

BIOMEDICAL

PHOTONICS

Том 5, № 3, 2016

В НОМЕРЕ:

- Изучение механизмов фотоиндуцированной гибели на модели клеток меланомы кожи
- Интраоперационная флуоресцентная диагностика перитонеальной диссеминации у больных раком желудка
- Сравнительные исследования эффективности фотодинамической терапии и криодеструкции в лечении актинического кератоза
- Методы фотоники для оценки качества приживления кожных трансплантатов
- Многокурсовая фотодинамическая терапия веррукозной формы лейкоплакии слизистой оболочки тела языка

BMP



ООО "МедТехКонсалт"

Россия, г. Москва, Неманский проезд, д. 1/1, офис 129

Телефон: +7 (495) 757-44-48

E-mail: medkonsult@mail.ru

www.medtks.ru

Аппарат лазерной абляции Echolaser x4

Область применения

Echolaser применяется при лечении первичных и вторичных доброкачественных и злокачественных новообразований щитовидной железы, печени, метастазов шейных лимфоузлов, молочной железы, простаты и поджелудочной железы

Особенности:

- Малоинвазивный метод
- Излучение генерируется диодным лазером с длиной волны 1064 нм
- Количество источников излучения: 4 независимых по активации
- Возможность одновременного использования до 4х световодов
- Максимальная мощность на каждый канал: 7 Вт
- Диаметр световода: 300 мкм
- Панель управления с сенсорным экраном



Контроль формы коагуляционного некроза

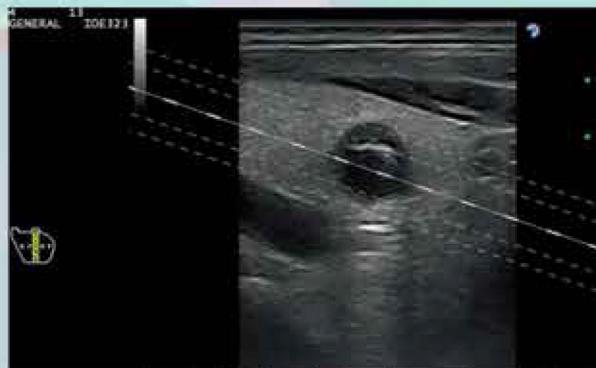
- Адаптация формы и объема коагуляционного некроза к параметрам опухоли
- Осторожное и тонкое воздействие на отделы и критические области органов
- Повторяемость и предсказуемость термального воздействия

Ультразвуковой мониторинг лечения

Ультразвуковой контроль позволяет в режиме реального времени наблюдать за позиционированием иглы, что облегчает процедуру её введения и позволяет повысить точность попадания в область воздействия

Диагностика и терапия в одном устройстве

Система Echolaser состоит из: генератора лазерного излучения, ультразвуковой системы с датчиками, программного обеспечения, набора для чрескожной абляции



BIOMEDICAL PHOTONICS

BIOMEDICAL PHOTONICS –

научно-практический, рецензируемый,
мультидисциплинарный журнал.
Выходит 4 раза в год.
Тираж – 1000 экз., ежеквартально.

Издательство «Агентство МОРЕ».

Адрес издательства: Москва,
Хохловский пер., д. 9

Редакция:

Зав. редакцией	Иванова-Радкевич В.И.
Научный редактор	проф. Мамонтов А.С.
Литературный редактор	Моисеева Р.Н.
Переводчик	Урлова А.Н.
Компьютерный дизайн	Кренева Е.И.
Компьютерная верстка	Шалимова Н.М.

Адрес редакции:

Россия, Москва, 2-й Боткинский пр., д. 3
Тел. 8 (495) 945-86-60
www: PDT-journal.com
E-mail: PDT-journal@mail.ru

Адрес для корреспонденции:

125284, Москва, а/я 13

Свидетельство о регистрации ПИ
№ ФС 77-51995, выдано 29.11.2012
Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Индекс по каталогу агентства

«Роспечать» – 70249

Редакция не несет ответственности за
содержание рекламных материалов.

В статьях представлена точка зрения авторов,
которая может не совпадать с мнением
редакции журнала.

К публикации принимаются только статьи,
подготовленные в соответствии с правилами
для авторов.

Полное или частичное воспроизведение
материалов, опубликованных в журнале,
допускается только с письменного
разрешения редакции.

УЧРЕДИТЕЛИ:

Национальная Фотодинамическая Ассоциация
Московский научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Филоненко Е.В., доктор медицинских наук, профессор, руководитель
Центра лазерной и фотодинамической диагностики и терапии опухолей
Московского научно-исследовательского онкологического института
им. П.А. Герцена (Москва, Россия)

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Грин М.А., доктор химических наук, профессор, заведующий
кафедрой химии и технологии биологически активных соединений
им. Н.А. Преображенского Московского технологического университета
(Москва, Россия)

Лощенов В.Б., доктор физико-математических наук, профессор,
заведующий лабораторией лазерной биоспектроскопии в Центре
естественно-научных исследований Института общей физики
им. А.М. Прохорова РАН (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Каплан М.А., доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела
фотодинамической диагностики и терапии Медицинского радиологического
научного центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия)

Каприн А.Д., чл.-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор,
генеральный директор Национального медицинского исследовательского
радиологического центра Минздрава России (Москва, Россия)

Лукьянец Е.А., доктор химических наук, профессор, заведующий
лабораторией Государственного научного центра «Научно-
исследовательский институт органических полупродуктов и красителей»,
(Москва, Россия)

Мионов А.Ф., доктор химических наук, профессор кафедры химии
и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского
Московского технологического университета (Москва, Россия)

Пономарев Г.В., доктор химических наук, профессор, главный научный
сотрудник Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН
(Москва, Россия)

Романко Ю.С., доктор медицинских наук, профессор, руководитель
научно-организационного отдела Медицинского радиологического научного
центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия)

Странадко Е.Ф., доктор медицинских наук, профессор, руководитель
отделения лазерной онкологии и сосудистой терапии Государственного
научного центра лазерной медицины Минздрава России (Москва, Россия)

Якубовская Р.И., доктор биологических наук, профессор, руководитель
отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии
Московского научно-исследовательского онкологического института
им. П.А. Герцена (Москва, Россия)

Истомин Ю.П., доктор медицинских наук, профессор, заведующий
лабораторией фотодинамической терапии и гипертермии с группой
химиотерапии Республиканского научно-практического центра онкологии
и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (Минск, Республика
Беларусь)

Bolotine L., профессор научно-исследовательского центра автоматизации
и управления Нанси (Нанси, Франция)

Douplik A., профессор Университета Райерсона (Торонто, Канада)

Steiner R., профессор, почетный директор Института лазерных технологий
в медицине и измерительной технике Университета Ульма (Ульм, Германия)

BIOMEDICAL PHOTONICS

FOUNDERS:

National Photodynamic Association
P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute

EDITOR-IN-CHIEF:

Filonenko E.V., Dr. Sci. (Med.), professor, head of the Centre of laser and photodynamic diagnosis and therapy of tumors in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR:

Grin M.A., Dr. Sci. (Chem.), professor, chief of department of Chemistry and technology of biological active substances named after Preobragenskiy N.A. in Moscow Technological University (Moscow, Russia)

Loschenov V.B., Dr. Sci. (Phys and Math), professor, chief of laboratory of laser biospectroscopy in the Natural Sciences Center of General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD:

Kaplan M.A., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of photodynamic diagnosis and therapy in A.F. Tsyb «Medical Radiological Research Center» (Obninsk, Russia)

Kaprin A.D., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), professor, general director of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Lukyanets E.A., Dr. Sci. (Chem.), professor, chief of laboratory in State Research Center «Research Institute of Organic Intermediates and Dyes» (Moscow, Russia)

Mironov A.F., Dr. Sci. (Chem.), professor of department of Chemistry and technology of biological active substances named after Preobragenskiy N.A. in Moscow Technological University (Moscow, Russia)

Ponomarev G.V., Dr. Sci. (Chem.), professor, principal researcher in the V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry (IBMC) of RAS (Moscow, Russia)

Romanko Yu.S., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of scientific organizational in A.F. Tsyb «Medical Radiological Research Center» (Obninsk, Russia)

Stranadko E.F., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of laser oncology and vascular therapy in State research centre of laser medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Yakubovskaya R.I., Dr. Sci. (Biol.), professor, chief of department of modifiers and protectors for cancer therapy in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute (Moscow, Russia)

Istomin Yu.P., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of laboratory of photodynamic therapy and hyperthermia with group of chemotherapy in N.N. Aleksandrov Republican Scientific and Practical Centre of Oncology and Radiology» (Minsk, Belarus)

Bolotine L., PhD, professor of Research Center for Automatic Control of Nancy (Nancy, France)

Douplik A., PhD, professor in Ryerson University (Toronto, Canada)

Steiner R., PhD, professor, the honorary director of Institute of Laser Technologies in Medicine and Metrology at Ulm University (Ulm, Germany)

BIOMEDICAL PHOTONICS –

research and practice, peer-reviewed, multidisciplinary journal.

The journal is issued 4 times per year.

The circulation – 1000 copies., on a quarterly basis.

The publisher «Agentstvo MORE».

The Address of Publisher:

Moscow, Khokhlovskiy lane., 9

Editorial staff:

Chief of the editorial staff	Ivanova-Radkevich V.I.
Science editor professor	Mamontov A.S.
Literary editor	Moiseeva R.N.
Translator	Urlova A.N.
Computer design	Krenea E.I.
Desktop publishing	Shalimova N.M.

The Address of Editorial Office:

Russia, Moscow, 2nd Botkinskiy proezd, 3

Tel. 8 (495) 945-86-60

www: PDT-journal.com

E-mail: PDT-journal@mail.ru

Corresponding to:

125284, Moscow, p/o box 13

Registration certificate ПИ № ФС 77-51995, issued on 29.11.2012 by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media of Russia

The subscription index

of «Rospechat» agency – 70249

The editorial staff is not responsible for the content of promotional material. Articles represent the authors' point of view, which may be not consistent with view of the journal's editorial board. Editorial Board admits for publication only the articles prepared in strict accordance with guidelines for authors. Whole or partial presentation of the material published in the Journal is acceptable only with written permission of the Editorial board.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Изучение механизмов фотоиндуцированной гибели на модели клеток меланомы кожи

М.Л. Гельфонд, И.А. Балдуева, А.С. Барчук, Г.И. Гафтон, В.В. Анисимов, Ю.В. Семилетова, А.В. Новик, М.Ю. Мяснянкин, Т.Л. Нехаева, А.Б. Данилова, Е.В. Воробейчиков, А.И. Вааль, И.Г. Гафтон 4

Интраоперационная флуоресцентная диагностика перитонеальной диссеминации у больных раком желудка

Э.А. Сулейманов, А.Д. Каприн, Е.В. Филоненко, В.М. Хомяков, Н.А. Гришин, Л.И. Москвичева, А.Н. Урлова 9

Сравнительные исследования эффективности фотодинамической терапии и криодеструкции в лечении актинического кератоза

Т.Е. Сухова, К.А. Чанглян, А.В. Молочков, В.А. Молочков, С.В. Коренев, Ж.С. Кунцевич, Ю.В. Молочкова, В.Н. Галкин, Ю.С. Романко 19

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Методы фотоники для оценки качества приживления кожных трансплантатов

В.И. Макаров, Е.В. Ахлюстина, Д.С. Фаррахова, Д.В. Поминова, А.В. Рябова, В.Б. Лощенов 30

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Многокурсовая фотодинамическая терапия веррукозной формы лейкоплакии слизистой оболочки тела языка

Ю.П. Истомин, Т.П. Артемьева, Д.А. Церковский 41

ЮБИЛЕИ

Профессору Соколову Виктору Викторовичу – 70 лет 43

Профессору Акопову Андрею Леонидовичу – 50 лет 44

ORIGINAL ARTICLES

The study of mechanisms of photoinduced apoptosis in the skin malignant melanoma cell model

Gelfond M.L., Baldueva I.A., Barchuk A.S., Gafton G.I., Anisimov V.V., Semiletova Yu.V., Novik A.V., Myasnyankin M.Yu., Nekhaeva T.L., Danilova A.B., Vorobeychikov E.V., Vaalj A.I., Gafton I.G. 4

Intraoperative fluorescence diagnosis of peritoneal dissemination in patients with gastric cancer

Suleymanov E.A., Kaprin A.D., Filonenko E.V., Homyakov V.M., Grishin N.A., Moskvicheva L.I., Urlova A.N. 9

Comparative studies of efficacy of photodynamic therapy and cryotherapy for treatment of actinic keratosis

Sukhova T.E., Changlyan K.A., Molochkov A.V., Molochkov V.A., Korenev S.V., Kuntcevic Zh.S., Molochkova Yu.V., Galkin V.N., Romanko Yu.S. 19

REVIEWS OF LITERATURE

Photonic methods for quality evaluation of skin engraftment

Makarov V.I., Akhlyustina E.V., Farrakhova D.S., Pominova D.V., Ryabova A.V., Loschenov V.B. 30

CASE REPORTS

Multiplecourse photodynamic therapy for verrucous leukoplakia of mucous membrane of body of the tongue

Istomin Yu.P., Artemyeva T.P., Tzerkovsky D.A. 41

ANNIVERSARIES

Professor Sokolov Viktor Viktorovich – 70 y.o. 43

Professor Akopov Andrey Leonidovich – 50 y.o. 44

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ГИБЕЛИ НА МОДЕЛИ КЛЕТКИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

М.Л. Гельфонд^{1,2}, И.А. Балдуева^{1,2}, А.С. Барчук^{1,2}, Г.И. Гафтон^{1,3}, В.В. Анисимов¹,
Ю.В. Семилетова^{1,2}, А.В. Новик¹, М.Ю. Мяснянкин², Т.Л. Нехаева¹, А.Б. Данилова¹,
Е.В. Воробейчиков¹, А.И. Вааль¹, И.Г. Гафтон¹

¹Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия

²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

В статье представлены результаты экспериментального исследования иммунного ответа клеток меланомы кожи человека Mel 226 на фотодинамическое воздействие. Изучен фотоиндуцированный апоптоз клеток меланомы кожи *in vitro*. Исследования показали, что облучение с препаратом фотодитазин в концентрациях 0,5–2,5 мкг/мл (экспозиция в течение 6 и 10 мин за 30 мин до облучения; параметры облучения: длина волны 662 нм, суммарная доза облучения от 40 до 60 Дж/см²) индуцирует ранний апоптоз. Увеличение времени лазерного облучения достоверно ускоряет переход фотосенсибилизированных опухолевых клеток из ранней фазы апоптоза в позднюю.

Ключевые слова: меланома кожи человека, апоптоз, иммунный ответ, апоптотический индекс, фотодинамическое воздействие, фотодитазин.

Для цитирования: Гельфонд М.Л., Балдуева И.А., Барчук А.С., Гафтон Г.И., Анисимов В.В., Семилетова Ю.В., Новик А.В., Мяснянкин М.Ю., Нехаева Т.Л., Данилова А.Б., Воробейчиков Е.В., Вааль А.И., Гафтон И.Г. Изучение механизмов фотоиндуцированной гибели на модели клеток меланомы кожи // *Biomedical Photonics*. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 4–8.

Контакты: Гельфонд М.Л., e-mail: mark.gelfond@gmail.com

THE STUDY OF MECHANISMS OF PHOTOINDUCED APOPTOSIS IN THE SKIN MALIGNANT MELANOMA CELL MODEL

Gelfond M.L.^{1,2}, Baldueva I.A.^{1,2}, Barchuk A.S.^{1,2}, Gafton G.I.^{1,3}, Anisimov V.V.¹,
Semiletova Yu.V.^{1,2}, Novik A.V.¹, Myasnyankin M.Yu.², Nekhaeva T.L.¹, Danilova A.B.¹,
Vorobeychikov E.V.¹, Vaalj A.I.¹, Gafton I.G.¹

¹Federal State Institution N.N.Petrov Research Institute of Oncology of Federal Agency of High Technology Medical Assistance, Saint-Petersburg, Russia

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

The results of the experimental study of immune response of human skin malignant melanoma cells Mel 226 on photodynamic exposure are represented in the article. Photoinduced apoptosis of skin malignant melanoma was studied *in vitro*. The study showed that irradiation with the agent fotoditazin at dose of 0.5–2.5 µg/ml (6 and 10 min exposure 30 min before irradiation; irradiation parameters: wavelength of 662 nm, total light dose from 40 to 60 J/cm²) induced early apoptosis. The increase of the time of laser irradiation significantly accelerates the conversion of photosensitized tumor cells from early to late apoptosis.

Key words: human skin malignant melanoma, apoptosis, immune response, apoptotic index, photodynamic exposure, fotoditazin.

For citations: Gelfond M.L., Baldueva I.A., Barchuk A.S., Gafton G.I., Anisimov V.V., Semiletova Yu.V., Novik A.V., Myasnyankin M.Yu., Nekhaeva T.L., Danilova A.B., Vorobeychikov E.V., Vaalj A.I., Gafton I.G. The study of mechanisms of photoinduced apoptosis in the skin malignant melanoma cell model, *Biomedical Photonics*, 2016, T. 5, No. 3, pp. 4–8 (in Russian).

Contacts: Gelfond M.L., e-mail: mark.gelfond@gmail.com

Введение

Меланома кожи на сегодняшний день представляет собой чрезвычайно актуальную проблему. Заболеваемость этой формой злокачественной опухоли составляет 5,65 случаев на 100 тыс. населения, занимая по темпам прироста в Российской Федерации третье место. Среди пациентов в возрасте 20-25 лет эта нозологическая форма является четвертой по удельному весу среди всей онкопатологии [1,2].

Ежегодно 56,7% больных меланомой кожи получают лечение по поводу местно-распространенного опухолевого процесса. Большинство из них в дальнейшем умирает от прогрессирования заболевания. Пятилетняя выживаемость составляет 35% у мужчин и 53% у женщин [3]. Столь низкие показатели эффективности лечения при меланоме кожи связаны с высоким риском развития микрометастазов еще до хирургического лечения.

Теоретические предпосылки и практический опыт последних лет делают перспективным использование у данных больных фотодинамической терапии (ФДТ), что делает необходимым и целесообразным доклиническое изучение механизмов фотодинамического воздействия при лечении меланомы.

Предпосылкой к этой работе стали недавние исследования, показавшие, что такие инициированные фотодинамической терапией процессы, как апоптоз опухолевых клеток, развитие острой воспалительной реакции и распознавание CD8⁺ Т-лимфоцитами MHC I* рестриктированных эпитопов опухолеассоциированных антигенов могут стать «пусковым» механизмом в активации противоопухолевого иммунного ответа [4-9]. Кроме того, ФДТ обладает прямым цитотоксическим эффектом. Погибшие опухолевые клетки фагоцитируются, процессируются и презентуются макрофагами и дендритными клетками «наивным» Т-лимфоцитам в лимфатических узлах [10,11].

Задачей исследования являлось изучение *in vitro* фотоиндуцированного апоптоза клеток меланомы кожи человека под влиянием ФДТ.

Материал и методы

Для опытов *in vitro* использовали клеточную линию меланомы кожи человека (Mel 226), полученную в лаборатории клеточных технологий отделения химиотерапии и инновационных клеточных технологий и депонированную в Российском Банке клеточных линий позвоночных. Фотосенсибилизатор фотодитазин (ООО «БЕТА-ГРАНД», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС 001246 от 18.05.2012) добавляли в культуральную среду в разных концентрациях: 1) 0,5 мкг/мл; 2) 1 мкг/мл (эквивалент дозе 1 мг/кг, рекомендованной в инструкции по медицинскому применению фотодитазина); 3) 2,5 мкг/мл. Через 30 мин проводили облучение культуры клеток лазерным излучением с длиной волны 662 нм с экспозицией на чашку Петри 6 и 10 мин. Суммарная доза облучения составила от 40 до 60 Дж/см². Анализ эффекта проводили через 1 и 4 ч после фотодинамического воздействия. Для этого к полученной суспензии клеток (1×10⁶/мл) добавляли аннексин V-FITC (Annexin V-FITC), FITC (Fluorescein Isothiocyanate) («BD», США) и пропидиум йодид (PI (Propidium Iodide) («BD», США), затем инкубировали 15 мин в темноте при комнатной температуре. Подсчет клеток проводили с использованием флуоресцентного микроскопа («Carl Zeiss», Германия). Уровень апоптоза оценивали по апоптотическому индексу (АИ). Данный параметр отражает относительное число клеток с характерными морфологическими или биохимическими признаками апоптоза и определяется по следующей формуле:

$$АИ = \frac{\text{Количество апоптотических клеток}}{\text{Общее кол-во клеток}} \times 100\%$$

АИ учитывали отдельно для всех анализируемых клеток:

- клетки с зеленым окрашиванием, находящиеся на стадии раннего апоптоза (Annexin+; PI-), (рис. 1а);
- клетки с двойным окрашиванием (Annexin+; PI+) – на стадии позднего апоптоза (рис. 1б).

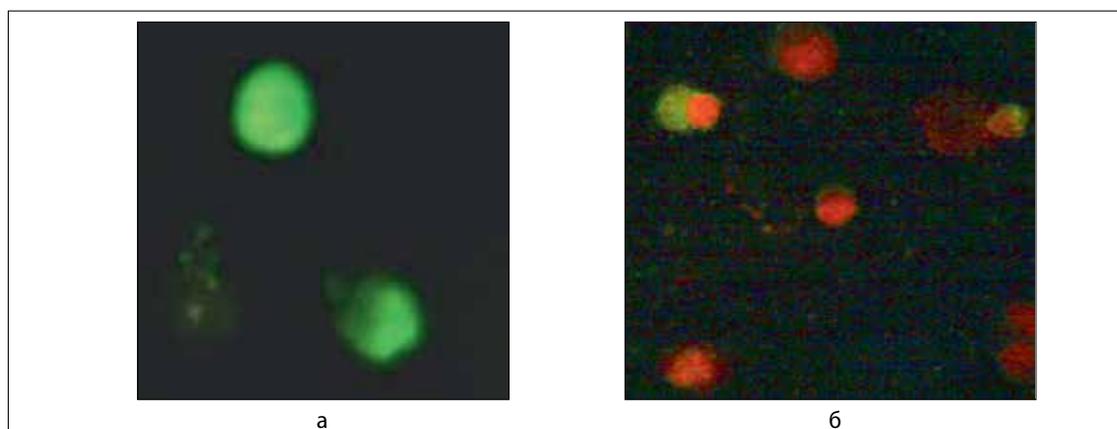


Рис. 1. Клетки меланомы кожи человека: а – на стадии раннего апоптоза; б – на стадии позднего апоптоза
Fig. 1. Human skin malignant melanoma: a – in early apoptosis; b – in late apoptosis

Результаты

Результаты подсчета АИ для клеток через 1 и 4 ч после ФДТ представлены на рис. 2 и рис. 3, соответственно.

Как видно на представленных рисунках, все изученные концентрации фотосенсибилизатора (0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл и 2,5 мкг/мл) обладают сопоставимой способностью индуцировать ранний апоптоз. При увеличении времени лазерного облучения происходит более быстрый переход фотосенсибилизированных опухолевых клеток в позднюю фазу апоптоза ($p < 0,05$).

Обсуждение

Механизмы клеточной смерти после ФДТ

Противоопухолевый эффект ФДТ обусловлен тремя взаимосвязанными процессами: прямой гибелью опухолевых клеток, повреждением сосудов и активацией неспецифического иммунного ответа [13-15].

В то время как их общий вклад в результат лечения хорошо известен, относительную значимость каждого из этих механизмов определить трудно. Манипулируя дозой света, временем облучения после введения фотосенсибилизатора или комбинацией этих факторов можно оценить роль каждого процесса в общем ответе на фотодинамическое действие.

Большинство экспериментальных данных свидетельствует о том, что при оптимальных режимах ФДТ (достаточная концентрация ФС и уровень освещенности) опухолевые клетки некротизируются. Факторы, способствующие некрозу, включают экстрамитохондриальную локализацию фотосенсибилизатора, высокие дозы света, гипогликемию [16-19]. Кроме того, на форму гибели клетки после ФДТ может влиять ее генотип [20].

При глубокой локализации опухоли в тканях (с освещением субоптимальными дозами света в начале сеанса) эффективность ФДТ может снижаться. При

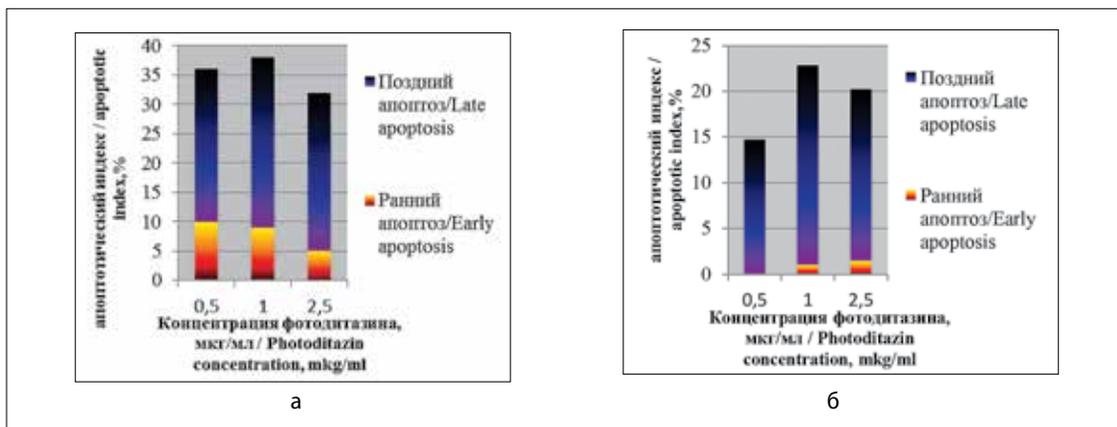


Рис. 2. Апоптотический индекс через 1 ч после ФДТ при раннем и позднем апоптозе: а – экспозиция 6 мин; б – экспозиция 10 мин

Fig. 2. Apoptotic index 1 h after PDT for early and late apoptosis: а – 6 min exposure; б – 10 min exposure

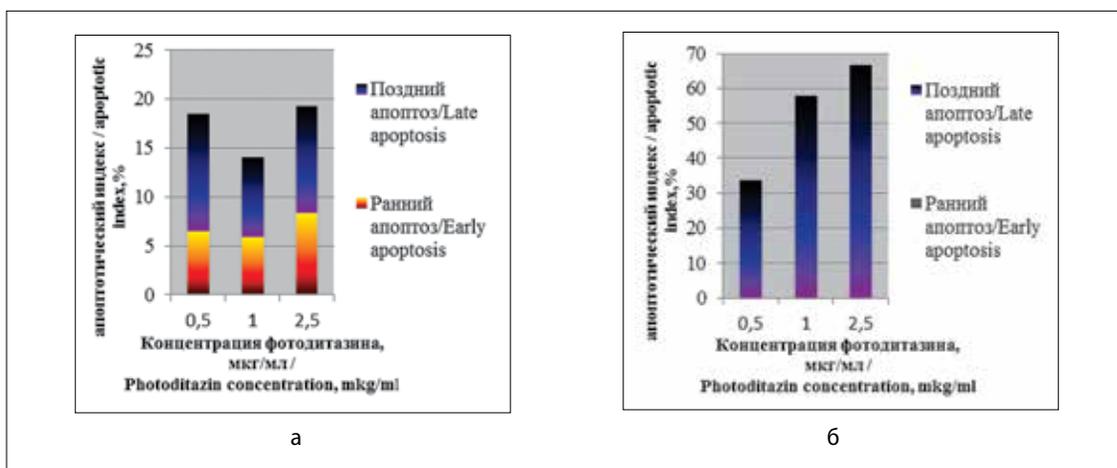


Рис. 3. Апоптотический индекс через 4 ч после ФДТ при раннем и позднем апоптозе: а – экспозиция 6 мин; б – экспозиция 10 мин

Fig. 3. Apoptotic index 4 h after PDT for early and late apoptosis: а – 6 min exposure; б – 10 min exposure

этом клетки опухоли способны противостоять этим воздействиям и восстанавливать повреждения. Если им удастся это сделать, то выживший клон даст начало рецидиву (если не будут иметь место смертельная ишемия или активация иммунного ответа).

