ISSN 2413-9432

BIOMEDICAL PHOTONICS

Том 8, № 3, 2019

В НОМЕРЕ:

- Влияние препарата на основе хлорина e_6 на агрегационную активность тромбоцитов
- Экспериментальные исследования оптоакустического воздействия на модель эритроцитов в присутствии углеродных наночастиц
- Анализ эффективности фотодинамического отбеливания зубов с использованием фотосенсибилизатора хлорин e_6
- Potential for the application of dynamic skin thermography after local hypothermia
- Фотодинамическая терапия внутрикожных метастазов рака молочной железы (обзор литературы)

BMP

ДИСТРИБЬЮЦИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СТРАН СНГ

Лицензия № ЛО-54-02-001917 от 22 декабря 2015 г. на осуществление фармацевтической деятельности.

ЗАО “Компания Витамакс”

Россия, 630001, г. Новосибирск, ул. Калинина, 57
Для писем: 630001, г. Новосибирск, а/я 310
Тел/факс: 8 (383)225-24-06, 225-53-14

BIOMEDICAL PHOTONICS

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

Входит в Перечень ведущих рецензируемых
научных журналов ВАК РФ.
Индексируется в международной
реферативной базе данных Scopus.

Издательство «Агентство МОРЕ».
Москва, Хохловский пер., д. 9

Редакция:

Зав. редакцией	Иванова-Радкевич В.И.
Научный редактор	проф. Мамонтов А.С.
Литературный редактор	Моисеева Р.Н.
Выпускающий редактор	Мачинская Е.А.
Переводчики	Урлова А.Н.
	Романишкин И.Д.
Компьютерный дизайн	Кренева Е.И.
Компьютерная верстка	Меркулова О.Е.

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 г.
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, размещенными на сайте журнала.

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

УЧРЕДИТЕЛИ:
Российская 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., академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор Национального медицинского исследовательского центра радиологии 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)

Миронов 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 фотодинамической терапии Государственного научного центра лазерной медицины ФМБА (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)

Blondel V., профессор Университета Лотарингии, руководитель отделения Здравоохранение-Биология-Сигналы (SBS), (Нанси, Франция)

Bolotine L., профессор научно-исследовательского центра автоматики
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:
Russian 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., Academician 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 scientificorganizational 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 FMBA (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)

Blondel V., PhD, professor at University of Lorraine, joint-Head of the Health-Biology-Signal Department (SBS) (Nancy, France)

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 journal is included into the List of peer-reviewed science press of the State Commission for Academic Degrees and Titles of Russian Federation
The journal is indexed in the international abstract and citation database – Scopus.

The publisher «Agentstvo MORE».
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.
Managing editor	Machinskaya E.A
Translators	Urlova A.N.
	Romanishkin I.D.
Computer design	Kreneva E.I.
Desktop publishing	Merkulova O.E.

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

Влияние препарата на основе хлорина e_6 на агрегационную активность тромбоцитов
Н.Н. Петрищев, М.А. Галкин, Т.Г. Гришачева, И.Н. Дементьева, С.Г. Чефу 4

Экспериментальные исследования оптоакустического воздействия на модель эритроцитов в присутствии углеродных наночастиц
Д.А. Кравчук, Д.В. Орда-Жигулина 11

Анализ эффективности фотодинамического отбеливания зубов с использованием фотосенсибилизатора хлорин e_6
А.В. Коршунова, В.И. Макаров, А.В. Рябова, И.Д. Романишкин, О.А. Зорина, Е.К. Кречина, Г.В. Пономарев 19

Potential for the application of dynamic skin thermography after local hypothermia
Novikov I.A., Petrov S.Yu., Rein E.S., Borisenko T.E., Sdobnikova S.V., Lucevitch E.E., Avetisov S.E. 29

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Фотодинамическая терапия внутрикожных етастазов рака молочной железы (обзор литературы)
Р.И. Рахимжанова, Н.А. Шаназаров, Д.Е. Туржанова 36

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Эффективность фотодинамической терапии больной ранним центральным раком лёгкого и муковисцидозом
Е.С. Борзенко, И.В. Решетов, А.С. Фатьянова, К.В. Огданская, М.М. Гафаров, Ю.С. Романко 43

ЮБИЛЕИ

Юбилей академика РАМН, профессора Валерия Ивановича Чиссова 46

ORIGINAL ARTICLES

The effect of chlorin e_6 drug on platelet aggregation activity
Petrishchev N.N., Galkin M.A., Grishacheva T.G., Dementjeva I.N., Chefu S.G. 4

Experimental studies of optoacoustic effect on the model of erythrocytes in the presence of carbon nanoparticles
Kravchuk D.A., Orda-Zhigulina D.V. 11

Analysis of efficiency of photodynamic teeth bleaching with the use of photosensitizer chlorine e_6
Korshunova A.V., Makarov V.I., Ryabova A.V., Romanishkin I.D., Zorina O.A., Krechina E.K., Ponomarev G.V. 19

Potential for the application of dynamic skin thermography after local hypothermia
Novikov I.A., Petrov S.Yu., Rein E.S., Borisenko T.E., Sdobnikova S.V., Lucevitch E.E., Avetisov S.E. 29

REVIEWS OF LITERATURE

Photodynamic therapy of intradermal metastatic breast cancer (literature review)
Rakhimzhanova R.I., Shanazarov N.A., Turzhanova D.E. 36

CASE REPORTS

Effectiveness of photodynamic therapy of a patient with early central lung cancer and cystic fibrosis
Borzenko E.S., Reshetov I.V., Fatyanova A.S., Ogdanskaya K.V., Gafarov M.M., Romanko Yu.S. 43

ANNIVERSARIES

Юбилей академика РАМН, профессора Валерия Ивановича Чиссова 46

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ХЛОРИНА E_6 НА АГРЕГАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ

Н.Н. Петрищев[1,2], М.А. Галкин[1], Т.Г. Гришачева[1], И.Н. Дементьева[1], С.Г. Чефу[1,2]
[1]Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
[2]Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель исследования – изучение влияния радахлорина на агрегационную активность тромбоцитов в опытах *in vitro* и *ex vivo*. Опыты проведены на крысах-самцах линии Wistar. Агрегационную активность тромбоцитов определяли в плазме, обогащенной тромбоцитами (PRP), турбидиметрическим методом, индуктор агрегации – аденозиндифосфат (АДФ) в конечной концентрации 1,25 μM. Пробы PRP, содержащие радахлорин, облучали при плотности мощности 0,05 Вт/см^2. После темновой инкубации в течение 5 мин PRP с радахлорином наблюдали дозозависимое угнетение агрегации тромбоцитов. Лазерное облучение (плотность энергии 12,5 Дж/см^2 и 25 Дж/см^2) усиливало ингибирующее влияние радахлорина. Через 3 ч после внутривенного введения фотосенсибилизатора скорость и интенсивность агрегации тромбоцитов не изменялись, а дезагрегация значимо замедлялась. Облучение при плотности энергии 5 Дж/см^2 не повлияло на кинетику агрегации тромбоцитов, при 10 Дж/см^2 –дезагреция еще больше замедлялась, а при 20 Дж/см^2 – уменьшались скорость и интенсивность агрегации тромбоцитов, а дезагрегации не происходило.

В условиях *in vitro* радахлорин дозозависимо ингибирует АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов крыс; после лазерного облучения этот эффект значимо усиливается. Воздействие радахлорина на циркулирующие тромбоцитов приводит к изменению их функционального состояния, что проявляется в замедлении дезагрегации после воздействия АДФ. После лазерного облучения (10–20 Дж/см^2) выраженность функциональных изменений увеличивается. Обсуждается вопрос о роли снижения дезагрегационной активности тромбоцитов в механизме тромбоза сосудов в зоне воздействия при фотодинамической терапии.

Ключевые слова: хлорин e_6, фотоактивация, АДФ, агрегация тромбоцитов.

Для цитирования: Петрищев Н.Н., Галкин М.А., Гришачева Т.Г., Дементьева И.Н., Чефу С.Г. Влияние препарата на основе хлорина e_6 на агрегационную активность тромбоцитов // Biomedical Photonics. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 4–10. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-4-10.

Контакты: Гришачева Т.Г., e-mail: laser82@mail.ru

THE EFFECT OF CHLORIN E_6 DRUG ON PLATELET AGGREGATION ACTIVITY

Petrishchev N.N.[1,2], Galkin M.A.[1], Grishacheva T.G.[1], Dementjeva I.N.[1], Chefu S.G.[1,2]
[1]Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia
[2]Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Abstract

The goal of the study is to evaluate the effect of Radachlorin (OOO "RADA-PHARMA", Russia) (RC) on platelet aggregation in ex vivo and in vivo experiments. The experiments were conducted on male Wistar rats. Platelet aggregation activity was determined in platelet-rich plasma (PRP) using a turbidimetric method and the aggregation inducer was ADP at a final concentration of 1.25 μM. PRP samples containing RC were irradiated with ALOD-Granat laser device (OOO "Alkom Medika", Russia) at 662 nm wavelength with 0.05 W/cm^2 power density. After a 5-minute incubation of PRP with RC in the dark, dose-dependent inhibition of platelet aggregation was observed. Laser irradiation (12.5 J/cm^2 and, especially, 25 J/cm^2) increased the inhibitory effect of RC. 3 hours after intravenous administration of RC, the rate and intensity of platelets aggregation did not change, while disaggregation slowed down significantly. Irradiation at a dose of 5 J/cm^2 did not affect the platelets aggregation kinetics, and disaggregation slowed down even more at 10 J/cm^2, and at 20 J/cm^2 the rate and intensity of platelets aggregation decreased, and no disaggregation occurred.

In vitro, RC inhibited the ADP-induced platelet aggregation in rats in a dose-dependent manner; after laser irradiation, this effect was enhanced significantly. The effect of RC on circulating platelets leads to a change in their functional state, which manifests in slowing down the disaggregation after exposure to ADP. After laser irradiation (10 J/cm^2 and, especially, 20 J/cm^2), the severity of the functional changes increases. The role of decreasing the disaggregation activity of platelets in the mechanism of vascular thrombosis in the affected area of photodynamic therapy (PDT) is discussed.

Key words: chlorin e_6, photoactivation, ADP, platelet aggregation.

For citations: Petrishchev N.N., Galkin M.A., Grishacheva T.G., Dementjeva I.N., Chefu S.G. The effect of chlorin e_6 drug on platelet aggregation activity, *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 4–10. (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-4-10.

Contacts: Grishacheva T.G., e-mail: laser82@mail.ru

Введение

Данные о влиянии фотодинамического воздействия на агрегационную активность тромбоцитов немногочисленны и весьма противоречивы. В опытах *in vivo* при облучении сосудов микроциркуляторного русла на фоне введения различных фотосенсибилизаторов (ФС) в зоне воздействия наблюдается адгезия и агрегация тромбоцитов. Предполагается, что их активация происходит вследствие влияния биологически активных веществ (аденозиндифосфат (АДФ), тромбоксан А2 и др.), поступающих из поврежденного эндотелия [1], однако некоторые авторы не исключают фотодинамической активации тромбоцитов, циркулирующих в крови [2]. В опытах *in vitro* показано, что при сочетанном действии различных ФС и облучения развиваются структурно-функциональные изменения тромбоцитов, в том числе отмечается снижение их агрегационной активности [3–9]. При проведении фотодинамической терапии новообразований в эксперименте и клинике ФС обычно вводят внутривенно за 2–3 ч до облучения, и, следовательно, циркулирующие клетки крови, в том числе тромбоциты, в течение длительного времени подвержены действию ФС, поэтому можно предположить, что это влияет на их фоточувствительность.

Целью настоящей работы было изучение влияния радахлорина на агрегационную активность тромбоцитов в условиях *in vitro* и *ex vivo* до и после фотоактивации.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Wistar массой 240–280 г (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»») в соответствии с «Руководством по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» [10], составленным на основе Директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей.

Животных содержали на неограниченном потреблении стандартного корма К-120 («Информ-корм», Россия) и воды при фиксированном световом режиме 12.00:12.00 ч (свет:темнота). Температуру поддерживали в пределах 22–25 °С, относительная влажность – 50–70%. Длительность карантина составляла 14 суток.

Забор крови для исследования агрегации тромбоцитов производили из яремной вены у наркотизированных крыс (20%-й раствор уретана, 5 мл/кг внутрибрюшинно). В качестве стабилизатора крови использовали цитрат натрия (3,2%) в соотношении 9:1. Для получения богатой тромбоцитами плазмы (platelet-rich plasma, PRP) кровь центрифугировали 10 мин (200 g) при комнатной температуре. Часть PRP отбирали в пластиковую пробирку, а из оставшейся крови центрифугированием в течение 30 мин (1700 g) получали бедную тромбоцитами плазму (platelet-poor plasma, PPP), которую использовали для калибровки шкалы оптической плотности агрегометра и разведения PRP до концентрации тромбоцитов 200–300·10^9/л. Исследование агрегации тромбоцитов проводили не позднее 2 ч после получения PRP.

Агрегационную активность тромбоцитов определяли турбидиметрическим методом с помощью агрегометра АТ-01 (НПФ «Медтех», Россия), в качестве индуктора агрегации использовали АДФ (CHRONO-LOG Corporation, США) в конечной концентрации 1,25 μM.

В ходе исследования регистрировали следующие показатели агрегатограммы:

– максимальная амплитуда агрегации (МА) – максимальное увеличение коэффициента светопропускания от момента внесения АДФ, в % к светопропусканию бестромбоцитной плазмы;

– t_1 – время достижения МА, с;

– $V_{агр}$ – скорость агрегации – МА/t_1, %×$с^{-1}$;

– t_2 – время уменьшения МА в 2 раза, с;

– $V_{дезагр}$ – скорость дезагрегации – ½ МА /t_2, %×$с^{-1}$.

Пробы PRP облучали в полипропиленовой кювете (d = 7 мм, h = 45 мм) с помощью полупроводникового лазерного аппарата АЛОД-Гранат (ООО «Алком медика», Россия), длина волны – 662 нм. Использовали световод с линзой для наружного облучения (ООО «Полироник», Россия), закрепленный в штативе. Торец световода располагали на расстоянии 40 мм от поверхности пробы.

В качестве фотосенсибилизатора использовали 0,35%-ый раствор радахлорина (ООО «РАДАФАРМА», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС-001868 от 16.12.2011). Концентрацию радахлорина в плазме крови крыс определяли после внутривенного введения спектрофотометрически. В момент введения расчетная концентрация радахлорина с учетом гематокрита составляла 160 мкг/мл плазмы. PPP разводили в 2 раза с PBS (фосфатно-солевой буфер, pH 7,4) и определяли оптическую плотность при

662 нм на спектрофотометре СФ-2000 (АО «ЛОМО», Россия). 800 мкл препарата вносили в кварцевую кювету (l = 0,5 см), измерение проводили в сравнении с плазмой контрольных крыс, разведенной в 2 раза PBS. Концентрацию радахлорина в плазме определяли на основе калибровочного графика, построенного для радахлорина, разведенного в контрольной плазме в PBS, в интервале концентраций от 2,5 до 30 мкг/мл.

В первой группе опытов исследовали влияние радахлорина на агрегацию тромбоцитов *in vitro*. В стандартную по содержанию тромбоцитов плазму добавляли радахлорин в конечной концентрации 10, 20 и 40 мкг/мл и после 5-минутной инкубации в темноте и определяли агрегационную активность тромбоцитов.

В следующей группе опытов исследовали влияние фотоактивированного радахлорина на агрегацию тромбоцитов *in vitro*: в плазму, содержащую стандартное число тромбоцитов, вводили радахлорин (14 мкг/мл), после 5-минутной инкубации в темноте пробу облучали и определяли агрегационную активность тромбоцитов. В группе сравнения исследовали влияние облучения в той же дозе на агрегацию тромбоцитов. Режимы облучения: плотность мощности на поверхности пробы – 0,05 Вт/см^2, плотность энергии – 12,5 и 25 Дж/см^2.

В третьей группе опытов животным в хвостовую вену вводили болюсно радахлорин (5 мг/кг). До забора крови животные содержались в темноте. Через 3 ч проводили забор крови из яремной вены, получали стандартную по тромбоцитам плазму, облучали ее и определяли агрегационную активность тромбоцитов. Режимы облучения: плотность мощности на поверхности пробы – 0,05 Вт/см^2, плотность энергии – 5, 10, 20 Дж/см^2.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программного пакета IBM «SPSS Statistics Version 20.0». Значимость различий измеряемых параметров оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Отличия считали статистически значимыми при значениях p менее, чем 0,05. Результаты представлены в виде медиана (нижний/верхний квартиль). Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Спирмена.

Результаты и обсуждение

В наших опытах для индукции агрегации тромбоцитов в крови крыс использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 1,25 μM, при этом агрегация имела обратимый характер. Данные о влиянии радахлорина на агрегацию тромбоцитов *in vitro* приведены в табл. 1. После 5-минутной инкубации PRP с радахлорином кинетика процесса изменилась: интенсивность агрегации уменьшилась, скорость агрегации и дезагрегации замедлились. Выраженность этих эффектов напрямую зависела от концентрации радахлорина. Как видно из табл. 1, снижение агрегационной активности тромбоцитов при инкубации с радахлорином носило дозозависимый характер (коэффициент корреляции Спирмена r = –0,915; p<0,001).

В следующей группе опытов после 5-минутной темновой инкубации PRP с радахлорином пробы облучали (12,5 и 25 Дж/см^2). В качестве дополнительного контроля исследовали агрегацию тромбоцитов сразу после лазерного облучения в тех же дозах в пробах без ФС. Как видно из данных табл. 2, лазерное облучение PRP (особенно при дозе 25 Дж/см^2) приводило к значимому увеличению интенсивности агрегации тромбоцитов, однако кинетика процесса при этом

Таблица 1
Влияние радахлорина на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов *in vitro*
Table 1
The effect of radachlorin on ADP-induced platelet aggregation *in vitro*

Группа Group	Число крыс (N) Number of rats (N)	Максимальная амплитуда агрегации (МА), % Maximal aggregation amplitude (MA), %	Скорость агрегации ($V_{агр}$), %×с$^{-1}$ Aggregation rate (V_{aggr}), % × sec^{-1}	Скорость дезагрегации ($V_{дезагр}$), %×с$^{-1}$ Disaggregation rate ($V_{disaggr}$), % × sec^{-1}
Контроль Control	10	55,5 (51–61,7)	0,42 (0,39–0,45)	0,31 (0,26–0,34)
Радахлорин, 10 мкг/мл Radachlorin, 10 μg/ml	5	46 (44–49)*	0,35 (0,29–0,37)*	0,15 (0,15–0,19)*
Радахлорин, 20 мкг/мл Radachlorin, 20 μg/ml	5	36 (30–41)*	0,23 (0,23–0,29)*	0,12 (0,11–0,12)*
Радахлорин, 40 мкг/мл Radachlorin, 40 μg/ml	5	21 (21–28)*	0,2 (0,17–0,22)*	0,08 (0,08–0,09)*

* – p<0,01 по сравнению с контролем (без радахлорина)
* – p<0.01 compared to control (without Radachlorin)

Таблица 2
Влияние фотоактивированного (12,5 и 25 Дж/см²) радахлорина (14 мкг/мл) на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов
Table 2
The effect of photoactivated (12.5 and 25 J/cm²) radachlorin (14 μg/ml) on ADP-induced platelet aggregation

Показатель Criterion	Контроль (n=10) Control (n=10)	Лазерное облучение, Дж/см² Laser irradiation, J/cm²		Радахлорин (n=5) Radachlorin (n=5)	Радахлорин + лазерное облучение, Дж/см² Radachlorin + laser irradiation, J/cm²	
		12,5 (n=5)	25 (n=5)		12,5 (n=5)	25 (n=5)
Максимальная амплитуда агрегации (МА), % Maximal aggregation amplitude (MA), %	55,5 (51–61,7)	76 (76–77)*	81 (81–82)*	37 (36–39)*	29 (26–30)*#	18 (8–18)*#
Скорость агрегации ($V_{агр}$), %×с$^{-1}$ Aggregation rate (V_{aggr}), % ×s^{-1}	0,42 (0,39–0,45)	0,59 (0,57–0,64)	0,8 (0,74–0,82)	0,28 (0,26–0,29)	0,09 (0,0,08–0,15)#	0,07 (0,02–0,09)#
Скорость дезагрегации ($V_{дезагр}$), %×с$^{-1}$ Disaggregation rate ($V_{disaggr}$), % ×s^{-1}	0,31 (0,26–0,34)	0,34 (0,32–034)	0,3 (0,29–0,33)	0,13 (0,13–0,14)*	Нет дезагрегации No disaggregation	

* – p<0,01 по сравнению с контролем; # – p<0,01 по сравнению с радахлорином без лазерного облучения.
* – p<0.01 compared to control; # – p<0.01 compared to Radachlorin without laser irradiation.

Таблица 3
Влияние фотоактивированного (5, 10, 20 Дж/см²) радахлорина (через 3 ч после внутривенного введения в дозе 5 мг/кг) на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов
Table 3
The effect of photoactivated (5, 10, 20 J/cm²) Radachlorin (3 hours after intravenous administration at a dose of 5 mg/kg) on ADP-induced platelet aggregation

Группа Group	Число крыс (N) Number of rats (N)	Максимальная амплитуда агрегации (МА), % Maximal aggregation amplitude (MA), %	Скорость агрегации ($V_{агр}$), %×с$^{-1}$ Aggregation rate (V_{aggr}), % × s^{-1}	Скорость дезагрегации ($V_{дезагр}$), %×с$^{-1}$ Disaggregation rate ($V_{disaggr}$), % × s^{-1}
Контроль Control	**10**	**55,5 (51–61,7)**	**0,42 (0,39–0,45)**	**0,31 (0,26–0,34)**
в/в-введение радахлорина за 3 ч до забора крови IV-administration of Radachlorin 3 hours before blood sampling	5	68 (67–74)*	0,44 (0,41–0,46)	0,22 (0,18–0,23)*
Облучение 5 Дж/см² Irradiation 5 J/cm²	5	65 (64–68)	0,41 (0,36–0,49)	0,21 (0,15–0,22)*
Облучение 10 Дж/см² Irradiation 10 J/cm²	5	56 (56–57)	0,45 (0,43–0,46)	0,12 (0,1–0,13)#
Облучение 20 Дж/см² Irradiation 20 J/cm²	5	36 (32–37)#	0,08 (0,06–0,18)#	Нет N/A

* – p<0,05 по сравнению с контролем; # – p<0,01 по сравнению с контролем.
* – p<0.05 compared to control; # – p<0.01 compared to control

существенно не изменялась. После облучения PRP, предварительно инкубированной с радахлорином, наблюдали уменьшение интенсивности агрегации и замедление дезагрегации, особенно при дозе 25 Дж/см^2. Таким образом, фотоактивация радахлорина усиливала его ингибирующее влияние на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов крыс, при этом стимулирующего влияния самого облучения на агрегацию не отмечено.

В третьей группе опытов через 3 ч после внутривенного введения крысам радахлорина производили забор крови, получали PRP, подвергали пробы лазерному облучению в разных дозах и определяли агрегационную активность тромбоцитов.

Исходя из объема крови у крыс (63 мл/кг), максимальная концентрация радахлорина в плазме сразу после введения составила 160 мкг/мл. Через 3 ч после внутривенного введения остаточная концентрация ФС в PRP крови крыс составила (38,0±1,3) мкг/мл, или 24% от исходной концентрации, что согласуется с литературными данными (10–30%) [11–14]. При этом агрегационная активность тромбоцитов не изменялась, а скорость дезагрегации значимо уменьшалась. В опытах *in vitro* при сопоставимых концентрациях радахлорина (20, 40 мкг/мл) эффект был значительно более выражен ($p<0.01$) (табл. 3.).

Как видно из данных табл. 3, после облучении PRP в дозе 5 Дж/см^2 не наблюдали изменения кинетики агрегационной активности тромбоцитов, при дозе 10 Дж/см^2 значимо замедлялась скорость дезагрегации, а после облучения в дозе 20 Дж/см^2 значительно уменьшались интенсивность и скорость агрегации тромбоцитов, дезагрегации при этом не наблюдалось.

Приведенные исследования показали, что радахлорин (основным действующим веществом которого является хлорин e_6) оказывает прямое влияние на агрегацию тромбоцитов в крови крыс, причем в опытах *in vitro* эффект более выражен, чем *ex vivo*.

In vitro добавление радахлорина дозозависимо уменьшало интенсивность АДФ-индуцированной агрегации, что согласуется с данными литературы [15], а также приводило к замедлению скорости дезагрегации. Этот эффект ранее описан не был. По данным J.Y. Park et al. [15], хлорин e_6 влияет практически на все процессы, активирующиеся после взаимодействия АДФ с пуриновыми рецепторами, т. е. действует подобно блокаторам P_2Y_{12}-рецепторов. Однако этот механизм не является единственным, так как ранее нами было описано ингибирующее влияние радахлорина на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов у крыс, не связанную с активацией пуриновых рецепторов [16].

По современным представлениям дезагрегация тромбоцитов является активным процессом. Инициирующие его механизмы постоянно протекают в тромбоцитах, предотвращая их активацию и агрегацию в сосудистом русле [17]. Как видно из данных табл. 2, радахлорин дозозависимо тормозил скорость как агрегации, так и, в еще большей степени, дезагрегации. На модели АДФ-индуцированной обратимой агрегации тромбоцитов крыс показано, что ингибитор P_2Y_{12}-рецепторов (CS-747) уменьшал интенсивность агрегации и не влиял на скорость дезагрегации [18]. Это подтверждает наше предположение, что точкой приложения радахлорина являются не только пуриновые, но и другие рецепторы тромбоцитов.

При высокой концентрации радахлорина агрегации тромбоцитов крыс, активированных АДФ и коллагеном, практически не происходило. Агрегатограмма при этом имела такой же вид, как при болезни Гланцмана (генетический дефицит GPIIb/IIIa-рецепторов). Возможно, основной механизм влияния радахлорина на агрегацию и дезагрегацию тромбоцитов связан с его действием на мембранные рецепторы, в том числе GPIIb/IIIa. Выраженность экспрессии GP-рецепторов и прочность их связи с фибриногеном определяют интенсивность агрегации и возможность дезагрегации. Возможно, при высокой концентрации радахлорина связь фибриногена с GP-рецепторами становится необратимой. Одним из механизмов резкого угнетения агрегации тромбоцитов *in vitro* при высоких концентрациях радахлорина, особенно после активации светом, может быть утрата (shedding) GP-рецепторов. Подобное влияние на GP-рецепторы тромбоцитов оказывает повышение температуры [19].

При фотоактивации радахлорина его влияние на агрегацию и дезагрегацию тромбоцитов значимо усиливалось, причем процесс дезагрегации был более чувствительным.

При проведении ФДТ циркулирующие в крови ФС проникают в клетки крови, в том числе тромбоциты; после облучения происходит фотоактивация ФС и, возможно, фотодинамическое повреждение тромбоцитов. В какой мере это может повлиять на образование тромбов и нарушение микроциркуляции в области ФДТ, остается неясным. В первом приближении ответ на этот вопрос можно получить в опытах *ex vivo*, исследуя агрегационную активность тромбоцитов после их длительного контакта с ФС в русле крови.

