Научная статья
https://doi.org/10.23934/2223-9022-2023-12-2-239-249

BY 4.0

Метаболизм и микроструктура стенки тонкой кишки у пациентов с колоректальным раком

М.В. Багрянцев[1] ✉, М.Г. Рябков[2], Е.Л. Бедерина[2], М.М. Логинова[2], А.В. Базаев[2], А.И. Абелевич[2], И.Л. Дезорцев[1], С.С. Бунова[3], М.В. Ширманова[2], В.И. Щеславский[2], Е.Б. Киселева[2]

Кафедра общей, оперативной хирургии и топографической анатомии
[1] ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко»
Российская Федерация, 603126, Нижний Новгород, ул. Родионова, д. 190
[2] ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» МЗ РФ
Российская Федерация, 603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1
[3] ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Российская Федерация, 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85

✉ **Контактная информация:** Багрянцев Максим Владимирович, кандидат медицинских наук, врач-хирург ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.А. Семашко». Email: maks-bagryancev@mail.ru

АКТУАЛЬНОСТЬ

У пациентов с колоректальным раком (КРР) нормальная тонкая кишка, расположенная вне патологического очага, претерпевает изменения, которые могут быть причиной пищеварительной дисфункции после радикальной операции по удалению опухоли.
Оценка метаболических и микроструктурных изменений в слизистой оболочке подвздошной кишки у пациентов с КРР необходима для коррекции алгоритмов послеоперационной терапии, энтерального питания. Современные средства оптического биоимиджинга потенциально способны решить эту сложную диагностическую задачу.

ЦЕЛЬ

Исследовать особенности метаболизма и морфологической структуры стенки условно нормальной тонкой кишки со стороны слизистой оболочки у пациентов с КРР 1–3-й стадий методами макро-*FLIM* и оптической когерентной томографии (ОКТ).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась стенка подвздошной кишки (66 образцов) со стороны слизистой оболочки у пациентов с гистологически подтвержденным КРР 1–3-й стадий с локализацией опухоли в правых отделах ободочной кишки. 8 образцов получены у пациентов с 1-й стадией КРР, 38 образцов — у пациентов со 2-й стадией и 20 образцов — с 3-й стадией развития опухоли. Объем оперативного вмешательства — правосторонняя гемиколэктомия с тотальной мезоколонэктомией — СМЕ (лимфодиссекцией Д2). Свежие образцы ткани исследовали методами флуоресцентного время-разрешенного макроимиджинга (макро-*FLIM*) и ОКТ с последующим гистологическим анализом материала.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным гистологического исследования в тонкой кишке пациентов с 1-й стадией КРР слизистая оболочка покрыта нормальным однослойным призматическим каемчатым эпителием. В образцах кишки пациентов со 2-й стадией КРР наблюдалась гиперсекреция слизи с участками фиброза и полнокровием сосудов. При 3-й стадии КРР слизистая оболочка тонкой кишки была рыхлой, с локальными утолщениями, участками фиброза с выраженным лейкостазом и очагами атрофии. Ни в одном из образцов не обнаружены гистологические признаки злокачественной опухоли.
По данным ОКТ в слизистой оболочке тонкой кишки у пациентов с 1-й и 2-й стадиями КРР хорошо визуализировались контуры ворсинок и, частично, крипты. Структура ворсинок была гладкой, негрубой, а форма регулярной. У пациентов с 3-й стадией КРР контуры крипт и ворсинок были нечеткими. Различий в картине ОКТ между гистологическими препаратами при 1-й и 2-й стадиях КРР получено не было: структура ворсинок тонкой кишки была четкой, форма неизмененной. По данным *FLIM* выявлены статистически значимые отличия в показателях среднего времени жизни флуоресценции восстановленного никотинамиддинуклеотида (фосфата) НАД(Ф)Н (τm) между 2-й и 3-й (p=0,031), 1-й и 3-й (p=0,018) стадиями КРР. При 1-й стадии КРР τm составило 1,61 [1,30; 2,02] нс, при 2-й стадии — 1,50 [1,36; 1,73] нс, при 3-й стадии — 1,37 [1,22; 1,51] нс. Результаты *FLIM* предположительно свидетельствуют об увеличении роли гликолиза в энергетическом метаболизме энтероцитов вместе с увеличением стадии КРР.

© Багрянцев М.В., Рябков М.Г., Бедерина Е.Л., Логинова М.М., Базаев А.В., Абелевич А.И., Дезорцев И.Л., Бунова С.С., Ширманова М.В., Щеславский В.И., Киселева Е.Б. М., 2023

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с раком правых отделов ободочной кишки в не затронутой злокачественным поражением подвздошной кишке зафиксированы нарушения микроструктуры слизистой оболочки. При этом выраженность нарушений микроструктуры в стенке тонкой кишки связана со стадией развития опухоли в толстой кишке. Технологии биовизуализации, а именно — методы оптической когерентной томографии и флуоресцентного время-разрешенного макроимиджинга, позволили объективно отобразить нарушения микроструктуры и метаболизма в стенке подвздошной кишки. Данные оптической колоректальной томографии продемонстрировали различия в структурной картине ворсинок кишки у пациентов 1–2-й и 3-й стадий колоректального рака. Результаты флуоресцентного время-разрешенного макроимиджинга метаболического кофактора никотинамиддинуклеотида (фосфата) свидетельствовали об увеличении роли гликолиза в энергетическом метаболизме энтероцитов вместе с ростом стадии колоректального рака. Выявленные нарушения в состоянии тонкой кишки развиваются у пациентов с колоректальным раком до операции и с высокой вероятностью являются важным патогенетическим звеном мальабсорбции в послеоперационном периоде. В случае подтверждения гипотезы, разработанный алгоритм комплексной диагностики нарушений микроструктуры и метаболизма в тканях расширит возможности реабилитации пациентов с раком правых отделов толстой кишки.

Ключевые слова: подвздошная кишка, флуоресцентный время-разрешенный имиджинг *FLIM*, оптическая когерентная томография ОКТ, метаболизм, колоректальный рак, мальабсорбция

Ссылка для цитирования Багрянцев М.В., Рябков М.Г., Бедерина Е.Л., Логинова М.М., Базаев А.В., Абелевич А.И. и др. Метаболизм и микроструктура стенки тонкой кишки у пациентов с колоректальным раком. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2023;12(2):239–249. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2023-12-2-239-249

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарность, финансирование Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 19-75-10096

КРР — колоректальный рак
Макро-*FLIM* — флюоресцентный время-разрешенный макроимиджинг
ММ ОКТ — мультимодальная установка для оптической когерентной томографии
НАДН — никотинамиддинуклеотид
НАД(Ф)Н — никотинамиддинуклеотид (фосфат)
ОКТ — оптическая когерентная томография
СМЕ (лимфодиссекция Д2) — правосторонняя гемиколэктомия с тотальной мезоколонэктомией

ВВЕДЕНИЕ

Мальабсорбция фиксируется у 91% пациентов после правосторонней гемиколэктомии, выполненной по поводу рака, а в течение 3 месяцев у данной группы пациентов сохраняется диарея [1–3]. В последнее время наблюдается рост показателя выживаемости после операций по поводу колоректального рака (КРР); эта положительная тенденция привела к росту клинического и социального значения поздних осложнений, определяющих продолжительность и качество жизни успешно прооперированных пациентов [4]. Частота хронических поздних желудочно-кишечных осложнений составляет от 6 до 66% и коррелирует с дополнительными финансовыми расходами лечебного учреждения [5]. У пациентов после правосторонней гемиколонэктомии по поводу КРР с резекцией более 10 см подвздошной кишки наблюдается помимо жидкого стула частые дефекации [6]. Мальабсорбция (синдром недостаточности кишечного всасывания) проявляется нарушением переваривания и всасывания питательных веществ из-за изменений нормальной структуры и (или) функции кишечника [7]. Белково-энергетическая недостаточность, развивающаяся вследствие алиментарного дефицита, усугубляет состояние пациента в раннем послеоперационном периоде и увеличивает риск поздних осложнений [8]. В современных опубликованных работах механизм развития мальабсорбции у пациентов с раком толстой кишки связывается прежде всего с последствиями хирургического удаления функционально важных участков кишки. По данным *D.J. Gracie et al.* (2012), патогенез развития мальабсорбции после правосторонней гемиколэктомии по поводу рака запускается после резекции терминального отдела подвздошной кишки с илеоцекальным переходом и включает: уменьшение всасывания жёлчных кислот в терминальном отделе тонкой кишки; послеоперационную раскоординацию моторики кишечника; повышение секреции воды с резким снижением ее всасывания; синдром избыточного бактериального роста [9, 10]. Роль резекции илеоцекального угла и правых отделов ободочной кишки в развитии длительной мальабсорбции описана *J. Cosnes et al*. (1978) [11]. Достаточно широко освещена проблема влияния операций на прямой кишке на функцию желудочно-кишечного тракта после низкой передней резекции толстой кишки [12–14]. Несмотря на большое количество исследований, до настоящего времени остается неясным вопрос: развивается ли мальабсорбция у пациентов с КРР только после (и вследствие) резекции функционально значимых участков кишки или морфофункциональная основа для нарушения всасывания в тонкой кишке появляется до операции.

