat că intensitatea fluorescenței este dependentă de concentrația de ICG până la o anumită valoare de la care apare fenomenul de stingere a fluorescenței. Adăugarea albuminei în soluțiile apoase de ICG a condus la o creștere a intensității fluorescenței de până la 100%. Am arătat cum și de ce apar fenomenele de quenching, blue shift, red shift, scattering elastic și ce repercusiuni au acestea asupra calității imaginii fluorescente la aparatele de uz medical, finalitatea acestei lucrări fiind prezentarea unui prototip de aparat medical ce poate fi utilizat în chirurgia deschisă și propunerea unor versiuni randate pentru chirurgia laparoscopică.

După caracterizarea ICG in vitro în matrice simple și complexe am efectuat un studiu clinic pe 42 de pacienți care au fost supuși operației de colecistectomie laparoscopică asistată de colangiografie fluorescentă intravenoasă cu ICG, prin care am demonstrat o reducere a timpilor operatori prin identificarea mai rapidă a reperelor anatomice. Am evidențiat fenomenele de proporționalitate directă a fluorescenței cu creșterea concentrației până la apariția autoquenchingului și am stabilit un prag al eficienței tehnologiei în raport cu indicele de masă corporală. De asemenea am prezentat utilitatea tehnicii la persoanele cu indice al masei corporale mare (IMC) mare și am emis ipoteza schimbării paradigmei conform căreia colecistita acută este asociată cu o iatrogenie mai mare decât colecistectomia de interval datorită imposibilității de a identifica corect reperele anatomice. În urma acestor

experimente am propus un scor al dificultății pediculului cistic și am arătat o dependență a dificultății pediculului de indicele de masă corporală pentru valori mari ale ICM.

Totodată folosind aparatura de ultimă generație NOVADAQ am reușit să identificăm câteva fenomene care nu apar în laborator, unde se lucrează cu cantități diminutive și în afara unui sistem biologic complex care se bucură de homeostazie și clearance al substanțelor exogene. În acest sens au fost observate fenomene precum dispersia fluorescenței, difuzia fluorescenței, sumația și clearance-ul. Având în vedere datele obținute din cercetarea in vitro, urmată de cercetarea in vivo și coroborat cu o analiză atentă a literaturii de specialitate din perspectiva inginerescă și medicală am putut propune cel de al treilea capitol al cercetării, și anume realizarea și testarea unui prototip pentru captarea în timp real a imaginilor fluorescente în chirurgia deschisă.

Capitolul debutează cu specificațiile tehnice, schița tehnică și randările aparatului. După explicarea principiului de funcționare am prezentat câteva teste in vitro efectuate cu prototipul funcțional, Indo viewer, și am comentat rezultatele experimentelor, demonstrarea metodei și perspectivele de perfecționare și adaptare la chirurgia laparoscopică.

Ultimul capitol din partea specială este rezultatul cercetării teoretice întreprinse în încercarea de a propune încă două variante tehnice de alternative constructive endoscopice la **Indo viewer**. Construcția propunerilor de prototipuri alternative nu au putut fi susținute financiar din bugetul alocat acestei teze de doctorat, presiunea financiară pentru realizarea a încă două prototipuri fiind prea ambițioasă pentru o lucrare doctorală, însă schemele se regăsesc în lucrare și deschid drumul pentru lucrări și proiecte de cercetare ulterioare.

În partea destinată considerațiilor de final am tras concluzia că prototipul, numit Indo viewer este eficient, ieftin și ar aduce un plus de siguranță, rapiditate și exactitate în multiple intervenții chirurgicale. Totodată am prezentat și câteva direcții de cercetare cu scopul îmbunătățirii celor 3 variante constructive expuse aici precum și o serie de posibile aplicații atât în domeniul tehnicii chirurgicale precum și în cel al biotehnologiei (ex: folosirea anticorpilor marcați cu ICG pentru identificarea celulelor tumorale sau proiectarea holografică a imaginilor din realitatea augmentată).

CAPITOLUL 1

Noțiuni fundamentale despre fluorescență și spectroscopie

În capitolul dedicat noțiunilor fundamentale despre fluorescență și spectroscopie sunt discutate pe scurt natura radiației electromagnetice, orbitalii moleculari, starea fundamentală și excitată a unei substanțe, pentru a înțelege principiile emisie și absorbției moleculare a radiației. Prezentarea pe scurt a diagramelor Jablonski explică proprietățile fluorescenței ale indocianinei verde, legea Stokes, randamentul cuantic, stingerea și depolarizarea fluorescenței, dimerizarea și agregarea ca fenomene care influențează rezultatul final al soluțiilor de ICG.

Parte a mării familii a radiațiilor electromagnetice, lumina are un domeniu vizibil și unul invizibil, subdomeniul luminii infraroșii fiind divizat în patru zone. Lumina NIR (Near Infrared) corespunde domeniului lungimilor de undă cuprinse între 780-3000nm. Indocianina Verde este un fluorofor pentru care lumina de excitație are o lungime de undă de aproximativ 780nm, iar lumina de emisie peste 800nm.

Pentru a înțelege de ce ICG este o substanță fluorescentă am explicat că orbitalii reprezintă modul probabilistic de aranjare a electronilor în jurul nucleului și am prezentat principalele reguli de completare a orbitalilor. Ulterior, pe baza diagramelor Jablonski am explicat fluorescența ICG și modul în care se manifestă relaxarea radiativă cu emiterea luminii de emisie și relaxarea non radiativă. Analizarea exactă a lungimilor de undă și proprietăților fizice ale luminii de absorbție și emisie s-a efectuat prin spectrofotometrie, la fluorimetru, metoda fiind prezentată diagramatic, succint în acest capitol. Totodată am explicat legea lui Stokes care demonstrează diferența dintre lungimea de undă a luminii de excitație și lungimea de undă a luminii de emisie, această lege fiind esențială în experimentele efectuate în laborator pe soluții de indocianină în matrice simple și complexe. O altă noțiune importantă este randamentul fluorescenței care stabilește criteriile minimale de performanță ale unui potențial prototip pentru vizualizarea luminii de emisie. Stingerea fluorescenței, depolarizarea fluorescenței, dimerizarea și agregarea sunt fenomene care se observă atât in vitro, cât și in vivo, iar cunoașterea acestora au determinat optimizarea dozelor administrate, a componentelor prototipului Indo viewer și creșterea randamentului total al sistemului.