По нашим данным, через 3 ч после внутривенного введения радахлорина скорость агрегации не изменялась, а скорость дезагрегации значимо уменьшалась. Последующее лазерное облучение *in vitro* оказало ингибирующее влияние на оба процесса, причем более значимое – на скорость дезагрегации (рис. 1). На основании этих данных можно полагать что облучение фотосенсибилизированных тромбоцитов в зоне проведения ФДТ может привести к изменению их функциональной активности, однако степень выраженности этих изменений вряд ли значима для на-

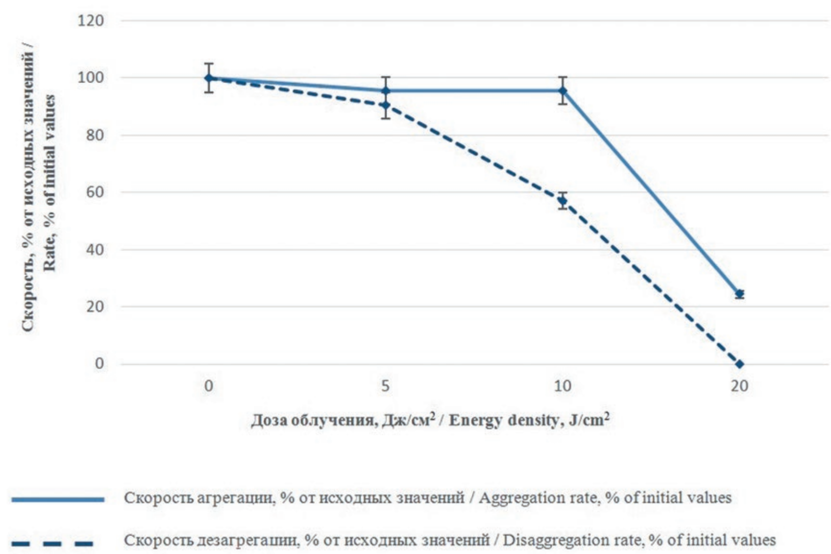

Рис. 1. Изменение скорости агрегации и дезагрегации тромбоцитов в зависимости от дозы облучения
Fig. 1. Change in the rate of aggregation and disaggregation of platelets depending on the dose of radiation

рушения микроциркуляции. Снижение дезагрегационной активности можно рассматривать как фактор, способствующий тромбозу при активации тромбоцитов тромбогенными факторами (АДФ, тромбоксан А2 и др), выделяющимися из поврежденных эндотелиальных клеток в зоне ФДТ.

Заключение

В условиях *in vitro* радахлорин дозозависимо ингибирует АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов крыс; после лазерного облучения этот эффект значимо усиливается. Воздействие радахлорина на циркулирующие тромбоциты приводит к изменению их функционального состояния, что проявляется в замедлении дезагрегации. После лазерного облучения выраженность функциональных изменений увеличивается. Снижение дезагрегационной активности тромбоцитов может иметь значение в механизме тромбоза сосудов в зоне воздействия при ФДТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Senge M.O., Radomski M.W. Platelets, photosensitizers, and PDT // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2013. – Vol. 10. – P. 1–16.
2. Chuannong Z. Mechanisms of tumor necrosis induced by photodynamic therapy // Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology. – 1989. – No. 3. – P. 299–318.
3. Zieve P.D., Solomon H.M., Krevans J.R. The effect of hematoporphyrin and light on human platelets. I: Morphologic, functional, and biochemical changes // J. Cell. Physiol. – 1966. – Vol. 67. – P. 271–279. Doi:10.1002/jcp.1040670207.
4. Solomon H.M., Zieve P.D., Krevans J.R. The effect of hematoporphyrin and light on human platelets. II: Uptake of hematoporphyrin // J. Cell. Physiol. – 1966. – Vol. 67, No. 2. – P. 281–284.
5. Zieve P.D., Solomon H.M. The effect of hematoporphyrin and light on human platelets. III: Release of potassium and acid phosphatase // J. Cell. Physiol. – 1966. – Vol. 68. – P. 109–111. Doi: 10.1002/jcp.1040680204.
6. Самаль А.Б., Зорина Т.Е., Черенкевич С.Н. Сенсибилизированное хлорином e_6 фотоингибирование агрегации тромбоцитов: участие активных форм кислорода // Гематол. и трансфузиол. – 1991. – Т. 36, № 4. – С. 19–21.
7. Самаль А.Б., Зорина Т.Е., Веселко Н.И. Фотосен-

REFERENCES

1. Senge M.O., Radomski M.W. Platelets, photosensitizers, and PDT, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2013, no. 10, pp. 1–16.
2. Zhou Chuannong. Mechanisms of tumor necrosis induced by photodynamic therapy, *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, 1989, no. 3, pp. 299–318.
3. Zieve P.D., Solomon H.M., Krevans J.R. The effect of hematoporphyrin and light on human platelets. I. Morphologic, functional, and biochemical changes, *J. Cell. Physiol.*, 1966, no. 67, pp. 271–279. Doi: 10.1002/jcp.1040670207.
4. Solomon H.M., Zieve P.D., Krevans J.R. The effect of hematoporphyrin and light on human platelets. II. Uptake of hematoporphyrin, *J Cell Physiol*, 1966, Apr, vol. 67, no. 2, pp. 281–284.
5. Zieve P.D., Solomon H.M. The effect of hematoporphyrin and light on human platelets. III. Release of potassium and acid phosphatase, *J. Cell. Physiol.* 1966, № 68, pp. 109–111. Doi: 10.1002/jcp.1040680204.
6. Samal A.B., Zorina T.E., Cherenkevich S.N. Chlorin e6 sensitized photoinhibition of platelet aggregation: participation of reactive oxygen species, *Gematologiya i transfuziologiya*, 1991, vol. 36, no. 4, pp. 19–21. (In Russ.).
7. Samal A.B., Zorina T.E., Veselko N.I., Hmara N.F., Cherenkevich S.N. Chlorin e6 photosensitized inhibition of human platelet

сибилизированное хлорином e_6 ингибирование агрегации тромбоцитов человека // Фармакол. и токсикол. – 1991. – Т. 54, № 1. – С. 32–34.
8. Hendersen B.W. Wieman T.J., Haydon P.S. The effects of thrombocytopenia on vessel stasis and macromolecular leakage therapy using photofrin // Photochem Photobiol. – 1997. – Vol. 66. – P. 513–517.
9. Зорина Т.Н., Далидович А.А., Марченко Л.Н. Механизмы фотодинамической терапии неоваскулярных заболеваний глазного дна // Материалы науч.-практ. конф. / под ред. С. М. Смотрина [и др.]. – Гродно: ГрГМУ, 2011. – С. 27–30.
10. Белозерцева И.В., Драволина О.А., Тур М.М. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова / под ред. Э.Э. Звартау. – СПб.: СПбГМУ, 2014. – 80 с.
11. Privalov V.A., Lappa A.V., Seliverstov O.V. Clinical Trials of a New Chlorin Photosensitizer for Photodynamic Therapy of Malignant Tumors // Proc. SPIE The International Society for Optical Engineering. – 2002. – P. 4612. Doi: 10.1117/12.469355.
12. Shi H., Liu Q., Qin X. et al. Pharmacokinetic study of a novel sonosensitizer chlorin-e6 and its sonodynamic anti-cancer activity in hepatoma-22 tumor-bearing mice // Biopharm. Drug. Dispos. – 2011. – Vol. 32, № 6. – P. 319–332. Doi: 10.1002/bdd.761.
13. Shton I.O., Sarnatskaya V.V., Prokopenko I.V. Chlorin e6 combined with albumin nanoparticles as a potential composite photosensitizer for photodynamic therapy of tumors // Exp. Oncol. – 2015. – Vol. 37, № 4. – P. 250–254. PMID: 26710836.
14. Volovetsky A.B., Sukhov V.S., Balalaeva I.V. et al. Pharmacokinetics of Chlorin e6-Cobalt Bis(Dicarbollide) Conjugate in Balb/c Mice with Engrafted Carcinoma // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, № 12. – P. 2556. Doi: 10.3390/ijms18122556.
15. Park J.Y., Ji H.D., Jeon B.R. et al. Chlorin e6 prevents ADP-induced platelet aggregation by decreasing PI3K-Akt phosphorylation and promoting cAMP production // Evid Based Complement Alternat Med. – 2013. Doi: 10.1155/2013/569160.
16. Влияние фотосенсибилизатора радахлорина и фотодинамического воздействия на индуцированную коллагеном агрегацию тромбоцитов / Т. Г. Гришачева, И. Н. Дементьева, С. Г. Чефу, Н. Н. Петрищев // Лазер. мед. – 2017. – № 4. – С. 42–46.
17. Maayani S., Tagliente T. M., Schwarz T. et al. Deaggregation is an integral component of the response of platelets to ADP in vitro: kinetic studies of literature and original data // Platelets. – 2001. – № 12 (5). – P. 279–291. Doi: 10.1080/09537100120071004.
18. Sugidachi A., Asai F., Ogawa T. et al. The in vivo pharmacological profile of CS–747, a novel antiplatelet agent with platelet ADP receptor antagonist properties // British Journ. of Pharmacology. – 2000. – № 129. – P. 1439–1446. Doi: 10.1038/sj.bjp.0703237.
19. Wang Z., Cai F., Chen X. et al. The Role of Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species in Hyperthermia-Induced Platelet Apoptosis // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8, № 9. – P. e75044. Doi: 10.1371/journal.pone.0075044.

aggregation, *Farmakologiya i toksikologiya*, 1991, vol. 54, no. 1, pp. 32–34. (In Russ.).
8. Hendersen B.W., Wieman T.J., Haydon P.S. The effects of thrombocytopenia on vessel stasis and macromolecular leakage therapy using photofrin, *Photochem Photobiol*., 1997, no. 66, pp. 513–517.
9. Zorina T.N., Dalidovich A.A., Marchenko L.N., Krivonosov V.V., Kravchenko I.E., Zorin V.P. Mechanisms of photodynamic therapy of neovascular ocular fundus diseases, *Materialy nauchno-prakticheskoj konferencii*, by eds. S.M. Smotrin et al., Grodno, GrSMU, 2011, pp. 27–30. (In Russ.).
10. Belozerceva I.V., Dravolina O.A., Tur M.A. *Rukovodstvo po ispol'zovaniyu laboratornyh zhivotnyh dlya nauchnyh i uchebnyh celej v PSPbGMU im. akad. I.P. Pavlova* [Guidelines for the use of laboratory animals for scientific and educational purposes at Pavlov FSPbSMU], by. E.E. Zvartau as eds. Sankt-Peterburg, SPbSMU, 2014, 80 p.
11. Privalov V.A., Lappa A.V., Seliverstov O.V., Faizrakhmanov A.B. et al. Clinical Trials of a New Chlorin Photosensitizer for Photodynamic Therapy of Malignant Tumors. Proc, *SPIE The International Society for Optical Engineering*, 2002, p. 4612. Doi: 10.1117/12.469355.
12. Shi H., Liu Q., Qin X., Wang P., Wang X. Pharmacokinetic study of a novel sonosensitizer chlorin-e6 and its sonodynamic anti-cancer activity in hepatoma-22 tumor-bearing mice, *Biopharm Drug Dispos*, 2011, Sep; vol. 32, no. 6, pp. 319–32. Doi: 10.1002/bdd.761.
13. Shton I.O., Sarnatskaya V.V., Prokopenko I.V., Gamaleia N.F., Gamaleia N.F. Chlorin e6 combined with albumin nanoparticles as a potential composite photosensitizer for photodynamic therapy of tumors, *Exp. Oncol*, 2015, Dec, vol. 37, no. 4, pp. 250–254. PMID: 26710836.
14. Volovetsky A.B., Sukhov V.S., Balalaeva I.V., Dudenkova V.V. et al. Pharmacokinetics of Chlorin e6-Cobalt Bis(Dicarbollide) Conjugate in Balb/c Mice with Engrafted Carcinoma, *Int. J. Mol. Sci*, 2017, vol. 18, no. 12, pp. 2556. Doi: 10.3390/ijms18122556.
15. Park J.Y., Ji H.D., Jeon B.R., Im E.J., Son Y.M., Lee J.Y., Lee D.H., Lee Y.C., Hyun E., Jia Q. et al. Chlorin e6 prevents ADP-induced platelet aggregation by decreasing PI3K-Akt phosphorylation and promoting cAMP production, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013. Doi: 10.1155/2013/569160.
16. Grishacheva T.G., Dement'eva I.N., Chefu S.G., Petrishchev N.N. Effect of Radachlorin photosensitizer and photodynamic treatment on collagen-induced platelet aggregation, *Lazernaya medicina*, 2017, no. 4, pp. 42–46. (In Russ.).
17. Maayani S., Tagliente T.M., Schwarz T., Craddock-Royal B., Alcala C., Marrero G., Martinez R. Deaggregation is an integral component of the response of platelets to ADP in vitro: kinetic studies of literature and original data, *Platelets*. 2001, vol. 12, no. 5, pp. 279–291. Doi: 10.1080/09537100120071004.
18. Sugidachi A., Asai F., Ogawa T., Inoue T. and Koike H. The in vivo pharmacological profile of CS–747, a novel antiplatelet agent with platelet ADP receptor antagonist properties, *British Journal of Pharmacology*, 2000, № 129, pp. 1439–1446. Doi: 10.1038/sj.bjp.0703237.
19. Wang Z., Cai F., Chen X. et al. The Role of Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species in Hyperthermia-Induced Platelet Apoptosis. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 9, pp. e75044. Doi: 10.1371/journal.pone.0075044.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МОДЕЛЬ ЭРИТРОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Д.А. Кравчук[1], Д.В. Орда-Жигулина[2,3]
[1]Южный федеральный университет, Таганрог, Россия
[2]ООО «Параметрика», Таганрог, Россия
[3]Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону, Россия

Резюме

Разработана экспериментальная модель для изучения оптико-акустического сигнала от моделей клеток крови, представляющих собой полистирольные микросферы с наночастицами. Установлено, что наночастицы из-за их сильного поглощения света существенно влияют на коэффициент клеточного оптического поглощения, при этом теплофизические параметры, а именно коэффициент теплового расширения, сжимаемость и изобарическая удельная теплоемкость клеток остаются неизменными, так как наночастицы занимают незначительный внутриклеточный объем по сравнению с объемом самой клетки. Оптоакустические сигналы были получены с использованием модельных растворов при различных концентрациях клеток и наночастиц для воздействия лазером с длиной волны 1064 нм. Экспериментальные данные, полученные с помощью лазерной установки LIMO100–532/1064-U на основе Nd:YAG, показали, что амплитуда оптоакустического сигнала возрастала без увеличения температуры в зоне воздействия лазера.

Ключевые слова: оптоакустический сигнал, гематокрит, агрегация, эритроциты, спектральная плотность мощности, лазер.

Для цитирования: Кравчук Д.А. Экспериментальные исследования оптоакустического воздействия на модель эритроцитов в присутствии углеродных наночастиц // Biomedical Photonics. – 2019 – Т. 8, № 3 – С. 11–18. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-11-18.

Контакты: Кравчук Д.А., e-mail: Kravchukda@sfedu.ru

EXPERIMENTAL STUDIES OF OPTOACOUSTIC EFFECT ON THE MODEL OF ERYTHROCYTES IN THE PRESENCE OF CARBON NANOPARTICLES

Kravchuk D.A.[1], Orda-Zhigulina D.V.[2,3]
[1]Southern Federal University, Taganrog, Russia
[2]OOO "Parametrika", Taganrog, Russia
[3]The Southern Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Experimental model has been developed to study optoacoustic signal from model blood cells presented by polystyrene microspheres with nanoparticles. It was found out that nanoparticles due to their strong absorption of light significantly affect the coefficient of cellular optical absorption, while the thermophysical parameters, namely the coefficient of thermal expansion, compressibility and isobaric specific heat of cells remain unchanged, since nanoparticles occupy a small intracellular volume compared to the cell volume. Optoacoustic signals were obtained using model solutions at various concentrations of cells and nanoparticles using 1064 nm laser. The results of experimental measurements using LIMO 100–532/1064-U system based on Nd:YAG showed that the amplitude of the optoacoustic signal increased without increasing the temperature in the laser area.

Keywords: optoacoustic signal, hematocrit, aggregation, erythrocytes, spectral power density, laser.

For citations: Kravchuk D.A. Experimental studies of optoacoustic effect on the model of erythrocytes in the presence of carbon nanoparticles, *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 11–18. (in Russian) doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-11-18.

Contacts: Kravchuk D.A., e-mail: kravchukda@sfedu.ru

Введение

Оптоакустическая визуализация – комбинированная технология визуализации, которая обеспечивается с помощью регистрации исходящих широкополосных ультразвуковых (УЗ) сигналов, формируемых в биологических тканях, освещаемых лазером. В отличие от ионизирующих методов визуализации, таких как рентгенография, компьютерная томография, позитронно-эмиссионная томография, в оптоакустическом преобразовании используются только низкоэнергетические фотоны и ультразвуковые волны. Например, энергия фотонов видимого инфракрасного света для оптоакустической визуализации не превышает 2 эВ, в то время как энергия типичного рентгеновского излучения для рентгенографии составляет около 10–100 кэВ. Таким образом, оптоакустическая визуализация является безопасным методом неинвазивных исследований, что особенно перспективно для практического использования. Чистые методы оптической визуализации, такие как оптическая когерентная томография, флуоресцентная визуализация и различные виды оптической микроскопии широко используются в медицине и применяются для изучения клеток и биологических структур. Эти методы используют преимущественно спектроскопические особенности взаимодействия света и ткани, внутренние оптические контрасты (рассеяние, поглощение, рефракционный индекс, поляризация и пр.). Для глубин порядка миллиметра чистые оптические методы визуализации используют короткую длину волны когерентного света и обеспечивают формирование изображения с высокой разрешающей способностью для биомедицинских исследований, как на клеточном уровне, так и в масштабе отдельных органов и тканей. Однако за пределами миллиметровой глубины фотоны в биологических тканях сильно рассеиваются, что ограничивает пространственное разрешение чисто оптических методов визуализации для большинства биомедицинских применений, где требуется изображение более глубоких слоев тканей при сохранении относительно высокого разрешения [1]. Относительное низкое пространственное разрешение этого метода препятствует дальнейшему клиническому применению и снижает потенциал распространения данной методики в диагностической медицине.

В отличие от сильного рассеяния оптического луча рассеяние ультразвуковых волн в биологических тканях на два-три порядка слабее [2, 3], вследствие чего УЗ волна позволяет получить улучшенное отношение сигнал-шум и более высокое пространственное разрешение по сравнению с диффузной фотонной волной для глубоко расположенных объектов в биологических тканях. В качестве одного из ключевых оптических биомаркеров при обнаружении опухолей при помощи оптического поглощения, обеспечиваемого оптоакустической визуализацией, используется независимый контраст изображения, отсутствующий в других методах визуализации, таких как ультрасонография, рентгенография и магнитно-резонансная томография (МРТ) [4–7].

В методах оптоакустической визуализации для улучшения ее чувствительности широко используются различные металлические и неметаллические наночастицы в качестве контрастных веществ. В биомедицинской визуализации используют различные наноразмерные структуры, такие как наносферы, наностержни, наносистемы серебра, золота и углеродные нанотрубки (УНТ), в качестве усилителей контрастности.

Выбор углеродных наночастиц является наиболее подходящим для использования в диагностике и терапии из-за их простой и быстрой подготовки, перестраиваемых свойств рассеяния света и поглощения и способности связываться с целевыми клетками. Однако существует значительное количество исследований, ставящих под сомнение целесообразность использования нанотрубок в живых организмах, вследствие их токсичности. Поэтому ниже приведены результаты некоторых работ, опубликованных преимущественно за последние три года, касающихся проблемы применения УНТ в биомедицине.

В работе N. Lu и соавт. исследовано влияние оболочек фибриногена на биодеградацию и цитотоксичность одностенных углеродных нанотрубок. Показано, что связывание с фибриногеном снижает токсичность УНТ, не вызывая при этом их биодеградации в активированных клетках, что открывает новые возможности в разработке безопасных нанотрубок для биомедицинских применений [8]. Статья H.J. Johnston и соавт. содержит критический обзор доступных данных о влиянии УНТ на здоровье человека для оценки рисков, связанных с использованием УНТ. Авторами определены параметры УНТ, наиболее вероятные для управления токсичностью (длина, содержание металла, склонность к агрегации/агломерации и химический состав поверхности) [9]. В работе H. Ahmadi и соавт. исследовано влияние двух разных видов УНТ на мышей: в итоге не было выявлено значительной токсичности введенных доз УНТ ни в одной из групп животных [10]. В работе L.E. Carvalho и соавт., обсуждаются аспекты применения УНТ в лечении меланомы, такие как снижение токсичности и повышение биосовместимости. Авторы предлагают методы решения проблемы и говорят о перспективности УНТ, как транспортного средства доставки лекарственных веществ в опухоль [11].

Суммируя данные проводившихся многочисленными авторами исследований, можно отметить сле-

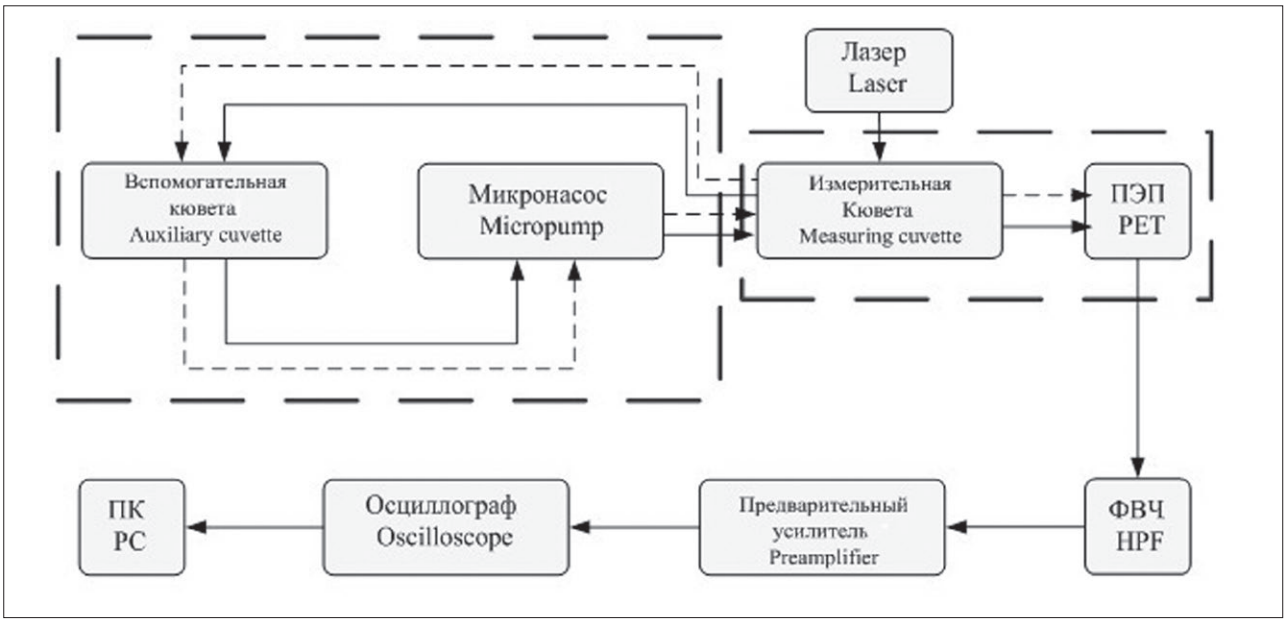

Рис. 1. Структурная схема экспериментальной установки для исследования формирования акустического сигнала в суспензиях при оптоакустическом преобразовании
Fig. 1. Block diagram of the experimental setup for the study of the formation of an acoustic signal in suspensions during optoacoustic conversion

дующее: токсичность УНТ не до конца изучена, однако имеются сведения, что функционализированные (связанные с каким-либо материалом) нанотрубки проявляют слабую токсичность. Также токсичность зависит от их параметров, таких как длина и количество стенок. При этом все авторы отмечают перспективность применения УНТ, поскольку они являются эффективным инструментом в терапии и диагностике.

Представленная экспериментальная работа базируется на исследованиях, проведенных ранее как авторами статьи, так и другими авторами [9–14]. Целью работы является экспериментальная проверка теоретической модели оптоакустического эффекта в движущейся среде в присутствии наноразмерных частиц [15]. В сравнении с исследованиями других авторов [16, 17] в эксперименте регистрируется акустический сигнал от нанообъектов, находящихся в движущейся жидкости, которая помещена в трубку и соединена с помповым насосом.

Материалы и методы

Структурная схема измерения временной реализации амплитуды и спектра акустических волн, возникающих в результате оптоакустического преобразования в модельной жидкости показана на рис. 1. В модельной жидкости присутствуют модели эритроцитов и наноразмерные объекты (углеродные нанотрубки), скорость движения жидкости постоянна, температура 37±1°C.

Насос позволяет формировать объемную скорость жидкости, идентичную объемной скорости кровотока в организме человека (4 л/мин) [18–23]. При пересчете в линейную скорость для трубки диаметром 7 мм получаем значение 2,89 см/с, что соответствует размеру артериолы в организме человека и скорости кровотока в ней.

Луч лазера направлялся на поверхность движущейся модельной жидкости, находящейся в измерительной термостатируемой кювете [15]. В результате оптоакустического преобразования в модельной жидкости формируются акустические волны, которые взаимодействуют с моделями эритроцитов и конгломератом наноразмерных частиц, потоком жидкости, при этом изменяется амплитуда и профиль акустического сигнала. Акустический сигнал детектируется пьезокерамическим преобразователем, поступает на фильтр верхних частот для выделения полезного сигнала и подавления низкочастотных шумов лазерной установки.

Цифровой осциллограф на базе платформы LabView (National Instruments, США) записывает значения экспериментальных данных. Осциллограф подключен к персональному компьютеру (ПК), где программное обеспечение, разработанное в среде Matlab (MathWorks, США), обрабатывает полученные данные и позволяет сопоставить теоретические расчеты и экспериментальные данные.

Импульсы длительностью 84 нс и периодом следования 10 кГц формировались в установке LIMO 100–532/1064-U [12, 24] одномодовым твердотельным Nd:YAG лазером с изменяемым уровнем мощности 0,1–100 Вт, параметры установки приведены в табл. 1.

Частоту следования импульсов лазера, определяющая частоту основной гармоники формируемого оптоакустического сигнала, задавали программно в среде Labview, она составляла 10 кГц [12–14].

При воздействии лазерным лучом (с параметрами лазера, приведенными в табл. 1) на модельную жидкость, которой была заполнена кювета, в результате оптоакустического преобразования формировались акустические волны. Эксперименты проводили для разных типов модельных растворов с моделями эритроцитов и углеродных нанотрубок.

В эксперименте для моделирования крови и эритроцитов в ней использовали ряд модельных жидкостей с наполнителями.

Далее рассмотрены типы жидкостей и их характеристики.

В качестве однородной поглощающей среды для проведения эксперимента был подготовлен натрий-фосфатный раствор (раствор хлорида натрия, гидрофосфата натрия Na_2HPO_4, хлорида калия KCl и дигидрофосфата калия KH_2PO_4). Осмотическая концентрация и pH (7.32) раствора были идентичны плазме крови.

Эритроциты в эксперименте смоделированы сферическими полистирольными сферами для проверки теоретической модели, где в первом приближении рассеивающие объекты моделировались сферами. Для моделирования эритроцитов крови были выбраны полистирольные микросферы с диаметром 5, 8, 15 и 20 мкм (рис. 2), произведенные в ООО «Диафарм» (Россия). Размер полистирольных сфер выбирался так, чтобы соответствовать размерам красных кровяных телец, которые в норме представляют собой двояковыпуклые диски диаметром около 5–6 мкм и средней толщиной 2,0 мкм. Коэффициент оптического поглощения сфер хорошо согласуется с данными для эритроцитов в эквивалентных концентрациях.

Для подсчета числа микросфер, использовали методику подсчета эритроцитов в камере Горяева: для этого проводили подсчет в пяти больших квадратах, расположенных в различных местах пробы раствора, например, по диагонали. Таким образом, зная, сумму микросфер в пяти больших квадратах (что составляет 80 маленьких), находили среднее арифметическое число микросфер в одном маленьком квадрате. Умножив найденное число на 4000 (объём пространства камеры над одним маленьким квадратом равен 1/4000) получали число микросфер в 1 мм^3 разведённой крови. В итоге получали число в пересчёте на 1 л крови, т.е. число миллионов микросфер.

Суспензию дополнительно разбавляли деионизированной водой для получения более низких концентраций (100% = $5{\cdot}10^6$ частиц/мкл).

Известно, что наночастицы применяют в медицине в качестве усилителей контрастности в различных методах оптической визуализации, таких как оптическая когерентная томография, флуоресцентная визуализация и микроскопия оптического отражения. УНТ представляют собой цилиндрические молекулы, которые состоят из свернутых листов однослойных атомов углерода (графена). Для проведения исследований использовались УНТ со средней длиной 5 мкм и диаметром 20 нм, которые были изготовлены в НОЦ «Нанотехнологии» ЮФУ. Нанотрубки – это структурированные частицы, которые не растворяются в воде или органических жидкостях. Для их суспендирования применяли ультразвуковое перемешивание в ультразвуковой ванне. Результат на выходе более близок к углеродным нановолокнам (УНВ) со средней длиной 70–100 мкм и диаметром 30–50 нм.

