ISSN 2413-9432

RNR

# BIOMEDICAL Photonics

#### том 11, № 4, 2022

#### **B HOMEPE:**

- Эффективность in vitro инактивации бактерий Bacillus subtilis и Escherichia coli в стерилизаторах с использованием облучения в фиолетовой области
- Разработка метода оценки глубины проникновения этосом с метиленовым синим в кожу при аппликационном применении и фотодинамическим воздействии
- Фотодинамическая терапия при раке полости рта у соматически отягощенных больных
- Прогнозирование влияния фотодинамической терапии на выживаемость у пациентов с IV стадией злокачественных новообразований поджелудочной железы
- Флуоресцентная диагностика при немеланоцитарных опухолях кожи

# Российская Фотодинамическая Ассоциация



www.pdt-association.com

# **BIOMEDICAL PHOTONICS**

#### **BIOMEDICAL PHOTONICS -**

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

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

Издательство и типография: ООО «Группа Компаний Море». г. Москва, ул. Воронцовская, д. 34, корп. 10, офис 47, 56

#### Редакция:

Зав. редакциейИванова-Радкевич В.И.Научный редакторпроф. Мамонтов А.С.Литературный редакторМоисеева Р.Н.ПереводчикиУрлова А.Н.компьютерный дизайнКренева Е.В.Компьютерная версткаЦветкова 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 полупродуктов 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 автоматики и управления Нанси (Нанси, Франция)

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

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

# **BIOMEDICAL PHOTONICS**

#### FOUNDERS:

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

#### EDITOR-IN-CHIEF:

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

#### **DEPUTY CHIEF EDITOR:**

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

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

#### **EDITORIAL BOARD:**

Kaplan M.A., Dr. Sci. (Med.), professor, chief 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.

**ДЕРЖАНИЕ / CONTENTS** 

#### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Эффективность in vitro инактивации бактерий Bacillus subtilis и Escherichia coli в стерилизаторах с использованием облучения в фиолетовой области A.K. Yaqubi, S.D. Astuti, P.A.D. Permatasari, N. Komariyah, E. Endarko, A.H. Zaidan

Разработка метода оценки глубины проникновения этосом с метиленовым синим в кожу при аппликационном применении и фотодинамическим воздействии А.Г. Логинова, И.С. Никитенко, Г.В. Тихоновский, 11 А.С. Скобельцин, А.В. Войтова, В.Б. Лощенов

Фотодинамическая терапия при раке полости рта у соматически отягощенных больных Ю.А. Панасейкин, В.Н. Капинус, Е.В. Филоненко, В.В. Полькин, Ф.Е. Севрюков, П.А. Исаев, 19 С.А. Иванов, А.Д. Каприн

Прогнозирование влияния фотодинамической терапии на выживаемость у пациентов с IV стадией злокачественных новообразований поджелудочной железы А.Е. Цеймах, С.Г. Штофин, В.А. Куртуков, В.Н. Теплухин, Я.Н. Шойхет, М.Е. Цеймах

#### ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

| Флуоресцентная диагностика при        |  |  |  |  |  |
|---------------------------------------|--|--|--|--|--|
| немеланоцитарных опухолях кожи        |  |  |  |  |  |
| Е.В. Филоненко, В.И. Иванова-Радкевич |  |  |  |  |  |

#### **ORIGINAL ARTICLES**

4

25

32

Effectiveness of purple led for inactivation of Bacillus subtilis and Escherichia coli bacteria in in vitro sterilizers Yaqubi A.K., Astuti S.D., Permatasari P.A.D., 4 Komariyah N., Endarko E., Zaidan A.H. Development of a method for assessing the depth of penetration of ethosomes with methylene blue into the skin during application and photodynamic exposure Loginova A.G., Nikitenko I.S., Tikhonovsky G.V., 11 Skobeltsin A.S., Voitova A.V., Loschenov V.B. Photodynamic therapy treatment of oral cavity cancer in patients with comorbidities Panaseykin Y.A., Kapinus V.N., Filonenko E.V., Polkin V.V., Sevrukov F.E., Isaev P.A., Ivanov S.A., 19 Kaprin A.D. Prediction of the effect of hotodynamic therapy on survival in patients with stage IV of pancreatic cancer

Tseimakh A.E., Shtofin S.G., Kurtukov V.A., 25 Teplukhin V.N., Shoykhet Ia. N., Tseimakh M.E.