В нормальной слизистой оболочке тонкой кишки у пациентов с КРР в отличие от пациентов без патологии желудочно-кишечного тракта происходят изменения в метаболизме, в частности, в обмене углеводов, жиров и аминокислот, а также микробиологические, генетические и эпигенетические изменения. Исследования *Matthew L. Silviera et al*. (2012) показывают, что ассимиляция пищевых компонентов в нормальной слизистой оболочке тонкой кишки у пациентов с КРР происходит иначе ввиду высокого уровня гормонов, регулирующих метаболизм глюкозы, и низкого уровня

гликолитических ферментов (ключевых регуляторов метаболизма глюкозы) [15]. Выявление нарушения всасывания в слизистой оболочке толстой кишки может быть использовано в ранней диагностике КРР.

Помимо этого ДНК полиомавируса (*JCV*) и *Fusobacterium nucleatum* в интактной слизистой оболочке кишечника при КРР встречались в большем количестве наблюдений, чем в слизистой оболочке толстой кишки у здорового человека [16, 17]. Так, например, ДНК *Fusobacterium nucleatum* встречалась в слизистой толстой кишки у 16–48% здоровых пациентов, а в интактной слизистой оболочке толстой кишки у пациентов с КРР — в 63,9% случаев. Изменения в гистологически интактной кишке у пациентов с КРР на генетическом и эпигенетическом уровнях характеризовались усилением экспрессии некоторых генов микроРНК: 21, 7, 31, 92, 181, 203, 106a, ERK1; белков ITGB1, NLK, mtSSB; увеличением количества рецепторов эстрогена и его изоформ (ERβ) в сравнении с нормальной кишкой здорового человека.

Для оценки структурно-функциональных изменений подвздошной кишки, прогнозирования мальдигестии и мальабсорбцией при раке ободочной кишки перспективными могут оказаться методы оптического биоимиджинга. Современные методы биоимиджинга в виде оптической когерентной томографии (ОКТ) и флуоресцентного время-разрешенного имиджинга (*FLIM*) открывают возможность с высокой чувствительностью и пространственным разрешением, в реальном времени визуализировать, соответственно, микроструктурные и биохимические изменения в тканях, вызванные развитием патологий. Несмотря на то что данные методы биоимиджинга объективно ограничены глубиной сканирования ткани, которая составляет до 100 мкм в случае *FLIM* и до 1500 мкм в случае ОКТ, из-за прочной взаимосвязи анатомических футляров кишки, данные об обменных нарушениях и изменениях микроструктуры на глубине слизистого слоя объективно отображают состояние ткани всей кишечной стенки. Возможности этих методов в диагностике нарушений в стенке тонкой кишки при развитии КРР на сегодняшний день не изучены.

Цель: исследовать особенности метаболизма и морфологической структуры стенки условно нормальной тонкой кишки со стороны слизистой оболочки у пациентов с КРР 1–3-й стадий методами макро-*FLIM* и ОКТ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, образцы получены из колопроктологического центра и отделения абдоминальной онкологии ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко» (Нижний Новгород)». Объект исследования: слизистая оболочка подвздошной кишки у пациентов с раком правых отделов ободочной кишки 1–3-й стадий. Критерии включения в исследование: добровольное информированное согласие на участие в исследовании, неосложненный рак правых отделов ободочной кишки, отсутствие органической патологии толстой кишки за пределами сегмента с опухолью. Критерии невключения в исследование: осложненный колоректальный рак (кишечная непроходимость, кровотечение), 4-я стадия колоректального рака, другая патология толстой кишки (полипы толстой кишки, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона), хирургические осложнения КРР.

Исследование выполнено на 66 образцах тонкой кишки у пациентов с раком правых отделов толстой кишки: 8 образцов получены у пациентов с 1-й стадией КРР, 38 образцов — со 2-й стадией, 20 образцов — у пациентов с 3-й стадией развития опухоли. Стадии развития КРР подтверждены гистологически. Всем пациентам выполнялось оперативное вмешательство — правосторонняя гемиколэктомия с тотальной мезоколонэктомией — CME (лимфодиссекцией Д2) по поводу рака правых отделов ободочной кишки лапароскопическим способом. В соответствии с клиническими рекомендациями «Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела» (2020), помимо лабораторных и инструментальных методов исследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма, электрокардиограмма и т.д.) всем пациентам выполнены: фиброколоноскопия с гистологической верификацией диагноза рака правых отделов ободочной кишки, фиброгастроскопия, компьютерная томография органов брюшной полости и органов грудной клетки, биомаркеры рака — раково-эмбриональный антиген и онкомаркер CA19-9 [18]. Операция заключалась в удалении правых отделов ободочной кишки (слепая, восходящая ободочная кишка, печеночный изгиб и правые отделы поперечной ободочной кишки с терминальным отделом подвздошной кишки длиной 10±2 см) с наложением экстракорпорального антиперистальтического анастомоза с применением аппаратного шва (бок в бок с использованием линейного сшивающего аппарата *Endo-Gia*-60).

АЛГОРИТМ ЗАБОРА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

На сегменте подвздошной кишки, включенном в зону резекции, маркировали участок стенки 1,5×2,0 см, локализованный на противобрыжеечном крае стенки на расстоянии 0,5–1 см от проксимального края (рис. 1 А, стрелка). Маркированный участок кишки во всех случаях располагался на расстоянии не менее 10 см и не более 35 см от опухоли, не содержал дефектов, жировых подвесков (рис. 1 В). Сразу после отсечения брыжейки тонкой кишки маркированный участок иссекали, сразу же помещали его в марлевую салфетку, смоченную стерильным 10% раствором бычьего сывороточного альбумина и доставляли к месту проведения макро-*FLIM*- и ОКТ-исследований на льду, согласно разработанному ранее протоколу [19].

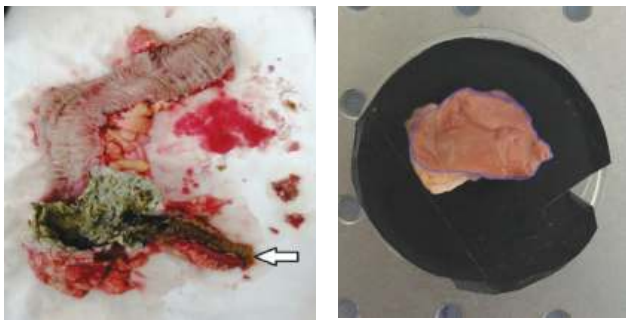
Макро-*FLIM* проводили на оригинальном двухканальном конфокальном *FLIM/PLIM* макросканере (*Becker&Hickl*, Германия) с однофотонным возбуждением флуоресценции с помощью пикосекундных лазеров. Макросканер позволяет получать время-разрешенные изображения с поля зрения размером до 18×18 мм с пространственным разрешением до 15 мкм [20]. Регистрация времени жизни флуоресценции осуществлялась по принципу время-коррелированного счета фотонов *TCSPC* (*Becker&Hick*l, Германия). Флуоресценцию возбуждали в спектральном канале НАД(Ф)Н с помощью пикосекундного лазера на длине волны 375 нм, детектировали в диапазоне 435–485 нм. Мощность возбуждающего излучения составляла 12 мВт, время сбора фотонов — 90 с. Анализ кривых затухания автофлуоресценции проводили в програм-

ме *SPCImage* 8.4 (*Becker&Hickl*, Германия). Изображения импортировали в программу, аппроксимировали затухание биэкспоненциальной моделью, выбирали участки с допустимым хи-квадратом (от 0,8 до 1,2), выделяли зоны интереса (по 2 зоны на каждом изображении), исключая области без объекта и содержащие артефакты. Был проанализирован параметр τm — средневзвешенное время жизни флуоресценции (τm=a1×τ1+a2×τ2, где τ1 и τ2 — времена жизни короткой и длинной компонент, a1 и a2 — относительные вклады короткой и длинной компонент затухания, a1+a2=100%).