Однако развитие событий возможно и по другому сценарию, когда опухолевые клетки вступают в процесс апоптоза – т.е. программированной гибели.

Индукция апоптоза

Апоптоз является жестко контролируемым, энергетически зависимым процессом программированной самоликвидации клеток при активации гидролитических ферментов, протеаз и нуклеаз, что приводит к фрагментации ДНК и деградации внутриклеточных структур [21].

Важнейшими морфологическими изменениями в результате данного процесса являются конденсация хроматина, клеточная фрагментация и продукция апоптотических телец, которые поглощаются окружающими клетками и фагоцитами.

После ФДТ с различными сенсibilизаторами и типами клеток апоптоз является быстрой и доминирующей формой клеточной смерти [22]. Фотодинамическая терапия вызывает апоптоз двумя основными патофизиологическими путями: митохондриальным или внутренним путем, и рецептор-опосредованная гибель или наружный путь [16].

Фотоиндуцированный апоптоз зависит также от отличных от внутреннего и внешнего клеточных сигнальных путей, таких как гомеостаз кальция, церамида и MAPK-киназа.

Влияние ФДТ на ДНК

Так как ДНК кодирует генетическую информацию, любые повреждения, которые происходят в геноме, способны создать крайне опасную ситуацию для клет-

ки. Механизмы повреждений ДНК, индуцированных фотодинамической терапией, пока не очень понятны. ФДТ может привести к окислению оснований, полимеризации нитей ДНК или обмену родственными хроматидов (структурных элементов хромосом) [23-25].

В нашем исследовании после фотодинамического воздействия на культуру клеток меланомы был зафиксирован ранний и поздний апоптоз. При этом индукция раннего апоптоза не зависела от концентрации фотосенсибилизатора и происходила даже при минимальных его дозах. Однако при увеличении времени лазерного облучения и, таким образом, поглощенной дозы света, происходил более быстрый переход фотосенсибилизированных опухолевых клеток в позднюю фазу апоптоза.

Заключение

Фотодинамическая терапия является одним из наиболее перспективных терапевтических методов, которые активно развиваются в онкологии в последние 30 лет. Несмотря на огромное количество научных статей, опубликованных на эту тему в последние годы, мы еще далеки от ясного понимания молекулярных механизмов гибели клеток опухоли после фотодинамического воздействия. Опубликованные отчеты полны противоречивых результатов. Одной из возможных причин этих расхождений являются чрезвычайно сложные взаимодействия между светом, фотосенсибилизатором, молекулярным кислородом и внутриклеточными структурами. Будущие исследования должны быть комплексными и включать в себя анализ многих компонентов фотодинамического действия. Выяснение механизмов фотоиндуцированной клеточной гибели позволит создать более эффективные схемы лечения онкологических больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: ООО "Антиф", 2011. – 260 с.
2. Филоненко Е.В., Серова Л.Г., Урлова А.Н. Фотодинамическая терапия больных с внутрикожными метастазами меланомы // *Biomedical Photonics*. – 2015. – Т. 4, № 2. – С. 22-25.
3. Мерабшвилли В.М. Выживаемость онкологических больных. – СПб: ООО "Фирма Коста", 2006. – 438 с.
4. Балдуева И.А. Иммунологические особенности взаимоотношения опухоли и организма при меланоме // *Практическая онкология*. – 2001. – № 4(8). – С. 37-41.
5. Gollnick S., Evans S., Baumann H. Role of cytokines in photodynamic therapy-induced local and systemic inflammation // *Br. J. Cancer*. – 2003. – Vol. 88. – P. 1772-9.
6. Gollnick S., Vaughan L., Henderson B. Generation of effective antitumor vaccines using photodynamic therapy // *Cancer Res*. – 2002. – Vol. 62. – P. 1604-8.
7. Gollnick S.O., Brackett C.M. Enhancement of anti-tumor immunity by photodynamic therapy // *Immunol Res*. – 2010. – Vol. 46(1-3). – P. 216-26.

REFERENCES

1. *Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2009 godu (zabolevaemost' i smertnost')* / (Malignant neoplasms in Russia in 2009 (incidence and mortality), by eds. V.I. Chissoy, V.V. Starinskii, G.V. Petrova. Moscow, OOO Antif Publ., 2011. 260 p.
2. Filonenko E.V., Serova L.G., Urlova A.N. Photodynamic therapy in patients with skin metastases of melanoma, *Biomedical Photonics*, 2015, Vol. 4, No. 2, pp. 22-25. (in Russian).
3. Merabishvili V.M. *Vyzhivaemost' onkologicheskikh bol'nykh* (Survival rate of cancer patients). Saint Petersburg, OOO Firma Kosta Publ., 2006. 438 p.
4. Baldueva I.A. Immune characteristics of tumor-host interaction in melanoma, *Prakticheskaya onkologiya*, 2001, No. 4(8), pp. 37-41. (in Russian).
5. Gollnick S., Evans S., Baumann H. Role of cytokines in photodynamic therapy-induced local and systemic inflammation, *Br. J. Cancer*, 2003, Vol. 88, pp. 1772-9.
6. Gollnick S., Vaughan L., Henderson B. Generation of effective antitumor vaccines using photodynamic therapy, *Cancer Res*, 2002, Vol. 62, pp. 1604-8.

8. Preise D., Oren R, Glinert I., et al. Systemic antitumor protection by vascular-targeted photodynamic therapy involves cellular and humoral immunity // *Cancer. Immunol. Immunother.* – 2009. – Vol. 58. – P. 71-84.
9. Preise D., Scherz A., Salomon Y. Antitumor immunity promoted by vascular occluding therapy: lessons from vascular-targeted photodynamic therapy (VTP) // *Photochem Photobiol Sci.* – 2011. – Vol. 10(5). – P. 681-8.
10. Huang Z., Xu H., Meyers A.D., et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors-potential and technical challenges // *Technol Cancer Res Treat.* – 2008. – Vol. 7(4). – P. 309-20.
11. Mroz P., Szokalska A., Wu M.X., Hamblin M.R. Photodynamic Therapy of Tumors Can Lead to Development of Systemic Antigen-Specific Immune Response // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5(12). – P. 151-94.
12. Abels C. Targeting of the vascular system of solid tumours by photodynamic therapy (PDT) // *Photochem Photobiol Sci.* – 2004. – No. 3. – P. 765-71.
13. Golab J., Wilczynski G., Zagodzón R., et al. Potentiation of the anti-tumor effects of Photofrin-based photodynamic therapy by localized treatment with G-CSF // *Br. J. Cancer.* – 2000. – Vol. 82(8). – P. 1485-91.
14. Van Duijnhoven F.H. The immunological consequences of photodynamic treatment of cancer, a literature review // *Immunobiology.* – 2003. – Vol. 207. – P. 105-13.
15. Акопов А.Л., Казаков Н.В., Русанов А.А., Карлсон А. Механизмы фотодинамического воздействия при лечении онкологических больных // *Biomedical Photonics.* – 2015. – Т. 4, № 2. – С. 9-16.
16. Almeida R.D., Manadas B.J., Carvalho A.P., Duarte C.B. Intracellular signaling mechanisms in photodynamic therapy // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – Vol. 1704. – P. 59-86.
17. Kiesslich T., Plaetzer K., Oberdanner C.B., et al. Differential effects of glucose deprivation on the cellular sensitivity towards photodynamic treatment-based production of reactive oxygen species and apoptosis-induction // *FEBS Lett.* – 2005. – Vol. 579. – P. 185-190.
18. Oberdanner C.B., Kiesslich T., Krammer B., Plaetzer K. Glucose is required to maintain high ATP-levels for the energy-utilizing steps during PDT-induced apoptosis // *Photochem Photobiol.* – 2002. – Vol. 76. – P. 695-703.
19. Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии // *Biomedical Photonics.* – 2014. – Т. 3, № 1. – С. 3-7.
20. Wyld L., Reed M.W., Brown N.J. Differential cell death response to photodynamic therapy is dependent on dose and cell type // *Br. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 84. – P. 1384-86.
21. Reed M., Miller F., Weiman T., et al. The effect of photodynamic therapy on the microcirculation // *J. Surg. Res.* – 1988. – Vol. 45. – P. 452-9.
22. Oleinick N., Morris R., Belichenko I. The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: What, where, why and how // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2002. – Vol. 1. – P. 1-7.
23. Hayle A.K., Ward T.H., Moore J.V. DNA damage and repair in Gorlin syndrome and normal fibroblasts aer aminolevulinic acid photodynamic therapy: a comet assay study // *Photochem. Photobiol.* – 2003. – Vol. 78. – P. 337-41.
24. McNair F.I., Marples B., West C.M., Moore J.V. A comet assay of DNA damage and repair in K562 cells aer photodynamic therapy using hematoporphyrin derivative, methylene blue and meso-tetrahydroxyphenylchlorin // *Br J Cancer.* – 1997. – Vol. 75. – P. 1721-9.
25. Woods J.A., Traynor N.J., Brancalion L., Moseley H. The effect of photofrin on DNA strand breaks and base oxidation in HaCaT keratinocytes: a comet assay study // *Photochem. Photobiol.* – 2004. – Vol. 79. – P. 105-13.
7. Gollnick S.O., Brackett C.M. Enhancement of anti-tumor immunity by photodynamic therapy, *Immunol Res.*, 2010, Vol. 46(1-3), pp. 216-26.
8. Preise D., Oren R, Glinert I., Kalchenko V., Jung S., Scherz A., Salomon Y. Systemic antitumor protection by vascular-targeted photodynamic therapy involves cellular and humoral immunity, *Cancer. Immunol. Immunother.*, 2009, Vol. 58, pp. 71-84.
9. Preise D., Scherz A., Salomon Y. Antitumor immunity promoted by vascular occluding therapy: lessons from vascular-targeted photodynamic therapy (VTP), *Photochem Photobiol Sci.*, 2011, Vol. 10(5), pp. 681-8.
10. Huang Z., Xu H., Meyers A.D., Musani A.I., Wang L., Tagg R., Barqawi A.B., Chen Y.K. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors-potential and technical challenges, *Technol Cancer Res Treat*, 2008, Vol. 7(4), pp. 309-20.
11. Mroz P., Szokalska A., Wu M.X., Hamblin M.R. Photodynamic Therapy of Tumors Can Lead to Development of Systemic Antigen-Specific Immune Response, *PLoS ONE*, 2010, Vol. 5(12), pp. 151-94.
12. Abels C. Targeting of the vascular system of solid tumours by photodynamic therapy (PDT), *Photochem Photobiol Sci.*, 2004, No. 3, pp. 765-71.
13. Golab J., Wilczynski G., Zagodzón R., Stoklosa T., Dabrowska A., Rybczynska J., Wasik M., Machaj E., Olda T., Kozar K., Kaminski R., Giermasz A., Czajka A., Lasek W., Feleszko W., Jakobisiak M. Potentiation of the anti-tumor effects of Photofrin-based photodynamic therapy by localized treatment with G-CSF, *Br. J. Cancer.*, 2000, Vol. 82(8), pp. 1485-91.
14. Van Duijnhoven F.H. The immunological consequences of photodynamic treatment of cancer, a literature review, *Immunobiology*, 2003, Vol. 207, pp. 105-13.
15. Akopov A.L., Kazakov N.V., Rusanov A.A., Karlson A. The mechanisms of photodynamic action for treating of cancer patients, *Biomedical Photonics*, 2015, Vol. 4, No. 2, pp. 9-16. (in Russian).
16. Almeida R.D., Manadas B.J., Carvalho A.P., Duarte C.B. Intracellular signaling mechanisms in photodynamic therapy, *Biochim. Biophys. Acta.*, 2004, Vol. 1704, pp. 59-86.
17. Kiesslich T., Plaetzer K., Oberdanner C.B., Berlanda J., Obermair F.J., Krammer B. Differential effects of glucose deprivation on the cellular sensitivity towards photodynamic treatment-based production of reactive oxygen species and apoptosis-induction, *FEBS Lett.*, 2005, Vol. 579, pp. 185-190.
18. Oberdanner C.B., Kiesslich T., Krammer B., Plaetzer K. Glucose is required to maintain high ATP-levels for the energy-utilizing steps during PDT-induced apoptosis, *Photochem Photobiol.*, 2002, Vol. 76, pp. 695-703.
19. Filonenko E.V. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy: justification of applications and opportunities in oncology, *Biomedical Photonics*, 2014, Vol. 3, No. 1, pp. 3-7. (in Russian).
20. Wyld L., Reed M.W., Brown N.J. Differential cell death response to photodynamic therapy is dependent on dose and cell type, *Br. J. Cancer.*, 2001, Vol. 84, pp. 1384-86
21. Reed M., Miller F., Weiman T., Tseng M.T., Pietsch C.G. The effect of photodynamic therapy on the microcirculation, *J. Surg. Res.*, 1988, Vol. 45, pp. 452-9.
22. Oleinick N., Morris R., Belichenko I. The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: What, where, why and how, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, Vol. 1, pp. 1-7.
23. Hayle A.K., Ward T.H., Moore J.V. DNA damage and repair in Gorlin syndrome and normal fibroblasts aer aminolevulinic acid photodynamic therapy: a comet assay study, *Photochem. Photobiol.*, 2003, Vol. 78, pp. 337-41.
24. McNair F.I., Marples B., West C.M., Moore J.V. A comet assay of DNA damage and repair in K562 cells aer photodynamic therapy using haematoporphyrin derivative, methylene blue and meso-tetrahydroxyphenylchlorin, *Br J Cancer*, 1997, Vol. 75, pp. 1721-9.
25. Woods J.A., Traynor N.J., Brancalion L., Moseley H. The effect of photofrin on DNA strand breaks and base oxidation in HaCaT keratinocytes: a comet assay study, *Photochem. Photobiol.*, 2004, Vol. 79, pp. 105-13.

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ДИССЕМИНАЦИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Э.А. Сулейманов¹, А.Д. Каприн², Е.В. Филоненко^{2,3}, В.М. Хомяков², Н.А. Гришин²,
Л.И. Москвичева², А.Н. Урлова²

¹Республиканский Онкологический Диспансер, Грозный, Россия

²Национальный медицинский исследовательский радиологический центр Минздрава России, Москва, Россия

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Резюме

В МНИОИ им. П.А. Герцена (филиал НМИРЦ) выполнено исследование диагностической эффективности интраоперационной флуоресцентной диагностики (ИОФД) перитонеальной диссеминации у больных раком желудка в сравнении со стандартной лапароскопией. В исследование включены 144 пациента с верифицированным диагнозом рак желудка III-IV стадии. Для проведения ИОФД использовали отечественный препарат аласенс (действующее вещество – 5-аминолевулиновая кислота), который вводили путем приема внутрь в дозе 30 мг/кг массы тела за 3 ч до исследования.

В результате проведения флуоресцентной диагностики у 10 (6,9%) пациентов была обнаружена подтвержденная морфологически опухолевая диссеминация по брюшине, не выявленная при проведении стандартной лапароскопии. Чувствительность ревизии брюшины при проведении стандартной лапароскопии составила 60,8%, специфичность – 75,8%, общая точность метода – 69,1%. Чувствительность ИОФД составила 91,1%, специфичность – 93,9%, общая точность метода – 92,7%. Таким образом, флуоресцентное обследование позволило повысить специфичность, чувствительность и точность стандартного диагностического обследования. В ходе исследования показано, что максимальную диагностическую ценность метод ИОФД имеет в группах пациентов с визуально неопределяемой микродиссеминацией в режиме «белого» света и с единичными визуально определяемыми очагами по брюшине (среднее количество дополнительно выявленных метастатических очагов у одного пациента – 1,22 и 1,4, соответственно). Кроме того, установлено, что количество выявляемых при проведении флуоресцентной диагностики микроочагов перитонеальной диссеминации возрастает при увеличении площади опухолевой инвазии серозной оболочки желудка (в среднем 2,29 дополнительно выявленных очагов у одного пациента с инвазией серозы более 2 см²).

Полученные результаты подтверждают перспективность применения флуоресцентной диагностики с целью выявления очагов диссеминации по брюшине, определения истинной распространенности опухолевого процесса, стадирования опухолевого процесса, а также коррекции дальнейшей тактики лечения данной категории больных.

Ключевые слова: рак желудка, перитонеальная диссеминация, интраоперационная флуоресцентная диагностика, 5-аминолевулиновая кислота, флуоресценция.

Для цитирования: Филоненко Е.В. Интраоперационная флуоресцентная диагностика перитонеальной диссеминации у больных раком желудка // Biomedical Photonics. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 9–18.

Контакты: Филоненко Е.В., e-mail: derkul23@yandex.ru

INTRAOPERATIVE FLUORESCENCE DIAGNOSIS OF PERITONEAL DISSEMINATION IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Suleymanov E.A.¹, Kaprin A.D.², Filonenko E.V.^{2,3}, Homyakov V.M.², Grishin N.A.²,
Moskvicheva L.I.², Urlova A.N.²

¹Republican Oncology Dispenser, Grozny, Russia

²National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³The State Education Institution of Higher Professional Training The First Sechenov Moscow State Medical University under Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The study of diagnostic efficiency of intraoperative fluorescence diagnosis (IOFD) of peritoneal dissemination in patients with gastric cancer comparing with standard laparoscopy was performed in P.A. Hertsen MCRI (the branch of NMRRC). The study included 114 patients with verified diagnosis of gastric cancer stage III–IV. For IOFD the domestic medication alasens (the active agent – 5-aminolevulinic acid) was used orally at dose of 30 mg/kg body weight 3 h prior to the study procedure.

As the result of fluorescence diagnosis 10 (6.9%) patients had peritoneal tumor dissemination verified morphologically and undetected by standard laparoscopy. The sensitivity of peritoneal revision for standard laparoscopy in patients with gastric cancer stage III-IV was 60.8%, the specificity – 75.8%, the overall accuracy – 69.1%. The sensitivity for IOFD in patients with gastric cancer stage III-IV was 91.1%, the specificity – 93.9%, the overall accuracy – 92.7%. Thus, fluorescence study allowed improving the specificity, the sensitivity and the overall accuracy of diagnostic test. In the trial IOFD had the maximal diagnostic value in patients with visually undetectable microdissemination in «whight» light and with solitary visible peritoneal foci (the average number of additionally detected metastatic lesions in one patient – 1.22 and 1.4, respectively). Moreover, in the case of fluorescence diagnosis the number of detected microfoci of peritoneal dissemination was showed to increase with enlargement of area of tumor invasion to gastric serosa (at average of 2.29 additionally detected lesions in one patient with serosal invasion more than 2 cm²).

The obtained results confirm the perspective of use of fluorescence diagnosis for detection of peritoneal dissemination, determination of true tumor extent, staging of the tumor and also for adjustment of following treatment tactics for this group of patients.

Key words: gastric cancer, peritoneal dissemination, intraoperative fluorescence diagnosis, 5-aminolevulinic acid, fluorescence.

For citations: Filonenko E.V. Intraoperative fluorescence diagnosis of peritoneal dissemination in patients with gastric cancer, *Biomedical Photonics*, 2016, T. 5, No. 3, pp. 9–18 (in Russian).

Contacts: Filonenko E.V., e-mail: derkul23@yandex.ru

Введение

В настоящее время при оценке эффективности лечения больных раком желудка не отмечается устойчивой тенденции к увеличению показателей выживаемости данной группы пациентов [1]. Неудовлетворительные результаты хирургического лечения злокачественных новообразований данной локализации зачастую определяются недооценкой распространенности опухолевого процесса в связи с отсутствием в клиниках высокочувствительных современных диагностических методик и аппаратуры [2]. У 10-20% больных раком желудка диссеминацию опухолевого процесса по брюшине обнаруживают только во время операции, а скрытые на момент хирургического лечения очаги канцероматоза определяют только при послеоперационном прогрессировании заболевания [3,4]. При прогрессировании рака желудка наряду с отдаленными метастатическими очагами перитонеальная диссеминация встречается в среднем в 40% случаев [5].

Разрешающая способность неинвазивных методов диагностики, таких как ультразвуковое исследование, компьютерная рентгеновская и магнитно-резонансная томография, в отношении выявления перитонеальных диссеминатов ограничивается размерами очагов в диапазоне 1,0-0,4 см. Отдельную проблему для лучевых методов диагностики составляют так называемые безасцитные формы канцероматоза брюшины [6].

Для оценки степени распространенности перитонеального канцероматоза используют классификации, основанные на балльных шкалах оценки площади и локализации поражения брюшины, выражаемые коэффициентами или индексами перитонеального канцероматоза, или ранжирование канцероматоза брюшины по стадиям в зависимости от оцениваемых параметров – распространенности, размера, глубины инвазии опухолевых очагов [7-10]. Обычно индекс перитонеального канцероматоза определяется в ходе ревизии брюшной полости при лапароскопии или лапаротомии.

Число больных с диссеминацией опухоли по брюшине без других отдаленных метастазов при раке желудка составляет 25%, что определяет возможность проведения комбинированного лечения данной группы пациентов, заключающегося в выполнении циторедуктивного оперативного вмешательства с дополнительным воздействием на очаги диссеминации на брюшине [11]. Наиболее перспективными методами терапии вторичного опухолевого поражения брюшины в настоящее время являются перитонэктомия, внутрибрюшная гипертермическая химиотерапии и интраоперационная фотодинамическая терапия брюшины [12-20].

В настоящее время с целью повышения диагностической ценности стандартных методов исследования (лапароскопии, диагностической лапаротомии) оценку состояния брюшины проводят методом интраоперационной флуоресцентной диагностики (ИОФД) [21-27].

Метод флуоресцентной диагностики основан на использовании специальных препаратов – фотосенсибилизаторов или их предшественников, используемых аппликационно, принимаемых внутрь или вводимых внутривенно. Данные препараты имеют свойство накапливаться в опухолевых клетках и тканях, что выявляется при облучении светом определенной длины волны.

Материал и методы

В исследование включены 144 пациента с верифицированным диагнозом рак желудка III-IV стадии. Всем пациентам для оценки перитонеальной диссеминации была выполнена лапароскопия с ИОФД.

В исследуемой группе было 85 (59%) мужчин и 59 (41%) женщин (табл. 1).

Возраст пациентов варьировал от 20 до 72 лет, средний возраст составил 54±8 лет. Основное число пациентов входило в возрастные пределы 40-69 лет (суммарно 83,4%). Более половины больных (61,1%) вошли в социально активную возрастную группу 20-59 лет (табл. 2).

Таблица 1

Распределение больных по полу

Table 1

Sex distribution of patients

Пол Sex	Число пациентов (%) Number of patients (%)
Мужчины Male	85 (59%)
Женщины Female	59 (41%)
Всего Total	144 (100%)

Таблица 2

Распределение больных по возрасту

Table 2

Age distribution of patients

Возраст (годы) Age (years)	Число пациентов (%) Number of patients (%)
20-29	3 (2,1%)
30-39	10 (6,9%)
40-49	33 (22,9%)
50-59	42 (29,2%)
60-69	45 (31,3%)
70-79	11 (7,6%)
Всего Total	144 (100%)

Таблица 3

Распределение больных в зависимости от наличия сопутствующей патологии

Table 3

Distribution of patients according to co-morbidity

Сопутствующая патология Co-morbidity	Число пациентов (%) Number of patients (%)
Сердечно-сосудистой системы Cardiovascular system	74 (51,4%)
Органов дыхания Respiratory system	7 (4,9%)
Желудочно-кишечного тракта Gastrointestinal tract	28 (19,4%)
Мочеполовой системы Urogenital system	13 (9,0%)
Гепато-билиарной системы Hepatobiliary system	5 (3,5%)
Эндокринная метаболическая патология Endocrine metabolic disorders	17 (11,8%)
Прочая сопутствующая патология Other co-morbidities	10 (6,9%)

Комплексное обследование больных позволило выявить сопутствующую патологию различной степени тяжести у 97 (67,4%) пациентов, среди которой преобладали заболевания сердечно-сосудистой системы (51,4%): ишемическая болезнь сердца, гипертониче-

ская болезнь I ст., атеросклероз артерий и варикозная болезнь вен нижних конечностей; реже диагностировали патологию органов желудочно-кишечного тракта (19,4%): хронический поверхностный гастрит в стадии ремиссии, рефлюкс-эзофагит, хронический колит вне обострения, дивертикулез сигмовидной кишки; патологию эндокринной системы (11,8%): компенсированный и субкомпенсированный сахарный диабет, узловые образования щитовидной железы с эутиреоидным состоянием; патологию мочевыводящих путей и половых органов (9,0%): хронический цистит в стадии ремиссии, хронический простатит, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, миома матки, эндометриоз; заболевания органов дыхания (4,9%): хронический бронхит вне обострения; а также заболевания гепато-билиарной системы (3,5%): хронический калькулезный холецистит в стадии ремиссии, вирусный гепатит В (табл. 3).

Согласно данным дооперационного обследования с учетом классификации TNM UICC 6th ed. 2002 г. распространенность опухолевого процесса, соответствующая III стадии заболевания, была определена у 88 (61,1%) пациентов, IV стадии – у 56 (38,9%). Больные с отдаленными гематогенными и внебрюшинными лимфогенными метастазами в настоящее исследование включены не были (табл. 4).

Таблица 4

Распределение больных в зависимости от стадии опухолевого процесса

Table 4

Distribution of patients according to stage of tumor

Стадия заболевания Stage of disease	Число пациентов (%) Number of patients (%)
III	88 (61,1%)
T2N2M0	2
T3N1M0	43
T3N2M0	36
T4N0M0	7
IV	56 (38,9%)
T3N3M0	4
T3N0M1	1
T3N1M1	4
T3N2M1	11
T3N3M1	8
T4N1M0	4
T4N2M0	1
T4N3M0	9
T4N1M1	1
T4N2M1	7
T4N3M1	6
Всего Total	144 (100%)

По критерию Т опухоли все больные были распределены следующим образом: распространенность опухолевого процесса, соответствующая критерию Т2, наблюдалась у 2 (1,39%) больных, Т3 – у 111 (77,08%), Т4 – у 31 (21,53%) (табл. 5).

Таблица 5

Распределение больных в зависимости от глубины инвазии опухоли

Table 5

Distribution of patients according to tumor invasion staging

Критерий Т T criterion	Число пациентов (%) Number of patients (%)
T2	2 (1,39%)
T3	111 (77,08%)
T4	31 (21,53%)
Всего Total	144 (100%)

По критерию N больные были распределены следующим образом: символ N0 был установлен у 8 (5,56%) пациентов, N1 – у 52 (36,11%), N2 – у 57 (39,58%), N3 – у 27 (18,75%) (табл. 6).