#### **REVIEWS OF LITERATURE**

| Fluorescent diagnostics of non-melanoma skin |    |  |  |  |
|--|----|--|--|--|
| cancer                                       |    |  |  |  |
| Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I.       | 32 |  |  |  |

ΟΡИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

#### EFFECTIVENESS OF PURPLE LED FOR INACTIVATION OF BACILLUS SUBTILIS AND ESCHERICHIA COLI BACTERIA IN IN VITRO STERILIZERS

Yaqubi A.K.<sup>1</sup>, Astuti S.D.<sup>2</sup>, Permatasari P.A.D.<sup>3</sup>, Komariyah N.<sup>2</sup>, Endarko E.<sup>3</sup>, Zaidan A.H.<sup>4</sup> <sup>1</sup>Doctorate Degree, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia <sup>2</sup>Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Deapartemen of Mathematics, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

<sup>4</sup>Physics Study Program, Department of Physics, Faculty of Science and Data Analytics, Sepuluh Nopember Institute of Technology, Surabaya, Indonesia

#### Abstract

Bacteria are inactivated using a technique called photodynamic inactivation, which combines light with a photosensitizer with the right spectrum. The objective of this study is to ascertain the efficiency of purple LEDs for photoinactivating *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria as well as the ideal purple LED exposure energy density. This study technique involves exposing bacteria to purple LED radiation. Two elements of variation are used during irradiation. The first variation is the illumination variation at distances of 3 cm, 6 cm, 9 cm, and 12 cm. The second variation involves changing the amount of radiation for 30, 60, 90, and 120 minutes. The Total Plate Count (TPC) method was used to count the number of colonies. Statistical tests were utilized in data analysis, namely the One Way Anova test (analysis of variance). The results of this study indicated that 395 nm purple LED irradiation caused a decrease in Log CFU/mL of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria. Inactivation of *Bacillus subtilis* bacteria showed a higher mortality percentage than *Escherichia coli* bacteria. Changes in other irradiation distances also showed a higher percentage of death for *Bacillus subtilis* bacteria at position C with an irradiation distance of 3 cm and an energy density of 524 J/cm<sup>2</sup> with an LED exposure time of 120 minutes. This shows that the percentage of death of bacteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* increased with increasing doses of LED energy with the greatest percentage of death in Gram-positive bacteria *Bacillus subtilis*.

Key words: health security, photodynamic inactivation, purple LED, Bacillus subtilis, Escherichia coli.

For citations: Yaqubi A.K., Astuti S.D., Permatasari P.A.D., Komariyah N., Endarko E., Zaidan A.H. Effectiveness of purple LED for inactivation of Bacillus subtilis and Escherichia coli bacteria in in vitro sterilizers, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 4–10. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-4-10.

Contacts: Astuti S.D., e-mail: suryanidyah@fst.unair.ac.id

#### ЭФФЕКТИВНОСТЬ IN VITRO ИНАКТИВАЦИИ БАКТЕРИЙ BACILLUS SUBTILIS И ESCHERICHIA COLI В СТЕРИЛИЗАТОРАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОБЛУЧЕНИЯ В ФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ

A.K. Yaqubi<sup>1</sup>, S.D. Astuti<sup>2</sup>, P.A.D. Permatasari<sup>3</sup>, N. Komariyah<sup>2</sup>, E. Endarko<sup>3</sup>, A.H. Zaidan<sup>4</sup> <sup>1</sup>Doctorate Degree, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Deapartemen of Mathematics, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

<sup>4</sup>Physics Study Program, Department of Physics, Faculty of Science and Data Analytics, Sepuluh Nopember Institute of Technology, Surabaya, Indonesia