Таблица 1
Параметры измерительной установки
LIMO 100–532/1064–4
Table 1
LIMO 100–532/1064–4 measurement system parameters

Длительность импульса, нс Pulse duration, ns	84
Однородность пучка лазерного излучения, % Laser beam homogeneity, %	98,5
Энергия в импульсе (E), мДж Pulse energy (E), mJ	11
Диаметр лазерного луча (d), мм Laser beam diameter (d), mm	3,5

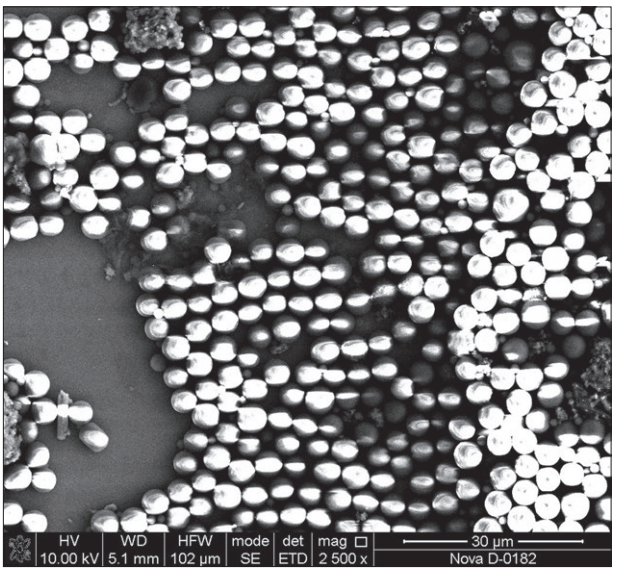

Рис. 2. Полистирольные микросферы в модельном растворе (70% микросфер) (Nova Nanolab 600)
Fig. 2. Polystyrene microspheres in a model solution (70% microspheres) (Nova Nanolab 600)

Результаты и обсуждение

Во время проведения экспериментов по исследованию генерации акустического сигнала в модельных

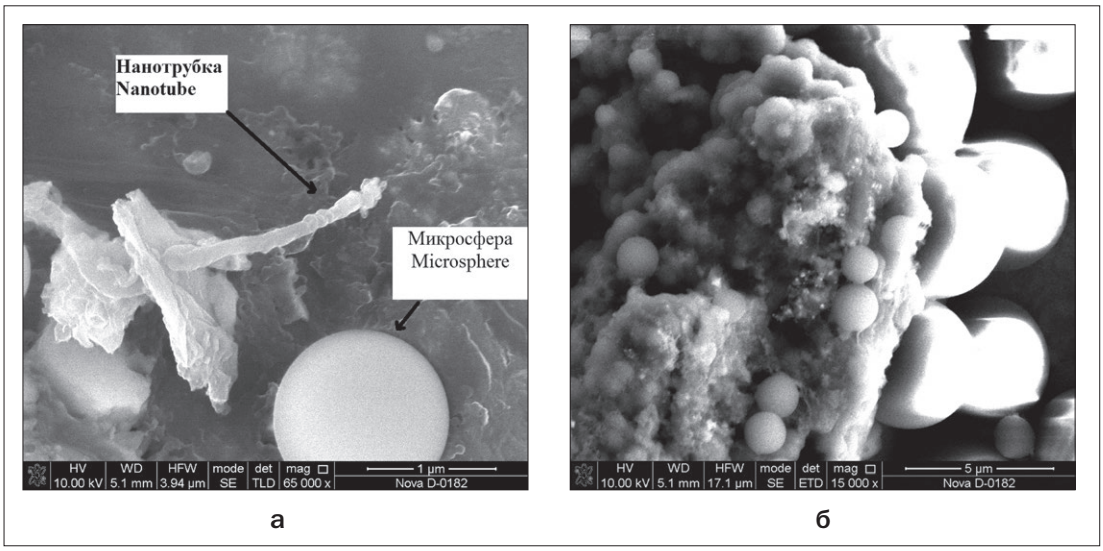

Рис. 3. Раствор полистирольных микросфер:
а – полистирольная микросфера с нанотрубкой;
б – конгломерат наночастиц с микросферами в модельном растворе (Nova Nanolab 600)
Fig. 3. Polystyrene microspheres solution:
а – polystyrene microsphere with nanotube;
б – conglomerate of nanoparticles with microspheres in a model solution (Nova Nanolab 600)

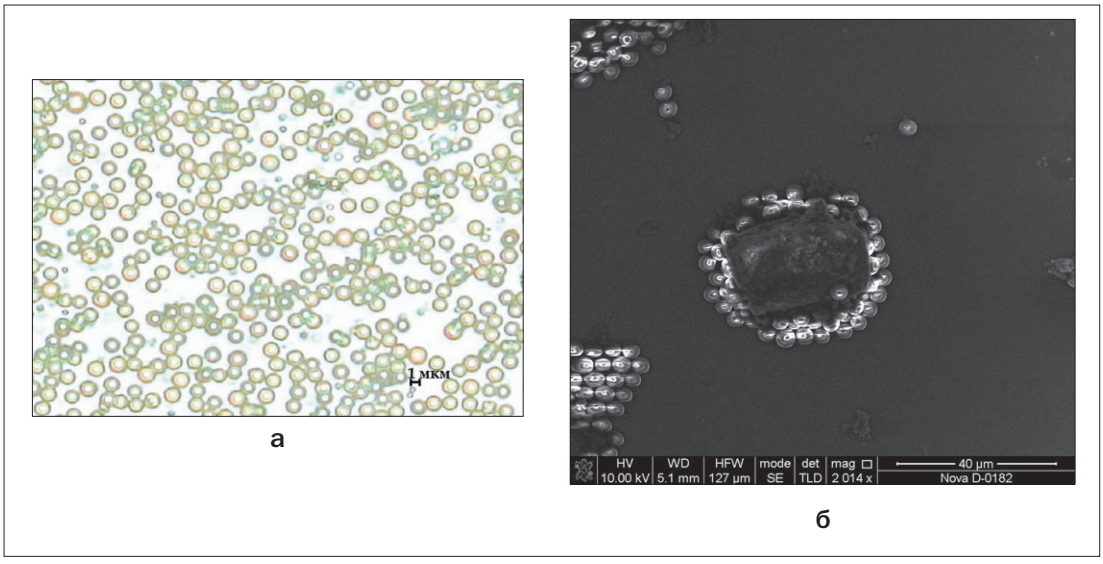

Рис. 4. Натрий-фосфатный раствор с микросферами и углеродными наночастицами:
а – изображение, полученное на оптическом микроскопе Olympus X-71
б – изображение, полученное на растровом микроскопе Nova Nanolab 600
Fig. 4. Sodium phosphate solution with microspheres and carbon nanoparticles:
а – image from Olympus X-71 optical microscope;
б – image from scanning electron microscope Nova Nanolab 600

суспензиях, были сделаны контрольные снимки используемых растворов (рис. 2) с помощью растрового электронного микроскопа Nova Nanolab 600 (FEI Company, Нидерланды) и микроскопа Olympus X-71 (NTEGRA Vita, Россия).

Как видно из рис. 2, углеродные нанотрубки собираются в конгломераты, при этом «захватывая» микросферы. Этот процесс можно рассмотреть с помощью изображений, полученных на растровом микроскопе Nova Nanolab 600 (рис. 3).

Способность наночастиц и их конгломератов инкапсулировать вещества продемонстрирована на рис. 4.

Время воздействия лазерного излучения составляло порядка 80 нс (время роста пика сигнала). Амплитуда сигнала с ростом мощности лазерного излучения на 15% увеличивалась на 28%. При этом от-

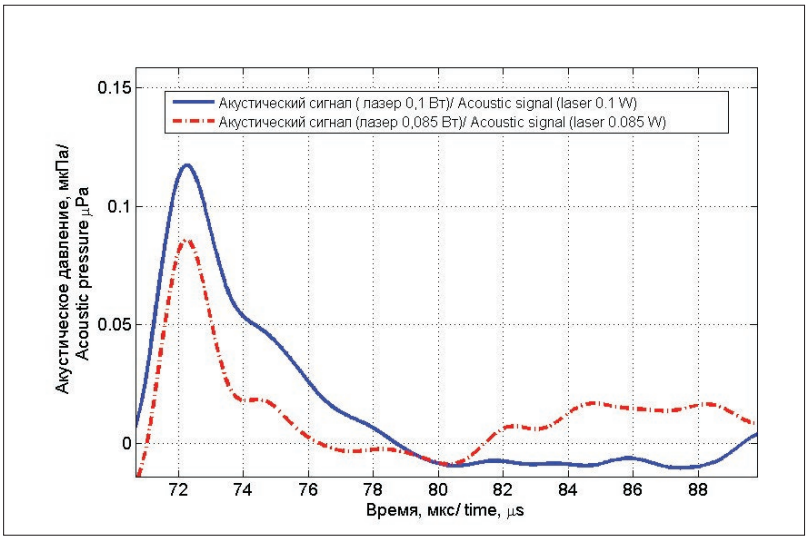

Рис. 5. Акустический сигнал, зарегистрированный в водном растворе при различных используемых мощностях
Fig. 5. Acoustic signal registered in aqueous solution at various used laser power

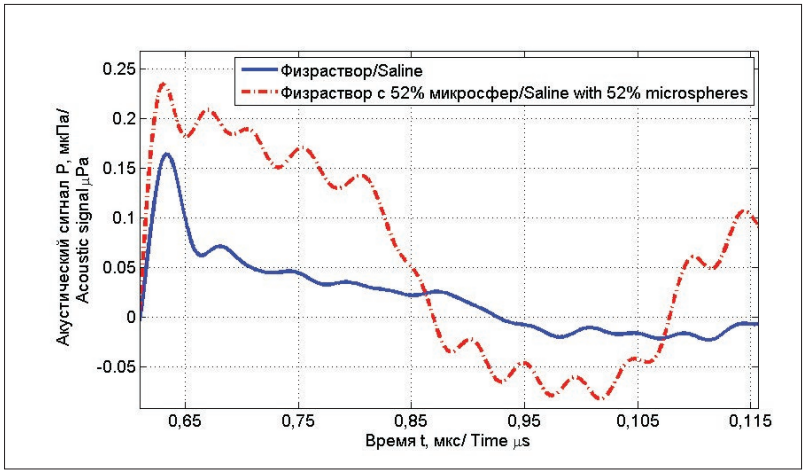

Рис. 6. Регистрируемые опытные значения оптоакустического сигнала в чистом физрастворе и физрастворе, содержащем микросферы
Fig. 6. Recorded experimental optoacoustic signal in pure saline and saline containing microspheres

метим, что время релаксации после пика разогрева изменялось, так при мощности 0,085 Вт время релаксации составило 9,2 мкс, а при 0,1 Вт – 18,5 мкс. Это проиллюстрировано на рис. 5.

На рис. 6 приведены профили акустического сигнала, генерируемого в натрий-фосфатном растворе и натрий-фосфатном растворе с 52% микросфер, что соответствует показателям гематокрита [8–10].

Из рис. 6 видно, что в растворе без микросфер время релаксации составляет 0,52 мкс. В присутствии микросфер время релаксации акустического сигнала уменьшается (до 0,45 мкс) за счет поглощения и рассеяния сферами оптического сигнала, при этом наблюдается увеличение амплитуды сигнала и смещение спектра сигнала в сторону уменьшения частоты (рис. 7), что также говорит о большей поглощающей способности раствора. Также в профиле акустического сигнала с микросферами наблюдаются флуктуации релаксационной части сигнала вследствие многократных отражений от микросфер.

Заключение

Авторами данной работы впервые теоретически [13, 14, 24] и экспериментально [12, 15] был исследован оптоакустический сигнал в движущейся жидкости в присутствии нанообъектов. Поскольку в дальнейшем предполагается использование углеродных нанотрубок для диагностики эритроцитов по току крови, в исследовании была спроектирована и опробована экспериментальная установка, позволяющая смоделировать движение крови в сосуде. Показано, что при небольших скоростях (в средних сосудах) влиянием потока можно пренебречь.

Проведенные экспериментальные исследования влияния контрастных веществ на основе наночастиц на формирование оптоакустического сигнала показали рост амплитуды оптоакустического сигнала вследствие увеличения поглощения наночастицами. Форма оптоакустического сигнала при большой концентрации наночастиц, подтверждает

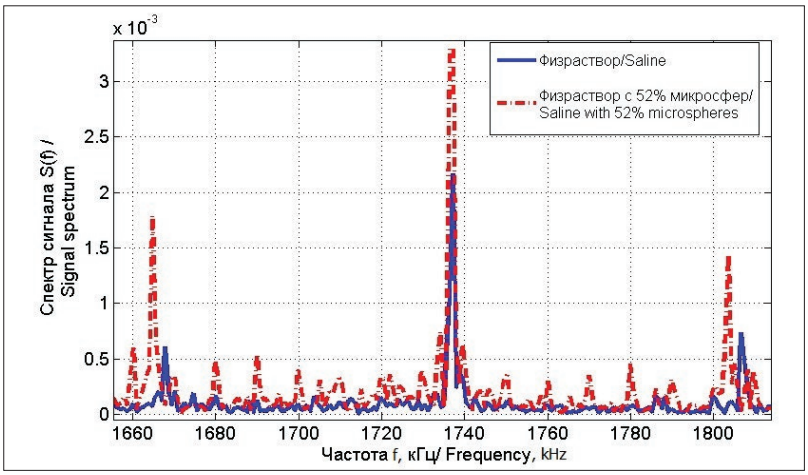

Рис. 7. Спектр оптоакустического сигнала в чистом физрастворе и физрастворе, содержащем микросферы
Fig. 7. Optoacustic signal spectrum in pure saline and saline containing microspheres

теоретические расчеты форм оптоакустического сигнала полученные в ранее опубликованных работах [13, 14, 24].

Данные результаты могут использоваться при проектировании систем экспресс-диагностики крови на наличие бактериальных, раковых клеток, степени агрегации эритроцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Южного федерального университета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yuan Z., Zhang Q., Jiang H. 3D diffuse optical tomography imaging of osteoarthritis: Initial results in finger joints // J Biomed Opt. – 2007. – Vol. 12. – 034001.
2. Duck F.A. Physical properties of tissue: a comprehensive reference book. – Academic Press, London, UK, 1990.
3. Xu M., Wang L.V. Photoacoustic imaging in biomedicine // Rev Sci Instrum. – 2006. – vol. 77. – P. 041101–041122.
4. Brecht H., Su R., Fronheiser M., et al. Wholebody three-dimensional optoacoustic tomography system for small animals // J Biomed Opt. – 2009. – Vol. 14(6). – 064007.
5. Sun Y., Sobe E.S., Jiang H. First assessment of three-dimensional quantitative photoacoustic tomography for in vivo detection of osteoarthritis in the finger joints // Med Phys. – 2011. – Vol. 38(7). – P. 4009.
6. Wang X., Pang Y., Ku G., et al. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain // Nat Biotechnol. – 2003. – Vol. 21. – P. 803–806.
7. Laufer J., Zhang E., Raivich G., Beard P. Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner // Appl Opt. – 2009. – Vol. 48. – P. 299–306.
8. Lu N., Sui Y., Ding Y., et al. Fibrinogen binding-dependent cytotoxicity and degradation of single-walled carbon nanotubes // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2018. – Vol. 29(8). – P. 1–8.
9. Johnston H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M., et al. A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics // Nanotoxicology. – 2010. – Vol. 4(2). – P. 207–46. doi: 10.3109/17435390903569639
10. Ahmadi H., Ramezani M., Yazdian-Robati R., et al. Acute toxicity of functionalized single wall carbon nanotubes: A biochemical, histopathologic and proteomics approach // Chemico-Biological Interactions. – 2017. – Vol. 275. – P. 196–209.
11. Carvalho L.E., Piqueira J., Maria D. Advances in Carbon Nanotubes for Malignant Melanoma: A Chance for Treatment // Molecular Diagnosis & Therapy. – 2018. – Vol. 22(6), – P. 703–715.

REFERENCES

1. Yuan Z., Zhang Q., Jiang H. 3D diffuse optical tomography imaging of osteoarthritis: Initial results in finger joints, *J. Biomed Opt*., 2007, vol. 12, 034001.
2. Duck F.A. *Physical properties of tissue: a comprehensive reference book*. Academic Press, London, UK, 1990.
3. Xu M., Wang L.V. Photoacoustic imaging in biomedicine, *Rev Sci Instrum,* 2006, vol. 77, pp. 041101–041122.
4. Brecht H., Su R., Fronheiser M., Ermilov S.A., Conjusteau A., Oraevsky A.A. Wholebody three-dimensional optoacoustic tomography system for small animals, *J. Biomed Opt*., 2009, vol. 14(6), 064007.
5. Sun Y., Sobe E.S., Jiang H. First assessment of three-dimensional quantitative photoacoustic tomography for in vivo detection of osteoarthritis in the finger joints, *Med Phys*, 2011, vol. 38(7), p. 4009.
6. Wang X., Pang Y., Ku G., Xie X., Stoica G., Wang L.V. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain, *Nat Biotechnol,* 2003, vol. 21, pp. 803–806.
7. Laufer J., Zhang E., Raivich G., Beard P. Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner, *Appl Opt*, 2009, vol. 48, pp. 299–306.
8. Lu N., Sui Y., Ding Y., Tian R., Peng, Y. Fibrinogen binding-dependent cytotoxicity and degradation of single-walled carbon nanotubes, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2018, vol. 29(8), pp. 1–8.
9. Johnston H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M., Peters S., Hankin S., Aschberger K., Stone V. A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics, *Nanotoxicology*, 2010, vol. 4(2), pp. 207–46. doi: 10.3109/17435390903569639
10. Ahmadi H., Ramezani M., Yazdian-Robati R., Behnam B., Azarkhiavi R.K, Nia H.A., Mokhtarzadeh A., Riahi M.M., Razavi B., Abnous, K. Acute toxicity of functionalized single wall carbon nanotubes: A

12. Starchenko I.B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An optoacoustic laser cytometer prototype // Biomedical Engineering. – 2018. – Vol. 51, No. 5. – P. 308–312.
13. Кравчук Д.А. Математическая модель обнаружения внутриэритроцитарных инфекций с помощью оптоакустического метода // Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 7. – № 3. – С. 36–42.
14. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Теоретическая модель для диагностики эффекта кислородонасыщения эритроцитов с помощью оптоакустических сигналов // Прикладная физика. – 2018. – № 4. – С. 89–94.
15. Орда-Жигулина Д.В., Орда-Жигулина М.В., Старченко И.Б., Кравчук Д.А. Экспериментальная установка для исследования оптоакустической проточной цитометрии // Моделирование, оптимизация и информационные технологии. – 2018. – Т. 6, № 3. – С. 19–29.
16. Menyaev Y.A., Carey K.A., Nedosekin D.A., et al. Preclinical photoacoustic models: application for ultrasensitive single cell malaria diagnosis in large vein and artery // Biomedical optics express. – 2016. – Vol. 7, No. 9, pp. 3643–3658.
17. Menyaev Y.A., Nedosekin D.A., Sarimollaoglu M., et al. Optical clearing in photoacoustic flow cytometry // Biomedical optics express. – 2013. – Vol. 4, No. 12. – p. 3040. DOI:10.1364/BOE.4.003030
18. Белова Т.В., Завалишина С.Ю., Медведев И.Н. Физиология крови и кровообращения. Учебное пособие. – Москва: Лань, 2015. – 176 с.
19. Абакумова Т.В., Генинг Т.П., Михайлова Н.Л. и др. Физиология крови. Учебное пособие. – Ульяновск: Ульяновский государственный университет, 2017. – 60 с.
20. Алипов Н.Н. Основы медицинской физиологии. – М.: Практика, 2008. – 496 с.
21. Липунова Е.А., Скоркина М.Ю. Физиология крови. – Белгород: БелГУ, 2007. – 324 с.
22. Камкин А.Г., Каменский А.А. Фундаментальная и клиническая физиология. – М.: Академия, 2004. – 405 с.
23. Атьков О.Ю., Балахонова Т.В., Горохова С.Г. и др. Ультразвуковое исследование сердца и сосудов / под ред. Атькова О.Ю. – Москва: Эксмо, 2015. – 456 с.
24. Старченко И.Б., Малюков С.П., Орда-Жигулина Д.В., Саенко А.В. Измерительный комплекс для лазерной диагностики биообъектов с использованием наночастиц на базе LIMO 100 // Прикаспийский журнал управление и высокие технологии. – 2013. – Т. 22, № 2. – С. 166–173.

biochemical, histopathologic and proteomics approach, *Chemico-Biological Interactions*, 2017, vol. 275, pp. 196–209.
11. Carvalho L.E., Piqueira J., Maria D. Advances in Carbon Nanotubes for Malignant Melanoma: A Chance for Treatment, *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2018, vol. 22(6), pp. 703–715.
12. Starchenko, I.B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An optoacoustic laser cytometer prototype, *Biomedical Engineering*, 2018, vol. 51, no. 5, pp. 308–312.
13. Kravchuk D.A. Mathematical model of detection of intra-erythrocyte pathologies using optoacoustic method, *Biomedical Photonics*, 2018, vol. 7, no. 3, pp. 36–42. (in Russian)
14. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. A theoretical model for diagnosing the effect of oxygenation of erythrocytes using optoacoustic signals, *Prikladnaya fizika*, 2018, no. 4, pp. 89–94. (in Russian)
15. Orda-Zhigulina D.V., Orda-Zhigulina M.V., Starchenko I.B., Kravchuk D.A. Experimental setup for the study of optoacoustic flow cytometry, *Modelirovanie, optimizaciya i informatsionnye tekhnologii*, 2018, vol. 6,. no. 3, pp. 19–29. (In Russian)
16. Menyaev Y.A., Carey K.A., Nedosekin D.A., Sarimollaoglu M., Galanzha E.I., Stumhofer J.S., Zharov V.P. Preclinical photoacoustic models: application for ultrasensitive single cell malaria diagnosis in large vein and artery, *Biomedical optics express*, 2016, vol. 7, no. 9, pp. 3643–3658.
17. Menyaev Y.A., Nedosekin D.A., Sarimollaoglu M., Juratli M.A., Galanzha E.I., Tuchin V.V., Zharov V.P. Optical clearing in photoacoustic flow cytometry, Biomedical optics express, 2013, vol. 4, no. 12, p. 3040. DOI:10.1364/BOE.4.003030
18. Belova T.V., Zavalishina S.Yu., Medvedev I.N. *Fiziologiya krovi i krovoobrashcheniya. Uchebnoe posobie* [Physiology of blood and blood circulation. Study guide]. Moscow, Lan Publ., 2015. 176 p.
19. Abakumova T.V., Gening, T.P., Mikhailov N.L., Dolgova D.R., Poludnyakova L.V. *Fiziologiya krovi. Uchebnoe posobie* [Blood physiology. Study guide]. Ulyanovsk: Ulyanovsk State University Publ., 2017. 60 p.
20. Alipov N.N. *Osnovy medicinskoj fiziologii* [Fundamentals of medical physiology]. Moscow, Praktika Publ., 2008. 496 p.
21. Lipunova E.A., Skorkina M.Yu. *Fiziologiya krovi* [Blood physiology]. Belgorod, BelGU, 2007. 324 p.
22. Kamkin A.G., Kamensky A.A. *Fundamental'naya i klinicheskaya fiziologiya* [Fundamental and clinical physiology]. Moscow, Academy Publ., 2004. 405 p.
23. Atkov O.Yu., Balakhonova T.V., Gorokhova S.G., Saidova M.A., Smolyaninova N.G., Aleksandrova-Tebenkova E.G., Arakelyants A.A., Popova E.Yu. *Ul'trazvukovoe issledovanie serdca i sosudov* [Ultrasound examination of the heart and blood vessels], ed. Atkova O. Yu. Moscow, Eksmo, 2015. 456 p.
24. Starchenko I.B., Malyukov S.P., Orda-Zhigulina D.V., Saenko A.V. Measuring complex for laser diagnostics of bioobjects using nanoparticles based on LIMO 100, *Prikaspiiskii zhurnal upravlenie i vysokie tekhnologii,* 2013, vol. 22, no. 2, pp. 166–173. (In Russian)

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ОТБЕЛИВАНИЯ ЗУБОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ХЛОРИН E_6

А.В. Коршунова[1], В.И. Макаров[2], А.В. Рябова[2], И.Д. Романишкин[2], О.А. Зорина[1,3], Е.К. Кречина[1], Г.В. Пономарев[4]
[1]Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва, Россия
[2]Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия
[3]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия
[4]Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия

Резюме

Отбеливание зубов является одной из самых востребованных процедур в эстетической стоматологии. Трудно поддающиеся отбеливанию дисколориты, вызванные изменениями дентина или дефектами эмали, могут быть устранены путем окисления хромогенов с помощью химических агентов, проникающих в эмаль и дентин. В последние годы фотодинамическое отбеливание зубов (ФДОЗ) рассматривается как минимально инвазивный и относительно эффективный по времени метод, при котором не используется перекись водорода, применение которой приводит к повышенной чувствительности зубов. Для ФДОЗ может использоваться фотосенсибилизатор (ФС) хлорин e_6, обладающий высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода, низкой фототоксичностью, быстрым выведением, с одной стороны, и способностью к фотообесцвечиванию, с другой. В настоящей работе представлены количественные данные исследования эффективности ФДОЗ с хлорином e_6: изменение цвета для 100 зубов после процедуры, оценка проникновения ФС в ткани зуба, оценка внутритканевой эффективности генерации синглетного кислорода и интенсивности фотообесцвечивания ФС при лазерном воздействии. Статистически установлено, что за одну процедуру ФДОЗ насыщенность цвета зубов (*C*) изменяется в среднем на 0,5 тона по шкале VITA, а светлота цвета (*L*) в отдельных случаях повышается более чем на 10 единиц.

Ключевые слова: фотодинамическое отбеливание зубов, фотосенсибилизатор, хлорин e_6, генерация синглетного кислорода

Для цитирования: Коршунова А.В., Макаров В.И., Рябова А.В., Зорина О.А., Кречина Е.К., Пономарев Г.В. Анализ эффективности фотодинамического отбеливания зубов с использованием фотосенсибилизатора хлорин e_6 // Biomedical photonics. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 19–28. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-19-28.

Контакты: Коршунова А.В., e-mail: korshunovaanna.cniis@gmail.com

ANALYSIS OF EFFICIENCY OF PHOTODYNAMIC TEETH BLEACHING WITH THE USE OF PHOTOSENSITIZER CHLORINE E_6

Korshunova A.V.[1], Makarov V.I.[2], Ryabova A.V.[2], Romanishkin I.D.[2], Zorina O.A.[1,3], Krechina E.K.[1], Ponomarev G.V.[4]
[1]Federal State Institution Central Research Institute of Dental and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia
[2]Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[3]The First Sechenov Moscow State Medical University, Moscow, Russia
[4]Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

Teeth whitening is one of the most sought-after procedures in aesthetic dentistry. Discolorites that are difficult to whiten, caused by dentin changes or enamel defects, can be eliminated by oxidizing the chromogens with chemical agents that penetrate to the enamel and dentin. In recent years, the method of photodynamic bleaching (PDB) is considered to be minimally invasive. It does not use hydrogen peroxide that leads to increased sensitivity of teeth, and is relatively effective over time. A convenient solution for PDB would be to use chlorin e_6

as a photosensitizer, which has a high quantum yield of singlet oxygen generation, low phototoxicity, rapid elimination, on the one hand, and photobleaching capability, on the other. This paper presents quantitative data on the study of the effectiveness of PDB with chlorine e_6: color change for 100 teeth after the procedure, chlorine e_6 penetration into the tooth tissues, evaluation of the interstitial efficiency of the generation of singlet oxygen and photobleaching of chlorine e_6 during laser exposure. It has been statistically established that for one PDB procedure, the tooth color saturation (*C*) varies on average by 0.5 tones on the VITA scale, and the lightness of color (*L*) in some cases increases by more than 10 units.

Keywords: photodynamic teeth bleaching, photosensitizer, chlorin e_6, singlet oxygen generation.

For citations: Korshunova A.V., Makarov V.I., Ryabova A.V., Zorina O.A., Krechina E.K., Ponomarev G.V. Analysis of photodynamic teeth bleaching efficiency with the use of photosensitizer chlorine e_6, *Biomedical photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 19–28. (in Russian) doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-19-28.