После проведения макро-*FLIM* была исследована микроструктура образцов методом ОКТ. Использована мультимодальная установка для оптической когерентной томографии (ММ ОКТ), работающая на спектральном принципе приема обратно рассеянного от ткани сигнала (Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия) [21, 22]. Центральная длина волны источника излучения составляет 1310 нм со спектральной шириной 100 нм, продольное разрешение составляет 10 мкм, поперечное разрешение — 15 мкм. Скорость получения данных составляет 20 000 *A*-сканов/с. *A*-скан представляет собой профиль распределения интенсивности сигнала с глубиной в точке сканирования. Поперечные срезы ткани (*B*-сканы) длиной 2,4 мм и глубиной 1,3 мм получаются при 2*D*-латеральном сканировании. Последовательное получение 256 поперечных *B*-сканов позволяет провести реконструкцию 3*D*-изображения в объеме ткани 2,4×2,4×1,3 мм. ОКТ-сканирование проводилось в контактном режиме.

Для качественного и количественного анализа из полученных объемных ОКТ-изображений сохранялись несколько *B*-сканов и изображений вида сверху на ткань (*en-face*). На изображениях оценивали форму и структуры кишечных ворсинок, расстояние между ворсинками. Анализ полученных данных выполняли в программе *ImageJ* (*NIH*, США). Для сравнения ОКТ-изображений в зависимости от стадий КРР применяли критерий «структура», характеризующийся качественными параметрами гладкости, грубости и регулярности.

Гистологическое исследование резецированного участка кишки с опухолью выполняли в отделении патоморфологии ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.А. Семашко». Гистологическое исследование образцов тканей, полученных с проксимального и дистального концов резецированного участка тонкокишечной стенки, выполняли на базе ПИМУ. Образцы фиксировали в 10% формалине в течение 48 часов. При приготовлении гистологических срезов учитывали плоскость ОКТ-сканирования: она совпадала с плоскостью *B*-сканов. Использовали окрашивание гематоксилином и эозином (Г&Э). Патоморфолог проводил слепое описание гистологических препаратов с занесением результатов в специальную таблицу. Оценивали наличие/отсутствие отека, воспаления и некроза, а также состояние кровеносных сосудов. Цифровые фотографии получали в проходящем свете с помощью микроскопа *Leica DM*2500 *DFC* (*Leica Microsystems*, *Wetzlar*, Германия), оснащенного цифровой камерой *Leica DFC*425 *C*. Результаты патоморфологического исследования сравнивали с соответствующими структурными ОКТ-изображениями и данными макро-*FLIM*.



A **B**

Рис. 1. Этапы забора и подготовки к исследованию участка подвздошной кишки. *A* — вид макропрепарата (на примере пациентки В., 80 лет) после операции — правосторонней гемиколэктомии (гистологически — аденокарцинома слепой кишки), стрелкой указана проксимальная граница резекции опухоли; *B* — участок подвздошной кишки подготовлен к исследованию с помощью методов флюоресцентного время-разрешенного макроимиджинга и оптической когерентной томографии со стороны слизистой оболочки

Fig. 1. Stages of sampling and preparation for the study of the ileum. A — macropreparation (on the example of patient V., 80 years old) after surgery — right-sided hemicolectomy (histologic — adenocarcinoma of the caecum), the arrow indicates the proximal border of tumor resection; C — the ileum section was prepared for examination using fluorescent-lifetime macroimaging and optical coherence tomography on the mucosal side

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистического анализа *STATISTICA* 10 (*StatSoft*, *Inc.*, США). В работе проводили расчет медианных значений (*Me*) измеряемых величин и верхнего (*Q*1) и нижнего (*Q*3) квартилей. Достоверность различий между группами при сравнении количественных параметров микроструктуры и кровообращения стенки кишки проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что морфологические и метаболические нарушения в незатронутой опухолевым процессом подвздошной кишке у пациентов с КРР появляются до операции резекции кишечника, а их выраженность коррелирует со стадией развития опухоли (таблица).

По данным гистологического исследования у пациентов с 1-й стадией КРР в тканях подвздошной кишки не обнаружены признаки воспаления, все структуры слизистой оболочки (однослойный призматический каемчатый эпителий, собственная пластинка слизистой оболочки и мышечная пластинка), подслизистой основы, мышечной и серозной оболочек соответствовали норме (рис. 2 *A*).

У пациентов со 2-й стадией КРР структура слизистой оболочки тонкой кишки также выглядела условно нормальной, но высота ворсин была снижена (рис. 2 *D*). У части пациентов имели место некоторые морфологические особенности: в 8 из 38 образцов наблюдались признаки гиперсекреция слизи, наличие участков фиброза и полнокровия сосудов: у 1 пациента имели место очаги атрофии ворсин, а также лейкостаз в одиночных сосудах; у 1 пациентки слизистая оболоч-

Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care. 2023;12(2):239–249. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2023-12-2-239-249

Таблица

Соотношение гистологических, метаболических (по данным *FLIM*) и микроструктурных (по данным ОКТ) изменений в тканях подвздошной кишки со стадией развития колоректального рака

Table

The ratio of histological, metabolic (according to FLIM) and microstructural (according to OCT) changes in the tissues of the ileum with the stage of development of colorectal cancer

Стадия КРР	Результат гистологического исследования	Время жизни флуоресценции НАД(Ф)Н (нс)	Результаты ОКТ
1 (*n*=8)	Везде условная норма	1,61 [1,3; 2,02]	Поверхность ворсинок тонкой кишки гладкая, а форма регулярная и неизмененная
2 (*n*=38)	21% — гиперсекреция слизи, наличии участков фиброза и полнокровия сосудов; 2,6% — очаги атрофии слизистой оболочки, а также лейкостаз в одиночных сосудах; 2,6% — утолщение слизистой оболочки, полнокровие сосудов, умеренная диффузная инфильтрация ткани кишки эозинофильными лейкоцитами	1,50 [1,36; 1,73]	
3 (*n*=20)	75% — условная норма в слизистой; 12,5% — ворсины неравномерно уменьшены в размере либо отсутствуют, воспалительная инфильтрация минимальная; 12,5% — выраженное диффузное хроническое воспаление, высота части ворсин снижена	1,37 [1,22; 1,51]	Плохая дифференцировка слизистой и подслизистой оболочек, контуры ворсинок нечеткие

Примечания: КРР — колоректальный рак; НАД(Ф)Н — никотинамиддинуклеотид (фосфат); ОКТ — оптическая когерентная томография
Notes: КРР — colorectal cancer; НАД(Ф)Н — nicotinamide dinucleotide (phosphate);ОКТ — optical coherence tomography

ка была утолщена, сосуды выглядели полнокровными, зафиксирована умеренная диффузная инфильтрация ткани кишки эозинофильными лейкоцитами.

У 12,5% образцов ткани пациентов (1 из 8) с 3-й стадией КРР имели место выраженное диффузное хроническое воспаление, высота части ворсин снижена. Также у 12,5% (1 из 8) — ворсины неравномерно уменьшены в размере либо отсутствовали, а воспалительная инфильтрация была минимальной (рис. 2 *G*).

По данным ОКТ в слизистой оболочке тонкой кишки при 1-й (рис. 2 *B*, *C*) и 2-й (рис. 2 *E*, *F*) стадиях КРР у всех пациентов структура тканей сохранена: на кросс-секционных изображениях (рис. 2 B, E белые стрелки) хорошо различимы контуры ворсинок и, частично, крипты, видна граница слизистой и подслизистой оболочек. Существенных различий в ОКТ-картине между 1-й и 2-й стадиями КРР получено не было, однако при 2-й стадии контуры ворсинок на кросс-секционных изображениях видны четче (рис. 2 *E*), на *en-face* изображениях ворсинки имеют больший диаметр (рис. 2 *F*) по сравнению с 1-й стадией (рис. 2 *C*), что может быть объяснено снижением их высоты и небольшим утолщением. В препаратах тонкой кишки пациентов с 3-й стадией развития рака по данным ОКТ-исследования контуры ворсинок были нечеткими, в некоторых случаях неразличимыми; слизистая и подслизистая оболочки дифференцировались плохо (рис. 2 *H*, *I*).

