

BIOMEDICAL PHOTONICS

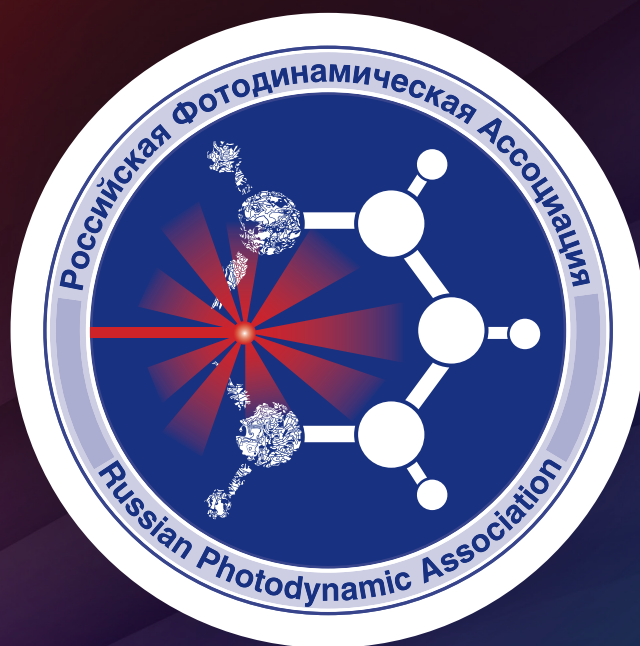
том 11, №2, 2022

В НОМЕРЕ:

- Cancer cell survival model after photodynamic therapy
- Применение биофантомов для оценки термических эффектов лазерного излучения с длинами волн 970 нм и 1560 нм при разных режимах воздействия
- Исследование острой токсичности монокатионного производного хлорина е6 – перспективного фотосенсибилизатора для антимикробной и противоопухолевой фотодинамической терапии

BMP

Российская Фотодинамическая Ассоциация



www.pdt-association.com

BIOMEDICAL PHOTONICS

BIOMEDICAL PHOTONICS –

научно-практический, рецензируемый, мульти-дисциплинарный 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 и типография:

ООО «Группа Компаний Море».

г. Москва, ул. Воронцовская, д. 34, корп. 10, офис 47, 56

Редакция:

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

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, главный научный сотрудник 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 полупроводников и красителей», (Москва, Россия)

Романко Ю.С., доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии им. Л.Л. Лёвшина Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова (Москва, Россия)

Странадко Е.Ф., доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К.Скобелкина ФМБА России»

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

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

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

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

BIOMEDICAL PHOTONICS

FOUNDERS:

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 researcher in A. Tsyb Medical Radiological Research Centre (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)

Romanko Yu.S., Dr. Sci. (Med.), professor of the department of Oncology, radiotherapy and plastic surgery named after L.L. Lyovshina in I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Stranadko E.Ph., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of laser oncology and photodynamic therapy of State Research and Clinical Center of Laser Medicine named by O.K. Skobelcin of FMBA of Russia (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.

Publishing house and printing house:

LLC "Group of Companies More".

Moscow, Vorontsovskaya str., 34, building 10, office 47, 56

Editorial staff:

Chief of the editorial staff Ivanova-Radkevich V.I.

Science editor professor Mamontov A.S.

Literary editor Moiseeva R.N.

Translators Urlova A.N.

Romanishkin I.D.

Computer design Kreneva E.V.

Desktop publishing Tsvetkova A.I.

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

Cancer cell survival model after photodynamic therapy

L. Karami-Gadallo, M. Pouladian

4

Применение биофантомов для оценки термических эффектов лазерного излучения с длинами волн 970 нм и 1560 нм при разных режимах воздействия

О.В. Острейко, М.А. Галкин, Г.В. Папаян, Т.Г. Гришачева, Н.Н. Петрищев

12

Исследование острой токсичности монокатионного производного хлорина е6 – перспективного фотосенсибилизатора для антимикробной и противоопухолевой фотодинамической терапии

Н.Ю. Жидоморов, О.А. Назаренко, В.И. Демидов, А.В. Кустов, Н.В. Кукушкина, О.И. Койфман, А.К. Гагуа, И.К. Томилова, Д.Б. Березин

23

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Возможности применения пероральной внутрипросветной лазерной литотрипсии при крупном конкременте общего желчного протока (клиническое наблюдение)

Ю.В. Иванов, Д.В. Сазонов, А.В. Смирнов, А.В. Мамошин, А.В. Баранов, Д.Н. Панченков

33

ORIGINAL ARTICLES

Cancer cell survival model after photodynamic therapy

Karami-Gadallo L., Pouladian M.

4

Application of biophantomes to evaluate the thermal effects of laser radiation with wavelengths of 970 nm and 1560 nm under different exposure modes

Ostreiko O.V., Galkin M.A., Papayan G.V., Grishacheva T.G., Petrishchev N.N.

12

Study of acute toxicity of monocationic chlorin e6 derivative, a perspective photosensitizer for antimicrobial and antitumor photodynamic therapy

Zhidomarov N.Yu., Nazarenko O.A., Demidov V.I., Kustov A.V., Kukushkina N.V., Koifman O.I., Gagua A.K., Tomilova I.K., Berezin D.B.

23

CASE REPORTS

Opportunities of using oral intraluminal laser lithotripsy for a large calculus of the common bile duct (clinical report)

Ivanov Y.V., Sazonov D.V., Smirnov A.V., Mamoshin A.V., Baranov A.V., Panchenkov D.N.

33

CANCER CELL SURVIVAL MODEL AFTER PHOTODYNAMIC THERAPY

Karami-Gadallo L., Pouladian M.
Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Photodynamic therapy (PDT) is known as a routine treatment method in which cell survival index like viability plotted versus 1O_2 concentration or light fluence in the form of a curve. In this paper, a mathematical model was proposed with ability of generating a mirrored-sigmoid curve which seems to be fitted to any experimental data relating to cell viability, survival probability or any cellular index representing living conditions through adjusting three parameters. It was validated by showing an excellent curve fitting relatively with data obtained from cancerous lung cells under ALA-PDT process *in vitro*.

It was tried to define the relations between model's parameters and biological/clinical factors with the curve regions of plateau (at low doses; non-sensitive part), steep (high-sensitive part), and steady state (at high doses; low-sensitive part). It seems this model could be excellently fitted to any data presenting the cell-living index versus the killer agent in «any cancer therapy technique (e.g. radiotherapy)». Although this claim showed to be correct for PDT, different relevant data of other researchers should also be used for this model and other usual models too, in order to compare their fitness rates.

Key words: cell survival curve, mathematical modeling, photodynamic therapy.

For citations: Karami-Gadallo L., Pouladian M. Cancer cell survival model after photodynamic therapy, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 2, pp. 4–11. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-2-4-11.

Contacts: L. Karami-Gadallo, e-mail: leilakarami271@yahoo.com

МОДЕЛЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Karami-Gadallo L., Pouladian M.
Исламский Университет Азад, Тегеран, Иран

Резюме

При проведении фотодинамической терапии (ФДТ) индекс выживаемости (жизнеспособность) клеток в зависимости от концентрации 1O_2 или плотности мощности облучения на графике представляет собой кривую. В этой статье была предложена математическая модель с возможностью построения зеркально-сигмовидной кривой, которая, по мнению авторов, может быть использована для любых экспериментальных данных, касающихся жизнеспособности клеток или вероятности выживания, путем настройки трех параметров. Это было подтверждено демонстрацией совпадения кривой с данными, полученными в эксперименте *in vitro* для ФДТ с 5-аминолевулиновой кислотой клеток рака легкого.

Была предпринята попытка определить взаимосвязь между параметрами биологической модели и формой участков кривой. При низких дозах наблюдали на кривой участок плато (нечувствительная часть), при средних дозах – участок крутого подъема (высоко-чувствительная часть) и при высоких дозах – стационарное состояние (низкочувствительная часть). Авторы считают, что предложенная ими модель может быть применена к описанию любых данных, представляющих собой показатель выживаемости клеток, в зависимости от дозы воздействия при любом методе лечения рака (например, при лучевой терапии). Хотя это утверждение оказалось верным для ФДТ, представляется перспективной оценка пригодности предложенной модели для других данных.

Ключевые слова: кривые выживаемости клеток, математическое моделирование, фотодинамическая терапия.

Для цитирования: Karami-Gadallo L., Pouladian M. Cancer cell survival model after photodynamic therapy // *Biomedical Photonics*. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 4–11. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-2-4-11.

Контакты: L. Karami-Gadallo, e-mail: leilakarami271@yahoo.com

Introduction

In order to treat cancer in human, there are different techniques depending on some factors such as type and stage of cancer, specifications of 3D-contour of cancerous tissues (planned tumor volume: PTV), surrounded healthy organs (especially organs at risk: OAR), and cancer distribution from skin toward depth in the diseased organs.

In addition to traditional methods for cancer therapy such as chemotherapy, other techniques might apply photons (from low-frequency electromagnetic waves till x- and gamma-rays), accelerated massy particles (e.g. electrons, neutrons, protons and atoms) and/or mechanical waves (e.g. ultrasound beam). Such rays or beams should transfer energy into the tissues with so characteristics (i.e. spatial/temporal distribution of its intensity) that maximally kill the cancerous cells (through necrosis or apoptosis, mostly) whilst minimally harm surrounding healthy cells. In order to optimize the absorbed energies, a proper treatment plan is required. Different type/energy of any beam/ray has different interactions with the surface to inner tissues leading to different absorbed doses within them. For example, the electron beam is proper for skin and superficial cancers because of its low penetration depth (below a few cm). Although, such beams lead to apoptosis of the cells, unfortunately, generation and applying of them are relatively expensive, complicated and time consuming in addition to their ionization problems for healthy cells.

In contrast, some relatively low cost and accessible techniques are just applying non-ionization waves such as the laser or ultrasound (in the form of high intensity focused) to provide hyperthermia and necrosis in cancerous cells.

Recently, a lot of low power techniques provide some 'killer agents' between cancerous cells using a substance which would be toxic after radiation e.g. photodynamic therapy (PDT).

PDT is a promising treatment modality for cancer therapy using photosensitizer (PS), oxygen and light to destroy malignancy. Photochemical reactions between PS, light and oxygen in the cells leads to production of a cytotoxic agent known as singlet oxygen which could kill the cell. In contrast to chemotherapy and conventional radiotherapy, PDT is known as a minimally invasive technique with selectivity in cancer treatment without any complicated side effects [1-8].

The effectiveness of PDT depends on a large number of parameters including the type and dose of PS, the presenting oxygen level within the cells, the specifications of applied light (including its wavelength and irradiance and also the start/end instants of irradiation after PS incubation) and the optical properties of the tissue at the applied wavelength as well as the type and spreading

out of the cancer [9]. In the cases of deep cancers (e.g. head and neck or liver cancer), PDT is performed through optical fibers to reach the light photons to cancerous region [10].

In order to determine the optimized parameters to obtain the most effectiveness of PDT, a variety of experimental and theoretical methods have been suggested by a number of researchers.

In addition to introducing the reliable techniques for PDT dosimetry, our objective in this work was to show the role of the PDT dose in the cell survival through modeling their relation. Some treatment factors (e.g. type and characteristics of drug and light), biological conditions (e.g. cancer type and its distribution) and instrumentation specifications could have main roles in selecting dosimetry method [11]. Some investigators have compared two reported PDT dosimetry techniques through measurement of the $^1\text{O}_2$ luminescence or the PS photobleaching fluorescence by which the $^1\text{O}_2$ production or the PS consumption respectively could also be tracked during treatment [12]. Some researchers have proposed a microscopic model using the six differential equations (SDE) representing the complex reactions between PS, O_2 molecules, and the emitted photons for producing $^1\text{O}_2$ which could react with nucleus receptors leading to apoptosis and cell death [13-14]. Some models quantitating PDT cytotoxicity through showing the relation between survival ratio and different types of killer agents has been introduced by some researchers [15-16]. In one survival model, in addition to the main killer agent [$^1\text{O}_2$], the unoxidized receptors concentration (denoted by $[R]$) was also accounted as the model's inputs [17]. In other words, they added another differential equation showing survival ratio to SDE. Unfortunately, moreover the dependency between these two inputs, $[R]$ could not be obtained practically by measurement. It should be extracted from solving SDE with the inputs of PS concentration, photon density and some variable's initial conditions.

The PDT appears to stimulate several different signaling pathways, some of which lead to cell death, via caspase-dependent and -independent apoptosis whilst some other might cause cell survive depending on biological (e.g. cell type and cell's oxygen magnitude or hypoxia occurrence) and treatment (e.g. structure and concentration of PS, light fluence, and spatial/temporal conditions of PS distribution during irradiation) factors. Additionally, some other factors such as increased repair of induced damage to membrane, to proteins and occasionally to DNA [18], as well as cell cycle phase [19] might also cause resistant to PDT.

Based on these two different cell responses, two pathways with two different resistances against the killer agent could be imagined. Therefore, we would try to make such two-path model for estimation of cell

response with only one practical input representing a reliable killer agent (which could be $[^1\text{O}_2]$, fluence or irradiation time duration).

Materials and methods

Usually, increasing PDT dose (even till infinite dose) cannot reach the cell living index (e.g. survival ratio or viability) to zero or in other words mostly there is 'non-zero steady state'. It happens because of two possible classes of reasons: measurement error of index and survivor cells.

First class of reason includes common mode factors affecting the index measurement such as background noise and recording (instrumentation) errors. Second class of reasons might correspond to hypoxia occurrence (leading to stopping $^1\text{O}_2$ generation); lack of enough PS; the cells far from access of diffused PS and/or photons; and other factors making the killing process unsuccessful (e.g. cell repair mechanisms).

Therefore, it's possible to make all of the cells to be killed under treatment by increasing PDT-dose, especially by applying simultaneously another treatment technique too (e.g. hyperthermia or photon therapy). At first, the survival index with non-zero steady state is analyzed to be modeled.

Model of nonzero steady-state survival index

Since the resistances of the cells against death determine the living index, we could divide the targets (including the cells) under applying killer agent (i.e. PDT dose) in two groups:

1. dose-independent group with constant resistance against the dose variations as shown in Fig. 1 in the form of horizontal line at resistance 40 au (arbitrary unit);
2. sensitive dose-dependent group from infinite resistance at zero dose with an ascending manner toward a residual resistance (e.g. at 20 au in Fig. 1) at infinite dose.

By paying some attentions to the data presenting the relation of index (viability or survival ratio) versus $[^1\text{O}_2]$ (as PDT-dose or d) which obtained *in vitro* studies by a lot of researchers [17,20], it could be seen as a «hyperbolic»

curve (i.e. $1/d$) fitted between logarithm of index versus d . Hence, for 'sensitive cells' the relation of resistance R_s could be considered as the form of below:

$$R_s = R_\infty \cdot e^{1/(s \cdot d)} \quad (1)$$

In which the parameter of R_∞ is the resistance of sensitive cells at infinite d and s shows the sensitivity (in Fig. 1, s is 0.25 for more and 0.07 for less sensitive curves; R_∞ is 20 for both).

Two resistances of non-sensitive R_{ns} (i.e. constant R_0) and sensitive R_s (i.e. Eq. 1) act in parallel to make the total resistance of all cells as $(R_s \cdot R_{ns}) / (R_s + R_{ns})$ which simplified in the form of

$R_0 / [1 + (R_0/R_\infty) \cdot \exp(-1/s \cdot d)]$ appeared as a mirrored (right-to-left) "S"-shaped (i.e. mirrored sigmoidal).

Finally, we could present our model in the following equation to quantitate the PDT response "with nonzero steady state" (i.e. nonzero v at infinite d) as the variable v versus d as:

$$v(d) = \frac{v_0}{1 + m \cdot e^{-1/s \cdot d}} \quad (2)$$

where $v(d)$ can be interpreted as either the cell viability, the survival index, the numbers of cells, or the probability of cell survival with setting relevant (positive) value of parameters v_0 (i.e. 100 or 1), m , and s for each one. In Fig. 2, the effect of m variation on the steady state (up) and s variation on the slope or sensitivity (down) could be seen for mirrored-sigmoid curve of Eq.2.

The parameters Concepts of the Model

In Eq. 2, the parameter v_0 means the magnitude of v at d equals to 0 (usually v_0 is 100 or 1), whilst at 'steady state' $d = \infty$ it is $v_\infty = v_0 / (1 + m)$. Hence, the parameter m could be calculated based on the initial condition v_0 and the final condition v_∞ (if presented) as follows:

$$m = (v_0 - v_\infty) / v_\infty \quad (3)$$

The parameter s shows the slope of descending part of mirrored sigmoid curve and relates to sensitivity.

It could be obtained by setting d at value $1/s$ (in Eq.2) at which v reaches to $1/(1+m/e)$ of its initial (v_0) as follows:

$$V(at d = s^{-1}) = \frac{V_0}{1 + m e^{-1}} \quad (4)$$

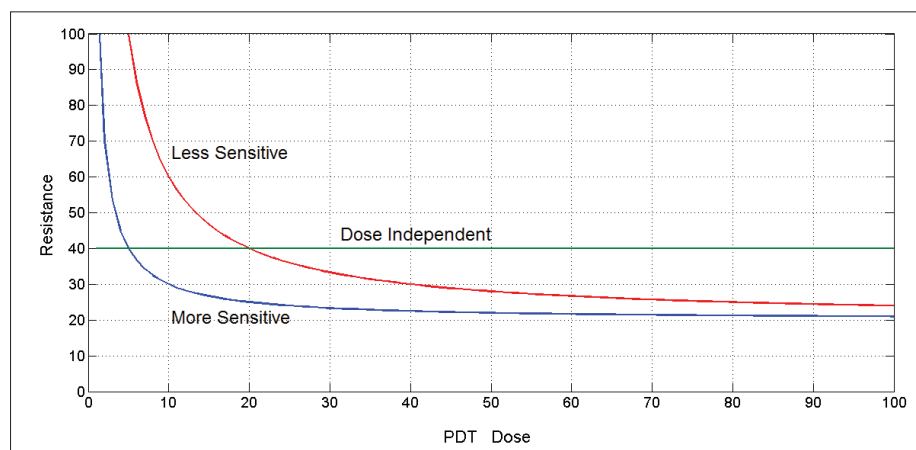


Рис. 1. Два типа устойчивости клеток при изменении параметров ФДТ: дозозависимая (два типичных случая с высокой и низкой чувствительностью) и постоянная устойчивость (нечувствительная). Оси имеют произвольные единицы измерения (усл.ед.).

Fig. 1. Two types resistances of the cells against PDT-Dose variations: dose-dependent (two typical cases with high and low sensitivity) and constant resistance (non-sensitive). The axes have arbitrary units (au).

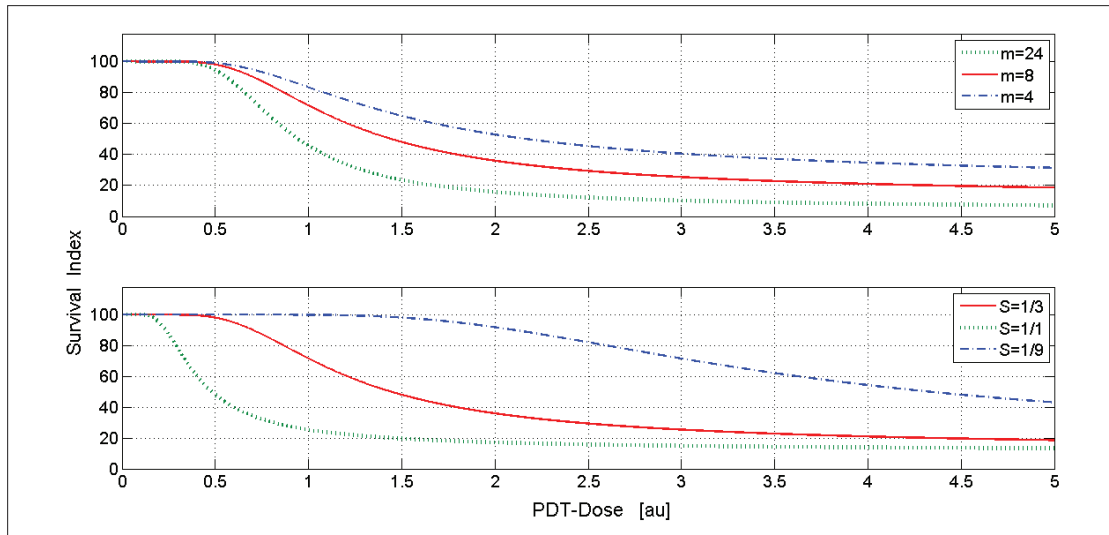


Рис. 2. Образцы зеркально-сигмовидной формы (дозы в усл.ед.) для $V_0=100$ и измененных двух параметров: (вверху) различные m для $s=1/3$; (внизу) различные s для $m=8$.

Fig. 2. Samples of mirrored sigmoid-shaped (with arbitrary units of the dose) for $V_0=100$ and altered two parameters: (Up) different m for $s=1/3$; (Down) different s for $m=8$.

One of the important points of such curves is the critical point (CP) d_c at where the curve appears linear (around d_c) with the most descending slope; and the second derivative of v becomes zero (i.e. $\frac{\partial^2 V}{\partial D^2} = 0$ at $d = d_c$).

Therefore it could be found a relation between D_c , m , and S as follows:

$$s = \frac{1 - me^{-1/(s \cdot d_c)}}{2d_c(1 + me^{-1/(s \cdot d_c)})} \quad (5)$$

It could be shown that according to Eq.5, one could write down:

$$\begin{aligned} \text{if } m \ll e^2 \text{ then } s &= 1/(2d_c) \\ \text{if } m > 1 \text{ then } s &< (d_c \cdot \log m)^{-1} \end{aligned} \quad (6)$$

Data Acquisition

In order to validate the final model, type-II PDT data extracted from other (in vitro) work [20] was applied. The drug of 5-AminoLevulinic Acid (ALA; from 'Sigma Chemical Co') was dissolved in distilled water to obtain the stock solution (1mg/ml). After applying ALA-PDT for some 15-samples groups and providing a control group, the cell viabilities were obtained for different irradiated times for model validation.

Cell Culture

The human lung carcinoma cell (A-549) was supplied by Iranian Biological Resource Center and cultured in DMEM: Ham'SF12 + 2Mml-Glutamine+ 10% FBS in a 5% CO2 incubator at 37°C. A549 cell lines were seeded into 96-well plates at concentration of 1×10^4 cells per well

and were incubated for 24 hours for proper attachment to substratum. After 70–75% cell confluence, the media of wells was removed then phosphate buffered saline and 10μl 5-ALA per well added to them and incubated for 3 h.

ALA-PDT

Except the control (no ALA; no light) and ALA groups, others were irradiated with LED light (632 nm at a fixed floucnce rate 35mw/cm²) for different time durations (till 300 seconds). We repeated the test for another ALA administration too in order to obtaining 5 and 10 μl 5-ALA per well.

MTT Assay

At 24 h after the treatment, cell viabilities were obtained through MTT evaluation method using an optical densitometry technique at 570 nm measuring the activity of mitochondria and cellular dehydrogenase enzymes. The data were analyzed by one-way ANOVA statistical method in SPSS software.

Results

We proposed a model (as shown in Eq. 7) to obtain the cell survival index (that could be cell viability, survival probability, or any index representing cell living conditions) as a function of PDT-dose (that could be illuminating time, fluence, $[O_2]$ or any variable representing the killer agent dose).

When experimental findings show a number of points in dose-v plane, one could extract approximately some specifications (such as the location of CP and its slope, shoulder/plateau width, vanishing speed, and the steady state magnitude) to find the model's parameters roughly.

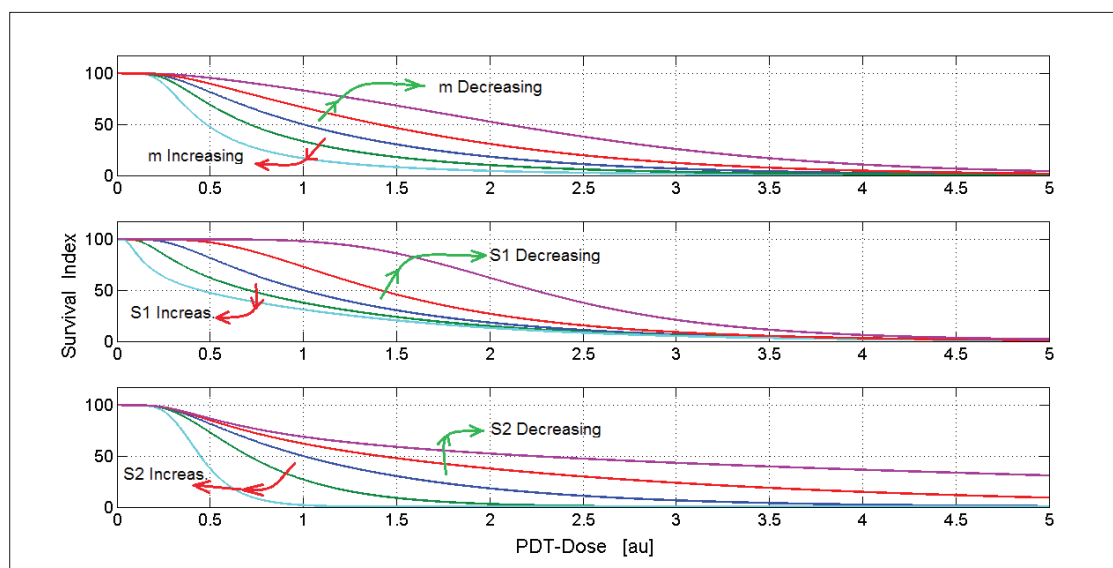


Рис. 3. Отклонения формы модели сигмоидальной кривой при значениях 1/5, 1/2, 2 и 5 для параметров m (вверху), s_1 (посередине), s_2 (внизу) относительно центральной кривой в качестве контроля с $m=1$, $s_1=1$ и $s_2=1$.
Fig. 3. Shape deviations of the sigmoidal-curve model for the values of 1/5, 1/2, 2, and 5 for the parameters: m (top), s_1 (middle), and s_2 (bottom) relative to central curve as the control with $m=1$, $s_1=1$, and $s_2=1$.