Таблица 6

Распределение больных в зависимости от степени метастатического поражения лимфатических узлов

Table 6

Distribution of patients according to lymph node staging

Критерий N N criterion	Число пациентов (%) Number of patients (%)
N0	8 (5,56%)
N1	52 (36,11%)
N2	57 (39,58%)
N3	27 (18,75%)
Всего Total	144 (100%)

По критерию М больные до проведения интраоперационной флуоресцентной диагностики были распределены следующим образом: символ M0 диагностирован у 106 (73,6%) пациентов, M1 – у 38 (26,4%) (табл. 7).

Таблица 7

Распределение больных в зависимости от наличия выявляемой на дооперационном этапе перитонеальной диссеминации

Table 7

Distribution of patients according to preoperatively detected peritoneal dissemination

Критерий М M criterion	Число пациентов (%) Number of patients (%)
M0	106 (73,6%)
M1	38 (26,4%)
Всего Total	144 (100%)

По данным дооперационного комплексного обследования опухоль располагалась в нижней трети желудка у 15 (10,4%) пациентов, в средней трети – у 9 (6,25%), в верхней трети – у 8 (5,6%). Субтотальное поражение органа диагностировали у 81 (56,25%) больного, тотальное – у 31 (21,5%). Таким образом, в 77,75% наблюдений распространенность опухоли в желудке была субтотальной и тотальной (табл. 8).

Таблица 8

Распределение больных в зависимости от уровня поражения различных отделов желудка по данным дооперационного обследования

Table 8

Distribution of patients depending on the primary gastric tumor site according to preoperative investigation

Локализация Tumor site	Число пациентов (%) Number of patients (%)
Нижняя треть Low third	15 (10,4%)
Средняя треть Middle third	9 (6,25%)
Верхняя треть Upper third	8 (5,6%)
Субтотальное поражение Subtotal involvement	81 (56,25%)
Тотальное поражение Total involvement	31 (21,5%)
Всего Total	144 (100%)

Таблица 9

Распределение больных в зависимости от гистологической структуры опухоли желудка

Table 9

Distribution of patients depending on histological type of gastric tumor

Морфологическое строение опухоли Histological type of tumor	Число пациентов (%) Number of patients (%)
Высокодифференцированная аденокарцинома Well differentiated adenocarcinoma	1 (0,7%)
Умеренно дифференцированная аденокарцинома Moderately differentiated adenocarcinoma	7 (4,9%)
Низкодифференцированная аденокарцинома Poorly differentiated adenocarcinoma	34 (23,6%)
Перстневидноклеточный рак Signet ring cell carcinoma	69 (47,9%)
Сочетание перстневидноклеточного рака с аденокарциномой Signet ring cell carcinoma admixed with adenocarcinoma	33 (22,9%)
Всего Total	144 (100%)

В зависимости от гистологической структуры опухоли пациенты были распределены следующим образом: высокодифференцированная аденокарцинома была у 1 (0,7%) больного, умереннодифференцированная аденокарцинома – у 7 (4,9%), низкодифференцированная аденокарцинома – у 34 (23,6%), перстневидноклеточный рак – у 69 (47,9%), сочетание перстневидноклеточного рака с аденокарциномой наблюдалось у 33 (22,9%) пациентов (табл. 9).

Методы обследования

Всем больным на диагностическом этапе проводили сбор анамнеза и физикальный осмотр, осмотр гинеколога у женщин, пальцевое ректальное исследование, электрокардиографию, развернутый клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, гемостазиограмму, ультразвуковое исследование вен нижних конечностей.

Для установления и верификации клинического диагноза у всех пациентов использовали стандартный комплекс диагностических исследований. Для оценки размеров и локализации опухолевого процесса и определения распространения опухоли на пищевод или двенадцатиперстную кишку всем больным выполняли полипозиционное рентгенологическое исследование пищевода и желудка, фиброэзофагогастродуоденоскопию (ЭГДС).

С целью определения глубины инвазии опухоли, факта вовлечения в процесс серозной оболочки желудка или соседних органов, определения наличия вторично измененных регионарных лимфатических узлов и их количества ЭГДС дополняли эндосонографией, а также выполняли компьютерную томографию и УЗИ органов брюшной полости.

Для верификации процесса у всех больных во время проведения ЭГДС выполняли биопсию опухоли, проводили гистологическое исследование биопсийного материала.

С целью выявления отдаленных метастазов в лимфатических узлах, органах брюшной полости, забрюшинного пространства, малого таза и легких всем больным выполняли ультразвуковое исследование шейно-надключичных зон, органов брюшной полости, забрюшинного пространства, малого таза, рентгенографию и компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки. КТ головного мозга выполняли по показаниям.

У всех больных было получено гистологическое подтверждение диагноза.

Функциональные методы обследования (Холтер-ЭКГ, эхокардиография и др.), специальные лабораторные тесты (гликемический профиль, уровень гормонов) и консультации специалистов применяли по показаниям в зависимости от возраста и характера сопутствующей патологии.

Методика лапароскопии с интраоперационной флуоресцентной диагностикой

У всех пациентов ИОФД выполняли с использованием видеоэндоскопической аппаратуры D-Light System и видеокамеры Telecam PDD SL (Karl Storz GmbH, Германия), которая позволяет проводить исследование в двух функциональных режимах: в режиме осмотра в стандартном белом свете и в режиме флуоресценции.

В качестве источника света для возбуждения флуоресценции в этой системе используется ксеноновая лампа с набором светофильтров. Первый режим – это осмотр брюшины в стандартном «белом» свете. Второй режим – режим флуоресцентного исследования в «синем» свете (диапазон длин волн: 380-460 нм) с использованием светофильтров для оценки собственной флуоресценции тканей и для оценки флуоресценции индуцированного введением 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) протопорфирина IX.

Для ИОФД у всех пациентов применяли препарат на основе 5-АЛК аласенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Россия, регистрационное удостоверение ЛП-001848 от 21.09.2012). Аласенс вводили путем приема внутрь в дозе 30 мг/кг массы тела с разведением в кипяченой воде в объеме 100 мл за 3 ч до исследования и за 2-2,5 ч до начала наркоза.

Хирургический этап выполняли в условиях операционной, под эндотрахеальным наркозом.

ИОФД начинали с визуальной и инструментальной ревизии брюшной полости в режиме обычного освещения. Всем больным выполняли ультразвуковое исследование печени, лимфатических узлов регионарных и отдаленных групп, производили смывы с брюшины со срочным цитологическим исследованием. Во всех случаях при обнаружении очаговых образований на брюшине в режиме белого света производили щипковую или резекционную биопсию.

Далее аппаратуру переводили в режим флуоресцентного исследования в реальном времени. Производили осмотр тех же диагностических позиций в режиме флуоресцентного исследования. Биопсию выполняли из всех флуоресцирующих очагов.

Ревизию органов брюшной полости, висцеральной и париетальной брюшины проводили по схеме Esquivel J., Sugarbaker P.H. 1998, 1999 [12,13] с учетом количества и размеров очагов опухолевой диссеминации на брюшине.

Результаты и обсуждение

В результате проведения лапароскопии с ИОФД по предложенной методике распространенность опухолевого процесса была уточнена у 55 (38,2%) пациентов: по символу М – у 54 (37,5%) больных, Т – у 1 (0,7%) пациента.

Была уточнена распространенность опухолевого процесса, соответствующая критерию М: у 54 пациен-

тов была выявлена опухолевая диссеминация по брюшине, подтвержденная морфологически, не выявляемая ранее инструментальными методами обследования, что повлекло изменение у данных больных критерия M0 на M1, при этом у 10 (6,9%) пациентов опухолевые очаги на брюшине были выявлены только в режиме флуоресценции (табл. 10).

Также при проведении данного исследования у одного пациента была уточнена распространенность опухолевого процесса по критерию T: данных о наличии инвазии серозной оболочки желудка получено не было, в связи с чем, диагностированная на дооперационном этапе распространенность опухоли, соответствующая T3N2M0, была изменена на T2N2M0.

При ревизии органов брюшной полости, париетальной и висцеральной брюшины материал на биопсию был взят из 356 очагов у 144 пациентов. В том числе 148 биопсий были выполнены из визуально неизмененных и нефлуоресцирующих участков брюшины.

При осмотре в режиме «белого» света единичные либо множественные очаги перитонеальной диссеминации были выявлены у 82 пациентов, у которых из 144 опухолевых очагов были взяты 144 биоптата. Из них в 96 образцах биопсийного материала были обнаружены клетки опухоли, в 48 – нет. Из указанных 144 очагов: 92 флуоресцировали при осмотре в режиме флуоресценции, 52 – не флуоресцировали. Из 92 флуоресцирующих очагов в 82 образцах при гистологическом исследовании были выявлены опухолевые клетки, в 10 – опухолевые клетки отсутствовали. Из 52 нефлуоресцирующих очагов по результатам морфологического исследования 14 биоптатов содержали опухолевые клетки, 38 – нет.

Кроме этого у 26 пациентов с выявленной визуально диссеминацией по брюшине на непораженных при осмотре в белом свете участках брюшины были диагностированы 50 очагов флуоресценции, из которых также взяли 50 биоптатов. Из них в 48 образцах

гистологически были выявлены опухолевые клетки, в 2 – нет.

У 62 пациентов при осмотре в режиме «белого» света очаги перитонеальной диссеминации выявлены не были. Из них, у 10 больных в режиме флуоресценции диагностировано 14 очагов флуоресценции, откуда были взяты 14 биоптатов. Во всех 14 образцах подтверждено наличие опухолевых клеток.

У остальных 52 человек вторичное опухолевое поражение брюшины каким-либо методом диагностики выявлено не было.

Для маркировки очаговых образований на брюшине, выявленных в процессе проведения флуоресцентной диагностики, использовали классификацию, разработанную в МНИОИ им. П.А. Герцена [28,29]. Полученные данные представлены в табл. 11.

Таким образом, при сопоставлении данных стандартной интраоперационной лапароскопической диагностики брюшины с результатами морфологического исследования количество истинноположительных (морфологически подтверждено наличие метастатического поражения брюшины при наличии визуально определяемого опухолевого образования) результатов составило – 96, истинноотрицательных (отсутствие клеток рака по результатам морфологического исследования при отсутствии визуально определяемого опухолевого образования) – 150, ложноположительных (отсутствие клеток рака по результатам морфологического исследования при наличии визуально определяемого опухолевого образования) – 48, ложноотрицательных (морфологически подтверждено наличие метастатического поражения брюшины при отсутствии визуально определяемого опухолевого образования) – 62.

Чувствительность ревизии брюшины при лапароскопии в «белом» свете у больных раком желудка III-IV стадии составила 60,8%, специфичность – 75,8%, общая точность метода – 69,1%.

Таблица 10

Распределение больных по критерию M по данным дооперационного комплексного обследования и ИОФД

Table 10

Distribution of patients depending on M criterion according to results of complex preoperative examination and IOFD

Критерий Criterion	Число пациентов (%) с метастатическим поражением брюшины по данным: Number of patients (%) with peritoneal metastasis according to data of:	
	дооперационного комплексного обследования preoperative complete examination	диагностической лапароскопии с флуоресцентным исследованием diagnostic laparoscopy with fluorescence study
M0	106 (73,6%)	52 (36,1%)
M1	38 (26,4%)	92 (63,9%)
Всего Total	144 (100%)	144 (100%)

При сопоставлении данных ИОФД с результатами морфологического исследования количество истинноположительных (морфологически подтверждено наличие метастатического поражения брюшины при наличии флуоресценции) результатов составило 144, истинноотрицательных (отсутствие клеток рака по результатам морфологического исследования при отсутствии флуоресценции) – 186, ложноположительных (отсутствие клеток рака по результатам морфологического исследования при наличии флуоресценции) – 12, ложноотрицательных (морфологически подтверждено наличие метастатического поражения брюшины при отсутствии флуоресценции) – 14.

Чувствительность ИОФД у больных раком желудка III-IV стадии составила 91,1%, специфичность – 93,9%, общая точность метода – 92,7%.

Произведен анализ количества выявленных при интраоперационной флуоресцентной диагностике микроочагов рака на брюшине в зависимости от наличия и количества у больных визуально определяемых опухолевых диссеминатов в режиме «белого» света (табл. 12).

Наибольшее число выявляемых только в режиме флуоресценции микроочагов метастатического поражения брюшины приходится на группы больных без визуально определяемой диссеминации и пациентов с единичными визуально определяемыми очагами в режиме «белого» света – в среднем 1,40 и 1,22 микроочагов рака на больного соответственно. В группе больных с множественными визуально определяемыми диссеминатами в режиме «белого» света, среднее количество микроочагов перитонеальной диссеминации, выявленных в режиме флуоресценции составило 0,34.

Таблица 11

Результаты флуоресцентной диагностики

Table 11

Results of fluorescence diagnosis

Данные гистологического исследования Histological data	Визуальная оценка Visual assessment				Всего очагов Total number of lesions
	V(+)/F(+)	V(+)/F(-)	V(-)/F(+)	V(-)/F(-)	
T(+)	82	14	62	0	158
T(-)	10	38	2	148	198
Всего Total	92	52	64	148	356

T(+)
T(-)
V(+)
V(-)
F(+)
F(-)

– морфологически подтвержденный метастаз рака желудка по брюшине
 – морфологического подтверждения наличия опухоли нет
 – перитонеальный канцероматоз определяется при осмотре в «белом» свете
 – при осмотре в «белом» свете опухолевые очаги на брюшине не определяются
 – очаг флуоресценции
 – флуоресценции не определяется

T(+)
T(-)
V(+)
V(-)
F(+)
F(-)

– morphologically confirmed peritoneal meta-stasis of gastric cancer
 – morphologically confirmed absence of tumor
 – peritoneal carcinomatosis is detected in white light examination
 – peritoneal carcinomatosis is not detected in white light examination
 – fluorescence focus
 – fluorescence focus is not detected

Таблица 12

Зависимость количества выявленных при интраоперационной флуоресцентной диагностике микроочагов рака на брюшине от наличия визуально определяемых опухолевых диссеминатов в режиме «белого» света

Table 12

Dependence of the number of peritoneal cancer microlesions detected by intraoperative fluorescence diagnosis on the presence of visually detectable tumor dissemination in «white» light regimen

	Выявлена V(+) диссеминация V(+) dissemination is detected	Нет V(+) очагов No V(+) lesions	Единичные (до 10) V(+) очаги Solitary (up to 10) V(+) lesions	Множественные (>30) V(+) очаги Multiple (>30) V(+) lesions
Число больных Number of patients	82 (56,9%)	10 (6,9%)	23 (16,0%)	59 (41,0%)
Количество микроочагов V(-)/F(+)/T(+) Number of microlesions V(-)/F(+)/T(+)	62	14	28	20
Среднее количество микроочагов Average number of microlesions	0,67	1,40	1,22	0,34

Таблица 13

Зависимость количества выявленных микроочагов метастатического поражения брюшины от площади опухолевой инвазии серозной оболочки желудка

Table 13

Dependence of the number of peritoneal cancer microlesions on the area of serosal invasion of gastric cancer

	Субсерозная инвазия Subserosal invasion	Инвазия серозы $\leq 2 \text{ см}^2$ Serosal invasion $\leq 2 \text{ см}^2$	Инвазия серозы $> 2 \text{ см}^2$ Serosal invasion $> 2 \text{ см}^2$	Всего Total
Число больных Number of patients	3 (2,08%)	30 (20,83%)	111 (77,09%)	144
Число больных со скрытой диссеминацией Number of patients with occult dissemination	-	12	24	36
Количество V(-)F(+)-T(+) очагов Number of V(-)F(+)-T(+) lesions	-	7	55	62
Среднее количество микроочагов Average number of microlesions	-	0,58	2,29	1,72

Таким образом, максимальную диагностическую ценность метод ИОФД имеет в группах пациентов с визуально неопределяемой микродиссеминацией в режиме «белого» света и с единичными визуально определяемыми очагами по брюшине ($p < 0,05$).

Также произведен анализ количества выявленных в режиме флуоресценции микроочагов метастатического поражения брюшины в зависимости от площади инвазии опухолью серозной оболочки желудка (табл. 13).

Наибольшее число выявляемых только в режиме флуоресценции микроочагов метастатического поражения брюшины приходится на группу больных, у которых по данным дооперационного обследования и интраоперационной ревизии имеется инвазия опухолью серозной оболочки желудка на площади более 2 см^2 – в среднем 2,29 очага на больного. В группе больных с определяемой инвазией опухолью серозной оболочки менее 2 см^2 , среднее число очагов микродиссеминации, выявляемых только в режиме

флуоресценции, составило 0,58 на пациента. У больных раком желудка, распространяющимся только до субсерозного слоя его стенки, при флуоресцентной диагностике микроочагов метастатического поражения брюшины не выявлено.

Таким образом, количество выявляемых при флуоресценции микроочагов перитонеальной диссеминации возрастает при увеличении площади опухолевой инвазии серозной оболочки желудка ($p < 0,05$).

Заключение

Описанный опыт применения диагностической лапароскопии с флуоресцентным исследованием у больных раком желудка с высоким риском развития перитонеального канцероматоза демонстрирует рациональность использования флуоресцентной диагностики с целью выявления очагов диссеминации по брюшине, определения истинной распространенности опухолевого процесса, а также коррекции дальнейшей тактики лечения данной категории больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Moghimi-Dehkordi B., Safaee A., Ghiasi S., Zali M.R. Survival in gastric cancer patients: univariate and multivariate analysis // *East Afr. J. Public Health*. Apr. – 2009. – Vol. 6, No. 1. – P. 41-4.
2. Lepage C., Sant M., Verdecchia A., et al. Operative mortality after gastric cancer resection and long-term survival differences across Europe // *Br. J. Surg.* – 2010. – Vol. 97(2). – P. 235-9.
3. Давыдов М.И., Тер-Ованесов М.Д., Абдикхимов А.Н., Марчук В.А. Рак желудка: предоперационное обследование и актуальные аспекты стадирования // *Практическая онкология*. – 2001. – № 3. – С. 18-24.
4. Harmon R.L., Sugarbaker P.H. Prognostic indicators in peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer // *International Seminars in Surgical Oncology*. – 2005. Vol. 2. – 3.

REFERENCES

1. Moghimi-Dehkordi B., Safaee A., Ghiasi S., Zali M.R. Survival in gastric cancer patients: univariate and multivariate analysis, *East Afr. J. Public Health*. Apr., 2009, Vol. 6, No. 1, pp. 41-4.
2. Lepage C., Sant M., Verdecchia A., Forman D., Esteve J., Faivre J. Operative mortality after gastric cancer resection and long-term survival differences across Europe, *Br. J. Surg.*, 2010, Vol. 97(2), pp. 235-9.
3. Davydov M.I., Ter-Ovanesov M.D., Abdikhakimov A.N., Marchuk V.A. Gastric cancer: preoperative examination and essential aspects of staging, *Prakticheskaya onkologiya*, 2001, No. 3, pp. 18-24. (In Russian).
4. Harmon R.L., Sugarbaker P.H. Prognostic indicators in peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer, *International Seminars in Surgical Oncology*, 2005, Vol. 2, 3.

5. Tong D., Russell A.H., Dawson L.E. Adenocarcinoma of the caecum: natural history and clinical patterns of recurrence following radical surgery // *Int. J. Radiol. Oncol. Biol. Phys.* – 1983. – Vol. 9. – P. 357-360.
6. Mansfield P. Snap-shot MRI // *Les Prix Nobel. The Nobel Prizes 2003.* – Nobel Foundation, 2004. – P. 266-283.
7. Sadeghi B., Arvieix C., Glehen O., et al. Peritoneal carcinomatosis from non-gynecologic malignancies results of the EVOCAPE 1 multicentric prospective study // *Cancer.* – 2000. – Vol. 88. – P.358-363.
8. Berthed D., Sugarbaker T.A., Chang D., Sugarbaker P.H. Quantitative methodologies for selection of patients with recurrent abdominopelvic sarcoma for treatment. (In) 8th World Congress of the international Gastro-Surgical Club. – Bologna: Monduzzi Editore, 1998. – P. 899-903.
9. Sugarbacker P.H., Yonemura Y. Clinical pathway for the management of respectable gastric cancer with peritoneal seedings: best palliation with a ray of hope for cure // *Oncology.* – 2000. – Vol. 58. – P. 96-107.
10. Sugarbaker P.H. Peritoneal surface oncology: review of a personal experience with colorectal and appendiceal malignancy // *Tech. Coloproctol.* – 2005. – Vol. 9(2). – P. 95-103.
11. Чиссов В.И., Вашакмадзе Л.А., Бутенко А.В., Пикин О.В., Ложкин М.В. Возможности хирургического лечения резектабельного рака желудка IV стадии // *Российский онкологический журнал.* – 2003. – № 6. – С. 4-7.
12. Sugarbaker P.H. Peritonectomy procedures // *Ann. Surg.* – 1995. – Vol. 221. – P. 29-42.
13. Sugarbaker P.H. Management of peritoneal carcinomatosis // *AMA.* – 1989. – Vol. 16. – P. 57-60.
14. Yonemura Y., Fujimura T., Fushida S. Hyperthermohemotherapy combined with cytoreductive surgery for the treatment of gastric cancer with peritoneal dissemination // *World J. Surg.* – 1991. – Vol. 15. – P. 530-536.
15. Yonemura Y., Fudjimura T., Fushida S., et al. A new surgical approach (peritonectomy) for the treatment of peritoneal dissemination // *Hepatogastroenterology.* – 1999. – Vol. 46(25). – P. 601-609.
16. Hendren S.K., Hahn S.M., Spitz F.R., et al. Phase II Trial of Debulking Surgery and Photodynamic Therapy for Disseminated Intraperitoneal Tumors // *Annals of Surgical Oncology.* – 2001. – Vol. 8(1). – P. 65-71.
17. Verwaal V.J., Van Ruth S., De Bree E., et al. Randomized Trial of Cytoreduction and HyperthermicIntraperitoneal Chemotherapy Versus Systemic Chemotherapyand Palliative Surgery in Patients With Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Cancer // *J Clin Oncol by American Society of Clinical Oncology.* – 2003. – Vol. 21. – P. 3737-3743.
18. Glehen O., Mithieux F., Osinsky D., et al. Surgery Combined With Peritonectomy Procedures and Intraperitoneal Chemohyperthermia in Abdominal Cancer With Peritoneal Carcinomatosis: A Phase II Study // *J Clin Oncol by American Society of Clinical Oncology.* – 2003. – Vol. 21. – P. 799-806.
19. Вашакмадзе Л.А., Филоненко Е.В., Бутенко А.В., и др. Отдаленные результаты хирургического лечения больных местнораспространенным и диссеминированным раком желудка в сочетании с интраоперационной фотодинамической терапией // *Biomedical Photonics.* – 2013. – Т. 2, № 1. – С. 3-10.
20. Филоненко Е.В., Серова Е.Г. Фотодинамическая терапия в клинической практике // *Biomedical Photonics.* – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 26-37.
21. Canis M., Botchorishvili R., Berreni N., et al. 5-aminolevulinic acid-induced (ALA) fluorescence for the laparoscopic diagnosis of peritoneal metastasis. AST An experimental study // *Surg Endosc.* – 2001. – Vol. 15(10). – P. 1184-1186.
5. Tong D., Russell A.H., Dawson L.E. Adenocarcinoma of the caecum: natural history and clinical patterns of recurrence following radical surgery, *Int. J. Radiol. Oncol. Biol. Phys.*, 1983, Vol. 9, pp. 357-360.
6. Mansfield P. Snap-shot MRI, *Les Prix Nobel. The Nobel Prizes 2003*, Nobel Foundation, 2004, pp. 266-283.
7. Sadeghi B., Arvieix C., Glehen O., Beaujard A.C., Rivoive M., Baulieux J. Peritoneal carcinomatosis from non-gynecologic malignancies results of the EVOCAPE 1 multicentric prospective study, *Cancer*, 2000, Vol. 88, pp. 358-363.
8. Berthed D., Sugarbaker T.A., Chang D., Sugarbaker P.H. *Quantitative methodologies for selection of patients with recurrent abdominopelvic sarcoma for treatment. (In) 8th World Congress of the international Gastro-Surgical Club*, Bologna, Monduzzi Editore Publ., 1998, pp. 899-903.
9. Sugarbacker P.H., Yonemura Y. Clinical pathway for the management of respectable gastric cancer with peritoneal seedings: best palliation with a ray of hope for cure, *Oncology*, 2000, Vol. 58, pp. 96-107.
10. Sugarbaker P.H. Peritoneal surface oncology: review of a personal experience with colorectal and appendiceal malignancy, *Tech. Coloproctol.*, 2005, Vol. 9(2), pp. 95-103.
11. Chissov V.I., Vashakmadze L.A., Butenko A.V., Pikin O.V., Lozhkin M.V. Possibilities of surgical treatment of resectable gastric cancer stage IV, *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*, 2003, No. 6, pp. 4-7. (In Russian)
12. Sugarbaker P.H. Peritonectomy procedures, *Ann. Surg.*, 1995, Vol. 221, pp. 29-42.
13. Sugarbaker P.H. Management of peritoneal carcinomatosis, *AMA*, 1989, Vol. 16, pp. 57-60.
14. Yonemura Y., Fujimura T., Fushida S. Hyperthermohemotherapy combined with cytoreductive surgery for the treatment of gastric cancer with peritoneal dissemination, *World J. Surg.*, 1991, Vol. 15, pp. 530-536.
15. Yonemura Y., Fudjimura T., Fushida S., Fujita H., Bando E., Nishimura G. A new surgical approach (peritonectomy) for the treatment of peritoneal dissemination, *Hepatogastroenterology*, 1999, Vol. 46(25), pp. 601-609.
16. Hendren S.K., Hahn S.M., Spitz F.R., Bauer T.W., Rubin S.C., Zhu T., Glatstein E., Fraker D.L. Phase II Trial of Debulking Surgery and Photodynamic Therapy for Disseminated Intraperitoneal Tumors, *Annals of Surgical Oncology*, 2001, Vol. 8(1), pp. 65-71.
17. Verwaal V.J., Van Ruth S., De Bree E., Van Slooten G.W., Van Tinteren H., Boot H., Zoetmulder F.A.N. Randomized Trial of Cytoreduction and HyperthermicIntraperitoneal Chemotherapy Versus Systemic Chemotherapyand Palliative Surgery in Patients With Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Cancer, *J Clin Oncol by American Society of Clinical Oncology*, 2003, Vol. 21, pp. 3737-3743.
18. Glehen O., Mithieux F., Osinsky D., Beaujard A.C., Freyer G., Guertsch Ph., Francois Y., Peyrat P., Panteix G., Vignal J., Gilly F.N. Surgery Combined With Peritonectomy Procedures and Intraperitoneal Chemohyperthermia in Abdominal Cancer With Peritoneal Carcinomatosis: A Phase II Study, *J Clin Oncol by American Society of Clinical Oncology*, 2003, Vol. 21, pp. 799-806.
19. Vashakmadze L.A., Filonenko E.V., Butenko A.V., Suleymanov E.A., Kirillov N.V., Khomyakov V.M. Long-term outcomes for surgical treatment in patients with locally advanced and disseminated gastric cancer combined with intraoperative photodynamic therapy, *Biomedical Photonics*, 2013, Vol.2, No.1, pp. 3-10. (In Russian).
20. Filonenko E.V., Serova L.G. Photodynamic therapy in clinical practice, *Biomedical Photonics*, 2016, Vol. 5, No. 2, pp. 26-37. (In Russian).
21. Canis M., Botchorishvili R., Berreni N., Manhes H., Wattiez A., Mage G., Pouly J.L., Bruhat M.A. 5-aminolevulinic acid-induced (ALA) fluorescence for the laparoscopic diagnosis of peritoneal