Contacts: Korshunova A.V., e-mail: korshunovaanna.cniis@gmail.com

Введение

С каждым годом эстетическая стоматология становится более востребованной у населения. Одной из основных процедур, позволяющих скорректировать эстетические недостатки зубов, является их отбеливание [1]. Многие виды дисколорита влияют на внешний вид зубов. Причины дисколорита различаются, как и скорость, с которой происходит их удаление [2].

Изменение цвета зубов может быть внешним или внутренним. Внешние пятна обычно возникают в результате скопления хромогенных веществ на внешней поверхности зуба. Эти пятна локализуются в основном в зубной приобретенной пленке и генерируются либо реакцией Милларда между сахарами и аминокислотами (включает химические перегруппировки и реакции между сахарами и аминокислотами), либо приобретаются в результате удержания экзогенных хромофоров [3]. Химический анализ пятен, вызванных хромогенной пищей, демонстрирует присутствие фурфуролов и их производных. Большинство внешних зубных пятен можно удалить с помощью стандартных профилактических процедур, которых на сегодняшний день существует большое множество. Одним из таких способов является применение паст с отбеливающим эффектом и других методов, основанных на принципе абразии [4]. Однако со временем такие пятна темнеют и становятся более стойкими, но, как правило, все еще могут подвергаться отбеливанию [5].

Внутренние пятна обычно вызваны более глубокими пятнами или дефектами эмали. Они являются как следствием старения, так и употребления хромогенной пищи и напитков, табакокурения, приема антибиотиков тетрациклинового ряда, чрезмерного приема препаратов фтора, сильной желтухи в младенчестве, порфирии, микротрещин в эмали, физиологической и патологической стираемости зубов, кариеса зубов и реставрации. В результате старения и истончения эмали зубов, нижележащие слои дентина имеют тенденцию темнеть из-за образования вторичного дентина, который темнее и непрозрачнее, чем исходный, первичный дентин. Совокупность этих процессов приводит к потемнению зубов.

Избыток фтора в питьевой воде, превышающий 1–2 ppm, может вызывать метаболические изменения в амелобластах, что приводит к дефектам матрикса и неправильной кальцификации зубов [6].

Изменение цвета при приеме лекарств может происходить как до, так и после полного формирования зуба. Тетрациклин включается в дентин во время кальцификации зубов, вероятно, путем хелатирования с кальцием, образуя ортофосфат тетрациклина, который вызывает изменение цвета. Кроме того, внутренние пятна также связаны с наследственными состояниями (например, несовершенный амелогенез и несовершенный дентиногенез) [7]. Кровь, проникающая в дентинные канальцы, и металлы, выделяющиеся из зубных реставрационных материалов, также вызывают изменение цвета зубов.

Внутренняя пигментация зубов не может быть удалена с помощью регулярных профилактических процедур. Тем не менее, она может быть устранена путем отбеливания с помощью химических агентов, проникающих в эмаль и дентин для окисления хромогенов [8]. Пятна на зубах, вызванные старением, генетикой, курением или кофе, лучше реагируют на отбеливание [9], сине-серые пятна, связанные с приемом тетрациклина, – хуже [10], а пятна коричневого флюороза – умеренно чувствительны [11].

Активно развиваются методики химического отбеливания, при котором происходит изменение цвета эмали и дентина от темного к светлому благодаря способности активных химических компонентов проходить сквозь эмаль и дентин и проникать во все части зуба, вызывая окислительное расщепление цветных пигментов [12]. Однако такое воздействие имеет

и негативное влияние на эмаль зубов, пульпу и ткани пародонта [13, 14].

Чтобы сократить время отбеливания в клинике, используются различные способы ускорения разложения перекиси водорода, включая химические (например, щелочную pH), физико-химические (например, фотоокисление) и физические (например, нагревание) методы [15, 16]. Перекись водорода является оптически прозрачной в видимом диапазоне спектра, однако может поглощать ультрафиолетовый, средний инфракрасный и дальний инфракрасный свет, что приводит к её разложению. При отбеливании с интенсивными источниками света добавление различных красителей к отбеливающим гелям приводит к улучшению поглощения света в геле и, как следствие, к уменьшению нагрева пульпы зуба. Помимо нагревания геля (фототермический эффект) [17], красители могут также вызывать фотохимические реакции [18].

К источникам когерентного и некогерентного излучения, используемым для катализа процесса отбеливания с перекисью водорода, относятся кварцевые вольфрамовые галогенные лампы, плазменные дуговые лампы, ртутные лампы, светодиоды (LED) и лазеры с различными длинами волн [19–21].

Как правило, пигменты, дающие цвет зубу, это кольцевые молекулы с сопряженными π-π электронными связями. При отбеливании происходит разрушение π-π связей в результате окисления (то есть потери электронов) или других химических реакций, и молекулы приобретают форму разорванного кольца, что приводит к потере их светопоглощающих свойств. Хотя для отбеливания зубов наиболее широко используется перекись водорода, существует большое количество других окислителей (O_2, $HO_2^{\cdot}$, NaClO, O_3, $HO^{\cdot}$). При выборе агентов для отбеливания зубов нужно учитывать их окислительную способность, то есть они должны генерировать активные формы кислорода, которые способны наиболее легко диффундировать в дентин, и при этом быть неагрессивными и нетоксичными [22]. Очень сильным окислителем, способным разлагать органические молекулы, является синглетный кислород ($^1O_2$), однако из-за его высокой реакционной способности он не может храниться, и его использование возможно только при генерации *in situ* по мере необходимости [23].

Метод фотодинамической терапии (ФДТ), основанный на генерации синглетного кислорода фотосенсибилизаторами (ФС) при их облучении специфическими длинами волн, в стоматологии первоначально был представлен антимикробным вариантом, то есть использовался для дезинфекции устойчивых к антибиотикам микроорганизмов, не приводя при этом к их резистентности [24]. Сейчас ФДТ активно используется при лечении кариеса зубов и его осложнений, а также широко применяется в пародонтологии, имплантологии, при патологиях слизистой оболочки рта и в челюстно-лицевой хирургии [25, 26]. Наиболее часто используемыми фотосенсибилизаторами в стоматологии являются красители на основе фенотиазина, такие как толуидиновый синий, метиленовый синий и малахитовый зеленый, они фотостабильны, и побочным эффектом их использования может служить незначительное изменение цвета зубов [27].

В последние годы метод фотодинамического отбеливания (ФДО3) рассматривается как минимально инвазивный и относительно эффективный по времени, особенно актуально его применение для отбеливания одной из самых трудных группы дисколоритов зубов, вызванных приемом тетрациклиновыми антибиотиками. Самым эффективным для ФДО3 считается использование лазера на основе кристалла калий титанил фосфата ($KTiOPO_4$, KTP-лазер) совместно с фотосенсибилизатором сульфородамином В и высокой концентрацией перекиси водорода (Smartbleach® гель, Smartbleach International, Бельгия) [28]. При этом ФДО3 позволяет достичь большего эффекта за одну процедуру, чем можно ожидать от нескольких месяцев применения отбеливающих капп [29].

Удобным решением для ФДО3 без использования перекиси водорода, которая приводит к повышенной чувствительности зубов, может служить использование фотосенсибилизатора хлорина e_6, обладающего высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода, низкой фототоксичностью, быстрым выведением, с одной стороны, и способностью к фотообесцвечиванию, с другой [30]. Ранее в нашем исследовании была изучена динамика накопления хлорина e_6 в составе 1%-ого геля Гелеофор в тканях зуба в зависимости от времени аппликации [31]. Для оценки и выбора оптимальной эффективности ФДО3 зубов в настоящей работе, кроме клинического наблюдения изменения цвета зубов с помощью спектрофотометра VITA, были определены количественные характеристики проникновения ФС в ткани удаленных зубов, оценена внутритканевая эффективность генерации синглетного кислорода и фотообесцвечивание хлорина e_6 в процессе ФДО3.

Материалы и методы

Фотосенсибилизатор

В качестве ФС в исследовании использовался хлорин e_6 – натуральное производное хлорофилла, в составе 1%-ого геля Гелеофор (ООО «Лазер-Медцентр», Россия).

Образцы зубов для исследования

Для проведения лабораторных исследований были использованы зубы фронтальной группы, удаленные по пародонтологическим и хирургическим показаниям. Перед проведением исследований поверхность эмали тщательно очищали с помощью щет-

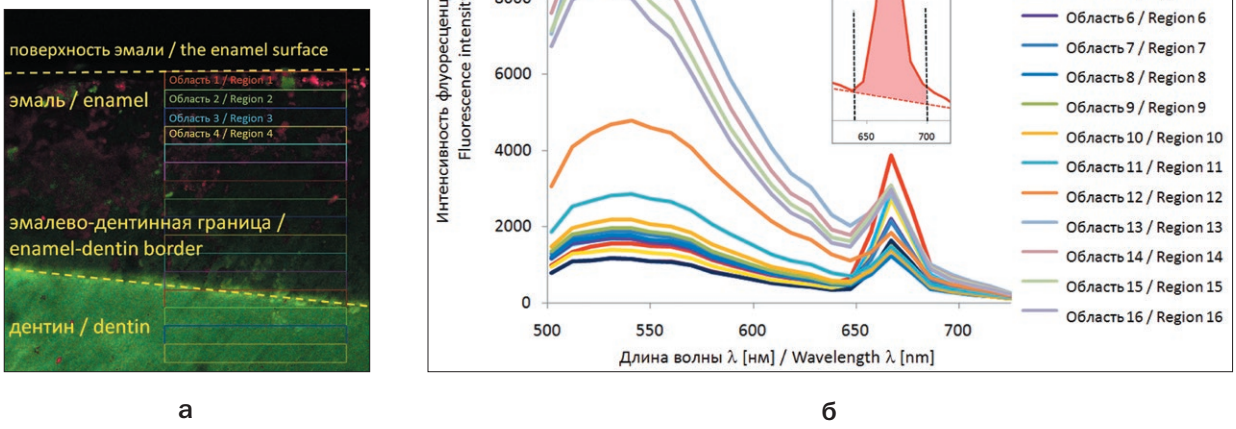

Рис. 1. Спектрально-разрешенное флуоресцентное изображение шлифа зуба, на эмаль которого был аппликирован ФС в течение 1 мин. Изображение получено при возбуждении 488 нм:

а – схема выделения прямоугольных областей на микроскопическом флуоресцентном изображении шлифа зуба для количественной оценки диффузии ФС;

б – спектры флуоресценции с выделенных прямоугольных областей шлифа зуба с шагом 40 мкм вглубь эмали от поверхности. На вкладке закрашена область под пиком флуоресценции хлорина e_6, которую использовали для построения зависимости интенсивности флуоресценции хлорина e_6 в тканях зуба на глубине от поверхности эмали

Fig. 1. Spectral-resolved fluorescent image of tooth section after 1 minute of photosensitizer application on the enamel. Image taken at 488 nm excitation:

a – a scheme for the selection of rectangular areas on a microscopic fluorescent image on the tooth section for the quantitative assessment of the photosensitizer's diffusion;

б – fluorescence spectra from selected rectangular areas of tooth section with 40 microns step into the depth of the enamel from the surface. On the inset an area under the chlorin e_6 fluorescence peak, which was used to plot the chlorin e_6 fluorescence intensity in the tooth tissue on the depth from the enamel surface, is highlighted

ки и пасты Detatrine-Z (Septodont, Франция). Зубы хранили в дистиллированной воде до начала исследования. С момента удаления зуба до начала исследования проходило не более двух часов. Для оценки накопления хлорина e_6 были взяты как удаленные зубы, так и спилы удаленных зубов фронтальной группы. Всего в исследовании было использовано 100 удаленных зубов фронтальной группы. Оттенки исследуемых зубов по шкале Вита были распределены следующим образом: 78 зубов – оттенки А (красновато-коричневые) и 22 зуба – оттенки В (желтовато-красноватые).

Для определения оптимального времени аппликации ФС, за которое он проникнет в ткани зуба на всю глубину дентина, необходимую для эффективного ФДО3, на всю вестибулярную поверхность удаленного зуба с помощью стоматологического браша наносили гель, содержащий ФС, на 1, 5, 10, 20 мин. Далее ФС смывали проточной водой и дискообразным алмазным стоматологическим бором зуб распиливали вдоль вертикальной оси на тонкие спилы.

Исследование распределения ФС в толще зуба при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии

Внутритканевое распределение хлорина e_6 после аппликации геля на эмаль исследовали при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, используя микроскоп LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Для получения изображений применяли объектив Plan-Apochromat с увеличением 10x (апертура 0,3). Для исследования шлифы зубов помещали на покровные стекла толщиной 0,17 мм и наблюдали в плоскости распила. Для возбуждения аутофлуоресценции тканей зуба и флуоресценции хлорина e_6 использовали аргоновый лазер (Lasos Laser GmbH, Германия) с длиной волны 488 нм, детектировали аутофлуоресценцию и флуоресценцию ФС со спектральным разрешением (шаг 10 нм) в диапазоне 500–750 нм. В результате получали спектрально-разрешенное флуоресцентное изображение шлифа зуба. Статистический и спектральный анализы проводили, используя программу ZEN (Carl Zeiss, Германия). Для

количественной оценки диффузии ФС вглубь зуба выделяли на изображении шлифа зуба прямоугольные области на разной глубине от поверхности эмали с высотой прямоугольника 40 мкм и шириной 500 мкм (рис. 1*а*). Далее в анализе использовали интегральную интенсивность флуоресценции ФС, усредненную по площади этих прямоугольных областей (рис. 1*б*). Интегральную интенсивность флуоресценции ФС вычисляли из общего спектра флуоресценции путем вычитания «плеча» аутофлуоресценции в области 640–700 нм и интегрирования полученного сигнала по длинам волн (вкладка на рис. 1*б*).

Исследование генерации синглетного кислорода в толще зуба

Для детекции генерации синглетного кислорода ($^1O_2$) был использован реагент Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG, Molecular Probes®, США), высоко селективный к $^1O_2$ и не реагирующий на другие активные формы кислорода, такие как гидроксил-радикал и супероксид-анион [32]. SOSG обладает слабой флуоресценцией в синем диапазоне с максимумами возбуждения на 372 нм и 393 нм и эмиссии на 395 нм и 416 нм. В присутствии $^1O_2$ SOSG начинает флуоресцировать в зеленом диапазоне с максимумами возбуждения и эмиссии 504 нм и 525 нм, соответственно, которые легко детектировать. Шлифы зубов, на эмаль которых аппликировали ФС, в физиологическом растворе с добавлением реагента SOSG подвергали лазерному облучению с длиной волны 633 нм непосредственно сканирующим лазером (то есть ФДО3 происходило в плоскости распила).

Плотность мощности, создаваемую сканирующим лазерным лучом, выходящим из объектива, в плоскости объекта рассчитывали следующим образом. Пространственное разрешение конфокального микроскопа определяется размером освещенного пятна, ограниченного дифракцией. Размер пятна фокусировки, предполагая равномерное освещение, является функцией длины волны возбуждения (λ_{EX}) и числовой апертуры (NA) объектива:

$$S_spotsize = ((1{,}22(\lambda_{EX}))/NA$$

Так, для длины волны 633 нм и объектива 10х апертурой 0,3 размер пятна составил 2,6 мкм. Соответственно, площадь круга с таким диаметром – $5.2*10^{-8}$ см^2, а плотность мощности для 5 мВт выходной мощности лазера: 96 кВт/см^2. Для получения одного изображения лазер совершал сканирование два раза со скоростью 1,27 мкс/пиксель. Таким образом, за время получения одного изображения доза облучения составляла 0,244 Дж/см^2, а усредненная по времени доза, приходящаяся на время одного сканирования 1064х1064 пикселей равнялась 170 мВт/см^2, что сопоставимо с плотностью мощности облучения 100 мВт/см^2 в клинических условиях.

Во время серии сканирований регистрировали флуоресцентные сигналы от ФС и SOSG. Выделяя прямоугольные области на изображении шлифа зуба на разной глубине от поверхности эмали с высотой прямоугольника 40 мкм, получали временные зависимости обесцвечивания фотосенсибилизатора и разгорания флуоресценции SOSG.

Исследование концентрации ФС по спектрам флуоресценции в зависимости от времени аппликации ФС и дозы лазерного облучения при ФДО3

Концентрацию ФС в тканях зуба определяли по интенсивности флуоресценции при помощи волоконно-оптического лазерного электронного спектроанализатора ЛЭСА-01-«Биоспек» (ООО «БИОСПЕК», Россия). Собирая диффузно-рассеянный свет от тканей зуба при возбуждении лазерным излучением 633 нм волоконно-оптическим катетером, регистрировали флуоресценцию ФС в контакте с поверхностью эмали и в контакте с поверхностью дентина на спиле зуба.

Исследование влияния дозы светового воздействия ФДО3 на фотообесцвечивание ФС проводили с использованием светодиодного аппарата «Гармония» (ООО «Лазер-Медцентр», Россия) с длинной волны λ=400±10 нм. Плотность мощности излучения составляла 100 мВт/см^2.

Суммарная световая доза облучения составила 180 Дж/см^2, что соответствует 30 мин экспозиции. Через 10, 20 и 30 мин от начала светового воздействия измеряли спектры флуоресценции ФС для оценки оставшегося в тканях зубов ФС, расходующегося при ФДО3 вследствие фотообесцвечивания.

Клиническая оценка цвета зубов после ФДО3

Оценку изменения цвета фронтальной группы зубов до и после ФДО3 определяли с помощью аппарата спектрофотометра VITA Easyshade® V (VITA Zahnfabrik, Германия). Для определения цвета зуба поверхность исследуемой коронковой части зуба очищали и проводили замеры до и после ФДО3 в режиме усредненного измерения. Торец измерительного наконечника прикладывали плотно и под прямым углом по отношению к поверхности эмали зуба, покрывающей дентин. Регистрировали такие характеристики цвета зуба как светлота цвета (*L*) и насыщенность цвета (интенсивность или чистота) (*C*). Светлоту цвета в сравнении с рядом серых тонов определяли в диапазоне от черного (*L* = 0) до белого (*L* = 100). Насыщенность цвета (*C*) – это разница между цветом и серым тоном одинаковой светлоты, измеренная как расстояние от нейтральной оси. По результатам были построены 2D-гистограммы насыщенности (*C*) и светлоты (*L*) цвета зубов до и после ФДО3. Обработку результатов производили на языке программирования Python 3 методом ядерной оценки плотности распределения с использованием графических библиотек matplotlib и seaborn [33, 34].

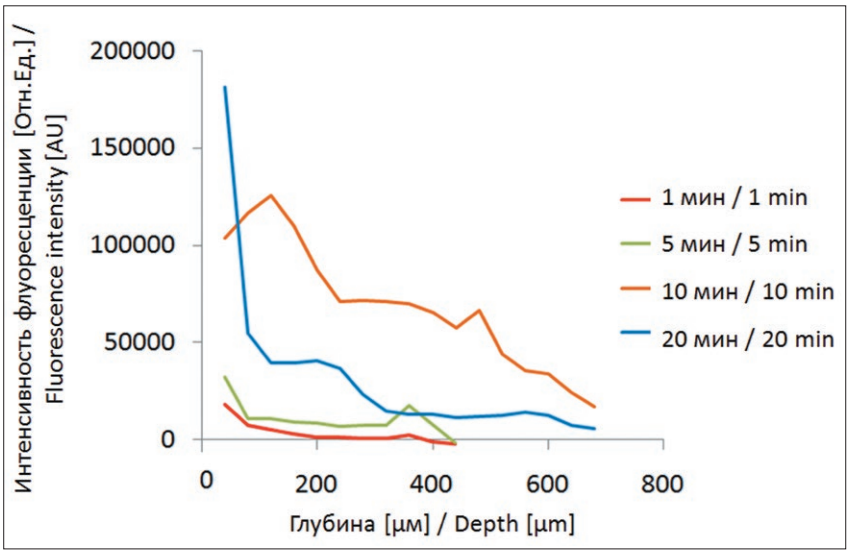

Рис. 2. Интенсивность флуоресценции ФС на глубине от поверхности эмали при различной продолжительности аппликации ФС
Fig. 2. The photosensitizer fluorescence intensity at the depth from the enamel surface for various application times

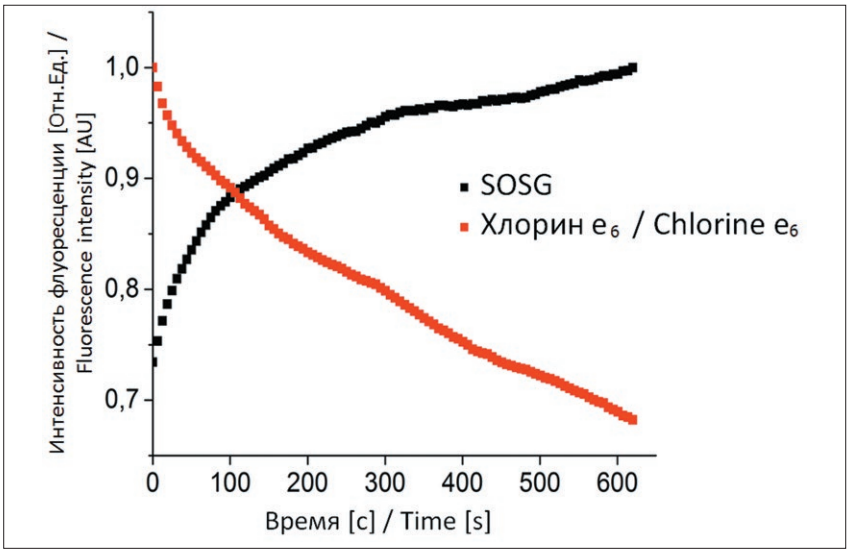

Рис. 3. Зависимость обесцвечивания ФС (красный) и разгорания флуоресценции SOSG (черный) во время ФДОЗ шлифа зуба, усредненное по всей толщине эмали
Fig. 3. The dependence of the bleaching of the photosensitiser (red) and the rise of SOSG fluorescence (black) during PDB of tooth section, averaged over the entire thickness of the enamel

Результаты и обсуждение

По данным флуоресцентной микроскопии были построены зависимости флуоресценции ФС от глубины от поверхности эмали для разных времен аппликации ФС на поверхность эмали (рис. 2).

Самая высокая концентрация ФС наблюдается у поверхности эмали. Далее она плавно уменьшается, что соответствует физическим законам диффузии веществ. Однако на границе эмали и дентина наблюдается небольшое относительное увеличение концентрации ФС (у разных зубов граница дентина и эмали находилась на разной глубине). Так же четко прослеживается тенденция увеличения общего присутствия ФС с увеличением времени аппликации ФС.

Получены зависимости обесцвечивания ФС и разгорания сенсора на синглетный кислород SOSG в зависимости от глубины от поверхности эмали на срезе зуба при фотодинамическом отбеливании. Усредненные значения выгорания ФС по всей толще эмали и разгорания сенсора на синглетный кислород

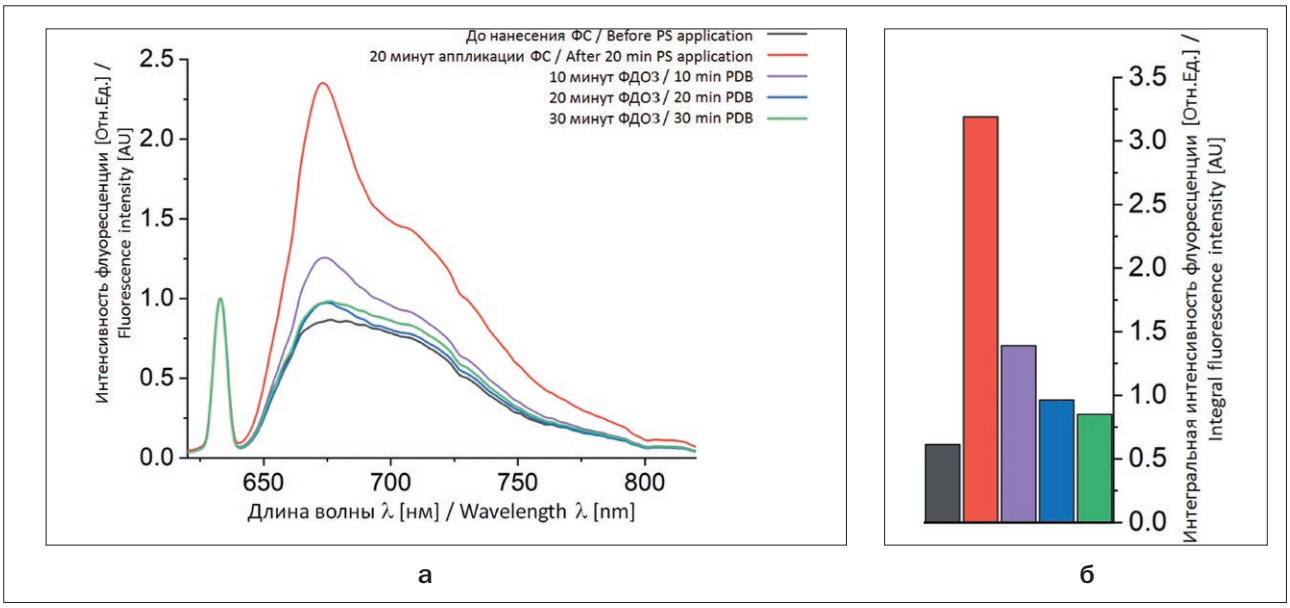

Рис. 4. Спектры флуоресценции зуба до аппликации ФС, сразу после, и спустя каждые 10 мин облучения (*а*). Интегральная интенсивность флуоресценции от зуба, нормированная на пик лазерного рассеяния (*б*)
Fig. 4. Fluorescence spectra of the tooth before the photosensitiser application, immediately after, and after every 10 minutes of irradiation (*a*). Integral fluorescence intensity from the tooth, normalized on the peak of the scattered laser (*б*)

Рис. 5. Визуальная оценка цвета удаленных зубов до и после процедуры фотодинамического отбеливания в соответствии с классической шкалой Вита
Fig. 5. Visual color matching of the extracted teeth before and after the procedure of PDB using classical Vita scale

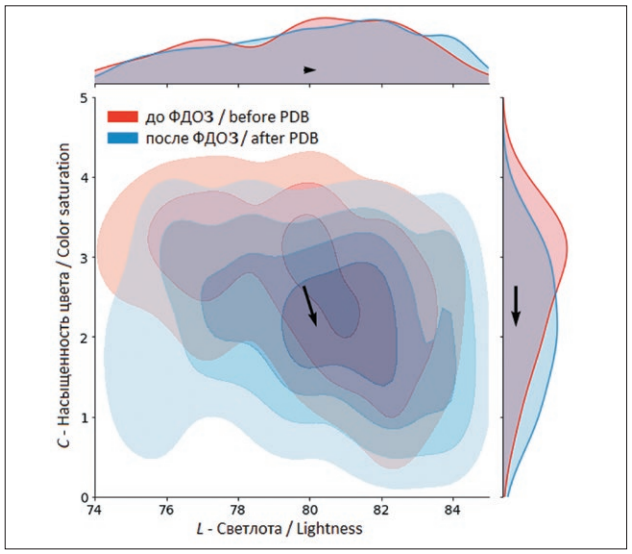

Рис. 6. Статистическое распределение цвета 100 зубов до (розовый) и после (голубой) процедуры фотодинамического отбеливания. Оценка цвета зубов выполнена с использованием спектрофотометра VITA Easyshade® V Вита, приведены данные в координатах насыщенности цвета (C) и светлоты цвета (L). По осям отложены распределения значений C и L до и после процедуры фотодинамического отбеливания. Черной стрелкой представлено усредненное изменение цвета зубов в эксперименте

Fig. 6. The statistical distribution of 100 teeth color before (red) and after (blue) the PDB procedure. Evaluation of the teeth color was performed using a VITA Easyshade® V Vita spectrophotometer; data in the coordinates of color saturation (C) and color lightness (L) are presented. Along the axes, the distributions of C and L values are plotted before and after the photodynamic bleaching procedure. The black arrow represents the average discoloration of the teeth in the overall experiment

представлены на рис.3. Исходя из этих данных, видно, что спустя 10 мин после начала облучения ФС выгорает примерно на треть от начальной концентрации, а флуоресценция сенсора SOSG на синглетный кислород выходит на плато.