Анализ среднего времени жизни флуоресценции НАД(Ф)Н (τm) показал статистически значимое снижение данного параметра у пациентов с 3-й стадией в сравнении с 1-й и 2-й стадиями КРР. При 1-й стадии КРР *Me* [*Q*1; *Q*3] показатель tm составил 1,61 [1,3; 2,02] нс. У пациентов со 2-й стадией КРР значение tm составило 1,5 [1,36; 1,73] нс. При 3-й стадии показатель tm составил 1,37 [1,22; 1,51] нс. Статистически значимые различия в значениях τm зафиксированы и между 2-й и 3-й (p=0,031), 1-й и 3-й (p=0,018) стадиями КРР. Между 1-й и 2-й стадиями статистически значимых различий не выявлено. На рис. 3 представлены типичные для каждой группы макро-*FLIM*-изображения параметра tm (нс) эндогенной флуоресценции тканей.

Таким образом, в исследовании впервые получены характерные параметры автофлуоресценции НАД(Ф)Н в тонкой кишке в норме и при КРР с помощью технологии макро-*FLIM*. Выявленные различия во времени жизни флуоресценции НАД(Ф)Н в энтероцитах подвздошной кишки могут указывать на преобладание процесса гликолиза при увеличении стадии КРР (от 1-й к 3-й стадии).

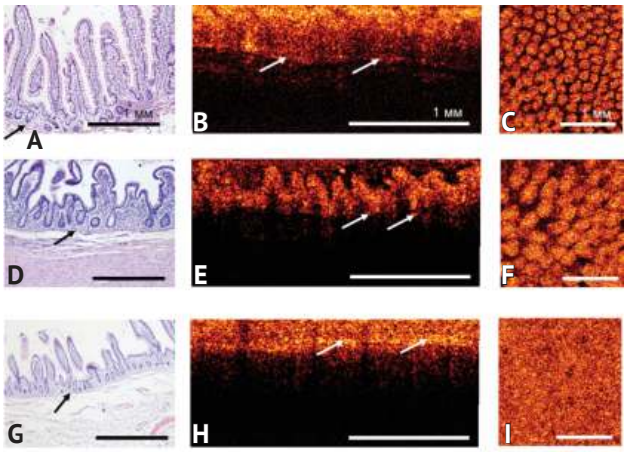


Рис. 2. Гистологическая картина (*A*, *D*, *G*); кросс-секционное (*B*-сканы) (*D*, *E*, *H*) (вид сверху) и *en-face* (*C*, *F*, *I*) оптическая когерентная томография изображения при колоректальном раке 1-й, 2-й и 3-й стадий соответственно

Fig. 2. Histologic picture (A, D, G); cross-sectional (B-scans) (B, E, H) (top view) and en-face (C, F, I) optical coherence tomography of the image in colorectal cancer of the 1st, 2nd and 3rd stages, respectively

В исследовании получены первые характерные параметры структуры тонкой кишки в норме с помощью технологии *FLIM*. Метаболизм в слизистой оболочке статистически значимо различался у пациентов с 1-й и 3-й, 2-й и 3-й стадиями КРР. Между 1-й и 2-й стадиями статистически значимых различий не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе впервые выполнено комплексное исследование биохимических и микроструктурных особенностей тонкой кишки у пациентов с КРР различных стадий с помощью современных методов оптического биоимиджинга — макро-*FLIM* и ОКТ.

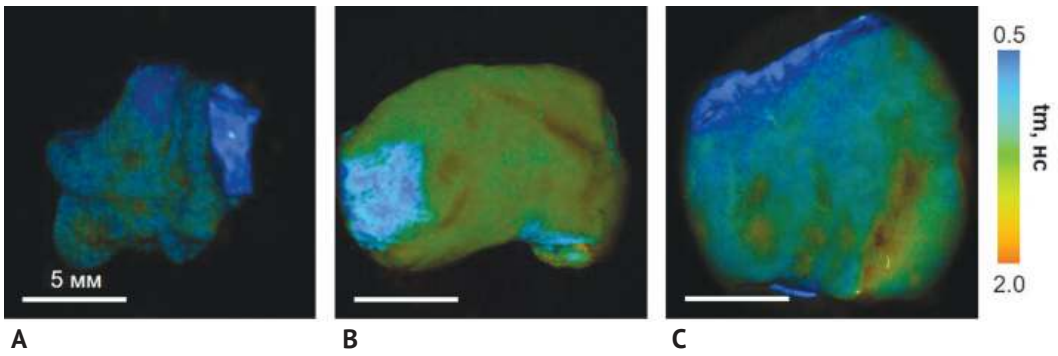


Рис. 3. Макро-*FLIM*-изображения параметра t_m (нс) эндогенной флуоресценции тканей слизистой оболочки тонкой кишки пациентов в 3 изучаемых группах: с 1 (*A*), 2 (*B*) и 3 (*C*) стадией колоректального рака. λex=375 нм, λim=435–485 нм
Fig. 3. Macro-FLIM images of tm (ns) parameter of endogenous fluorescence of the tissues of the mucous membrane of the small intestine of patients in 3 studied groups: with 1 (A), 2 (B) and 3 (C) stage of colorectal cancer. λex=375 nm, λim=435–485 nm

В настоящее время одним из перспективных методов оценки энергетического метаболизма живых клеток и тканей является флуоресцентный время-разрешенный имиджинг (*FLIM*) с определением параметров затухания флуоресценции метаболического кофактора НАД(Ф)Н [23]. Нефосфорилированная форма кофактора в виде редокс-пары НАД/НАДН является одним из основных кофакторов, участвующих в клеточном дыхании, осуществляемом через процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях и анаэробного гликолиза в цитозоле. Фосфорилированный аналог НАДН, НАД(Ф)Н, регулирует пути биосинтеза липидов, аминокислот и нуклеотидов и защиту от активных форм кислорода с помощью глутатиона (GSH) 2. Спектры флуоресценции НАДН и НАД(Ф)Н практически идентичны, однако концентрация НАД(Ф)Н в клетке, как правило, крайне мала и не регистрируется с помощью *FLIM*, так что результаты исследования часто интерпретируют как НАДН.

Молекула НАДН существует в свободной и в связанной с белками формах, отличающихся по времени жизни флуоресценции [24]. Свободная форма НАДН находится в цитоплазме клетки и ассоциируется с гликолизом в отличие от связанной, которая находится в митохондриях и ассоциируется с окислительным фосфорилированием. Показано, что увеличение интенсивности гликолиза или ингибирование клеточного дыхания приводят к росту вклада свободной формы НАД(Ф)Н в затухание флуоресценции и, как следствие, снижению среднего времени жизни [25].

Метод *FLIM* может быть реализован в виде лазерной сканирующей микроскопии и макроимиджинга [26]. С одной стороны, *FLIM*-микроскопия, обладая субклеточным разрешением, позволяет проводить анализ метаболического статуса на уровне отдельных клеток, но, с другой стороны, малый размер поля зрения (не более 1 мм) и сложное техническое исполнение ограничивают ее применение в клинике. Преимущество *FLIM*-макроимиджинга перед двухфотонной время-разрешенной микроскопией состоит в возможности быстрого обследования достаточно крупных образцов тканей, что представляет интерес для дальнейшего клинического использования данного метода. В основном, *FLIM* применяется в экспериментах на клеточных культурах и моделях заболеваний у животных. Работы с использованием *FLIM* для исследования материала пациентов немногочисленны. Например, опубликованы статьи, описывающие первые результаты клинического применения *FLIM* для оценки метаболизма в клетках при раке мочевого пузыря [27], КРР [28], глиобластомах [29], новообразованиях кожи [30]. Исследований по использованию метода *FLIM* в оценке морфофункционального состояния тонкой кишки у пациентов до настоящего времени не проводилось.

Трансформация структуры кишечника ведет к нарушению его функции в виде синдрома мальассимиляции, включающего в себя мальабсорбцию и мальдигестию. Расширенные оперативные вмешательства на толстой кишке также очень часто сопровождаются вышеуказанными синдромами ввиду нарушений процессов гуморальной и нервной регуляции пищеварительного канала и изменения биоценоза кишечника [31]. Мальабсорбция относится к нарушению всасывания питательных веществ в кишечнике, а мальдигестия относится к нарушенному пищеварению питательных веществ в просвете кишечника или у кишечной стенки.