CAPITOLUL 2

Proprietățile fizico-chimice și farmacologice ale indocianinei verde

Proprietățile fizico-chimice și farmacologice ale indocianinei verde sunt discutate concret în capitolul al doilea, insistând pe relația dintre structura ICG și fenomenul fluorescenței precum și pe câteva elemente de farmacodinamică și toxicologie.

În această secțiune am prezentat sintetic lucrările anterioare ale autorilor care au caracterizat ICG în ultima jumătate de secol, datele obținute în puținele experimente constituind informații de referință chiar și astăzi. Sunt prezentate diferențele dintre fluoroforii de uz medical și avantajele folosirii indocianinei verde pentru colorația intravitală. Pornind de la structura moleculară a ICG este explicată tendința la dimerizare la concentrații înalte și cinetica degradării fluoroforului în funcție de timp, temperatură și expunerea la lumină. Totodată sunt prezentate interacțiunile dintre Indocianină și diverși solvenți, precum și repercusiunile acestor interacțiuni din punct de vedere spectrofotometric.

Relația dintre dimensiunea moleculelor de fluorofor și intensitatea fluorescenței este reprezentată grafic, dependența intensității de fluorescență fiind explicată la nivel molecular.

Capitolul atinge și elementele de farmacocinetică și farmacodinamică, evidențiind faptul că ICG este metabolizată aproape complet în ficat, nu există metaboliți toxici identificați până în prezent și reacțiile adverse sunt foarte reduse, mult mai reduse decât în cazul substanței de contrast pentru CT. Pentru a prevenii reacțiile la pacienții alergici la iod s-au dezvoltat compuși de ICG care elimină sărurile ce conțin Iod din procesul de cristalizare al liofilizatului.

CAPITOLUL 3

Translația clinică și aplicațiile chirurgicale ale fluorescenței NIR cu Indocianină Verde

Tehnologiile emergente precum sistemele intraoperatorii cu fluorescență NIR pentru producerea de realitate augmentată intraoperator au devenit un contribuitor major la creșterea performanțelor chirurgicale și contestarea paradigmatelor legate de indicații și tehnică operatorie. Deși sistemele imagistice complementare de tipul CT, RMN și PET CT se bucură de îmbunătățiri constante, utilizarea acestora este fie grevată de costuri insurmontabile la folosirea de rutină (RMN), fie produce iradiere periprocedurală (CT, PET CT). În plus, nu pot fi utilizate intraoperator și nici nu furnizează date anatomice și funcționale în timp real așa cum o fac sistemele cu fluorescență NIR destinate folosirii intraoperatorii.

Capitolul tratează translația clinică și aplicațiile chirurgicale ale fluorescenței NIR cu Indocianină Verde, punând accent pe indicațiile din chirurgia generală și subspecialitățile derivate din aceasta. Principalele indicații ale acestei tehnologii sunt: delimitarea structurilor anatomice la nivelul regiunii portale pentru chirurgia hepatobiliară și pentru evidențierea vaselor de calibru mic în chirurgia vasculară; în chirurgia plastică se folosește pentru evaluarea pediculilor, lambourilor și pentru evaluarea și caracterizarea plăgilor; în chirurgia sânelui este utilizată pentru a evalua lambourile de piele și pentru a facilita descoperirea ganglionilor sentinelă pentru cazurile de cancer mamar stadiile I și II la care chirurgia conservatoare și evitarea limfodiseceției ganglionare ar reduce morbiditatea postoperatorie fără a modifica defavorabil intervalul liber de boala al pacienților; în chirurgia colorectală ICG este utilizată pentru a demonstra viabilitatea segmentelor colonice care urmează să fie anastomozate, pentru caracterizarea funcțional-circulatorie a anastomozelor deja formate și pentru localizarea ganglionilor locoregionali. În acest sens ICG este folosită pentru cercetarea rolului ganglionului apical în chirurgia colorectală. Tatuarea tumorală și a mezorectului în intervenții joase a fost descrisă recent. În chirurgia digestivă superioară această tehnologie oferă informații suplimentare asupra anastomozelor biliare, bonturilor pancreatice, informații funcționale despre funcția ficatului și evidențierea arborelui circulator intrahepatic în rezecții, detalii asupra segmentației hepatice. Colangiografia în timp real cu ICG este o metodă foarte eficientă de evidențiere a anatomiei cailor biliare extrahepatice, de a reduce morbiditatea legată de

leziunile căilor biliare și de identificare a anomaliilor acestora. Totodată ICG manifestă afinitate pentru anumite tipuri tumorale și poate fi utilizată pentru a identifica depozitele tumorale intrahepatice și intraperitoneale, jucând un rol în stadializarea pacienților oncologici. O aplicație surprinzătoare este delineația marginilor formațiunilor chistice care se dezvoltă în țesuturi bine vascularizate. Realitatea augmentată cu ICG oferă imagini de o acuratețe fără precedent în proceduri de limfadenectomie și în chirurgia endocrină unde poate identifica cu ușurință paratiroidale și glandele suprarenale. Mai mult, noi molecule experimentale hibridizate cu ICG prezintă potențial de extindere a spectrului de indicații al tehnologiei la identificarea micilor depozite tumorale, a metaplaziei și evaluarea bolilor inflamatorii intestinale.