22. Gahlen J, Prosst R.L., Pietschmann M., et al. Laparoscopic fluorescence diagnosis for intraabdominal fluorescence targeting of peritoneal carcinosis experimental studies // *Ann Surg.* – 2002. – Vol. 235(2). – P. 252-260.
23. Поддубный Б.К., Губин А.Н., Шолохов В.Н. и др. Современные методики лапароскопической диагностики опухолевых заболеваний органов брюшной полости // *Современная онкология.* – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 130-133.
24. Вакуловская Е.Г., Губин А.Н., Поддубный Б.К., Вакурова Е.С. Первый опыт применения флуоресцентной лапароскопии с препаратом «Аласенс» у больных раком яичников // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2005. – Т. 1, № 4. – С. 32.
25. Löning M.C., Diddens H.C., Holl-Ulrich K., et al. Fluorescence staining of human ovarian cancer tissue following application of 5-aminolevulinic acid: fluorescence microscopy studies // *Lasers Surg Med.* – 2006. – Vol. 38(5). – P. 549-54.
26. Collinet P, Sabban F, Cosson M, Farine MO, Villet R, Vinatier D, Mordon S. Laparoscopic photodynamic diagnosis of ovarian cancer peritoneal micro metastasis: an experimental study // *Photochem Photobiol.* – 2007. – Vol. 83(3). – P. 647-51.
27. Филоненко Е.В. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии // *Biomedical Photonics.* – 2014. – Т.3, № 1. – С. 3-7.
28. Пак Д.Д., Филоненко Е.В., Франк Г.А., Барсамян Г.С., Ефремов Г.Д. Интраоперационная флуоресцентная диагностика метастазов рака молочной железы в регионарные лимфатические узлы // *Российский онкологический журнал.* – 2011. – № 2. – С. 7-9.
29. Лукин В.А., Филоненко Е.В., Вашакмадзе Л.А., Сулейманов Э.А. Флуоресцентная лапароскопия у больных раком желудка // *Biomedical Photonics.* – 2013. – Т.2, № 4. – 7-12.
- metastasis. AST An experimental study, *Surg Endosc*, 2001, Vol. 15(10), pp. 1184-1186.
22. Gahlen J, Prosst R.L., Pietschmann M., Haase T, Rheinwald M., Skopp G., Stern J, Herfarth C. Laparoscopic fluorescence diagnosis for intraabdominal fluorescence targeting of peritoneal carcinosis experimental studies, *Ann Surg*, 2002, Vol. 235(2), pp. 252-260.
23. Poddubnyi B.K., Gubin A.N., Sholokhov V.N., Vakurova E.S., Cherkas L.V., Vakulovskaya E.G., Blyumenberg A.G. Modern techniques of laparoscopic diagnosis of peritoneal tumor diseases, *Sovremennaya onkologiya*, 2005, Vol. 7, No. 3, pp. 130-133. (In Russian).
24. Vakulovskaya E.G., Gubin A.N., Poddubnyi B.K., Vakurova E.S. First experience of use of fluorescence laparoscopy with the medication "Alasens" in patients with ovarian cancer, *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*, 2005, Vol. 1, No. 4, p. 32. (In Russian).
25. Löning M.C., Diddens H.C., Holl-Ulrich K., Löning U., Küpker W., Diedrich K., Hüttmann G. Fluorescence staining of human ovarian cancer tissue following application of 5-aminolevulinic acid: fluorescence microscopy studies, *Lasers Surg Med*, 2006, Vol. 38(5), pp. 549-54.
26. Collinet P, Sabban F, Cosson M, Farine M.O., Villet R, Vinatier D, Mordon S. Laparoscopic photodynamic diagnosis of ovarian cancer peritoneal micro metastasis: an experimental study, *Photochem Photobiol*, 2007, Vol. 83(3), pp. 647-51.
27. Filonenko E.V. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy: justification of applications and opportunities in oncology, *Biomedical Photonics*, 2014, Vol. 3, No.1, pp. 3-7. (In Russian).
28. Pak D.D., Filonenko E.V., Frank G.A., Barsamyan G.S., Efremov G.D. Intraoperative fluorescence diagnosis of regional lymph node metastasis from breast cancer // *Rossiyskiy onkologicheskii zhurnal*, 2011, Vol. 2, pp. 7-9. (In Russian).
29. Lukin V.A., Filonenko E.V., Vashakmadze L.A., Suleymanov E.A. Fluorescence laparoscopy in patients with gastric cancer. *Biomedical Photonics*, 2013, Vol. 2, No.4, pp. 7-12. (In Russian).

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И КРИОДЕСТРУКЦИИ В ЛЕЧЕНИИ АКТИНИЧЕСКОГО КЕРАТОЗА

Т.Е. Сухова¹, К.А. Чанглян¹, А.В. Молочков¹, В.А. Молочков^{1,2}, С.В. Корнев³,
Ж.С. Кунцевич¹, Ю.В. Молочкова¹, В.Н. Галкин⁴, Ю.С. Романко^{2,4}

¹Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
Москва, Россия

³Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

⁴Национальный медицинский исследовательский радиологический центр Минздрава России,
Москва, Россия

Резюме

В работе представлены результаты сравнительного исследования эффективности фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора фотодитазин и криодеструкции актинического кератоза. В исследование были включены 80 пациентов с 215 очагами поражения, среди которых эритематозную форму актинического кератоза диагностировали в 151 (70,2%) наблюдении, кератотическую форму - в 46 (21,4%) случае, пигментную форму - в 12 (5,6%) и атипичный вариант заболевания - в 6 (2,8%) случаях. По гистологическому типу распределение опухолей было следующее: в 19 (54,3%) наблюдениях диагностирован гипертрофический тип, в 6 (17,1%) - атрофический, в 8 (22,9%) - бовеноидный и в 2 (5,7%) - пигментный тип. Больные основной группы получали один курс фотодинамической терапии с использованием лазерной установки «ЛАМИ» (662 нм) после 2-часовой аппликации 0,5%-го геля фотодитазина в объеме 0,2-0,3 мл на 1 см² очага актинического кератоза при следующих параметрах: плотность энергии лазерного излучения - 200 Дж/см² (при бовеноидном типе - 300 Дж/см²), плотность мощности - 0,14-0,48 Вт/см². В группе сравнения пациентам проводили криодеструкцию очагов актинического кератоза жидким азотом с экспозицией 30-60 сек. При проведении сравнительного анализа ближайших результатов отметили тенденцию к повышению эффективности фотодинамической терапии (число полных регрессий составило 92,5%) по сравнению с криодеструкцией (85,0%) ($p > 0,05$). Также отметили тенденцию к улучшению отдаленных результатов лечения данной патологии после фотодинамической терапии по сравнению с криодеструкцией: трехлетняя безрецидивная выживаемость составила 94,6% и 88,2%, соответственно. При проведении фотодинамической терапии наблюдали достоверно меньше побочных реакций, сроки эпителизации очагов поражения были существенно ниже. Фотодинамическая терапия по сравнению с криодеструкцией обеспечивала достоверно лучшие косметические результаты ($p < 0,01$), и может применяться при амбулаторном лечении больных актиническим кератозом.

Ключевые слова: актинический кератоз, дерматология, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, местное применение фотосенсибилизатора, фотодитазин, лазерное излучение, криодеструкция.

Для цитирования: Сухова Т.Е., Чанглян К.А., Молочков А.В., Молочков В.А., Корнев С.В., Кунцевич Ж.С., Молочкова Ю.В., Галкин В.Н., Романко Ю.С. Сравнительные исследования эффективности фотодинамической терапии и криодеструкции в лечении актинического кератоза // Biomedical Photonics. - 2016. - Т. 5, № 3. - С.19-29.

Контакты: Сухова Т.Е., e-mail: tats64@mail.ru

COMPARATIVE STUDIES OF EFFICACY OF PHOTODYNAMIC THERAPY AND CRYOTHERAPY FOR TREATMENT OF ACTINIC KERATOSIS

Sukhova T.E.¹, Changlyan K.A.¹, Molochkov A.V.¹, Molochkov V.A.^{1,2}, Korenev S.V.³,
Kuntceвич Zh.S.¹, Molochkova Yu.V.¹, Galkin V.N.⁴, Romanko Yu.S.^{2,4}

¹The State Budgetary Healthcare Institution of Moscow Area Moscovs regional research
clinical institute n.a. M.F. Vladimirskiy, Moscow, Russia

²The State Education Institution of Higher Professional Training The First Sechenov Moscow
State Medical University under Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia⁴National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The results of a study on the effectiveness of photodynamic therapy with a photosensitizer fotoditazin and cryotherapy for actinic keratosis are represented in the article. The study included 80 patients with 215 lesions, among them erythematous form of actinic keratosis was diagnosed in 151 (70.2%) cases, hyperkeratotic form – in 46 (21.4%) cases, a pigmented form – in 12 (5.6%) and an atypical variant of the disease – in 6 (2.8%) cases. According to histological type the distribution of tumor was as follows: 19 (54.3%) cases were diagnosed as hypertrophic type, 6 (17.1%) – atrophic, 8 (22.9%) – bowenoid and 2 (5.7%) – pigmented type. Patients from the study group received one session of photodynamic therapy using laser unit "LAMI" (662 nm) after 2 hours of application of fotoditazin 0.5% gel at dose of 0,2-0,3 ml per 1 cm² of actinic keratosis focus with the following parameters: the energy density of the laser radiation – 200 J/cm², power density – 0.14–0.48 W/cm². In the control group patients underwent cryotherapy with liquid nitrogen with an exposure of 30-60 sec. The comparative analysis of the immediate results showed a tendency for the efficacy of photodynamic therapy to increase (the rate of complete regression was 92.5%) compared with cryotherapy (85.0%) ($p>0,05$). There were also a tendency for long-term results after photodynamic therapy to improve: three-year recurrence-free survival was 94.6% and 88.2%, respectively. For the photodynamic therapy there were significantly fewer adverse reactions, the epithelization time in lesions was significantly shorter. Compared with cryotherapy the photodynamic therapy provided significantly better cosmetic results ($p<0.01$), and can be used for out-patient treatment of patients with actinic keratosis.

Key words: actinic keratosis, dermatology, photodynamic therapy, photosensitizer, topical application of photosensitizer, fotoditazine, laser irradiation, cryosurgery.

For citations: Sukhova T.E., Changlyan K.A., Molochkov A.V., Molochkov V.A., Korenev S.V., Kuntcevich Zh.S., Molochkova Yu.V., Galkin V.N., Romanko Yu.S. Comparative studies of efficacy of photodynamic therapy and cryotherapy for treatment of actinic keratosis, *Biomedical Photonics*, 2016, T. 5, No. 3, pp.19–29 (in Russian).

Contacts: Sukhova T.E., e-mail: tats64@mail.ru

Введение

Диагностика и лечение предраковых заболеваний кожи играет огромную роль в профилактике рака кожи. Актинический кератоз (АК) является наиболее частым предраковым поражением кожи, характеризующимся локальной интраэпидермальной атипией кератиноцитов на открытых для солнечного воздействия участках кожи [1]. Патогенез этого заболевания связан с повреждающим воздействием ультрафиолетового излучения и других сопутствующих канцерогенных факторов на кератиноциты. Исследования показали, что распространенность актинического кератоза в Европе, США и Австралии составляет 45-60% [2].

Данное заболевание в значительной степени негативно влияет на качество жизни пациентов [3,4]. Учитывая, что показатели смертности и затраты на медицинские услуги, связанные с лечением плоскоклеточного рака являются существенными, профилактика актинического кератоза представляет собой важный вопрос, хотя значение данной проблемы для общественного здравоохранения часто является непризнанным [5]. Кроме того, учитывая важность профилактики актинического кератоза, все чаще поднимается вопрос о необходимости принятия мер на международном, европейском и национальных уровнях и законодательно закрепить признание актинического кератоза как профессионального заболевания [6].

В то же время эффективность лечения АК, который является не только важным фактором развития рака кожи, но и серьезным косметическим недостатком, до настоящего времени остается недостаточной. Методы лечения АК, которые сводятся к криотерапии, кюретажу, электрохирургии, лазерной хирургии, аппликациям мази с 5-фторурацилом, не предотвращают развития рецидивов болезни и рубцов на месте очагов поражения и зачастую плохо переносятся больными [7]. В связи с высокой распространенностью АК, а также частой локализацией очагов в косметически значимых зонах, таких как лицо, шея, тыл кистей, возникает необходимость в разработке более эффективных и косметически более приемлемых методов лечения, с помощью которых можно будет лечить как клинические, так и субклинические формы АК [8].

Новой медицинской технологией лечения АК является фотодинамическая терапия (ФДТ) [9]. В основе её лежит фотохимическая реакция в ткани, возникающая при взаимодействии фотосенсибилизатора (ФС) со светом в присутствии кислорода, что сопровождается образованием синглетного кислорода и других активных кислородных частиц, оказывающих модифицирующее воздействие на мембраны опухолевых клеток и повреждающее действие на сосуды опухоли [10,11].

Но, как показали результаты клинических исследований, ФДТ опухолей кожи с внутривенным введением

ФС имеет ряд недостатков (необходимость соблюдения светового режима, длительный период кожной фоточувствительности, выраженный болевой синдром, системное действие ФС), что ограничивает широкое применение данной методики [12,13]. ФДТ с местным использованием ФС лишена этих недостатков, а хорошие косметические результаты и низкая себестоимость дают предпосылки для ее широкого применения в клинической практике. В зарубежной литературе имеются сведения о ФДТ АК с локальным применением препаратов 5-аминолевулиновой кислоты [14]. При этом проведение ФДТ дает, в сравнении с той же криодеструкцией, более высокую эффективность в лечении этой патологии (87% против 76% полной регрессии, соответственно), при этом пациенты и исследователи предпочитали проведение ФДТ из-за того, что метод обеспечивал лучший косметический результат [15]. По данным других авторов, этот метод является также не только более эффективным и менее травматичным, чем другие методы лечения АК, но и обеспечивающим лучшие косметические результаты [16].

В доступной литературе мы не нашли публикаций о локальном применении отечественных ФС, в частности фотодитазина, при ФДТ АК, а также о терапевтической эффективности ФДТ при различных клинических формах и гистологических типах АК, а также при диффузном и ограниченном характере поражения.

Целью настоящего исследования явилась разработка нового эффективного метода ФДТ АК с локальным применением отечественного ФС хлоринового ряда фотодитазин (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС 001246 от 18.05.2012), а также оценка эффективности ФДТ АК по сравнению с криодеструкцией на основе изучения ближайших и отдаленных результатов лечения (включая анализ частоты побочных реакций, осложнений, неблагоприятных косметических последствий).

Материал и методы

Работа выполнена на основании анализа результатов клинко-лабораторного обследования и лечения 80 больных ограниченным и диффузным АК методами ФДТ и криодеструкции. Все пациенты находились на лечении и диспансерном наблюдении в отделении дерматовенерологии и дерматоонкологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» и Московском областном кожно-венерологическом диспансере.

По распространенности процесса АК мы разделили пациентов на две группы: с ограниченным процессом (не более трех очагов с общей площадью поражения не превышающей 6 см²) и диффузным процессом (более трех очагов с общей площадью поражения более 6 см²). В целом у 80 пациентов (с 215 очагами АК)

ограниченный АК диагностирован у 65 (81,2%) больных с 97 (45,1%) очагами, диффузный – у 15 (18,8%) больных с 118 (54,9%) очагами поражения.

Возраст пациентов с АК на период начала лечения варьировал от 48 лет до 86 лет (69±10 лет). Среди больных было 26 мужчин и 54 женщины.

Очаги АК располагались на открытых участках кожных покровов в 205 (95,3%) случаях, в том числе в области лица – в 166 (77,2%) случаях. Остальные 10 очагов – на закрытых участках туловища и конечностей. Среди 215 исследованных очагов были зафиксированы следующие клинические формы АК: эритематозная – в 151 (70,2%) случае, кератотическая – в 46 (21,4%), пигментная – в 12 (5,6%), и атипичный пролиферативный вариант заболевания – в 6 (2,8%) случаях.

Для 35 очагов АК проводили гистологическое исследование, для остальных 180 – цитологическое исследование на наличие атипичных клеток шиповатого слоя эпидермиса. При этом, распределение 35 исследованных очагов АК по гистологическим типам было следующим: в 19 (54,3%) случаях диагностирован гипертрофический тип, в 6 (17,1%) – атрофический, в 8 (22,9%) – бовеноидный и в 2 (5,7%) – пигментный тип.

Всем пациентам проводили клинко-лабораторное обследование, включавшее исследование периферической крови, плазмы крови (печеночные пробы, коагулограмма), мочи, ЭКГ. По показаниям больные были консультированы терапевтом, кардиологом, эндокринологом и другими специалистами. Перед лечением у всех больных исследовали общее состояние, температуру тела, частоту сердечных сокращений, частоту дыхательных движений, артериальное давление. Во всех случаях при постановке диагноза АК учитывали анамнестические данные, клиническую картину патологического процесса, результаты гистологического или цитологического исследований, выполненные в клинической лаборатории и отделении патоморфологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

В зависимости от применяемого метода лечения пациенты с АК были разделены на 2 группы. В I (основную) группу вошли пациенты, которым была проведена ФДТ с аппликационным применением фотодитазина, во II (контрольную) группу – пациенты, получившие криодеструкцию жидким азотом.

ФДТ с аппликационным применением фотодитазина была выполнена 40 больным со 151 очагом АК (15 солитарных, 136 множественных), в том числе в 107 (70,9%) случаях – с эритематозной, в 33 (21,9%) – с кератотической, в 5 (3,3%) – с пигментной формой и в 6 (3,9%) – с пролиферативным вариантом болезни. Ограниченный процесс был у 28 (70,0%) больных, имевших 49 очагов, диффузный процесс – у 12 (30,0%) пациентов, имевших 102 очага АК. При этом гистоло-

гическому исследованию подверглись 22 очага АК, из них гипертрофический тип определен в 9 (40,9%) наблюдениях, атрофический – в 4 (18,2%) наблюдениях, бовеноидный – в 8 (36,4%), пигментный – в 1 (4,5%).

Во II (контрольной) группе криодеструкцию жидким азотом проводили 40 больным с 64 очагами АК (27 солитарных, 37 множественных) 44 (68,8%) эритематозной, 13 (20,3%) кератотической и 7 (10,9%) пигментной формы. Ограниченный процесс наблюдался у 37 (92,5%) больных имевших 48 очагов, диффузный процесс отмечался у 3 (7,5%) пациентов, имевших 16 очагов. В данной группе гистологическому исследованию подверглись 13 очагов АК, из них гипертрофический

тип диагностирован в 10 (76,9%) наблюдениях, атрофический – в 4 (15,4%), пигментный – в 1 (7,7%). Критерии отбора пациентов для проведения ФДТ включали: наличие у больных мужчин и женщин ограниченных и/или диффузных очагов АК, «неудобная» локализация очагов АК (околоушная, периорбитальная области, нос и др.), рецидивные очаги АК после других методов лечения, пожилой и старческий возраст больных.

Критерии отбора больных для криодеструкции включали: наличие у пациентов мелких, поверхностных очагов АК, возраст от 18 лет и старше.

Как видно из табл. 1, обе сравниваемые группы пациентов (с учетом критериев включения и исклю-

Таблица 1
Характеристика больных в основной и контрольной группах
Table 1
The characteristics of patients in study and control groups

Оцениваемые критерии Assessable criteria	Группы пациентов Patient groups	
	Группа I Group I	Группа II Group II
Лечение Treatment	ФДТ PDT	Криодеструкция Cryotherapy
Число пациентов / количество очагов Number of patients/number of lesions	40/151	40/64
Возраст, годы Age, years	54-84 (72±7)	48-86 (66±11)
Пол: муж. жен. Sex: male female	11 (27,5%) 29 (72,5%)	15 (37,5%) 25 (62,5%)
Клинические формы заболевания Clinical types of the disease	эритематозная – 27 (67,5%) (107 очагов); кератотическая – 8 (20,0%) (33 очага); пигментная – 3 (7,5%) (5 очагов); пролиферативный вариант – 2 (5,0%) (6 очагов) erythematous – 27 (67,5%) (107 lesions); hyperkeratotic – 8 (20,0%) (33 lesions); pigmented – 3 (7,5%) (5 lesions); proliferative – 2 (5,0%) (6 lesions)	эритематозная – 24 (60,0%) (44 очага); кератотическая – 10 (25,0%) (13 очагов); пигментная – 6 (15,0%) (7 очагов) erythematous – 24 (60,0%) (44 lesions); hyperkeratotic – 10 (25,0%) (13 lesions); pigmented – 6 (15,0%) (7 lesions)
Длительность заболевания (годы) Duration of the disease (years)	в среднем 3,7±3,2 an average of 3,7±3,2	в среднем 3,4±3,0 an average of 3,4±3,0
Тип кожи Skin type	I - 14 (35,0%) II - 17 (42,5%) III - 9 (22,5%)	I - 13 (32,5%) II - 20 (50,0%) III - 7 (17,5%)
Площадь поражения The area of lesion	в среднем 1,3 см ² an average of 1,3 cm ²	в среднем 0,9 см ² an average of 0,9 cm ²
Распространенность актинического кератоза: ограниченный диффузный The spread of actinic keratosis: local diffuse	28 пациентов (49 очагов) 12 пациентов (102 очага) 28 patients (49 lesions) 12 patients (102 lesions)	37 пациентов (48 очагов) 3 пациента (16 очагов) 37 patients (48 lesions) 3 patients (16 lesions)

чения) не различались по основным клиническим показателям, гистологическим характеристикам АК и сопутствующим заболеваниям. В обеих группах больных преобладали эритематозная и кератотическая формы заболевания; чаще всего встречался гипертрофический гистологический тип АК. Среди сопутствующих заболеваний у всех пациентов имелись болезни кожи с признаками солнечного эластоза (плоскоклеточный рак кожи (5,0%), базальноклеточный рак кожи (22,5%), актинический хейлит (6,2%), ромбовидная кожа шеи Ядассона (23,7%), гиперплазия сальных желез сецильная (7,5%), солнечная пурпура Бейтмана (40,0%), звездчатые рубцы (7,5%), актинические комедоновые бляшки (6,2%), венозные озера (3,7%), гипомеланоз каплевидный идиопатический (56,2%), лентиго старческое (100,0%), а также отмечались болезни сердечно-сосудистой системы (80,0%), желудочно-кишечного тракта (52,5%), нервной системы (53,8%).

В обеих группах преобладали больные с очагами диаметром до 1 см (50,3%), а во II группу не были включены пациенты с очагами более 3 см в диаметре (пролиферативный клинический вариант АК), так как криодеструкция не является методом выбора для лечения крупных очагов АК. Соответственно, во II группе было меньше больных с диффузными очагами АК (7,5%), чем в I группе (30,0%).

При проведении ФДТ в качестве источника светового излучения применяли медицинский полупроводниковый лазерный аппарат «ЛАМИ» с длиной волны лазерного излучения 662 нм, мощностью излучения на конце световода 1,3 Вт (рег. номер 29/10020203/5212-03 от 20.05.2003 г., код ОКП 944420, класс II А). Для подведения светового излучения использовались гибкие кварцевые моноволоконные световоды с линзовым рассеивателем.

В качестве ФС использовали 0,5%-ый гель фотодитазин, активное вещество которого представляет собой композицию из трех циклических тетрапирролов хлориновой природы с гидрированным кольцом D, основной из которых (80-90%) – хлорин e_6 , обладает мощной полосой поглощения в длинноволновой красной области спектра, с пиком поглощения 662 нм.

Перед ФДТ с поверхности очагов АК удаляли легко снимаемые роговые массы. Гель фотодитазин наносили после обработки поверхности очага 70%-ым этиловым спиртом под окклюзию (из расчета 0,2-0,3 мл на 1 см²). Через 2 ч нанесенный гель удаляли смоченным дистиллированной водой ватным тампоном, после чего опухоль подвергали дистанционному лазерному облучению. Облучению подвергали всю поверхность АК с захватом 0,5-1,0 см визуальной непораженной кожи. Сеанс ФДТ проводили со следующими параметрами: плотность энергии лазерного излучения – 200 Дж/см² (при бовеноидном типе АК – 300 Дж/см²), плотность мощности – 0,14-0,48 Вт/см².

В связи с местным применением ФС от пациентов не требовали соблюдения светового режима.

Больным II группы проводили криодеструкцию очагов АК жидким азотом с помощью криоаппликатора, диаметр насадки которого подбирали соответственно размерам очага АК с перекрытием его на 2-3 мм, при следующих параметрах: время экспозиции криовоздействия – 30-60 сек, количество сеансов – 1 (при кератотической форме (25,0% случаев) – 2 сеанса). Продолжительность процедуры составляла от 30 до 60 сек с однократным, а при гиперкератотических очагах – двукратным циклом замораживания и оттаивания.

Для профилактики вторичной инфекции очаги криодеструкции обрабатывали 5,0%-ым раствором перманганата калия (3-5 раз в день), а окружающую здоровую кожу – 20,0%-ым спиртовым раствором. Кроме того 3 пациентам с диффузным АК были назначены антибиотики: доксициклин – по 100 мг x 2 раза в сут, в течение 7 дней.

Реакцию на ФДТ и криодеструкцию изучали непосредственно во время и по окончании сеанса, через 1-5 ч и затем ежедневно в течение 1-2 нед после процедуры, в последующем через 30 сут после лечения, а также через 2-3 мес.

Оценку ближайших результатов ФДТ и криодеструкции проводили через 3 мес по следующим критериям:

- полная регрессия – отсутствие видимого и пальпируемого опухолевого очага с подтверждением отсутствия атипичных клеток цитологическим или гистологическим исследованиями;
- частичная регрессия – уменьшение размеров очага поражения более чем на 50% или видимое отсутствие очага, но при обнаружении атипичных клеток в цитологическом или биопсийном материале;
- отсутствие эффекта – уменьшение размеров опухолевого очага менее чем на 50%, состояние без изменений и увеличение размеров очага.

При оценке косметического эффекта в I и II группах пациентов учитывали наличие или отсутствие рубца, атрофии, уплотнения кожи, гипер- или гипопигментации. Косметические результаты оценивали через 3 года согласно R.M. Szeimies (2002) по следующим критериям:

- отличный косметический эффект – незначительные гиперемия или изменение пигментации;
- хороший косметический эффект – умеренная гиперемия или изменение пигментации;
- удовлетворительный косметический эффект – незначительное/умеренное рубцевание, атрофия или уплотнение;
- плохой косметический эффект – значительное рубцевание, атрофия или уплотнение.

Кроме этого, для оценки и сравнения в обеих группах косметических и побочных эффектов (по V. von Felbert, 2010) применяли visual analogue scale (VAS): 0 (очень плохо) – 100 мм (очень хорошо) и 0 (отсутствие побочного эффекта) – 100 мм (чрезвычайно выраженная побочная реакция), соответственно.

Результаты и обсуждение

При проведении ФДТ наблюдали признаки протекающей в очаге поражения фотохимической реакции: в первые 10-20 мин от начала процедуры у всех больных в зоне облучения появлялись гиперемия и отек мягких тканей, окаймляющий очаг поражения белый ободок шириной до 1 см (за счет спазма сосудов по периферии очага), серозно-геморрагическая экссудация – в зоне разрушающегося очага (у 16 (40,0%) больных в 41 очаге), гиперемия и умеренный отек окружающих мягких тканей, распространяющиеся в течение 6-12 ч по периферии очага в области лица до 3 см, и до 1,5 см – в области волосистой части головы, туловища и верхних конечностей (в среднем $1,4 \pm 0,5$ см).