Moreover, one could easily fit the best sigmoid-curve with the data by different mathematical techniques (found in the curve fitting toolkit of MatLab software) to obtain the optimized parameters (with minimum root mean squared error-RMSE).

In order to understand the effects of the parameters alterations on the shape of model, different magnitudes of m , s_1 and s_2 were applied ($v_0=100$) and the results compared with a control curve appeared in the central of curves in Fig. 3.

As seen in Fig. 3, the parameters could control curve features as follows:

top: m could control CP's slope and the ascending window width, whilst maintain approximately CP's location;

middle: s_1 could control CP's location, whilst maintain approximately its slope, hence control the plateau width,;

bottom: s_2 could control CP's slope, whilst maintain approximately its location and also the ascending window width, hence control the steady state magnitude.

As shown in Fig. 4, the model was validated using the obtained ALA-PDT data showing an excellent fitting relative to other models (such as single/multi target/

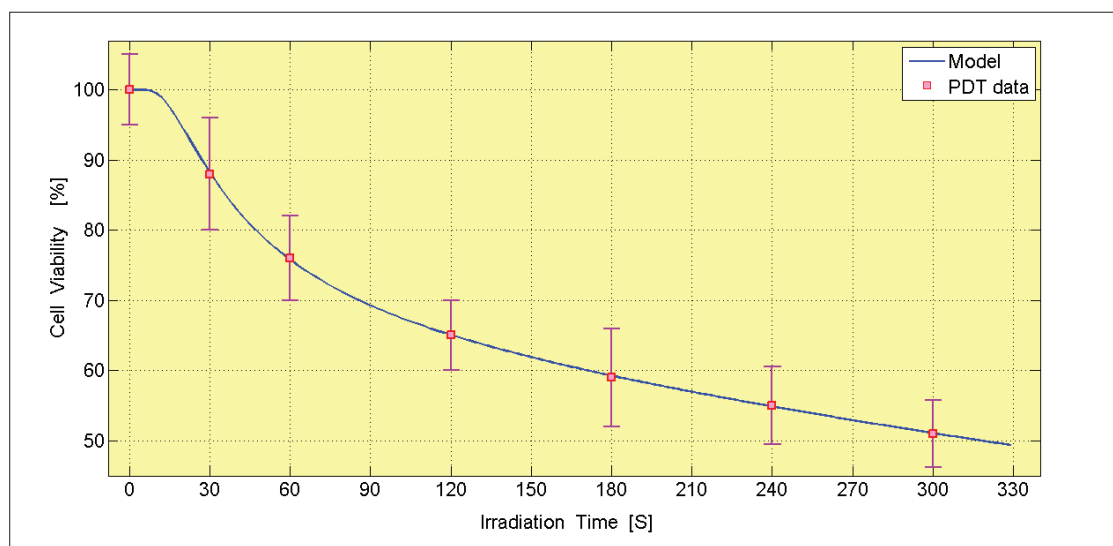


Рис. 4. Данные АЛК-ФДТ и выходные данные модели (с $m = 0,6444$, $s_1 = 0,02052$, $s_2 = 0,001863$)
Fig. 4. The ALA-PDT data and the model output (with $m=0.6444$, $s_1=0.02052$, $s_2=0.001863$)

hit inactivation, two components and linear quadratic models).

Furthermore, based on our findings, ALA did not produce considerable dark toxicity at any concentration or incubation time as verified by the MTT assay. It was found that increasing the irradiation time make the cell survival to be decreased. These findings are consistent with different ALA doses used in similar studies with other cell lines [1,3,16]. The cell death of 90% was seen (for 10 μ l ALA per well) for the irradiation time of about 21 min (i.e. 24 min by the model) whilst at about 300 s (i.e. 320 s by the model) the lethal dose 50% (known as LD_{50}) observed.

By repeating the test for half ALA concentration (i.e. 5 μ l per well; not shown in Fig. 4), the findings didn't vary significantly for low doses whilst a little difference for high doses (e.g. LD_{50} appeared at about 7 min) was seen.

Discussion

The PDT is a promising modality and clinically approved for treatment of certain tumors and several types of neoplasms including cutaneous lesions, non-small cell lung carcinomas, head/neck and esophageal cancers [1-8,10,21]. In PDT researches, presenting multifactorial and complex photochemical processes (e.g. multi molecular interaction, spatial/temporal variation of the concentration before and during the irradiation time) could cause challenging problems in the analysis and dosimetry of PDT and hence limit the related studies variety.

This study was designed firstly to determine the effect of varying the ALA-mediated PDT dose (i.e. different flouence; or irradiation time here) on the survival of non-small cells of lung carcinoma (in vitro) and secondly to model mathematically their relation.

It could be noticed that the relation curve between the cell survival and the killer agent in all of the cancer treatment methods (even including radiotherapy) has a mirrored sigmoidal form such as radiobiological models (e.g. m-hits n-targets or linear quadratic models) [22].

However, it could be imagined that for any survival curve there are approximately three ideal main regions: the plateau (negligible effect; a bit cell death at low doses), the descending slope (the most sensitivity; the most killing rate at the critical dose) and the steady state segment as shown in Fig. 5.

In Eq.7, the survival index v could be approximately (assuming error under 10%) equivalent to $1/[1+m*\exp(-1/(s_1*d))]$ for low doses (i.e., $d < 1/(10*s_2)$), and $1/[1+m*\exp(s_2*d)]$ for high doses ($d > 10/s_1$). Hence, these three geometric features (as shown in Fig. 5) could be determined through three parameters of the model (as could be noticed in Fig. 2). Nonetheless, the features could be visualized to have some proportional relations with the most affectivity parameters as follows:

$$s_1 \downarrow \Rightarrow \text{plateau width} \uparrow$$

$m \uparrow$ or $s_2 \uparrow \Rightarrow \text{slope} \uparrow$ (if $d > 1/m$ then s_2 is more affective else, m is)

$m \downarrow$ or $s_2 \downarrow \Rightarrow \text{tail height} \uparrow$ (if $d > 1/m$ then s_2 is more affective else, m is) (7)

Hence, from biological viewpoint, the sensitivity parameters (i.e., s_1 and s_2) and the sensitivity magnifier parameter (i.e., m) could be mostly interpreted as follows:

The 'cell killing dose threshold' could be controlled mostly by s_1 ; whilst the 'cell killing velocity' by s_2 and the 'steady-state survived cells' by m .

Also, from biochemical viewpoint, it could be said: the more effective and proper of PS, the more s_2 value;

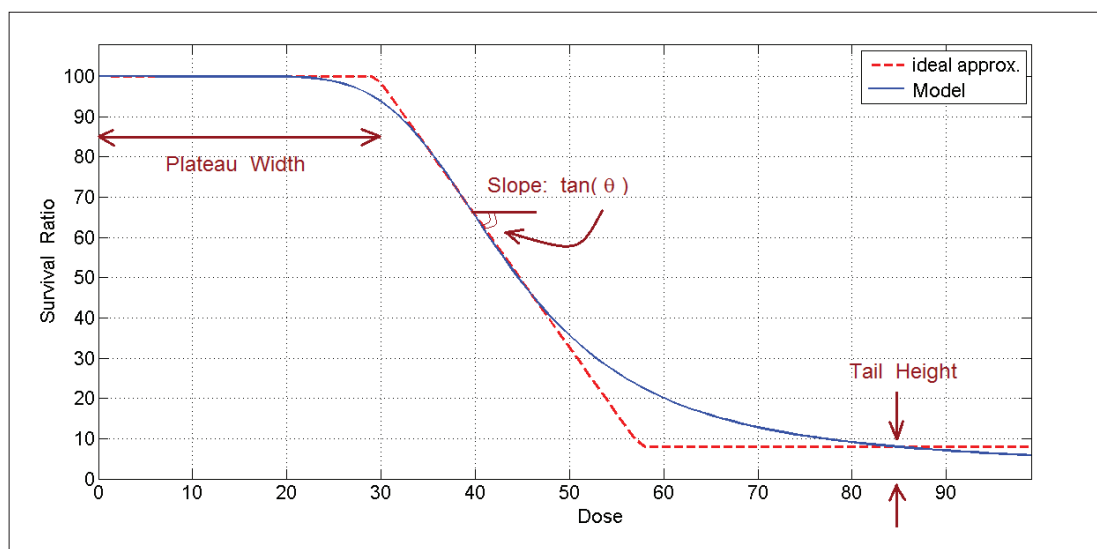


Рис. 5. Пример модели (с параметрами: $m=491$, $s_1=0.00385$, $s_2=0$)

Fig. 5. A sample of the model (with parameters: $m=491$, $s_1=0.00385$, $s_2=0$).

the more diehard and resistant of the cells against killer agent, the less s_1 ; the more concentration of PS and oxygen, the more m value.

However, accurate biological interpretation of our model's parameters is still unknown as well as other model's ones.

From the mathematical view (i.e. MSER), our model could fit better than other models (e.g., target-theory based models [23]) on the obtained PDT-data (MSER findings were not presented here).

If a treatment technique could not kill all of the cancerous cells (i.e. constant steady state), the model of Eq.2 (or Eq.7 with $s_2=0$) might be applied with two parameters (as follows: m depending on the requirements of the technique (e.g., PS and oxygen concentrations) and target conditions (e.g., the population rate of non-sensitive cells); and s depending on the effectiveness of the killer agent (i.e. the sensitivity). According to Fig. 5, it could be said that the more m , the less tail height whilst the more s , the more slope and the less plateau width. If a second treatment technique is also applied simultaneously, one might use its sensitivity as s_2 in the model Eq.7.

The presented model could show a plateau or shoulder on the cell survival curve whose size could be varied by the model parameters (i.e. mostly s_1) based on the technique performance in low doses. Moreover, in contrast to other models (including two compartment and/or linear quadratic ones), the curve maintains its sigmoid shape even in logarithmic scales (not shown in figures here) which is consistent with experiments.

In order to modeling of the viability, survival probability, and the population of the cells, v_0 in Eq.7 should be set respectively to 100, 1, and the cells initial number.

By using a radioisotope in 'for example gamma camera', a variable presenting cellular metabolism could be obtained from an image of cancerous region. On the other hand, the absorbed dose of related killer agent

(e.g. x-ray or electron-beam) could also be measured by relevant dosimetry technique. Hence, obtaining the metabolism level versus different treatment doses could provide some data in the form of various points in the dose-metabolism plane.

It seems model of Eq.7 could fit a proper curve on such data better than other models [22] could. «Encompassing the most fitness on real cellular response to any killer agent» for our model is the statement that we are working on its validity.

Conclusion

A mathematical model (with three parameters m , S_1 , and S_2) was proposed which seems to be fitted better than other models on the cell survival data versus the killer agent dose. Here, it was tested for the cell viability data versus different irradiation time durations in ALA-PDT (on the lung cancerous cells in vitro) resulting excellent fitting. The mirrored (right-to-left) sigmoid curve generated from this model had a shoulder as usually needed for mammalian survival curve; moreover, this curve kept its nonlinear-shape in semi-logarithmic scale. By tuning three parameters of the model, it could make any required form in the survival curve for both regions of low doses (slow variations) and high doses (steady-state) as well as the descending part (which is linear about the steepest point). However, it is needed to test this model by the survival data of any cancer-therapy technique applied by other researchers. It is also essential to consider the correlations between the model's parameters and treatment factors in order to obtain the best biological interpretations for the parameters.

Acknowledgement

The authors would like to thank Sama Pouladian for her help in providing figures. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public-commercial, or non-for-profit sectors.

ЛИТЕРАТУРА

1. Girotti A. Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease // CRC Press; Boca Raton, FL, USA: 1990.
2. Filonenko E.V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020 // Biomedical Photonics. – 2021. – T. 10, № 4. – C. 4–22. doi: 10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22
3. 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. doi: 10.1070/QE2002v032n11ABEH002329
4. Agostinis P. et al. Photodynamic therapy of cancer: an update // CA Cancer J. Clin. – 2004. Vol. 61 (4) – P. 250–281.
5. Filonenko, E.V., Kaprin, A.D., Raszhivina, A.A., Urlova, A.N., Nechipai, A.M. Fluorescence diagnostics of colon malignant and premalignant

REFERENCES

1. Girotti A. Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease, CRC Press, Boca Raton, FL, USA: 1990.
2. Filonenko E.V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020, Biomedical Photonics, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 4–22. doi: 10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22
3. Sokolov V.V., Filonenko E.V., Telegina L.V. et al. Combination of fluorescence imaging and local spectrophotometry in fluorescence diagnostics of early cancer of larynx and bronchi, Quantum Electronics, 2002, vol. 32, no. 11, pp. 963–969. doi: 10.1070/QE2002v032n11ABEH002329
4. Agostinis P. et al. Photodynamic therapy of cancer: an update, CA Cancer J. Clin., 2011, vol. 61 (4), pp. 250–281.
5. Filonenko E.V., Kaprin A.D., Raszhivina A.A., Urlova A.N., Nechipai A.M. Fluorescence diagnostics of colon

- lesions using 5-aminolevulinic acid // *International Journal of Photoenergy*. – 2014. – № 378673 Doi: 10.1155/2014/378673
6. Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of patients with mycosis fungoides // *Biomedical Photonics*. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 27–36. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-1-27-36.
7. Henderson B.W., Dougherty T.J. How does photodynamic therapy work? // *Photochem. Photobiol.* – 1992. – Vol. 55. – P. 145–157.
8. Filonenko E.V. The history of development of fluorescence diagnosis and photodynamic therapy and their capabilities in oncology // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2015. – Vol. 85(1). – P. 211–216. doi: 10.1134/S1070363215010399
9. Helander L., Krokan H.E., Johnsson A., Gederas O.A., Plaetzer K. Red versus blue light illumination in hexyl 5-aminolevulinate photodynamic therapy: the influence of light color and irradiance on the treatment outcome in vitro // *Journal of Biomedical Optics*. – 2014. – Vol. 19(8). – P. 088002.
10. Jerjes W., Upile T., Betz C.S., El Maaytah M., Abbas S., Wright A. et al. The application of photodynamic therapy in the head and neck // *Dent Update*. 2017. – Vol. 34. – P. 478–486.
11. Zheng Huang et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors – potential and technical challenges // *Technol Cancer Res Treat*. – 2008. – Vol. 7(4). – P. 309–320.
12. Jarvi M.T., Patterson M.S., Wilson B.C. Insights into Photodynamic Therapy Dosimetry: Simultaneous Singlet Oxygen Luminescence and Photosensitizer Photobleaching Measurements // *Biophysical Journal Volume*. – 2012. – Vol. 102. – P. 661–671.
13. Foster, T.H., Murant R.S., Bryant R.G., Knox R.S., Gibson S. L. and Hilf R. Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy // *Radiat. Res.* – 1991. – Vol. 126. – P. 296–303.
14. Valentine R.M., Ibbotson S.H., Wood K., Brown C.T. Modelling fluorescence in clinical photodynamic therapy // *Photochem Photobiol Sci.* – 2013. – Vol. 12(1). – P. 203–13 [PubMed: 23128146]
15. Pelicano H., Carney D. and Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications // *Drug Resist. Updat.* – 2014. – Vol. 7. – P. 97–110.
16. Belousova I. M., Mironova N.G. and Yur'ev M.S. A mathematical model of the photodynamic fullerene-oxygen action on biological tissues // *Opt. Spectrosc.* – 2015. – Vol. 98. – P. 349–356.
17. Ioannis Gkigkitzis, Yuanming Feng, Chunmei Yang, Jun Q. Lu and Xin-Hua Hu. Modeling of Oxygen Transport and Cell Killing in Type-II Photodynamic Therapy // *Photochemistry and Photobiology*. – 2012. – Vol. 88. – P. 969–977.
18. Casasa A., Di Venosa G., Hasan T. and Batllea A. Mechanisms of Resistance to Photodynamic Therapy // *Curr Med Chem*. – 2011. – Vol. 18(16). – P. 2486–2515.
19. Wyld L., Smith O., Lawry J., Reed M.W. and Brown N.J. Cell cycle phase influences tumour cell sensitivity to aminolaevulinic acid-induced photodynamic therapy in vitro // *Br J Cancer*. 1998. – Vol. 78(1). – P. 50–55.
20. Karami Gadallo L., Ghoranneviss M., Ataie-Fashtami L., Pouladian M., Sardari D., Enhancement of Cancerous Cells Treatment by Applying Cold Atmosphere Plasma and Photo Dynamic Therapy Simultaneously // *Clinical Plasma Medicine*. – 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpme.2017.08.002>
21. Chen X., Zhao P., Chen F., Li L., and Luo R. Effect and mechanism of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy in esophageal cancer // *Lasers Med Sci*. – 2011. – Vol. 26. – P. 69–78.
22. Bodgi L. et al. Mathematical models of radiation action on living cells: From the target theory to the modern approaches. A historical and critical review // *Journal of Theoretical Biology*. – 2011. – Vol. 394. – P. 93–101.
23. Nomiya T. Discussions on target theory: past and present // *J Radiat Res*. – 2013. – Vol. 54(6). – P. 1161–1163.
- malignant and premalignant lesions using 5-aminolevulinic acid, *International Journal of Photoenergy*, 2014, no. 378673. doi: 10.1155/2014/378673
6. Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of patients with mycosis fungoides, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 1, pp. 27–36. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-1-27-36.
7. Henderson B.W., Dougherty T.J. How does photodynamic therapy work? *Photochem. Photobiol.*, 1992, vol. 55, pp. 145–157.
8. Filonenko E.V. The history of development of fluorescence diagnosis and photodynamic therapy and their capabilities in oncology, *Russian Journal of General Chemistry*, 2015, vol. 85(1), pp. 211–216. doi: 10.1134/S1070363215010399
9. Helander L., Krokan H.E., Johnsson A., Gederas O.A., Plaetzer K. Red versus blue light illumination in hexyl 5-aminolevulinate photodynamic therapy: the influence of light color and irradiance on the treatment outcome in vitro, *Journal of Biomedical Optics*, 2014, vol. 19(8), pp. 088002.
10. Jerjes W., Upile T., Betz C.S., El Maaytah M., Abbas S., Wright A. et al. The application of photodynamic therapy in the head and neck, *Dent Update*, 2017, vol. 34, pp. 478–486.
11. Zheng Huang et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors – potential and technical challenges, *Technol Cancer Res Treat*, 2008, vol. 7(4), pp. 309–320.
12. Jarvi M.T., Patterson M.S., Wilson B.C. Insights into Photodynamic Therapy Dosimetry: Simultaneous Singlet Oxygen Luminescence and Photosensitizer Photobleaching Measurements, *Biophysical Journal Volume*, 2012, vol. 102, pp. 661–671.
13. Foster, T.H., Murant R.S., Bryant R.G., Knox R.S., Gibson S. L. and Hilf R. Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy, *Radiat. Res.*, 1991, vol. 126, pp. 296–303.
14. Valentine R.M., Ibbotson S.H., Wood K., Brown C.T. Modelling fluorescence in clinical photodynamic therapy, *Photochem Photobiol Sci*, 2013, vol. 12(1), pp. 203–13 [PubMed: 23128146]
15. Pelicano H., Carney D. and Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications, *Drug Resist. Updat.*, 2014, vol. 7, pp. 97–110.
16. Belousova I. M., Mironova N.G. and Yur'ev M.S. A mathematical model of the photodynamic fullerene-oxygen action on biological tissues, *Opt. Spectrosc.*, 2015, vol. 98, pp. 349–356.
17. Ioannis Gkigkitzis, Yuanming Feng, Chunmei Yang, Jun Q. Lu and Xin-Hua Hu. Modeling of Oxygen Transport and Cell Killing in Type-II Photodynamic Therapy, *Photochemistry and Photobiology*, 2012, vol. 88, pp. 969–977.
18. Casasa A., Di Venosa G., Hasan T. and Batllea A. Mechanisms of Resistance to Photodynamic Therapy, *Curr Med Chem*, 2011, vol. 18(16), pp. 2486–2515.
19. Wyld L., Smith O., Lawry J., Reed M.W. and Brown N.J. Cell cycle phase influences tumour cell sensitivity to aminolaevulinic acid-induced photodynamic therapy in vitro, *Br J Cancer*, 1998, vol. 78(1), pp. 50–55.
20. Karami Gadallo L., Ghoranneviss M., Ataie-Fashtami L., Pouladian M., Sardari D., Enhancement of Cancerous Cells Treatment by Applying Cold Atmosphere Plasma and Photo Dynamic Therapy Simultaneously, *Clinical Plasma Medicine*, 2017 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpme.2017.08.002>
21. Chen X., Zhao P., Chen F., Li L., and Luo R. Effect and mechanism of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy in esophageal cancer, *Lasers Med Sci*, 2011, vol. 26, pp. 69–78.
22. Bodgi L. et al. Mathematical models of radiation action on living cells: From the target theory to the modern approaches. A historical and critical review, *Journal of Theoretical Biology*, 2011, vol. 394, pp. 93–101.
23. Nomiya T. Discussions on target theory: past and present, *J Radiat Res*, 2013, vol. 54(6), pp. 1161–1163.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОФАНТОМОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЕРМИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ДЛИНАМИ ВОЛН 970 НМ И 1560 НМ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ВОЗДЕЙСТВИЯ

О.В. Острейко, М.А. Галкин, Г.В. Папаян, Т.Г. Гришачева, Н.Н. Петрищев

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

Резюме

Лазерная интерстициальная гипертермия – активно развивающееся направление в хирургии внутримозговых опухолей. В работе представлены термические эффекты в полиакриламидных биофантамах с бычьим альбумином и цитратной кровью при лазерном облучении на длине волны 970 нм и 1560 нм. Для лазерного облучения использован хирургический двухволновый аппарат (ИРЭ «Полис», г. Фрязино, Россия). Облучение фантома осуществлялось через кварцевое световолокно диаметром 400 мкм с торцевым выходом. Результатом облучения была зона коагуляции, которая визуализирована флуоресцентным органоскопом «FLUM-LL». Термометрия осуществлялась тепловизором FLIRONE PRO for IOS и цифровым термографом Т-8 на базе ноутбука с термосенсорами, размещенными в фантоме. Использование облучения мощностью не более 2 Вт в режиме коагуляции с суммарной дозой энергии до 120 Дж позволяло достигать плавного подъема температуры до 88°C. Зона коагуляции при облучении волной 1560 нм всегда была больше, чем при облучении волной 970 нм, хотя статистически разница была недостоверной ($p=0,41$). Средняя площадь пятна коагуляции для излучения 970 нм составила 43,2 (39,3 – 47,1) мм², для 1560 нм – 99,4 (56,5 – 141,3) мм². При суммарном облучении двумя волнами, зона коагуляции была больше, если преобладала мощность излучения 1560 нм. При облучении волной 970 нм зона коагуляции частично распространяется кзади от кончика световолокна, при 1560 нм – коагулирует фантом кпереди. Полученные результаты имеют практическую значимость при применении лазерной гипертермии внутримозговых опухолей.

Ключевые слова: биофантом, термометрия лазерного облучения биофантама, лазерная гипертермия внутримозговых опухолей, режимы гипертермии.

Для цитирования: Острейко О.В., Галкин М.А., Папаян Г.В., Гришачева Т.Г., Петрищев Н.Н. Применение биофантомов для оценки термических эффектов лазерного излучения с длинами волн 970 нм и 1560 нм при разных режимах воздействия // Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 12–22. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-2-12-22.