CAPITOLUL 4

Studiu in vitro asupra proprietăților ICG în solvenți biologici

În partea specială, teza prezintă datele obținute în urma testării in vitro a ICG pe baza cărora s-au elaborat câteva recomandări cu privire la concentrația optimă de lucru și capcanele care pot apărea în utilizarea tehnologiei precum efectul de autoquenching, dispersia și scatteringul. Deoarece ICG NIR este o tehnologie emergentă, studiile clinice sunt extrem de puține. Fluorescența intravitală este mai puțin predictibilă decât cea in vitro adesea fiind raportate rezultate contradictorii dacă se ignoră comportamentul complex al ICG în organism, sau nu se cunosc modalitățile de a evita provocările mai sus menționate. În acest sens am studiat prin determinări fluorimetrice comportamentul ICG în soluții simple precum cele apoase, urmate de baterii de teste în medii cu complexitate crescută. Am demonstrat că intensitatea fluorescenței este dependentă de concentrația de ICG până la o anumită valoare de la care apare fenomenul de stingere a fluorescenței. Adăugarea albuminei în soluțiile apoase de ICG a condus la o creștere a intensității fluorescenței de până la 100% . Am arătat cum și de ce apar fenomenele de quenching, blue shift, red shift, scattering elastic și ce repercusiuni au acestea asupra calității imaginii fluorescente în aparatele cu uz medical, finalitatea acestei lucrări fiind prezentarea unui prototip de aparat medical ce poate fi utilizat în chirurgia deschisă și propunerea unor versiuni randate pentru chirurgia laparoscopică.

În experimentele fluorimetrice prezentate in prima parte a acest capitol s-a folosit ICG dizolvată în apă distilată la diferite concentrații, pentru a demonstra abilitatea ICG de a dimeriza la concentrații mari și a permite stabilirea concentrațiilor optime de fluorofor care ar putea fi folosite intravital. În a doua parte a experimentului am pornit de la presupunerea că legarea ICG de proteinele sanguine conduce la stabilizarea substanței și creșterea intensității fluorescenței. Rezultatele obținute au condus la o recomandare inedită pentru folosirea soluțiilor de albumină ca solvent pentru intervențiile chirurgicale care folosesc mapping al ganglionilor limfatici. În partea a treia a acestui experiment am folosit matrice complexe de tipul sângelui și bilei care conțin pe lângă albumină și alți constituenți inclusiv diverși pigmenți endogeni care generează repercusiuni asupra intensității fluorescenței și a lungimii de undă a

luminii de emisie. Toate aceste informații au condus la o analiză mai atentă asupra specificațiilor tehnice de bază necesare pentru construirea aparatului medical al cărui prototip este descris în paginile următoare și au deschis calea către cercetări ulterioare datorită întrebărilor pe care le-au ridicat.

CAPITOLUL 5

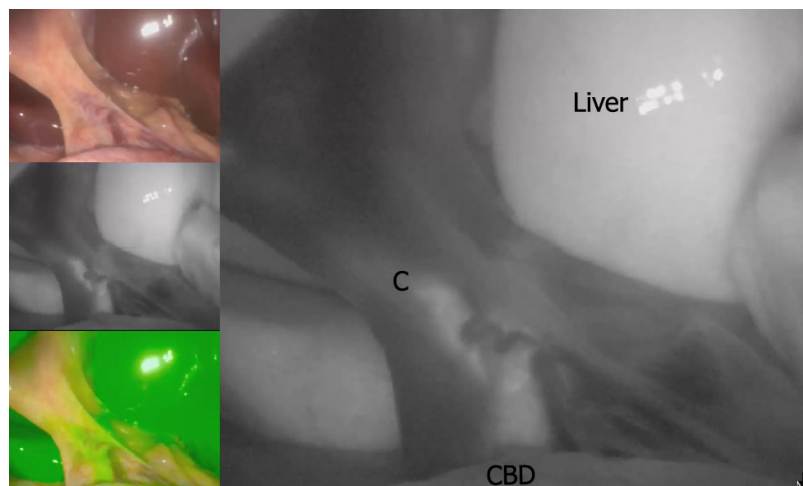
Colecistectomia asistată de imagine fluorescentă

Studiu clinic

După caracterizarea ICG in vitro în matrici simple și complexe am efectuat un studiu clinic pe 42 de pacienți care au fost supuși operației de colecistectomie laparoscopică asistată de colangiografie fluorescentă intravenoasă cu ICG, prin care am demonstrat o reducere a timpilor operatori prin identificarea mai rapidă a reperelor anatomiche. Am evidențiat fenomenele de proporționalitate directă a fluorescenței cu creșterea concentrației până la apariția autoquencingului și am stabilit un prag al eficienței tehnologiei în raport cu indicele de masă corporală. De asemenea am prezentat utilitatea tehnicii la persoanele cu indice al masei corporale mare (IMC) și am emis ipoteza schimbării paradigmei conform căreia colecistectomia în colecistita acută este asociată cu o iatrogenie mai mare decât colecistectomia de interval datorită imposibilității de a identifica corect reperele anatomiche. În urma acestor experimente am propus un scor al dificultății pediculului cistic și am arătat o dependență a dificultății pediculului de indicele de masă corporală pentru valori mari ale ICM.

Totodată folosind aparatura de ultimă generație NOVADAQ am reușit să identificăm câteva fenomene care nu apar în laborator, unde se lucrează cu cantități diminutive și in vitro. În acest sens au fost observate fenomene precum dispersia fluorescenței, difuzia fluorescenței, sumația și clearance-ul.

Fig.1 Imagine intraoperatorie în UV VIS, NIR și realitate augmentată



CAPITOLUL 6

Model de prototip pentru intervenții asistate de imagine fluorescentă NIR în chirurgia deschisă.

Având în vedere datele obținute din cercetarea in vitro, urmată de cercetarea in vivo și coroborat cu o analiză atentă a literaturii de specialitate din perspectivă inginerescă și medicală am putut propune cel de al treilea capitol al cercetării, și anume realizarea și testarea unui prototip pentru captarea în timp real a imaginii fluorescente în chirurgia deschisă.

Capitolul debutează cu specificațiile tehnice, schița tehnică și randările aparatului. După explicarea principiului de funcționare am prezentat câteva teste in vitro efectuate cu prototipul funcțional, ICG viewer, și am comentat rezultatele experimentelor, demonstrarea metodei și perspectivele de perfecționare și adaptare la chirurgia laparoscopică.