В дальнейшем в течение 1-3 ч за счет нарушения кровообращения кожные покровы над очагом и вокруг очага бледнели, по периферии оставался венчик гиперемии, к концу первых суток появлялись точечные геморрагии.

Субъективные признаки фотохимической реакции не требовали проведения анестезии и характеризовались у 80% пациентов ощущениями жжения и/или покалывания, у 20% пациентов – умеренной болью в зоне

облучения во время проведения ФДТ и на протяжении 1-1,5 ч после его окончания.

В первые сутки после сеанса ФДТ наблюдали признаки резорбции очагов АК (сглаживание рельефа, в 40% случаев – серозно-геморрагическая экссудация). Через 1-4 сут после ФДТ формировался завершённый геморрагический некроз АК с четко очерченной границей, соответствующей размерам опухоли. Через 1-3 сут после сеанса ФДТ на месте опухолевого очага формировалась геморрагическая корка, которая самостоятельно отторгалась через 1-5 нед (в среднем $3,3 \pm 1,8$ нед) после лечения с формированием нежного белесоватого участка рубцовой атрофии (в 5,4% случаев) или эритемы (в 94,6% случаев).

Лечение больные переносили удовлетворительно: не было отмечено изменений общего состояния, гемодинамических сдвигов (контроль АД, ЭКГ), нарушения общих и биохимических показателей крови, мочи или обострения сопутствующих заболеваний. Имевшие место минимальный отек и гиперемия окружающих опухолевый очаг мягких тканей проходили в течение 1-3 сут после ФДТ. Для профилактики вторичной инфекции после ФДТ очаги деструкции обрабатывали 5,0%-ым раствором перманганата калия (3-5 раз в день), а окружающую здоровую кожу – 20,0%-ым спиртовым раствором.

Результаты ФДТ АК через 3 мес после лечения представлены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что полная регрессия АК с цитологически подтвержденным отсутствием опухолевых клеток произошла у 37 (92,5%) больных с 132 очагами

Таблица 2

Результаты ФДТ актинического кератоза через 3 мес после лечения в зависимости от клинической формы заболевания

Table 2

Results of PDT for actinic keratosis depending on clinical type of the disease, 3 months after treatment

Клиническая форма Clinical type	Число пациентов/ количество очагов Number of patients/ number of lesions	Результат ФДТ (число пациентов/ количество очагов) Result of PDT (number of patients/number of lesions)	
		ПР CR	ЧР PR
Эритематозная Erythematous	27/107	27/107	0/0
Кератотическая Hyperkeratotic	8/33	5/14 - /12*	3/7
Пигментная Pigmented	3/5	3/5	0/0
Пролиферативный вариант заболевания Proliferative	2/6	2/6	0/0
ВСЕГО TOTAL	40 (100,0%) / 151 (100,0%)	37 (92,5%) / 144 (95,4%)	3 (7,5%) / 7 (4,6%)

*12 полностью регрессировавших очагов актинического кератоза у 3 больных с частичной регрессией заболевания

ПР – полная регрессия
ЧР – частичная регрессия

*12 foci of actinic keratosis with complete regression in 3 patients with partial regression of disease

CR – complete regression
PR – partial regression

поражения, а у 3 (7,5%) пациентов с 19 очагами поражения полностью регрессировали 12 очагов, тогда как в 7 кератотических очагах АК была частичная регрессия. В целом, при частичной регрессии после ФДТ размеры очагов уменьшились на 70-80%.

В дальнейшем (через 2-3 мес после лечения) проводили повторный сеанс ФДТ очагов с частичной регрессией, после чего была достигнута полная регрессия очагов поражения с отсутствием атипичных клеток при цитологическом исследовании. При проведении повторного курса ФДТ побочные эффекты также не отмечены.

Показатели гемодинамики (контроль АД, ЭКГ), анализов крови и мочи после проведения сеанса ФДТ не выявили отклонений от нормы. После лечения наблюдали явления, характерные для фотохимической реакции в целом – гиперемии и умеренный отек мягких тканей в зоне лазерного облучения, экссудацию, а в последующие сутки – спазм сосудов вокруг поля облучения.

Непосредственно после ФДТ у всех 40 пациентов отмечали эритему и образование корок через 1-4 сут после ФДТ, отек через 24 ч после лечения, у 8 (20,0%) пациентов – шелушение, и у 2 (5,0%) – зуд.

Срок эпителизации в очагах после проведения ФДТ составил от 1 до 5 нед. После лечения на месте очагов АК остались нежные бледно-розовые участки рубцовой атрофии у 2 (5,4%) пациентов в 7 очагах и эритематозные пятна у 35 (94,6%) пациентов в 137 очагах, которые спустя 1-3 мес ($2,2 \pm 0,7$ мес) утрачивали розовую окраску, приобретая цвет окружающей кожи.

Через 12 мес после лечения под динамическим наблюдением находились 37 из 40 пролеченных пациентов. Из них гипер- и гипопигментация наблюдались у 3 (8,1%) и 1 (2,7%) больного, соответственно, рубцовая атрофия – у 2 (5,4%) пациентов. Формирования пузырей, изъязвлений, рубцевания, потери волос, присоединения вторичной инфекции (бактериальной и вирусной), общих нарушений (слабости, повышения температуры тела и др.) не отмечали.

Непосредственная эффективность ФДТ при 3-месячном сроке наблюдения составила: полная регрессия у 92,5% у пациентов (100,0% – при ограниченном, 75,0% – при диффузном АК), частичная регрессия – у 7,5% больных.

В течение 2 лет после проведения ФДТ под динамическим наблюдением находились 37 пациентов, в течение 3 лет – 35 пациентов.

При динамическом наблюдении за пациентами ($n=37$) через 1,5 и 2 года после ФДТ у 2 больных в 2 очагах при кератотической и эритематозной формах АК отмечали развитие рецидива. Трехлетняя безрецидивная выживаемость ($n=35$) составила 94,6%. Таким образом, частота рецидива в целом составила 5,4%.

Косметические результаты через 3 года после лечения у 29 (82,9%) пациентов в 117 (90,0%) полностью разрешившихся очагах были расценены нами как отличные, у 4 (11,4%) пациентов в 6 (4,6%) очагах – как хорошие, и у 2 (5,7%) в 7 (5,4%) очагах – как удовлетворительные.

Во II группе больных во время криодеструкции за счет резкого замораживания и ишемии в зоне действия криоаппликатора кожные покровы приобретали белый цвет. Собственно очаг поражения через несколько минут после оттаивания приобретал первоначальные контуры. В дальнейшем через 30-60 мин после медленного оттаивания в зоне очага поражения и окружающих мягких тканях у всех пациентов отмечали признаки воспалительной реакции в виде отека и гиперемии (расширение сосудов), которые усиливались в течение последующих 24 ч. Отек в области лица достигал максимального эксцентричного распространения при диффузном АК до 5-6 см, и в области волосистой части головы, туловища, верхних конечностей – до 2-3 см. У 37 (92,5%) пациентов в 46 очагах отмечали серозно-геморрагическую экссудацию.

Во всех случаях через 6-24 ч на месте криовоздействия образовывался болезненный пузырь, наполненный серозно-геморрагической жидкостью, который через 3-4 дня ссыхался в виде корки. На месте пузыря формировалась некротическая корка, которая отторгалась самостоятельно через 2-8 нед (в среднем через $6,0 \pm 1,9$ нед) после лечения, с образованием эритемы у 19 (55,9%) пациентов в 24 очагах, розового участка рубцовой атрофии – у 11 (32,3%) пациентов в 16 очагах и нормотрофических рубцов – у 4 (11,8%) пациентов в 7 очагах. В каждом случае субъективные ощущения после криодеструкции характеризовались ощущением жжения и холода в зоне криовоздействия, и не требовали проведения анестезии. Болевые ощущения отмечены у 33 пациентов в 49 очагах после процедуры и сохранялись в зоне деструкции до 1-3 сут.

Больные переносили лечение удовлетворительно: не было отмечено изменений общего состояния, гемодинамических показателей (контроль АД, ЭКГ), общих и биохимических показателей крови и мочи, обострения сопутствующих заболеваний. Отек и гиперемия окружающих мягких тканей разрешались самостоятельно после лечения в течение 3-5 сут и 3-8 сут, соответственно.

Результаты криодеструкции АК через 3 мес после лечения представлены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что полная регрессия АК (подтвержденная отсутствием атипичных клеток) произошла у 34 (85,0%) больных с 47 очагами поражения, тогда как в 6 (15,0%) наблюдениях эритематозного и кератотического АК была частичная регрессия. По-

Таблица 3

Результаты ФДТ актинического кератоза через 3 мес после лечения в зависимости от клинической формы заболевания

Table 3

Results of PDT for actinic keratosis depending on clinical type of the disease, 3 months after treatment

Клиническая Форма Clinical type	Число пациентов/ количество очагов Number of patients/ number of lesions	Результат криодеструкции (число пациентов/ количество очагов) Result of cryotherapy (number of patients/number of lesions)	
		ПР CR	ЧР PR
Эритематозная Erythematous	24/44	21/28 - /3*	3/13
Кератотическая Hyperkeratotic	10/13	7/9	3/4
Пигментная Pigmented	6/7	6/7	-
ВСЕГО TOTAL	40 (100,0%)/ 64 (100,0%)	34 (85,0%) / 47 (73,4%)	6 (15,0%) / 17 (26,6%)

*3 полностью регрессировавших очага актинического кератоза у 3 больных с частичной регрессией заболевания

ПР – полная регрессия

ЧР – частичная регрессия

*3 foci of actinic keratosis with complete regression in 3 patients with partial regression of disease

CR – complete regression

PR – partial regression

сле криодеструкции размеры очагов уменьшились на 80,0%, что потребовало проведения повторной криодеструкции с двукратным циклом замораживания.

Полная регрессия очагов поражения при ограниченном АК была получена у 34 (91,9%) пациентов в 44 очагах (91,7%), тогда как у 3 (8,1%) больных в 4 очагах (8,3%) была частичная регрессия. При диффузном АК у 3 пациентов в 13 (81,2%) очагах из 16 отмечали полную регрессию, в 3 (18,8%) – частичную регрессию.

В результате лечения на месте бывших очагов АК отмечали эритему (55,9%), формирование розовых участков рубцовой атрофии (32,3%) и нежных нормотрофических рубцов (11,8%), которые спустя 2-4 мес утрачивали розовую окраску и приобретали белесоватый цвет.

Из побочных эффектов непосредственно после криодеструкции эритема была отмечена у всех 40 пациентов, через 1 нед – у 2 (5,0%). Отек и пузыри (через 24 ч после криодеструкции) и формирование корок на 3-4 день отмечали у всех больных, зуд – у 8 (20,0%), шелушение – у 15 (37,5%), гипопигментацию через 12 мес – у 14 (41,2%), нормотрофические рубцы – у 4 (11,8%), атрофические рубцы – у 11 (32,3%) из 34 пациентов, потерю волос – у 4 (11,8%).

Не отмечали изъязвлений, присоединения вторичной инфекции и общих нарушений (слабости, повышения температуры тела и др.).

Непосредственная эффективность криодеструкции в виде полной регрессии патологических оча-

гов при 3-месячном сроке наблюдения составила 85,0% (91,9% – при ограниченном АК).

Через 3 года после проведения криодеструкции под динамическим наблюдением находились 34 пациента. У 30 (88,2%) из них наблюдали отсутствие рецидивов. У 4 больных в 4 очагах был получен рецидив АК: через 1 и 1,5 года после лечения – в 2 очагах кератотической формы у 2 больных, через 2 года – в 2 очагах эритематозной и кератотической формы у 2 пациентов. В целом, частота рецидивов составила 11,8%.

Косметические результаты через 24 мес после лечения были оценены у 34 пациентов (47 очагов), в том числе как отличные у 5 (16,7%) (5 (11,6%) очагов), у 12 (40,0%) (17 (39,5%) очагов) – как хорошие и у 13 (43,3%) (21 очаг (48,9%)) – как удовлетворительные.

Таким образом, через 3 мес после ФДТ полная регрессия АК была достигнута у 37 (92,5%) больных в 144 (95,4%) очагах, при криодеструкции – у 34 (85,0%) пациентов в 47 (73,4%) очагах поражения. Частичная регрессия очагов АК после ФДТ отмечена у 3 (7,5%) больных в 7 (4,6%) очагах (во всех случаях это была кератотическая форма АК), при криодеструкции – у 6 (15,0%) пациентов в 17 (26,6%) очагах, в том числе, в 4 очагах кератотической и в 13 очагах эритематозной форм АК. Следует подчеркнуть, что у 9 неизлеченных пациентов частичная регрессия очагов после ФДТ (7 очагов (36,8%) из 19) была получена достоверно реже, чем после криодеструкции (17 (85,0%) очагов из 20) ($p < 0,05$).

Таким образом, эффективность ФДТ в отношении ближайших результатов лечения была выше, чем эффективность криодеструкции, но достоверно не отличалась ($p > 0,05$). Полная регрессия у больных ограниченным АК получена в I группе у всех 28 пациентов во всех 49 очагах, во II группе – у 34 (91,9%) в 44 (91,7%) очагах ($p > 0,05$). У больных диффузным АК полная регрессия в I группе получена у 9 пациентов в 83 (81,4%) очагах, во II группе – у 3 (7,5%) в 3 (18,8%) очагах (в остальных 13 очагах у данных 3 больных получена частичная регрессия) ($p < 0,05$).

Приведенные данные свидетельствуют о значительно более выраженной эффективности в отношении ближайших результатов лечения диффузного АК ФДТ с фотодитазинном, по сравнению с криодеструкцией (рис. 1).

Что касается побочных реакций, то при проведении сеанса ФДТ их частота была значительно ниже, чем при криодеструкции, что, по нашему мнению, было связано с избирательным фототоксическим повреждением атипичных клеток и сохранением интактными их окружающих здоровых кератиноцитов. При ФДТ отмечали умеренную серозно-геморрагическую экссудацию в 40% случаев, разрешение отека и гиперемии окружающих мягких тканей – в течение 1-3 сут после лечения. При криодеструкции в 100% случаев отмечали образование пузыря с серозно-геморрагическим содержимым, в 92,5% случаев – серозно-геморрагическую экссудацию; разрешение отека и гиперемии окружающих мягких тканей

– в течение 3-5 сут и 3-8 сут после лечения, соответственно.

Субъективные ощущения в I и II группах выражались в виде покалывания и/или жжения (80% и 100% случаев в соответствующих группах) и умеренной боли (20% и 82,5% случаев, соответственно), и они не требовали проведения анестезии. При этом в I группе боль и сильное жжение (более 40 мм по оценке VAS) отмечали непосредственно во время сеанса ФДТ. Боль и жжение сохранялись на протяжении 1-1,5 ч после лечения. Во II группе пациентов непосредственно во время криодеструкции отмечали умеренное жжение (не более 40 мм по оценке VAS), болевые ощущения и сильное жжение отмечали через 1,5-2 ч после лечения и они сохранялись в зоне деструкции до 1-3 сут.

Что касается сроков эпителизации очагов, то после ФДТ ($3,3 \pm 1,8$ нед) они были почти в 2 раза короче, чем после криодеструкции ($6,0 \pm 1,9$ нед).

При оценке отдаленных результатов лечения АК метод ФДТ показал также более высокие результаты, чем криодеструкция (рис. 2).

С минимальным фотодинамическим повреждением связаны также достоверно высокие, по сравнению с криодеструкцией, косметические результаты ($p < 0,01$) по оценке visual analogue scale (VAS).

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало высокую эффективность ФДТ с аппликационным применением фотодитазина в лечении различных клинических форм АК, как в отношении ближайших, так и отдаленных результатов.



Рис. 1. Ближайшие результаты ФДТ и криодеструкции диффузных очагов АК

Fig. 1. Short-term results of PDT and cryotherapy for diffuse actinic keratosis

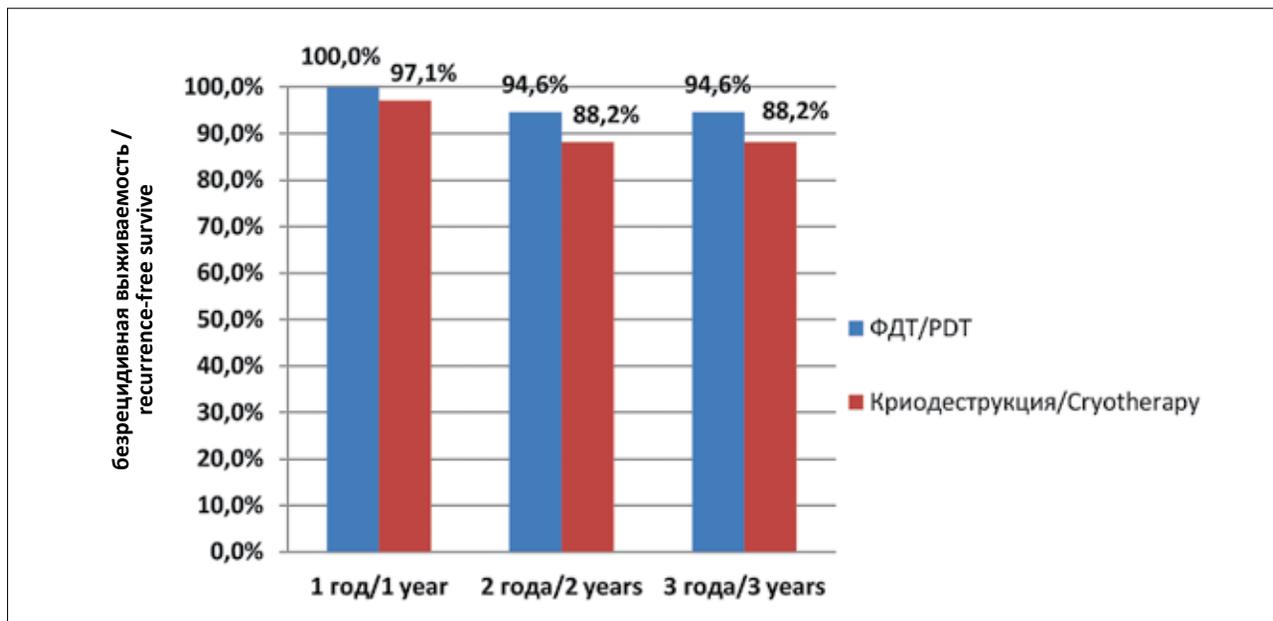


Рис. 2. Отдаленные результаты ФДТ и криодеструкции АК
Fig. 2. Long-term results of PDT and cryotherapy for actinic keratosis

Заключение

Разработана новая высокоэффективная медицинская технология – ФДТ АК с аппликационным применением отечественного фотосенсибилизатора фотодитазин.

При сравнительном анализе ближайших результатов после ФДТ и криодеструкции (полная регрессия очагов поражения в сроки наблюдения 3 мес) отмечена тенденция к более высокой эффективности ФДТ (92,5%), по сравнению с криодеструкцией (85,0%) ($p > 0,05$). Отмечена тенденция к улучшению отдаленных результатов лечения АК после ФДТ по сравнению с криодеструкцией (3-летний безрецидивный период в 94,6% и 88,2% случаев, соответственно).

ФДТ АК сопровождалась достоверно меньшей частотой побочных реакций с существенным снижением сроков эпителизации очагов поражения и обеспечивала достоверно лучшие косметические результаты, по сравнению с криодеструкцией ($p < 0,01$).

Метод ФДТ с местным применением фотодитазина может использоваться при ограниченном и диффузном АК эритематозной, кератотической, пигментной клинических форм и пролиферативного клинического варианта, а также при рецидивах заболевания.

Предложенный метод лечения обеспечивает лучший косметический эффект как в отношении ограниченных, так и диффузных очагов АК, по сравнению с криодеструкцией, и может применяться как при стационарном, так и при амбулаторном лечении больных АК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lanoue J., Do T., Goldenberg G. Therapies for actinic keratosis with a focus on cosmetic outcomes // *Cutis*. – 2015. – Vol. 96, No. 3. – P. 165-72, 93.
2. Zhao Y., Li C.Y., Wen C.M., et al. The prevalence of actinic keratosis in patients visiting dermatologists in two hospitals in China // *Br. J. Dermatol.* – 2016. – Vol. 174, No. 5. – P. 1005-1010.
3. Emilio J., Schwartz M., Feldman E., et al. Improved patient satisfaction using ingenol mebutate gel 0.015% for the treatment of facial actinic keratoses: a prospective pilot study // *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* – 2016. – Vol. 20, No. 9. – P. 89-93.

REFERENCES

1. Lanoue J., Do T., Goldenberg G. Therapies for actinic keratosis with a focus on cosmetic outcomes, *Cutis*, 2015, Vol. 96, No. 3, pp. 165-72, 93.
2. Zhao Y., Li C.Y., Wen C.M., Wei Y.B., Li R.Y., Wang G., Tu P. The prevalence of actinic keratosis in patients visiting dermatologists in two hospitals in China, *Br. J. Dermatol.*, 2016, Vol. 174, No. 5, pp. 1005-1010.
3. Emilio J., Schwartz M., Feldman E., Bieber A.K., Bienenfeld A., Jung M.K., Siegel D.M., Markowitz O. Improved patient satisfaction using ingenol mebutate gel 0.015% for the treatment of facial actinic keratoses: a prospective pilot study, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 2016, Vol. 20, No. 9, pp. 89-93.

4. Miller I.M., Vinding G., Zarchi K., et al. Differences in disease-specific quality of life in patients with actinic keratosis in Australia and Denmark // *Acta Dermatovenerol. Croat.* – 2016. – Vol. 24, No. 1. – P. 25-28.
5. Cantisani C., Paolino G., Bottoni U., Calvieri S.J. Daylight-Photodynamic Therapy for the treatment of actinic keratosis in different seasons // *Drugs Dermatol.* – 2015. – Vol. 14, No. 11. – P. 1349-1353.
6. John S.M., Trakatelli M., Gehring R., et al. Consensus report: recognizing non-melanoma skin cancer, including actinic keratosis, as an occupational disease - A Call to Action // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2016. – No. 30, Suppl. 3. – P. 38-45.
7. Yigider A.P., Kayhan F.T., Yigit O., et al. Skin diseases of the nose // *Am J. Rhinol. Allergy.* – 2016. – Vol. 30, No. 3. – P. 83-90.
8. Berman B., Stockfleth E. Field treatment of actinic keratosis with ingenol mebutate // *J. Drugs. Dermatol.* – 2016. – Vol. 15, No. 5. – P. 535-542.
9. Philipp-Dormston W.G., Sanclemente G., Torezan L., et al. Daylight photodynamic therapy with MAL cream for large-scale photodamaged skin based on the concept of 'actinic field damage': recommendations of an international expert group // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2016. – Vol. 30, No. 1. – P. 8-15.
10. Филоненко Е.В. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии // *Biomedical photonics.* – 2014. – № 1. – С. 3-7.
11. Kim M., Jung H.Y., Park H.J. Topical PDT in the treatment of benign skin diseases: principles and new applications // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16, No. 10. – P. 23259-23278.
12. Сухова Т.Е. Внутриочаговое введение фотолон при фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи // *Biomedical photonics.* – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 15-21.
13. Филоненко Е.В., Серова Л.Г. Фотодинамическая терапия в клинической практике // *Biomedical photonics.* – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 26-37.
14. Grinblat B., Galimberti G., Chouela E., et al. Daylight-mediated photodynamic therapy for actinic damage in Latin America: consensus recommendations // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2016. – Vol. 32, No. 2. – P. 81-87.
15. Ibrahim S.F., Brown M.D. Actinic keratoses: a comprehensive update // *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* – 2009. – Vol. 2, No. 7. – P. 43-48.
16. Kessels J.P., Nelemans P.J., Mosterd K., et al. Laser-mediated photodynamic therapy: an alternative treatment for actinic keratosis? // *Acta Derm. Venereol.* – 2016. – Vol. 96, No. 3. – P. 351-354.
4. Miller I.M., Vinding G., Zarchi K., Esmann S., Murrell D.F., Jemec G.B. Differences in disease-specific quality of life in patients with actinic keratosis in Australia and Denmark, *Acta Dermatovenerol. Croat.*, 2016, Vol. 24, No. 1, pp. 25-28.
5. Cantisani C., Paolino G., Bottoni U., Calvieri S.J. Daylight-Photodynamic Therapy for the treatment of actinic keratosis in different seasons, *Drugs Dermatol.*, 2015, Vol. 14, No. 11, pp. 1349-1353.
6. John S.M., Trakatelli M., Gehring R., Finlay K., Fionda C., Wittlich M., Augustin M., Hilpert G., Barroso Dias J.M., Ulrich C., Pellacani G. Consensus report: recognizing non-melanoma skin cancer, including actinic keratosis, as an occupational disease - A Call to Action, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2016, No. 30, Suppl. 3, pp. 38-45.
7. Yigider A.P., Kayhan F.T., Yigit O., Kavak A., Cingi C. Skin diseases of the nose, *Am J. Rhinol. Allergy*, 2016, Vol. 30, No. 3, pp. 83-90.
8. Berman B., Stockfleth E. Field treatment of actinic keratosis with ingenol, *J. Drugs. Dermatol.*, 2016, Vol. 15, No. 5, pp. 535-542.
9. Philipp-Dormston W.G., Sanclemente G., Torezan L., Tretti Clementoni M., Le Pillouer-Prost A., Cartier H., Szeimies R.M., Bjerring P. Daylight photodynamic therapy with MAL cream for large-scale photodamaged skin based on the concept of 'actinic field damage': recommendations of an international expert group, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2016, Vol. 30, No. 1, pp. 8-15.
10. Filonenko E.V. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy – objectives of application and possibilities in oncology, *Biomedical photonics*, 2014, No. 1, pp. 3-7. (in Russian).
11. Kim M., Jung H.Y., Park H.J. Topical PDT in the treatment of benign skin diseases: principles and new applications, *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, Vol. 16, No. 10, pp. 23259-23278.
12. Sukhova T.E. Intralesional injection of fotolon for photodynamic therapy of basal cell carcinoma, *Biomedical photonics*, 2016, Vol. 5, No. 1, pp. 15-21. (in Russian).
13. Filonenko E.V., Serova L.G. Photodynamic therapy in clinical practice, *Biomedical photonics*, 2016, Vol. 5, No. 2, pp. 26-37. (in Russian).
14. Grinblat B., Galimberti G., Chouela E., Sanclemente G., Lopez M., Alcalá D., Torezan L., Pantoja G. Daylight-mediated photodynamic therapy for actinic damage in Latin America: consensus recommendations, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, 2016, Vol. 32, No. 2, pp. 81-87.
15. Ibrahim S.F., Brown M.D. Actinic keratoses: a comprehensive update, *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, 2009, Vol. 2, No. 7, pp. 43-48.
16. Kessels J.P., Nelemans P.J., Mosterd K., Kelleners-Smeets N.W., Krekels G.A., Ostertag J.U. Laser-mediated photodynamic therapy: an alternative treatment for actinic keratosis?, *Acta Derm. Venereol.*, 2016, Vol. 96, No. 3, pp. 351-354.