Для комплексного решения актуальных клинических задач у пациентов с КРР в послеоперационном периоде в качестве первого этапа исследования нами предложено изучение морфофункционального состояния тонкой кишки с помощью технологий *FLIM* и ОКТ. Однако ОКТ в данной работе выступает в качестве метода выявления грубых нарушений структуры, когда гистологически ворсинки неравномерно уменьшены в размерах либо отсутствуют. При этом локальные изменения ворсинок, такие как атрофия единичных участков ворсинок, зоны фиброза и т.д., отследить не удается в связи с деформацией ворсинок от зонда при исследовании и их неравномерным поджатием, а также невозможностью расправить все складки, установить зонд и увидеть истинную высоту и форму ворсинок.

Проблема поиска оптимального способа оценки метаболизма эпителия тонкой кишки у пациентов с различной патологией органов желудочно-кишечного тракта актуальна. Ввиду особенностей анатомического расположения тонкой кишки существует проблема ограниченности применения эндоскопического метода; из существующих методов эндоскопического исследования возможно применение лишь капсульной эндоскопии, однако вышеуказанный метод не позволяет изучить структуру кишки на всей ее толщине. Магнитно-резонансная томография и позитронно-эмиссионная томография не позволяют оценить микроструктуру кишки из-за небольшой разрешающей

способности. Использование метода *SDFM* (*Sidestream dark field imaging method*) ограничено из-за недостаточной глубины исследования стенки кишечника. Для оценки структуры и функции тонкой кишки используются методы ОКТ и флуоресцентной ангиографии, однако они позволяют лишь визуализировать морфологию ткани, но не ее функциональное состояние. Таким образом, достоинства технологии метаболического макро-*FLIM* в оценке структуры и функции тонкой кишки при КРР не вызывают сомнения. Следует отметить, что данный метод может быть применен для оценки метаболических изменений в кишке при различных патологических состояниях.

ВЫВОДЫ

В представленном исследовании метод *FLIM* на основе регистрации эндогенной флуоресценции кофактора никотинамиддинуклеотида (фосфата) был впервые применен в оценке метаболического статуса слизистой оболочки тонкой кишки у пациентов с колоректальным раком 1–3-й стадий. Выявленные изменения предположительно указывают на преобладание процесса гликолиза при увеличении стадии колоректального рака. Сопутствующие структурные изменения в тонкой кишке верифицированы методом оптической колоректальной томографии и стандартным гистологическим исследованием. Таким образом, продемонстрировано, что *FLIM* позволяет *ex vivo* оценить структуру и метаболизм *intestinum* в целом, и в слизистой оболочке подвздошной кишки в частности у пациентов с колоректальным раком, что в дальнейшем расширит границы его применения у пациентов с ургентными состояниями после расширенных операций на кишечнике с синдромом мальассимиляции.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Palmisano S, Silvestri M, Troian M, Germani P, Giudici F, de Manzini N. Ileocaecal valve syndrome after surgery in adult patients: myth or reality? *Color Dis*. 2017;19(8):288–295. PMID: 28622448 https://doi.org/10.1111/codi.13778
2. Hope C, Reilly J, Lund J, Andreyev H. Systematic review: the effect of right hemicolectomy for cancer on postoperative bowel function. *Support Care Cancer*. 2020; 28(10):4549–4559. PMID: 32430603 https://doi.org/10.1007/s00520-020-05519-5
3. Massironi S, Cavalcoli F, Rausa E, Invernizzi P, Braga M, Vecchi M. Understanding short bowel syndrome: current status and future perspectives. *Dig Liver Dis*. 2020;52(3):253–261. PMID: 31892505. https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.11.013
4. Larsen HM, Borre M, Christensen P, Mohr Drewes A, Laurberg S, Krogh K, Fassov J. Clinical evaluation and treatment of chronic bowel symptoms following cancer in the colon and pelvic organs. *Acta Oncol*. 2019;58(5):776-781. PMID: 30698052 https://doi.org/10.1080/0284186X.2018.1562211
5. Louis M, Johnston SA, Churilov L, Ma R, Christophi C, Weinberg L. Financial burden of postoperative complications following colonic resection: A systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100(27):e26546. PMID: 34232193 https://doi.org/10.1097/MD.0000000000026546
6. Yde J, Larsen HM, Laurberg S, Krogh K, Moeller HB. Chronic diarrhoea following surgery for colon cancer-frequency, causes and treatment options. *Int J Colorectal Dis*. 2018;33(6):683–694. PMID: 29589108 https://doi.org/10.1007/s00384-018-2993-y
7. Zuvarox T, Belletieri C. Malabsorption Syndromes. 2021 Jul 30. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 31971746
8. Васильев С.В., Попов Д.Е., Семенов А.В. Ранняя послеоперационная энтеральная поддержка больных раком толстой кишки. *Колопроктология*. 2015;S1(51):63–63а.
9. Gracie DJ, Kane JS, Mumtaz S, Scarsbrook AF, Chowdhury FU, Ford AC. Prevalence of, and predictors of, bile acid malabsorption in outpatients with chronic diarrhea. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(11):983–538. PMID: 22765392 https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01953.x
10. Rao SSC, Tan G, Abdulla H, Yu S, Larion S, Leelasinjaroen P. Does colectomy predispose to small intestinal bacterial (SIBO) and fungal overgrowth (SIFO)? *Clin Transl Gastroenterol*. 2018;9(4):146. PMID: 29691369 https://doi.org/10.1038/s41424-018-0011-x
11. Cosnes J, Gendre JP, Le Quintrec Y. Role of the Ileocecal valve and site of intestinal resection in malabsorption after extensive small bowel resection. *Digestion*. 1978;18(5–6):329–336. PMID: 750260 https://doi.org/10.1159/000198220
12. Keane C, Wells C, O'Grady G, Bissett IP. Defining low anterior resection syndrome: a systematic review of the literature. *Color Dis*. 2017;19(8):713–722. PMID: 28612460 https://doi.org/10.1111/codi.13767
13. Koda K, Yamazaki M, Shuto K, Kosugi C, Mori M, Narushima K, et al. Etiology and management of low anterior resection syndrome based on the normal defecation mechanism. *Surg Today*. 2019;49(10):803–808. PMID: 30937634 https://doi.org/10.1007/s00595-019-01795-9
14. Ketelaers SHJ, van Heinsbergen M, Orsini RG, Vogelaar FJ, Konsten JLM, Nieuwenhuijzen GAP, et al. Functional Bowel Complaints and the Impact on Quality of Life After Colorectal Cancer Surgery in the Elderly. *Front Oncol*. 2022;12:832377. PMID: 35242714 https//doi.org/10.3389/fonc.2022.832377
15. Silviera ML, Smith BP, Powell J, Sapienza C. Epigenetic differences in normal colon mucosa of cancer patients suggest altered dietary metabolic pathways. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012;5(3):374–384. PMID: 22300984 https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0336
16. Toumi W, Ripalti A, Ricciardiello L, Cherif A, Gargouri D, Bouhafa A, et al. Detection of a new JCV strain of genotype A in a subpopulation of colorectal adenocarcinomas in Tunisia. *New Microbiol*. 2017;40(2):99–106. PMID: 28255604. PMID: 28255604
17. Coelho TR, Gaspar R, Figueiredo P, Mendonça C, Lazo PA, Almeida L. Human JC polyomavirus in normal colorectal mucosa, hyperplastic polyps, sporadic adenomas, and adenocarcinomas in Portugal. *J Med Virol*. 2013;85(12):2119–2127. PMID: 24009184 https://doi.org/10.1002/jmv.23705
18. *Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела*. Клинические рекомендации. 2020. URL: https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-zlokachestvennye-novoobrazovanija-obodochnoi-kishki-i-rektosigmoidnogo-otdela/ [Дата обращения 27.04.2023]
19. Lukina MM, Shimolina LE, Kiselev NM, Zagainov VE, Komarov DV, Zagaynova EV, et al. Interrogation of tumor metabolism in tissue samples ex vivo using fluorescence lifetime imaging of NAD(P)H. *Methods Appl Fluoresc*. 2019;8(1):014002. PMID: 31622964 https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab4ed8
20. Shcheslavskiy VI, Shirmanova MV, Dudenkova VV, Lukyanov KA, Gavrina AI, Shumilova AV, et al. Fluorescence time-resolved macroimaging. *Opt Lett*. 2018;43(13):3152–3155. PMID: 29957804 https://doi.org/10.1364/OL.43.003152
21. Gelikonov VM, Romashov VN, Shabanov DV, Ksenofontov SYu, Terpelov DA, Shilyagin PA, et al. Cross-Polarization Optical Coherence Tomography with Active Maintenance of the Circular Polarization of a Sounding Wave in a Common Path System. *Radiophys Quantum Electronics*. 2018;60:897–911. https://doi.org/ 10.1007/s11141-018-9856-9
22. Moiseev A, Ksenofontov S, Sirotkina M, Kiseleva E, Gorozhantseva M, Shakhova N, et al. Optical coherence tomography-based angiography device with real-time angiography B-scans visualization and hand-held probe for everyday clinical use. *J Biophotonics*. 2018;11(10):e201700292. PMID: 29737042 https://doi.org/10.1002/jbio.201700292
23. Shirmanova MV, Shcheslavskiy VI, Lukina MM, Becker W, Zagaynova EV. Exploring tumor metabolism with time-resolved fluorescence methods: from single cells to a whole tumor. In: Tuchin V, Popp J, Zakharov V. (eds). *Multimodal optical diagnostics of cancer*. Chapter 3. Springer; 2020. p. 133–155. https://doi.org/10.1007/978-3-030-44594-2_3
24. Rück A, Hauser C, Mosch S, Kalinina S. Spectrally resolved fluorescence lifetime imaging to investigate cell metabolism in malignant and nonmalignant oral mucosa cells. *J Biomed Opt*. 2014;19(9):96005. PMID: 25202900 https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.9.096005
25. Liu Z, Pouli D, Alonzo CA, Varone A, Karaliota S, Quinn KP, et al. Mapping metabolic changes by noninvasive, multiparametric, high-resolution imaging using endogenous contrast. *Sci Adv*. 2018;4(3):eaap9302. PMID: 29536043 https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9302
26. Щеславский В.И., Ширманова М.В., Ельцов А., Беккер В. Люминесцентная микроскопия на основе многопараметрического время-коррелированного счета фотонов. *Успехи биологической химии*. 2019;59:103–138.
27. Suarez-Ibarrola R, Braun L, Pohlmann PF, Becker W, Bergmann A, Gratzke C, et al. Metabolic Imaging of Urothelial Carcinoma by Simultaneous Autofluorescence Lifetime Imaging (FLIM) of NAD(P)H and FAD. *Clin Genitourin Cancer*. 2021;19(1):e31–e36. PMID: 32771335 https://doi.org/10.1016/j.clgc.2020.07.005
28. Lukina MM, Shimolina LE, Kiselev NM, Zagainov VE, Komarov DV, Zagaynova EV, et al. Interrogation of tumor metabolism in tissue samples ex vivo using fluorescence lifetime imaging of NAD(P)H. *Methods Appl Fluoresc*. 2019;8(1):014002. PMID: 31622964 https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab4ed8