Характер выгорания ФС в ткани зуба во время ФДОЗ подтвержден данными флуоресцентного спектроскопического исследования. Так, флуоресценция зуба до аппликации геля с ФС, сразу после и спустя каждые 10 мин облучения, повторяет зависимость интенсивности флуоресценции ФС, полученную на спиле зуба под конфокальным микроскопом (рис. 4).

Внешний вид зубов до и после ФДОЗ в сопоставлении с классической шкалой Вита представлен на рис. 5. Кроме того, в ходе исследований было выявлено, что ФДОЗ происходит эффективнее при периодичном увлажнении эмали во время процедуры. Схожие результаты исследований *in vitro* об усилении эффекта фотообесцвечивания реставрационных материалов на основе смолы в воде получены в работе [35].

Помимо оценки по классической шкале Вита были получены данные о цвете зубов до и после ФДОЗ с помощью спектрофотометра VITA Easyshade®. Статистически установлено, что за одну процедуру ФДОЗ среднее изменение светлоты цвета (*L*) составило 0,36 единиц, причем максимальное отбеливание достигало 11,4 единиц, минимальное 4,7. В то же время среднее изменение насыщенности цвета зубов (*C*) составило –0.5 единиц, максимальное отбеливание произошло на –2 тона, минимальное 0.

Полученные результаты сопоставимы с данными обзора о сравнении результатов отбеливания зубов обычными методами отбеливания и фотоотбеливания [36].

Заключение

Используемый в исследовании ФС (хлорин e_6) с течением времени проникает вглубь тканей зуба (эмали и дентина), что обеспечивает возможность проведения ФДОЗ по всей глубине ткани. При аппликации ФС на поверхность зуба в течение 20 мин, флуоресценция хлорина e_6 была обнаружена как в глубине эмали, так и в дентине. Хотя средняя внутритканевая концентрация ФС уменьшается в зависимости от глубины, тем не менее, она достигает значений, достаточных для проведения эффективного ФДОЗ.

Для достижения значительного эффекта ФДОЗ необходима генерация синглетного кислорода по всей толще эмали и дентина, что было экспериментально доказано с использованием флуоресценции сенсора на синглетный кислород SOSG и фотообесцвечиванию ФС.

Для определения эффективности ФДОЗ были получены объективные данные о цвете зубов до и после фотодинамического отбеливания с помощью шкалы Вита и спектрофотометра VITA Easyshade®. Показано, что среднее изменение светлоты цвета (*L*) составило 0,36 единиц, а максимальное отбеливание достигало 11,4 единиц. Так же среднее изменение насыщенности цвета зубов (*C*) составило 0,5 единиц, для отдельных зубов достигая осветления на 2 тона. Таким образом, применение метода ФДОЗ позволяет эффективно проводить эстетическую коррекцию цвета зубов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема «Физические методы в медицине и биологии», № 0024–2019–0003).

ЛИТЕРАТУРА

1. Goldstein R.E, Chu S., Lee E., Stappert C.F.J. Goldstein's Esthetics in Dentistry / 3rd Edition. – Wiley-Blackwell, 2018. –1576 p.

REFERENCES

1. Goldstein R.E, Chu S., Lee E., Stappert C.F.J. *Goldstein's Esthetics in Dentistry*, 3rd Edition. Wiley-Blackwell, 2018. 1576 p.

2. Jordan R.E., Boksman L. Conservative vital bleaching treatment of discolored dentition // Compend. Contin. Educ. Dent. – 1984. – Vol. 5(10). –P. 803–5, 807.
3. Viscio D., Gaffar A., Fakhry-Smith S., Xu T. Present and future technologies of tooth whitening // Compend. Contin. Educ. Dent. – 2000. —Suppl. 28. – S. 36–43.
4. Subramanian S., Appukuttan D., Tadepalli A., et al. The Role of Abrasives in Dentifrices // J. Pharm. Sci. & Res. – 2017. —Vol. 9(2). – P. 221–224.
5. Goldstein R.E., Garber D.A. Complete Dental Bleaching / first ed. – Quintessence Publishing Inc. Chicago, 1995. – P. 165.
6. Dodson D., Bowles W. Production of minocyclines pigment by tissue extracts // J. Dent. Res. –1991. – Vol. 70(Spec Iss). – P.424.
7. Nathoo S.A. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration // J. Am. Dent. Assoc. –1997. – Vol.128(Suppl). – P. 6–10.
8. Bleaching Techniques in Restorative Dentistry. An Illustrated Guide / Edited By Linda Greenwall. 1st Edition. – London: CRC Press, 2001. – 428 p. doi.org/10.3109/9780203417430
9. Haywood V.B. Overview and status of mouthguard bleaching // J. Esthet. Dent. –1991. – Vol.3. – P. 157–161.
10. Leonard R.H., Van Haywood Jr.B., Caplan D.J., Tart N.D. Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 90 months post treatment // J. Esthet. Restor. Dent. – 2003. – Vol.15. – P. 142–152.
11. Haywood V.B., Leonard R.H., Nelson C.F., Brunson W.D. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching // J. Am. Dent. Assoc. –1994. – Vol.125. – P. 1219–1226.
12. Fasanaro T.S. Bleaching Teeth: History, Chemicals, and Methods Used for Common Tooth Discolorations // J. Esthetic and Restorative Dentistry. –1992. – Vol.4(3).– P. 71–78. doi:10.1111/j.1708–8240.1992.tb00666.x
13. Alqahtani M.Q. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review // Saudi Dent J. – 2014. – Vol. 26(2). – P. 33–46. doi:10.1016/j.sdentj.2014.02.002
14. Trentino A.C., Soares A.F., Duarte M.A., et al. Evaluation of pH Levels and Surface Roughness After Bleaching and Abrasion Tests of Eight Commercial Products // Photomed Laser Surg.– 2015. – Vol.33(7). – P. 372–7. doi: 10.1089/pho.2014.3869.
15. SuliemanM., AddyM., ReesJ.S. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching // J. Dentistry. – 2003. – Vol. 31(6). – P. 415–422.
16. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature // J. Dentistry. – 2006. –Vol. 34(7). – P. 412–419.
17. Verheyen P., Walsh L.J., Wernish J., et al. Laser-assisted bleaching. in Oral Laser Application. Chapter 10. / by MoritzA.as ed. –Berlin, Germany: Quintessenz-Verlags-Gmbh., 2006. – P. 407–448.
18. Baik J.W., Rueggeberg F.A., Liewehr F.R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise // J. of Esthetic and Restorative Dentistry. – 2001. – Vol. 13(6). – P. 370–378.
19. Sydney G.B.,Barletta F.B., Sydney R.B. Invitro analysis of effect of heat used in dental bleaching on human dental enamel // Brazilian Dental Journal. – 2002. – Vol.13(3). – P. 166–169.
20. Wetter N.U., Walverde D.A., Kato I.T., Eduardo C.D.P. Bleaching efficacy of whitening agents activated by xenon lamp and 960-nm diode radiation // Photomedicine and Laser Surgery. – 2004. – Vol.22(6). – P. 489–493.
21. Zhang C., Wang X., Kinoshita J.-I., et al. Effects of KTP laser irradiation, diode laser, and LED on tooth bleaching: a comparative study // Photomedicine and Laser Surgery. – 2007. – Vol. 25(2). – P. 91–95.
22. Frysh H. Chemistry of bleaching/in Complete Dental Bleaching, by Goldstein R.E. and Garber D.A. as eds.– Chicago, Ill, USA: Quintessence, 1995. – P. 25–33.
23. Kashima-Tanaka M., Tsujimoto Y., Kawamoto K., et al. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradia-

2. Jordan R.E., Boksman L. Conservative vital bleaching treatment of discolored dentition, *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 1984, vol. 5(10), pp. 803–5, 807.
3. Viscio D., Gaffar A., Fakhry-Smith S., Xu T. Present and future technologies of tooth whitening, *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 2000, suppl. 28, pp. 36–43.
4. Subramanian S., Appukuttan D., Tadepalli A., Gnana P.P., Victor D.J. The Role of Abrasives in Dentifrices, *J. Pharm. Sci. & Res.*, 2017, vol. 9(2), pp. 221–224.
5. Goldstein R.E., Garber D.A. *Complete Dental Bleaching*, 1st ed. Chicago, Quintessence Publishing Inc, 1995. p. 165.
6. Dodson D., Bowles W. Production of minocyclines pigment by tissue extracts, *J. Dent. Res.*, 1991, vol. 70, pp. 424.
7. Nathoo S.A. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration, *J. Am. Dent. Assoc.*, 1997, vol. 128, pp. 6–10.
8. *Bleaching Techniques in Restorative Dentistry. An Illustrated Guide*, Edited By Linda Greenwall. 1st edition. London, CRC Press, 2001. 428 p. doi.org/10.3109/9780203417430.
9. Haywood V.B. Overview and status of mouthguard bleaching, *J. Esthet. Dent.*, 1991, vol. 3, pp. 157–161.
10. Leonard R.H., Van Haywood Jr.B., Caplan D.J., Tart N.D. Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 90 months post treatment, *J. Esthet. Restor. Dent.*, 2003, vol. 15, pp. 142–152.
11. Haywood V.B., Leonard R.H., Nelson C.F., Brunson W.D. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching, *J. Am. Dent. Assoc.*, 1994, vol. 125, pp. 1219–1226.
12. Fasanaro T.S. Bleaching Teeth: History, Chemicals, and Methods Used for Common Tooth Discolorations, *J. Esthetic and Restorative Dentistry*, 1992, vol. 4(3), pp. 71–78. doi:10.1111/j.1708–8240.1992.tb00666.x
13. Alqahtani M.Q. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review, *Saudi Dent J*, 2014, vol. 26(2), pp. 33–46. doi:10.1016/j.sdentj.2014.02.002
14. Trentino A.C., Soares A.F., Duarte M.A., Ishikiriama S.K., Mondelli R.F. Evaluation of pH Levels and Surface Roughness After Bleaching and Abrasion Tests of Eight Commercial Products, *Photomed Laser Surg*, 2015, vol. 33(7), pp. 372–7. doi: 10.1089/pho.2014.3869.
15. SuliemanM., AddyM., ReesJ. S. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching, *J. Dentistry*, 2003, vol. 31(6), pp. 415–422.
16. JoinerA. The bleaching of teeth: a review of the literature, *J. Dentistry*, 2006, vol. 34(7), pp. 412–419.
17. Verheyen P., Walsh L.J., Wernish J., Schoop U., Moritz A. *Laser-assisted bleaching in Oral Laser Application*. Chapter 10. by MoritzA. as ed. Berlin, Germany: Quintessenz-Verlags-Gmbh., 2006. pp. 407–448.
18. Baik J.W., Rueggeberg F.A., Liewehr F.R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise, *J. of Esthetic and Restorative Dentistry*, 2001, vol. 13(6), pp. 370–378.
19. Sydney G.B., Barletta F.B., Sydney R.B. In vitro analysis of effect of heat used in dental bleaching on human dental enamel, *Brazilian Dental Journal*, 2002, vol. 13(3), pp. 166–169.
20. Wetter N.U., Walverde D.A., Kato I.T., Eduardo C.D.P. Bleaching efficacy of whitening agents activated by xenon lamp and 960-nm diode radiation, *Photomedicine and Laser Surgery*, 2004, vol. 22(6), pp. 489–493.
21. Zhang C., Wang X., Kinoshita J.-I., Zhao B., Toko T., Kimura Y., Matsumoto K. Effects of KTP laser irradiation, diode laser, and LED on tooth bleaching: a comparative study, *Photomedicine and Laser Surgery*, 2007,vol. 25(2), pp. 91–95.
22. Frysh H. Chemistry of bleaching in *Complete Dental Bleaching*, by Goldstein R.E. and Garber D.A. as eds. Chicago, Ill, USA, Quintessence, 1995. pp. 25–33.
23. Kashima-Tanaka M., Tsujimoto Y., Kawamoto K., Senda N., Ito K.,Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite, *Journal of Endodontics*, 2003, vol. 29(2), pp. 141–143.

tion of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite // Journal of Endodontics. – 2003. – Vol.29(2). – P. 141–143.
24. Takasaki A.A., Aoki A., Mizutani K., et al. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and periimplant diseases // Periodontol. –2009. – Vol.51. – P. 109–140.
25. Gursoy H., Ozcakir-Tomruk C., Tanalp J., Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review // Clin Oral Investig. –2013. – Vol. 17(4). – P. 1113–25.doi: 10.1007/s00784–012–0845–7
26. 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.
27. Costa L.M., Matos F. de S., Correia A.M., et al. Tooth color change caused by photosensitizers after photodynamic therapy: An in vitro study // J Photochem Photobiol B. –2016. –Vol. 160. – P. 225–228. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.04.019
28. Bennett Z.Y., Walsh L.J. Efficacy of LED versus KTP laser activation of photodynamic bleaching of tetracycline-stained dentine // Lasers in Medical Science. –2014.– Vol. 30(7). – P. 1823–8. doi: 10.1007/s10103–014–1675–4.
29. Tsubura S. Clinical evaluation of three months' nightguard vital bleaching on tetracycline-stained teeth using Polanight 10% carbamide gel: 2-year follow-up study // Odontology. –2010. – Vol. 98(2). – P. 134–138. doi:10.1007/s10266–010–0130–7
30. Juzeniene A. Chlorin e6-based photosensitizers for photodynamic therapy and photodiagnosis // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2009. – Vol. 6(2). – P. 94–6.
31. Зорина А.О., Кречина Е.К., Абаев З.М. и др. Анализ глубины проникновения геля фотосенсибилизатора в структуру тканей зубов / Стоматология. – 2018. – Т. 97, № 6. – С. 22–27.
32. Flors C., Fryer M.J., Waring J., et al. Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor, Singlet Oxygen Sensor Green // J. Experimental Botany, Oxygen Metabolism, ROS and Redox Signalling in Plants, Special Issue. – 2006. – Vol. 57(8). – P. 1725–1734.
33. John D. Hunter. Matplotlib: A 2D Graphics Environment // Computing in Science& Engineering. – 2007. – Vol. 9. – P. 90–95. doi:10.1109/MCSE.2007.55
34. Waskom M., Botvinnik O., O'Kane D., Hobson P., et al. mwaskom/seaborn: v0.9.0. – 2018. Available at: http://doi.org/10.5281/zenodo.1313201
35. Buchalla W., Attin T., Hilgers R.-D., Hellwig E. The effect of water storage and light exposure on the color and translucency of a hybrid and a microfilled composite // The J. Prosthetic Dentistry. – 2002. – Vol. 87(3). – P. 264–270. https://doi.org/10.1067/mpr.2002.121743
36. Shahabi S., Assadian H., Mahmoudi Nahavandi A., Nokhbatolfoghahaei H. Comparison of Tooth Color Change After Bleaching With Conventional and Different Light-Activated Methods // J. Lasers Med Sci.– 2018. – Vol. 9(1). – P. 27–31. doi:10.15171/jlms.2018.07

24. Takasaki A.A., Aoki A., Mizutani K., Schwarz F., Sculean A., Wang C.Y., Koshy G., Romanos G., Ishikawa I., Izumi Y. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and periimplant diseases, *Periodontol*, 2009, vol. 51, pp. 109–140.
25. Gursoy H., Ozcakir-Tomruk C., Tanalp J., Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review, *Clin Oral Investig*, 2013, vol. 17(4), pp. 1113–25. doi: 10.1007/s00784–012–0845–7
26. 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, vol. 5, no. 3, pp.30–40. (in Russian)
27. Costa L.M., Matos F. de S., Correia A.M., Carvalho N.C., Faria-E-Silva A.L., Paranhos L.R., Ribeiro M.A. Tooth color change caused by photosensitizers after photodynamic therapy: An in vitro study, *J Photochem Photobiol B*, 2016, vol. 160, pp. 225–228. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.04.019
28. Bennett Z.Y., Walsh L.J. Efficacy of LED versus KTP laser activation of photodynamic bleaching of tetracycline-stained dentine, *Lasers in Medical Science*, 2014, vol. 30(7), pp. 1823–8. doi: 10.1007/s10103–014–1675–4.
29. Tsubura S. Clinical evaluation of three months' nightguard vital bleaching on tetracycline-stained teeth using Polanight 10% carbamide gel: 2-year follow-up study, *Odontology*, 2010, vol. 98(2), pp. 134–138. doi:10.1007/s10266–010–0130–7
30. Juzeniene A. Chlorin e6-based photosensitizers for photodynamic therapy and photodiagnosis, *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2009, vol. 6(2), pp. 94–6.
31. Zorina O.A., Krechina E.K., Abaev Z.M., Korshunova A.V., Ponomaryov G.V., Ryabova A.V., Makarov V.I. Analysis of photosensitizer gel penetration through the teeth structure, *Stomatologiia*, 2018, vol. 97, no. 6, pp. 22–27. (in Russian)
32. Flors C., Fryer M.J., Waring J., Reeder B., Bechtold U., Mullineaux P.M., Nonell S., Wilson M.T., Baker N.R. Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor, Singlet Oxygen Sensor Green, *J. Experimental Botany, Oxygen Metabolism, ROS and Redox Signalling in Plants*, 2006, vol. 57(8), pp. 1725–1734.
33. John D. Hunter. Matplotlib: A 2D Graphics Environment, *Computing in Science & Engineering*, 2007, vol. 9, pp. 90–95. doi:10.1109/MCSE.2007.55
34. Waskom M., Botvinnik O., O'Kane D., Hobson P., et al. *mwaskom/seaborn: v0.9.0*. 2018. Available at: http://doi.org/10.5281/zenodo.1313201
35. Buchalla W., Attin T., Hilgers R.-D., Hellwig E. The effect of water storage and light exposure on the color and translucency of a hybrid and a microfilled composite, *The J. Prosthetic Dentistry*, 2002, vol. 87(3), pp. 264–270. doi.org/10.1067/mpr.2002.121743
36. Shahabi S., Assadian H., Mahmoudi Nahavandi A., Nokhbatolfoghahaei H. Comparison of Tooth Color Change After Bleaching With Conventional and Different Light-Activated Methods, *J. Lasers Med Sci*, 2018, vol. 9(1), pp. 27–31. doi:10.15171/jlms.2018.07

POTENTIAL FOR THE APPLICATION OF DYNAMIC SKIN THERMOGRAPHY AFTER LOCAL HYPOTHERMIA

Novikov I.A., Petrov S.Yu., Rein E.S., Borisenko T.E., Sdobnikova S.V., Lucevitch E.E., Avetisov S.E.
Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia

Резюме

Infrared thermography is one of the widely used non-invasive diagnostic methods. While the procedure is mainly used for early malignant tumor diagnostics, a potential application for thermography was proposed in cardiovascular, skin, autoimmune diseases, arthritis, Reynaud's syndrome, burns, surgery and therapeutic treatment monitoring. The method of thermographic evaluation has not changed significantly since the end of 20th century. In this study we attempted to characterize the influence of skin capillary blood flow on surface temperature recuperation following local hypothermia. To improve sensitivity and standardize the procedure we developed a study protocol that involves minimizing or excluding the influence of external factors on study results. An original applicator was used to apply dosed hypothermia. Massive porcine tissue block was chosen as a passive model without active heat and mass transfer but with heat capacity, structure and heat dissipation characteristics similar to human tissues. 51 healthy volunteers were assigned to control group, while 16 patients with diabetes mellitus constituted the main study group. Cumulative temperature difference was calculated in all cases. It was 121,8 ± 70,8 °C×s in the control group, 95,6 ± 54,4 °C×s in the main study group and 307,2 ± 43,4 °C×s in the passive model. Based on the study results, we made the following conclusions: absence of heat and mass transfer in the passive model complicates heat balance recuperation due to layered structure of the skin; heat balance recuperation curve is an individual parameter and is not influenced by age or gender.

Keywords: thermography, contactless dynamic thermography, thermal imaging device, cold test applicator, isothermic chamber, diabetes mellitus, skin capillary blood flow.

For citations: Novikov I.A., Petrov S.Yu., Rein E.S., Borisenko T.E., Sdobnikova S.V., Lucevitch E.E., Avetisov S.E. Potential for the application of dynamic skin thermography after local hypothermia // Biomedical Photonics. – 2019. – T. 8, № 3. – P. 29–35. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-29-35

Contacts: Rein E.S., e-mail: elenarein01@gmail.com

ПОТЕНЦИАЛ ПРИМЕНЕНИЯ ДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРМОГРАФИИ КОЖИ ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ

И.А. Новиков, С.Ю. Петров, Е.С. Рейн, Т.Е. Борисенко, С.В. Сдобникова, Е.Э. Луцевич, С.Э. Аветисов
Научно-исследовательский институт глазных болезней, Москва, Россия

Abstract

Метод дистанционной инфракрасной термографии – один из неинвазивных диагностических методов, широко применяемых в медицине. Помимо применения для ранней диагностики злокачественных новообразований было предложено его использование при сосудистых заболеваниях, кожных болезнях, ревматических заболеваниях, артритах, синдроме Рейно, ожогах, хирургии, мониторинге эффективности терапевтического лечения и др. Необходимо отметить, что с конца прошлого столетия технический уровень выполнения тестов существенно не менялся. В своей работе мы попытались охарактеризовать вклад капилляров системы кровоснабжения кожи в динамику восстановления температуры поверхности после локальной гипотермии. Для повышения чувствительности и стандартизации метода мы разработали протокол исследования, предполагающий максимальную стандартизацию условий внешней среды или исключение их влияния. Для дозированной локальной холодовой нагрузки использовали оригинальный аппликатор. В качестве пассивной тепловой модели с отсутствием активного тепломассопереноса, но с близкими к человеческим тканям свойствами теплоемкости, структурой и характером кондуктивного перераспределения тепла, была выбрана модель на основе массивного блока тканей свиньи. Группу контроля составили условно здоровые добровольцы. В группу контроля вошли 51 человека, в группу больных диабетом II типа –16 человек. Нами получены показатели интегральной разницы температур. Показатель интегральной разницы температур здорового человека составил 121,8 ± 70,8 °C×c, пассивной модели – 307,2 ± 43,4 °C×c, больного сахарным диабетом – 95,6 ± 54,4 °C×c. Были сделаны следующие выводы: отсутствие тепломассопереноса в пассивной модели усложняет восстановление теплового баланса в виду многослойного строения кожи; кривая восстановления теплового баланса индивидуальна и не зависит от пола и возраста.

Ключевые слова: термография, бесконтактная динамическая термография, тепловизор, аппликатор для проведения холодовой пробы, изотермическая камера, сахарный диабет II типа, капиллярное кровообращение кожи.

Для цитирования: Novikov I.A., Petrov S.Yu., Rein E.S., Borisenko T.E., Sdobnikova S.V., Lucevitch E.E., Avetisov S.E. Potential for the application of dynamic skin thermography after local hypothermia, *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. .29–35. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-29-35.

Контакты: Rein E.S., e-mail: elenarein01@gmail.com

Introduction

Noninvasive infrared thermography is one of the widely used diagnostic methods. The first practical application of diagnostic thermography was proposed in 1957 by R. Lawson, who discovered that skin temperature in the area of a breast tumor is higher than the temperature of the normal tissue [1]. In addition to its application for the early diagnosis of malignant tumors, its use was also suggested for vascular diseases (diabetes mellitus, thrombosis), skin diseases, rheumatic diseases, arthritis, Raynaud syndrome, burns, surgery, monitoring of the therapeutic treatment efficacy, etc [2–5]. It should be noted that since the end of the last century the technical level of tests has not changed significantly.

Currently almost all known varieties of thermographic diagnostics evaluate condition of tissues and organs that project their heat-generating properties onto the skin and mucosa surface directly above them. The use of thermography in diabetes mellitus, where the measurements of heat generation are aimed at identifying significant systemic disorders of innervation and blood circulation seems to be an exception [6, 7].

Diagnostic thermography in diabetes mellitus is an example of a potential application of local thermographic measurements for monitoring the development of various system level changes. Changes in the regulation of skin capillaries or their systemic degradation will evidently be reflected in the temperature fluctuations of any arbitrary local surface area of the body.

We assumed that creation of a new method of dynamic thermal evaluation, limited in depth to evaluate heat exchange in the skin no deeper than the layer of subcutaneous tissue, would significantly increase the sensitivity of thermography to changes of cutaneous microcirculation. An increase in sensitivity along with a strict standardization of test conditions may be sufficient to assess subtle changes in systemic capillary status.

Aim: to assess the contribution of the capillaries of the skin blood supply system to the dynamics of surface temperature recovery after local hypothermia.

Materials and methods

Room for thermographic research

When conducting dynamic thermography, in contrast to static measurements, external short-period temperature fluctuations introduce significant interference. To reduce the effect of external temperature fluctuations associated with convection turbulence, thermography was carried out in a room with a laminar air exchange system (fig. 1). The air inflow was provided through laminar nozzles by the air supply unit with the "Breezart 1000 lux" electric heater (Brizart LLC, Russia), and the outflow was executed from a low point using a BP-86–77–2.5 exhaust system (Zavod Musson LLC, Russia). The thermosetter of the air handling unit provided a constant temperature of 24 ± 0.25 °C. The measurements were carried out at an atmospheric pressure of 746 ± 10 mm Hg.

Isothermal chamber

The isothermal chamber was constructed to eliminate thermal range reflections from the surrounding objects on the surface of the skin. The size of the chamber was 50×50×190 cm. It was covered on the inside with a carbon dyed heat-absorbing material.

Applicator for dosed local hypothermia

The local cold test was performed using an original applicator, which is a polymer cylindrical hollow body, one of the ends of which is hermetically sealed with a 12.5 mm aluminum plate (fig. 2). Deionized water (endothermic phase transition at 0 °C) in a volume of 2 ml served as the working medium ensuring the constancy of the applicator surface temperature. Efficient heat transfer from the aluminum plate (working surface of the applicator) to the working medium was provided by the aluminum core. Prior to the test the applicator was cooled to a temperature of -18 °C, and then under the thermographic control it was heated until the surface

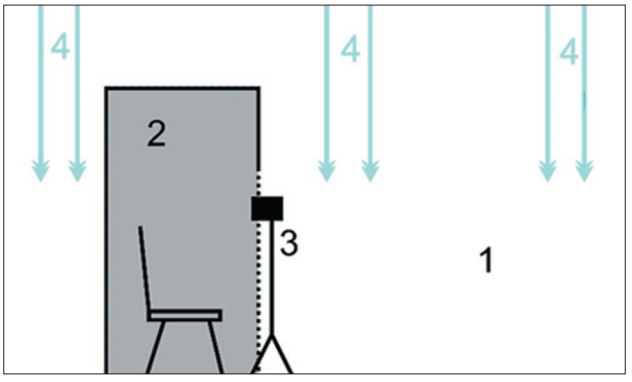

Fig. 1. Diagram of an isothermal chamber and a room for research (1 – room for thermographic research; 2 – isothermal chamber; 3 – infrared camera on tripod; 4 – air flow direction)
Рис. 1. Схематическое изображение изотермальной камеры и опытной комнаты (1 – комната для тепловых исследований; 2 – изотермальная камера; 3 – инфракрасная камера на штативе; 4 – направление воздушных потоков)

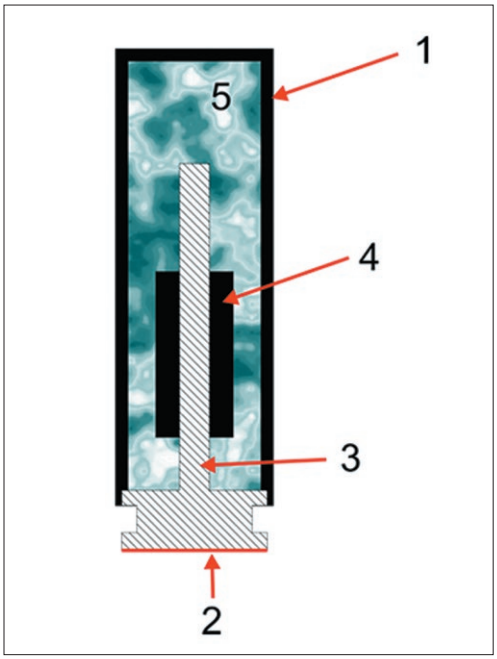

Fig. 2. Cold test applicator design (1 – polymer cylindric body; 2 – working surface of the applicator (12.5 mm aluminum plate); 3 – aluminum core; 4 – silver coupling mounted on the aluminum core; 5 – working medium (2 ml deionized water))
Рис. 2. Схема устройства аппликатора «холодного» теста (1 – полимерная оболочка в форме цилиндра; 2 – рабочая поверхность аппликатора (12,5 мм алюминиевая пробка); 3 – алюминиевая сердцевина; 4 – серебряная муфта, установленная на алюминиевую сердцевину); 5 – рабочая среда (2 мл деионизированной воды))

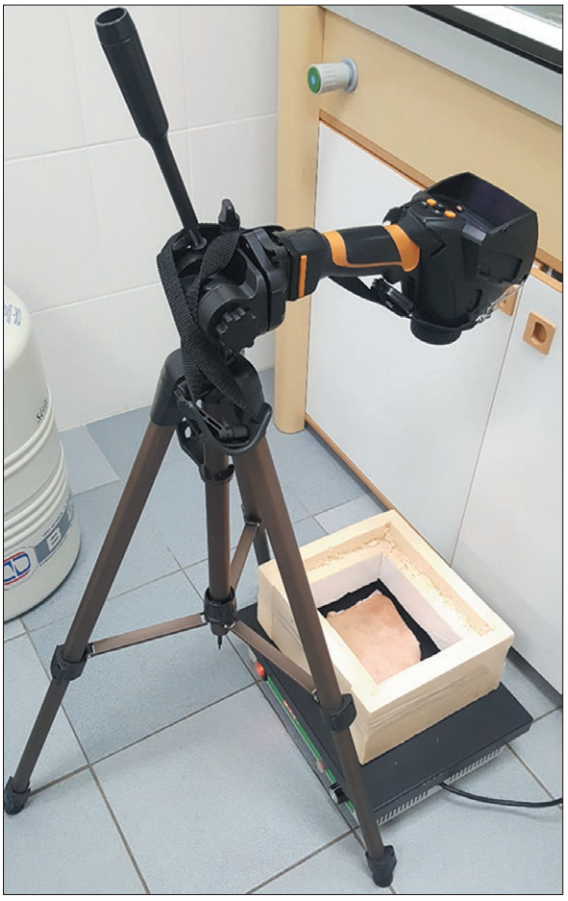

Fig. 3. Thermographic evaluation of the passive model
Рис. 3. Процесс тепловой оценки пассивной модели

temperature reached 0 °C. The temperature "jerk" at the moment of application, associated with the limited rate of heat transfer in water, was largely compensated for by silver coupling (Ag 99.9%) tightly mounted on the core.