МЕТОДЫ ФОТОНИКИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПРИЖИВЛЕНИЯ КОЖНЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ

В.И. Макаров¹, Е.В. Ахлюстина², Д.С. Фаррахова², Д.В. Поминова¹, А.В. Рябова^{1,2},
В.Б. Лощенов^{1,2}

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

Настоящий обзор, основанный более чем на 70 проанализированных статьях российских и зарубежных авторов, посвящен методам мониторинга состояния трансплантируемых участков кожи. В обзоре рассмотрены основные процессы, происходящие в коже на клеточном и субклеточном уровнях на разных этапах приживления трансплантата. Описаны оптические методы, позволяющие проводить неинвазивный анализ состояния кровеносных сосудов, концентрации коллагена, типа клеточного дыхания (по флуоресценции NADH). Приведена сравнительная таблица ядерных и оптических методов мониторинга состояния приживления трансплантата, наиболее широко развитых и использующихся на сегодняшний день. Отмечено, что преимущество оптических методов заключается в многофункциональности, простоте использования и интерпретации результатов, безопасности, низкой стоимости, а также в возможности использования в режиме мониторинга, в отличие от рентгено-компьютерной томографии, МРТ и УЗИ.

Подробно рассмотрено одно из перспективных направлений, используемых для улучшения качества приживления трансплантатов преимущественно за счет антимикробного эффекта – фотодинамическая терапия. Отмечено, что перспективным является использование для фотодинамической терапии кристаллических наночастиц органических фотосенсибилизаторов, в частности фталоцианина алюминия. Основная отличительная особенность их использования заключается в том, что наночастицы, введенные в область раневой поверхности или в контактную область приживляемой ткани или трансплантата, не проявляют фотоактивности до момента начала воспаления.

Сделан вывод, что актуальной является задача по разработке метода оценки состояния кожного покрова по спектроскопическим свойствам компонентов тканей (с использованием флуоресцентных красителей и фотосенсибилизаторов в молекулярной и наноформах), который позволит анализировать физиологическое состояние кожного покрова (степень и скорость приживления или отторжения), а также контролировать некоторые биохимические и физиологические параметры трансплантата или всей области поражения кожи.

Ключевые слова: флуоресцентная диагностика, спектроскопия обратного рассеяния, флуоресцентный видеоимаджинг, кожные трансплантаты, степень оксигенации, уровень кровенаполненности, спектрально чувствительные к воспалительным реакциям наночастицы.

Для цитирования: Макаров В.И., Ахлюстина Е.В., Фаррахова Д.С., Поминова Д.В., Рябова А.В., Лощенов В.Б. Методы фотоники для оценки качества приживления кожных трансплантатов (обзор) // Biomedical Photonics. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 30–40.

Контакты: Макаров В.И., e-mail: vi.makarov@physics.msu.ru

PHOTONIC METHODS FOR QUALITY EVALUATION OF SKIN ENGRAFTMENT

Makarov V.I.¹, Akhlyustina E.V.², Farrakhova D.S.², Pominova D.V.², Ryabova A.V.^{1,2},
Loschenov V.B.^{1,2}

¹General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute),
Moscow, Russia

In this review, based on more than 70 articles of Russian and foreign authors, methods of skin engraftment monitoring are discussed. Main processes occurring in skin on cellular and subcellular levels at different stages of engraftment are considered. Optical methods which allow performing non-invasive analysis of blood vessels, collagen concentration and form of cellular respiration (by NADH fluorescence) are described. Comparative analysis of nuclear and optical methods for engraftment monitoring highly developed and widespread nowadays is presented. The advantages of optical methods includes multifunctionality, usability and clarity of results, safety and low cost. In contrast to X-ray CT, MRI and ultrasound, optical methods can be used in monitoring mode.

One of the promising directions for improving quality of engraftment due to antibacterial effect, photodynamic therapy, is described in details. The use of crystalline organic nanophotosensitizers (particularly aluminum phthalocyanine) is shown to be the most promising. The main distinctive feature of its application is that nanoparticles injected into wound surface or contact area of tissue graft are not photoactive until the moment the inflammation starts.

The development of method for assessing skin condition by spectroscopic properties of tissue components (using fluorescent dyes and photosensitizers in molecular and nanoforms), which allows analyzing physiological state of skin (degree and rate of engraftment or rejection) and controlling certain biochemical and physiological parameters of a tissue graft or an entire area of affected skin is shown to be crucial.

Keywords: fluorescent diagnosis, backscattering spectroscopy, fluorescence video-imaging, skin grafts, degree of oxygenation, level of blood supply, nanoparticles spectrally sensitive to inflammatory reactions.

For citations: Makarov V.I., Akhlyustina E.V., Farrakhova D.S., Pominova D.V., Ryabova A.V., Loschenov V.B. Photonic methods for quality evaluation of skin engraftment (review), *Biomedical Photonics*, 2016, T. 5, No. 3, pp.30–40 (in Russian).

Contacts: Makarov V.I., e-mail: vi.makarov@physics.msu.ru

Введение

Трансплантационная медицина является одной из самых сложных областей современного здравоохранения. За последние 20 лет результаты приживления после трансплантации органов и тканей значительно улучшились в связи с использованием мощных иммуносупрессивных препаратов для предотвращения острого отторжения [1]. Однако диагностика отторжения до сих пор остается нерешенной проблемой.

Независимо от типа пересаженного органа острое отторжение является одной из основных причин функционального отказа при трансплантации, а также основным фактором риска и сокращения срока службы трансплантата. В настоящее время существуют неинвазивные методы оценки качества приживления трансплантата: по уровню сывороточных белков, содержанию креатинина (в случае пересадки почки) [2] и субъективным визуальным признакам, однако они являются недостаточно точными и информативными [1,3-4].

Единственным, на сегодняшний день, точным методом определения типа и фактора отторжения является биопсия. Однако постановка диагноза таким методом требует временных затрат, представляет опасность для пациента, а также может быть недостаточно точной в связи с ошибкой выборки места биопсии из-за очагового характера отторжения [1,2,4,5]. Повторные биопсии кожи также могут привести к образованию рубцов, что является значительной эстетической проблемой в случае открытых участков кожи. Таким образом, быстрый и неинвазивный количественный мониторинг приживления трансплантата остается актуальной задачей [1,7-9]. В данном обзоре рассмотрены подходы к решению проблемы диагностики отторжения трансплантатов при помощи оптических методов исследования.

Методы фотоники в исследованиях механизма приживления трансплантата

Для разработки методики оценки качества заживления раны важно понимание особенностей процес-

сов, происходящих в коже на разных интервалах времени после повреждения на клеточном и субклеточном уровнях [10]. Состояние различных компонентов и структур, составляющих кожный покров и принимающих непосредственное участие в восстановлении повреждения, может быть оценено с помощью следующих методов фотоники:

- метод гиперспектральных изображений с введением контрастных агентов (позволяет оценить скорость кровотока и лимфотока);
- метод регистрации обратно рассеянного излучения (позволяет оценить степень оксигенации гемоглобина, скорость утилизации O_2 , кровенаполненность тканей и скорость роста сосудов);
- метод регистрации генерации второй гармоники (позволяет оценить внутритканевую концентрацию коллагеновых волокон).

Процесс заживления кожных ран традиционно делат на три фазы: (I) воспалительная фаза, начинается сразу после повреждения ткани, (II) фаза пролиферации, которая длится 2-10 дней после повреждения, и (III) фаза восстановления, начинается через 2-3 нед после травмы и длится до года и более [10]. Поскольку процесс заживления достаточно длительный, необходимо иметь портативные, быстрые, неинвазивные методы, позволяющие проводить мониторинг состояния кожного трансплантата в любой момент времени.

В воспалительной фазе важную роль играют клетки крови. При повреждении происходит локальная активация врожденной иммунной системы, что приводит к притоку нейтрофилов с последующим притоком моноцитов, которые дифференцируются в тканевые макрофаги. Они отвечают за захват и переваривание бактерий, остатков погибших клеток и других чужеродных или токсичных для организма частиц. С помощью введения специальных флуоресцентных меток или наночастиц, которые воспринимаются организмом как чужеродные и захватываются макрофагами, можно проводить анализ концентрации макрофагов на разных этапах заживления повреждений. Одним из примеров является взаимодействие

наночастиц фталоцианина алюминия с макрофагами, при котором возникает интенсивная флуоресценция и наблюдается изменение кинетики затухания флуоресценции. При этом, анализируя флуоресценцию, можно количественно оценить концентрацию внутритканевых макрофагов [11].

Макрофаги высвобождают инсулиноподобный (IGF-I), гепаринсвязывающий эпидермальный (HB-EGF), тромбоцитарный (PDGF) факторы роста, а также факторы роста фибробластов (FGF) и эндотелия сосудов (VEGF). В фазе пролиферации происходят формирование грануляционной ткани, реэпителизация и уменьшение размеров раны. В этот период начинается образование новых сосудов (ангиогенез и неоваскуляризация). Новые капилляры вместе с фибробластами и макрофагами заменяют фибриновый матрикс на грануляционную ткань. Существует актуальное направление фотоники по ускорению ангиогенеза в тканях при воздействии лазерным излучением [12-14].

Фибробласты, мигрировавшие от края раны или из костного мозга, стимулируются макрофагами, а некоторые дифференцируются в миофибробласты. Миофибробласты являются сократительными клетками, которые с течением времени сшивают края раны вместе. Фибробласты и миофибробласты взаимодействуют и производят внеклеточный матрикс, главным образом, в форме коллагена, который, в конечном счете, образует основную часть зрелого рубца. Возможность количественной оценки коллагена в тканях оптическими методами будет описана далее. Функция макрофагов на стадии восстановления заключается в стабилизации сосудистых структур и переходе грануляционной ткани в рубцовую ткань [15]. Вследствие миграции кератиноцитов и их пролиферации происходит повторная эпителизация.

В фазе восстановления или ремоделирования миофибробластические и избыточные сосудистые клетки претерпевают апоптоз [16]. Апоптоз миофибробластов и сосудистых клеток является переходной фазой от грануляционной ткани к рубцу. В этот период за счет активации коллагеназы вновь происходит расщепление и переработка избыточного скопления коллагеновых волокон. Снижение концентрации макрофагов во время стадии восстановления не вызывает существенных морфологических изменений, что указывает на незначительную роль макрофагов во время созревания ткани и образовании рубца [15]. Оптические методы позволяют определять стадию перехода одного процесса в другой (от фазы пролиферации к фазе восстановления), что, например, может помочь более точно определить оптимальный период для проведения фотодинамической терапии [17-19], чтобы обеспечить положительный косметический эффект при деградации рубца.

Спектроскопические методы определения типов клеточного дыхания

NADH (никотинамидадениндинуклеотид), NADPH-оксидаза (никотинамидадениндинуклеотидфосфат-оксидаза) и флавины (отвечающие за метаболические процессы в клетке) имеют индивидуальные спектры поглощения и флуоресценции, которые позволяют отличить их от других биологических соединений.

Кофермент NADH необходим для окислительно-восстановительных реакций и энергетического метаболизма в живых клетках [20-22]. Существует большой потенциал для клеточного NADH, как природного флуоресцентного биомаркера для ряда процессов, таких как апоптоз [23], окислительно-восстановительные реакции [23,24], митохондриальные аномалии, связанные с развитием рака [20,25-27], и нейродегенеративные заболевания [28]. Это связано с тем, что концентрация и распределение NADH в живых клетках чувствительны к физиологии [29,30] и патологии [31] клетки.

Первые исследования типа клеточного дыхания были основаны на использовании флуоресцентного излучения восстановленной формы NADH [32-34]. При ускоренном метаболизме увеличивается скорость дыхания, что приводит к уменьшению соотношения $NADH/NAD^+$ и снижению интенсивности флуоресценции NADH. При ограничении скорости доставки кислорода, например, в области ишемии сердечной мышцы или головного мозга, интенсивность дыхания снижается, а интенсивность флуоресценции NADH возрастает. Следовательно, флуоресценция NADH может использоваться для мониторинга клеточного дыхания [35]. Однако, несмотря на быстроту и простоту получения результатов, некоторые исследователи придерживаются мнения, что переход от нормоксии к кислородной недостаточности (аноксии) проявляется не только в увеличении отношения $NADH/NAD^+$ (с прекращением митохондриального дыхания), но и в изменении количества энзим-связанных молекул NADH. Так как средняя интенсивность флуоресценции определяется произведением концентрации и времени жизни флуоресценции для каждого конформационного состояния флуорофора, изменение его состояния также приводит к изменению интенсивности флуоресценции при постоянной концентрации NADH и непрерывном режиме лазерного возбуждения. Вышеприведенные исследования показывают, что метод визуализации времени жизни флуоресценции может быть более надежным показателем клеточного метаболизма, чем метод, основанный на анализе интенсивности.

В клетке NADH может находиться в двух состояниях: свободном (в цитозоле) и связанном (внутри

митохондрии, за счет связывания кофермента с лактатдегидрогеназой и малатдегидрогеназой). В работе [36] оценка типа дыхания клеток (аэробное или анаэробное) на разных этапах заживления проводилась путем мониторинга соотношения времен жизни флуоресценции свободного и связанного NADH. При переходе от свободной к связанной форме NADH время жизни флуоресценции увеличивается от 0,4 до 2,5 нс [37]. Рассчитав время затухания флуоресценции по двойной экспоненциальной модели, можно определить соотношение концентраций этих форм.

В. Chance в своих работах [38-40] использовал клеточную аутофлуоресценцию в качестве биомаркера дыхательной функции и митохондриальной деятельности, используя лазерное возбуждение ($\lambda=360$ нм). Так как внутриклеточный уровень NADH (флуоресцирующая форма) и NAD^+ (не флуоресцирующая форма) со временем уравниваются, можно предположить, что наблюдаемое увеличение концентрации NADH при физиологической манипуляции той же клетки будет соответствовать уменьшению NAD^+ на эту же величину. На основании анализа [24,41] в нормальных клетках молочной железы (Hs578Bst) доля внутриклеточного свободного NADH составляет $F_{\text{свободный}} = 0,18 \pm 0,08$, что значительно меньше, чем доля энзим-связанной фракции ($F_{\text{связанный}} = 0,82 \pm 0,08$). В раковых клетках молочной железы (HS578T), значения составляют: $F_{\text{свободный}} = 0,25 \pm 0,08$ и $F_{\text{связанный}} = 0,75 \pm 0,07$. Несмотря на то, что результаты достаточно близки по значениям, тем не менее нормальные и раковые клетки являются статистически различимыми (критерий Стьюдента, $p < 0,05$). Таким образом, полученные результаты позволяют неинвазивно оценивать тип дыхания клеток *in vitro*.

В работе [42] был предложен неинвазивный способ определения типа дыхания клеток и состояния заживления раны кожи крысы, при помощи контроля отношения свободного NADH к связанному с использованием время-разрешенной флуоресцентной микроскопии.

Стоит учитывать, что полоса поглощения NADH находится в УФ-диапазоне, а максимум флуоресценции – в синей области спектра (460 ± 30 нм), что ограничивает глубину проникновения излучения (длины волн менее 300 нм проникают на несколько клеточных слоев, 320-400 нм – проникает на глубину несколько сотен мкм, 400-600 нм – на глубину 0,5-2,5 мм, 600-1500 нм – на глубину 0,8-1,0 мм [43]). Однако, существует метод двухфотонного возбуждения NADH, который позволяет проникать глубже в ткань, поскольку длина волны возбуждения находится в ближнем ИК диапазоне [44,45]. Метод однофотонного возбуждения для оценки клеточного дыхания

может быть применен для исследовательских работ на клеточных культурах и на хорошо очищенных поверхностях биотканей.

Количественное определение коллагена в ткани при заживлении

Коллаген — фибриллярный белок, составляющий основу соединительной ткани организма (сухожилие, кость, хрящ, дерма и т.п.) и обеспечивающий её прочность и эластичность. Коллагеновые волокна являются нелинейным оптическим материалом, поэтому при их взаимодействии с фемтосекундным лазерным излучением ($\lambda=740$ нм) происходит генерация второй гармоники (ГВГ), в результате которой длина волны уменьшается в два раза [37,42]. Чем выше интенсивность регистрируемого излучения на длине волны 370 нм, тем, соответственно, выше концентрация коллагена в ткани, что является благоприятным фактором для заживления раны.

В работе [42] после формирования раны наиболее интенсивный сигнал ГВГ отмечался на краю, в отличие от центральной области повреждения, что объясняется наличием непосредственной связи края раны с неповрежденными тканями, за счет которой обеспечивается активный приток новых клеток и необходимых для жизни и роста элементов. Разница между интенсивностями сигнала на краю и в центре повреждения начала уменьшаться после пятнадцатого дня, т.к. рана вступила в фазу восстановления [46].

Методы фотоники для мониторинга эффективности терапии при приживлении трансплантата кожи

За последние десятилетия были разработаны методы для визуализации тканевой перфузии [47-51]. Большинство из этих методов используют диффузно рассеянный от кожи свет. Оценка состояния микроциркуляторного русла кожи позволяет определять патологии, вызванные сосудистой дисфункцией, в том числе гипертонию [52], диабет [53] и некоторые другие периферийные сосудистые заболевания [54]. На сегодняшний день наиболее широко развиты и используются следующие методы визуализации (табл.).

Преимущество оптических методов заключается в многофункциональности, простоте, безопасности и низкой стоимости. В отличие от рентгено-компьютерной томографии, МРТ и УЗИ [72,73], они также могут быть использованы в режиме мониторинга. Кроме мягких тканей, оптические методы могут применяться и для твердых тканей, таких как костная ткань, зубная эмаль, дентин и цемент, а также для хрящей, сухожилий и связок.

Таблица

Современные методы визуализации состояния органов и ткани

Table

Current methods of imaging for tissues and organs

Метод Method	Описание Definition (basic principles)	Преимущества Advantages	Ограничения Disadvantages
Рентгеновские и ядерные X-ray and nuclear			
КТ-ангиография [53] CT-angiography [53]	Томография КТ в поперечном сечении, обеспечивает реконструкцию сосудистой сети на 360 градусов. Cross-sectional CT provides the reconstruction of vasculature by 360 degrees.	Быстрый, неинвазивный метод, более дешевый, чем традиционная ангиография. Fast, non-invasive, cheaper than traditional angiography.	Нефротоксичность йодированного контраста, низкое разрешение (3 мм) [55] и изменение визуализации при кальцификации сосудов. Nephrotoxicity of iodinated contrast, low resolution (3 mm) [55] and artifacts if vascular calcification is present.
Однофотонная эмиссионная томография (ОФЭКТ) [53] Single-photon emission computed tomography (SPECT) [53]	Небольшое количество радиоактивных веществ, вводящееся внутривенно, используются со специальными камерами для получения изображений сосудистой системы нижних конечностей и кровеносных сосудов. Low dose of radioactive substances introduced intravenously is used with special cameras for imaging the vascular system of the lower limbs and the blood vessels.	Неинвазивный, может использоваться для имаджинга после процедуры реваскуляции [55]. Non-invasive, can be used for imaging after revascularization [55].	Низкое разрешение (объемное разрешение 5,8 мл) [55]. Low resolution (volumetric resolution is 5.8 ml) [55].
Магнитно-резонансная ангиография [53] Magnetic resonance angiography (MRA) [53]	MPT в поперечном сечении, обеспечивает реконструкцию сосудистой сети на 360 градусов. Cross-sectional MRI imaging, provides the reconstruction of vasculature by 360 degrees.	Неинвазивный, не затемняется при кальцификации сосудов. Non-invasive, not obscured by vascular calcification.	Долгое время и высокая стоимость обучения. Низкая разрешающая способность (3 мм) [55]. Нефротоксичность некоторых контрастных агентов, высокая стоимость, венозные артефакты. Long and expensive training, low resolution (3 mm) [55]. Nephrotoxicity of some contrast agents, high cost, venous artifacts.
Акустические и фотоакустические Acoustic and photoacoustic			
Ультразвуковая диагностика [53] Ultrasound [53]	Сонография для визуализации диаметра сосудов, преград, потока крови. Метод основан на регистрации отраженных УЗ сигналов. Ultrasound imaging for visualization of vascular diameter, obstructions and blood flow. The method is based on the registration of the reflected ultrasound signals.	Быстрый, неинвазивный, дешевый. Fast, non-invasive, low-cost.	Применение ограничено пользовательскими навыками, разрешающая способность (1-5 мм) [55], сложность оценки перфузии в дистальных и мелких сосудов в голени и стопе. Limited by user skills, resolution (1-5 mm) [55], the difficulty of the assessment of perfusion in the distal and small blood vessels in the lower leg and foot.
Сверхбыстрая фотоакустическая проточная цитометрия [54, 56] Ultra-fast photoacoustic flow cytometry [54, 56]	Исследования количества и качества клеток в ходе их перемещения через очень узкий капилляр диаметром 50-150 мкм при помощи лазера [57]. Quantitative and qualitative study of cells during their movement through a very narrow capillary of 50-150 microns in diameter using laser [57].	Высокая чувствительность и разрешающая способность на глубине от 0,5 мм [57]. High sensitivity and resolution at the depth of 0.5 mm [57].	Чувствительность ограничена потенциальной токсичностью доступных флуоресцентных меток. The sensitivity is limited by the potential toxicity of the available fluorescent labels.
Оптические Optical			
Допплеровская флоуметрия (физиологический) [52-54] Laser doppler flowmetry (LDF) (physiological) [52-54]	Регистрация частотного сдвига излучения при отражении от движущихся объектов, например, эритроцитов. Предназначен для оценки скорости кровотока в сосудах и используется в качестве индекса микроциркуляции кожи. Registration of radiation frequency shift after reflection by moving objects, such as red blood cells. Designed for assessing blood flow speed in vessels and used as an index of the skin microcirculation.	Быстрый, неинвазивный, дешевый. Fast, non-invasive, low-cost.	Применение ограничено пользовательскими навыками и телосложением пациента, не может обеспечить абсолютные величины перфузии. Разрешение 1 мм ³ [58]. The appreciation is limited by user skills and body habitus of the patient, does not provide absolute values of perfusion. Resolution is 1 mm ³ [58].

Метод Method	Описание Definition (basic principles)	Преимущества Advantages	Ограничения Disadvantages
Лазерная спекловая визуализация (LSCI) [52] Laser speckle contrast imaging (LSCI)[52]	Флуктуации интенсивности размытия спекла, вызванные движением частиц в освещенной среде, формируют изображение. Уменьшая контрастность, подбирают необходимый уровень для определения скорости перемещения эритроцитов. Fluctuations of the speckle blur intensity caused by movement of particles in illuminated medium form an image. By decreasing the contrast the necessary level for measuring velocity of red blood cells is selected.	LSCI изображение кожной микроциркуляции с высоким разрешением и контрастностью. High resolution and contrast for skin microcirculation.	Непрозрачность кожи скрывает динамическую информацию о кровотоке и снижает разрешение и контрастность изображения. Opacity of skin hides the dynamic information about blood flow and reduces the resolution and contrast of the image.
Метод гиперспектральных изображений (HSI) [53] Hyperspectral imaging (HSI) [53]	Сканирующая спектроскопия для визуализации тканевой перфузии на уровне микрососудов. Оценка концентрации оксигемоглобина и дезоксигемоглобина. Также существует метод гиперспектральных изображений с введением внутривенно контрастных агентов для визуализации сосудистой и области тканевой перфузии. Scanning spectroscopy for tissue perfusion visualization on microvascular level. Concentration of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin evaluation. There is also a method of hyperspectral imaging with intravenous injection of contrast agents for visualization of vascular and tissue perfusion.	Неинвазивный, может использоваться для имаджинга после процедуры реваскуляции. Non-invasive, can be used for imaging after revascularization.	Нефротоксичность некоторых контрастных агентов. Nephrotoxicity of some contrast agents.
Оптическая когерентная томография (ОКТ) [59,60] Optical coherence tomography (OCT) [59,60]	Позволяет отображать тонкие слои кожи и слизистые оболочки. Allows displaying thin layers of the skin and mucous membranes.	Бесконтактный, неинвазивный, большая глубина изображения [61-63]. Non-contact, non-invasive, large probing depth [61-63].	Низкое разрешение и дефицит эндогенного контраста без использования контрастных агентов. Low resolution and a lack of endogenous contrast without using the contrast agents.
Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия с двухфотонным возбуждением флуоресценции (TPEF) [64] Two-photon excitation microscopy (TPEF) [64]	Исследование тканей на глубине более 1 мм, с помощью двухфотонного возбуждения флуоресценции [64]. Investigation of tissues at depth more than 1 mm using a two-photon fluorescence excitation [64].	Обеспечивает клеточное разрешение и уникальные контрастные возможности. Provides cellular resolution and unique contrast possibilities.	Небольшая глубина проникновения и ограниченный контраст. Некоторая энергия теряется в процессе релаксации возбужденного состояния [65]. Small depth of penetration and limited contrast. Some energy is lost in the process of relaxation of the excited state [65].
Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия с возможностью генерации второй и третьей гармоник [66] Reflection confocal microscopy (RCM) [66]	Визуализация клеточной и тканевой структуры и функции. Visualization of cell and tissue structure and function.	Обеспечивает клеточное разрешение и уникальные контрастные возможности, нет фототоксичности и фотобликинга. Provides cellular resolution and unique contrast possibilities, no phototoxicity and photobleaching.	Небольшая глубина проникновения и ограниченный контраст. Small depth of penetration and limited contrast.
Флуоресцентная время-разрешенная микроскопия (FLIM) [67-70] Fluorescence-lifetime imaging microscopy (FLIM) [67-70]	Формирования изображения на основе изменений жизни флуоресценции специфических флуорофоров. Visualization based on fluorescence lifetime changes of specific fluorophores.	Неинвазивный, позволяет различать флуоресценцию, исходящую от различных флуорохромов [71]. Разрешение ограничено разрешением микроскопа. Non-invasive, allows distinguishing between fluorescence emitted by different fluorophores [71]. Resolution is limited by the resolution of the microscope.	Высокая стоимость, длительное время сканирования. High cost, long scanning time.

Использование фотосенсибилизаторов в молекулярной и наноформе при трансплантации

Существует несколько достаточно эффективных лекарственных и физиотерапевтических методов, ускоряющих приживление кожи. Тем не менее, в ряде случаев, особенно это касается обширных участков поражения, приживление протекает медленно или происходит отторжение тканей с отягощающими процессами септического характера. Антибиотики, применяемые для борьбы с септическим воспалением, оказываются неэффективными в связи возрастающей резистентностью микрофлоры [45,74,75]. Поэтому в настоящее время во многих странах ведутся активные поиски лекарственных средств, к которым не возникает устойчивость патогенной микрофлоры. Одним из перспективных направлений является применение фотосенсибилизаторов, действие которых основано на разрушении молекулярных связей за счет производства активных форм кислорода в результате взаимодействия трех компонентов: фотосенсибилизатора, света и молекулярного кислорода, растворенного в биоткани. При этом не вырабатывается резистентность микрофлоры к их действию. Было обнаружено, что фотосенсибилизаторы могут быть использованы не только при внутривенном, но и при местном применении, что очень важно для ослабленного организма при значительных ожоговых поражениях кожи.

Одним из многообещающих и уже сейчас демонстрирующих перспективные результаты методов является использование кристаллических наночастиц органических фотосенсибилизаторов [76]. Основная отличительная особенность их использования заключается в том, что наночастицы, введенные в область раневой поверхности или в контактную область приживляемой ткани или трансплантата, не проявляют фотоактивности до момента начала воспаления, что выражается в отсутствии флуоресценции и отсутствии фотодинамического эффекта. При попадании инфекции в контактную область под воздействием микрофлоры, наночастицы начинают флуоресцировать. При облучении светом определенной длины волны возникает фотодинамический эффект, приводящий к гибели патогенной микрофлоры. Также стоит отметить перспективность применения кристаллических наночастиц фталоцианина алюминия и для подавления асептического воспаления [11].