29. Lukina M, Yashin K, Kiseleva E, Alekseeva A, Dudenkova V, Zagaynova EV, et al. Label-Free Macroscopic Fluorescence Lifetime Imaging of Brain Tumors. *Front Oncol*. 2021;11:666059. PMID: 34109119 https://doi.org/10.3389/fonc.2021.666059
30. Luo T, Lu Y, Liu S, Lin D, Qu J. Phasor-FLIM as a Screening Tool for the Differential Diagnosis of Actinic Keratosis, Bowen's Disease, and Basal Cell Carcinoma. *Anal Chem*. 2017;89(15):8104–8111. PMID: 28661125 https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01681
31. Сивохина Т.А., Золотарева Т.Г., Кожина М.В. Опыт применения препарата Резолор у пациенток, перенесших хирургическое лечение по поводу рака сигмовидной кишки. В сб.: *Новые технологии в онкологии:* сборник материалов науч.-практ. конференции. Самара; 2014. с. 188–189. URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_25358234_95890786.pdf [Дата обращения 27.04.2023]

REFERENCES

1. Palmisano S, Silvestri M, Troian M, Germani P, Giudici F, de Manzini N. Ileocaecal valve syndrome after surgery in adult patients: myth or reality? *Color Dis*. 2017;19(8):288–295. PMID: 28622448 https://doi.org/10.1111/codi.13778
2. Hope C, Reilly J, Lund J, Andreyev H. Systematic review: the effect of right hemicolectomy for cancer on postoperative bowel function. *Support Care Cancer*. 2020; 28(10):4549–4559. PMID: 32430603 https://doi.org/10.1007/s00520-020-05519-5
3. Massironi S, Cavalcoli F, Rausa E, Invernizzi P, Braga M, Vecchi M. Understanding short bowel syndrome: current status and future perspectives. *Dig Liver Dis*. 2020;52(3):253–261. PMID: 31892505. https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.11.013
4. Larsen HM, Borre M, Christensen P, Mohr Drewes A, Laurberg S, Krogh K, Fassov J. Clinical evaluation and treatment of chronic bowel symptoms following cancer in the colon and pelvic organs. *Acta Oncol*. 2019;58(5):776-781. PMID: 30698052 https://doi.org/10.1080/0284186X.2018.1562211
5. Louis M, Johnston SA, Churilov L, Ma R, Christophi C, Weinberg L. Financial burden of postoperative complications following colonic resection: A systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100(27):e26546. PMID: 34232193 https://doi.org/10.1097/MD.0000000000026546
6. Yde J, Larsen HM, Laurberg S, Krogh K, Moeller HB. Chronic diarrhoea following surgery for colon cancer-frequency, causes and treatment options. *Int J Colorectal Dis*. 2018;33(6):683–694. PMID: 29589108 https://doi.org/10.1007/s00384-018-2993-y
7. Zuvarox T, Belletieri C. Malabsorption Syndromes. 2021 Jul 30. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 31971746
8. Vasil'ev SV, Popov DE, Semenov AV. Rannyaya posleoperatsionnaya enteral'naya podderzhka bol'nykh rakom tolstoy kishki. *Koloproktologia*. 2015;S1(51):63–63a.
9. Gracie DJ, Kane JS, Mumtaz S, Scarsbrook AF, Chowdhury FU, Ford AC. Prevalence of, and predictors of, bile acid malabsorption in outpatients with chronic diarrhea. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(11):983–538. PMID: 22765392 https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01953.x
10. Rao SSC, Tan G, Abdulla H, Yu S, Larion S, Leelasinjaroen P. Does colectomy predispose to small intestinal bacterial (SIBO) and fungal overgrowth (SIFO)? *Clin Transl Gastroenterol*. 2018;9(4):146. PMID: 29691369 https://doi.org/10.1038/s41424-018-0011-x
11. Cosnes J, Gendre JP, Le Quintrec Y. Role of the Ileocecal valve and site of intestinal resection in malabsorption after extensive small bowel resection. *Digestion*. 1978;18(5–6):329–336. PMID: 750260 https://doi.org/10.1159/000198220
12. Keane C, Wells C, O'Grady G, Bissett IP. Defining low anterior resection syndrome: a systematic review of the literature. *Color Dis*. 2017;19(8):713–722. PMID: 28612460 https://doi.org/10.1111/codi.13767
13. Koda K, Yamazaki M, Shuto K, Kosugi C, Mori M, Narushima K, et al. Etiology and management of low anterior resection syndrome based on the normal defecation mechanism. *Surg Today*. 2019;49(10):803–808. PMID: 30937634 https://doi.org/10.1007/s00595-019-01795-9
14. Ketelaers SHJ, van Heinsbergen M, Orsini RG, Vogelaar FJ, Konsten JLM, Nieuwenhuijzen GAP, et al. Functional Bowel Complaints and the Impact on Quality of Life After Colorectal Cancer Surgery in the Elderly. *Front Oncol*. 2022;12:832377. PMID: 35242714 https//doi.org/10.3389/fonc.2022.832377
15. Silviera ML, Smith BP, Powell J, Sapienza C. Epigenetic differences in normal colon mucosa of cancer patients suggest altered dietary metabolic pathways. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012;5(3):374–384. PMID: 22300984 https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0336
16. Toumi W, Ripalti A, Ricciardiello L, Cherif A, Gargouri D, Bouhafa A, et al. Detection of a new JCV strain of genotype A in a subpopulation of colorectal adenocarcinomas in Tunisia. *New Microbiol*. 2017;40(2):99–106. PMID: 28255604. PMID: 28255604
17. Coelho TR, Gaspar R, Figueiredo P, Mendonça C, Lazo PA, Almeida L. Human JC polyomavirus in normal colorectal mucosa, hyperplastic polyps, sporadic adenomas, and adenocarcinomas in Portugal. *J Med Virol*. 2013;85(12):2119–2127. PMID: 24009184 https://doi.org/10.1002/jmv.23705
18. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya obodochnoy kishki i rektosigmoidnogo otdela. Klinicheskie rekomendatsii*. 2020. Available at: https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-zlokachestvennye-novoobrazovanija-obodochnoi-kishki-i-rektosigmoidnogo-otdela/ [Accessed Apr 27, 2023]
19. Lukina MM, Shimolina LE, Kiselev NM, Zagainov VE, Komarov DV, Zagaynova EV, et al. Interrogation of tumor metabolism in tissue samples ex vivo using fluorescence lifetime imaging of NAD(P)H. *Methods Appl Fluoresc*. 2019;8(1):014002. PMID: 31622964 https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab4ed8
20. Shcheslavskiy VI, Shirmanova MV, Dudenkova VV, Lukyanov KA, Gavrina AI, Shumilova AV, et al. Fluorescence time-resolved macroimaging. *Opt Lett*. 2018;43(13):3152–3155. PMID: 29957804 https://doi.org/10.1364/OL.43.003152
21. Gelikonov VM, Romashov VN, Shabanov DV, Ksenofontov SYu, Terpelov DA, Shilyagin PA, et al. Cross-Polarization Optical Coherence Tomography with Active Maintenance of the Circular Polarization of a Sounding Wave in a Common Path System. *Radiophys Quantum Electronics*. 2018;60:897–911. https://doi.org/ 10.1007/s11141-018-9856-9