Infrared camera

Testo 875 (Testo SE &Co. KGaA, Germany) infrared camera was used in the current study.

Image Quality: 160x120 pixel matrix, with thermographic image resolution of 320 × 240 and the spectral range of 8–14 μm. The study was conducted using a dynamic temperature scale with automatic recognition of a hot/cold point. Temperature resolution was 0.1°C.

Passive model of skin heat dynamics

A single porcine tissue block was chosen to be a passive model in our study with no active heat and mass transfer, but with heat capacity properties, structure and nature of conductive heat redistribution close to human tissues. A block of tissues measuring 20 × 25 × 6.5 cm included the epidermis, dermis, subcutaneous fat and muscle tissue. Bone and cartilaginous tissues were absent.

In the experiment the block was placed on the Ecros ES-HF3040 laboratory heating surface (Ekros-Analytika LLC, Russia), with a given surface temperature of 41 °C. To reduce heat loss in the lateral directions, the block was placed in a frame of foamed polyurethane (fig. 3). Dynamic thermographic measurements of the passive model were carried out after thermal balance between the passive model surface and the environment was reached.

A group of healthy volunteers

51 healthy volunteers (16 male and 35 female) aged between 21 to 89 took part in the study. Information about related diagnoses was registered according to medical records. Exclusion criteria were diseases of the cardiovascular system: hypertension, coronary heart disease, atherosclerosis, rheumatic heart diseases, and also diabetes mellitus type I and II.

A group of diabetes mellitus patients

16 patients with type 2 diabetes mellitus (10 male and 6 female) aged between 37 to 84 years were enlisted in the study. The presence of diabetes complications, such as renal failure, heart failure and ocular manifestations of diabetes, as well as duration of the disease and surgical interventions (microinvasive vitrectomy, panretinal laser coagulation) were noted based on medical records.

Pre-study adaptation

All subjects didn't receive any vasoactive drugs at least for 24 hours before the study. On the day the subjects were banned from drinking coffee, tea and smoking. The movement of a person into a room equipped for thermography was carried out in such a mode that the subject avoided noticeable loads on the cardiovascular system in accordance with his age and somatic condition. Given the insignificant temperature difference between the conditions of a thermostatically controlled room for thermographic research and other rooms of the institute, a rational pre-study adaptation time was 15 minutes. The timing of adaptation was selected on the basis of temperature stabilization of the passive model after 10–12 minute adaptation after transportation from an arbitrary room to a room for thermographic studies.

Data acquisition protocol

In the study of human skin temperature, the thermal imager was mounted horizontally on a tripod at a height of 110 cm from the floor directly at the entrance to the isothermal chamber. After initial thermographic evaluation the cold test applicator was put to the inferior zygomatic bone margin area for 20 seconds. The study area was chosen due to ease of access, high blood vessel density and a sufficiently long distance from organs that may interfere with the results of infrared imaging (e.g. air flow during respiration). Thermographic images were acquired each 20 seconds for 5 minutes following applicator removal. Immediately after this, similar manipulations were performed on the inferior zygomatic bone margin area on the other side.

During porcine tissue block evaluation, the infrared camera was installed vertically above the study surface. The applicator was put to the skin in the central part of the block surface. Image capturing mode, application time and thermogram recording intervals were the same.

Data processing

Thermographic images were processed and analyzed using specialized IR Soft program (version 3.1sp3). The lowest temperature in local hypothermia zone was acquired using the program (fig. 4).

After image processing empiric temperature recovery diagrams were drawn based on minimal recorded temperature in cold application zone.

According to the basic idea of trying to evaluate the active and passive components that determine heating of a skin surface area after local cooling, it became necessary to choose a smooth temperature recovery function. In further calculations, we took into account temperature fluctuations with respect to the smooth recovery curve, which is set parametrically, not absolute temperature values. As a similar basic curve, the logarithmic function of temperature recovery was reconstructed using the least square method for each test. The choice of the logarithmic law as the basis of the approximating function was motivated by its highest affinity for the obtained recovery temperatures when studying a passive model of pig tissue. Initially, when choosing the "basic" law, we compared all the options of nonlinear functions offered by SPSS Statistics (quadratic, cubic, power, logarithmic, exponential, etc.). When describing the temperature recovery curve of the passive model, the logarithmic function showed maximum determination coefficient R2 (the dispersion fraction of the dependent variable Y, specified by the predictor X).

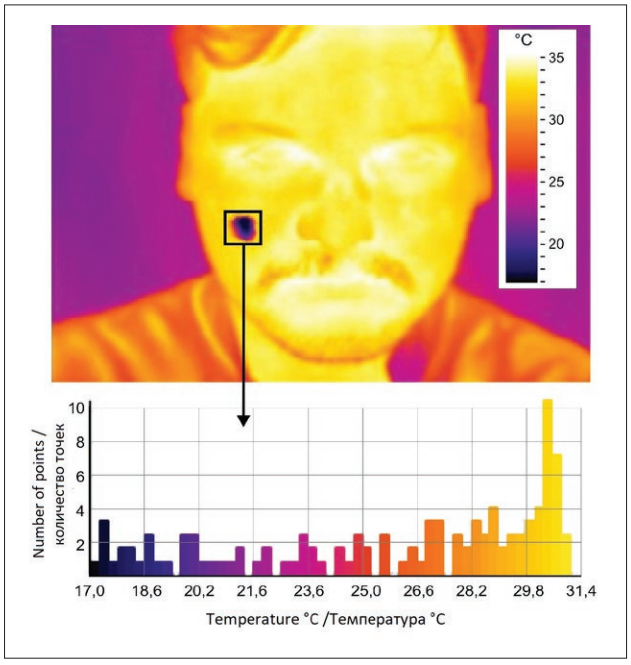

Fig. 4. Minimal temperature detection in cold application zone. A thermal image acquired using Testo 875 software and color reference for interpretation are shown above. Cooled zone is visible on the patient's right cheek after cold application. This area is cooler (marked with blue color) compared to surrounding tissues. Temperature distribution for the highlighted area is presented in the lower part of the picture. Minimal detected temperature in this area is used for all following calculations

Рис. 4. Измерение минимальной температуры в пределах предварительно охлажденного участка кожи. Сверху – полученная с помощью программного обеспечения Testo 875 термограмма поверхности лица и цветовая легенда для ее интерпретации. На правой щеке пациента видна локальная охлажденная зона, образовавшаяся после контакта с аппликатором. Относительно окружающих тканей, зона охлаждена (маркируется синим цветом). Для области выделенной прямоугольником на термограмме, в нижней части рисунка показано распределение температур. Для дальнейших вычислений была использована минимальная температура, обнаруженная в этой зоне

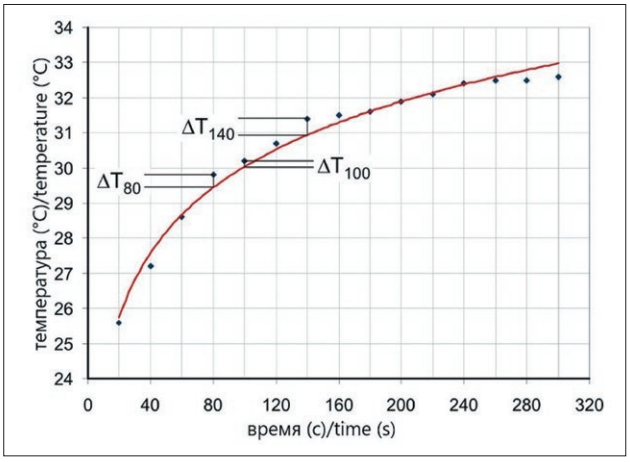

Fig. 5. Example of instantaneous deviations of the actual surface temperature recovery from the logarithmic trend
Рис. 5. Пример мгновенных отклонений реальной кривой восстановления температуры от логарифмического тренда

Thus, a logarithmic regression was individually calculated for each patient and passive model test, according to which the remainder modulus was calculated (fig. 5) for each point of the time axis with an interval of 20 seconds. Then the total parameter ∑ΔT characterizing these residues was calculated. The real temperature and its dynamics, approximated by the logarithmic law, made it possible to calculate the temperature deviation from the "ideal" restoration of the thermal balance of the surface (fig. 5). To exclude the dependence of the temperature beat volume on the fractionality of observations, the sum of these deviations was multiplied by the time between measurements: $\int\Delta T = \sum\Delta T \times t$ (°C × s). The presented indicator was conditionally called by us "cumulative temperature difference".

Statistical analysis was conducted using IBM SPSS Statistics 21 software package.

We used the nonparametric Mann-Whitney test to compare independent samples, given that the ∫ΔT distribution is different from the normal distribution for comparing groups by this indicator.

Results

Mean ∫ΔT value for thermographic evaluation of porcine tissue block passive model was 307.2 ±43.4 °C×s.

∫ΔT was significantly lower in the healthy volunteer study group (121.8±70.8 °C×s). High individual convergence of measurements was revealed for each person. At the same time, it was found out that the individual contralateral discrepancy ∫ΔT did not exceed 18%, and the discrepancy in a series of repetitions in a day time or more did not exceed 19%. There were no statistically gender or age-dependent significant differences in ∫ΔT. Similarly, no correlation was revealed between ∫ΔT and cardiovascular system disorders (hypertension, coronary heart disease, atherosclerosis, rheumatic heart diseases).

Table
Cumulative temperature difference (∫ΔT) in healthy individuals, in the passive model and in people with diabetes
Таблица
Интегральная разница температур (∫ΔT) у здоровых лиц, в пассивной модели и у лиц больных диабетом

Group Группа	Number of patients/cases Число пациентов/случаев	∫ΔT, °C×s ∫ΔT, °C×c
Healthy volunteers Здоровые добровольцы	51	121,8±70,8*
Passive model Пассивная модель	5	307,2±43,4
Diabetes mellitus Больные диабетом II типа	16	95,6±54,4*

Data expressed as mean (M) ± standard deviation (SD)
* difference in groups p=0,021
∫ΔT – cumulative temperature difference
Результаты представлены в виде среднего значения (M) ± стандартное отклонение (SD)
* разница в группах p=0.021
∫ΔT – интегральная разница температуры

The group of patients with verified diabetes showed statistically lower values of 95.6 ± 54.4 °C×s compared with the group of conditionally healthy people in contrast to the passive model, which demonstrated overestimated ∫ΔT index.

Discussion

In the current study we attempted to characterize individual systemic features of a human capillary network by means of a thermographic evaluation using dynamic thermography.

It is obvious that active heat and mass transfer facilitated by the capillary network in the epithelial tissues will influence the heat production of each surface area. This generally contributes to a static thermal balance value, which is a constant surface temperature in the given conditions.

Human tissues in direct contact with the environment play virtually no part in heat generation. They receive excess heat from internal organs, functioning as a kind of radiator, since it is the cover tissues that are most involved in heat removal process [8, 9]. Under conditions of room temperature (21–23°C) and relative humidity of 40–60%, the greatest amount of heat is removed from the body through radiation, i.e. in the form of infrared ray generation from the body surface [10]. There are many attempts to use static temperature indicators to assess the condition of both the underlying internal organs and the network of blood vessels actively transferring heat from them to the surface [1–5].

Dynamic measurements aimed at evaluating local vessel conditions are also known. In these measurements

vessel reactions were assessed mainly using cold test. I. Mizeva et al. [11] studied the relationship between blood flow and skin surface temperature during cold test using simultaneous thermometry and laser Doppler flowmetry (LDF). The authors sugggested 2 mechanisms for vascular reaction change based on LDF results the first mechanism is the rapid change in skin thermal conductivity associated with a decrease in "recruited" capillaries, and the second mechanism is a decrease in the force of temperature effects caused by constriction of arterioles and redirection of blood into arteriovenous anastomoses. However, no correlation between skin surface temperature deviation and LDF data was observed during cold test.

M. Davey et al. [12] questioned the hypothesis about the effect of skin blood flow on cold test results. The authors attempted to assess the influence of skin blood flow on the change in skin surface temperature in subjects not suffering from cold injury by comparing the change in blood flow during a cold test on a perfused and non-perfused foot. These results were compared with those of patients diagnosed with non-freezing cold injury. Based on the thermographic and LDF data they acquired the authors made a conclusion that any difference in skin surface temperature between the study groups was determined exclusively by the effect of blood flow.

All of the mentioned studies confirm the connection between the local and regional metabolism and the surface thermal dynamics. But at the same time, the question remains: does the nature of temperature recovery after local surface hypothermia bear information about subtle changes in the status of capillaries at the system level? We assumed that the weak thermal response of the local skin capillaries can be assessed by a detailed observation of the dynamics of temperature recovery after dosed cooling of the local surface area.

At the beginning of our work on the method development, we inaccurately assumed that hypothermia applied to a local area of the skin could trigger a sequence of regulatory reactions that intensify heat and mass transfer in the skin. These reactions will cause the temperature recovery curve to become more complicated. Properties of the temperature recovery curve became the main subject of our study.

To assess the dynamics of temperature recovery, an original applicator was developed, which not only can absorb a strictly dosed amount of heat, but also allows limiting the contact zone. A small area of the working surface of the applicator allows limiting the spread of the thermal front in the lateral direction and in depth for a short application time.

Using the example of a passive model of a block of porcine tissue, we attempted to give a thermographic characteristic of a tissue similar to the human tissue, but lacking active heat and mass transfer. As can be seen from the average values given in Table 1, the passive model is distinguished by a large deviation of the temperature curve from a smooth logarithmic function. At first glance the result may seem paradoxical – a more complex temperature recovery curve in the complete absence of the ability to control heat generation by the body – but it is explained by the layered structure of the epithelial tissues. Indeed, each of the layers of the skin and subcutaneous fatty tissue have sufficiently contrasting properties to create a complex passive thermal response to local hypothermia.

In these tissues both the heat capacity and the kinetic indices of conductive heat transfer are different, which gives the effect of the heat front lagging from different layers during restoration of temperature balance. In such a situation, the presence and activity of capillaries will smooth out the temperature response of the multipart structure, "mixing" the thermal response of the layers under observation and also allowing them to simultaneously cool down at the moment of cold application to the surface.

Normally, human skin also has a pronounced layered structure: the epidermis, dermis, and subcutaneous fatty tissue. Each of these layers has its own heat capacity and conductive properties. For this reason, skin structures that lack the ability to "mix" the temperature will produce a complex signal of the surface temperature recovery after contact with the cooled applicator has ceased.

To reduce the effect of thermal noise, standardization of physical conditions and an original infrared thermography protocol were proposed, which allowed to evaluate the effect of capillaries on the temperature recovery dynamics in a group of patients with well-studied pathology.

It is known that in patients with diabetes mellitus the capillaries of the skin are dilated. Such capillaries have a thick fibrotic basement membrane [13, 14]. This should affect the heat transfer within the skin layers, smoothing the effect of its layered structure, during temperature recovery after local hypothermia. The single measurements we carried out confirm this effect (see Table 1).

We believe that the proposed approach to dynamic thermography in combination with dosed local cold test, which allows to limit the thermal response of tissues to the depth of subcutaneous fatty tissue, gives much more information about capillary status than any other "global" tests.

Probably, in the future it will be necessary to move from the summation of the temperature difference between the real recovery curve and its mathematical model, which we have provided as examples for individual key points in time, to an integral description of a continuous process. But it will be rational after careful selection of the optimal approximation function of real data.

Conclusion

As a result of research (experiment), standardization of physical conditions and the original protocol of infra-

red thermography were proposed. An applicator for local dynamic thermography was created. The following conclusions were also made: the lack of heat and mass transfer in the passive model complicates the restoration of heat balance due to the multi-layered structure of the skin; the heat balance recovery curve is individual and does not depend on gender and age. We obtained the ∫ΔT indices of the integral temperature difference. The ∫ΔT indicator of a healthy person was 121.8±70.8°C×s; in the passive model it was 307.2 ±43.4°C×s; in diabetes it makes 95.6 ± 54.4°C×s. All the above results give the potential to use the method in medicine.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lawson R. Thermography; a new tool in the investigation of breast lesions // Can. Serv. Med. J. – 1957. – Vol. 8, No. 8. – P. 517–24.
2. Matteoli S., Coppini D., Corvi A. A novel image processing procedure for thermographic image analysis // Med. Biol. Eng. Comput. – 2018. – Vol. 56, No. 10. – P. 1747–1756.
3. Herrick A.L., Murray A. The role of capillaroscopy and thermography in the assessment and management of Raynaud's phenomenon // Autoimmun. Rev. – 2018. – Vol. 17, No. 5 – P. 465–472.
4. Lim M.J., Kwon S.R., Jung K.H., Joo K., Park S.G., Park W. Digital thermography of the fingers and toes in Raynaud's phenomenon // J. Korean Med. Sci. – 2014. – Vol. 29, No. 4. – P. 502–506.
5. Jones B.F. A reappraisal of the use of infrared thermal image analysis in medicine // IEEE Trans. Med. Imaging. – 1998. – Vol. 17, No. 6. – P. 1019–1027.
6. Staffa E. et al. Using noncontact infrared thermography for long-term monitoring of foot temperatures in a patient with diabetes mellitus // Ostomy Wound Manage. – Vol. 62, No. 4. – P. 54–61.
7. Silva N.C.M. et al. Reliability of infrared thermography images in the analysis of the plantar surface temperature in diabetes mellitus // J. Chiropr. Med. – 2018. – Vol. 17, No. 1. – P. 30–35.
8. Van Marken Lichtenbelt W.D., Daanen H.A. Cold-induced metabolism // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2003. – Vol. 6, No. 4. – P. 469–475.
9. Wilmore J.H. and Costill D.L. Physiology of sport and exercise // 2nd ed. – Champaign, Illinois: Human Kinetics, 1999.
10. Katschinski D.M. On heat and cells and proteins // News Physiol. Sci. – 2004. – Vol. 19. – P. 11–15.
11. Mizeva I., Frik P., Podtaev S. Skin blood flow and temperature oscillations during cold pressor test // Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. – 2015. – P. 7382–7385.
12. Davey M., Eglin C., House J., Tipton M. The contribution of blood flow to the skin temperature responses during a cold sensitivity test // Eur. J. Appl. Physiol. – 2013. – Vol. 113. – P. 2411–2417.
13. Kovacic J.C. et al. The relationships between cardiovascular disease and diabetes // Endocrinol. Metab. Clin. North Am. – 2014. – Vol. 43, No. 1. – P. 41–57.
14. Muris D.M., Houben A.J., Schram M.T., Stehouwer C.D. Microvascular dysfunction is associated with a higher incidence of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2012. – Vol. 32, No. 12. – P. 3082–3094.

REFERENCES

1. Lawson R. Thermography; a new tool in the investigation of breast lesions, *Can. Serv. Med. J.*, 1957, vol. 8, no. 8, pp. 517–24.
2. Matteoli S., Coppini D., Corvi A. A novel image processing procedure for thermographic image analysis, *Med. Biol. Eng. Comput.*, 2018, vol. 56, no. 10, pp. 1747–1756.
3. Herrick A.L., Murray A. The role of capillaroscopy and thermography in the assessment and management of Raynaud's phenomenon, *Autoimmun. Rev.*, 2018, vol. 17, no. 5, pp. 465–472.
4. Lim M.J., Kwon S.R., Jung K.H., Joo K., Park S.G., Park W. Digital thermography of the fingers and toes in Raynaud's phenomenon, *J. Korean Med. Sci.*, 2014, vol. 29, no. 4, pp. 502–506.
5. Jones B.F. A reappraisal of the use of infrared thermal image analysis in medicine, *IEEE Trans. Med. Imaging.*, 1998, vol. 17, no. 6, pp. 1019–1027.
6. Staffa E. et al. Using noncontact infrared thermography for long-term monitoring of foot temperatures in a patient with diabetes mellitus, *Ostomy Wound Manage*, vol. 62, no. 4, pp. 54–61.
7. Silva N.C.M. et al. Reliability of infrared thermography images in the analysis of the plantar surface temperature in diabetes mellitus, *J. Chiropr. Med.*, 2018, vol. 17, no. 1, P. 30–35.
8. Van Marken Lichtenbelt W.D., Daanen H.A. Cold-induced metabolism, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 2003, vol. 6, no. 4, pp. 469–475.
9. Wilmore J.H. and Costill D.L. *Physiology of sport and exercise*, 2nd ed. Champaign, Illinois, Human Kinetics, 1999.
10. Katschinski D.M. On heat and cells and proteins, *News Physiol. Sci.*, 2004, vol. 19, pp. 11–15.
11. Mizeva I., Frik P., Podtaev S. Skin blood flow and temperature oscillations during cold pressor test, *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, 2015, pp. 7382–7385.
12. Davey M., Eglin C., House J., Tipton M. The contribution of blood flow to the skin temperature responses during a cold sensitivity test, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2013, vol. 113, pp. 2411–2417.
13. Kovacic J.C. et al. The relationships between cardiovascular disease and diabetes, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am*, 2014, vol. 43, no. 1, pp. 41–57.
14. Muris D.M., Houben A.J., Schram M.T., Stehouwer C.D. Microvascular dysfunction is associated with a higher incidence of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2012, vol. 32, no. 12, pp. 3082–3094.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ВНУТРИКОЖНЫХ МЕТАСТАЗОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Р.И. Рахимжанова[1], Н.А. Шаназаров[1,2], Д.Е. Туржанова[1]
[1]Медицинский университет Астана, Нур-Султан, Республика Казахстан
[2]Больница Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан, Нур-Султан, Республика Казахстан

Резюме

В последние годы во всем мире наблюдается рост заболеваемости раком молочной железы (РМЖ), причем в 20% случаев при РМЖ происходит развитие внутрикожных метастазов. Возможности хирургического и лучевого лечения внутрикожных метастазов РМЖ достаточно ограничены, а эффективность полихимиотерапии с применением стандартных схем не превышает 22–27%, при этом срок ремиссии, как правило, составляет лишь 2–3 мес. Фотодинамическая терапия (ФДТ) является перспективным методом лечения внутрикожных метастазов РМЖ. Опыт применения ФДТ при данной нозологии достаточно ограничен, но полученные результаты демонстрируют его высокую эффективность и безопасность. Так, несколько российских исследований посвящены оценке эффективности ФДТ внутрикожных метастазов РМЖ с фотосенсибилизатором хлоринового ряда фотолон. По данным авторов, лечебный эффект был достигнут у 85–97% пациенток (доля пациенток с полным и частичным эффектом составляла 73–85%). Исследования эффективности ФДТ у пациенток с такой же нозологией с использованием фотосенсибилизатора фотосенс демонстрируют несколько меньшую эффективность – лечебный эффект был достигнут в 81,8% наблюдений, при этом доля пациенток с полным и частичным эффектом составляла только около 50%. За рубежом проведен ряд исследований на моделях метастазирующего РМЖ с использованием новых фотосенсибилизаторов (например, синопорфирина натрия) и новых комбинированных схем ФДТ (например, адъювантная ФДТ с 5-фторурацилом или капецитабином). Полученные результаты демонстрируют перспективность новых подходов: ФДТ с синопорфирином натрия ингибировала рост как самой опухоли, так и ее метастазов; применение адъювантных схем привело к повышению дифференцировки опухолевых клеток у животной модели, прекращению роста опухоли, а также метастатических очагов.

Ключевые слова: рак молочной железы, кожные метастазы, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, фотохимическая реакция.

Для цитирования: Рахимжанова Р.И., Шаназаров Н.А., Туржанова Д.Е. Фотодинамическая терапия внутрикожных метастазов рака молочной железы // Biomedical Photonics. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 36–42. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-36-42.

Контакты: Туржанова Д.Е., e-mail: dinara.turzhanov@mail.ru

PHOTODYNAMIC THERAPY OF INTRADERMAL METASTATIC BREAST CANCER (LITERATURE REVIEW)

Rakhimzhanova R.I.[1], Shanazarov N.A.[1,2], Turzhanova D.E.[1]
[1]Astana Medical University, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan
[2]Hospital of Medical Center of the Department of Presidential Affairs of the Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

Abstract

In recent years, an increase in the incidence of breast cancer has been observed throughout the world, and in 20% of cases, with the development of intradermal metastases. The possibilities of surgical and radiation treatment of intradermal breast metastases are quite limited, and the effectiveness of polychemotherapy using standard regimens does not exceed 22–27%, while the period of remission, in general, is only 2–3 months. Photodynamic therapy (PDT) is a promising treatment for intradermal metastases of breast cancer. The experience of using PDT in this nosology is quite limited, but the results show its high efficiency and safety. Thus, several Russian studies are devoted to assessing the effectiveness of PDT of intradermal breast metastases with Photolon, a chlorin series photosensitizer. According to the authors, the therapeutic effect was achieved in 85–97% of patients (the percentage of patients with full and partial effect was 73–85%). Studies on the effectiveness of PDT in patients with the same nosology using the Photosens photosensitizer show a slightly lower effectiveness – the therapeutic effect was achieved in 81.8% of cases, while the proportion of patients with full and partial effect was only about 50%. Several studies have been carried out abroad on models of metastatic breast cancer using new photosensitizers (e.g. sodium sinoporphyrin) and new combined PDT regimens (e.g. adjuvant PDT with fluorouracil or Capecitabine). The obtained results demonstrate the promise of new approaches: PDT with sodium sinoporphyrin inhibited the growth of both the tumor itself and its metastases; the use of adjuvant regimens led to an increase in the tumor cells differentiation in the animal model, the cessation of tumor and metastatic foci growth.

Key words: breast cancer, skin metastases, photodynamic therapy, photosensitizer, photochemical reaction.

For citations: Rakhimzhanova R.I., Shanazarov N.A., Turzhanova D.E. Photodynamic therapy of intradermal metastatic breast cancer (literature review), *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 36–42 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-36-42.

Contacts: Turzhanova D.E., e-mail: dinara.turzhanov@mail.ru

Рак молочной железы (РМЖ), поражающий ежегодно около 1,2 млн женщин в мире, свыше 52 тыс. в Российской Федерации и более 4 тыс. в Казахстане, привлекает пристальное внимание специалистов в связи с нарастающей заболеваемостью и высоким уровнем смертности пациенток. Так, по данным официальной статистики в РФ уровень заболеваемости злокачественными образованиями данной локализации за период 2008–2017 гг. увеличился с 67,95 до 89,60 на 100 тыс. населения, т.е. прирост составил 33,8% [1]. В Республике Казахстан только за период 2012–2017 гг. заболеваемость РМЖ возросла с 21,3 до 24,5 на 100 тыс. населения. Более того, согласно прогнозам специалистов Международного агентства по изучению рака, в течение следующих двух десятилетий количество пациенток с диагнозом рак молочной железы возрастет практически в 2 раза [2].