Контакты: Острейко О.В., e-mail: oleg.v.ostreiko@mail.ru

APPLICATION OF BIOPHANTOMES TO EVALUATE THE THERMAL EFFECTS OF LASER RADIATION WITH WAVELENGTHS OF 970 NM AND 1560 NM UNDER DIFFERENT EXPOSURE MODES

Ostreiko O.V., Galkin M.A., Papayan G.V., Grishacheva T.G., Petrishchev N.N.
Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Laser interstitial hyperthermia is an actively developing direction in intracerebral tumor surgery. The paper presents thermal effects in polyacrylamide biophantoms with bovine albumin and citrated blood under laser irradiation at 970 nm and 1560 nm. For laser irradiation, a surgical two-wave apparatus manufactured by IRE Polis was used. The phantom was irradiated through a quartz optical fiber 400 μm in diameter with an end exit. The result of irradiation of the phantom was its coagulation zone, which was visualized with a FLUM-LL fluorescent organoscope. Thermometry was carried out with a FLIRONE PRO for IOS thermal imager and a T-8 digital thermograph based on a laptop with thermal sensors placed in a phantom. The use of irradiation with a power of not more than 2 W in the coagulation mode, with a total energy dose of up to 120 J, made it possible to achieve a smooth rise in temperature to 88.0°C. The dimensions of the coagulation zone under irradiation with a wave of 1560 nm were always larger than under irradiation with a wave of 970 nm, although the difference was not statistically significant ($p=0.41$). Thus, the average coagulation spot area for 970 nm radiation was 43.2 (39.3 – 47.1) mm², and for 1560 nm – 99.4 (56.5–141.3) mm². With total irradiation with two waves, the coagulation zone was larger if the radiation power of 1560 nm prevailed. When irradiated with a wave of 970 nm, the coagulation zone partially propagates posteriorly from the tip of the optical fiber, and 1560 nm coagulates the phantom anteriorly. The results obtained are of practical importance for laser hyperthermia of intracerebral tumors.

Key words: biophantom, biophantom laser irradiation thermometry, laser hyperthermia of intracerebral tumors, hyperthermia modes.

For citation: Ostreiko O.V., Galkin M.A., Papayan G.V., Grishacheva T.G., Petrishchev N.N. Application of biophantoms to evaluate the thermal effects of laser radiation with wavelengths of 970 nm and 1560 nm under different exposure modes, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 2, pp. 12–22 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-2-12–22.

Contacts: Ostreiko O.V., e-mail: oleg.v.ostreiko@mail.ru

Введение

Стандартное лечение опухолей мозга включают хирургию, радиотерапию и химиотерапию. Несмотря на комплексный подход к лечению злокачественных глиальных опухолей, прогноз остается неблагоприятным. Поскольку хирургическое лечение является определяющим, необходима разработка эффективных и менее инвазивных циторедуктивных хирургических методик, которые бы не вызывали повреждения здоровых тканей. Последние 30 лет проводятся исследования гипертермических процедур, как альтернативы классическим открытым операциям [1–3]. Интерстициальная гипертермия опухолей мозга под действием инфракрасного лазерного излучения является менее инвазивной и более безопасной техникой, чем традиционные хирургические технологии.

Понимание взаимодействия лазерного излучения с опухолевой тканью и его прогнозирование лежат в основе разработки и совершенствования методов лазерной гипертермии [4]. Длина волны представляет основополагающую характеристику лазерного света, определяющую тканевые эффекты в облучаемой опухоли. Это обусловлено сильной зависимостью взаимодействия с основными молекулами-поглотителями в ткани опухоли мозга – водой и гемоглобином. С учетом этого выбираются характеристики излучения, такие как мощность, экспозиция, плотность мощности, временные характеристики излучения. Клиническое применение лазерной термодеструкции в хирургии опухолей мозга реализуется методом LITT (laser interstitial thermotherapy), ее целью является контролируемая с помощью магнитно-резонансной термометрии коагуляция ткани опухоли [5, 6]. Для реализации технологии в настоящее время выпускаются (или коммерчески доступны) две системы Visualase Thermal Therapy System (Medtronic Inc.) и NeuroBlate System (Monteris Medical, Inc.). В них используется только две длины волны лазерного излучения: 970 нм и 1064 нм, обладающие схожими характеристиками взаимодействия с тканью, обусловленными хорошим поглощением данных длин волн гемоглобином, что и обеспечивает гемостатический эффект. В ПСПбГМУ имени акад. И.П. Павлова разработана оригинальная малоинвазивная методика интерстициальной лазерной гипертермии глиальных опухолей [7]. С клини-

ческой точки зрения представляет интерес возможность применения и иных длин волн, обладающих отличающимися эффектами воздействия на биологическую ткань, но также подходящих для интерстициальной термодеструкции опухолей.

Важную роль для изучения тепловых эффектов, возникающих при лазерном облучении биологических тканей, имеют биофантомы, имеющие аналоговые характеристики теплопроводности, теплоемкости и скорости передачи тепла. Максимально приближенные по составу и оптическим свойствам к исследуемой ткани, они позволяют быстро опробовать и визуально наблюдать эффекты лазерного воздействия, осуществляемого с помощью разных длин волн в режиме реального времени. При этом, несмотря на отсутствие микроциркуляции в биофантамах, представляется возможным исследовать основные характеристики биологических эффектов (абляция, коагуляция, испарение, карбонизация) и температурную зависимость в зоне гипертермии от выбранной длины волны.

Для решения исследовательских задач фантом должен содержать пигмент, который эффективно поглощает лазерное излучение в нужном диапазоне. В качестве такого пигмента используются, например, гемоглобин, китайская тушь или Kromagen Magenta MB60-NH concentrate. Кроме этого, для визуальной оценки вызываемых лазером повреждений важно чтобы фантом был изготовлен из прозрачного материала. Одним из способов определения показателей градиента температуры в фантоме является введение термохромных красок, меняющих оттенки в зависимости от показателя температуры. Введение в биофантом белков, таких как бычий сывороточный альбумин (БСА) или белок куриного яйца, позволяет наблюдать тепловую денатурацию белка, заметную вследствие помутнения прозрачной среды [8–11].

Наиболее популярными материалами, используемыми в качестве основы для фантомов, являются агар и полиакриламид [9, 11, 12]. Полиакриламидные гели синтезируются в результате сополимеризации акриламида и метиленбисакриламида в водном растворе. Такой гель прозрачен и позволяет визуализировать и измерять зоны термического воздействия. К тому же, сам полиакриламид нетоксичный, высокостабильный и биосовместимый полимер. Например,

N-изопропилакриламидный гель (NIPAM) мутнеет при нагревании до определенной температуры, которую можно изменять, варьируя концентрацию акриловой кислоты. Гели на основе NIPAM имеют акустические и термические характеристики близкие к таковым у различных биологических тканей. Важно отметить, что эти гели могут использоваться многократно. Если в полиакриламидном геле с БСА термическое воздействие приводит к необратимой денатурации белка, то в случае NIPAM мутность, вызванная нагреванием, постепенно исчезает при охлаждении, и фантом может использоваться вновь [13].

Использование максимально приближенных по содержанию хромофоров и оптических свойств фантомов позволяет проводить тестовые исследования, визуально наблюдать за эффектами воздействия лазера, проводить замеры температуры в режиме реального времени, описать и прогнозировать распространение световой энергии в тканях.

Материалы и методы

В исследование влияния лазерного излучения на биофантом нами были использованы две длины волн: традиционная – 970 нм и 1560 нм. Излучение с длиной волны 970 нм преимущественно поглощает гемоглобин, 1560 нм – вода, в том числе и содержащаяся в цельной крови (рис. 1). Такое разнонаправленное взаимодействие с основными хромофорами представляет интерес с практической точки зрения при использовании лазерной коагуляции опухолей, поскольку обусловлено разнородностью морфологических и биологических характеристик неоплазм, в том числе отеком, количеством сосудов и клеточной

плотностью в новообразованиях различной гистологической структуры и степени злокачественности. При этом поглощение лазерного излучения и последующее выделение тепла в определенных участках ткани являются ключевыми эффектами в лазерной гипертермии опухолей.

При подборе материала для оптических фантомов мы учитывали как их механические свойства, например упругость, так и тепловые характеристики. По совокупности этих свойств фантом должен максимально имитировать изучаемые ткани [15]. Мы исходили из того, что процедура изготовления фантома должна быть относительно простой и воспроизводимой. Нами был использован полиакриламидный фантом, как наиболее подходящий тип фантомов для моделирования эффектов воздействия лазера на ткань опухоли мозга. К достоинствам такого фантома относится прозрачность, высокая стабильность (температура плавления значительно выше 100°C), отсутствие токсичности, а также легкая модуляция механических свойств за счет изменения концентрации акриламида/метиленабисакриламида.

При изготовлении фантома мы использовали данные А.Н. Negussie [9, 16], согласно которым 40% акриламид/бисакриламид смешивается с водой в соотношении 1:4,4 (241 мл:1053 мл). В нашем исследовании соотношение соответствовало 1:4,7, что практически идентично. Для данного фантома плотность соответствует $1033 \pm 1,0$ кг/м³, коэффициент теплопроводности – $0,590 \pm 0,015$ Вт/(м·К), температуропроводность – $0,145 \pm 0,002$ мм²/с. Эти значения близки к таковым для мягких тканей человека [17]. По данным А. Mohammadi [1] показатель теплопроводности для ткани мозга

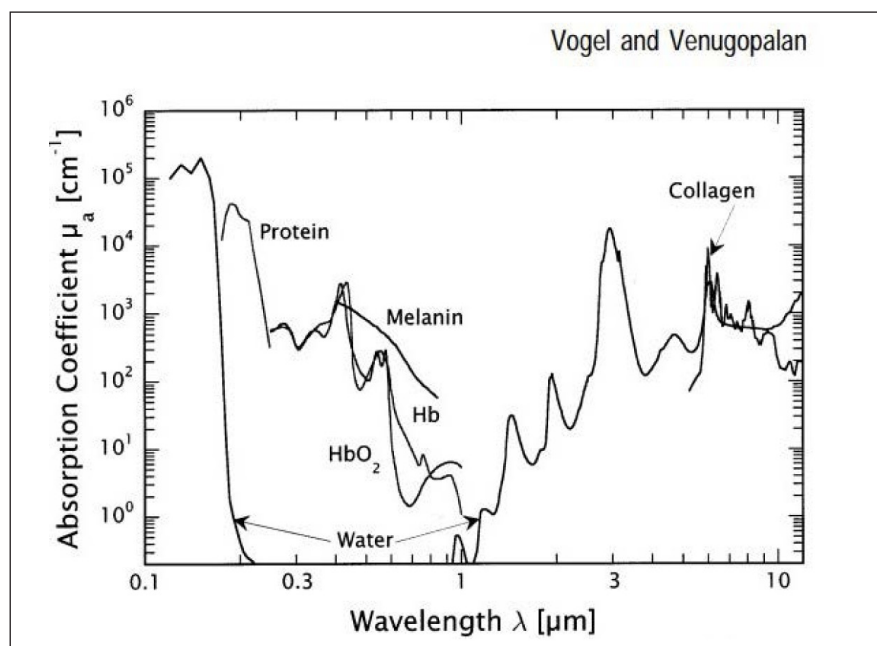


Рис. 1. Коэффициент абсорбции основных тканевых хромофоров для длин волн 100-12000 нм [14] с указанием положения лазерных линий 970 нм и 1560 нм.

Fig. 1. Absorption coefficient of the main tissue chromophores for wavelengths of 100-12000 nm [14] indicating the position of the laser lines 970 nm and 1560 nm.

соответствует 0,563 Вт/(м·К), температуропроводности – 0,147 мм²/сек.

Фантом был изготовлен из следующих компонентов:

1. Дистиллированная вода. При использовании лазерного излучения нет необходимости дегазации воды.
2. Лиофилизированный порошок БСА, служащий для детекции температурных изменений в фантоме и рассеивающего агента. Конечная концентрация БСА не менее 5%.
3. Водный 40% раствор акриламида/бисакриламида, с весовым соотношением акриламида и бисакриламида, равным 19:1. Раствор хранится при температуре от 2 до 8°C.
4. Трис/НСI буфер, 1М раствор, рН 8,0 (производитель «НПО Ренам», Россия).
5. Персульфата аммония (надсернистый аммоний) 10% раствор для полимеризации, готовится ex tempore.
6. Гемоглобин (поглощающий агент). Использована цитратная кровь в соотношении 1 часть 3,2% цитрата/9 частей цельной крови. Форменные элементы крови служат в качестве рассеивающего агента.
7. ТЕМЕД (TEMED) – полимеризующий реагент.
8. Азид натрия – консервант для фантома.

Для приготовления фантома нами была использована следующая рецептура. К 50 мл дистиллированной дегазированной воды добавляют 5 г БСА. Перемешивают до полного перехода БСА в раствор. Далее к смеси при перемешивании последовательно добавляют 17,5 мл 40% раствора акриламида/бисакриламида, 10 мл 1М трис/НСI буфера (рН 8,0) и 600 мкл 10% раствора персульфата аммония. Перемешивают до полной гомогенности. Затем добавляют цитратную кровь в количестве, зависящем от плана эксперимента, начиная от 750 мкл крови/100 мл фантома. Объем смеси доводится дистиллированной водой до 100 мл, далее при перемешивании добавляется 200 мкл ТЕМЕД, раствор переносится в круглый пластиковый контейнер. Полимеризация происходит в течение 5–10 мин. С целью предотвращения дегидратации полученный гель хранится в холодильнике в закрытой полиэтиленовой таре.

Для оценки тепловых эффектов использовали установку, включающую двухволновый лазерный аппарат ЛСП («ИРЭ-Полус», г. Фрязино), миниатюрный тепловизор в виде приставки к смартфону, цифровой термограф Т-8 на базе ноутбука с термосенсорами. Вид установки схематично изображен на рис. 2.

Фантом загружали в пластиковые контейнеры, в которые через отверстия в боковой стенке вводили световод и термосенсор (рис. 3).

Тепловизор FLIRONE PRO for IOS подключался к смартфону, на дисплее которого отображалась теп-

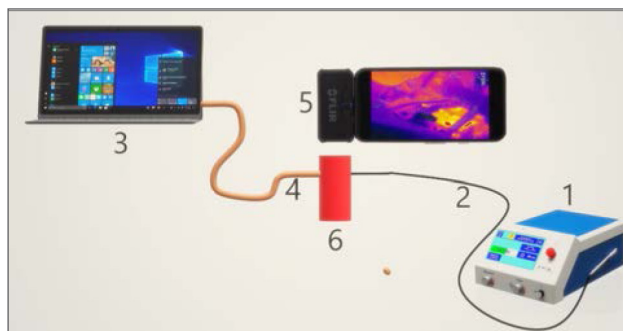


Рис. 2. Установка для изучения влияния лазерного излучения на оптический биофантом: 1 – лазерный аппарат ЛСП («ИРЭ-Полус», г. Фрязино), 2 – световод в держателе, 3 – цифровой термограф Т-8 на базе ноутбука, 4 – термосенсоры, 5 – тепловизионная приставка FLIR ONE PRO for IOS (Китай) вместе со смартфоном iphone 12, 6 – биофантом в контейнере.

Fig. 2. Installation for studying the effect of laser radiation on an optical biophantom. numbers indicate: 1 – laser device LSP («IRE-Polys», Fryazino), 2 – optical fiber in the holder, 3 – digital thermograph T-8 based on a laptop with thermal sensors – 4, 5 – thermal imaging attachment FLIR ONE PRO for IOS (China) together with an iphone 12 smartphone, 6 – a biophant in a container

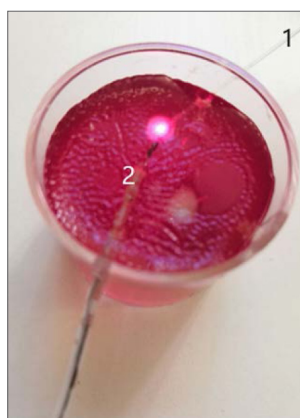


Рис. 3. Внешний вид контейнера с фантомом: в фантом введено световод (1), через торец которого наблюдается пилотное лазерное свечение; рядом с торцом установлен термосенсор (2).

Fig. 3. Appearance of the phantom container: an optical fiber (1) is introduced into the phantom, through the end of which a pilot laser glow is observed; a thermosensor (2) is installed near the end face.



Рис. 4. Внешний вид тепловизора FLIRONE PRO for IOS. Стрелка указывает на тепловизор, расположенный как приставка к смартфону над фантомом.

Fig. 4. Appearance of FLIRONE PRO for IOS thermal imager. The arrow points to a thermal imager located as a prefix to a smartphone above the phantom.

Таблица 1

Характеристики используемого лазерного излучения

Table 1

Characteristics of the laser radiation used

Длина волны (нм) Wavelength (nm)	Мощность излучения (Вт) Radiation power (W)	Время облучения (с) Irradiation time (s)	Энергия (Дж) Energy (J)
970	2	60	120
1560	2	60	120
970+1560	2	60	120

**Рис. 5.** Фантом. Стрелками показаны зоны помутнения в результате лазерного облучения.**Fig. 5.** Phantom. The arrows show the turbidity zones as a result of laser irradiation.

ловизионная картина со значениями температуры в выбранных точках, которые регистрировались в режиме фото и видео (рис. 4).

В работе использовали световод с прямым выходом излучения, режимы которого подходят для применения при гипертермии опухолей мозга (табл. 1).

Был апробирован фантом двух типов с меньшим (F1: 101 мг гемоглобина) и с большим (F2: 202 мг гемоглобина) содержанием гемоглобина. F1 представлял собой модель для низко- и умеренноваскуляризованных опухолей, F2 – модель опухоли с более развитой сосудистой сетью. Используемые режимы лазерной гипертермии отчетливо показали зоны нагрева в виде помутнения фантома. Размер зоны помутнения варьировал от 4,5 до 5,5 мм (рис. 5).

Оценку особенности процесса коагуляции биофантома и размера зоны лазерной коагуляции на длине волны 970 нм и 1560 нм проводили отдельно для каждого из излучений, либо при их сочетанном действии. Сочетанное воздействие излучения оценивали как при последовательном, так и одномоментном воздействии исследуемых длин волн (табл. 2).

Результаты

Область помутнения фантома имела овально-округлую форму. Обращало внимание, что в модели F2 лазерное излучение 970 нм создает помутнение фантома, распространяемое кпереди от кончика световолокна, тогда как у луча 1560 нм наблюдалось распространение помутнения фантома как вперед, так и кзади от кончика световолокна. Это указывает на разницу как оптических свойств фантома для разных длин волн, так и разницу во взаимодействии с хромофорами. Комбинация двух длин волн в равной пропорции демонстрировала доминирование эффектов длины волны 970 нм, что было замечено и в более ранних собственных исследованиях.

Изучение визуальных эффектов коагуляции фантома показало, что максимальная площадь зоны коагуляции при воздействии длиной волны 1560 нм достигала 141,3 мм², что в три раза больше, чем при облучении длиной волны 970 нм (площадь 47,1 мм²). Средние значения площади пятна коагуляции составили для излучения 970 нм 43,2 (39,3-47,1) мм², для волны 1560 нм – 99,4 (56,5-141,3) мм² (p=0,41). Хотя площади пятна коагуляции отличались более чем в 2 раза, статистическая разница была недостоверной, возможно из-за ограниченного числа опытов. Облучение длиной волны 1560 нм во всех случаях давало больший прогрев биофантома, что имеет важное практическое значение. Основываясь на полученных данных эксперимента, в дальнейшем было использовано облучение мощностью не более 2 Вт, с общей дозой энергии не превышающей 120 Дж.

Визуализацию результатов лазерного воздействия на биофантом в режиме реального времени осуществляли с применением флуоресцентного органоскопа «FLUM-LL» [18], обеспечивающего мультиспектральную регистрацию изображений отдельно в RGB-каналах в режимах фото и видео с разрешением 1280x1024 и с кадровой частотой 14 Гц (Sony). Хотя спектральный диапазон этой системы формально ограничен длиной волны 1000 нм, высокая яркость лазерного излучения позволяла регистрировать картину, создаваемую не только лазером 970 нм, но и ла-

Таблица 2

Результаты облучения биофантома лазерным излучением с длиной волны 970 нм и 1560 нм

Table 2

Results of irradiation of the biophantom with laser radiation with wavelengths of 970 nm and 1560 nm

Длина волны (нм) Wavelength (nm)	Мощность (Вт) Power (W)	Экспозиция (с) Exposure (s)	Энергия (Дж) Energy (J)	Зона коагуляции (мм) Coagulation zone (mm)	Площадь пятна (мм ²) Spot area (mm ²)	Эффекты коагуляции Effects of coagulation
Облучение одной длиной волны Single wavelength irradiation						
970	2	60	120	5x3	47,1	помутнение фантома clouding of the phantom
1560	2	60	120	9x5	141,3	помутнение фантома clouding of the phantom
Одновременное облучение двумя длинами волн Simultaneous irradiation with two wavelengths						
970 560	2 2 суммарно total 4	60	240	10x4	125,6	отчетливо слышны щелчки в зоне помутнения фантома clearly audible clicks in the phantom clouding zone
970 1560	1,5 0,5 суммарно total 2	60	120	5x2,5	39,3	помутнение фантома clouding of the phantom
970 1560	0,5 1,5 суммарно total 2	60	120	6x3	56,5	немного слабых щелчков в зоне помутнения фантома a few weak clicks in the phantom clouding zone
970 1560	0,5 2,5 суммарно total 3	60	150	8x4	100,5	немного слабых щелчков в зоне помутнения фантома a few weak clicks in the phantom clouding zone
Последовательное облучение биофантома Sequential biophantome irradiation						
1560 970	2 2	60 60	120 120	7x3	65,9	
970 1560	2 2	60 60	120 120	7x4 8x5 (повтор)	87,9 125,6	помутнение фантома clouding of the phantom

зером 1560 нм. Масштаб изображения контролировали с помощью пластиковой канцелярской линейки устанавливаемой в момент съемки непосредственно на фантом (рис. 6 и 7).

С точки зрения практического использования данных длин волн в хирургии глиальных опухолей мозга

важным фактором явилось плавно-равномерное нарастающее увеличение области помутнения фантома округло-овальной формы, обусловленное коагуляцией белка. Мы не наблюдали кипения, испарения фантома, образования пузырьков газа, либо появления дыма. При нагреве фантома отсутствовали какие-

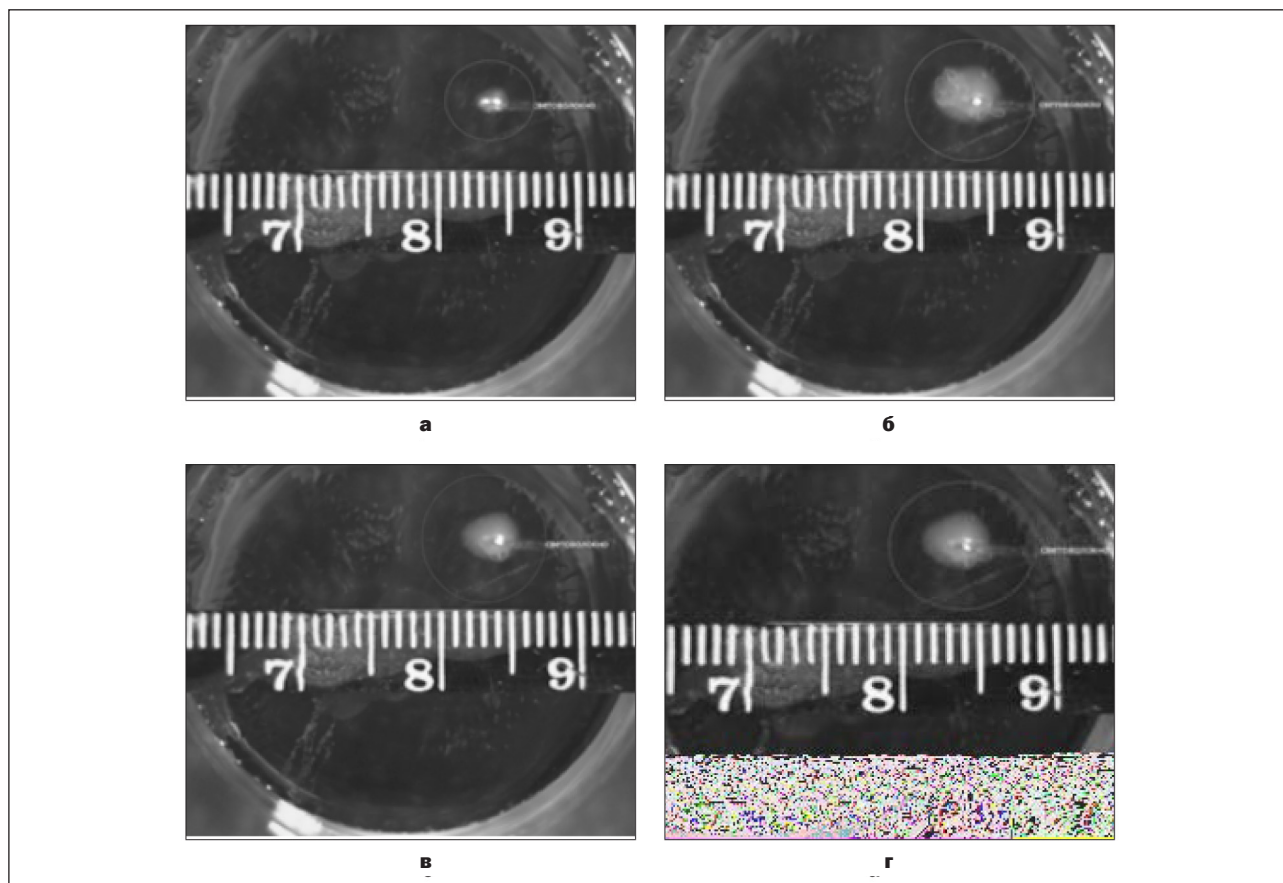


Рис. 6. Визуализация развивающейся зоны коагуляции (выделено кружком) при воздействии на участок фантома лазерным излучением 1560 нм: а – на 5 с облучения; б – на 20 с; в – на 40 с; г – на 60 с.