Заключение

Таким образом, можно сделать вывод, что в настоящее время актуальной является задача по разработке метода оценки состояния кожного покрова по спектроскопическим свойствам компонентов тканей (с использованием флуоресцентных красителей и фотосенсибилизаторов в молекулярной и наноформах), которая позволит оценивать физиологическое состояние кожного покрова (степень и скорость приживления или отторжения), а также контролировать несколько биохимических и физиологических параметров трансплантата или всей области поражения кожи:

1) степень оксигенации гемоглобина в микроциркуляторном русле ткани с помощью анализа спектров обратного диффузного рассеянного излучения;

2) уровень кровенаполненности, с помощью расчета доли поглощенного гемоглобином излучения по сравнению с другими структурными компонентами кожи;

3) скорость кровотока методом гиперспектральных изображений с введением контрастных агентов, например, индоцианина зеленого, в динамике при помощи регистрации и анализа мультиспектральных изображений;

4) внутриклеточный метаболизм и клеточное дыхание (аэробное/анаэробное), с помощью регистрации интенсивности флуоресценции NADH по сравнению с нормой (количественная концентрация NADH в клетках может быть рассчитана путем сравнения с концентрациями известных оптических фантомов).

Существует принципиальная возможность определять в режиме мониторинга все эти параметры. Разработаны методы и приборы, позволяющие по отдельности измерять и анализировать соответствующие спектральные данные. В связи с этим, важной задачей является разработка методики и создание устройства, позволяющего определять эти параметры одновременно в виде мультиспектральных видеоизображений, включая флуоресцентные изображения и изображения в ближнем инфракрасном диапазоне.

Исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ №15-29-04869 офи_м "Разработка спектроскопического метода оценки неоангиогенеза при приживлении кожных трансплантатов с применением наночастиц спектрально чувствительных к воспалительным реакциям".

ЛИТЕРАТУРА

1. Butler K.S., Lovato D.M., Adolphi N.L., et al. Development of Antibody-Tagged Nanoparticles for Detection of Transplant Rejection Using Biomagnetic Sensors // *Cell Transplantation*. – 2013. – Vol. 22, No. 10. – P. 1943-54.
2. Li C., Yang C.W. The pathogenesis and treatment of chronic allograft nephropathy // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2009. – Vol. 5, No. 9. – P. 513-19.
3. Durrbach A., Francois H., Beaudreuil S., et al. Advances in immunosuppression for renal transplantation // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2010. – Vol. 6, No. 3. – P. 160-7.
4. Galante N. Z., Tedesco H.S., Machado P. G., et al. Acute rejection is a risk factor for long-term survival in a single-center analysis of 1544 renal transplants // *Transplant. Proc.* – 2002. – Vol. 34, No. 2. – P. 508-13.
5. Zdichavsky M., Jones J.W., Ustuner E.T., et al. Scoring of skin rejection in a swine composite tissue allograft model // *J Surg Res.* – 1999. – Vol. 85, No. 1. – P. 1-8.
6. Patil D.T., Yerian L.M. Pancreas transplant: Recent advances and spectrum of features in pancreas allograft pathology // *Adv. Anat. Pathol.* – 2010. – Vol. 17, No. 3. – P. 202-8.
7. Dillman J.R., Elsayes K. M., Bude R.O., et al. Imaging of pancreas transplants: Postoperative findings with clinical correlation // *J. Comput. Assist. Tomogr.* – 2009. – Vol. 33, No. 4. – P. 609-17.
8. Gwinner W. Renal transplant rejection markers // *World J. Urol.* – 2007. – Vol. 25, No. 5. – P. 445-55.
9. Schwarz A., Gwinner W., Hiss M., et al. Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies // *Am. J. Transplant.* – 2005. – Vol. 5, No. 8. – P. 1992-6.
10. Yamaguchi Y., Yoshikawa K. Cutaneous Wound Healing: An Update // *Journal of dermatology.* – 2001. – Vol. 28, No. 10. – P. 521-34.
11. Быстров Ф.Г., Макаров В.Г., Поминова Д.В., и др. Исследование кинетики затухания фотолюминесценции молекулярных нанокристаллов фталоцианина алюминия при взаимодействии с иммунокомпетентными клетками // *Biomedical photonics.* – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 3-8.
12. Salate A.C.B., Barbosa G., Gaspar P., et al. Effect of In-Ga-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats // *Photomedicine and laser surgery.* – 2005. – Vol. 23, No. 5. – P. 470-5.
13. Garavello I., Baranauskas V., da Cruz-Hofling M.A. Effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae // *Histol histopathol.* – 2004. – Vol. 19, No. 1. – P. 43-8.
14. Loschenov V.B., Stratonnikov A.A., Vasilchenko S.Yu., et al. Development of the myocardial photodynamic revascularization method // *SPIE Proceedings.* – 2004. – No. 5486. – P. 347-51.
15. Lucas T., Waisman A., Ranjan R., et al. Differential Roles of Macrophages in Diverse Phases of Skin Repair // *The Journal of Immunology.* – 2010. – Vol. 184, No. 7. – P. 3964-77.
16. Desmouliere A., Redard M., Darby I., Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar // *Am J Pathol.* – 1995. – Vol. 146, No. 1. – P. 56-66.
17. Carniol P., Sadick N.S. Clinical Procedures in Laser Skin Rejuvenation. – Informa healthcare, 2007. – P. 59-62.
18. Campos de Menezes P.F., Requena M.B., Rosa R.G.T., et al. Modification of collagen fiber after PDT in porcine skin models by two photons microscopy analysis // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* – 2015. – Vol. 12, No. 3. – P. 335.
19. Li T., Huang Z.F., Wang H.W., et al. Evaluation of collagen alteration after topical photodynamic therapy (PDT) using second harmonic generation (SHG) microscopy – in vivo study in a mouse model // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* – 2012. – Vol. 9, No. 2. – P. 164-9.

REFERENCES

1. Butler K.S., Lovato D.M., Adolphi N.L., Belfon R., Fegan D.L., Monson T.C., Hathaway H.J., Huber D.L., Tessier T.E., Bryant H.C., Flynn E.R., Larson R.S. Development of Antibody-Tagged Nanoparticles for Detection of Transplant Rejection Using Biomagnetic Sensors, *Cell Transplantation*, 2013, Vol. 22, No. 10, pp. 1943-54.
2. Li C., Yang C.W. The pathogenesis and treatment of chronic allograft nephropathy, *Nat. Rev. Nephrol.*, 2009, Vol. 5, No. 9, pp. 513-19.
3. Durrbach A., Francois H., Beaudreuil S., Jacquet A., Charpentier B. Advances in immunosuppression for renal transplantation, *Nat. Rev. Nephrol.*, 2010, Vol. 6, No. 3, pp. 160-7.
4. Galante N.Z., Tedesco H.S., Machado P.G., Pacheco-Silva A., Medina-Pestana J.O. Acute rejection is a risk factor for long-term survival in a single-center analysis of 1544 renal transplants, *Transplant. Proc.*, 2002, Vol. 34, No. 2, pp. 508-13.
5. Zdichavsky M., Jones J.W., Ustuner E.T., Ren X., Edelstein J., Maldonado C., Breidenbach W., Gruber S.A., Ray M., Barker J. H. Scoring of skin rejection in a swine composite tissue allograft model, *J Surg Res.*, 1999, Vol. 85, No. 1, pp. 1-8.
6. Patil D. T., Yerian L. M. Pancreas transplant: Recent advances and spectrum of features in pancreas allograft pathology, *Adv. Anat. Pathol.*, 2010, Vol. 17, No. 3, pp. 202-8.
7. Dillman J.R., Elsayes K.M., Bude R.O., Platt J.F., Francis I.R. Imaging of pancreas transplants: Postoperative findings with clinical correlation, *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 2009, Vol. 33, No. 4, pp. 609-17.
8. Gwinner W. Renal transplant rejection markers, *World J. Urol.*, 2007, Vol. 25, No. 5, pp. 445-55.
9. Schwarz A., Gwinner W., Hiss M., Radermacher J., Mengel M., Haller H. Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies, *Am. J. Transplant.*, 2005, Vol. 5, No. 8, pp. 1992-6.
10. Yamaguchi Y., Yoshikawa K. Cutaneous Wound Healing: An Update, *Journal of dermatology*, 2001, Vol. 28, No. 10, pp. 521-34.
11. Bystrov F.G., Makarov V.G., Pominova D.V., Ryabova A.V., Loshchenov V.B. Analysis of photoluminescence decay kinetics of aluminum phthalocyanine nanoparticles interacting with immune cells, *Biomedical photonics*, 2016, Vol. 5, No. 1, pp. 3-8. (in Russian).
12. Salate A.C.B., Barbosa G., Gaspar P., Koeke P.U., Parizotto N.A., Benze B.G., Foschiani D. Effect of In-Ga-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats, *Photomedicine and laser surgery*, 2005, Vol. 23, No. 5, pp. 470-5.
13. Garavello I., Baranauskas V., da Cruz-Hofling M.A. Effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae, *Histol histopathol*, 2004, Vol. 19, No. 1, pp. 43-8.
14. Loschenov V.B., Stratonnikov A.A., Vasilchenko S.Yu., Volkova A.I., Kharnas S.S., Sheptak E.A. Development of the myocardial photodynamic revascularization method, *SPIE Proceedings*, 2004, No. 5486, pp. 347-51.
15. Lucas T., Waisman A., Ranjan R., Roes J., Krieg T., Muller W., Roers A, Eming S.A. Differential Roles of Macrophages in Diverse Phases of Skin Repair, *The Journal of Immunology*, 2010, Vol. 184, No. 7, pp. 3964-77.
16. Desmouliere A., Redard M., Darby I., Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar, *Am J Pathol*, 1995, Vol. 146, No. 1, pp. 56-66.
17. Carniol P., Sadick N.S. *Clinical Procedures in Laser Skin Rejuvenation*. Informa healthcare Publ., 2007, pp. 59-62.
18. Campos de Menezes P.F., Requena M.B., Rosa R.G.T., Pratavieira S., Fujita A.K. L., Kurachi C., Escobar A., Wendler da Rocha R., Barboza de Nardi A., Bagnato V.S. Modification of collagen fiber after PDT in porcine skin models by two photons microscopy analysis, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2015, Vol. 12, No. 3, p. 335.

20. Modica-Napolitano J.S., Singh K.K. Mitochondrial dysfunction in cancer // *Mitochondrion*. – 2004. – Vol. 4, No. 5-6. – P. 755-62.
21. Scheffler I.E. *Mitochondria*. – New York: Wiley-Liss, 1999.
22. Stryer L. *Biochemistry*. – New York: W. H. Freeman and Company, 1999.
23. Ying W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: Regulation and biological consequences // *Antioxid Redox Signal*. – 2008. – Vol. 10, No. 2. – P. 179-206.
24. Skala M.C., Riching K.M., Gendron-Fitzpatrick A., et al. In vivo multiphoton microscopy of NADH and FAD redox states, fluorescence lifetimes, and cellular morphology in precancerous epithelia // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2007. – Vol. 104, No. 49. – P. 19494-9.
25. Warburg O. On the origin of cancer cells // *Science*. – 1956. – Vol. 123, No. 3191. – P. 309-14.
26. Carew J.S., Huang P. Mitochondrial defects in cancer // *Mol Cancer*. – 2002. – Vol. 1, No. 9. – P. 9.
27. Modica-Naplitano J.S., Singh K.K. Mitochondria as targets for detection and treatment of cancer // *Expert Reviews in Molecular Medicine*. – 2002. – Vol. 4, No. 9. – P. 1-18.
28. Cassarion D.S., Bennett J.P. An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutation and oxidative pathology, protective nuclear response, and cell death in neurodegeneration // *Brain Research Reviews*. – 1999. – Vol. 29, No. 1. – P. 1-25.
29. Vishwasrao H.D., Heikal A.A., Kasischke K.A., Webb W.W. Conformational dependence of intracellular NADH on metabolic state revealed by associated fluorescence anisotropy // *J Biol Chem*. – 2005. – Vol. 280, No. 26. – P. 25119-26.
30. Bird D.K., Yan L., Vrotsos K.M., et al. Metabolic mapping of MCF 10A human breast cells via multiphoton fluorescence lifetime imaging of the coenzyme NADH // *Cancer Res*. – 2005. – Vol. 65, No. 19. – P. 8766-73.
31. Uppal A., Gupta P.K. Measurements of NADH concentration in normal and malignant human tissues from breast and oral cavity // *Biotechnol Appl Biochem*. – 2003. – Vol. 37, Pt. 1. – P. 45-50.
32. Chance B., Baltscheffsky H.J. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. VII. Binding of intramitochondrial reduced pyridine nucleotide // *Biol Chem*. – 1958. – Vol. 233, No. 3. – P. 736-9.
33. Change B., Oshino N., Sugano T., Mayevsky A.A. Basic principles of tissue oxygen determination from mitochondrial signals // *Adv Exp Med Biol*. – 1973. – No. 37A. – P. 277-92.
34. Chance B., Lieberman M. Intrinsic fluorescence emission from the cornea at low temperatures: evidence of mitochondrial signals and their differing redox states in epithelial and endothelial sides // *Exp Eye Res*. – 1978. – Vol. 26, No. 1. – P. 111-7.
35. Mayevsky A., Rogatsky G.G. Mitochondrial function in vivo evaluated by NADH fluorescence: from animal models to human studies // *J Physiol Cell Physiol*. – 2007. – Vol. 292, No. 2. – P. 615-40.
36. Visser A.J.W.G., Hoek A.V. The fluorescence decay of reduced nicotinamide in aqueous solution after excitation with a UV-mode locked laser // *J Photochem. Photobiol*. – 1980. – Vol. 33, No. 1. – P. 35-41.
37. Alberts B., Johnson A., Lewis J., et al. *Molecular Biology of the Cell*. – Garland Science, 2015. – 1465 p.
38. Chance B. Pyridine nucleotide as an indicator of the oxygen requirements for energy-linked functions of Mitochondria // *Circ Res*. – 1976. – Vol. 38, No. 5, Suppl. 1. – P. 131-8.
39. Chance B., Jamieson D., Coles H. Energy-linked pyridine nucleotide reduction: inhibitory effects of hyperbaric oxygen in vitro and in vivo // *Nature*. – 1965. – Vol. 206, No. 981. – P. 257-63.
40. Chance B., Legallais V., Schoener B. Metabolically linked changes in fluorescence emission spectra of cortex of rat brain, kidney and adrenal gland // *Nature*. – 1962. – No. 195. – P. 1073-5.
19. Li T., Huang Z.F., Wang H.W., Lin J.Q., Chen G.N., Chen X.W., Chen R., Huang Z., Wang X.L. Evaluation of collagen alteration after topical photodynamic therapy (PDT) using second harmonic generation (SHG) microscopy – in vivo study in a mouse model, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2012, Vol. 9, No. 2, pp. 164-9.
20. Modica-Napolitano J.S., Singh K.K. Mitochondrial dysfunction in cancer, *Mitochondrion*, 2004, Vol. 4, No. 5-6, pp. 755-62.
21. Scheffler I.E. *Mitochondria*. New York, Wiley-Liss Publ., 1999.
22. Stryer L. *Biochemistry*. New York, W. H. Freeman and Company Publ., 1999.
23. Ying W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: Regulation and biological consequences, *Antioxid Redox Signal*, 2008, Vol. 10, No. 2, pp. 179-206.
24. Skala M.C., Riching K.M., Gendron-Fitzpatrick A., Eickhoff J., Eliceiri K.W., White J.G., Ramanujam N. In vivo multiphoton microscopy of NADH and FAD redox states, fluorescence lifetimes, and cellular morphology in precancerous epithelia, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, Vol. 104, No. 49, pp. 19494-9.
25. Warburg O. On the origin of cancer cells, *Science*, 1956, Vol. 123, No. 3191, pp. 309-14.
26. Carew J.S., Huang P. Mitochondrial defects in cancer, *Mol Cancer*, 2002, Vol. 1, No. 9, pp. 9.
27. Modica-Naplitano J.S., Singh K.K. Mitochondria as targets for detection and treatment of cancer, *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2002, Vol. 4, No. 9, pp. 1-18.
28. Cassarion D.S., Bennett J.P. An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutation and oxidative pathology, protective nuclear response, and cell death in neurodegeneration, *Brain Research Reviews*, 1999, Vol. 29, No. 1, pp. 1-25.
29. Vishwasrao H.D., Heikal A.A., Kasischke K.A., Webb W.W. Conformational dependence of intracellular NADH on metabolic state revealed by associated fluorescence anisotropy, *J Biol Chem*, 2005, Vol. 280, No. 26, pp. 25119-26.
30. Bird D.K., Yan L., Vrotsos K.M., Eliceiri K.W., Vaughan E.M., Keely P.J., White J.G., Ramanujam N. Metabolic mapping of MCF 10A human breast cells via multiphoton fluorescence lifetime imaging of the coenzyme NADH, *Cancer Res*, 2005, Vol. 65, No. 19, pp. 8766-73.
31. Uppal A., Gupta P.K. Measurements of NADH concentration in normal and malignant human tissues from breast and oral cavity, *Biotechnol Appl Biochem*, 2003, Vol. 37, Pt. 1, pp. 45-50.
32. Chance B., Baltscheffsky H.J. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. VII. Binding of intramitochondrial reduced pyridine nucleotide, *Biol Chem*, 1958, Vol. 233, No. 3, pp. 736-9.
33. Change B., Oshino N., Sugano T., Mayevsky A.A. Basic principles of tissue oxygen determination from mitochondrial signals, *Adv Exp Med Biol*, 1973, No. 37A, pp. 277-92.
34. Chance B., Lieberman M. Intrinsic fluorescence emission from the cornea at low temperatures: evidence of mitochondrial signals and their differing redox states in epithelial and endothelial sides, *Exp Eye Res*, 1978, Vol. 26, No. 1, pp. 111-7.
35. Mayevsky A., Rogatsky G.G. Mitochondrial function in vivo evaluated by NADH fluorescence: from animal models to human studies, *J Physiol Cell Physiol*, 2007, Vol. 292, No. 2, pp. 615-40.
36. Visser A.J.W.G., Hoek A.V. The fluorescence decay of reduced nicotinamide in aqueous solution after excitation with a UV-mode locked laser, *J Photochem. Photobiol*, 1980, Vol. 33, No. 1, pp. 35-41.
37. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science Publ., 2015. 1465 p.
38. Chance B. Pyridine nucleotide as an indicator of the oxygen requirements for energy-linked functions of Mitochondria, *Circ Res*, 1976, Vol. 38, No. 5, Suppl. 1, pp. 131-8.
39. Chance B., Jamieson D., Coles H. Energy-linked pyridine nucleotide reduction: inhibitory effects of hyperbaric oxygen in vitro and in vivo, *Nature*, 1965, Vol. 206, No. 981, pp. 257-63.

41. Lakowicz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. – Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1999. – 698 p.
42. Deka G., Wu W.W., Kao F.J. In vivo wound healing diagnosis with second harmonic and fluorescence lifetime imaging // *Journal of biomedical optics*. – 2013. – Vol. 18, No. 6. – P. 1-8.
43. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика. – М.: ФИЗМАЛИТ, 2007. – С. 81-82.
44. Baraghis E., Devor A., Fang Q., et al. Two-photon microscopy of cortical NADH fluorescence intensity changes: correcting contamination from the hemodynamic response // *J Biomed Opt.* – 2011. – Vol. 16, No. 10. – 106003.
45. Rice W.L., Kaplan D.L., Georgakoudi I. Two-Photon Microscopy for Non-Invasive, Quantitative Monitoring of Stem Cell Differentiation // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5, No. 4. – e10075.
46. Longo C., Galimberti M., De Pace B., et al. Laser skin rejuvenation: epidermal changes and collagen remodeling evaluated by in vivo confocal microscopy // *Lasers Med Sci*. – 2013. – Vol. 28. – P. 769-76.
47. Boulaftali Y., Lamrani L., Rouzaud M. C., et al. The mouse dorsal skinfold chamber as a model for the study of thrombolysis by intravital microscopy // *Thromb. Haemost.* – 2012. – Vol. 107, No. 5. – P. 962-71.
48. Laschke M.W., Vollmar B., Menger M.D. The dorsal skinfold chamber: window into the dynamic interaction of biomaterials with their surrounding host tissue // *Eur. Cell. Mater.* – 2011. – Vol. 22. – P. 147-64.
49. Wang H., Shi L., Qin J., et al. Multimodal optical imaging can reveal changes in microcirculation and tissue oxygenation during skin wound healing // *Lasers Surg. Med.* – 2014. – Vol. 46, No. 6. – P. 470-8.
50. An L., Qin J., Wang R.K. Ultrahigh sensitive optical microangiography for in vivo imaging of microcirculations within human skin tissue beds // *Opt. Express*. – 2010. – Vol. 18, No. 8. – P. 8220-8.
51. Struijker-Boudier H.A., Rosei A.E., Bruneval P., et al. Evaluation of the microcirculation in hypertension and cardiovascular disease // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol. 28. – P. 2834-40.
52. Quondamatteo F. Skin and diabetes mellitus: what do we know? // *Cell Tissue Res*. – 2014. – Vol. 355, No. 1. – P. 1-21.
53. Rossi M., Carpi A., Galetta F., et al. The investigation of skin blood flowmotion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? // *Biomed. Pharmacother.* – 2006. – Vol. 60, No. 8. – P. 437-42.
54. Rui S., Cnen M., Tuchin V.V., Zhu D. Accessing to arteriovenous blood flow dynamics response using combined laser speckle contrast imaging and skin optical clearing // *Biomedical Optics Express*. – 2015. – Vol. 6, No. 6. – P. 1977-89.
55. Galanzha E.I., Zharov V.P. Photoacoustic and photothermal cytometry for monitoring multiple blood rheology parameters in vivo // *Cytometry A*. – 2011. – Vol. 79, No. 10. – P. 746-57.
56. Khaksari K., Kirkpatrick S.J. Combined effects of scattering and adsorbison on laser speckle contrast imaging // *Journal of Biomedical optics*. – 2016. – Vol. 21, No. 7.
57. Tatsuo T., Toshiyo T., Ake Oberg P. Biomedical TRANSDUCERS and INSTRUMENTS. – CRC Press LLC, 1997. – P. 137.
58. Benitez E., Sumpio B.J., Chin J., Sumpio B.E. Contemporary assessment of foot perfusion in patients with critical limb ischemia // *Seminars in vascular surgery*. – 2014. – Vol. 27, No. 1. – P. 3-15.
59. Galanzha E.I., Zharov V.P. Circulation Tumor Cell Detection and Capture by Photoacoustic Flow Cytometry in Vivo and ex Vivo // *Cancers (Basel)*. – 2013. – Vol. 5, No. 4. – P. 1691-1738.
60. Erdi Y.E. Limits of Tumor Detectability in Nuclear Medicine and PET // *Mol Imaging Radionucl Ther.* – 2012. – Vol. 21, No. 1. – P. 23-28.
61. Huang D., Swanson E., Lin C., et al. Optical coherence tomography // *Science*. – 1991. – Vol. 254, No. 5035. – P.1178-81.
40. Chance B., Legallais V., Schoener B. Metabolically linked changes in fluorescence emission spectra of cortex of rat brain, kidney and adrenal gland, *Nature*, 1962, No. 195, pp. 1073-5.
41. Lakowicz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Kluwer Academic/Plenum Publishers Publ., 1999. 698 p.
42. Deka G., Wu W.W., Kao F.J. In vivo wound healing diagnosis with second harmonic and fluorescence lifetime imaging, *Journal of biomedical optics*, 2013, Vol. 18, No. 6, pp. 1-8.
43. Tuchin V.V. *Opticheskaya biomeditsinskaya diagnostika* (Optical biomedical diagnostics). Moscow, FIZMALIT Publ., 2007. pp. 81-82.
44. Baraghis E., Devor A., Fang Q., Srinivasan V.J., Wu W., Lesage F., Ayata C., Kasischke K. A., Boas D.A., Sakadzic S. Two-photon microscopy of cortical NADH fluorescence intensity changes: correcting contamination from the hemodynamic response, *J Biomed Opt*, 2011, Vol. 16, No. 10, 106003.
45. Rice W.L., Kaplan D.L., Georgakoudi I. Two-Photon Microscopy for Non-Invasive, Quantitative Monitoring of Stem Cell Differentiation, *PLoS One*, 2010, Vol. 5, No. 4, e10075.
46. Longo C., Galimberti M., De Pace B., Pellacani G., Bencini P. L. Laser skin rejuvenation: epidermal changes and collagen remodeling evaluated by in vivo confocal microscopy, *Lasers Med Sci*, 2013, Vol. 28, pp. 769-76.
47. Boulaftali Y., Lamrani L., Rouzaud M. C., Loyau S., Jandrot-Perrus M., Bouton M. C., Ho-Tin-Noé B. The mouse dorsal skinfold chamber as a model for the study of thrombolysis by intravital microscopy, *Thromb. Haemost.*, 2012, Vol. 107, No. 5, pp. 962-71.
48. Laschke M.W., Vollmar B., Menger M.D. The dorsal skinfold chamber: window into the dynamic interaction of biomaterials with their surrounding host tissue, *Eur. Cell. Mater.*, 2011, Vol. 22, pp. 147-64.
49. Wang H., Shi L., Qin J., Yousefi S., Li Y., Wang R.K. Multimodal optical imaging can reveal changes in microcirculation and tissue oxygenation during skin wound healing, *Lasers Surg. Med.*, 2014, Vol. 46, No. 6, pp. 470-8.
50. An L., Qin J., Wang R.K. Ultrahigh sensitive optical microangiography for in vivo imaging of microcirculations within human skin tissue beds, *Opt. Express.*, 2010, Vol. 18, No. 8, pp. 8220-8.
51. Struijker-Boudier H.A., Rosei A.E., Bruneval P., Camici P.G., Christ F., Henrion D., Lévy B.I., Pries A., Vanoverschelde J.L. Evaluation of the microcirculation in hypertension and cardiovascular disease, *Eur. Heart J.*, 2007, Vol. 28, pp. 2834-40.
52. Quondamatteo F. Skin and diabetes mellitus: what do we know? *Cell Tissue Res*, 2014, Vol. 355, No. 1, pp. 1-21.
53. Rossi M., Carpi A., Galetta F., Franzoni F., Santoro G. The investigation of skin blood flowmotion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? *Biomed. Pharmacother.*, 2006, Vol. 60, No. 8, pp. 437-42.
54. Rui S., Cnen M., Tuchin V.V., Zhu D. Accessing to arteriovenous blood flow dynamics response using combined laser speckle contrast imaging and skin optical clearing, *Biomedical Optics Express*, 2015, Vol. 6, No. 6, pp. 1977-89.
55. Galanzha E.I., Zharov V.P. Photoacoustic and photothermal cytometry for monitoring multiple blood rheology parameters in vivo, *Cytometry A*, 2011, Vol. 79, No. 10, pp. 746-57.
56. Khaksari K., Kirkpatrick S.J. Combined effects of scattering and adsorbison on laser speckle contrast imaging, *Journal of Biomedical optics*, 2016, Vol. 21, No. 7.
57. Tatsuo T., Toshiyo T., Ake Oberg P. *Biomedical TRANSDUCERS and INSTRUMENTS*. CRC Press LLC Publ., 1997. p. 137.
58. Benitez E., Sumpio B.J., Chin J., Sumpio B.E. Contemporary assessment of foot perfusion in patients with critical limb ischemia, *Seminars in vascular surgery*, 2014, Vol. 27, No. 1, pp. 3-15.
59. Galanzha E.I., Zharov V.P. Circulation Tumor Cell Detection and Capture by Photoacoustic Flow Cytometry in Vivo and ex Vivo, *Cancers (Basel)*, 2013, Vol. 5, No. 4, pp. 1691-1738.
60. Erdi Y.E. Limits of Tumor Detectability in Nuclear Medicine and PET, *Mol Imaging Radionucl Ther*, 2012, Vol. 21, No. 1, pp. 23-28.