#### Резюме

Инактивация бактерий может быть выполнена с использованием метода, называемого фотодинамической инактивацией, в основе которого лежит активация фотосенсибилизатора светом определенного спектра. Целью данного исследования является определение эффективности светодиодов с излучением в фиолетовой области спектра для фотоинактивации бактерий Bacillus subtilis и Escherichia coli, а также определение оптимальной плотности энергии воздействия. При облучении были использованы два изменяемых параметра. Первый параметр — это расстояние от источника облучения до облучаемой поверхности (3 см, 6 см, 9 см и 12 см). Второй параметр – время облучения (30, 60, 90 и 120 мин). Для подсчета количества колоний использовали метод общего подсчета чашек (Total Plate Count). При анализе данных использовали статистические тесты, а именно тест One Way Anova (дисперсионный анализ). Результаты этого исследования показали, что светодиодное излучение в фиолетовой области спектра с длиной волны 395 нм вызывало снижение log KOE/мл бактерий *Bacillus subtilis и Escherichia coli*. Воздействие на бактерии *Bacillus subtilis* показало более высокий процент смертности, чем для бактерий *Escherichia coli*. Лучшие результаты были получены при расстоянии до источника облучения 3 см, плотности энергии 524 Дж/см<sup>2</sup>, и времени воздействия светодиода 120 мин. В этом режиме было инактивировано 98,5% бактерий *Bacillus subtilis* и *94*,3% бактерий *Escherichia coli*.

Ключевые слова: безопасность, фотодинамическая инактивация, фиолетовый светодиод, Bacillus subtilis, Escherichia coli.

**Для цитирования:** Yaqubi A.K., Astuti S.D., Permatasari P.A.D., Komariyah N., Endarko E., Zaidan A.H. Эффективность *in vitro* инактивации бактерий *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* в стерилизаторах с использованием облучения в фиолетовой области// Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 4. – С. 4–10. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-4-10.

Контакты: Astuti S.D., e-mail: suryanidyah@fst.unair.ac.id

#### Introduction

The goal of sterilizing health services is to achieve the best/highest level of individual/community health by effort, work, or health-related activities. In hospitals and other healthcare facilities in Indonesia, infection and sepsis continue to be among the leading causes of mortality and morbidity. The spread of infections and diseases can have a negative impact on the health of employees, patients, and the medical procedures performed at healthcare facilities. The presence of contaminating bacteria as an infection source has a significant impact in settings that should be kept sterile, including operating rooms, laboratories, and existing medical equipment. Bacillus subtilis is a common contamination microorganism detected in medical equipment. Escherichia coli is the bacteria that is frequently discovered in food. These bacteria's spores are also agents that contribute to food spoiling, operate as disease vectors, and can alter food quality, which makes them a serious problem for the food industry [1].

Additionally, the cleanliness of the food we eat has an impact on our health. The application of cleanliness, safety, comfort, and regularity which decreases or even avoids the possibility of contamination is the primary principle of food sanitation. using food sanitation to regulate the usage of raw materials, processing locations, and auxiliary equipment [2]. It must be ensured that the tools used are clean before they may be used to prepare and serve food.

All biological forms are eliminated during sterilization. From a microbiological perspective, a thing is free of living microorganisms if it is sterile. Among all living things, bacterial spores are the most resistant to sterilization. The quantity and kind of microorganisms, the degree and type of contamination by other substances, and whether or not microorganisms are present on the device all affect how effectively a device is sterilized [3]. Dental instruments and other items that come into contact with blood or bodily tissue must be sterilized. Dry heat sterilization is one of the most popular sterilization processes. The drawbacks of the dry heat sterilization approach include the lengthier sterilization time, the slow and uneven material penetration, the need for an oven and a constant power source, the inability to disinfect plastic and rubber devices, and the high cost of the sterilizing equipment. In order to effectively inactivate contaminating bacteria, a different approach including photodynamic inactivation is therefore required. Previous studies have been conducted to see the effectiveness of light for inactivating bacteria and fungi [4, 5].