Fig. 6. Visualization of the developing coagulation zone (highlighted by a circle) when the phantom site is exposed to 1560 nm laser radiation: а - for 5 s of radiation; б - for 20 s; в - for 40 s; г - for 60 s.

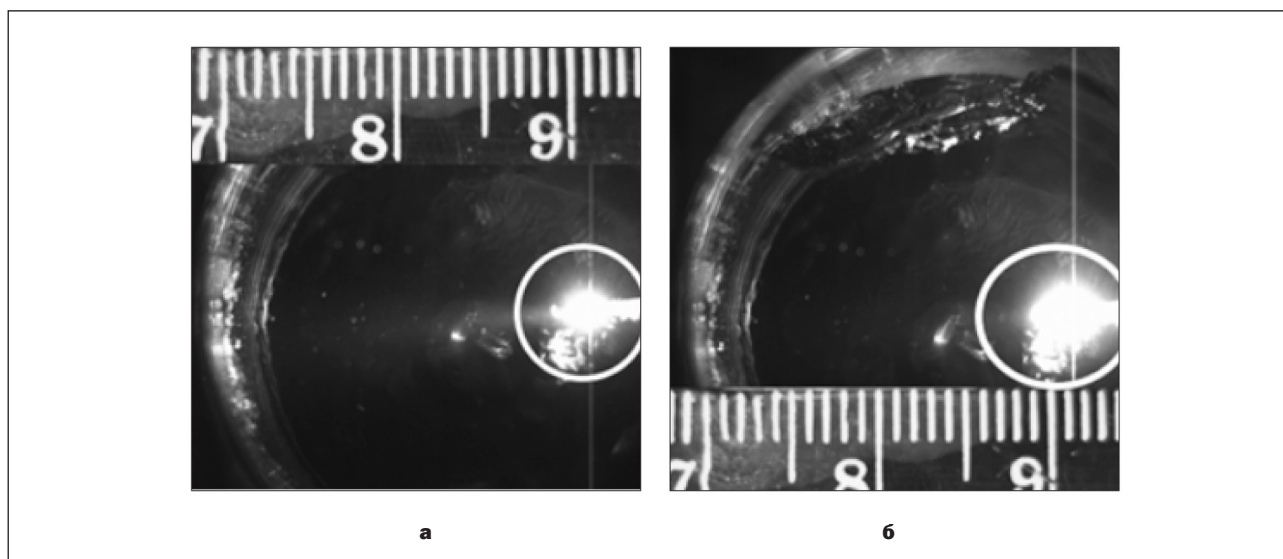


Рис. 7. Распределение лазерного излучения 970 нм в фантоме: а – 5 с воздействия; б – 60 с воздействия.

Fig. 7. Distribution of 970 nm laser radiation in the phantom: а – 5th s of exposure; б – 60th s of exposure.

либо шумы, щелчки, потрескивания и т.д. Этот факт указывает на оптимальные показатели лазерного излучения для плавного повышения температуры до 82,8°C с точки зрения безопасности для использования в хирургии опухолей мозга.

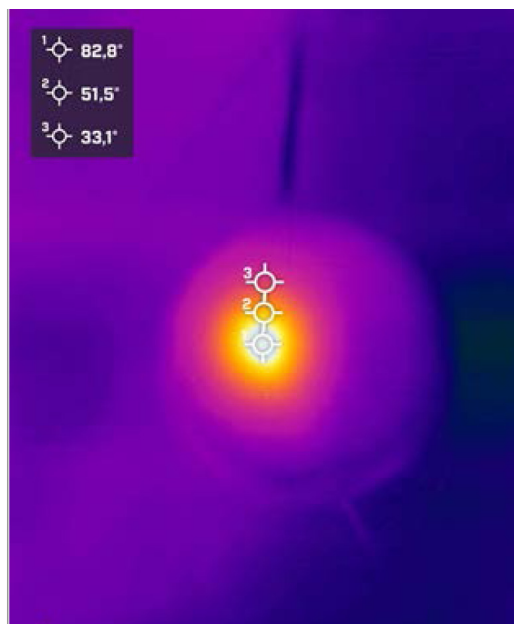


Рис. 8. Тепловизионное изображение участка фантома. Параметры температуры в 3 точках фантома на 60 с облучения длиной волны 1560 нм: 82,8°C у кончика световолокна; 51,5°C на расстоянии 2 мм и 33,1°C на расстоянии 4 мм от кончика световолокна.
Fig. 8. Thermal imaging of the phantom site. Temperature parameters in 3 points of the phantom on the 60th with exposure to a wavelength of 1560 nm: 82.8°C at the tip of the fiber; 51.5°C at a distance of 2 mm and 33.1°C at a distance of 4 mm from the tip of the fiber.

Термометрия

Измерение и распределение температуры в фантоме в результате лазерного облучения осуществляли как с помощью термосенсора, расположенного вблизи от кончика световолокна, так и с помощью тепловизионной приставки к смартфону FLIR ONE PRO for IOS, закрепляемой над фантомом (см. рис. 4). Тепловизионная приставка позволяла оценивать распределение температуры в различных частях фантома путем регистрации картины излучения объекта в инфракрасной области. Таким образом, имела возможность одновременной регистрации температуры в режиме реального времени как с помощью термосенсора, фиксируемого на расстоянии 3 мм от торца световода, так и в трех точках тепловизионного изображения, выбираемых на расстоянии около 2 мм одна от другой. Пример тепловизионной картины распределения температуры и результаты ее оценки в 3 точках вблизи торца световолокна в конце 60 с облучения лазером показан на рис. 8. Температура, равная 82,8°C в центре облучения, указывала на коагуляцию в данной зоне. Такой градиент температуры от кончика световолокна коррелирует с данными литературы термометрии *ex vivo* [19].

Динамические измерения температуры фантома F1 у кончика световолокна с помощью цифрового термографа, выполненные в постоянном режиме облучения на длине волны 1560 нм, установили относительно быстрое ее повышение в первые 10 с. После 20 с температура слабо изменялась, составляя в среднем 71,8°C (рис. 9).

При облучении фантома F1 (с меньшей концентрацией гемоглобина) лазером с длиной волны 970 нм была получена менее динамичная и меньшая темпе-

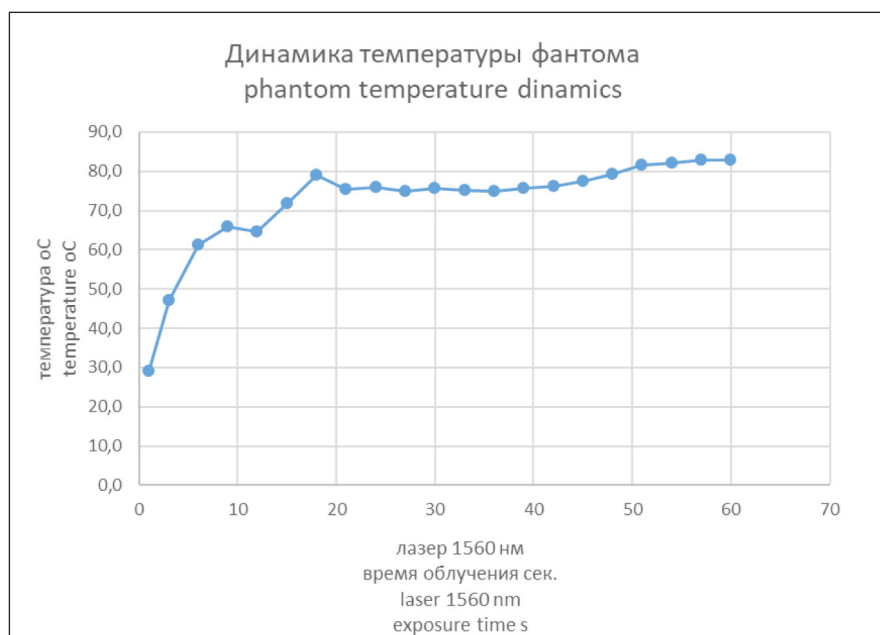


Рис. 9. Динамика температуры фантома при лазерном облучении на длине волны 1560 нм, мощность 2 Вт.
Fig. 9. The temperature dynamics of the phantom under irradiation with a 1560 nm laser, 2 W power.

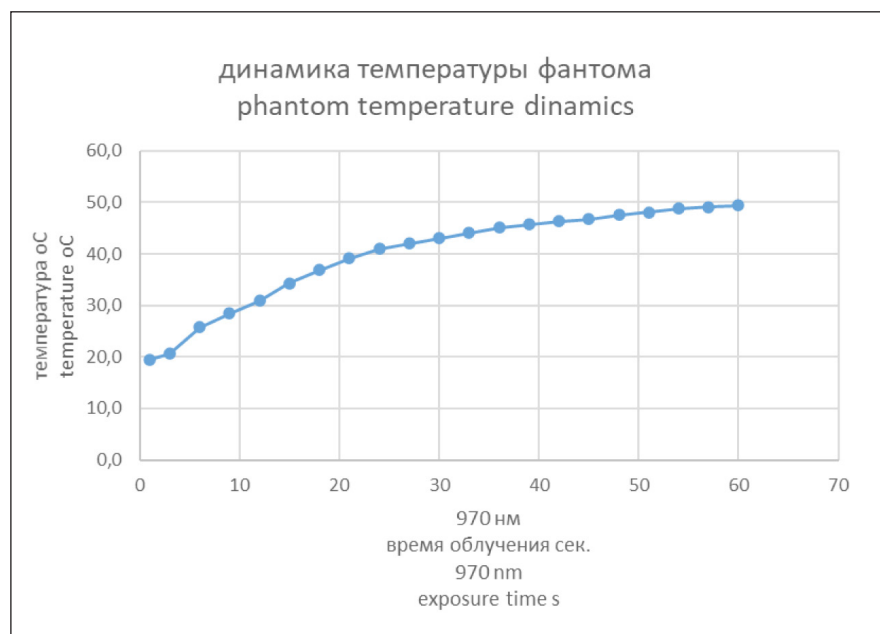


Рис. 10. Динамика температуры фантома при лазерном облучении на длине волны 970 нм, мощность 2 Вт.

Fig. 10. The temperature dynamics of the phantom under irradiation with a 970 nm laser, 2 W power.

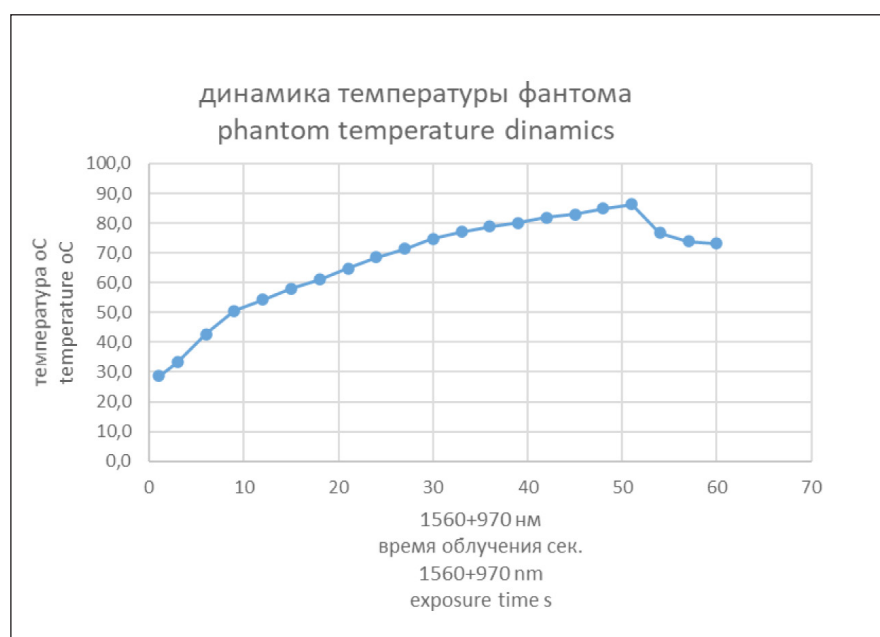


Рис. 11. Динамика температуры фантома у кончика световолокна, при синхронном облучении лазером волнами длиной 1560 нм и 970 нм.

Fig. 11. The temperature dynamics of the phantom at the tip of the optical fiber, during synchronous irradiation with a laser of 1560 nm and 970 nm.

ратура нагрева фантома. За 60 с она плавно возросла от комнатной температуры до 50°C (рис. 10).

При облучении фантома комбинацией волн длиной 1560 нм и 970 нм с суммарной мощностью 2 Вт также наблюдался плавный подъем температуры, напоминающий ход кривой для волны 970 нм, но достигающий более высокого уровня (88°C) с некоторым ее снижением после 50 с облучения. Средняя температура во время облучения составила 66,9°C (рис. 11).

Неравномерность нагрева фантома, наблюдаемую при облучении на длине волны 1560 нм или комбинацией излучения с длиной волны 970 нм и 1560 нм

можно объяснить фазовым переходом вещества второго типа вследствие нагрева.

Обсуждение

Таким образом, видеозапись камерой процесса лазерного облучения в реальном времени визуально продемонстрировала процесс гипертермии фантома, как модели опухоли мозга. Получены подтверждения плавности нагрева, безопасного достижения температур коагуляции используемых режимов и дозы лазерного излучения. Отсутствие кипения фантома, образования газа и дыма указывает на то, что темпе-

ратурный показатель в зоне взаимодействия фантома и лазерного луча составляет менее 100°C, что поддерживается в методологии гипертермии опухолей мозга. Этот факт также подтвержден нами в эксперименте с прямым измерением температуры термосенсорами и тепловизором. Данное исследование показало различия использования излучения на двух длинах волны в температурных эффектах, размерах зон коагуляции, особенностях распространения зоны коагуляции по отношению к кончику световолокна. Все эти эффекты мы наблюдали с фантомом F1, содержащим меньшую концентрацию гемоглобина и используемым как модель слабо- или умеренноваскуляризированной опухоли. Фантом F2 с большим содержанием гемоглобина демонстрировал коагуляцию лишь непосредственно вблизи кончика световолокна. Эти особенности взаимодействия следует учитывать при планировании операции, хорошо визуализируя участки опухоли с гипervasкуляризацией.

Оба метода измерения температуры демонстрировали плавный ее подъем во время облучения. Чем дальше от кончика световолокна располагался датчик термодпары или точка измерения температуры у тепловизора, тем меньше была температура. Разница измерений температуры термодпарой и тепловизором достигала 7°C. Эту незначительную погрешность измерения двумя различными методами можно объяснить тем, что термодпара измеряет температуру внутри фантома, а тепловизор – с его поверхности [20]. Поэтому при фиксации температуры тепловизором мы располагали световолокно на глубине 1 мм от поверхности фантома.

Работа выполнена на двух типах фантомов, отличающихся по концентрации гемоглобина. Такой выбор сделан в связи с тем, что мы считаем важным разделять эффекты воздействия лазера на опухоли с разной степенью васкуляризации, что обусловлено различиями в уровне гемоглобина в опухолях. Различия в кровоснабжении требуют дифференцированного подхода к практическому применению методологии лазерной гипертермии. Разработаны и апробированы методы фиксации температуры в фантоме во время лазерного облучения. На основании показателей температуры установлено, что при использовании реальных рабо-

чих режимов температура не превышает 83°C, не достигает точки кипения, испарения фантома. Это подтверждает мягкость и безопасность данных режимов в достижении коагуляции опухоли. Несмотря на тот факт, что в фантоме, в отличие от опухоли, отсутствует микроциркуляция, данная работа позволила выявить отличия во взаимодействии с фантомом используемых двух длин волн. Полученные результаты подтверждают правильность выбранных режимов интерстициального лазерного облучения в малоинвазивной гипертермии внутримозговых опухолей.

Заключение

Зона нагрева волной 1560 нм всегда больше по размерам, чем при облучении 970 нм. Использование мощности облучения более 2 Вт, с одной стороны, увеличивает зону коагуляции, но при этом появляются слышимые щелчки, что говорит об абляции фантома, вскипании вследствие повышения температуры свыше 100°C. Поэтому превышение мощности интерстициального лазерного излучения более 2 Вт нецелесообразно, поскольку может быть сопряжено с нежелательными эффектами в опухолевой ткани и окружающей мозговой ткани и её сосудах. При суммарном облучении двумя волнами, зона коагуляции тем больше, чем больше мощность излучения 1560 нм. Результат коагуляции при последовательном облучении биофантома мало зависит от очередности выбранной длины волны. Нужно учитывать, что при облучении волной 970 нм зона коагуляции частично распространяется кзади от кончика световолокна, при длине 1560 нм практически вся зона коагуляции возникает кпереди от кончика волокна. Это указывает на различия во взаимодействии и в оптических свойствах этих двух длин волн по отношению к фантому. Излучение 970 нм меньше распространяется вперед, демонстрируя меньшую проникающую способность в фантоме. Распространение коагуляции кзади от кончика световолокна является следствием преобладания отражения света или движения тепловой энергии кзади. Все эти различия в распространении зоны коагуляции, динамики температуры важно учитывать как при планировании лечения, так и при практическом применении технологии малоинвазивной гипертермии внутримозговых опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mohammadi A., Bianchi L., Asadi S., Saccomandi P. Measurement of Ex Vivo Liver, Brain and Pancreas Thermal Properties as Function of Temperature // *Sensors (Basel)*. – 2021. – Vol. 21(12). – P. 4236. doi: 10.3390/s21124236
2. Ahmed M., Brace C.L., Fred T Lee Jr. F.T., Goldberg S.N. Principles of and advances in percutaneous ablation // *Radiology*. – 2011. – Vol. 258(2). – P. 351-69. doi: 10.1148/radiol.10081634
3. Franzini A., Moosa S., Servello D., Small I., DiMeco F., Xu Z., Elias W.J., Franzini A., Prada F. Ablative brain surgery: an overview // *Int. J. Hypertherm.* – 2019. – Vol. 36. – P. 64–80. doi:10.1080/02656736.2019.1616833

REFERENCES

1. Mohammadi A., Bianchi L., Asadi S., Saccomandi P. Measurement of Ex Vivo Liver, Brain and Pancreas Thermal Properties as Function of Temperature. *Sensors (Basel)*, 2021, vol. 21(12), pp. 4236. doi: 10.3390/s21124236
2. Ahmed M., Brace C.L., Fred T Lee Jr. F.T., Goldberg S.N. Principles of and advances in percutaneous ablation. *Radiology*, 2011, vol. 258(2), pp. 351-69. doi: 10.1148/radiol.10081634
3. Franzini A., Moosa S., Servello D., Small I., DiMeco F., Xu Z., Elias W.J., Franzini A., Prada F. Ablative brain surgery: an overview. *Int. J. Hypertherm.*, 2019, vol. 36, pp. 64–80. doi: 10.1080/02656736.2019.1616833

4. Geoghegan R., Ter Haar G., Nightingale K., Marks L., Natarajan S. Methods of monitoring thermal ablation of soft tissue tumors - A comprehensive review // *Med. Phys.* – 2022. – Vol. 49(2). – P. 769-791. doi: 10.1002/mp.15439
5. Chen C., Lee I., Tatsui C., Elder T., Sloan A.E. Laser interstitial thermotherapy (LITT) for the treatment of tumors of the brain and spine: a brief review // *J. of Neuro-Oncology*. – 2021. – Vol. 151. – P. 429–442. doi: 10.1007/s11060-020-03652-z
6. Lagman C., Chung L.K., Pelargos P.E., Ung N., Bui T.T., Lee S.J., Voth B.L., Yang I. Laser neurosurgery: A systematic analysis of magnetic resonance-guided laser interstitial thermal therapies // *J. Clin. Neurosci.* – 2017. – Vol. 36. – P. 20–26. doi: 10.1016/j.jocn.2016.10.019
7. Острейко О.В., Можаяев С.В. Способ лечения глиальных опухолей головного мозга супратенториальной локализации // Патент РФ на изобретение №2533032 от 16.09.2014.
8. Eranki A., Mikhaila A.S., Negussie A.H., Prateek S.K., Wooda B.J., Partanen A. Tissue-mimicking thermochromic phantom for characterization of HIFU devices and applications // *International Journal of Hyperthermia*. – 2019. – Vol. 36(1). – P. 518–529. doi: 10.1080/02656736.2019.1605458
9. Negussie A.H., Partanen A., Mikhail A.S., Xu S., Abi-Jaoudeh N., Maruvada S., Wood B.J. Thermochromic tissue-mimicking phantom for optimisation of thermal tumour ablation // *Int. J. Hyperthermia*. – 2016. – Vol. 32(3). – P. 239–43. doi: 10.3109/02656736.2016.1145745
10. Dabbagh A., Jeet Abdullah B.J., Abu Kasim N.H., Ramasindarum C. Reusable heat-sensitive phantom for precise estimation of thermal profile in hyperthermia application // *Int. J. Hyperthermia*. – 2014. – Vol. 30(1). – P. 66–74. doi: 10.3109/02656736.2013.854930
11. Bazrafshan B., Hubner F., Farshid P., Larson M.C., Vogel V., Mantele W., Vogl T.J. A liver-mimicking MRI phantom for thermal ablation experiments // *Med. Phys.* – 2011. – Vol. 38. – P. 2674–84. doi: 10.1118/1.3570577
12. Davidson S.R.H., Sherar M.D. Measurement of the thermal conductivity of polyacrylamide tissue-equivalent material // *Int. J. Hyperthermia*. – 2003. – Vol. 19(5). – P. 551–62. doi: 10.1080/02656730310001607995
13. Ningrum E.O., Purwanto A., Rosita G.C., Bagus A. The Properties of Thermosensitive Zwitterionic Sulfobetaine NIPAM-co-DMAAPS Polymer and the Hydrogels: The Effects of Monomer Concentration on the Transition Temperature and Its Correlation with the Adsorption Behavior // *Indones. J. Chem.* – 2020. – Vol. 20 (2). – P. 324–335. doi: 10.22146/ijc.41499
14. Vogel A., Venugopalan V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues // *Chem. Rev.* – 2003. – Vol. 103. – P. 577–644. doi: 10.1021/cr030683b
15. Minton J.A., Iravani A., Yousefi A. Improving the homogeneity of tissue-mimicking cryogel phantoms for medical imaging // *Med. Phys.* – 2012. – Vol. 39(11). – P. 6796–807. doi: 10.1118/1.4757617
16. Guntur S.R., Choi M.J. An improved tissue-mimicking polyacrylamide hydrogel phantom for visualizing thermal lesions with high-intensity focused ultrasound // *Ultrasound in med. and biol.* – 2014. – Vol. 40(11). – P. 2680–2691. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.06.010
17. Welch A.J., Gemert M.J.C. Optical-thermal response of laser-irradiation tissue. // Springer. – 2011. – 947 p. doi:10.1007/978-90-481-8831-4
18. Kang U.K., Папаян Г.В., Березин И.Б., Jin Bae-Soo, Kim C.B., Петрищев Н.Н. Мультиспектральные флуоресцентные органоскопы для прижизненных исследований лабораторных животных и их органов // *Оптический журнал*. – 2011. – Vol. 78(9). – P. 82–90.
19. Korganbayev S., Orrico A., Bianchi L., De Landro M., Wolf A., Dostovalov A., Saccomandi P. Closed-Loop Temperature Control Based on Fiber Bragg Grating Sensors for Laser Ablation of Hepatic Tissue // *Sensors* 2020. – Vol. 20(22). – P. 6496. doi.org/10.3390/s20226496
20. Manns F., Milne P.J., Gonzalez-Cirre X., Denham, D.B., Parel J., Robinson D.S. In situ temperature measurements with thermocouple probes during laser Interstitial thermotherapy (LITT): quantification and correction of a measurement artifact // *Lasers Surg. Med.* – 1998. – Vol. 23(2). – P. 94–103. doi: 10.1002/(sici)1096-9101(1998)23:2<94::aid-lsm7>3.0.co;2-q
4. Geoghegan R., Ter Haar G., Nightingale K., Marks L., Natarajan S. Methods of monitoring thermal ablation of soft tissue tumors - A comprehensive review. *Med. Phys.*, 2022, vol. 49(2), pp.769-791. doi: 10.1002/mp.15439
5. Chen C., Lee I., Tatsui C., Elder T., Sloan A.E. Laser interstitial thermotherapy (LITT) for the treatment of tumors of the brain and spine: a brief review. *J. of Neuro-Oncology*, 2021, vol. 151, pp. 429–442. doi: 10.1007/s11060-020-03652-z
6. Lagman C., Chung L.K., Pelargos P.E., Ung N., Bui T.T., Lee S.J., Voth B.L., Yang I. Laser neurosurgery: A systematic analysis of magnetic resonance-guided laser interstitial thermal therapies. *J. Clin. Neurosci.*, 2017, vol. 36, pp. 20–26. doi: 10.1016/j.jocn.2016.10.019
7. Ostreyko O.V., Mozhaev S.V. Way of treatment of glial tumors of a brain of supratentorial localization. Patent of the Russian Federation for invention No. 2533032 of 16.09.2014.
8. Eranki A., Mikhaila A.S., Negussie A.H., Prateek S.K., Wooda B.J., Partanen A. Tissue-mimicking thermochromic phantom for characterization of HIFU devices and applications, *International Journal of Hyperthermia*, 2019, vol. 36(1), pp. 518–529. doi: 10.1080/02656736.2019.1605458
9. Negussie A.H., Partanen A., Mikhail A.S., Xu S., Abi-Jaoudeh N., Maruvada S., Wood B.J. Thermochromic tissue-mimicking phantom for optimisation of thermal tumour ablation. *Int. J. Hyperthermia*, 2016, vol. 32(3), pp. 239–43. doi: 10.3109/02656736.2016.1145745
10. Dabbagh A., Jeet Abdullah B.J., Abu Kasim N.H., Ramasindarum C. Reusable heat-sensitive phantom for precise estimation of thermal profile in hyperthermia application. *Int. J. Hyperthermia*, 2014, vol. 30(1), pp. 66–74. doi: 10.3109/02656736.2013.854930
11. Bazrafshan B., Hubner F., Farshid P., Larson M.C., Vogel V., Mantele W., Vogl T.J. A liver-mimicking MRI phantom for thermal ablation experiments. *Med. Phys.*, 2011, vol. 38, pp. 2674–84. doi: 10.1118/1.3570577
12. Davidson S.R.H., Sherar M.D. Measurement of the thermal conductivity of polyacrylamide tissue-equivalent material. *Int. J. Hyperthermia*, 2003, vol. 19(5), pp. 551–62. doi: 10.1080/02656730310001607995
13. Ningrum E.O., Purwanto A., Rosita G.C., Bagus A. The Properties of Thermosensitive Zwitterionic Sulfobetaine NIPAM-co-DMAAPS Polymer and the Hydrogels: The Effects of Monomer Concentration on the Transition Temperature and Its Correlation with the Adsorption Behavior. *Indones. J. Chem.*, 2020, vol. 20 (2), pp. 324–335. doi: 10.22146/ijc.41499
14. Vogel A., Venugopalan V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. *Chem. Rev.*, 2003, vol. 103, pp. 577–644. doi:10.1021/cr030683b
15. Minton J.A., Iravani A., Yousefi A. Improving the homogeneity of tissue-mimicking cryogel phantoms for medical imaging. *Med. Phys.*, 2012, vol. 39(11), pp. 6796–807. doi: 10.1118/1.4757617
16. Guntur S.R., Choi M.J. An improved tissue-mimicking polyacrylamide hydrogel phantom for visualizing thermal lesions with high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound in med. and biol.*, 2014, vol. 40(11), pp. 2680–2691. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.06.010
17. Welch A.J., Gemert M.J.C. Optical-thermal response of laser-irradiation tissue. *Springer*, 2011, 947 p. https://doi:10.1007/978-90-481-8831-4
18. Kang U.K., Papayan G.V., Berezin I.B., Jin Bae-Soo, Kim S.V., Petrishchev N.N. Multispectral fluorescent organoscopes for in vivo studies of laboratory animals and their organs. *Optical Journal*, 2011, vol. 78(9), pp. 82–90. (in Russ.). OCIS codes: 170.0170, 170.3880, 170.3890, 170.4580
19. Korganbayev S., Orrico A., Bianchi L., De Landro M., Wolf A., Dostovalov A., Saccomandi P. Closed-Loop Temperature Control Based on Fiber Bragg Grating Sensors for Laser Ablation of Hepatic Tissue. *Sensors* 2020, vol. 20(22), 6496. doi: 10.3390/s20226496
20. Manns F., Milne P.J., Gonzalez-Cirre X., Denham, D.B., Parel J., Robinson D.S. In situ temperature measurements with thermocouple probes during laser Interstitial thermotherapy (LITT): quantification and correction of a measurement artifact. *Lasers Surg. Med.*, 1998, vol. 23(2), pp. 94–103. doi: 10.1002/(sici)1096-9101(1998)23:2<94::aid-lsm7>3.0.co;2-q