62. Tan W., Vinegoni C., Norman J.J., et al. Imaging cellular responses to mechanical stimuli within three-dimensional tissue constructs // *Microsc Res Tech.* – 2007. – Vol. 70, No. 4. – P. 361-71.
63. Liang X., Graf B.W., Boppart S.A. Imaging engineered tissues using structural and functional optical coherence tomography // *J Biophotonics.* – 2009. – Vol. 2, No. 11. – P. 643-55.
64. Tan W., Oldenburg A.L., Norman J.J., et al. Optical coherence tomography of cell dynamics in three-dimensional tissue models // *Opt Express.* – 2006. – Vol. 14, No. 16. – P. 7159-71.
65. Denk W., Strickler J., Webb W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy // *Science.* – 1990. – Vol. 248, No. 4951. – P. 73-6.
66. Ulrich M., Lange-Asschenfeldt S. In vivo confocal microscopy in dermatology: from research to clinical application // *Journal of Biomedical Optics.* – 2013. – Vol. 18, No. 6. – 061212.
67. Campagnola P.J., Loew L.M. Second-harmonic imaging microscopy for visualizing biomolecular arrays in cells, tissues and organisms // *Nat Biotechnol.* – 2003. – Vol. 21, No. 11. – P. 1356-60.
68. Cheng J.X., Jia Y.K., Zheng G.F., Xie X.S. Laser-scanning coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy and applications to cell biology // *Biophys J.* – 2002. – Vol. 83, No. 1. – P. 502-9.
69. Benati E., Bellini V., Borsari S., et al. Quantitative evaluation of healthy epidermis by means of multiphoton microscopy and fluorescence lifetime imaging microscopy // *Skin Res Technol.* – 2011. – Vol. 17, No. 3. – P. 295-303.
70. van Munster E.B., Gadella T.W.J. Fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) // *Microscopy Techniques.* – 2005. – Vol. 95. – P. 143-75.
71. Breunig H.G., Studier H., Konig K. Multiphoton excitation characteristics of cellular fluorophores of human skin in vivo // *Opt Express.* – 2010. – Vol. 18, No. 8. – P. 7857-71.
72. Ivanov A.P., Lojko V.A., Dik V.P. Light Transportation in Densely Packed Dispersive Media // *Nauka i Technika.* – 1988.
73. Chance B., Liu H., Kitai T., Zhang Y. Effects of solutes on optical properties of biological materials: models, cells and tissues // *Anal Biochem.* – 1995. – Vol. 227, No. 2. – P. 351-62.
74. Perera G., Hay R. A guide to antibiotic resistance in bacterial skin infections // *J Eur Acad Dermatol Venereol.* – 2005. – Vol. 19, No. 5. – P. 531-45.
75. Dever L.A., Dermody T.S. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics // *Arch Intern Med.* – 1991. – Vol. 151, No. 5. – P. 886-95.
76. Vasilchenko S.Yu., Volkova A.I., Ryabova A.V., et al. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantation // *Journal of Biophotonics.* – 2010. – Vol. 3, No. 5-6. – P. 336-46.
61. Huang D., Swanson E., Lin C., Schuman J., Stinson W., Chang W., Hee M., Flotte T., Gregory K., Puliafito C., Fujimoto J.G. Optical coherence tomography, *Science*, 1991, Vol. 254, No. 5035, pp.1178-81.
62. Tan W., Vinegoni C., Norman J.J., Desai T.A., Boppart S.A. Imaging cellular responses to mechanical stimuli within three-dimensional tissue constructs, *Microsc Res Tech*, 2007, Vol. 70, No. 4, pp. 361-71.
63. Liang X., Graf B.W., Boppart S.A. Imaging engineered tissues using structural and functional optical coherence tomography, *J Biophotonics*, 2009, Vol. 2, No. 11, pp. 643-55.
64. Tan W., Oldenburg A.L., Norman J.J., Desai T.A., Boppart S.A. Optical coherence tomography of cell dynamics in three-dimensional tissue models, *Opt Express*, 2006, Vol. 14, No. 16, pp. 7159-71.
65. Denk W., Strickler J., Webb W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy, *Science*, 1990, Vol. 248, No. 4951, pp. 73-6.
66. Ulrich M., Lange-Asschenfeldt S. In vivo confocal microscopy in dermatology: from research to clinical application, *Journal of Biomedical Optics*, 2013, Vol. 18, No. 6, 061212.
67. Campagnola P.J., Loew L.M. Second-harmonic imaging microscopy for visualizing biomolecular arrays in cells, tissues and organisms, *Nat Biotechnol*, 2003, Vol. 21, No. 11, pp. 1356-60.
68. Cheng J.X., Jia Y.K., Zheng G.F., Xie X.S. Laser-scanning coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy and applications to cell biology, *Biophys J*, 2002, Vol. 83, No. 1, pp. 502-9.
69. Benati E., Bellini V., Borsari S., Dunsby C., Ferrari C., French P., Guanti M., Guardoli D., Koenig K., Pellacani G., Ponti G., Schianchi S., Talbot C., Seidenari S. Quantitative evaluation of healthy epidermis by means of multiphoton microscopy and fluorescence lifetime imaging microscopy, *Skin Res Technol*, 2011, Vol. 17, No. 3, pp. 295-303.
70. van Munster E.B., Gadella T.W.J. Fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM), *Microscopy Techniques*, 2005, Vol. 95, pp. 143-75.
71. Breunig H.G., Studier H., Konig K. Multiphoton excitation characteristics of cellular fluorophores of human skin in vivo, *Opt Express*, 2010, Vol. 18, No. 8, pp. 7857-71.
72. Ivanov A.P., Lojko V.A., Dik V.P. Light Transportation in Densely Packed Dispersive Media, *Nauka i Technika*, 1988.
73. Chance B., Liu H., Kitai T., Zhang Y. Effects of solutes on optical properties of biological materials: models, cells and tissues, *Anal Biochem*, 1995, Vol. 227, No. 2, pp. 351-62.
74. Perera G., Hay R. A guide to antibiotic resistance in bacterial skin infections, *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2005, Vol. 19, No. 5, pp. 531-45.
75. Dever L.A., Dermody T.S. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics, *Arch Intern Med*, 1991, Vol. 151, No. 5, pp. 886-95.
76. Vasilchenko S.Yu., Volkova A.I., Ryabova A.V., Loschenov V.B., Konov V.I., Mamedov A.A., Kuzmin S.G., Lukyanets E.A. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantation, *Journal of Biophotonics*, 2010, Vol. 3, No. 5-6, pp. 336-46.

МНОГОКУРСОВАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ВЕРРУКОЗНОЙ ФОРМЫ ЛЕЙКОПЛАКИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТЕЛА ЯЗЫКА (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

Ю.П. Истомин, Т.П. Артемьева, Д.А. Церковский

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова, Лесной, Республика Беларусь

Приведены результаты лечения пациента с веррукозной формой лейкоплакии слизистой оболочки тела языка методом фотодинамической терапии. В 2015 г. пациенту было проведено 4 курса фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором фотолон. Фотолон вводили в дозе 2 мг/кг за 3 ч до проведения облучения (мощность лазерного излучения 0,262 Вт на выходе световода, плотность энергии лазерного излучения – 50 и 100 Дж/см²). Эффект лечения оценен, как полная регрессия: при контрольном осмотре через 4 мес после завершения многокурсовой фотодинамической терапии клинических и гистологических признаков лейкоплакии не обнаружено.

Ключевые слова: многокурсовая фотодинамическая терапия, фотолон, лейкоплакия, полость рта.

Для цитирования: Истомин Ю.П., Артемьева Т.П., Церковский Д.А. Многокурсовая фотодинамическая терапия веррукозной формы лейкоплакии слизистой оболочки тела языка (клиническое наблюдение) // *Biomedical Photonics*. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 41–42.

Контакты: Церковский Д.А., e-mail: tzerkovsky@mail.ru

MULTIPLE-COURSE PHOTODYNAMIC THERAPY FOR VERRUCOUS LEUKOPLAKIA OF MUCOUS MEMBRANE OF BODY OF THE TONGUE (CASE REPORT)

Istomin Yu.P., Artemyeva T.P., Tzerkovsky D.A.

N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Lesnoy, Republic of Belarus

The results of treatment of the patient with verrucous leukoplakia of mucous membrane of body of the tongue with photodynamic therapy are represented. In 2015 the patient underwent 4 courses of photodynamic therapy with photosensitizer photolon. Photolon was injected at dose of 2 mg/kg 3 h before irradiation (laser output power was 0.262 W, light dose – 50 and 100 J/cm²). The result of treatment was assessed as complete regression: 4 months after multiple-course photodynamic therapy there were no clinical and histological signs of leukoplakia.

Key words: multiple-course photodynamic therapy, photolon, leukoplakia, oral cavity.

For citations: Istomin Yu.P., Artemyeva T.P., Tzerkovsky D.A. Multiple-course photodynamic therapy for verrucous leukoplakia of mucous membrane of body of the tongue (case report), *Biomedical Photonics*, 2016, T. 5, No. 3, pp. 41–42 (in Russian).

Contacts: Tzerkovsky D.A., e-mail: tzerkovsky@mail.ru

Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта – хроническое поражение слизистой оболочки, потенциально злокачественное заболевание, характеризующееся ороговением покровного эпителия разной степени выраженности и способное трансформироваться в плоскоклеточный рак [1,2]. В последние годы во всем мире растет интерес к лечению лейкоплакии методом фотодинамической терапии (ФДТ). В большинстве случаев для проведения ФДТ этого заболевания применяют препа-

раты на основе 5-аминолевулиновой кислоты и ее производных [3-5].

В Республиканском научно-практическом центре онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова накоплен многолетний опыт лечения лейкоплакии слизистой оболочки полости рта методом ФДТ с фотосенсибилизатором фотолон, действующим веществом которого является хлорин е₆. Приводим результаты клинического наблюдения за одним из пролеченных пациентов.

Пациент В., 1951 г.р., АК № 328/15, обратился за медицинской помощью в отделение фотодинамической терапии и гипертермии Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александра с жалобами на наличие образования на поверхности тела языка с выраженным экзофитным компонентом, максимальный размер опухоли до 5 см в диаметре. Со слов пациента считает себя больным в течение 5 лет. Ранее за помощью в учреждения здравоохранения не обращался.

При гистологическом исследовании установлен диагноз: лейкоплакия слизистой оболочки тела языка, веррукозная форма. Пациенту показано лечение методом ФДТ.

В феврале 2015 г. проведен курс ФДТ с фотосенсибилизатором фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь). Фотолон вводили внутривенно ка-

пельно в дозе 2 мг/кг за 3 ч до проведения облучения (мощность лазерного излучения 0,262 на выходе световода, плотность энергии лазерного излучения – 50 Дж/см², время облучения – 18 мин, количество полей облучения – 2). Во время сеанса облучения у пациента отмечен выраженный болевой синдром.

В апреле 2015 г. проведен второй курс ФДТ в том же объеме с теми же параметрами.

В июне и июле 2015 г. проведено еще два курса ФДТ с увеличением плотности энергии лазерного излучения до 100 Дж/см². В связи с повышенной чувствительностью (выраженной болевой синдром при облучении), лечение проводили под внутривенным наркозом.

При контрольном осмотре в ноябре 2015 г. в зоне проведения ФДТ клинических и гистологических признаков лейкоплакии не зарегистрировано (рис.).

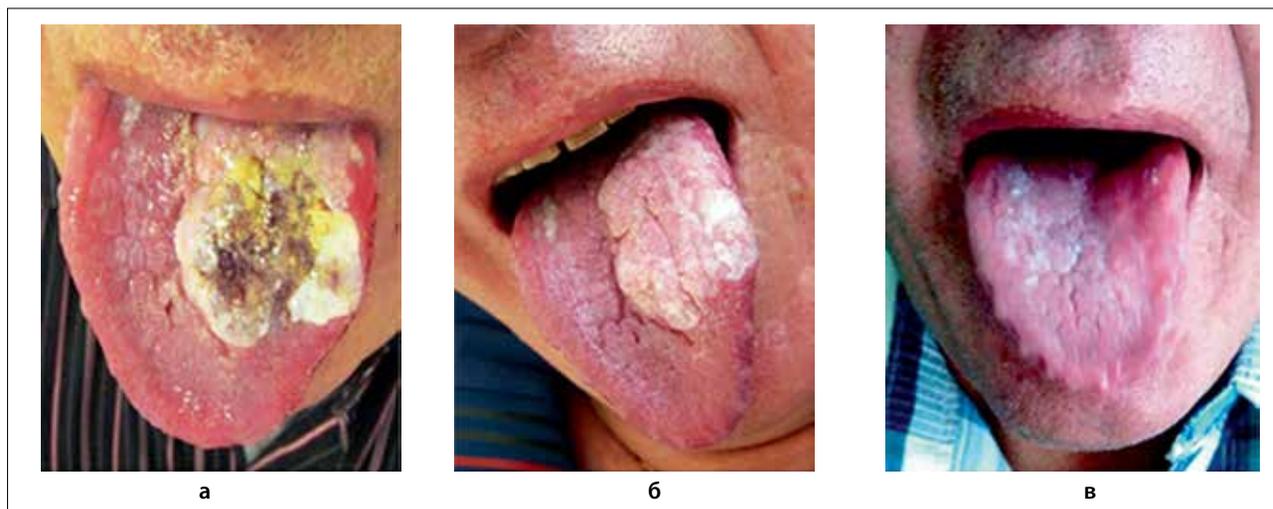


Рис. Лейкоплакия слизистой оболочки тела языка, веррукозная форма: а – до ФДТ; б – после 2 курсов ФДТ; в – после 4 курсов ФДТ

Fig. Leukoplakia of mucous membrane of body of the tongue, verrucous type: a – before PDT; б – after 2 sessions of PDT; в – after 4 sessions of PDT

ЛИТЕРАТУРА

1. Истомин Ю.П., Артемьева Т.П., Церковский Д.А. Фотодинамическая терапия лейкоплакии слизистой оболочки полости рта с фотосенсибилизатором фотолон // *Biomedical Photonics*. – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 13-20.
2. Скородумова Л.О., Мураев А.А., Володина Е.В., Иванов С.Ю., Гнучев Н.В., Георгиев Г.П., Ларин С.С. Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта: классификация, гистопатология, методы диагностики и лечения // *Вопросы онкологии*. – 2013. – Т. 59, № 5. – С. 548-554.
3. Chen H.M., Yu C.H., Tu P.C., et al. Successful treatment of oral verrucous hyperplasia and oral leukoplakia with topical 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy // *Lasers Surg. Med.* – 2005. – Vol. 37. – P. 114-122.
4. Aghahosseini F., Arbabi-Kalati F., Fashtami L.A., et al. Methylene blue-mediated photodynamic therapy: a possible alternative treatment for oral lichen planus // *Lasers Surg. Med.* – 2006. – Vol. 38. – P. 33-38.
5. Jerjes W., Upile T., Hamdoon Z. et al. Photodynamic therapy outcome for oral dysplasia // *Lasers Surg. Med.* – 2011. – Vol. 43. – P. 192-199.

REFERENCES

1. Istomin Yu.P., Artemyeva T.P., Tzerkovsky D.A. Photodynamic therapy with photosensitizer photolon for oral leukoplakia, *Biomedical Photonics*, 2016, Vol. 5, No. 2, pp. 13–20. (in Russian).
2. Skorodumova L.O., Muraev A.A., Volodina E.V., Ivanov S.Yu., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Larin S.S. Leukoplakia of oral mucosa: classification, histopathology, methods of diagnosis and treatment, *Voprosy onkologii*, 2013, Vol. 59, No. 5, pp. 548-554. (in Russian).
3. Chen H.M., Yu C.H., Tu P.C., Yeh C.Y., Tsai T., Chiang C.P. Successful treatment of oral verrucous hyperplasia and oral leukoplakia with topical 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy, *Lasers Surg. Med.*, 2005, Vol. 37, pp. 114-122.
4. Aghahosseini F., Arbabi-Kalati F., Fashtami L.A., Djavaid G.E., Fateh M., Beitollahi J.M. Methylene blue-mediated photodynamic therapy: a possible alternative treatment for oral lichen planus, *Lasers Surg. Med.*, 2006, Vol. 38, pp. 33-38.
5. Jerjes W., Upile T., Hamdoon Z., Mosse C.A., Akram S., Hopper C. Photodynamic therapy outcome for oral dysplasia, *Lasers Surg. Med.*, 2011, Vol. 43, pp. 192-199.

ПРОФЕССОРУ СОКОЛОВУ ВИКТОРУ ВИКТОРОВИЧУ – 70 ЛЕТ

22 июня 2016 г. исполнилось 70 лет крупному учёному, руководителю эндоскопического отделения МНИОИ им. П.А. Герцена, доктору медицинских наук, профессору Виктору Викторовичу Соколову. В.В. Соколов – заслуженный врач РФ, лауреат премии Правительства РФ, член президиума Российского и Московского эндоскопического общества, Российского общества онкологов, Европейской рабочей группы по эндосонографии (EGEUS), экспертного совета Минздрава по специальности «онкология», член Совета и председатель Российской группы Всемирной ассоциации бронхологии и интервенционной пульмонологии (WABIP), член редакционной коллегии журнала «Эндоскопия» и редакторского совета журнала «Лазерная медицина».



В.В. Соколов в 1970 г. окончил Воронежский Государственный медицинский институт и был направлен в центральную районную больницу г. Рыльска Курской области, где в течение трех лет работал хирургом, прошел специализацию по анестезиологии и клиническую интернатуру по детской хирургии. В 1973-1974 гг. работал в центральной районной больнице с. Самарское Азовского района Ростовской области в должности хирурга и врача-анестезиолога. С 1976 по 1978 гг. работал детским хирургом в клинической больнице № 7 г. Воронежа, а затем врачом-эндоскопистом в Воронежском городском противотуберкулезном диспансере. С 1978 по 1984 гг. – врач-эндоскопист в Московской городской клинической (пульмонологической) больнице № 45.

С 1984 г. по настоящее время профессор В.В. Соколов работает в МНИОИ им. П.А. Герцена, последовательно занимая должности: в 1984 г. врача-эндоскописта, в 1985 г. – старшего научного сотрудника, в 1990-1992 гг. – ведущего научного сотрудника, с 1993 г. по настоящее время – руководителя эндоскопического отделения. В 1993-1994 гг. являлся председателем комиссии по эндоскопии при Министерстве здравоохранения РФ.

В 1988 г. профессор В.В. Соколов защитил кандидатскую диссертацию по теме «Эндоскопическая диагностика начального центрального рака легкого», в 1993 г. – докторскую диссертацию по теме «Эндоскопическая хирургия опухолей трахеи и бронхов». В 1998 г. присвоено ученое звание «профессор».

Основными направлениями научной деятельности профессора В.В. Соколова являются разработка новых методов эндоскопической диагностики предраковых заболеваний, ранних форм рака и местно-распространенных злокачественных опухолей со стадированием по критериям T и N, а также методов внутрисветовой эндоскопической хирургии, стентирования

и фотодинамической терапии при облигатном предраке, при ранних и местно-распространенных (стенозирующих) формах рака органов дыхательных путей и пищеварительного тракта. Под его руководством и при непосредственном участии разработаны и выполняются оригинальные эндоскопические операции при раннем раке гортани, трахеи и бронхов, пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, БДС и холедоха, прямой и ободочной кишки с использованием электрохирургической медицинской техники, аргонплазменной коагуляции, лазерной термодеструкции, методов фотодинамической терапии и стентирования.

Под руководством профессора Соколова В.В. защищено 15 кандидатских и 2 докторских диссертации, в настоящее время – выполняются 2 докторских и 1 кандидатская диссертации. Соколов В.В. является автором 352 научных публикаций, включая 26 глав в монографиях, 12 методических рекомендации и медицинских технологий, 10 пособий для врачей, 26 изобретений и патентов в области онкологии и эндоскопии.

Коллектив редакции, коллеги и друзья от всего сердца поздравляют Виктора Викторовича и желают крепкого здоровья, благополучия, творческих успехов и долгих лет активной жизни.

ПРОФЕССОРУ АКОПОВУ АНДРЕЮ ЛЕОНИДОВИЧУ – 50 ЛЕТ

В этом году 7 октября отмечает свой юбилей руководитель отдела торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, доктор медицинских наук, профессор Андрей Леонидович Акопов.

Профессор А.Л. Акопов в 1989 г. окончил 1-ый Ленинградский медицинский институт им. академика И.П. Павлова. Стажировался в Великобритании. С 1989 г. работал во Всесоюзном научно-исследовательском институте пульмонологии, а с 1999 г. – в Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. академика И.П. Павлова, где с 2008 г. руководит отделом торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины, является профессором кафедры госпитальной хирургии №1, руководит группой торакальных хирургов, эндоскопистов и онкологов.

Профессор А.Л. Акопов – один из ведущих специалистов в области торакальной хирургии и торакальной онкологии в России и Европе. Член Научного Совета Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова, в течение ряда лет был членом руководства Европейского общества торакальных хирургов. Член Международного общества по изучению рака легкого, Всемирной ассоциации бронхологов и интервенционных пульмонологов, Международной ассоциации паллиативной помощи при раке. Организатор



ряда крупных национальных и международных научных конференций, многократно выступал с докладами на крупнейших международных и российских научных конференциях.

Основные научно-практические интересы профессора А.Л. Акопова связаны с хирургическим и комбинированным лечением рака легкого, фотодинамической терапией, эндоскопическими методами лечения в пульмонологии, лазерными технологиями, хирурги-

ческим лечением эмфиземы легких, диагностикой и лечением новообразований средостения.

Л.А. Акопов. является автором более 300 научных работ, в том числе монографий, а также новых хирургических технологий, патентов, изобретений. В числе основных научных трудов (в соавторстве) – «Неотложная пульмонология» (Lambert Academic Publishing. 2013 г., 301 с.), «Этюды торакальной хирургии» (М., Альди-принт, 2012. 1014 с.), «Диссеминированные заболевания легких» (М., ГЭОТАР-медиа, 2011. 800 с.), «Редкие операции в торакальной хирургии» (СПб, Аврора-дизайн, 2010. 199 с.), «Справочник по пульмонологии» (М., ГЭОТАР-медиа, 2009. 928 с.).

Редакция журнала, друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют юбиляра, желают ему долгих лет плодотворной творческой жизни, крепкого здоровья, успехов в науке и педагогической деятельности.

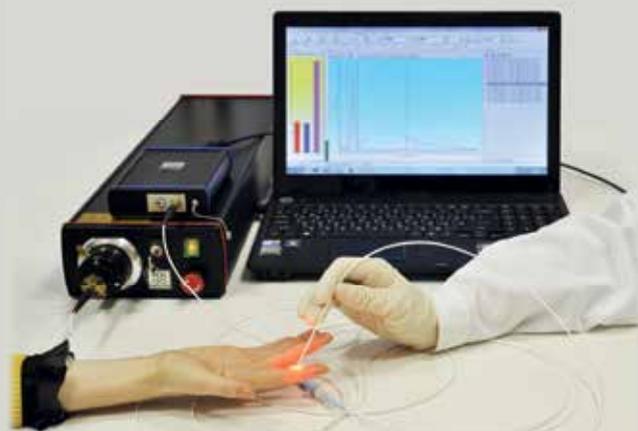
Кабинет для проведения фотодинамической терапии*

ЛЭСА-01-"БИОСПЕК"

Установка для локальной спектроскопии

Установка лазерная электронно-спектральная для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии

- Позволяет локально определять степень накопления фотосенсибилизатора в любых органах пациента, доступных для волоконно-оптического зонда
- Диаметр стандартного зонда 1.8 мм, подходит для эндоскопического и лапароскопического оборудования



Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03784 от 12.12.2008

Сертификат соответствия РОСС RU.ИМ32.Н00344 от 24.12.2012

ЛФТ-630/675-01-"БИОСПЕК"

Лазерная терапевтическая установка для фотодинамической терапии

Установка лазерная фото динамической терапии

- Длина волны 635, 662, или 675 нм оптимизирована для проведения терапии с использованием применяемых в РФ фотосенсибилизаторов.
- Установка комплектуется набором световодов для различных локализаций.



Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/04649 от 26.03.2009

Сертификат соответствия РОСС RU.ИМ32.Н00345 от 24.12.2012

Видеоэндоскопические комплексы

Расширяем функциональность ваших видеоэндоскопических систем (эндоскопов, лапароскопов) с помощью адаптации к ним одной или нескольких сертифицированных установок собственного производства для наблюдения и анализа цифрового флуоресцентного изображения. Предлагаем аналогичные варианты дооснащения операционных микроскопов, кольпоскопов, щелевых ламп.

* - Соответствует Стандарту оснащения диагностических отделений онкологического диспансера (онкологической больницы) по Приложению № 12 к Порядку оказания медицинской помощи населению по профилю «онкология», утвержденному приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 915н от 15 ноября 2012 г. (оснащение других медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь больным с онкологическими заболеваниями, осуществляется с учетом данного стандарта).

ЗАО "БИОСПЕК"
Россия, 119991, Москва,
ул. Вавилова, д. 38, корп. 5



Тел./факс: 8-499-135-1489
E-mail: biospec@nsc.gpi.ru
<http://www.biospec.ru>



ФОТОДИТАЗИН® [fotoditazin]

фотосенсибилизатор хлоринового ряда

«ФОТОДИТАЗИН®» гель - РУ № ФСР 2012/130043 от 03.02.2012 г.

«ФОТОДИТАЗИН®» концентрат для приготовления раствора для инфузий - РУ № ЛС 001246 от 18.05.2012 г.



«ФОТОДИТАЗИН®» применяется для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии онкологических заболеваний различных нозологических форм, а так же патологий не онкологического характера в следующих областях медицины:

- ▶ дерматология
- ▶ гинекология
- ▶ урология
- ▶ торакальная хирургия
- ▶ стоматология
- ▶ нейрохирургия
- ▶ офтальмология,
- ▶ травматология и ортопедия
- ▶ комбустиология
- ▶ гнойная хирургия
- ▶ ангиология

В соответствии с приказами МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ:

Приказ № 1629н от 29 декабря 2012 г.

«Об утверждении перечня видов высокотехнологичной медицинской помощи»

Приказ № 915н от 15 ноября 2012 г. «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «онкология»

ООО «ВЕТА-ГРАНД» €

123056, Россия, г.Москва, ул. Красина, д.27, стр.2

тел.: +7(499)253-61-81, +7(499)250-40-00

e-mail: fotoditazin@mail.ru

▶ www.fotoditazin.com
www.фотодитазин.рф