Fig.2 Reprezentare randată a prototipului Indo-viewer

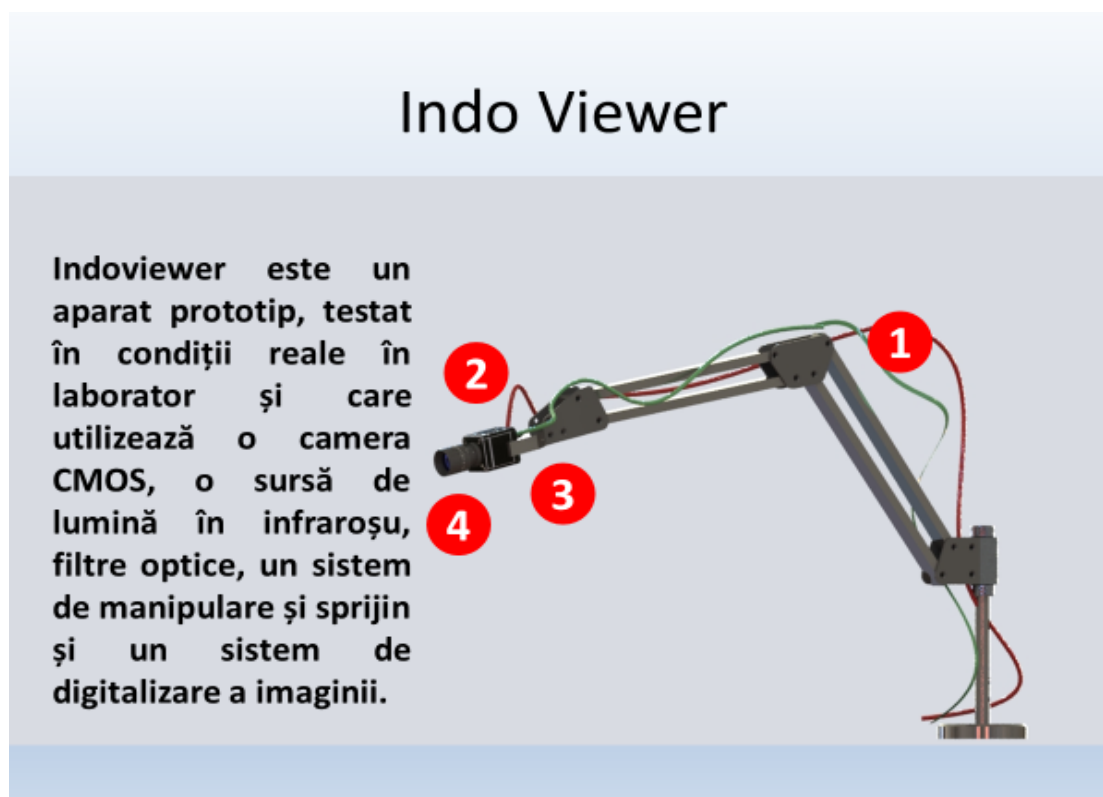


Fig. 3 Imagine cu elemente ale bancului de testare pentru Indo-Viewer

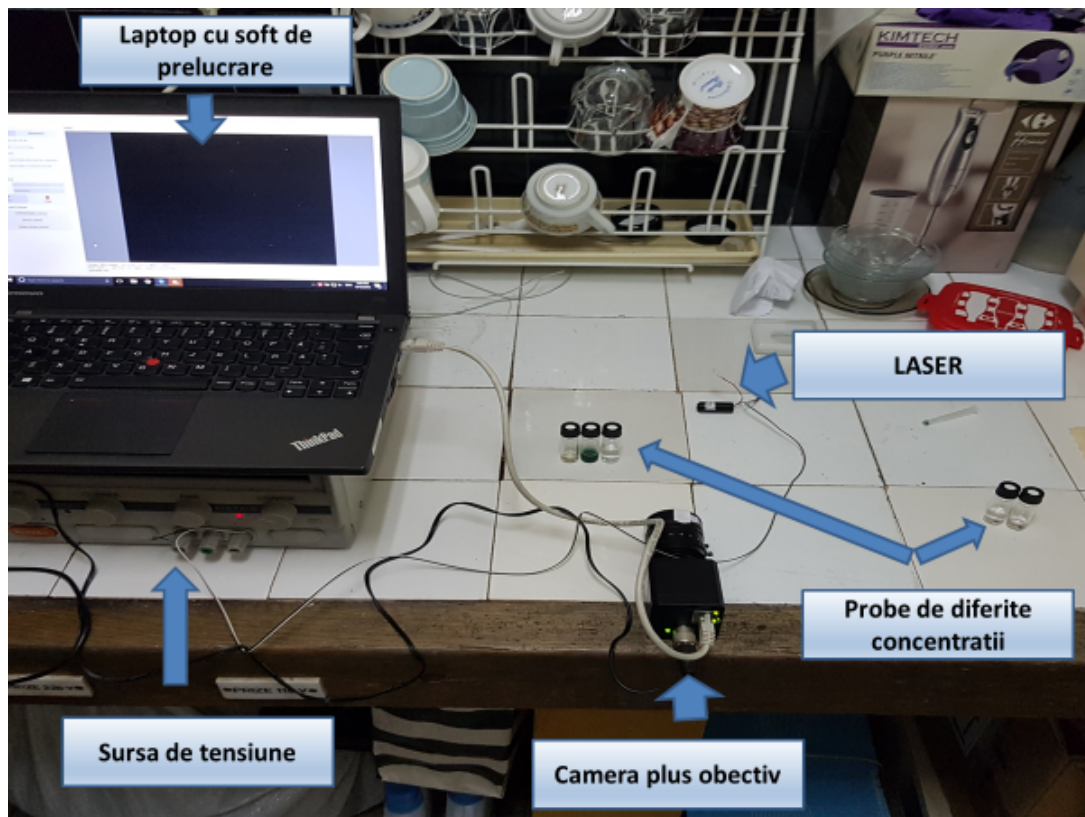


Fig.4 Prototipul Indo-Viewer și aspect NIR al soluțiilor de ICG



CAPITOLUL 7

Alte variante constructive-concepte de realizare

Capitolul al șapte-lea este rezultatul cercetării teoretice întreprinse în încercarea de a propune variante constructive la **ICG- viewer**. Propunerile nu au putut fi susținute financiar din bugetul alocat acestei teze de doctorat, presiunea financiară pentru realizarea a încă două prototipuri fiind prea ambițioasă pentru o lucrare doctorală, însă schemele se regăsesc în lucrare și deschid drumul pentru lucrări și proiecte de cercetare ulterioare.