Photoinactivation is the process of preventing cellular metabolism due to cytoplasmic membrane damage brought on by reactive oxygen in lipids and proteins [6]. The membrane transport system in the bacterial cell is either inactive or undergoes cell lysis as a result of reactive oxygen. The light source, the photosensitizer as a substance, and the free radicals that lead to cell inactivation are the three primary causes of photodynamic' success. Endogenous porphyrins, which some bacteria naturally create and which are photosensitizers and lightabsorbing compounds (sensitive to light). Every porphyrin molecule has the capacity to absorb light of a specific wavelength [7]. Bacterial cells will be photo inactivated when the right combination of light and photosensitizer is used [8]. A photosensitization mechanism, such as the absorption of light by porphyrins, triggers reactions in the substrate to begin the photoinactivation process. External photosensitizers from various materials such as chemicals [9], drugs [10], organic/natural materials [11] and metals [12] can be added to increase the effectiveness of photoinactivation. The type and number of photosensitizers, which act as light-absorbing molecules, determine this photosensitization.

The Light-emitting diode (LED), a complicated semiconductor that can convert electrical energy into light, has the advantage of only releasing a little amount of heat in the light it generates. It is one of the light sources that has a porphyrin absorption spectrum range of the photosensitizer type. The porphyrin absorption spectral region of the photosensitizer type is present in LED light sources. Additionally, because LEDs only generate a minimal amount of heat in the light they provide, they are superior to conventional light sources for the phototherapy process [13]. Previous studies demonstrated the ability of LEDs to inactivate bacteria [5, 14, 15]

The result study previously showed that a purple LED with a wavelength of 408.6 nm, energy of 61.2 joules, and a photoinactivation effect of 42.11% was the best light source for inactivating S. mutans [14]. In another investigation the visible light with a wavelength of 405 nm used to test the susceptibility of Bacillus and Clostridium endospores [16]. Another study with light 405 nm showed endospores can greatly be affected by light's bactericidal effects [17]. In contrast, the inactivation of the Listeria monocytogenes bacteria utilizing high-intensity light with a 405 nm wavelength [18]. The findings demonstrated that optimum inactivation is induced by exposure to the 400-450 nm wavelength range at a rather high dose level (750 J/cm<sup>2</sup>). Longer than 450 nm exposure does not result in substantial inactivation. The most efficient wavelength for inactivating L. monocytogenes is 405 nm of light, according to an analysis with a 10 nm bandwidth between 400 and 450 nm. These findings informed the choice of a shorter wavelength, higher intensity purple LED light source for this research. In this study, Bacillus subtilis and Escherichia coli bacteria will be photo inactivated in vitro using the best purple LED exposure energy density and effectiveness.

#### Materials and methods

#### **Bacterial Culture**

The bacterial strain, Bacillus subtilis ATCC 9466 and

*Escherichia coli* ATCC 25922 was inoculated from Tryptone Soy Agar (Oxoid, UK) and taken on Tryptone Soy Broth sterile (Oxoid, UK). The culture of bacteria was incubated at 37°C until bacterial colonies reached ~108 CFU/mL or 1.0 McFarland Standard.

#### Purple LED Exposure

Purple LEDs with a peak wavelength of 395 nm were exposed to Bacillus subtilis and Escherichia coli bacteria. The instruments used in this study were purple LEDs 395 nm arranged on 10x10 pieces of PCB and assembled in an acrylic box with a volume of 15x15x15 cm<sup>3</sup> and controlled by a microcontroller. The instrument is equipped with a display of time (minutes), PWM (%), and irradiation temperature (°C). The process of irradiating the LEDs on the samples was carried out in various positions, namely positions A, B, C, D, and E according to Fig. 1. Treatment of bacteria was carried out at various distances, namely at a distance of 3 cm, 6 cm, 9 cm, and 12 cm and time variations exposure for 30 minutes, 60 minutes, 90 minutes and 120 minutes. Table 1 shows the average values of the measurement data for the intensity of a 395 nm purple LED at a distance of 3 cm, 6 cm, 9 cm and 12 cm.