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ МОНОКАТИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО ХЛОРИНА е6 – ПЕРСПЕКТИВНОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ АНТИМИКРОБНОЙ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Н.Ю. Жидоморов¹, О.А. Назаренко¹, В.И. Демидов¹, А.В. Кустов^{2,3}, Н.В. Кукушкина^{2,3},
О.И. Койфман^{2,3}, А.К. Гагуа⁴, И.К. Томилова¹, Д.Б. Березин³

¹Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

²Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук, Иваново, Россия

³«Ивановский государственный химико-технологический университет», НИИ Макрогетероциклов, Иваново, Россия

⁴«Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии» ФМБА, Москва, Россия

Резюме

На белых крысах изучены особенности острой токсичности химически модифицированного производного природного пигмента хлорофилла а монокатионного хлорина е6 – перспективного фотосенсибилизатора (ФС) для антимикробной и противоопухолевой фотодинамической терапии. Преимуществами ФС являются интенсивное поглощение в длинноволновой области видимого спектра, достаточно высокий квантовый выход генерации синглетного кислорода, выраженные амфифильные свойства наряду с хорошей растворимостью в воде и высокий уровень фототоксичности в отношении как злокачественных клеток линии *HeLa*, так и антибиотикорезистентных госпитальных штаммов бактерий *E. coli*, *P. Aeruginosa* и других. Величина ЛД₅₀ для монокатионного хлорина е6 составляет 100 мг/кг массы тела. В воспроизведенной экспериментальной модели острой токсичности патоморфологические изменения жизненно важных органов лабораторных животных свидетельствуют о выраженном вазопатическом действии препарата с развитием отека головного мозга и респираторного дистресс-синдрома, ставшими основными звеньями танатогенеза.

Ключевые слова: антимикробная фотодинамическая терапия, противоопухолевая фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, хлорины, острая токсичность.

Для цитирования: Жидоморов Н.Ю., Назаренко О.А., Демидов В.И., Кустов А.В., Кукушкина Н.В., Койфман О.И., Гагуа А.К., Томилова И.К., Березин Д.Б. Исследование острой токсичности монокатионного производного хлорина е6 – перспективного фотосенсибилизатора для антимикробной и противоопухолевой фотодинамической терапии // Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 23–32. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-2-23-32.

Контакты: Березин Д.Б., e-mail: berezin@isuct.ru

STUDY OF ACUTE TOXICITY OF MONOCATIONIC CHLORIN e6 DERIVATIVE, A PERSPECTIVE PHOTOSENSITIZER FOR ANTIMICROBIAL AND ANTITUMOR PHOTODYNAMIC THERAPY

Zhidomarov N.Yu.¹, Nazarenko O.A.¹, Demidov V.I.¹, Kustov A.V.^{2,3}, Kukushkina N.V.^{2,3},
Koifman O.I.^{2,3}, Gagua A.K.⁴, Tomilova I.K.¹, Berezin D.B.³

¹Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia

²G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russia

³Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Research Institute of Macrocyclics, Ivanovo, Russia

⁴National Medical Research Center for Otorhinolaryngology of the Federal Medico-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

Abstract

In this experimental work the acute toxicity of a chemically modified derivative of the natural pigment chlorophyll a called monocationic chlorin e6, which is a promising photosensitizer (PS) for antimicrobial and antitumor photodynamic therapy, was studied using white rats. The advantages of the PS under investigation are an intense absorption in the long-wavelength region of the visible spectrum, a sufficiently high quantum yield of singlet oxygen generation, pronounced amphiphilic properties along with an appropriate solubility in water, and a high level of photocytotoxicity in relation to both malignant *HeLa* cells and antibiotic-resistant hospital strains of *E. coli* bacteria, *P. aeruginosa* and others. It has been shown that the value of LD_{50} of the considered PS can be calculated as the value of 100 mg/kg. In the reproduced experimental model of acute toxicity, pathomorphological changes in the vital organs of laboratory animals indicate a pronounced vasopathic effect of the drug with the development of cerebral edema and respiratory distress syndrome, which have become the main signs of thanatogenesis.

Key words: antimicrobial photodynamic therapy, antitumor photodynamic therapy, photosensitizer, chlorins, acute toxicity.

For citations: Zhidomarov N.Yu., Nazarenko O.A., Demidov V.I., Kustov A.V., Kukushkina N.V., Koifman O.I., Gagua A.K., Tomilova I.K., Berezin D.B. Study of acute toxicity of monocationic chlorin e6 derivative, a perspective photosensitizer for antimicrobial and antitumor photodynamic therapy, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 2, pp. 23–32. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-2-23-32.

Contacts: Berezin D.B., e-mail: berezin@isuct.ru

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой высокотехнологичный малоинвазивный подход к лечению широкого спектра онкологических заболеваний и локализованных микробных инфекций, который может использоваться как самостоятельно, так и в комплексе с хирургическим методом, лекарственной и лучевой терапией [1–14]. Важными преимуществами ФДТ, кроме ее низкой инвазивности, являются отсутствие резистентности опухолевых и микробных клеток к проводимому лечению, а также способность ФДТ вызывать иммунный ответ организма [2, 4, 5, 9, 11].

Метод основан на селективном накоплении в малигнизированных и микробных клетках малотоксичных пигментов – фотосенсибилизаторов (ФС), способных под действием видимого света взаимодействовать с молекулярным кислородом 3O_2 , запуская каскад фотохимических реакций. Это приводит к эффективной генерации активных форм кислорода (АФК) и уничтожению патогенных микроорганизмов или опухолевых клеток [1–3, 10–15]. В зависимости от природы ФС генерация АФК может протекать по одному из двух механизмов: с образованием синглетного кислорода 1O_2 или кислородсодержащих радикальных частиц, в частности, $OH^\bullet$ и $O_2^{\bullet-}$ [1, 11, 15]. Люминесцентное красное свечение малигнизированной ткани под действием видимого излучения в результате селективного накопления в ней ФС применяется для флуоресцентной диагностики (ФД) опухолей [7, 12].

К настоящему времени в клинической практике применяется целый ряд ФС для диагностики и лечения пациентов с онкологическими заболеваниями и бактериальными инфекциями [1, 6, 8, 11, 16]. Большинство из ФС представляют собой макрогетероциклические соединения класса порфиринов, фталоцианинов, хлоринов или бактериохлоринов [16–20], а также ряд производных 5-аминолевулиновой кислоты. Важно отметить, что практически все создан-

ные ранее препараты для ФДТ, ориентированные на борьбу с онкологическими заболеваниями, содержат в составе молекул заместители неионогенной или анионной природы [11, 21].

Исследования последних лет направлены, прежде всего, на разработку и тестирование новых более эффективных ФС третьего поколения [12, 22]. Основными современными требованиями к ФС помимо интенсивного поглощения видимого излучения в области «терапевтического окна» биологических тканей (600–850 нм) и эффективной генерации АФК являются хороший гидрофильно-липофильный баланс, предполагающий одновременную водо- и жирорастворимость (амфифильность) ФС, невысокая стоимость, устойчивость лекарственных форм при хранении и, что наиболее важно, низкая темновая и выраженная фотоцитотоксичность препаратов.

Проведение антимикробной ФДТ предъявляет к ФС ряд специфических требований, основным из которых является наличие в структуре молекулы одной или нескольких катионных групп, положительный заряд которых существенно повышает аффинность препаратов к клеточной стенке микроорганизмов, в первую очередь грамотрицательных патогенных бактерий [9–12, 23], поскольку используемые для противоопухолевой ФДТ препараты оказались малоэффективными при фотоинаktivации грамотрицательных микроорганизмов [11].

Ранее нами была проведена серия систематических мультидисциплинарных исследований по получению и исследованию растворимых в воде или в водных растворах поверхностно-активных веществ (ПАВ) ФС порфиринового и хлоринового ряда. Работы включали синтез ФС, оценку генерации ими синглетного кислорода [24–26], определение растворимости, гидрофильно-липофильного баланса и изучение взаимодействия ФС с потенциальными носителями на основе биосовместимых полимеров и мицеллярных ПАВ

[27–32]. Также изучалась темновая и фотоиндуцированная токсичность препаратов *in vitro* и *in vivo* в отношении опухолевых клеток и условно патогенных штаммов микроорганизмов [14, 25, 26, 33, 34]. В ходе проведенных исследований было показано, что ФС с катионными группами обладают выраженной фототоксичностью в отношении грамотрицательной бактериальной микрофлоры [27, 28, 33, 34] как *in vitro*, так и *in vivo*. Было установлено, что монокатионные производные хлорина е6 позволяют эффективно инактивировать культуры опухолевых клеток *in vitro* [12, 35], в то время как трикатионные хлорины обладают слабым цитотоксическим действием.

Наилучшим сочетанием характеристик по совокупности перечисленных выше требований обладают несколько изученных соединений, в частности, монокатионное производное хлорина е6 (соединение I). Этот ФС достаточно хорошо растворим в бидистиллированной воде (более 1 ммоль/кг при 25°C), а в водных растворах потенциальных средств доставки – Твин 80 или поливинилпирролидона (ПВП), его растворимость возрастает в несколько раз. Он обладает интенсивным поглощением в красной области спектра (660 нм) и в неводных средах эффективно генерирует синглетный кислород с величиной квантового выхода ~0,6 [27], обладает хорошим гидрофильно-липофильным балансом с коэффициентом распределения в системе «1-октанол/фосфатно-солевой буфер», равным $8,6 \pm 0,2$ при температуре 298 К [27, 29], достаточно прочно связывается с мицеллами неионогенного ПАВ Твин 80 ($K_b = 4,57 \pm 0,22$ в области концентраций ФС ~0,01 ммоль/кг), локализуясь преимущественно вблизи поверхности мицелл [30, 31], а также обладает выраженным фотоиндуцированным противоопухолевым (в отношении клеток *HeLa in vitro*) [35] и антимикробным действием в отношении как грамположительной (*St. aureus*), так и грамотрицательной (*E. coli*) патогенной флоры *in vitro* [27, 33].

Индекс выживаемости (%) раковых клеток *HeLa in vitro* при содержании ФС 1 мкмоль/л после облучения красным светом (660 нм, доза 12 Дж/см²) составил лишь $3,71 \pm 0,11$ [33], что свидетельствует о выраженной фотоиндуцированной противоопухолевой активности препарата. Авторами была показана фототоксичность соединения I в отношении музейных штаммов микроорганизмов [25, 31], причем при концентрации микробных клеток 10^3 КОЕ и облучении их красным светом (660 нм, $C_{\text{ФС}} = 50$ мкмоль/л) в дозе 40 Дж/см² была достигнута полная инактивация грамположительной микрофлоры (*St. aureus*), тогда как количество грамотрицательных бактерий (*E. coli*) не снижалось. Использование добавок, способствующих дестабилизации внешней мембраны микроорганизмов (Твин 80, трилон Б) и/или увеличение концентрации ФС приводило к полной фотоинактивации микробов в ходе эксперимента [25].

Результаты проведенных исследований показывают, что соединение I имеет хороший потенциал для использования в качестве ФС для ФДТ. Это диктует необходимость изучения эффектов, связанных с токсическим воздействием препарата на живой организм в целом, его органы и системы. Проведенные ранее исследования указывают на крайне низкую токсичность анионных ФС для ФДТ на основе хлорина е6 [8, 21, 22, 31]. В частности, один из наиболее часто используемых ФС хлоринового ряда фотолон имеет величину летальной дозы ЛД₅₀ порядка 180 мг/кг массы тела, что в 100 раз выше обычно используемых доз при проведении ФДТ [21]. Однако наличие в соединении I катионной группы может заметно увеличить цитотоксичность ФС. Таким образом, информация об особенностях его воздействия на организм крайне необходима для проведения дальнейших доклинических испытаний препарата. Целью настоящей работы является изучение острой токсичности ФС, оценка величины ЛД₅₀ и исследование механизмов танатогенеза монокатионного хлорина е6.

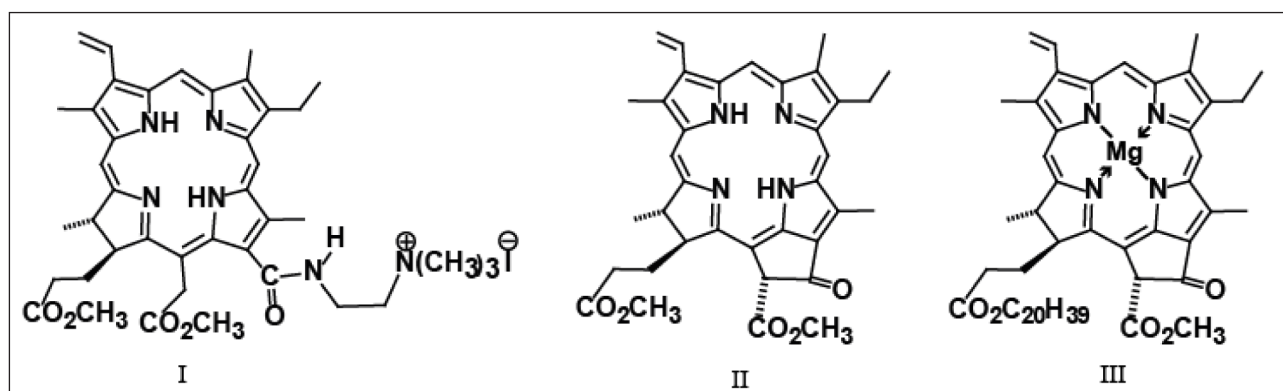


Рис. 1. Объект исследования и природные источники хлорина е6: I – хлорин е6 13(1)-N-(2-N,N,N'-триметиламмониетил) амид 15(2), 17(3)-диметилэфир (соединение I); II – метилфеофорбид а; III – хлорофилл а.

Fig. 1. Objects of study and natural sources of chlorin e6: I – chlorin e6 13(1)-N-(2-N,N,N'-trimethylammonioethyl) amide-15(2),17(3)-dimethyl ester (comp. I); II – methylpheophorbide a; III – chlorophyll a.

Материалы и методы

Синтез хлорина (соединение I) осуществлялся из метилфеофорбида а (соединение II) по описанной двухстадийной методике [25, 33, 34]. Метилфеофорбид а получали путем деметаллирования и частичного кислотного гидролиза хлорофилла а (соединение III), экстрагированного из цианобактерии *Spirulina Platensis* [35]. Чистота полученного конечного продукта массой более 500 мг спектрально идентифицированного методами ядерного магнитного резонанса (^1H ЯМР, Bruker 500 Avance III) и масс-спектрометрии (МАЛДИ, MALDI-TOF Shimadzu Axima Confidence) была не менее 95%.

В предварительном исследовании препарата с целью подбора доз для дальнейшего определения острой токсичности участвовали 11 белых беспородных крыс-самок массой от 200 до 230 г. Эксперимент проводили в ноябре – декабре.

Двум крысам вводили потенциальный носитель (Твин-80) по 1 мл 1% и 3% водного раствора, содержащего соответственно 10 и 30 мг вещества.

Растворы ФС готовили по массе следующим образом: навеску твердого ФС перемешивали с расчетным количеством Твин-80, затем к полученной вязкой массе медленно добавляли дважды дистиллированную воду, раствор гомогенизировали ультразвуком (УЗ-гомогенизатор «Sonopuls» (Bandelin, Германия)), после чего полученные растворы центрифугировали (3000 об/мин) для удаления пузырьков воздуха.

Приготовленный таким образом водный раствор изучаемого препарата, содержащий различные дозы ФС в соответствии с табл., а также 1% солюбилизатора Твин-80, был введен 9 крысам (№№1 – 9). Объем инъекции во всех случаях составлял 1 мл. Крысам №7 и №9 препарат был введен внутривенно, остальным – в хвостовую вену (табл.).

Животные, получившие инъекции Твин-80, в том числе в количествах, превышающих рабочую концентрацию солюбилизатора (1%), не продемонстрировали каких-либо поведенческих изменений в течение всего периода наблюдений, что свидетельствовало о малой токсичности этого биосовместимого ПАВ.

У крыс, получивших препарат катионного хлорина внутривенно в дозе более 75 мг/кг массы тела, на следующий день развилась гиперемия ушей, других особенностей, связанных с путём введения, не отмечалось. Одно животное (№9, получившее дозу 150 мг/кг) на вторые сутки погибло, вскрытие произведено в день смерти. Эвтаназия остальных животных выполнялась спустя 2 нед после инъекции ФС методом резкого смещения шейных позвонков с последующим вскрытием и забором на гистологическое исследование головного мозга, легких, сердца, печени и почек.

Таблица

Величина доз ФС, введенного крысам на первом этапе исследования

Table

The amount of PS doses administered in rats at the first stage of the study

№ животного Number of animal	Доза (мг/кг массы тела) Dose (mg/kg of body weight)
1	5
2	10
3	20
4	30
5	50
6	75
7	100
8	125
9	150

В основном эксперименте, проводившемся в мае – июне 2021 г., участвовали 15 белых беспородных крыс-самок (питомник: филиал «Андреевка» ФГБУН науки «Центр биомедицинских технологий» ФМБА) массой от 190 до 220 г.

Животные были разделены на 3 группы по 5 крыс в каждой. Раствор монокаатионного хлорина е6 вводился однократно внутривенно в утренние часы в следующих дозах: группа I – 100 мг/кг, группа II – 125 мг/кг, группа III – 150 мг/кг массы тела с последующим наблюдением.

У всех погибших животных в день смерти, у выживших – через 14 сут после инъекции монокаатионного хлорина е6 произведено вскрытие и забор для последующего гистологического исследования головного мозга, легких, сердца, печени, почек и селезенки. Забой производился методом резкого смещения шейных позвонков.

После извлечения органов было выполнено гистологическое исследование секционного материала. В группах II и III все животные погибли через 1,5–3 сут, в группе I до окончания эксперимента погибли 2 крысы, на 4-е и 6-е сутки соответственно. Аутопсия погибших животных осуществлялась в пределах первых суток. Оставшиеся живыми в группе I три крысы на 14-е сутки были подвергнуты одномоментной декапитации с последующей безотлагательной секцией. В ходе аутопсий проводили краниотомию, головной мозг извлекали целиком и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Через одни сутки с помощью фронтальных разрезов выделяли зону прецентральной извилины переднего мозга, мозжечок, ствол головного мозга. При вскрытии грудной

и брюшной полостей сердце, печень, почки, надпочечники и селезенку также извлекали целиком и подвергали первичной фиксации. После вторичной фиксации и промывки фрагментов органов проводку (обезживание) материала осуществляли с помощью 99% изопропилового спирта. Кусочки органов заливали парафином, изготовленные на санном микротоме «Microm» гистологические срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Морфологический анализ проводили на исследовательском микроскопе «Micros» MC-200, микрофотографии получены с помощью цифровой окулярной камеры DCM 900.

Результаты и их обсуждение

При проведении предварительного исследования на вторые сутки после инъекции был зафиксирован летальный исход только у крысы, получившей препарат в дозе 150 мг/кг массы тела, остальные животные выжили. При проведении основного эксперимента практически сразу после инъекции наблюдалось некоторое ухудшение общего состояния животных: вялость, сонливость, мышечная слабость. Выраженность описанных симптомов коррелировала с полученной дозой исследуемого вещества и усиливалась с ее повышением.

В течение следующих двух суток у всех 10 животных групп II и III наступил летальный исход. В группе I после введения препарата погибли 2 крысы, падеж отмечен на 3-и и на 6-е сутки. Ещё у одной крысы группы I в течение 5–6-х суток эксперимента отмечены мышечная слабость, вздрагивания, взъерошенная и несколько потускневшая шерсть. У остальных животных группы I выраженных внешних изменений не наблюдалось. Таким образом, в группе I погибло 2 крысы из 5-и, доза ФС, равная 100 мг/кг массы тела, можно считать близкой к ЛД₅₀. Для более достоверных выводов следует увеличить число наблюдений.

При гистологическом исследовании органов были получены следующие данные.

Группа I (монокаатионный хлорин е6 в дозе 100 мг/кг): у 3-х крыс, доживших до окончания эксперимента, в головном мозге наблюдается умеренно выраженное полнокровие посткапиллярного звена микроциркуляторного русла (МЦР), сопровождающееся паретическим расширением венул, и периваскулярный отек нервной ткани полушарий большого мозга. В коре прецентральной извилины и в коре мозжечка сохранена стратификация слоев, большинство пирамидных нейронов и грушевидных клеток Пуркинье с четкими контурами ядер и цитоплазматических гранул Ниссля при равномерном распределении макроглиальных элементов. Исключение составляют нейроны ствола головного мозга, часть которых имеет формат обратимого ишемического повреждения в виде уменьшения

объема цитоплазмы, гиперхромии ядер, набухания аксонов на фоне перичеселлюлярного отека нервной ткани (рис. 2).