Fig. 5 Schema propunerii de prototip tip **Pistol optic**

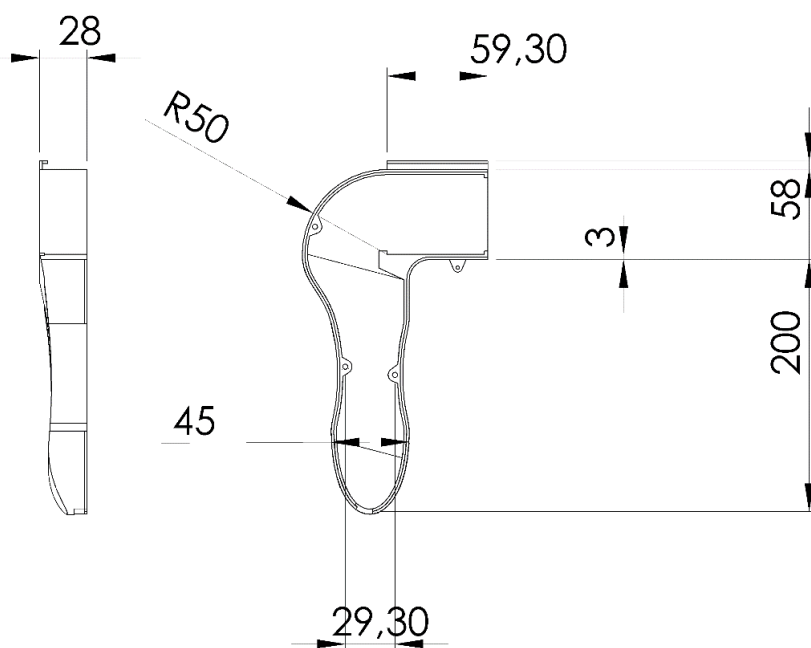


Fig. 6 Randare a prototipului tip **Pistol optic**

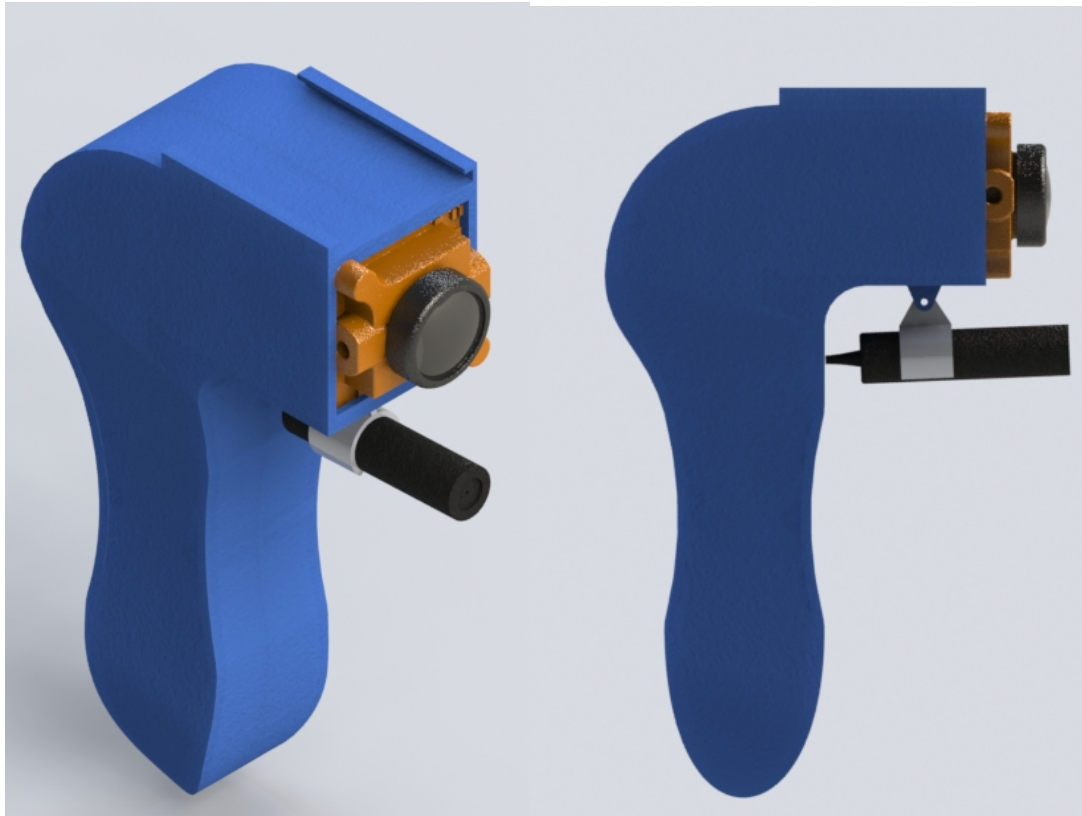


Fig. 7 Schema propunerii de prototip tip **Microcameră**