22. Moiseev A, Ksenofontov S, Sirotkina M, Kiseleva E, Gorozhantseva M, Shakhova N, et al. Optical coherence tomography-based angiography device with real-time angiography B-scans visualization and hand-held probe for everyday clinical use. *J Biophotonics*. 2018;11(10):e201700292. PMID: 29737042 https://doi.org/10.1002/jbio.201700292
23. Shirmanova MV, Shcheslavskiy VI, Lukina MM, Becker W, Zagaynova EV. Exploring tumor metabolism with time-resolved fluorescence methods: from single cells to a whole tumor. In: Tuchin V, Popp J, Zakharov V. (eds). *Multimodal optical diagnostics of cancer*. Chapter 3. Springer; 2020. p. 133–155. https://doi.org/10.1007/978-3-030-44594-2_3
24. Rück A, Hauser C, Mosch S, Kalinina S. Spectrally resolved fluorescence lifetime imaging to investigate cell metabolism in malignant and nonmalignant oral mucosa cells. *J Biomed Opt*. 2014;19(9):96005. PMID: 25202900 https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.9.096005
25. Liu Z, Pouli D, Alonzo CA, Varone A, Karaliota S, Quinn KP, et al. Mapping metabolic changes by noninvasive, multiparametric, high-resolution imaging using endogenous contrast. *Sci Adv*. 2018;4(3):eaap9302. PMID: 29536043 https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9302
26. Shcheslavskiy VI, Shirmanova MV, El'tsov A, Bekker V. Lyuminestsentnaya mikroskopiya na osnove mnogoparametricheskogo vremya-korrelirovannogo scheta fotonov. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2019;59:103–138. (In Russ.)
27. Suarez-Ibarrola R, Braun L, Pohlmann PF, Becker W, Bergmann A, Gratzke C, et al. Metabolic Imaging of Urothelial Carcinoma by Simultaneous Autofluorescence Lifetime Imaging (FLIM) of NAD(P)H and FAD. *Clin Genitourin Cancer*. 2021;19(1):e31–e36. PMID: 32771335 https://doi.org/10.1016/j.clgc.2020.07.005
28. Lukina MM, Shimolina LE, Kiselev NM, Zagainov VE, Komarov DV, Zagaynova EV, et al. Interrogation of tumor metabolism in tissue samples ex vivo using fluorescence lifetime imaging of NAD(P)H. *Methods Appl Fluoresc*. 2019;8(1):014002. PMID: 31622964 https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab4ed8
29. Lukina M, Yashin K, Kiseleva E, Alekseeva A, Dudenkova V, Zagaynova EV, et al. Label-Free Macroscopic Fluorescence Lifetime Imaging of Brain Tumors. *Front Oncol*. 2021;11:666059. PMID: 34109119 https://doi.org/10.3389/fonc.2021.666059
30. Luo T, Lu Y, Liu S, Lin D, Qu J. Phasor-FLIM as a Screening Tool for the Differential Diagnosis of Actinic Keratosis, Bowen's Disease, and Basal Cell Carcinoma. *Anal Chem*. 2017;89(15):8104–8111. PMID: 28661125 https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01681
31. Sivokhina TA, Zolotareva TG, Kozhina MV. Opyt primeneniya preparata Rezolor u patsientok, perenesshikh khirurgicheskoe lechenie po povodu raka sigmovidnoy kishki. In: *Novye tekhnologii v onkologii: sbornik materialov nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Samara; 2014: 188–189. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_25358234_95890786.pdf [Accessed Apr 27, 2023]

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Багрянцев Максим Владимирович — кандидат медицинских наук, врач-хирург ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.А. Семашко»;
https://orcid.org/0000-0003-2230-9431, maks-bagryancev@mail.ru;
15%: дизайн исследования, организация и проведение исследования, оперативные вмешательства в клинике, формирование образцов ткани, анализ результатов, написание и редактирование статьи

Рябков Максим Георгиевич — доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник Университетской клиники, ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
https://orcid.org/0000-0002-9555-190X, maxim-ryabkov@yandex.ru;
13%: общее руководство, анализ результатов, статистическая обработка данных, окончательное утверждение рукописи

Бедерина Евгения Львовна — врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
genacrok@gmail.com;
12%: гистологическое исследование образцов

Логинова Мария Максимовна — младший научный сотрудник лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
http://orcid.org/0000-0002-5158-7089, marialoginova96@yandex.ru;
11%: сбор данных, интерпретация результатов

Базаев Андрей Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей, оперативной хирургии и топографической анатомии, ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
https://orcid.org/0000-0001-9690-4191, bazaewandrei@yandex.ru;
10%: анализ результатов, редактирование статьи

Абелевич Александр Исакович — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей, оперативной хирургии и топографической анатомии, ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
https://orcid.org/0000-0001-6015-4974, aabelevich@yandex.ru;
9%: проведение эксперимента, сбор данных, интерпретация результатов, редактирование статьи, оперативные вмешательства, формирование образцов ткани

Дезорцев Илья Львович — кандидат медицинских наук, главный внештатный колопроктолог Минздрава Нижегородской области, заведующий отделением колопроктологии и отделением абдоминальной онкологии ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.А. Семашко»;
https://orcid.org/0000-0003-3855-8686, dezortsev-il@yandex.ru;
8%: проведение эксперимента, оперативные вмешательства, формирование образцов ткани

Бунова Светлана Сергеевна — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры семейной медицины, ФГАОУ ВО БелГУ;
https://orcid.org/0000-0001-8430-6215, ssbunova@mail.ru;
7%: анализ результатов, редактирование статьи

Ширманова Марина Вадимовна — кандидат биологических наук, заместитель директора по науке, заведующая лабораторией индивидуальной химиотерапии рака НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
https://orcid.org/0000-0002-3207-7227, shirmanovam@mail.ru;
6%: сбор данных, интерпретация результатов

Щеславский Владислав Игоревич — заведующий лабораторией оптической спектроскопии и микроскопии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
http://orcid.org/0000-0003-3253-8211, vis@becker-hickl.de;
5%: сбор данных, интерпретация результатов

Киселева Елена Борисовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО ПИМУ МЗ РФ;
http://orcid.org/0000-0003-4769-417X, kiseleva84@gmail.com;
4%: сбор данных, интерпретация результатов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Metabolism and Microstructure of the Small Intestine Wall in Patients With Colorectal Cancer