На макроскопическом уровне полость левого желудочка сердца концентрически сужена, правый желудочек умеренно дилатирован, содержит жидкую кровь. Микроскопическое исследование: просветы сосудов МЦР расширены, заполнены эритроцитами, без признаков агрегации; сократительные волокна миокарда равномерной окраски, с четкими контурами и поперечной исчерченностью.

Легкие пастозные (тестоватой консистенции), занимают 90% объема плевральных полостей. У животных,

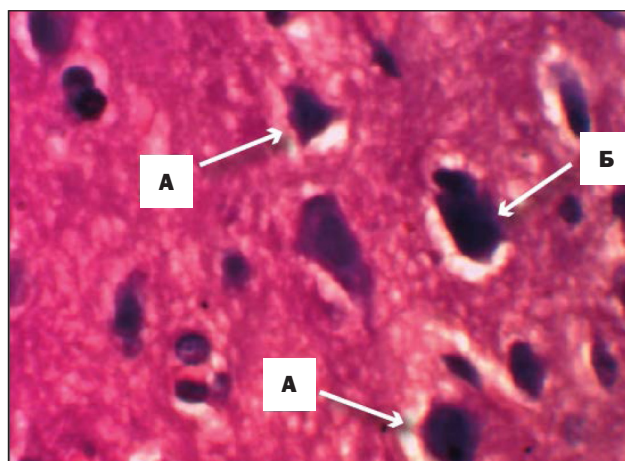


Рис. 2. Гистология. Плазмопикноз, гиперхромия ядер нейронов (А), набухание аксонального отростка нейрона (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1200.

Fig. 2. Histology. Plasmopyknosis, hyperchromia of neuron nuclei (A), swelling of the axonal process of a neuron (B). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 1200.

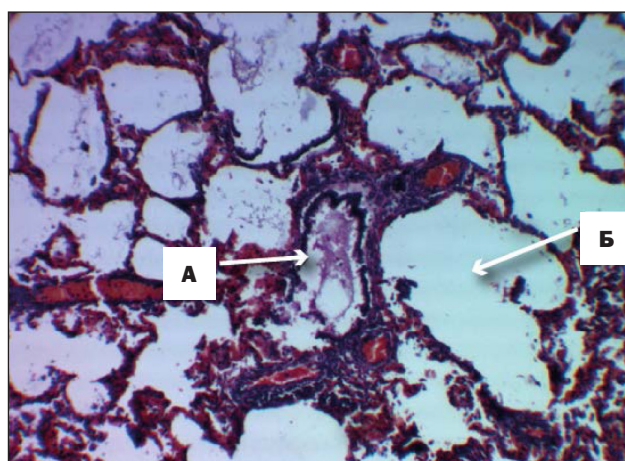


Рис. 3. Гистология. Просвет бронха обтурирован слизью (А), перибронхиальный очаг острой эмфиземы (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 120.

Fig. 3. Histology. Bronchial lumen obturated with mucus (A), peribronchial focus of acute emphysema (B). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 120.

погибших на 3-и и 6-е сутки от начала эксперимента, микроскопическая картина характеризуется умеренно выраженным полнокровием межальвеолярных перегородок, спазмом бронхов среднего и малого калибра, просветы которых частично или полностью обтурированы слизью. В условиях обструкции бронхиального дерева наблюдается формирование очагов центрационной эмфиземы (рис. 3).

В почках наблюдается умеренно выраженное острое венозное полнокровие, капиллярные петли клубочков содержат эритроциты, просвет капсулы не расширен, нефроциты проксимальных и дистальных извитых канальцев обычной формы с равномерной окраской цитоплазмы, просвет канальцев свободный.

При микроскопическом исследовании печени отмечается умеренно выраженное полнокровие центральных и портальных вен, гистоархитектоника печеночных долек сохранена, синусоиды не расширены, со свободным просветом, в строме портальных трактов единичные гистиоциты и лимфоциты. Во 2-м и 5-м наблюдениях отмечаются перипортальные очаги жировой дистрофии гепатоцитов с умеренной лимфогистиоцитарной инфильтрацией стромы.

Группа II (монокатионный хлорин е6 в дозе 125 мг/кг). При исследовании головного мозга у всех крыс выявлены признаки расстройства кровообращения на уровне МЦР, которое выражалось агрегацией эритроцитов в просветах капилляров, умеренно выраженном полнокровием и дилатацией венул, периваскулярным и перичеселлюлярным отеком нервной ткани (рис. 4). Наблюдалось фокальное повреждение пирамидных нейронов коры полушарий большого мозга и клеток Пуркинье (грушевидных нейронов мозжечка), которое выражалось набуханием нейроцитов, кариолизисом, разрушением органелл цитоплазмы с перифокальной реакцией микроглии. Нейроны ствола головного мозга имели признаки ишемических изменений в виде гиперхромии ядер с потерей контуров ядрышек, уменьшением объема клеток.

При исследовании сердца отмечалось расширение полостей правого и левого желудочков, микроскопически во всех наблюдениях имело место нарушение гемоциркуляции на уровне МЦР, которое характеризовалось агрегацией эритроцитов в капиллярах, полнокровием венул, отеком стромы миокарда. В субэндокардиальных отделах миокарда левого и правого желудочка выявлены очаги пересокращения (контрактуры) в виде волнообразных сократительных волокон с неравномерной окраской цитоплазмы кардиомиоцитов.

В легких экспериментальных животных наблюдалось острое полнокровие, отек межальвеолярных перегородок с деформацией и уменьшением объема альвеол (рис. 5).

В условиях выраженного распространенного спазма мелких бронхов и бронхиол нарушение сосудистой проницаемости привело к выпоту и накоплению фибрина на слизистой оболочке бронхов по типу «гиалиновых мембран».

При исследовании почек отмечается умеренно выраженное полнокровие всех отделов, в 4-х наблюдениях нефроциты проксимальных извитых канальцев находились в состоянии вакуольной (белковой) дистрофии, просветы канальцев сужены.

В печени острое венозное полнокровие выражалось изменениями преимущественно в центрах печеночных долек, где центральная вена и синусоиды прецентральной зоны были кровенаполнены и рас-

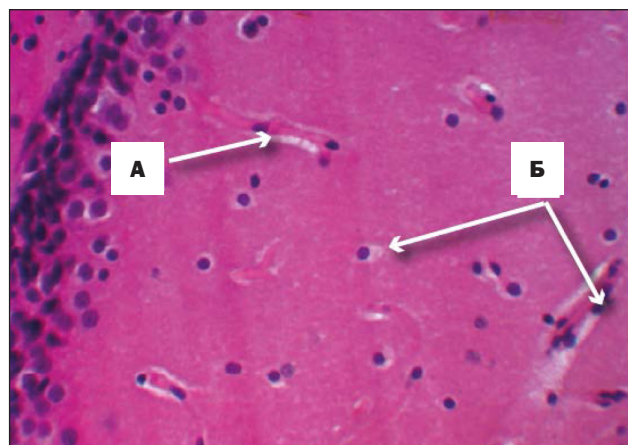


Рис. 4. Гистология. Гемостаз в капиллярах (А), периваскулярный и перичеселлюлярный отек нервной ткани (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 480.

Fig. 4. Histology. Hemostasis in the capillaries (A), perivascular and pericellular edema of the nervous tissue (B). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 480.

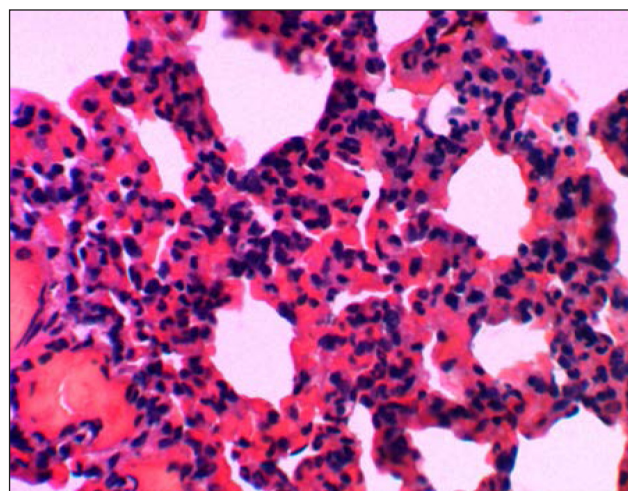


Рис. 5. Гистология. Острое полнокровие легкого, деформация альвеол. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 480.

Fig. 5. Histology. Acute plethora of the lung, deformation of the alveoli. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 480.

ширены. Вакуольная дистрофия гепатоцитов носила очаговый характер, гистоархитектоника печеночных долек сохранена.

Изменения в селезенке характеризовались умеренно выраженным полнокровием красной пульпы.

Группа III (монокатионный хлорин е6 в дозе 150 мг/кг). В головном мозге на фоне гемостаза в сосудах МЦР, выраженного периваскулярного и перическелярного отека повреждения нейронов характеризовались уменьшением объема клеток, гиперхромией ядер, перераспределением глыбок Ниссля в цитоплазме. В стволовом отделе головного мозга изменения единичных нейронов имели необратимый характер с признаками некроза клеток в виде кариолизиса, фрагментации цитоплазмы, перифокальной реакцией микроглии (рис. 6).

При макроскопической оценке сердца было обнаружено, что полости желудочков расширены, содержат жидкую кровь, миокард дрябловатой консистенции, на микроскопическом уровне наблюдались стаз эритроцитов в капиллярах, полнокровие интрамуральных вен, отек стромы миокарда. Фокально сократительные волокна имели волнообразные изменения, отдельные кардиомиоциты приобрели базофильную окраску.

Исследование легочной ткани показало наличие выраженного полнокровия стромы легких, на фоне которого выпот плазменных белков привел к формированию эозинофильных пленок (по типу гиалиновых мембран) на внутренней поверхности альвеол и мелких бронхов. Выраженное спастическое состояние бронхов сопровождается перибронхиальной инфильтрацией лимфоцитами с наличием единичных эозинофилов (рис. 7).

В почках на фоне острого венозного полнокровия вакуольная дистрофия эпителия проксимальных отделов канальцев приобрела распространенный характер.

Морфологическая оценка ткани печени в группе III показала выраженное венозное полнокровие всех отделов печеночной дольки при отсутствии значимых повреждений со стороны гепатоцитов.

Изменения в селезенке оказались сопоставимыми с гистологической картиной полнокровия в группах I и II.

Таким образом, морфологически значимыми оказались изменения в головном мозге, легких и сердце. Главным звеном патогенеза явилось, по-видимому, выраженное вазопатическое действие катионного хлорина, в результате которого прогрессировали отек и набухание головного мозга. Развитие острой сосудистой энцефалопатии проявлялось нарастанием общеневрологических симптомов (на этапе клинических наблюдений) и коррелировало с дозой вводимого препарата. Выявленные у крыс групп II и III необратимые изменения нейронов ствола головного

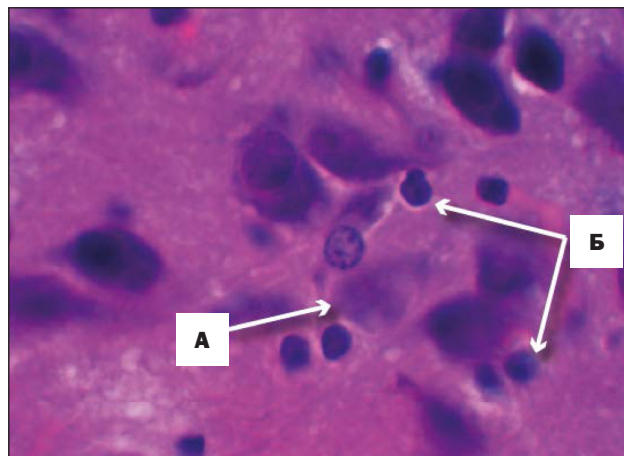


Рис. 6. Гистология. Погибший нейрон продолговатого мозга (А), перифокальная реакция микроглиальных элементов (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1200.

Fig. 6. Histology. Dead medulla neuron (A), perifocal reaction of microglial elements (B). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 1200.

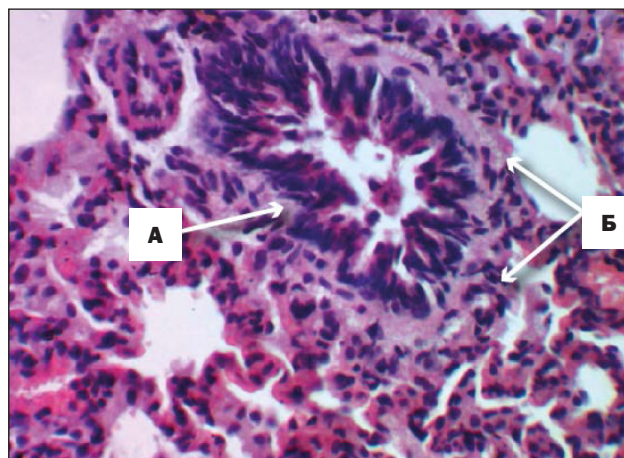


Рис. 7. Гистология. Выраженный бронхоспазм (А), эозинофилы в составе лейкоцитарного инфильтрата (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 480.

Fig. 7. Histology. Severe bronchospasm (A), eosinophils in the leukocyte infiltrate (B). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 480.

мозга свидетельствуют о развитии дислокационного синдрома, что можно рассматривать как основную причину гибели экспериментальных животных. Патоморфологическая оценка легких выявила распространенный бронхоспазм с гиперсекрецией слизи, выраженность которого нарастала с увеличением дозы препарата. В сочетании с эозинофильной инфильтрацией стенок бронхов формируется картина острой аллергической реакции. Повышенная проницаемость сосудистой стенки стала причиной формирования острой аллергической реакции. Повышенная проницаемость сосудистой стенки стала причиной формирования острой аллергической реакции. Повышенная проницаемость сосудистой стенки стала причиной формирования острой аллергической реакции.

можно сделать вывод о развитии острого респираторного дистресс-синдрома, имеющего определенное значение в танатогенезе. Обратимые изменения в миокарде вероятнее всего являются результатом воздействия аритмогенного фактора, формирующегося при введении исследуемого ФС. Описанные морфологические изменения в печени, почках и селезенке у опытных животных являются стереотипными при интоксикации различного генеза.

Заключение

1. Предварительным значением LD_{50} для исследуемого монокатионного хлорина (соединение I) может считаться величина 100 мг/кг массы тела. Она почти в два раза больше, чем у используемых в клинической практике анионных ФС, однако с токсикологической точки зрения вполне приемлема для продолжения доклинических исследований, поскольку при проведении ФДТ доза вводимого

ФС обычно находится в пределах от 1 до 5 мг/кг. Для получения более точного значения LD_{50} следует увеличить число лабораторных животных.

2. Внутривенное введение исследуемого ФС в токсических дозах вызывает преимущественное поражение головного мозга, легких и миокарда.
3. Патоморфологические изменения жизненно важных органов лабораторных животных свидетельствуют о выраженном вазопатическом действии соединения I с развитием отека головного мозга и респираторного дистресс-синдрома, явившихся основными звеньями танатогенеза.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-13-00398, <https://rscf.ru/project/21-13-00398/> с использованием ресурсов Центра коллективного пользования научным оборудованием ИХР РАН и ИГХТУ (при поддержке Минобрнауки России, соглашение № 075-15-2021-671).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bonnett R. Chemical aspects of photodynamic therapy // Amsterdam: Gordon Breach Sci. Publ. – 2000. – P. 305.
2. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update // CA Cancer J. Clin. – 2011. – Vol. 61(4). – P. 250-281. doi: 10.3322/caac.20114
3. Otvagin V.F., Kuzmina N.S., Krylova L.V., Volovetsky A.B., Nyuchev A.V., Gavryushin A.E., Meshkov I.N., Gorbunova Y.G., Romanenko Y.V., Koifman O.I., Balalaeva I.V., Fedorov A.Y. Water-soluble chlorin/ arylaminoquinoxaline conjugate for photodynamic and targeted therapy // Med. Chem. – 2019. – Vol. 62(24). – P. 11182-11193. doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b01294
4. Van Straten D., Mashayekhi V., De Bruijn H.S., Oliveira S., Robinson D.J. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions // Cancers. – 2017. – Vol. 9(19). – P. 1-54. doi: 10.3390/cancers9020019
5. Krammer B., Malik Z., Pottier R., Stepp H. Basic principles. In: Photodynamic therapy with ALA. A clinical handbook / Ed. by Pottier R., Krammer B., Stepp, R. Baumgartner H. // Cambridge: Royal Society Chem. Publ. – 2006. – P. 15-78.
6. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В. Клинические аспекты фотодинамической терапии. – Калуга: Изд. науч. лит. – 2009. – С. 204.
7. Филоненко Е.В., Серова Л.Г. Фотодинамическая терапия в клинической практике // Biomedical Photonics. – 2016. Т. 5, № 2. – С. 26-37.
8. Филоненко Е.В. Клиническое внедрение и научное развитие фотодинамической терапии в России в 2010–2020 гг. // Biomedical Photonics. – 2021. – Т. 10, № 4. – С. 4-22. doi: 10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22
9. Liu Y., Qin R., Zaat S.A.J., Breukink E., Heger M. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections // J. Clin. Translat. Res. – 2015. – Vol. 1(3). – P. 140-167.
10. Hamblin M. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes // Curr. Opin. Microbiol. – 2016. – Vol. 33. – P. 67-73.
11. Кустов А.В., Березин Д.Б., Стрельников А.И., Лапочкина Н.П. Противоопухолевая и антимикробная фотодинамическая терапия: механизмы, мишени, клинико-лабораторные исследования: руководство / под ред. А.К. Гагуа. – М: Лагро. – 2020. – С. 108.

REFERENCES

1. Bonnett R. Chemical aspects of photodynamic therapy. Amsterdam: Gordon Breach Sci. Publ, 2000, pp. 305.
2. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update. CA Cancer J. Clin, 2011, Vol. 61(4), pp. 250-281. doi: 10.3322/caac.20114
3. Otvagin V.F., Kuzmina N.S., Krylova L.V., Volovetsky A.B., Nyuchev A.V., Gavryushin A.E., Meshkov I.N., Gorbunova Y.G., Romanenko Y.V., Koifman O.I., Balalaeva I.V., Fedorov A.Y. Water-soluble chlorin/ arylaminoquinoxaline conjugate for photodynamic and targeted therapy. Med. Chem, 2019, Vol. 62(24), pp. 11182-11193. doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b01294
4. Van Straten D., Mashayekhi V., De Bruijn H.S., Oliveira S., Robinson D.J. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions. Cancers, 2017, Vol. 9(19), pp. 1-54. doi: 10.3390/cancers9020019
5. Krammer B., Malik Z., Pottier R., Stepp H. Basic principles. In: Photodynamic therapy with ALA. A clinical handbook / Ed. by Pottier R., Krammer B., Stepp, R. Baumgartner H. Cambridge: Royal Society Chem. Publ, 2006, pp. 15-78.
6. Tsyb A.F., Kaplan M.A., Romanko Yu.S., Popuchiev V.V. Clinical aspects of photodynamic therapy. Kaluga: Publishing house of scientific lit, 2009, pp. 204.
7. Filonenko E.V., Serova L.G. Photodynamic therapy in clinical practice. Biomedical Photonics, 2016. Vol. 5(2), pp. 26-37.
8. Filonenko E.V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020. Biomedical Photonics, 2021, Vol. 10(4), pp. 4-22. doi: 10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22
9. Liu Y., Qin R., Zaat S.A.J., Breukink E., Heger M. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. J. Clin. Translat. Res, 2015, Vol. 1(3), pp. 140-167.
10. Hamblin M. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. Curr. Opin. Microbiol, 2016, Vol. 33, pp. 67-73.
11. Kustov A.V., Berezin D.B., Strel'nikov A.I., Lapochkina N.P. Antitumor and antimicrobial photodynamic therapy: mechanisms, targets, clinical and laboratory studies: guidelines / edited by A.K. Gagua. Moscow: Largo, 2020, p. 108.

12. Koifman O.I., Ageeva T.A., Beletskaya I.P., Averin A.D., et al. Macroheterocyclic compounds – a key building block in new functional materials and molecular devices // *Macroheterocycles*. – 2020. – Vol. 13(4). – P. 311-467. doi: 10.6060/mhc200814k
13. Kustov A.V., Privalov O.A., Strelnikov A.I., Koifman O.I., Lubimtsev A.V., Morshnev Ph.K., Moryganova T.M., Kustova T.V., Berezin D.B. Transurethral resection of non-muscle invasive bladder tumors combined with fluorescence diagnosis and photodynamic therapy with chlorin e6-type photosensitizers // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11. – P. 233. doi: 10.3390/jcm11010233
14. Caterino M., D'Aria F., Kustov A.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Star-seva O.M., Berezin D.B., Pylina Y. I., Usacheva T. R., Amato J., Giancola C. Selective binding of a bioactive porphyrin-based photosensitizer to the G-quadruplex from the KRAS oncogene promoter // *Intern. J. Biol. Macromolecules*. – 2020. – Vol. 145. – P. 244-251. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.152
15. Dabrowski J. M. Reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms of their generation and potentiation // *Adv. Inorg. Chem.* – 2017. – Vol. 70. – P. 343-394. doi: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002
16. Maisch T. Strategies to optimize photosensitizers for photodynamic inactivation of bacteria // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* – 2015. – Vol. 150. – P. 2-10. doi: /10.1016/j.jphotobiol.2015.05.010
17. Kobayashi N. Spectroscopically and/or structurally intriguing phthalocyanines and related compounds. Part 1. Monomeric systems // *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* – 2019. – Vol. 62. – P. 4-46. doi: 10.6060/ivkkt.20196206.5913_1
18. Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin M.B. Standard enthalpies and heat capacities of ethyl acetate and deuteroporphyrin dimethylester solution in N,N-dimethylformamide at 298–318 K // *Thermochim. Acta*. – 2011. – Vol. 521. – P. 224-226. doi: 10.1016/j.tca.2011.02.020
19. Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin D. B., Berezin M.B. Thermodynamics of solution of proto- and mezoporphyrins in N,N-dimethylformamide // *J. Chem. Thermodyn.* – 2015, Vol. 89. – P. 123-126. doi: 10.1016/j.jct.2015.05.016
20. Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin D.B., Berezin M.B. Blood porphyrins in binary mixtures of N,N-dimethylformamide with 1-octanol and chloroform: The energetics of solvation, solute-cosolvent interactions and model calculations // *J. Chem. Thermodyn.* – 2015. – Vol. 83. – P. 104-109. doi: 10.1016/j.jct.2014.12.013
21. Трухачева Т.В., Шляхтин С.В., Исаков Г.А. Фотолон – новое средство для фотодинамической терапии. – Минск: РУП «Белмед-препараты». – 2009. – С. 64.
22. Yakavets I., Millard M., Zorin V., Lassalle H.-P., Bezdetnaya L. Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Advanced delivery strategies // *J. Contr. Release*. – 2019. – Vol. 304. – P. 268-287. doi: 10.1016/j.jconrel.2019.05.035
23. Huang L., Dai T., Hamblin M.L. Antimicrobial photodynamic inactivation and photodynamic therapy for infections. In: *Photodynamic therapy. Methods and protocols* / Ed. by Ch.J. New York: Gomer Springer Science+Business Media. – 2010. – P. 155-174.
24. Berezin D.B., Karimov D.R., Venediktov E.A., Kustov A.V., Markarov V.V. The synthesis and singlet oxygen generation study of 13(1)-N-piperazinyl chlorin e6-15(2),17(3)-dimethyl ester // *Macroheterocycles*. – 2015. – Vol. 8(4). – P. 384-388. doi: 10.6060/mhc151088b
25. Kustov A.V., Belykh D.V., Startseva O.M., Kruchin S.O., Venediktov E.A., Berezin D.B. New photosensitizers developed on a methylpheophorbide a platform for photodynamic therapy: synthesis, singlet oxygen generation and modeling of passive membrane transport // *Pharm. Anal. Acta*. – 2016. – Vol. 7(5). – P. 480-484. doi: 10.4172/2153-2435.1000480.
26. Венидиктов Е.А., Туликова Е.Ю., Рожкова Е.П., Белых Д.В., Худяева И.С., Березин Д.Б. Синтез, спектрально-люминесцентные и фотохимические свойства трикатионного производного хлорина е6 с триметиламмонийными группами // *Макрогетероциклы*. – 2017. – Т. 10, № 3. – С. 295-300. doi: 10.6060/mhc170404v
12. Koifman O.I., Ageeva T.A., Beletskaya I.P., Averin A.D., et al. Macroheterocyclic compounds – a key building block in new functional materials and molecular devices. *Macroheterocycles*, 2020, Vol. 13(4), pp. 311-467. doi: 10.6060/mhc200814k
13. Kustov A.V., Privalov O.A., Strelnikov A.I., Koifman O.I., Lubimtsev A.V., Morshnev Ph.K., Moryganova T.M., Kustova T.V., Berezin D.B. Transurethral resection of non-muscle invasive bladder tumors combined with fluorescence diagnosis and photodynamic therapy with chlorin e6-type photosensitizers. *J. Clin. Med*, 2022, Vol. 11, pp. 233. doi: 10.3390/jcm11010233
14. Caterino M., D'Aria F., Kustov A.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Star-seva O.M., Berezin D.B., Pylina Y. I., Usacheva T. R., Amato J., Giancola C. Selective binding of a bioactive porphyrin-based photosensitizer to the G-quadruplex from the KRAS oncogene promoter. *Intern. J. Biol. Macromolecules*, 2020, Vol. 145, pp. 244-251. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.152
15. Dabrowski J. M. Reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms of their generation and potentiation. *Adv. Inorg. Chem*, 2017, Vol. 70, pp. 343-394. doi: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002
16. Maisch T. Strategies to optimize photosensitizers for photodynamic inactivation of bacteria. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol*, 2015, Vol. 150, pp. 2-10. doi: /10.1016/j.jphotobiol.2015.05.010
17. Kobayashi N. Spectroscopically and/or structurally intriguing phthalocyanines and related compounds. Part 1. Monomeric systems. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol*, 2019, Vol. 62, pp. 4-46. doi: 10.6060/ivkkt.20196206.5913_1
18. Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin M.B. Standard enthalpies and heat capacities of ethyl acetate and deuteroporphyrin dimethylester solution in N,N-dimethylformamide at 298–318 K. *Thermochim. Acta*, 2011, Vol. 521. pp. 224-226. doi: 10.1016/j.tca.2011.02.020
19. Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin D. B., Berezin M.B. Thermodynamics of solution of proto- and mezoporphyrins in N,N-dimethylformamide. *J. Chem. Thermodyn*, 2015, Vol. 89, pp. 123-126. doi: 10.1016/j.jct.2015.05.016
20. Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin D.B., Berezin M.B. Blood porphyrins in binary mixtures of N,N-dimethylformamide with 1-octanol and chloroform: The energetics of solvation, solute-cosolvent interactions and model calculations. *J. Chem. Thermodyn*, 2015, Vol. 83, pp. 104-109. doi: 10.1016/j.jct.2014.12.013
21. Trukhacheva T.V., Shlyakhtin S.V., Isakov G.A. Photolon is a new tool for photodynamic therapy. – Minsk: RUE «Belmedpreparaty». – 2009. – p. 64.
22. Yakavets I., Millard M., Zorin V., Lassalle H.-P., Bezdetnaya L. Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Advanced delivery strategies. *J. Contr. Release*, 2019, Vol. 304, pp. 268-287. doi: 10.1016/j.jconrel.2019.05.035
23. Huang L., Dai T., Hamblin M.L. Antimicrobial photodynamic inactivation and photodynamic therapy for infections. In: *Photodynamic therapy. Methods and protocols* / Ed. by Ch.J. New York: Gomer Springer Science+Business Media, 2010, pp. 155-174.
24. Berezin D.B., Karimov D.R., Venediktov E.A., Kustov A.V., Markarov V.V. The synthesis and singlet oxygen generation study of 13(1)-N-piperazinyl chlorin e6-15(2),17(3)-dimethyl ester. *Macroheterocycles*, 2015, Vol. 8(4), pp. 384-388. doi: 10.6060/mhc151088b
25. Kustov A.V., Belykh D.V., Startseva O.M., Kruchin S.O., Venediktov E.A., Berezin D.B. New photosensitizers developed on a methylpheophorbide a platform for photodynamic therapy: synthesis, singlet oxygen generation and modeling of passive membrane transport. *Pharm. Anal. Acta*, 2016, Vol. 7(5), pp. 480-484. doi: 10.4172/2153-2435.1000480.
26. Venediktov E.A., Tulikova E.Yu., Rozhkova E.P., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Berezin D.B. Synthesis, spectral-luminescent and photochemical properties of a tricationic derivative of chloride e6 with trimethylammonium groups. *Macroheterocycles*, 2017, Vol. 10(3). – pp. 295-300. doi: 10.6060/mhc170404v

27. Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Venediktov E.A., Kudayarova T.V., Kruchin S.O., Khudyaeva I.S., D Berezin D.B. Synthesis and investigation of water-soluble chlorophyll pigments for antimicrobial photodynamic therapy // *Dyes Pigm.* – 2018. – Vol. 149. – P. 553-559. doi: 10.1016/j.dyepig.2017.09.073
28. Kustov A.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Berezin D.B. Synthesis and investigation of novel chlorin sensitizers containing the myristic acid residue for antimicrobial photodynamic therapy // *Dyes Pigm.* – 2020. – Vol. 173. – P. 107948. doi: 10.1016/j.dyepig.2019.107948
29. Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Khudyaeva I.S., Berezin D.B. Partition of methylpheophorbide a, dioxidine and their conjugate in the 1-octanol/phosphate saline buffer biphasic system // *J. Chem. Thermodyn.* – 2017. – Vol. 115. – P. 302-306. doi: 10.1016/j.jct.2017.07.031
30. Berezin D.B., Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Batov D.V., Kukushkina N.V., Shukhto O.V. The behavior of monocationic chlorin in water and aqueous solutions of non-ionic surfactant Tween 80 and potassium iodide // *J. Mol. Liq.* – 2019. – Vol. 283. – P. 532-536. doi: 10.1016/j.molliq.2019.03.091
31. Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Kruchin S.O., Shukhto O.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Koifman M.O., Razgovorov P.B., Berezin D.B. Interaction of cationic chlorin photosensitizers with non-ionic surfactant Tween 80 // *Mend. Commun.* – 2021. – Vol. 31(1). – P. 65-67. doi: 10.1016/j.mencom.2021.01.019
32. Шухто О.В., Худяева И.С., Белых Д.В., Березин Д.Б. Агрегация гидрофобных хлоринов с фрагментами антимикробных препаратов в водных растворах этанола и Твин 80 // *Известия ВУЗов. Химия и хим. технол.* – 2021. – Т. 64, № 11. – С. 86-96. doi: 10.6060/ivkkt.20216411.6500
33. Кустов А.В., Гараско Е.В., Белых Д.В., Худяева И.С., Старцева О.М., Макаров В.В., Стрельников А.И., Березин Д.Б. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда для антимикробной фотодинамической терапии // *Успехи современного естествознания.* – 2016. – Т.12, № 2. – С. 263-268.
34. Berezin D.B., Makarov V.V., Znoyko S.A., Mayzlish V.E., Kustov A.V. Aggregation water soluble octaanionic phthalocyanines behavior and their photoinactivation antimicrobial effect in vitro // *Mend. Commun.* – 2020. – Vol. 30(5). – P. 621-623. doi: 10.1016/j.mencom.2020.09.023
35. Pylina Ya.I., Khudyaeva I.S., Startseva O.M., Shadrin D.M., Shevchenko O.G., Velegzhaninov I.O., Kukushkina N.V., Berezin D.B., Belykh D.V. Dark and photoinduced cytotoxicity of cationic derivatives of chlorin e6 with different numbers of charged groups // *Macroheterocycles.* – 2021. – Vol. 14(4). doi: 10.6060/210944b
36. Гушина О.И., Ларкина Е.А., Миронов А.Ф. Синтез катионных производных хлорина е6 // *Макрогетероциклы.* – 2014. – Т. 7, № 4. – С. 414-416. doi: 10.6060/mhc140931g
37. Каримов Д.Р., Макаров В.В., Кручин С.О., Березин Д.Б., Смирнова Н.Л., Березин М.Б., Желтова Е.И., Стрельников А.И., Кустов А.В. Оптимизация условий выделения хлорофиллов из крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) и спиролины (*Spirulina platensis*) // *Химия растит. сырья.* – 2014. – Т. 17, № 4. – С. 189-196. doi: 10.14258/jcrpm.201404310
38. Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В., Любимов Б.И., Либерман С.С., Верстакова О.Л. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических средств: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств. / Под ред. Р.У. Харбиева. - М.: Медицина. – 2005. – С. 41-54.
27. Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Venediktov E.A., Kudayarova T.V., Kruchin S.O., Khudyaeva I.S., D Berezin D.B. Synthesis and investigation of water-soluble chlorophyll pigments for antimicrobial photodynamic therapy. *Dyes Pigm*, 2018, Vol. 149, pp. 553-559. doi: 10.1016/j.dyepig.2017.09.073
28. Kustov A.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Berezin D.B. Synthesis and investigation of novel chlorin sensitizers containing the myristic acid residue for antimicrobial photodynamic therapy, *Dyes Pigm*, 2020, Vol. 173, pp. 107948. doi: 10.1016/j.dyepig.2019.107948
29. Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Khudyaeva I.S., Berezin D.B. Partition of methylpheophorbide a, dioxidine and their conjugate in the 1-octanol/phosphate saline buffer biphasic system. *J. Chem. Thermodyn*, 2017, Vol. 115, pp. 302-306. doi: 10.1016/j.jct.2017.07.031
30. Berezin D.B., Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Batov D.V., Kukushkina N.V., Shukhto O.V. The behavior of monocationic chlorin in water and aqueous solutions of non-ionic surfactant Tween 80 and potassium iodide. *J. Mol. Liq*, 2019, Vol. 283, pp. 532-536. doi: 10.1016/j.molliq.2019.03.091
31. Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Kruchin S.O., Shukhto O.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Koifman M.O., Razgovorov P.B., Berezin D.B. Interaction of cationic chlorin photosensitizers with non-ionic surfactant Tween 80. *Mend. Commun*, 2021, Vol. 31(1), pp. 65-67. doi: 10.1016/j.mencom.2021.01.019
32. Shukhto O.V., Khudyaeva I.S., Belykh D.V., Berezin D.B. Aggregation of hydrophobic chlorines with fragments of antimicrobial drugs in aqueous solutions of ethanol and Twin 80. *Izvestiya VUZov. Chemistry and Chemical technology*, 2021, Vol. 64(11), pp. 86-96. doi: 10.6060/ivkkt.20216411.6500
33. Kustov A.V., Garasko E.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Startseva O.M., Makarov V.V., Strelnikov A.I., Berezin D.B. Photosensitizers of the chlorin series for antimicrobial photodynamic therapy. *Successes of modern natural science*, 2016, Vol.12(2), pp. 263-268.
34. Berezin D.B., Makarov V.V., Znoyko S.A., Mayzlish V.E., Kustov A.V. Aggregation water soluble octaanionic phthalocyanines behavior and their photoinactivation antimicrobial effect in vitro. *Mend. Commun*, 2020, Vol. 30(5), pp. 621-623. doi: 10.1016/j.mencom.2020.09.023
35. Pylina Ya.I., Khudyaeva I.S., Startseva O.M., Shadrin D.M., Shevchenko O.G., Velegzhaninov I.O., Kukushkina N.V., Berezin D.B., Belykh D.V. Dark and photoinduced cytotoxicity of cationic derivatives of chlorin e6 with different numbers of charged groups. *Macroheterocycles*, 2021, Vol. 14(4). doi: 10.6060/210944b
36. Gushchina O.I., Larkina E.A., Mironov A.F. Synthesis of cationic derivatives of chloride e6. *Macroheterocycles*, 2014, Vol. 7(4), pp. 414-416. doi: 10.6060/mhc140931g
37. Karimov D.R., Makarov V.V., Kruchin S.O., Berezin D.B., Smirnova N.L., Berezin M.B., Zheltova E.I., Strelnikov A.I., Kustov A.V. Optimization of chlorophyll isolation conditions from dioecious nettle (*Urtica dioica* L.) and spirulina (*Spirulina platensis*). *Chemistry grows. raw materials*, 2014, Vol. 17(4), pp. 189-196. doi: 10.14258/jcprm.201404310
38. Arzamashev E.V., Guskova T.A., Berezovskaya I.V., Lyubimov B.I., Lieberman S.S., Verstakova O.L. Methodological guidelines for the study of the general toxic effect of pharmacological agents: A guide to the experimental (preclinical) study of new pharmacological agents. *Edited by R.U. Habriev. - M.: Medicine*, 2005, pp. 41-54.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ ВНУТРИПРОСВЕТНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ЛИТОТРИПСИИ ПРИ КРУПНОМ КОНКРЕМЕНТЕ ОБЩЕГО ЖЕЛЧНОГО ПРОТОКА (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

Ю.В. Иванов^{1,2}, Д.В. Сазонов¹, А.В. Смирнов¹, А.В. Мамошин^{3,4},
А.В. Баранов⁵, Д.Н. Панченков^{2,5}

¹«Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», Москва, Россия

²«Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

³Орловской области «Орловская областная клиническая больница, Москва, Россия

⁴«Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», Орел, Россия

⁵«Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина ФМБА России», Москва, Россия

Резюме

Представлено клиническое наблюдение успешного выполнения пероральной внутрипросветной лазерной литотрипсии с последующей литоэкстракцией крупного конкремента общего желчного протока у пациентки с холедохолитиазом и механической желтухой. Для проведения внутривидовой литотрипсии использовали тулиевый лазер «Уролаз» в следующих режимах: энергия – 0,025-0,05-0,1 Дж, максимум до 0,5 Дж. Средняя мощность 6-10 Вт. Лазерное воздействие проводили импульсами в водной среде с целью профилактики карбонизации волокна световода и задымления. Эффект воздействия на конкремент проявлялся в его фрагментации и образовании мелких частиц без повреждения слизистой оболочки общего желчного протока. Общая продолжительность вмешательства составила 45 мин. Метод является эффективным и безопасным, позволяет избежать необходимости выполнения эндоскопической папиллосфинктеротомии и нарушения анатомической целостности и физиологической функции сфинктера Одди.

Ключевые слова: холедохолитиаз, папиллосфинктеротомия, фрагментация конкремента, эндоскопическая лазерная литотрипсия, общий желчный проток.

Для цитирования: Иванов Ю.В., Сазонов Д.В., Смирнов А.В., Мамошин А.В., Баранов А.В., Панченков Д.Н. Возможности применения пероральной внутрипросветной лазерной литотрипсии при крупном конкременте общего желчного протока (клиническое наблюдение) // Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 33–38. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-2-33-38.

Контакты: Иванов Ю.В., e-mail: ivanovkb83@yandex.ru

OPPORTUNITIES OF USING ORAL INTRALUMINAL LASER LITHOTRIPSY FOR A LARGE CALCULUS OF THE COMMON BILE DUCT (CLINICAL REPORT)

Ivanov Y.V.^{1,2}, Sazonov D.V.¹, Smirnov A.V.¹, Mamoshin A.V.^{3,4},
Baranov A.V.⁵, Panchenkov D.N.^{2,5}

¹Federal Scientific and Clinical Center of Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the FMBA of Russia, Moscow, Russia

²Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. A.I. Evdokimov" of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

³Oryol Regional Clinical Hospital, Oryol, Russia

⁴Orel State University named after I.S. Turgenev, Oryol, Russia

⁵Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine FMBA, Moscow, Russia

Abstract

There is a clinical report of successful oral intraluminal laser lithotripsy with subsequent lithoextraction of a large concretion of the common bile duct in a patient with choledocholithiasis and mechanical jaundice. For the intraluminal lithotripsy a tulium laser «Urolaz» was used with energy modes 0,025-0,05-0,1 J, up to a maximum of 0.5 J. The average power is 6-10 W. Laser exposure was carried out by pulses in an aqueous medium in order to prevent carbonation of the light guide and smoke. The effect of exposure to the concretion was manifested in its fragmentation and the formation of small particles without damage of the mucous membrane of the common bile duct. The total duration of the intervention was 45 minutes. The method is effective and safe, thus it avoids the need of endoscopic papillosphincterotomy and violation of the anatomical integrity and physiological function of the Oddi sphincter.

Key words: choledocholithiasis, papillosphincterotomy, fragmentation of concretion, endoscopic laser lithotripsy, common bile duct.

For citations: Ivanov Y.V., Sazonov D.V., Smirnov A.V., Mamoshin A.V., Baranov A.V., Panchenkov D.N. Opportunities of using oral intraluminal laser lithotripsy for a large calculus of the common bile duct (clinical report), *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 2, pp. 33–38 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2022–11–2–33–38.

Contacts: Ivanov Y.V., e-mail: ivanovkb83@yandex.ru

Введение

Одним из наиболее частых осложнений желчнокаменной болезни (ЖКБ) считается холедохолитиаз – наличие конкрементов в общем желчном протоке. У 10-25% пациентов с ЖКБ конкременты выявляются не только в желчном пузыре, но и в общем желчном протоке [1, 2]. Чем длительнее анамнез заболевания ЖКБ, тем больше риск возникновения холедохолитиаза. Наличие конкрементов в общем желчном протоке на фоне имеющегося холецистолитиаза или без него, перенесенной ранее холецистэктомии может вызвать механическую желтуху или холангит, что само по себе является неблагоприятным фактором течения заболевания. Обнаруженные конкременты в общем желчном протоке подлежат обязательному удалению вне зависимости от их наличия или отсутствия в желчном пузыре из-за риска развития грозных осложнений: механической желтухи, холангита, острого билиарного панкреатита [3].

Клиническая картина холедохолитиаза достаточно вариабельна и зависит от многих факторов: размера и количества конкрементов, уровня и степени блокады общего желчного протока, топографической анатомии и строения терминального отдела общего желчного протока и ампулы большого дуоденального сосочка (БДС), сопутствующих заболеваний органов панкреатодуоденальной зоны.

В клинической практике можно встретить следующие варианты проявления холедохолитиаза: а) латентный, характеризуется отсутствием клинической картины заболевания и выявляется только при обследовании пациента; б) с полной блокадой общего желчного протока до ампулы БДС, проявляется прогрессирующей механической желтухой с холангитом или без него; в) с полной блокадой общего желчного протока на уровне ампулы БДС, сопровождается прогрессирующей механической желтухой и острым панкреатитом; г) с вентильным (подвижным) конкрементом и стенозирующим папиллитом, характерны периодические бессистемные вспышки механиче-

ской желтухи и холангита; д) холедохо-кишечный свищ с клинической картиной холангита [2].

Все существующие методы удаления конкрементов из общего желчного протока условно можно разделить на пять больших групп: 1) открытые операции (лапаротомные, мини доступы); 2) лапароскопические операции; 3) чрескожно-чреспеченочные (антеградные) малоинвазивные вмешательства; 4) эндоскопические (ретроградные) оперативные пособия; 5) гибридные операции, сочетающие несколько методов литоэкстракции. Применение того или иного метода литоэкстракции зависит в первую очередь от технической оснащенности стационара, квалификации врачей, особенностей клинической картины и течения заболевания.

Установлено, что в современных условиях оптимальным способом разрешения холедохолитиаза является эндоскопический метод, а «золотым стандартом» методики признана эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография (ЭРХПГ) и литоэкстракция с предварительной эндоскопической папиллотомией/папиллосфинктеротомией (ЭПСТ) или без нее [4].

Эндоскопическую литоэкстракцию выполняют с помощью эндоскопической захватывающей корзины Dormia, представленной на медицинском рынке широким ассортиментом в виде многоцветных и одноцветных инструментов различной формы, размеров и жесткости. Следует отметить, что необходимыми условиями для успешного извлечения конкремента из общего желчного протока являются достаточный диаметр терминального отдела холедоха и БДС, а также возможность заведения корзины Dormia за конкремент для ее полного раскрытия и надежного захвата. При небольших конкрементах, не более 1 см, процедура выполнения ЭРХПГ, ЭПСТ и литоэкстракции при достаточном опыте врача-эндоскописта и типичном топографо-анатомическом строении БДС обычно не вызывает технических трудностей и в 92–96% случаев позволяет эффективно устранить холедохолитиаз [4]. Наибольшие трудности возникают при больших

и крупных конкрементах в общем желчном протоке. В большинстве случаев неудачные попытки извлечения крупных конкрементов из общего желчного протока заканчиваются переходом на другой метод литоэкстракции (открытая или лапароскопическая операция). В некоторых случаях эндоскопический метод литоэкстракции может приводить к ряду специфических осложнений: кровотечению после ЭПСТ, постманипуляционному острому панкреатиту, ущемлению корзины Dormia в терминальном отделе холедоха или БДС, перфорации стенки общего желчного протока, перфорации стенки двенадцатиперстной кишки.

Помимо описанной методики внутрипротоковой механической литотрипсии в клинической практике с различным успехом используют баллонную дилатацию области предварительно проведенной ЭПСТ с последующей литоэкстракцией или дистанционную ударно-волновую литотрипсию с последующим эндоскопическим удалением фрагментов конкрементов. Эффективность перечисленных методов лечения холедохолитиаза заметно уступает методу ЭРХПГ, ЭПСТ и механической литоэкстракции. Дистанционная ударно-волновая литотрипсия ввиду своей малой эффективности и большом риске возникновения острого холецистита большинством хирургов не рассматривается в качестве самостоятельного метода лечения холедохолитиаза.

В последние годы ряд зарубежных авторов рекомендуют при крупных конкрементах общего желчного протока применять электрогидравлическую или лазерную литотрипсию [5, 6]. Методика пероральной транспапиллярной холангиоскопии и последующей внутрипротоковой лазерной литотрипсии позволяет разрушить конкременты на мелкие части в общем желчном протоке без повреждения его стенок, а затем удалить их с помощью корзины Dormia.

Учитывая немногочисленные зарубежные публикации и единичные сообщения в русскоязычной медицинской литературе, посвященные выполнению эндоскопической лазерной литотрипсии при холедохолитиазе, мы сочли возможным представить собственное клиническое наблюдение.

Клиническое наблюдение

Пациентка А., 56 лет, госпитализирована в отделение хирургии ФГБУ ФНКЦ ФМБА России 15.07.2021 в экстренном порядке с направительным диагнозом: механическая желтуха. Из анамнеза известно, что в 2017 г. перенесла лапароскопическую холецистэктомию по поводу ЖКБ, хронического калькулезного холецистита. В течение последних 6 мес до госпитализации беспокоили периодические тянущие боли в правом подреберье после приема пищи, купирующиеся спазмолитическими препаратами. С 3.07.2021 заметила

иктеричность склер и кожных покровов, с 8.07.2021 – темный цвет мочи и обесцвеченный кал. В связи с нарастающей желтухой и ухудшением общего состояния пациентка направлена на госпитализацию в стационар для обследования и лечения.

При поступлении общее состояние средней тяжести. Кожные покровы с выраженным желтушным оттенком и следами расчесов, клинической картины холангита и острого билиарного панкреатита нет. Артериальное давление 130/75 мм.рт.ст., пульс 78 уд/мин. Живот не вздут, мягкий, умеренно болезненный в правом подреберье и мезогастрии, симптомов раздражения брюшины нет. Перистальтика выслушивается, пальпаторно новообразований в брюшной полости не выявлено, асцита нет. Мочеиспускание не нарушено, моча темно бурого цвета, при ректальном исследовании следы светлого кала.

Анализ крови от 15.07.2021 на гепатиты В и С отрицательны. Биохимический анализ крови от 15.07.2021: общий белок 70 г/л, мочевины 4,7 ммоль/л, креатинин 96 мкмоль/л, билирубин общий 420 мкмоль/л (прямой 378 мкмоль/л, непрямой 49 мкмоль/л), панкреатическая амилаза крови 26 Ед/л, глюкоза 3,92 ммоль/л, АСТ 390 Ед/л, АЛТ 320 Ед/л, ЩФ 460 Ед/л, С-реактивный белок 1,6 мг/л. Клинический анализ мочи от 15.07.2021: цвет темно-коричневый, относительная плотность 1,39 г/мл, pH 6,5, уробилиноиды 2,8 мкмоль/л, билирубин 18,5 мкмоль/л. Показатели общего анализа крови, гемостазиограммы в пределах нормальных величин.

Пациентке были выполнены необходимые инструментальные исследования. ЭКГ от 15.07.2021: синусовый ритм, ЧСС 76 уд/мин, ЭОС резко отклонена влево, блокада передней ветви левой ножки пучка Гисса. Рентгенография органов грудной клетки от 15.07.2021: без патологии. Заключение УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства от 15.07.2021: холедохолитиаз (одиночный конкремент 20 мм терминального отдела общего желчного протока), признаки билиарной гипертензии (расширение внутрипеченочных желчных протоков до 5-7 мм, общего желчного протока до 21 мм).

В срочном порядке больной 16.07.2021 под внутривенным наркозом выполнена гастродуоденоскопия (дуоденоскоп JF-Q150, Olympus), канюляция общего желчного протока. С целью минимизации риска вирусного гепатита и послеоперационного панкреатита, предварительного контрастирования протоковых систем из устья БДС двенадцатиперстной кишки не проводили и ориентировались на положение рентгенконтрастного проводника при рентгеноскопии. После подтверждения нахождения проводника в общем желчном протоке выполнена папиллотомия протяженностью 5 мм, до уровня 1-й поперечной складки, баллонная дилатация устья общего желчного протока баллонами QBD-10x3 (Wilson-Cook) до 10 мм. При не-

однократных попытках извлечь конкремент не удается в связи с невозможностью провести литоэкстрактор выше конкремента и неполным его охватом корзиной Dormia. Решено выполнить пероральную холангиоскопию, лазерное внутрипротоковое дробление конкремента с последующей его литоэкстракцией.

После замены дуоденоскопа на ультратонкий гастроскоп Olympus GIF-N180 с наружным диаметром 4,9 мм, последний проведен в двенадцатиперстную кишку, далее в терминальный отдел общего желчного протока. В связи с высокой эластичностью этой модели прибора, для создания жесткости использовали нитиноловую струну-проводник диаметром 0,035"/0,89 мм, вводимую в инструментальный канал эндоскопа.