Основным методом лечения РМЖ до настоящего времени остается оперативное вмешательство: в соответствии с современной концепцией развития хирургии, объем операций на молочной железе все чаще сокращается до органосохраняющего лечения, включая ограниченное удаление клинически негативных подмышечных лимфатических узлов. Кроме того, увеличение выживаемости и снижение смертности от злокачественных новообразований молочной железы связывается с адекватным использованием системных видов терапии [3].

Однако удельный вес пациенток с РМЖ III–IV стадий по-прежнему высок, по некоторым данным их доля достигает 45% [4]. При этом в 20% наблюдений у пациенток отмечается развитие внутрикожных метастазов, образующихся, преимущественно, после хирургического лечения. При лечении метастатического РМЖ, как правило, используют системную терапию (химио-, гормонотерапию) в сочетании с лучевой терапией и иссечением метастатического очага. Однако следует отметить, что хирургическое лечение в данном случае возможно не всегда в связи с множественным характером поражения и большой распространённостью процесса. Кроме того, соматическое состояние пациенток после комбинированного лечения часто не дает возможности провести оперативное вмешательство в оптимальном объёме. В свою очередь, возможности лучевого лечения метастазов РМЖ нередко ограничены множественным характером метастазирования. Эффективность же полихимиотерапии при метастазах РМЖ в кожу с применением стандартных схем не превышает 22–27%, при этом срок ремиссии, как правило, составляет лишь 2–3 мес [5]. Продление сроков ремиссии требует проведения многокурсовой полихимиотерапии. При этом следует отметить иммуносупрессивное действие лучевой терапии и химиотерапии, которое усугубляется при проведении повторных курсов. Из других методов лечения кожных метастазов РМЖ можно выделить электрохимиотерапию, локальную химиотерапию (МИЛТЕКС), лазерную деструкцию, брахитерапию, гипертермию, криотерапию и т.д., однако сведения об их эффективности остаются на сегодняшний день далеко не однозначными [6]. Соответственно, неудовлетворённость результатами лечения больных РМЖ с кожными метастазами стимулирует поиск новых методов терапии.

Одним из актуальных направлений современной онкологии является применение для лечения пациенток с внутрикожными метастазами РМЖ фотодинамической терапии (ФДТ), считающейся в настоящее время одним из эффективных методов лечения злокачественных образований [7]. ФДТ представляет собой несистемную терапевтическую процедуру, которая начинает функционировать при условии комбинации трех отдельных компонентов: светоактивируемого фотосенсибилизатора, специфического источника света и молекулярного кислорода [8–11]. Этот метод основан на том, что опухолевые клетки способны избирательно накапливать определенные фотосенсибилизаторы в большей степени по сравнению со здоровыми тканями [12, 13]. В дальнейшем, при облучении светом, спектр которого соответствует спектральному составу поглощения фотосенсибилизатора, в клетках опухоли осуществляется фотохимическая реакция. В итоге образуются субстанции с цитотоксической активностью, действие которых приводит к некрозу опухоли [14, 15].

Метод ФДТ может применяться как самостоятельно, так и в комбинации с хирургическим и лучевым лечением, а также с паллиативными целями [16]. Преимуществами ФДТ является высокая избирательность поражения клеток опухолей, отсутствие серьезных побочных эффектов, возможность проведения повторных курсов лечения и комбинация в одной процедуре диагностических и лечебных опций. Дополнительное преимущество ФДТ заключается в

ее относительной безболезненности и возможности проведения повторных курсов.

Однако метод ФДТ не лишен и определенных недостатков, среди которых можно отметить:

- ограниченную глубину проникновения светового воздействия в опухоль (от 2 до 15 мм в зависимости от применяемой длины волны по одним данным и от 4 до 8 мм – по другим). Глубина проникновения определяется выбранным для проведения терапии фотосенсибилизатором [17];
- зависимость эффективности лечения от степени оксигенации и кровоснабжения опухоли;
- отсутствие морфологического контроля после проведенного лечения;
- высокую стоимость некоторых фотосенсибилизаторов [18].

Общими показаниями к ФДТ для воздействия по «радикальной программе» являются опухоли, способные избирательно накапливать фотосенсибилизатор и доступные для воздействия лазерного излучения, с невыраженным экзофитным и/или инфильтративным компонентом, который не превышает глубины проникновения излучения в ткань. В тех случаях, когда опухоль не отвечает перечисленным критериям, возможно проведение паллиативной ФДТ, либо применение ФДТ в сочетании с другими методами воздействия [19].

К абсолютным противопоказаниям для процедуры относят дыхательную и сердечно-сосудистую недостаточность, заболевания печени и почек в декомпенсированной стадии, кахексию, непереносимость препарата. Среди относительных противопоказаний можно выделить заболевания аллергической природы [20].

Проведение ФДТ состоит из введения фотосенсибилизатора (ФС) путем, оптимальным для его накопления в опухоли, и его активации под влиянием лазерного излучения с определенной длиной волны. Поэтому выбор ФС оказывает существенное влияние на эффективность ФДТ злокачественных опухолей различной локализации и параметры облучения, поскольку глубина терапевтического воздействия на новообразование определяется спектральным диапазоном ФС. Так, максимальная глубина воздействия обеспечивается сенсибилизаторами с длиной волны спектрального максимума, превышающей 770 нм. Соответственно, флуоресцентные свойства сенсибилизатора играют важную роль в разработке тактики лечения, оценке биораспределения препарата и мониторинге результатов [21].

Анализ литературных данных позволяет прийти к выводу, что применение ФС разных классов существенно влияет на эффективность ФДТ новообразований. Так, наилучших результатов в отношении внутрикожных метастазов рака молочной железы удалось получить при использовании тетраметагидроксифенил-хлорина (фоскан, λ=652 нм), сульфированного фталоцианина алюминия (фотосенс, λ=670 нм), тринатриевой соли хлорина e_6 (фотолон, λ=661±5 нм) [5, 22, 23].

По мнению некоторых авторов, показаниями к применению ФДТ при раке молочной железы являются:

- рак Педжета T1–2N0M0;
- рецидив рака молочной железы на грудной стенке после хирургического лечения;
- внутрикожные метастазы после хирургического, комбинированного и комплексного лечения;
- первичный рак молочной железы T1–2N0M0 (узловая форма) при категорическом отказе пациентки от хирургического лечения и наличии тяжелых сопутствующих заболеваний [24].

Что касается эффективности ФДТ у больных раком молочной железы, то Е.В. Горанская и М.А. Каплан в своем исследовании продемонстрировали, что ФДТ кожных метастазов при раке молочной железы с применением фотосенсибилизатора хлоринового ряда (фотолон) позволяет достигнуть лечебного эффекта в 85% случаев. При этом полный регресс отмечен в 46% и частичный – в 39%. На основании этих данных авторы пришли к выводу, что фотодинамическую терапию можно отнести к методам, позволяющим при наименьшем количестве побочных эффектов достичь хорошего результата, что позволяет рекомендовать ФДТ к применению в лечебно-профилактических учреждениях [5]. В другом исследовании при лечении внутрикожных метастазов рака молочной железы ФДТ продемонстрировала более высокую клиническую эффективность: лечебный эффект был достигнут в 97% случаев. При этом авторы отмечают высокую селективность метода в отношении поражения опухолевой ткани, а также отсутствие тяжелых местных и системных осложнений и возможность повторения лечебной процедуры. Кроме того, исследователи указывают на применение ФДТ с паллиативной целью, что позволит уменьшать объем опухоли, улучшать качество жизни пациенток с РМЖ и его метастазами в кожу [25].

В работе М.А. Каплана с соавт. оценивается эффективность ФДТ по поводу метастазов рака молочной железы в кожу с использованием фотолона. По результатам лечения 46 больных, у 54,3% из которых были выявлены только внутрикожные метастазы, а у остальных имелись и органные метастазы (лимфатические узлы, кости, печень, лёгочная ткань, вторая молочная железа), полная регрессия была отмечена в 33,6% случаев, частичная регрессия – в 39,4%, стабилизация – в 22,6% и прогрессирование – лишь в 4,4%. Объективный ответ получен в 73,0% случаев, лечебный – в 95,6% [26].

В исследовании С.В. Евстифеева с соавт. по оценке эффективности ФДТ при внутрикожных метастазах

рака молочной железы были получены совершенно иные результаты: полный эффект был достигнут лишь у 22,7% пациенток, частичный – у 27,3%, стабилизация процесса была зафиксирована в 31,8% случаев, а частота прогрессирования заболевания, характеризующегося появлением новых метастатических очагов, достигала 18,2% [27]. Следует отметить, что в данном исследовании применялся синтетический отечественный порфириновый фотосенсибилизатор второго поколения фотосенс. Возможно, применение фотосенса в качестве фотосенсибилизатора в данном исследовании отрицательно сказалось на эффективности ФДТ по сравнению с исследованием, о котором говорилось выше.

Зарубежные исследователи ведут непрерывный поиск новых фотосенсибилизаторов, которые сочетали бы в себе высокую эффективность и безопасность в лечении как рака молочной железы, так и его метастазов. В этой связи представляют интерес результаты, полученные X.Wang с соавт. Исследователи оценили влияние ФДТ с синопорфирином натрия на пролиферацию и метастазирование опухолевых клеток в высоко метастатической клеточной линии 4T1 и модели ксенотрансплантата мыши. В результате было установлено, что выбранная тактика лечения значительно увеличила продолжительность жизни мышей больных РМЖ, а также ингибировала рост как самой опухоли, так и ее метастазов, что согласуется с результатами опытов *in vitro*. Кроме того, авторы отметили, что ФДТ с данным препаратом была эффективнее терапии, проводимой с уже зарегистрированным ФС фотофрин. Предварительные токсикологические результаты свидетельствуют о том, что синопорфирин натрия является относительно безопасным препаратом. Эти данные можно расценить как свидетельство перспективности применения этого фотосенсибилизатора, который, однако, требует дальнейшего изучения [28].

В свою очередь, S.Anand с соавт. с целью повышения эффективности ФДТ при раке молочной железы предложили использовать неоадъювант (5-фторурацил) до проведения ФДТ с эфиром аминолевулиновой кислоты. Этот подход действительно повышал эффективность ФДТ, однако при этом был отмечено серьезное токсическое влияние 5-фторурацила. С целью его снижения исследователи предложили применять нетоксичный предшественник 5-фторурацила капецитабин в режиме комбинированной ФДТ. В результате было продемонстрировано существенное возрастание дифференцировки опухолевых клеток у животной модели, а также их гибель, превышающая уровень в контрольной группе в 5 раз. Как следствие, авторы отметили прекращение роста опухоли, а также метастатических очагов [29].

Немало работ посвящено зарубежными специалистами о оценке клинической эффективности ФДТ у пациенток с кожными метастазами рака молочной железы. Так, P. Wyss с соавт. приводит результаты применения двух различных протоколов ФДТ в лечении кожных метастазов. Первый протокол включал введение ФС мета-тетра(гидроксифенил)хлорина в дозе 0,10 мг/кг с последующим облучением в дозе 5 Дж/см^2, тогда как во втором протоколе доза ФС составляла 0,15 мг/кг, а облучения – 10 Дж/см^2. В результате у всех пациенток был отмечен полный клинический эффект, причем вне зависимости от дозы ФС или облучения. Авторы отмечают, что скорость заживления преимущественно зависела от облучаемой площади участка [30].

Авторы обширного обзора литературы, посвященного проблеме применения ФДТ для лечения рака молочной железы приводят многочисленные доказательства его клинической эффективности, причем при использовании различных ФС, а также комбинированных подходов (комбинация ФДТ и иммунной терапии). Однако, подчеркивается, что необходимо продолжение исследований, поскольку накопленный к настоящему времени опыт пока невелик [31].

Ряд авторов приводит данные о применении матричного излучателя на полупроводниковых диодах с изменяемой геометрией излучающей поверхности. Его преимущества заключаются в:

- возможности одномоментного воздействия на большие поля метастатического поражения кожных покровов грудной стенки;
- уменьшении продолжительности при одновременном увеличении комфортности сеанса;
- снижении частоты развития тяжелых некротических фототоксических реакций облученных тканей из-за невысокой плотности мощности световой энергии;
- возможности оперативного повторения сеанса ФДТ при наличии клинических показаний в амбулаторных условиях;
- точной дозиметрии;
- незначительной расходимости излучения сверх ярких диодов, поскольку излучающая поверхность аппарата конгруэнтно вплотную прилежит к облучаемой поверхности грудной стенки;
- оптимальном формировании полей облучения с использованием метода флуоресценции фотосенсибилизатора;
- возможность контролировать местный процесс без проведения системного лечения, что значительно улучшает качество жизни больных [32].

В исследовании М.Л. Гельфонда с соавт. на материале 8 пациенток с местно-распространенным раком молочной железы III и более стадии было установле-

но, что в трех случаях ФДТ с использованием матричного излучателя привела к полному регрессу метастатических образований в коже. У 4 больных достигнут частичный регресс, что потребовало проведения повторных сеансов, и у 1 женщины на месте пораженных участков тканей грудной стенки сформировались обширные поля некроза, после чего она выбыла из-под наблюдения. Медиана безрецидивной выживаемости составила 14 мес. По мнению авторов, этот опыт свидетельствует о преимуществах данной методики перед облучением каждого метастаза в коже с помощью световода с фокусирующей насадкой. Данная технология позволяет одномоментно облучить сравнительно большие участки пораженных тканей и подвести за единицу времени запланированную дозу световой энергии при достаточной для возбуждения фотохимической реакции плотности мощности. С одной стороны это позволяет существенно сократить общее время облучения, а с другой – создать более комфортные условия для больных без снижения эффективности метода [33].

Тем не менее, недостаточная удовлетворенность эффективностью существующих протоколов проведения ФДТ кожных метастазов у пациенток с РМЖ обусловливает поиск новых подходов к проведению процедуры. Также дальнейшее развитие метода будет связано с синтезом новых фотосенсибилизаторов, характеризующихся более избирательным накоплением в опухоли, большей активностью к индукции синглетного кислорода, возбуждением на большей длине волны. Важное значение придается разработке и внедрению методов раннего контроля эффективности процедуры и выявлению предикторов ответа на фотодинамическую терапию с целью индивидуализации параметров воздействия [34].

Перспективным направлением является и повышение избирательности накопления ФС в клетках опухоли ткани с целью минимизации воздействия на здоровые ткани. Кроме того, это позволяет реализовать принципы тероностики: комбинации в одной процедуре диагностических и лечебных опций.

В настоящее время ведутся исследования по использованию антитело-направленной доставки ФС к антигенам клеток-мишеней. Суть этого метода заключается в использовании неспособных к размножению вирусных частиц, несущих в своем составе ФС, что и обеспечивает фототоксичность при ФДТ. Эти частицы имеют на своей поверхности специфические антитела к антигенам, присутствующим на плазматической мембране только раковых клеток, что обеспечивает направленность действия [35]. Однако следует отметить, что в настоящее время не для каждой формы рака известен специфический антиген, а попытки его верификации сопряжены с большими сложностями. Тем не менее, этот метод представляется весьма перспективным, хотя и требует значительных усилий по доработке перед внедрением в широкую клиническую практику.

Таким образом, рак молочной железы представляет собой одну из наиболее актуальных проблем современной онкологии. Во многом это обусловлено большим количеством пациенток с поздними стадиями опухолевого процесса и затруднениями в лечении метастазов. Действительно, применяемые в настоящее время хирургический, лучевой и медикаментозный методы эффективны далеко не всегда. В этой связи весьма перспективным представляется метод фотодинамической терапии, который хорошо зарекомендовал себя в лечении злокачественных опухолей различных локализаций. Однако, несмотря на активное изучение данного метода в последние годы, остается много не вполне ясных вопросов. Тем не менее, уже накоплен значительный опыт в его применении для лечения кожных метастазов у пациенток с раком молочной железы. В этой связи, продолжается изучение возможностей применения метода фотодинамической терапии для лечения внутрикожных метастазов рака молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. –250 с.
2. Расулов С.Р., Мурадов А.М., Хамидов А.К., Хамидов Дж.Б. Синдром эндогенной интоксикации у больных раком молочной железы // Вестник ИПО в СЗ РТ. – 2013. – № 1. – С. 14–16.
3. Семиглазов В.Ф. Стратегические и практические подходы к решению проблемы рака молочной железы // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58, № 2. – С. 148–152.
4. Тверезовский С.А., Черенков В.Г., Петров А.Б., Строженков М.М. Анализ состояния диагностики и лечения рака молочной железы до и после внедрения маммографического скрининга // Онкология. Журнал. им. П.А. Герцена. – 2015. – № 5. – С. 24–27.

REFERENCES

1. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2017 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)], by Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. as eds. Moscow, MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU «NMITS radiologii» Minzdrava Rossii, 2018. 250 p.
2. Rasulov S.R., Muradov A.M., Khamidov A.K., Khamidov Dzh.B. Endogenous intoxication syndrome in patients with breast cancer, *Vestnik IPO v SZ RT*, 2013, no. 1, pp. 14–16. (in Russian)
3. Semiglazov V.F. Strategic and practical approaches to solving the problem of breast cancer, *Voprosy onkologii*, 2012, vol. 58, no. 2, pp. 148–152. (in Russian)
4. Tverezovskii S.A., Cherenkov V.G., Petrov A.B., Strozhenkov M.M. Analysis of the status of diagnosis and treatment of breast cancer before and after the introduction of mammographic screening, *Onkologiya. Zhurnal. im. P.A. Gertsena*, 2015, no. 5, pp. 24–27. (in Russian)

5. Горанская Е.В., Каплан М.А. Фотодинамическая терапия метастазов рака молочной железы в кожу // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2014. – Т. 23, № 3. – С. 34–42.
6. Цыб А.Ф., Каплан М.А, Романко Ю.С. и др. Фотодинамическая терапия. – М.: Медицинское информационное агентство, 2009. – 192 с.
7. Li T., Yan L. Functional Polymer Nanocarriers for Photodynamic Therapy // Pharmaceuticals (Basel). – 2018. – Vol. 11(4). – P. 133.
8. Mesquita M.Q., Dias C.J., Gamelas S., et al. An insight on the role of photosensitizer nanocarriers for photodynamic therapy // An. Acad. Bras. Cienc. – 2018. – Vol. 90(1). – P. 1101–1130.
9. Ji C., Gao Q., Dong X., et al. A size-reducible nanodrug with an aggregation-enhanced photodynamic effect for deep chemo-photodynamic therapy // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. – 2018. – Vol. 57(35). – P. 11384–11388.
10. Deng K., Li C., Huang S., et al. Recent progress in near infrared light triggered photodynamic therapy. // Small. – 2017. – Vol. 13(44). doi: 10.1002/smll.201702299.
11. Hu J., Tang Y., Elmenoufy A.H., et al. Nanocomposite-based photodynamic therapy strategies for deep tumor treatment // Small. – 2015. – Vol. 11(44). – P. 5860–5887.
12. Cheng Y., Cheng H., Jiang C., et al. Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumour growth inhibition in photodynamic therapy // Nat Commun. – 2015. – Vol. 6. – P. 8785.
13. Moret F., Reddi E. Strategies for optimizing the delivery to tumors of macrocyclic photosensitizers used in photodynamic therapy (pdt) // J. Porphyr. Phthalocyanines. – 2017. – Vol. 21. – P. 239–256.
14. Шаназаров Н.А., Ахетов А.А., Сейдалин Н.К. Первый опыт применения фотодинамической терапии в Казахстане // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6. – № 4s. – С. 37–38.
15. Гюлов Х.Я., Шаназаров Н.А. Опыт применения фотодинамической терапии в Челябинском областном клиническом центре онкологии и ядерной медицины // Вестник МЦ УД ПРК. – 2017. – № 3(68). – С. 10–12.
16. Gehl J., Matthiessen L.M., Humphreys A. Management of cutaneous metastases by electrochemotherapy // J. Clin. Oncol. – 2010. – Vol. 28. – P. 15.
17. Санарова Е.В., Ланцова А.В., Дмитриева М.В. и др. Фотодинамическая терапия – способ повышения селективности и эффективности лечения опухолей // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 109–118.
18. Истомин Ю.П., Артемьева Т.П., Церковский Д.А. Клиническое применение фотодинамической терапии в онкологии // Здравоохранение (Минск). – 2016. – № 10. – С. 54–58.
19. Lamberti M.J., Vittar N.B.R., Rivarola V.A. Breast cancer as photodynamic therapy target: Enhanced therapeutic efficiency by overview of tumor complexity // World J Clin Oncol. – 2014. – Vol. 5(5). – P. 901–907.
20. Гамаюнов С.В., Шахова Н.М., Денисенко А.Н. и др. Фотодинамическая терапия – преимущества новой методики и особенности организации службы // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2014. – № 2 (56). – С. 101–104.
21. Поняев А.И., Глухова Я.С., Черных Я.С. Фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии (обзор) // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). – 2017. – № 41 (67). – С. 71–78.
22. Banerjee S.M., MacRobert A.J., Mosse C.A., et al. Photodynamic therapy: Inception to application in breast cancer // The Breast. – 2017. – Vol. 31. – P. 105–113.
23. Пак Д.Д., Филоненко Е.В., Сарибекян Э.К. Интраоперационная фотодинамическая терапия больных местнораспространенным раком молочной железы IIIB и IIIC стадий // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – Т. 2, №1. – С. 25–30
24. George B.P., Abrahamse H. A Review on Novel Breast Cancer Therapies: Photodynamic Therapy and Plant Derived Agent

5. Goranskaya E.V., Kaplan M.A. Photodynamic therapy of breast cancer metastases into skin, *Radiatsiya i risk (Byulleten' Natsional'nogo radiatsionno-epidemiologicheskogo registra)*, 2014, vol. 23, no. 3, pp. 34–42. (in Russian)
6. Tsyb A.F., Kaplan M.A, Romanko Yu.S. *Fotodinamicheskaya terapiya* [Photodynamic therapy]. Moscow, Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo Publ., 2009. 192 p.
7. Li T., Yan L. Functional Polymer Nanocarriers for Photodynamic Therapy, *Pharmaceuticals (Basel)*, 2018, vol. 11(4), p. 133.
8. Mesquita M.Q., Dias C.J., Gamelas S., Fardilha M., Neves M.G.P.M.S., Faustino M.A.F. An insight on the role of photosensitizer nanocarriers for photodynamic therapy, *An. Acad. Bras. Cienc.*, 2018, vol. 90(1), pp. 1101–1130.
9. Ji C., Gao Q., Dong X., Yin W., Gu Z., Gan Z., Zhao Y., Yin M. A size-reducible nanodrug with an aggregation-enhanced photodynamic effect for deep chemo-photodynamic therapy, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2018, vol. 57(35), pp. 11384–11388.
10. Deng K., Li C., Huang S., Xing B., Jin D., Zeng Q., Hou Z., Lin J. Recent progress in near infrared light triggered photodynamic therapy, *Small*, 2017, vol. 13(44). doi: 10.1002/smll.201702299.
11. Hu J., Tang Y., Elmenoufy A.H., Xu H., Cheng Z., Yang X. Nanocomposite-based photodynamic therapy strategies for deep tumor treatment, *Small*, 2015, vol. 11(44), pp. 5860–5887.
12. Cheng Y., Cheng H., Jiang C., Qiu X., Wang K., Huan W., Yuan A., Wu J., Hu Y. Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumour growth inhibition in photodynamic therapy, *Nat Commun*, 2015, vol. 6, pp. 8785.
13. Moret F., Reddi E. Strategies for optimizing the delivery to tumors of macrocyclic photosensitizers used in photodynamic therapy (pdt), *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 2017, vol. 21, pp. 239–256.
14. Shanazarov N.A., Akhetov A.A., Seidalin N.K. First experience of using photodynamic therapy in Kazakhstan, *Biomedical Photonics*, 2017, vol. 6, no. 4s, pp. 37–38. (in Russian)
15. Gyulov Kh.Ya., Shanazarov N.A. Experience of using photodynamic therapy in Chelyabinsk Regional Clinical Oncology Center, *Vestnik MTS UD PRK*, 2017, no. 3(68), pp. 10–12. (in Russian)
16. Gehl J., Matthiessen L.M., Humphreys A. Management of cutaneous metastases by electrochemotherapy, *J. Clin. Oncol.*, 2010, vol. 28, p. 15.
17. Sanarova E.V., Lantsova A.V., Dmitrieva M.V., Smirnova Z.S., Oborotova N.A. Photodynamic therapy – a way to increase the selectivity and effectiveness of tumor treatment, *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 109–118. (in Russian)
18. Istomin Yu.P., Artem'eva T.P., Tserkovskii D.A. . Clinical use of photodynamic therapy in oncology, *Zdravookhranenie (Minsk)*, 2016, no. 10, pp. 54–58. (in Russian)
19. Lamberti M.J., Vittar N.B.R., Rivarola V.A. Breast cancer as photodynamic therapy target: Enhanced therapeutic efficiency by overview of tumor complexity, *World J Clin Oncol*, 2014, vol. 5(5), pp. 901–907.
20. Gamayunov S.V., SHakhova N.M., Denisenko A.N., Korchagina K.S., Grebenkina E.V., Skrebtsova R.R., Karov V.A., Terekhov V.M., Terent'ev I.G. Photodynamic therapy – advantages of the new methodology and specifics of the service organization, *Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal*, 2014, no. 2(56), pp. 101–104. (in Russian)
21. Ponyaev A.I., Glukhova Ya.S., Chernykh Ya.S. Photosensitizers for photodynamic therapy (review), *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta)*, 2017, no. 41(67), pp. 71–78. (in Russian)
22. Banerjee S.M., MacRobert A.J., Mosse C.A., Periera B., Bown S.G., Keshtgar M.R.S. Photodynamic therapy: Inception to application in breast cancer, *The Breast*, 2017, vol. 31, pp. 105–113.
23. Pak D.D., Filonenko E.V., Saribekyan E.K. Intraoperative photodynamic therapy of patients with locally advanced stage IIIB and IIIC breast cancer, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, vol. 2, no. 1, pp. 25–30. (in Russian)

Induced Cell Death Mechanisms // Anticancer Agents Med Chem. – 2016. – Vol. 16(7). – P. 793–801.
25. Горанская Е.В., Рагулин Ю.А., Капинус В.Н. и др. Непосредственные результаты фотодинамической терапии внутрикожных метастазов рака молочной железы // Онкохирургия. – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 21–22.
26. Каплан М.А., Капинус В.Н., Попучиев В.В. и др. Фотодинамическая терапия: результаты и перспективы // Радиация и риск (Бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2013. –Т. 22, № 3. – С. 115–123.
27. Евстифеев С.В., Кулаев М.Т., Альмяшев А.З. и др. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия внутрикожных метастазов рака молочной железы // Злокачественные опухоли. – 2017. – Т. 7, № 3-S1. – С. 75.
28. Wang X., Hu J., Wang P., et al. Analysis of the *In Vivo* and *In Vitro* Effects of Photodynamic Therapy on Breast Cancer by Using a Sensitizer, Sinoporphyrin Sodium // Theranostics. – 2015. – Vol. 5(7). – P. 772–786.
29. Anand S., Denisyuk A., Bullock T., et al. A non-toxic approach for treatment of breast cancer and its metastases: capecitabine enhanced photodynamic therapy in a murine tumor model // J Cancer Metastasis Treat. – 2019. – Vol. 5. – P. 6.
30. Wyss P., Schwarz V., Dobler-Girdziunaite D., et al. Photodynamic therapy of locoregional breast cancer recurrences using a chlorin-type photosensitizer // Int J Cancer. – 2001. – Vol. 93(5). – P. 720–724
31. Banerjee S.M., MacRobert A.J., Mosse C.A., et al.Photodynamic therapy: Inception to application in breast cancer // Breast. – 2017. – Vol. 31. – P. 105–113.
32. Гельфонд М.Л., Гафтон Г.И., Анисимов В.В. Неоадъювантная, интраоперационная и адъювантная фотодинамическая терапия в комбинированном лечении некоторых нозологических форм злокачественных новообразований // Актуальные проблемы лазерной медицины: сборник научных трудов. / под ред. Н. Н. Петрищева. – Спб., 2016. – С. 81–95.
33. Гельфонд М.Л., Левченко Е.В., Мамонтов О.Ю. и др. Неоадъювантная и интраоперационная фотодинамическая терапия в комбинированном лечении злокачественных новообразований // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – Т. 2, № 3. – С. 54.
34. Wang Y., Xie Y., Li J. et al. Tumor-penetrating nanoparticles for enhanced anticancer activity of combined photodynamic and hypoxia-activated therapy // ACS Nano. – 2017. – Vol. 11. – P. 2227–2238.
35. Соболев А.С. Модульные нанотранспортеры – многоцелевая платформа для доставки противораковых лекарств // Вестник российской академии наук. – 2013. – Т. 83, № 8. – С. 685–697.