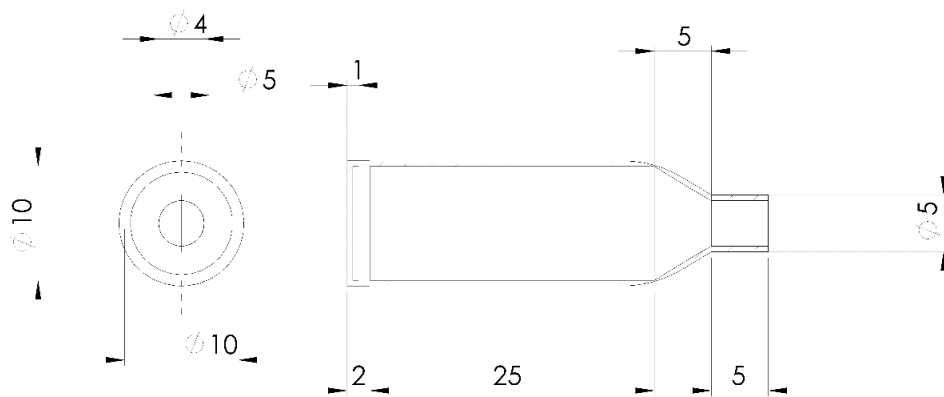


Fig. 8 Randare a prototipului tip **Microcameră**

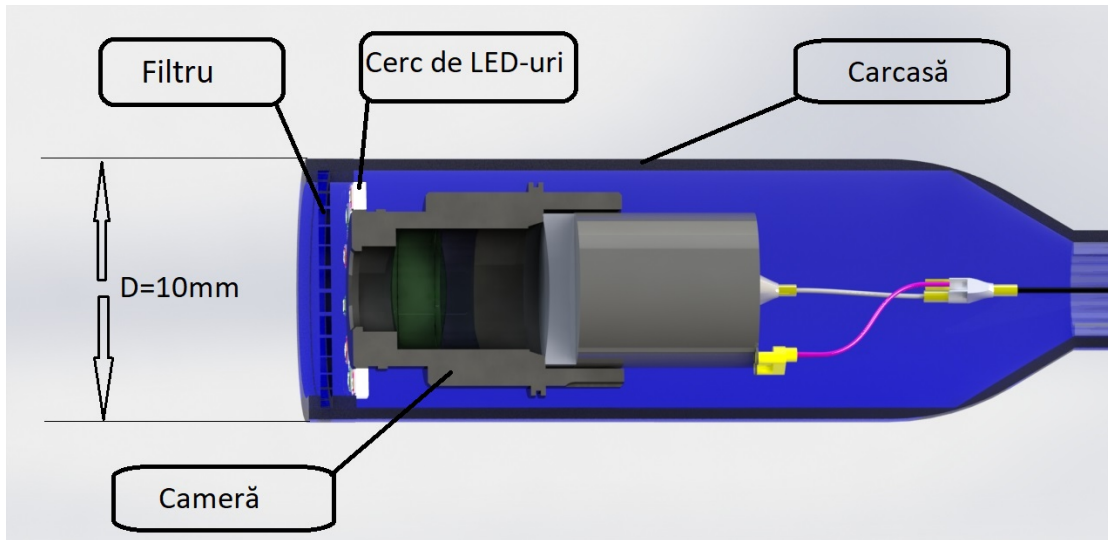


Fig. 9 Randare a prototipului tip **Tub optic**

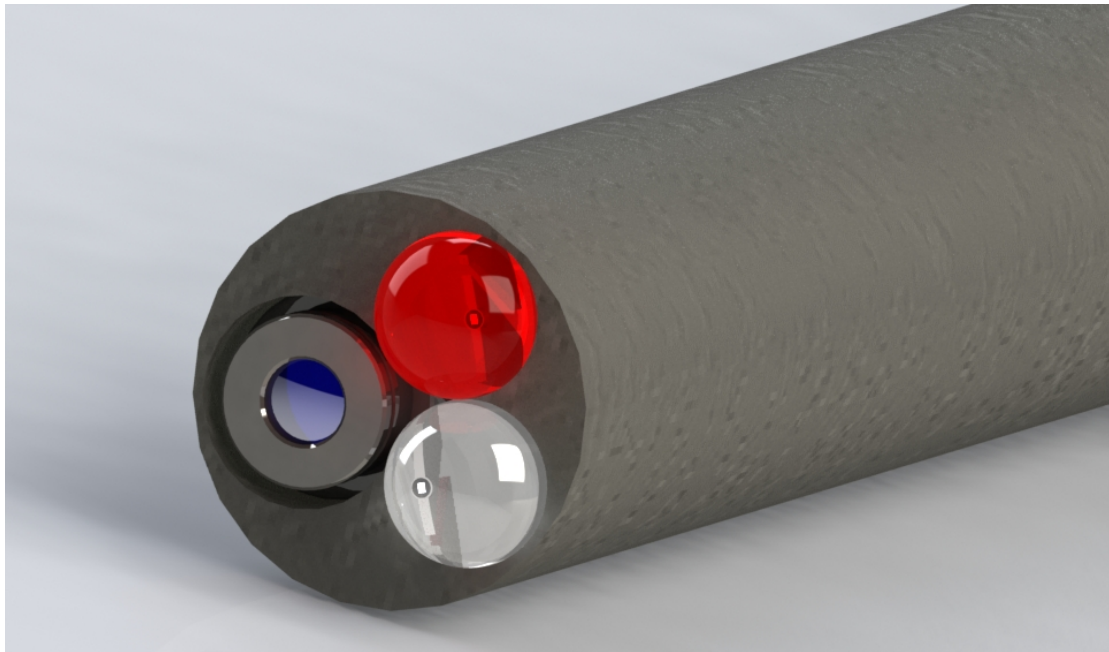
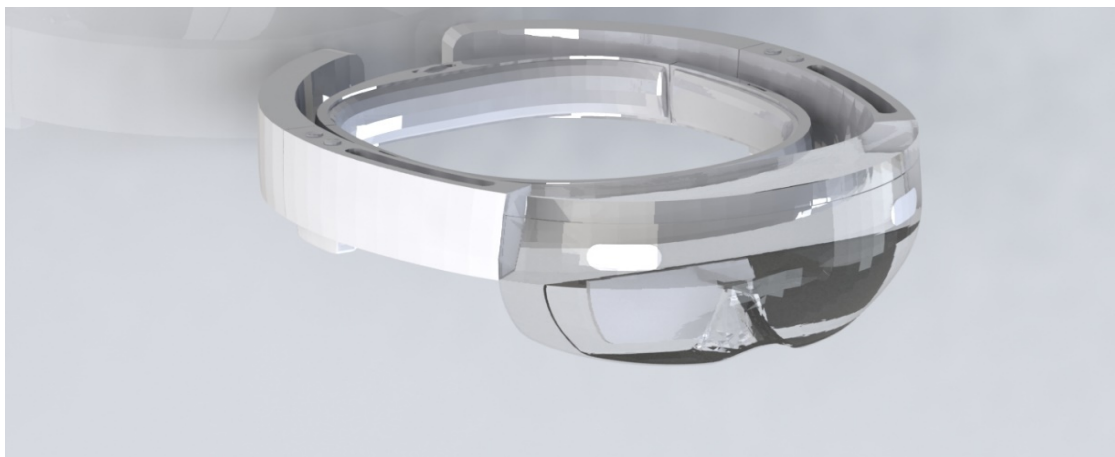