После этапа холангиоскопии и визуализации конкремента проводник удален из просвета эндоскопа, общий желчный проток без давления заполнен физиологически раствором натрия хлорида с последующей его аспирацией (рис. 1). Этот маневр в ряде случаев позволяет «низводить» конкремент непосредственно к кончику эндоскопа, расположенного в общем желчном протоке.

Для лазерной литотрипсии использовали лазерное оптическое волокно толщиной 200 мкм и 400 мкм, которое проводили первоначально в тefлоновый катетер длиной 1,5 м, диаметром 1,5 мм, предназна-

ченный для использования с инструментальными каналами эндоскопов до 2,0 мм. Катетер имел дополнительный порт для подачи жидкости. Использование подобной конструкции позволяет защитить инструментальный канал эндоскопа от повреждения оптическим лазерным волокном, а также само волокно от заломов, делает более управляемым положение лазерного волокна в просвете желчных протоков.

После проведения катетера через инструментальный канал эндоскопа осуществляли подачу жидкости в просвет общего желчного протока, оптическое волокно выводили на 5 мм из просвета тefлонового катетера и подводили его непосредственно к конкременту.

Для проведения внутрипротоковой литотрипсии использовали тулиевый лазер «Уролаз» в следующих режимах: настройка энергии – 0,025-0,05-0,1 Дж, максимум до 0,5 Дж. Средняя мощность 6-10 Вт. Следует отметить, чем выше средняя мощность, тем больше эффект дробления и нагрев жидкости. Чем выше энергия в импульсе, тем больше эффект дробления, но при этом увеличивается и риск повреждения стенки общего желчного протока при прямом попадании на нее лазерного импульса.

Лазерное воздействие проводили импульсами в водной среде с целью профилактики карбонизации волокна световода и задымления. Эффект воздействия на конкремент проявлялся в его фрагмента-

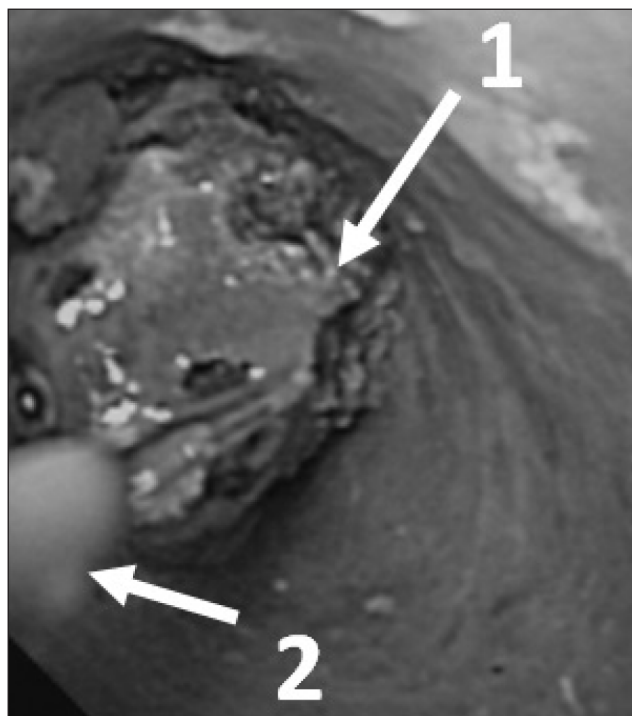


Рис. 1. Этап холангиоскопии и визуализации конкремента в общем желчном протоке: 1 – концевая часть лазерного оптического волокна; 2 – конкремент.

Fig. 1. Cholangioscopy and visualization of the concretion in the common bile duct: 1 – the end part of the laser optic fiber; 2 – concretion.

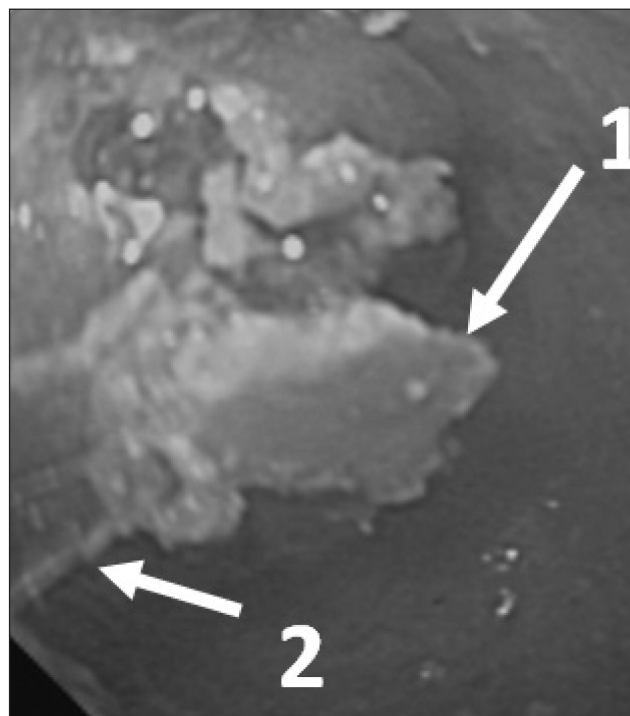


Рис. 2. Этап лазерной литотрипсии: 1 – концевая часть лазерного оптического волокна; 2 – фрагмент конкремента.

Fig. 2. Stage of laser lithotripsy: 1 – end part of the laser optical fiber; 2 – a fragment of a calculus.

ции и образовании мелких частиц (рис. 2). При этом повреждения слизистой оболочки общего желчного протока не отмечено, несмотря на имевшее место соскальзывания оптического лазерного волокна с конкремента.

Оперативное вмешательство завершилось вымыванием и извлечением фрагментов конкремента корзиной Дормиа. Общая продолжительность вмешательства составила 45 мин.

Течение послеоперационного периода гладкое, без осложнений. Пациентка выписана с рекомендациями из стационара 22.07.2021 в удовлетворительном состоянии под наблюдение хирурга по месту жительства. Общий билирубин на день выписки 62 мкмоль/л (прямой 41 мкмоль/л, непрямой 21 мкмоль/л), АСТ 80 Ед/л, АЛТ 65 Ед/л, ЩФ 180 Ед/л.

Обсуждение

В последние годы за рубежом при невозможности выполнения механической литотрипсии и литоэкстракции из общего желчного протока при холедохолитиазе стали применять методики эндоскопического лазерного или электрогидравлического разрушения крупных конкрементов с последующей санацией протока и извлечением фрагментов корзиной Дормиа. Эффективность лазерной литотрипсии несколько выше электрогидравлической: 99% и 96,7% соответственно [5, 6].

Впервые использование лазерных технологий началось более 23 лет назад в урологии при уrolитиазе, а затем и в челюстно-лицевой хирургии при сиалолиитиазе. В основе механизма разрушения конкрементов импульсами свободной генерации этих лазеров лежит эффект взрывной ваворизации конкремента, что приводит к его бесконтрольному разлому на мелкие фрагменты [7, 8].

Долгое время основным вариантом внутрипротоковой лазерной литотрипсии было использование гольмиевого лазера. В 2013–2015 гг. стали появляться первые публикации о возможностях нового вида лазера, в основе действия которого находятся ионы редкоземельного металла тулия (№ 69), который, как и гольмий (№ 67), относится к лантаноидам [9–12]. Однако тулиевые лазеры имеют более высокую степень поглощения их излучения водой по сравнению с гольмиевыми. В отечественной медицинской литературе имеются лишь единичные сведения об использовании лазерных технологий при холедохолитиазе, поэтому многие вопросы их технического выполнения, показания и противопоказания, выбор оптимальных рабочих режимов безопасного воздействия на желчные протоки еще требуют дальнейшего изучения [3, 9].

Наш первый опыт клинического применения методики пероральной внутрипросветной лазерной литотрипсии крупного конкремента общего желчно-

го протока с помощью фиброволоконного тулиевого лазера завершился полным успехом. Всего в клинике успешно выполнены 3 подобных оперативных вмешательства при холедохолитиазе (1 клинический случай, представленный выше, и 2 наблюдения при остром калькулезном холецистите, осложненном холедохолитиазом и холангитом).

Эндоскопическая лазерная литотрипсия конкрементов общего желчного протока с последующей литоэкстракцией позволяет при невозможности выполнения традиционной ЭРХПГ, ЭПСТ и литоэкстракции не прибегать к открытой (лапаротомной) операции или к лапароскопической холедохотомии и удалению конкрементов, которая может оказаться технически сложным и не всегда выполнимым оперативным вмешательством.

Помимо неоспоримых достоинств методика традиционной ЭРХПГ, ЭПСТ и литоэкстракции имеет и свои недостатки. Так, для извлечения крупных конкрементов из общего желчного протока необходима их предварительная механическая фрагментация и ЭПСТ. Выполнение ЭПСТ на высоте механической желтухи, нарушений свертывающей системы крови (высокий уровень МНО, прием антикоагулянтных препаратов и др.) значительно повышает риск кровотечения и представляет определенную угрозу для жизни больного. Нередки случаи ущемления корзины Дормиа с захваченным крупным конкрементом в интрапанкреатической части общего желчного протока, что приводит к необходимости выполнения уже открытого оперативного вмешательства для извлечения инструмента с конкрементом. Не всегда удается завести корзину Дормиа выше места обструкции общего желчного протока конкрементом и его захват, а чрезмерные и грубые манипуляции литоэкстрактором могут привести к перфорации стенки протока. Крупные конкременты с плотной структурой не всегда можно фрагментировать с помощью корзины Дормиа или других литоэкстракторов.

Еще один очень важный факт: ЭПСТ помимо риска кровотечения, перфорации задней стенки двенадцатиперстной кишки приводит к неизбежной дисфункции сфинктера Одди, а в некоторых случаях и к холангитам.

Пероральная внутрипросветная лазерная литотрипсия позволяет в короткие временные сроки фрагментировать крупный конкремент даже плотной структуры, при этом отпадает необходимость выполнения ЭПСТ со всеми вытекающими рисками ее осложнений. Для извлечения фрагментов конкремента из общего желчного протока достаточно выполнения только папиллотомии без разрушения сфинктерного аппарата БДС или баллонной дилатации. Риск возникновения осложнений, таких как кровотечение, перфорация задней стенки двенадцатиперстной кишки или общего желчного протока, постманипуляционный

панкреатит при эндоскопической лазерной литотрипсии значительно ниже, чем при традиционной ЭРХПГ, ЭПСТ и литоэкстракции. Указанных осложнений при выполнении методики пероральной внутрипросветной лазерной литотрипсии мы не наблюдали.

Заключение

Таким образом, эндоскопическая лазерная литотрипсия с последующей литоэкстракцией является эффективным и безопасным минимально инвазивным методом лечения холедохолитиаза при крупных или ущемленных конкрементах в общем желчном протоке, позволяет избежать необходимости выполнения ЭПСТ и нарушения анатомической целостности и физиологической функции сфинктера Одди. Возможна полноценная визуальная ревизия общего желчного протока до и после санации, процесс литотрипсии осуществляется под визуальным контролем в режиме реального времени. Удаётся избежать нежелательных повреждений стенки общего желчного протока и сократить длительность вмешательства за счёт прицельного подведения торца лазерного световода к поверхности конкремента, снизить риск возникновения специфических для ЭРХПГ и ЭПСТ осложнений. Данная методика может рассматриваться в качестве основного метода лечения холедохолитиаза, при неэффективности традиционной ЭРХПГ, ЭПСТ и литоэкстракции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gutierrez O.I., Bekkali N.L.H., Rajman I., Sturgess R., Sejpal D.V., Aridi H.D. Efficacy and Safety of Digital Single-Operator Cholangioscopy for Difficult Biliary Stones. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2018. – Vol. 16(6). – P. 918-926. DOI: 10.1016/j.cgh.2017.10.017.
2. Komanduri S., Thosani N., Abu Dayyeh B.K., Aslanian H.R., Enestvedt B.K., Manfredi M. Cholangiopancreatography // *Gastrointest. Endosc.* – 2016. – Vol. 8(2). – P. 209-211. DOI: 10.1016/j.gie.2016.03.013.
3. Хрячков В.В., Левченко Н.В., Белоусов В.В. Прицельная контактная лазерная литотрипсия - новые возможности в лечении желчно-каменной болезни // *Успехи сов-ременного естествознания.* – 2008. – №5. – С.152-154.
4. Buxbaum J.L., Abbas Fehmi S.M., Sultan S., Fishman D.S., Qumsey B.J., Cortessis V.K. ASGE guideline on the role of endoscopy in the evaluation and management of choledocholithiasis // *Gastrointest. Endosc.* – 2019. – Vol. 89(6). – P. 1075-1085. DOI: 10.1016/j.gie.2018.10.001.
5. Becker B., Gross A.J., Netsch C. Ho:YAG laser lithotripsy: recent innovations // *Curr. Opin. Urol.* – 2019. – Vol. 29(2). – P. 103-107. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000573.
6. Mutignani M., Dioscoridi L., Italia A., Forti E., Pugliese F., Cintolo M. Thulium laser to manage a difficult biliary lithiasis: a first case report // *Endoscopy.* – 2020 – Vol.52. (3). – P.112-113. DOI: 10.1055/a-0983-8278.
7. Enikeev D.V., Glybochko P.V., Okhunov Z., Alyaev Y.G., Rapoport L.M., Tsarichenko D. Retrospective Analysis of Short-Term Outcomes after Monopolar Versus Laser Endoscopic Enucleation of the Prostate: A Single Center Experience // *J. Endourol.* – 2018. – Vol. 32(5). – P. 17-23. DOI: 10.1089/end.2017.0898.
8. Keller E.X., Coninck V., Vinnichenko V., Chiron P., Doizi S., Guseynov M. Thulium fiber laser for lithotripsy of large renal stones: initial experience // *J. Urology.* – 2019. – Vol. 201(1). – P. 88. DOI: 10.1097/01.JU.0000555081.f17f03.f1f.
9. Будзинский С.А., Шаповальянц С.Г., Федоров Е.Д., Воробьева Е.А., Свиринов М.Ю., Малахов М.Г., Черныкевич П.Л., Платонова Е.Н. Первый опыт применения суперимпульсного волоконного тулиевого лазера для контактного разрушения камней общего желчного и главного панкреатического протока // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2021. – Т.31, №2. – С.54-64. DOI: 10.22416/1382-4376-2021-31-2-54-64.
10. McCarty T.R., Sobani Z., Rustagi T. Peroral pancreatoscopy with intraductal lithotripsy for difficult pancreatic duct stones: a systematic review and meta-analysis // *Endosc. Int. Open.* – 2020. – Vol. 8(1). – P. 60-70. DOI: 10.1055/a-1236-3187.
11. Gao B., Bobrowski A., Lee J. A scoping review of the clinical efficacy and safety of the novel thulium fiber laser: The rising star of laser lithotripsy // *Can. Urol. Assoc. J.* – 2021. – Vol. 15(2). – P. 56-66. DOI: 10.5f89/cuaj.680f.
12. Kronenberg P., Traxer O. The laser of the future: reality and expectations about the new thulium fiber laser: a systematic review // *Transl. Androl. Urol.* – 2019. – N8. – P. 398-407. DOI:10.21037/tau.2019.08.01.

физиологической функции сфинктера Одди. Возможна полноценная визуальная ревизия общего желчного протока до и после санации, процесс литотрипсии осуществляется под визуальным контролем в режиме реального времени. Удаётся избежать нежелательных повреждений стенки общего желчного протока и сократить длительность вмешательства за счёт прицельного подведения торца лазерного световода к поверхности конкремента, снизить риск возникновения специфических для ЭРХПГ и ЭПСТ осложнений. Данная методика может рассматриваться в качестве основного метода лечения холедохолитиаза, при неэффективности традиционной ЭРХПГ, ЭПСТ и литоэкстракции.

REFERENCES

1. Gutierrez O.I., Bekkali N.L.H., Rajman I., Sturgess R., Sejpal D.V., Aridi H.D. Efficacy and Safety of Digital Single-Operator Cholangioscopy for Difficult Biliary Stones. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2018. – Vol. 16(6), pp. 918-926. DOI:10.1016/j.cgh.2017.10.017.
2. Komanduri S., Thosani N., Abu Dayyeh B.K., Aslanian H.R., Enestvedt B.K., Manfredi M. Cholangiopancreatography. // *Gastrointest. Endosc.* – 2016, Vol. 8(2), pp. 209-211. DOI: 10.1016/j.gie.2016.03.013.
3. Hryachkov V.V., Levchenko N.V., Belousov V.V. Targeted contact laser lithotripsy - new opportunities in the treatment of gallstone disease. // *Successes of modern natural science*, 2008, No. 5, pp.152-154.
4. Buxbaum J.L., Abbas Fehmi S.M., Sultan S., Fishman D.S., Qumsey B.J., Cortessis V.K. ASGE guideline on the role of endoscopy in the evaluation and management of choledocholithiasis. // *Gastrointest. Endosc.* – 2019, Vol. 89(6), pp. 1075-1085. DOI: 10.1016/j.gie.2018.10.001.
5. Becker B., Gross A.J., Netsch C. Ho:YAG laser lithotripsy: recent innovations. // *Curr. Opin. Urol.* – 2019, Vol. 29(2), pp. 103-107. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000573.
6. Mutignani M., Dioscoridi L., Italia A., Forti E., Pugliese F., Cintolo M. Thulium laser to manage a difficult biliary lithiasis: a first case report. // *Endoscopy*, 2020, Vol.52. (3). pp.112-113. DOI: 10.1055/a-0983-8278.
7. Enikeev D.V., Glybochko P.V., Okhunov Z., Alyaev Y.G., Rapoport L.M., Tsarichenko D. Retrospective Analysis of Short-Term Outcomes after Monopolar Versus Laser Endoscopic Enucleation of the Prostate: A Single Center Experience. // *J. Endourol.* – 2018, Vol. 32(5), pp. 17-23. DOI: 10.1089/end.2017.0898.
8. Keller E.X., Coninck V., Vinnichenko V., Chiron P., Doizi S., Guseynov M. Thulium fiber laser for lithotripsy of large renal stones: initial experience. // *J. Urology*, 2019, Vol. 201(1), pp. 88. DOI: 10.1097/01.JU.0000555081.f17f03.f1f.
9. Budzinsky S.A., Shapovalyants S.G., Fedorov E.D., Vorobyeva E.A., Svirin M.Yu., Malyarov M.G., Chernyakevich P.L., Platonova E.N. The first experience of using a superimpulse fiber tulium laser for contact destruction of stones of the common bile and main pancreatic duct. // *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2021, Vol.31(2), pp.54-64. DOI: 10.22416/1382-4376-2021-31-2-54-64.
10. McCarty T.R., Sobani Z., Rustagi T. Peroral pancreatoscopy with intraductal lithotripsy for difficult pancreatic duct stones: a systematic review and meta-analysis. // *Endosc. Int. Open*, 2020, Vol. 8(1), pp. 60-70. DOI: 10.1055/a-1236-3187.
11. Gao B., Bobrowski A., Lee J. A scoping review of the clinical efficacy and safety of the novel thulium fiber laser: The rising star of laser lithotripsy. // *Can. Urol. Assoc. J.* – 2021, Vol. 15(2), pp. 56-66. DOI: 10.5f89/cuaj.680f.
12. Kronenberg P., Traxer O. The laser of the future: reality and expectations about the new thulium fiber laser: a systematic review. // *Transl. Androl. Urol.* – 2019, N8, pp. 398-407. DOI:10.21037/tau.2019.08.01.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Общие требования к представленным материалам

Ответственность Автора

Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не допускается направление в редакцию работ, которые были напечатаны в других изданиях или посланы для публикации в другие редакции. Ответственность за предоставление материалов, полностью или частично опубликованных в другом печатном издании, несет Автор.

Автор гарантирует наличие у него исключительных прав на использование переданного Редакции материала. В случае нарушения данной гарантии и предъявления в связи с этим претензий к Редакции, Автор самостоятельно и за свой счет обязуется урегулировать все претензии. Редакция не несет ответственности перед третьими лицами за нарушение данных Автором гарантий. За достоверность и полноту сведений, изложенных в публикациях, а также за точность информации по цитируемой литературе, несет ответственность Автор статей.

Процедура предоставления статьи в Редакцию

Статьи в редакцию журнала подают через форму на сайте журнала www.pdt-journal.com.

Автору, ответственному за контакты с Редакцией, необходимо пройти на сайте журнала процедуру регистрации, после чего появляется техническая возможность направить статью в редакцию через специальную форму.

Общие требования

Автор, ответственный за контакты с Редакцией, загружает статью на сайт журнала отдельным файлом в формате doc. или docx.

Метаданные необходимо дополнительно внести в отдельную электронную форму.

Текст статьи в прикрепленном файле должен быть набран в текстовом редакторе кеглем 12 пунктов через 1,5 интервала, желательно шрифтом Times New Roman Cyr, перенос слов не делается, абзацный отступ – 10 мм. Размеры полей: верхнее и нижнее – 20 мм, левое – 30 мм, правое – 20 мм. Рекомендуемый объем статьи, включая таблицы и литературу – в пределах 12–15 страниц формата A4. Все страницы должны быть пронумерованы.

Титульная страница

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.

Все вышеперечисленные разделы дублируются на английском языке.

Разделы статьи

Оригинальные статьи должны содержать следующие разделы: введение, материал и методы, результаты, обсуждение (последние два раздела могут быть объединены), заключение. Названия разделов должны быть выделены полужирным шрифтом.

Обзоры литературы могут быть не структурированы.

Аббревиатуры

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).

Таблицы

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

Таблицы нумеруются в соответствии с порядком их цитирования в тексте. Каждая таблица должна иметь краткое название и иметь ссылки в тексте (например: табл. 1). Единственная таблица в статье не нумеруется. Заголовки граф должны точно соответствовать их содержанию. Использованные в таблице сокращения подлежат расшифровке в конце таблицы.

Названия таблиц и вся информация в таблицах дублируется на английском языке.

Рисунки

Рисунки должны дополнять имеющиеся в статье таблицы и текст, а не дублировать их.

Фотографии должны быть контрастными, рисунки – четкими. Имеющиеся в статье графики должны быть представлены (возможно, отдельным файлом) в виде таблиц с исходными данными.

На микрофотографиях необходимо указать метод окраски, увеличение.

Рисунки нумеруются в соответствии с порядком их цитирования в тексте. Каждый рисунок должен иметь краткое название и иметь ссылки в тексте (например: рис. 1). Единственный рисунок в статье не нумеруется.

Не следует использовать на рисунках, в том числе на графиках, краткие обозначения, даже расшифрованные в тексте (t, S и др.).

Все подписи к рисункам дублируются на английском языке.

Все текстовые надписи на рисунках также дублируются на английском языке через слэш.

Все статьи, поступающие в редакцию, проходят многоступенчатое рецензирование, замечания рецензентов направляются автору без указания имен рецензентов через личный кабинет на сайте журнала. 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.

Редакция имеет право частично или полностью предоставлять материалы научных статей в российские и зарубежные организации, обеспечивающие индексацию научных публикаций, а также размещать данные материалы на интернет-сайте журнала.

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

Полные правила с примерами оформления титульной страницы, рисунков, таблиц и списка литературы, приведены на сайте журнала в разделе «Правила для авторов» <https://www.pdt-journal.com/jour/about/submissions#authorGuidelines>.



ЖИВАЯ
ЭНЕРГИЯ
СВЕТА



Фоторан е₆®

НОВЫЙ РОССИЙСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

- ✓ Действующее вещество природного происхождения
- ✓ Быстрое накопление в патологической ткани – 1,5-3 часа
- ✓ Отсутствие аллергических реакций
- ✓ Длительное хранение без потери активности вещества – 3 года
- ✓ Отсутствие гепато и нефротоксичности, низкая фототоксичность
- ✓ Низкая стоимость

ПАРТНЁРЫ:



Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии

Адыгейский республиканский
онкологический диспансер

СККОД

ГБУЗ Челябинский областной клинический
центр онкологии и ядерной медицины

По вопросам
приобретения

+7 (495) 659-64-93
+7 (499) 726-26-98



ФОТОДИТАЗИН®

[fotoditazin]

ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР ХЛОРИНОВОГО РЯДА



«ФОТОДИТАЗИН®» гель — РУ № ФСР 2012/13043 от 03.02.2012 г.

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

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

- | | |
|------------------------|-----------------------------|
| ✓ дерматология | ✓ офтальмология |
| ✓ гинекология | ✓ травматология и ортопедия |
| ✓ урология | ✓ комбустиология |
| ✓ торакальная хирургия | ✓ гнойная хирургия |
| ✓ стоматология | ✓ ангиология |
| ✓ нейрохирургия | |

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“»

 www.fotoditazin.com
www.фотодитазин.рф

ООО «БЕТА-ГРАНД»

123056, г. Москва, ул. Красина, д. 27, стр. 2
Тел.: +7 (499) 253-61-81, +7 (499) 250-40-00
E-mail: fotoditazin@mail.ru