M.V. Bagryantsev[1] ✉, M.G. Ryabkov[2], E.L. Bederina[2], M.M. Loginova[2], A.V. Bazayev[2], A.I. Abelevich[2], I.L. Dezortsev[1], S.S. Bunova[3], M.V. Shirmanova[2], V.I. Shcheslavskiy[2], E.B. Kiseleva[2]

Department of General, Operative Surgery and Topographic Anatomy
[1] N.A. Semashko Nizhegorodsky Regional Clinical Hospital
190, Rodionova Str., Nizhny Novgorod, 603126, Russian Federation
[2] Privolzhsky Research Medical University
10/1, Minin and Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation
[3] Belgorod State National Research University
85, Pobedi St., Belgorod, 308015, Russian Federation

✉ **Contacts:** Maxim V. Bagryantsev, Surgeon, Candidate of Medical Sciences, N.A. Semashko Nizhegorodsky Regional Clinical Hospital. Email: maks-bagryancev@mail.ru

RELEVANCE In patients with colorectal cancer (CRC), the normal small intestine, located outside the pathological focus, undergoes changes that may be the cause of digestive dysfunction after radical surgery to remove the tumor.

The assessment of metabolic and microstructural changes in the ileum mucosa in patients with colorectal cancer is necessary to correct the algorithms of postoperative therapy and enteral nutrition. Modern means of optical bioimaging are potentially capable of solving this complex diagnostic problem.

AIM OF STUDY To study the features of metabolism and morphological structure of the wall of a conditionally normal small intestine in the mucosa in patients with stage 1–3 CRC using macro- FLIM and optical coherence tomography (OCT).

MATERIAL AND METHODS The object of the study was the wall of the ileum (66 samples) from the mucosal side of patients with histologically confirmed CRC stages 1–3 with tumor location in the right sections of the colon. Eight samples were obtained from patients with stage 1 CRC, 38 samples were obtained from patients with stage 2 and 20 samples were obtained from patients with stage 3 tumor. The volume of surgical intervention is right-sided hemicolectomy with total mesocolonectomy, CME (D2 lymph node dissection). Fresh tissue samples were examined using fluorescent lifetime macroimaging (macro-FLIM) and OCT, followed by histological analysis of the material.

RESULTS According to a histological study in the small intestine of patients with stage 1 CRC, the mucosa is covered with a normal single-layer prismatic border epithelium. In the intestine samples of patients with stage 2 CRC, mucus hypersecretion with areas of fibrosis and vascular congestion was observed. At the 3rd stage of CRC, the mucous membrane of the small intestine was loose, with local thickenings, areas of fibrosis with severe leukostasis, and foci of atrophy. None of the samples showed histological signs of a malignant tumor.

According to OCT data, in the mucous membrane of the small intestine in patients with the 1st and 2nd stages of CRC, the contours of the villi and, partially, the crypts were well visualized. The structure of the villi was smooth, not coarse, and the shape was regular. In patients with stage 3 CRC, the contours of the crypts and villi were indistinct. There were no differences in the OCT picture between histologic preparations in the 1st and 2nd stages of CRC: the structure of the villi of the small intestine was clear, the shape was unchanged. According to FLIM data, statistically significant differences were revealed in the mean fluorescence lifetime values of reduced nicotinamide dinucleotide (phosphate) NAD(P)H (τ_m) between 2nd and 3rd (p=0.031), 1st and 3rd (p=0.018) by CRC stages. At the 1st stage of CRC τ_m was 1.61 [1.30; 2.02] ns, at the 2nd stage 1.50 [1.36; 1.73] ns, at the 3rd stage 1.37 [1.22; 1.51] ns. The FLIM results suggest an increase in the role of glycolysis in enterocyte energy metabolism along with progression of the CRC stage.

CONCLUSION In patients with cancer of the right colon, lesions of the microstructure of the mucous membrane were revealed in the ileum not affected by the malignancy. At the same time, the severity of microstructural disorders in the wall of the small intestine is associated with the stage of tumor development in the colon. Bioimaging technologies, namely, methods of optical coherence tomography and fluorescence lifetime macroimaging, made it possible to objectively display microstructural and metabolic disorders in the ileum wall. The data of optical colorectal tomography demonstrated differences in the structural picture of the intestinal villi in patients with stages 1–2 and 3 of colorectal cancer. Results of fluorescence lifetime macroimaging of the metabolic cofactor nicotinamide dinucleotide (phosphate) confirmed an increase in the role of glycolysis in the energy metabolism of enterocytes along with an increase in the stage of colorectal cancer. The identified disorders in the state of the small intestine develop in patients with colorectal cancer before surgery and are highly likely to be an important pathogenetic link of malabsorption in the postoperative period. If the hypothesis is confirmed, the developed algorithm for the complex diagnosis of microstructural and metabolic disorders in tissues will expand the possibilities for the rehabilitation of patients with cancer of the right colon.

Keywords: ileum, fluorescent lifetime imaging FLIM, optical coherence tomography OCT, metabolism, colorectal cancer, malabsorption

For citation Bagryantsev MV, Ryabkov MG, Bederina EL, Loginova MM, Bazayev AV, Abelevich AI, et al. Metabolism and Microstructure of the Small Intestine Wall in Patients With Colorectal Cancer. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care.* 2023;12(2):239–249. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2023-12-2-239-249 (in Russ.)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments, sponsorship This work was supported by the Russian Science Foundation grant no. 19-75-10096

Affiliations

Maksim V. Bagryantsev	Candidate of Medical Sciences, Surgeon, N.A. Semashko Nizhegorodsky Regional Clinical Hospital; https://orcid.org/0000-0003-2230-9431, maks-bagryancev@mail.ru; 15%, study design, organization and conduct of the study, surgical interventions in the clinic, formation of tissue samples, analysis of the results, writing and editing the article
Maksim G. Ryabkov	Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher, University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-9555-190X, maxim-ryabkov@yandex.ru; 13%, general management, analysis of results, statistical processing of data, final approval of the manuscript
Evgenia L. Bederina	Pathologist of the Pathoanatomical Department of the Privolzhsky Research Medical University; genacrok@gmail.com; 12%, histologic examination of specimens
Maria M. Loginova	Junior Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky Research Medical University; http://orcid.org/0000-0002-5158-7089, marialoginova96@yandex.ru; 11%, data collection, interpretation of results
Andrey V. Bazayev	Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of General, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0001-9690-4191, bazaewandrei@yandex.ru; 10%, analysis of the results, editing the article

Aleksandr I. Abelevich	Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of General, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0001-6015-4974, aabelevich@yandex.ru; 9%, conducting the experiment, collecting data, interpreting the results, editing the article, surgical interventions, forming tissue samples
Ilya L. Dezortsev	Candidate of Medical Sciences, Chief Freelance Coloproctologist of the Ministry of Health of the Nizhny Novgorod Region, Head of the Department of Coloproctology and the Department of Abdominal Oncology, N.A. Semashko Nizhegorodsky Regional Clinical Hospital; https://orcid.org/0000-0003-3855-8686, dezortsev-il@yandex.ru; 8%, conducting an experiment, surgical interventions, forming tissue samples
Svetlana S. Bunova	Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Family Medicine, Belgorod State National Research University; https://orcid.org/0000-0001-8430-6215, ssbunova@mail.ru; 7%, analysis of the results, editing the article
Marina V. Shirmanova	Candidate of Biological Sciences, Deputy Director for Science, Head of the Laboratory for Individual Cancer Chemotherapy, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky Research Medical University; https://orcid.org/0000-0002-3207-7227, shirmanovam@mail.ru; 6%, data collection, interpretation of results
Vladislav I. Shcheslavskiy	Head of the Laboratory of Optical Spectroscopy and Microscopy, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky Research Medical University; http://orcid.org/0000-0003-3253-8211, vis@becker-hickl.de; 5%, data collection, interpretation of results
Elena B. Kiseleva	Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky Research Medical University; http://orcid.org/0000-0003-4769-417X, kiseleva84@gmail.com; 4%, data collection, interpretation of results

Received on 01.09.2022
Review completed on 22.03.2023
Accepted on 28.03.2023

Поступила в редакцию 01.09.2022
Рецензирование завершено 22.03.2023
Принята к печати 28.03.2023