Fig. 10 Randare a opțiuni de proiectare tip **Holografic**



CAPITOLUL 8

Concluzii și considerații de încheiere

Viziunea asupra unui aparat ieftin și de mici dimensiuni a stat la baza elaborării acestei teze de doctorat.

Am început cu un review exhaustiv al literaturii de specialitate în domeniu și am observat că numărul de publicații care abordau subiectul creștea exponențial de la an la an, ceea ce denotă interesul mare al cercetătorilor și clinicienilor pentru fluorescența NIR intravitală cu ICG. Dacă inițial aparatele utilizate ocupau o cameră întreagă, astăzi acestea au fost miniaturizate și optimizate la un nivel greu de imaginat.

Am elaborat prima lucrare sub forma unui review asupra metodei publicat în Romanian Journal of Medical Practice. Aici am subliniat importanța și potențialul metodei și am prezentat cele mai importante aplicații clinice inclusiv colangiografia intravenoasă cu ICG pentru identificarea arborelui biliar, evaluarea perfuziei anastomozelor, flapurilor și descoperirea ganglionilor sentinela. După înțelegerea aplicațiilor clinice ale metodei am cercetat mecanismele intime ale procesului de fluorescență pe baza faimoaselor diagrame Jablonski care explică modul în care apare fluorescența și interdependența dintre lumina de excitație și emisie. Cu această ocazie am trecut în revistă fenomenele asociate fluorescenței precum scatteringul, quenchingul și autoquenchingul, red și blue shift, depolarizarea fluorescenței, randamentul cuantic, etc. Aceste noțiuni au servit atât la înțelegerea parametrilor device-urilor propuse de alți autori cât și la planificarea experimentelor în laborator. Tot legat de stadiul actual al cunoașterii am adunat informații despre ICG atât cu privire la proprietățile fizico-chimice, cât și la datele de farmaco-dinamică și farmaco-cinetică. Am observat o discrepanță între datele raportate de diverși cercetători despre intensitățile luminilor de emisie ale ICG în funcție de mediul în care era dizolvată substanța și am constatat că se înregistrau valori ale luminii de emisie mult peste cea de excitație în mediile cu albumină. În mod surprinzător aproape singurele date din literatură referitor la comportamentul ICG în soluții de albumină datează din anii 60 și 70 când s-au întreprins cercetări în această direcție.

Pasul firesc a fost imaginarea unui experiment la fluorimetru care să caracterizeze din punct de vedere spectrofotometric soluțiile de ICG în apa și în matrice biologice complexe precum sângele integral, bila și soluțiile de albumină umană de diferite

concentrații. Am constatat că intensitatea fluorescenței crește foarte mult în soluțiile de albumină umană și scade față de valoarea de referință (ICG în apă distilată) în matrice cu pigmenți precum sângele și bila. Am putut observa atât fenomenele de dimerizare, de stingere a fluorescenței și am descoperit că diluția optimală pentru o fluorescență utilă clinic a fost în jurul valorii de de 1/2500 din soluția stoc. Aceste fenomene sunt explicate” in extenso” în capitolul rezervat acestui studiu.

După review-ul aplicațiilor clinice, al principiilor fizice ale metodei și experimentele spectrofotometrice de caracterizare a soluțiilor de indocianină, am efectuat un studiu intervențional pe subiecți umani cu un sistem Novadaq pe care l-am primit în custodie pentru efectuarea experimentului. Studiul s-a desfășurat pe 42 de subiecți umani consecutivi cu colecistită acută și care au fost supuși intervențiilor de colecistectomie laparoscopică cu și fără realitate augmentată. În urma cercetărilor clinice efectuate în alte centre s-a constatat ca nu există o corelație între indicele de masă corporală și distribuția grăsimii viscerale la nivelul pediculului hepatic și cistic. Noi am constatat că există o corelație între gradul de dificultate în identificarea elementelor arborelui biliar și IMC, dar la valori mari ale IMC, valori pentru care am stabilit cu ajutorul curbelor ROC un prag. Am arătat că identificarea în sub 10 minute a căii biliare s-a efectuat la aproape 90% din pacienții care au beneficiat de realitate augmentată și doar la 69% la cei care nu au primit ICG. Pentru că marea majoritate a celor la care identificarea a fost dificilă sau eșuată au fost pacienți cu IMC mare, s-a născut întrebarea firească a corelării IMC cu ușurința în identificarea elementelor arborelui biliar. Am identificat că pragul de IMC 33 este limita până la care vizualizarea cu ICG se face relativ ușor, peste această valoare gradul de vizualizare scăzând. Pentru pacienții care nu beneficiază de realitate augmentată vizualizarea dificilă se face de la valori mult mai mici, IMC 27. Timpul operator a fost mai scurt la pacienții la care s-a folosit ICG cu 10-minute față de cei la care nu s-a utilizat colangiografie intravenosă cu ICG. Conchidem că există un fundament documentat statistic pentru folosirea realității augmentate în colecistectomia laparoscopică și că metoda aduce beneficii prin reducerea timpilor operatori, scăderea incidentelor perioperatorii și a costurilor cu intervenția, reducând în același timp morbiditatea la pacienții colecistectomizați.