24. George B.P., Abrahamse H. A Review on Novel Breast Cancer Therapies: Photodynamic Therapy and Plant Derived Agent Induced Cell Death Mechanisms, *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, vol. 16(7), pp. 793–801.
25. Goranskaya E.V., Ragulin Yu.A., Kapinus V.N., Yaroslavtsaeva E.V., Shubina A.M., Spichenkova I.S., Skugareva O.A. Immediate results of photodynamic therapy of breast cancer intradermal metastases, *Onkokhirurgiya*, 2011, vol. 3, no. 2, pp. 21–22. (in Russian)
26. Kaplan M.A., Kapinus V.N., Popuchiev V.V., Romanko Yu.S., Yaroslavtseva-Isaeva E.V., Spichenkova I.S., Shubina A.M., Borgul' O.V., Goranskaya E.V. Photodynamic therapy: results and prospects, *Radiatsiya i risk (Byulleten' Natsional'nogo radiatsionno-epidemiologicheskogo registra)*, 2013, vol. 22, no. 3, pp. 115–123. (in Russian)
27. Evstifeev S.V., Kulaev M.T., Al'myashev A.Z., Skopin P.I., Begoulov I.V. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy of intradermal breast cancer metastases, *Zlokachestvennye opukholi*, 2017, vol. 7, no. 3-S1, pp. 75. (in Russian)
28. Wang X.,Hu J., Wang P., Zhang S., Liu Y., Xiong W., Liu Q. Analysis of the In Vivo and In Vitro Effects of Photodynamic Therapy on Breast Cancer by Using a Sensitizer, Sinoporphyrin Sodium, *Theranostics*, 2015, vol. 5(7), pp. 772–786.
29. Anand S., Denisyuk A., Bullock T., Govande M., Maytin E.V. A non-toxic approach for treatment of breast cancer and its metastases: capecitabine enhanced photodynamic therapy in a murine tumor mode, *J Cancer Metastasis Treat*, 2019, vol. 5, pp. 6.
30. Wyss P., Schwarz V., Dobler-Girdziunaite D., Hornung R., Walt H., Degen A., Fehr M. Photodynamic therapy of locoregional breast cancer recurrences using a chlorin-type photosensitizer, *Int J Cancer*, 2001, vol. 93(5), pp. 720–724
31. Banerjee S.M., MacRobert A.J., Mosse C.A., Periera B., Bown S.G., Keshtgar M.R.S. Photodynamic therapy: Inception to application in breast cancer, *Breast*, 2017, vol. 31, pp. 105–113.
32. Gel'fond M.L., Gafton G.I., Anisimov V.V. Neoadjuvant, intraoperative and adjuvant photodynamic therapy in combined treatment of certain nosological forms of malignant neoplasms in *Aktual'nye problemy lazernoi meditsiny: sbornik nauchnykh trudov* [Actual problems of laser medicine: collection of scientific papers] by Petrishchev N.N. as edt. Sankt-Peterburg, 2016, pp. 81–95.
33. Gel'fond M.L., Levchenko E.V., Mamontov O.Yu., Baldueva I.A., Nekhaeva T.L., Novik A.V., Anisimov V.V,, Semiletova Yu.V., Myasnyankin M.S. Neoadjuvant and intraoperative photodynamic therapy in the combined treatment of malignant neoplasms, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, vol. 2, no. 3, pp. 54. (in Russian)
34. Wang Y., Xie Y., Li J., Peng Z.H., Sheinin Y., Zhou J., Oupický D. Tumor-penetrating nanoparticles for enhanced anticancer activity of combined photodynamic and hypoxia-activated therapy, *ACS Nano*, 2017, vol. 11, pp. 2227–2238.
35. Sobolev A.S. Modular nanotransporters – a multipurpose anticancer drug delivery platform, *Vestnik rossiiskoi akademii nauk*, 2013, vol. 83, no. 8. pp. 685–697. (in Russian)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНОЙ РАННИМ ЦЕНТРАЛЬНЫМ РАКОМ ЛЁГКОГО И МУКОВИСЦИДОЗОМ

Е.С. Борзенко[1], И.В. Решетов[2], А.С. Фатьянова[2], К.В. Огданская[2], М.М. Гафаров[2], Ю.С. Романко[2,3]
[1]Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия
[2]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия
[3]МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

Резюме

Авторы описывают клиническое наблюдение с полным клиническим эффектом после многокурсовой фотодинамической терапии больной центральным раком легких и муковисцидозом с использованием фотодитазина. Фотодитазин вводили внутривенно в дозе 0,8 мг/кг за 2 ч до проведения сеанса облучения. Параметры облучения: плотность мощности – 150 мВт/см^2, плотность энергии – 200 Дж/см^2. Всего было проведено 3 курса фотодинамической терапии. В результате проведенного лечения отмечена полная регрессия опухоли. Пациентка находится под динамическим наблюдением в течение 2 лет после лечения, рецидива не выявлено.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотодитазин, центральный рак лёгкого, муковисцидоз.

Для цитирования: Борзенко Е.С., Решетов И.В., Фатьянова А.С., Огданская К.В., Гафаров М.М., Романко Ю.С. Эффективность фотодинамической терапии больной ранним центральным раком лёгкого и муковисцидозом // Biomedical Photonics. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 43–45. doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-43-45.

Контакты: Огданская К.В., e-mail: ksenia28r@mail.ru

EFFECTIVENESS OF PHOTODYNAMIC THERAPY OF A PATIENT WITH EARLY CENTRAL LUNG CANCER AND CYSTIC FIBROSIS

Borzenko E.S.[1], Reshetov I.V.[2], Fatyanova A.S.[2], Ogdanskaya K.V.[2], Gafarov M.M.[2], Romanko Yu.S.[2,3].
[1] Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk, Russia
[2] Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia
[3] A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (A. Tsyb MRRC), Obninsk, Russia

Abstract

The authors describe a clinical observation with full clinical effect after multi-course photodynamic therapy of a patient with central lung cancer and cystic fibrosis using Photoditazine. Photoditazine was administered intravenously at a dose of 0.8 mg/kg 2 hours before the irradiation session. Irradiation parameters: power density – 150 mW/cm^2, energy density – 200 J/cm^2. In total, 3 courses of photodynamic therapy were performed. As a result of the treatment, a complete regression of the tumor was noted. The patient has been under dynamic observation for 2 years after treatment, no relapse was observed.

Keywords: photodynamic therapy, photoditazine, central lung cancer, cystic fibrosis.

For citations: Borzenko E.S., Ogdanskaya K.V., Reshetov I.V., Fatyanova A.S., Gafarov M.M., Romanko Yu.S. Effectiveness of photodynamic therapy of a patient with early central lung cancer and cystic fibrosis, *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 43–45 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-43-45.

Contacts: Ogdanskaya K.V., e-mail: ksenia28r@mail.ru

Введение

По данным мировой статистики одно из лидирующих мест в структуре заболеваемости населения злокачественными заболеваниями занимают опухоли дыхательной системы (легких, трахеи, бронхов). Только за 2017 г. в России злокачественные опухоли данных локализаций были диагностированы более чем у 62 тыс. больных [1].

В настоящее время одним из эндоскопических методов лечения *carcinoma in situ* центрального рака лёгкого (ЦРЛ) является фотодинамическая терапия (ФДТ). ФДТ показывает высокую эффективность при минимальном количестве осложнений, что особенно важно при лечении больных с тяжелой сопутствующей патологией [2–4], к которой, в том числе, относят некоторые генетические заболевания.

Одним из таких заболеваний является муковисцидоз – системное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена трансмембранного регулятора муковисцидоза и характеризующееся поражением желёз внешней секреции, а также тяжёлыми нарушениями в работе органов дыхания и желудочно-кишечного тракта. Общее число взрослых больных муковисцидозом в России ежегодно составляет около 3,5 тыс. человек при общей частоте встречаемости заболевания 1/100 тыс. населения [5]. Доказано, что мутации трансмембранного регулятора проводимости (CFTR), вызывающего муковисцидоз, связаны с высоким риском возникновения различных видов рака, особенно, злокачественных опухолей легких [6].

Ниже приводим клинический пример эффективности ФДТ больной центральным раком легких и муковисцидозом.

Пациентку К., возраст – 47 лет, с 2006 г. наблюдали в Научно-практическом лечебном центре «Семейный врач» (НПЛЦ) ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России с основным диагнозом: муковисцидоз, смешанная форма. Сопутствующие заболевания: хронический бронхо-обструктивный бронхит, средней степени тяжести; дыхательная недостаточность 2 степени тяжести; вторичная эмфизема легких; хроническое легочное сердце и др. Диагноз установлен на основании углубленного обследования больной и ряда проведённых исследований (изучение клинических симптомов заболевания, параметров бронхиальной обструкции, генетической экспертизы, бронхоскопии, компьютерной томографии, морфологических исследований). Пациентка получала патогенетическую и симптоматическую терапию по поводу муковисцидоза и сопутствующей патологии. Ежегодно общее состояние больной ухудшалось, несмотря на назначенное лечение.

В 2016 г. при плановой лечебно-диагностической бронхоскопии у больной обнаружили *carcinoma in situ* шпоры верхнедолевого бронха справа, опухоль размером 0,6 см × 0,2 см (рис. 1*а*). Провели морфологическое исследование биоптата. Была верифицирована преинвазивная карцинома. Для определения дальнейшей тактики лечения больной врачебной комиссией НПЛЦ было принято решение о необходимости консульта-

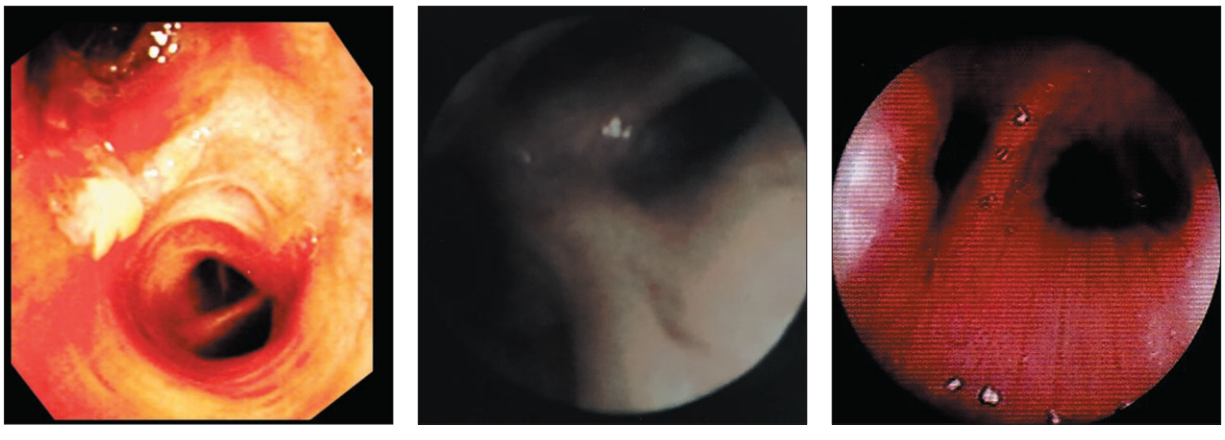

Рис. 1. Результаты бронхоскопии:
а – до ФДТ;
б – через 6 мес после ФДТ;
в – через 24 мес после ФДТ
Fig. 1. Bronchoscopy results:
а – before PDT;
б – 6 months after PDT;
в – 24 months after PDT

ции с ведущими специалистами ФГАОУ Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России и МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России: коллегиально было принято решение о проведении ФДТ, в связи с тем, что общепринятые методы лечения ЦРЛ были противопоказаны из-за выраженности бронхиальной обструкции, гипоксемии, а также риска возникновения нежелательных побочных реакций на проведение химиорадиотерапии.

Сеанс ФДТ проводили через 2 ч после внутривенного, капельного введения фотодитазина (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС 001246 от 18.05.2012) в дозе 0,8 мг/кг массы тела. Через инструментальный канал эндоскопа вводили кварцевый световод с цилиндрическим диффузором на расстоянии 1 мм от новообразования. Через 2 ч после введения фотосенсибилизатора проводили сеанс ФДТ на аппарате «Кристалл» с длиной волны излучения 662 нм (НПЦ «Техника-ПРО», Россия). Плотность мощности лазерного излучения составила 150 мВт/см^2, плотность энергии 200 Дж/см^2. Всего пациентке было проведено 3 курса ФДТ: второй через 1 нед. после первого, третий – еще через 1 мес.

В течение первой недели после ФДТ у пациентки сохранялся незначительный болевой синдром в области облучения, купировавшийся приемом анальгетиков. Спустя 8 дней после ФДТ при проведении контрольной санационной бронхоскопии выявлен некроз новообразования с фибринозными наложениями, гиперемия и отек окружающей слизистой оболочки. Других осложнений в ходе лечения отмечено не было.

При бронхоскопии, выполненной через 6 мес (рис. 1*б*) и через 2 года после выполненного лечения, рецидива не выявлено.

Заключение

Представленное клиническое наблюдение показывает эффективность ФДТ больной с тяжелой сочетанной патологией – центральным раком легкого и муковисцидозом. Таким образом, фотодинамическая терапия обладает большим потенциалом применения у больных, имеющих тяжелую сопутствующую патологию, в качестве эффективного и безопасного метода лечения центрального рака легкого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: МНИОИ и. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. – 250 с.
2. Соколов В.В., Филоненко Е.В. Фотодинамическая терапия больных ранним центральным раком легкого // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – Т. 2, № 4. – С. 3–6.
3. Каплан М.А., Капинус В.Н., Попучиев В.В., Романко Ю.С., Ярославцева-Исаева Е.В., Спиченкова И.С., Шубина А.И., Борчуев О.В, Горанская Е.В. Фотодинамическая терапия: результаты и перспективы // Радиация и риск. – 2013. – Т. 22. – С. 115–125.
4. Sokolov V.V.., Filonenko E.V., Telegina L.V., Boulgakova N.N., Smirnov V.V. Combination of fluorescence imaging and local spectrophotometry in fluorescence diagnostics of early cancer of larynx and bronchi // Quantum Electronics. – 2002. – Vol. 32(11). – P. 963–969.
5. Численность населения Российской Федерации по муниципальным образованиям на 1 января 2017 года. Федеральная Служба Государственной Статистики (Росстат). – М. 2017.
6. Zhang, J., Wang, Y., Jiang, X., Hsiao C. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator—emerging regulator of cancer // Cell. Mol. Life Sci. – 2018. – Vol.75 (10). – P. 1737–1756.

REFERENCES

1. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2017 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)], by Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. as eds. Moscow, MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGU «NMIRC» Minzdrava Rossii Publ., 2018. 250 p.
2. Sokolov V.V., Filonenko E.V. Photodynamic therapy for patients with early central lung cancer, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*. 2013, vol. 2, no. 4, pp. 3–6. (in Russian)
3. Kaplan M.A., Kapinus V.N., Popuchiev V.V., Romanko Yu.S., Yaroslavtseva-Isaeva E.V., Spichenkova I.S., Shubina A.I., Borgul O.V., Goranskaya E.V. Photodynamic therapy: results and prospects, *Radiatsiya i risk*, 2013, vol. 22, pp. 115–125.
4. Sokolov V.V.., Filonenko E.V., Telegina L.V., Boulgakova N.N., Smirnov V.V. Combination of fluorescence imaging and local spectrophotometry in fluorescence diagnostics of early cancer of larynx and bronchi, Quantum Electronics, 2002, vol. 32(11), pp. 963–969.
5. *Chislennost' naseleniya Rossiiskoi Federatsii po munitsipal'nym obrazovaniyam na 1 yanvarya 2017 goda. Federal'naya Sluzhba Gosudarstvennoi Statistiki (Rosstat)* [The population of the Russian Federation by municipalities as of January 1, 2017. Federal State Statistics Service (Rosstat)]. Moscow, 2017.
6. Zhang, J., Wang, Y., Jiang, X., Hsiao C. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator—emerging regulator of cancer, *Cell. Mol. Life Sci.*,2018, vol. 75(10), pp. 1737–1756.

ЮБИЛЕЙ АКАДЕМИКА РАМН, ПРОФЕССОРА ВАЛЕРИЯ ИВАНОВИЧА ЧИССОВА

28 августа 2019 г. отметил свой 80-летний юбилей академик РАМН, профессор Валерий Иванович Чиссов.

Валерий Иванович Чиссов родился 28.08.1939 г. в г. Чкалов. В 1963 г. окончил I Московский медицинский институт им. И.М. Сеченова МЗ СССР по специальности «Лечебное дело». В двадцать восемь лет защитил кандидатскую диссертацию, в тридцать девять – докторскую, а пятьдесят пять стал академиком РАМН.

Валерий Иванович Чиссов – крупный ученый, один из лидеров в онкологии в нашей стране, формирующий ее идеологию и кардинальные направления научных исследований. Благодаря его высокому профессионализму, спасены тысячи онкологических больных.

В.И. Чиссов начал свою медицинскую карьеру сразу после окончания института в качестве врача-хирурга Октябрьской участковой больницы, затем трудился во Всесоюзном НИИ экспериментальной и клинической хирургии. С 1978 г. и по сей день Валерий Иванович Чиссов работает в Московском научно-исследовательском онкологическом институте им. П.А. Герцена, с 1982 по 2013 гг. возглавляя это медицинское учреждение, а в настоящее время являясь постоянным советником директора МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

Сферами медицинских интересов В.И. Чиссова являются: исследования фундаментального характера в области биологии опухоли и опухолевого роста, а также изучение механизмов канцерогенеза; совершенствование основных методов лечения больных со злокачественными новообразованиями; медицинская и социально-трудовая реабилитация онкологических больных; организация онкологической службы в России. При непосредственном участии академика Валерия Ивановича Чиссова разработаны методические подходы к комбинированному и комплексному лечению больных со злокачественными новообразованиями; органосохраняющие и функционально-щадящие методы лечения; показания к расширенным и комбинированным вмешательствам при злокачественных новообразованиях, в т.ч., малоинвазивным методам диагностики и лечения.

Благодаря непосредственному участию В.И. Чиссова в России стали применять такие успешные методы диагностики и лечения злокачественных заболеваний как флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия. С 1994 по 2012 гг. Валерий Иванович Чиссов являлся одним из руководителей Программы, в рамках которой, при поддержке

Правительства Москвы, были разработаны, прошли клинические испытания и переданы для широкого клинического применения несколько новых отечественных фотосенсибилизаторов, а в ряде онкологических диспансеров нашей страны были открыты и полностью оборудованы кабинеты фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики.

Большое внимание академик Валерий Иванович Чиссов уделяет подготовке практических и научных кадров страны в области онкологии. С 1991 г. и по настоящее В.И. Чиссов преподает на кафедре онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, являясь основателем кафедры и возглавляя ее с момента основания до 2017 г. Под его руководством выполнены и защищены 52 диссертационные работы – 23 докторские и 29 кандидатских диссертаций.

Научные труды Валерия Ивановича Чиссова внесли большой вклад в теорию и практику клинической онкологии в России, они высоко оценены государством. Известность у специалистов приобрели его монографии: «Атлас онкологических операций», «Комбинированное лечение злокачествен-

ных опухолей», «Ошибки при диагностике и лечении злокачественных опухолей», «Ларингэктомия с трахеопищеводным шунтированием и протезированием при раке гортани (клинические, методологические и функциональные аспекты)», «Рак гортаноглотки», «Пластическая и реконструктивная микрохирургия в онкологии», «Онкология: национальное руководство» и др. Всего он является автором и соавтором более 1100 научных трудов, в том числе 17 монографий, более 30 книг, 15 учебников, более 800 статей и др. В.И. Чиссов является автором более 60 оригинальных изобретений, защищенных патентами.

Валерий Иванович Чиссов является обладателем большого числа наград и регалий, среди которых орден «Знак Почета» (1986 г.), Государственная премия РФ за разработку органосохранного и функционально-щадящего лечения опухолей (1991 г.), премия Правительства РФ за разработку и внедрение метода микрохирургической аутотрансплантации органов и тканей при лечении и реабилитации онкологических больных (1997 г.), орден Почета (1997 г.), медаль «В память 850-летия г. Москвы» (1997 г.), звание «Заслуженный врач Российской Федерации» (1998 г.), почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации» (1999 г.), ведомственная награда «Отличник здравоохранения» (1999 г.), звание «Почетный профессор НЦХ РАМН» (2006 г.), знак отличия «За заслуги перед Москвой» (2009 г.), нагрудный знак «Милосердие» (2009 г.), Государственная премия РФ за комплекс научных работ по развитию лазерно-информационных технологий для медицины (2009 г.), орден «За заслуги перед Отечеством» IV степени (2010 г.).

Коллектив редакции журнала «Biomedical Photonics», коллеги и друзья сердечно поздравляют Валерия Ивановича с его праздником и искренне желают крепкого здоровья и долгих лет активной жизни, а также новых успехов и достижений в его профессиональной деятельности!

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ

Настоящие правила разработаны в соответствии с «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», которые разработаны Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не допускается направление в Редакцию работ, которые уже напечатаны или посланы для публикации в другие редакции. Ответственность за предоставление материалов, полностью или частично опубликованных в другом печатном издании, несет Автор. Все направленные в Редакцию Журнала рукописи проходят проверку системой «Антиплагиат», в соответствии с требованиями Журнала оригинальность статьи должна быть не менее 70%.

Статьи в Редакцию Журнала подают через форму на сайте Журнала www.pdt-journal.com. Для этого Автору, ответственному за контакты с Редакцией, необходимо пройти процедуру регистрации, после чего появляется техническая возможность направить статью в Редакцию через специальную форму. Формат загружаемого файла doc. или docx.

Метаданные необходимо дополнительно внести в отдельную электронную форму.

Дополнительно отдельными файлами просим загрузить рисунки (в том числе графики), использующиеся в статье, в формате tiff., eps., cdr. с коэффициентом сжатия не менее 8 с разрешением 300 dpi при размере не менее 6 х 9 см, jpg. или jpeg.

Текст статьи набирается в текстовом редакторе (Microsoft Word) кеглем 12 пунктов через 1,5 интервала, желательно шрифш том Times New Roman Cyr, перенос слов не делается. Размеры полей: верхнее и нижнее – 20 мм, левое – 30 мм, правое – 20 мм. Абзацный отступ – 10 мм.

Рекомендуемый объем статьи, включая таблицы и литературу – в пределах 12–15 страниц формата А4. Все страницы должны быть пронумерованы (нумерация страниц начинается с титульной).

Оригинальные статьи согласно общепринятым международным правилам должны содержать следующие разделы: титульная страница, вступление, материалы и методы (можно по отдельности), результаты, обсуждение, заключение, литература.

Титульная страница должна содержать:

- название статьи (выравнивание по центру, заглавные буквы);
- инициалы и фамилию каждого автора (выравнивание по центру);
- названия организаций, в которых работают авторы (если автор работает и выполнял исследования в нескольких организациях, желательно указывать названия всех организаций), города и страны (выравнивание по центру, названия организаций должны быть даны в соответствии с данными портала e-library, в случае нескольких организаций перед названием каждой указывается порядковый номер в формате верхнего индекса и после фамилии каждого автора также верхним индексом обозначается его принадлежность к определенной организации или организациям);
- резюме статьи в неструктурированном виде (без выделения отдельных разделов) объемом 150–200 слов;
- ключевые слова (5–10 слов);
- контактную информацию для общения читателей с ответственным автором для публикации в свободном доступе (e-mail);
- ссылку на статью для цитирования.

На английском языке необходимо продублировать: фамилию и инициалы автора(ов), название статьи, аннотацию, ключевые слова.

В тексте следует использовать только общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не следует применять сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, следует расшифровывать при первом упоминании его в тексте (не требуют расшифровки стандартные единицы измерения и символы).

При представлении результатов статистического анализа данных обязательным является указание использованного программного пакета и его версии, названий использованных статистических методов, приведение описательной статистики и точных уровней значимости при проверке статистических гипотез. Для основных результатов исследования рекомендуется рассчитывать доверительные интервалы.

Единицы измерения физических величин, гематологические, биохимические и другие показатели величин, применяемые в медицине, должны представляться в единицах метрической системы (Международной системы единиц – СИ). При названии различных соединений необходимо использовать терминологию ИЮПАК.

Таблицы, рисунки и текст должны дополнять друг друга, а не дублировать.

Используемый в статье иллюстративный материал (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) должен быть контрастным, рисунки – четкими. На микрофотографиях необходимо указать метод окраски, увеличение. Все подписи, используемые в схемах, графиках и т.д., а также названия рисунков должны быть продублированы на английском языке через "/".

Таблицы и рисунки нумеруются в соответствии с порядком их цитирования в тексте. Каждая таблица должна иметь краткое название и иметь ссылки в тексте. Заголовки граф должны точно соответствовать их содержанию. Использованные в таблице сокращения подлежат расшифровке в конце таблицы.

Библиография должна быть приведена в конце статьи и оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5–2008, в самом же тексте следует указывать только номер ссылки в квадратных скобках цифрами. Ссылки нумеруются в порядке цитирования. В список литературы не включают неопубликованные работы. Не допускаются ссылки на диссертации, тезисы, сборники конференций и авторефераты диссертаций.

За точность библиографии несет ответственность Автор.

Пример оформления списка литературы:

1. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия – новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 8. – С. 32–40.
2. Кармакова Т.А., Филоненко Е.В., Феофанов А.В. и соавт. Динамика накопления и распределение АЛК-индуцированного протопорфирина IX в ткани базальноклеточного рака // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 26.
3. Фут К. Свободные радикалы в биологии // пер. с англ. – М.: Мир, 1979. – Т. 2. – С. 96 – 150.
4. Castano A.P. et al. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2004. – Vol. 1. – P. 279–293.

Все статьи, поступающие в редакцию, проходят многоступенчатое рецензирование, замечания рецензентов направляются Автору без указания имен рецензентов. После получения рецензий и ответов Автора редколлегия принимает решение о публикации (или отклонении) статьи.

Редакция оставляет за собой право отклонить статью с направлением автору мотивированного отказа в письменной форме. Очередность публикации статей устанавливается в соответствии с редакционным планом издания журнала.

Редакция журнала оставляет за собой право сокращать и редактировать материалы статьи. Небольшие исправления стилистического, номенклатурного или формального характера вносятся в статью без согласования с автором. Если статья перерабатывалась автором в процессе подготовки к публикации, датой поступления считается день поступления окончательного текста.

Публикация статей в журнале бесплатная.

Подавая статью в Редакцию Журнала, Автор подтверждает, что Редакции передается бессрочное право на оформление, издание, передачу Журнала с опубликованным материалом Автора для целей реферирования статей из него в любых Базах данных, распространение Журнала/авторских материалов в печатных и электронных изданиях, включая размещение на выбранных либо созданных Редакцией сайтах в сети Интернет, в целях доступа к публикации любого заинтересованного лица из любого места и в любое время, перевод статьи на любые языки, издание оригинала и переводов в любом виде и распространение по территории всего мира, в том числе по подписке. Автор гарантирует, что статья является оригинальным произведением и использование Редакцией предоставленного им авторского материала не нарушит прав третьих лиц.

Примечание. Представление статьи для публикации в журнале подразумевает согласие Автора(ов) с опубликованными правилами.

Levulon

Гель
12% 5-АЛК

Применение:

— **в дерматологии**

— **при косметических дефектах кожи**

ИНСТИТУТ БИОМЕДИЦИНСКОЙ ФАРМАЦЕВТИКИ

125009, г. Москва, ул. Тверская, д. 14/1, стр. 1, помещение I

тел.: **+7 (915) 487-87-72**, e-mail: **ibmph@mail.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