În urma demersurilor de cercetare a literaturii de specialitate și studiilor clinice și de laborator, am publicat într-un articol din Romanian Medical Journal cele menționate anterior. Mai mult am participat la 3 conferințe internaționale la care am prezentat metoda, modelul unui prototip pentru chirurgie deschisă și rezultatele obținute .

Având aceste date am încercat construirea unui aparat pentru chirurgie deschisă pe care l-am testat cu succes în condiții de laborator pe material biologic și am reiterat și în experimentele cu prototipul că intensitatea fluorescenței depinde de concentrația fluoroforului și de complexarea cu albumină. Ulterior acestui experiment am trecut la testarea pe material biologic (carne de pui) prin care am introdus transparietal tuburi de drenaj din silicon transparent pe care le-am umplut cu soluție de ICG și am încercat, empiric să demonstrez penetranța luminii de excitație și a celei de emisie, reușind să măsoar fluorescență vizibilă până la circa 16mm grosime.

În final am prezentat câteva variante conceptuale ale acestui device și câteva modalități de proiectare a imaginilor, deoarece consider că realitatea augmentată și cât de curând și cea virtuală vor juca un rol determinant în chirurgia viitorului. Bugetul alocat acestei teze nu a suportat construcția unui prototip suplimentar și diferit, acest deziderat fiind unul pe care nădăjduiesc ca îl voi aborda în studiile postdoctorale. Totuși am prezentat schematizarea pentru pistolul Indo-viewer și tubul laparoscopic, urmat de modalitățile de proiecție prin ochelari cu realitate augmentată.

Bibliografie Selectivă

1. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Pätälä T et al. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging*. 2012;940585.
2. Ronda C. *Luminiscence from theory to applications*. John Wiley and Sons, Darmstadt, 2008.
3. Fitzpatrick R. *Maxwell's equations and the principles of electromagnetism*. Infinity Science Press, Hingham -MA, 2008
4. McNaught A. D. Wilkinson A. *Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book")*, Blackwell Scientific Publications, Oxford ,1997.
5. Landsman ML, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG: Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *J Appl Physiol* 40:575–83, 1976.
6. R. Philip, A. Penzkofer, W. Baumler, R. M. Szeimies, and C. Abels, “Absorption and fluorescence spectroscopic investigation of indocyanine green,” *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, vol. 96, no. 1–3, pp. 137–148.
7. Philip R, Penzkofer A, Baumler W et al. Absorption and fluorescence spectroscopic investigation of indocyanine green. *J Photochem Photobiol A*. 96:137 e48, 1996.
8. Gathje J, Steuer RR, Nicholes KR: Stability studies on indocyanine green dye. *J Appl Physiol* 29:181–5, 1970.
9. Gioux S, Soo Choi H, Frangiony JV. Image Guided Surgery using Invisible Near infrared Light: Fundamentals of Clinical Translation. *Mol. Imaging*. 2010;9(5):237-255.
10. Papathelemis T, Jablonski E, Scarl A et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients by means of Indocyanine green using the Karl Storz VITOM fluorescence camera. *Hindawi BioMed Research International*. 2018:ID 6251468
11. Cahill RA, Anderson M, Wang LM, Lindsey I, Cunningham C, Mortensen NJ. Near-infrared (NIR) laparoscopy for intraoperative lymphatic road-mapping and sentinel node identification during definitive surgical resection of early-stage colorectal neoplasia. *Surg Endosc* 2012;26:197–204
12. Jafari, M.D., Lee, K.H., Halabi, W.J. et al. The use of indocyanine green fluorescence to assess anastomotic perfusion during robotic assisted laparoscopic rectal surgery. *Surgical Endosc*. 2013; 27: 3003–3008.
13. Shimada, Y., Okumura, T., Nagata, T. et al. Usefulness of blood supply visualization by indocyanine green fluorescence for reconstruction during esophagectomy. *Esophagus*. 2011; 8: 259–266.
14. Manny TB, Pompeo AS, Hemal AK, Robotic partial adrenalectomy using indocyanine green dye with near-infrared imaging: the initial clinical experience. *Urology*. 2013; 82:738–742.
15. Kahramangil B, Berber E. The use of near infrared fluorescence imaging in endocrine surgical procedures. *J Surg Oncol*. 2017;9999:1- 8
16. Azuma R, Morimoto Y, Masumoto K, et al. 2008. Detection of skin perforators by indocyanine green fluorescence nearly infrared angiography. *Plastic Reconstr. Surg*. 122:1062–67

17. Furukawa H, Osawa M, Saito A, et al. Microsurgical lymphaticovenous implantation targeting dermal lymphatic backflow using indocyanine green fluorescence lymphography in the treatment of postmastectomy lymphedema. *Plast Reconstr Surg* 2011;127(5):1804-11
18. Kitagawa H, Namikawa T, Iwabu J, Fujisawa K, Uemura S, Tsuda S, Hanazaki K. Assessment of the blood supply using the indocyanine green fluorescence method and postoperative endoscopic evaluation of anastomosis of the gastric tube during esophagectomy. *Surg Endosc* 2018; 32: 1749-1754.
19. **Alius C**, Gradinaru S, Nica AE. Indocyanine Green enhanced laparoscopic cholecystectomy in acute patients: do we need a revision of the safety paradigms? *Practica Medicală*; 44(2):151-154
20. M. J. C. van Gemert, R. Verdaasdonk, E. G. Stassen, G. A.C. M. Schects, G. H. M. Gijbsbers, and J. J. Bonnier, "Optical properties of human blood vessel wall and plaque," *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 5, no. 3, pp. 235–237, 1985.
21. Gossedge G, Vallance A, Jayne D. Diverse applications for near infra-red intraoperative imaging. *Colorectal Dis* 2015; 17 Suppl 3: 7-11