**Рис. 1.** Положение образца. **Fig. 1.** Position of sample.

Table 1

The average values of the measurement data for the intensity of a 395 nm purple LED at a distance of 3 cm, 6 cm, 9 cm and 12 cm Таблица 1

Средние значения данных измерений интенсивности излучения фиолетового светодиода с длиной волны 395 нм на расстоянии 3 см, 6 см, 9 см и 12 см

| <b>Distance,</b><br>cm | A Position,<br>$\frac{mW}{cm^2}$ | $\frac{B \text{ Position,}}{mW}$ | $\frac{C Position,}{\frac{mW}{cm^2}}$ | $\frac{D Position,}{\frac{mW}{cm^2}}$ | $\frac{E Position,}{mW}}{cm^2}$ |
|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 3                      | 49.4                             | 59.6                             | 89.0                                  | 54.1                                  | 54.5                            |
| 6                      | 39.2                             | 41.6                             | 67.6                                  | 41.2                                  | 40.3                            |
| 9                      | 27.0                             | 27.0                             | 55.1                                  | 24.9                                  | 26.9                            |
| 12                     | 15.6                             | 20.5                             | 35.0                                  | 23.0                                  | 12.9                            |

ENF

#### Data analysis

Using the total plate count approach, the number of bacterial colonies that were growing was counted. The following formula is used to determine the percentage decrease in the number of bacterial colonies:

$$\% death = \left| \frac{\sum treatments - \sum control}{\sum control} \right| x \ 100 \%$$

The One-Way ANOVA test was used as the statistical analysis (analysis of variance). The purpose of this test is to identify any variations in the outcomes of each treatment group.

#### **Results and discussion**

*Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria were exposed to purple LEDs at varying distances of 3, 6, and 9 cm for periods of 30, 60, 90, and 120 minutes with a power width modulation (PWM) value of 100%. Fig.1 and 2 showed *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* viability after LED exposure to (a) position A, (b) position B, (c) position C, (d) position D, (e) position E.

Based on research data, power density and energy density values are obtained at each position. The position that has the greatest power density is at position C so that the energy density value has the greatest value as well. The power density at positions A, B, D, E have almost the same





Рис. 2. График жизнеспособности бактерий Bacillus subtilis после экспозиции в положении A (a), положении B (b), положении C (c), положении D (d), положении E (e)

**Fig. 2.** Graph of *Bacillus subtilis* bacteria viability after exposure to (a) position A, (b) position B, (c) position C, (d) position D, (e) position E

BIOMEDICAL PHOTONICS T. 11, Nº 4/2022 -

values so that the energy density or dose at positions A, B, D, and E also have almost the same values. Therefore, the value of the percentage of deaths in these positions has almost the same value. One Way Anova test findings with a significance or probability (p) value of 0.00 indicate that there is a significant difference between the treatments in this study.

The results of this study indicated that 395 nm purple LED irradiation caused a decrease in Log CFU/mL of Bacillus subtilis and Escherichia coli bacteria. Inactivation of Bacillus subtilis bacteria showed a higher mortality percentage than Escherichia coli bacteria. Changes in other irradiation distances also showed a higher percentage of death for Bacillus subtilis bacteria than Escherichia coli bacteria. The highest percentage of death was 98.5% for Bacillus subtilis bacteria and 94.3% for Escherichia coli bacteria at position C with an irradiation distance of 3 cm and an energy density of 524 J/cm<sup>2</sup> with an LED exposure time of 120 minutes. This shows that the percentage of death of bacteria Bacillus subtilis and Escherichia coli increased with increasing doses of LED energy with the greatest percentage of death in Gram-positive bacteria Bacillus subtilis.





Рис. 3. График жизнеспособности бактерий Escherichia coli после экспозиции в положении A (a), положении B (b), положении C (c), положении D (d), положении E (e)

Fig. 3. Graph of Escherichia coli bacteria viability after exposure to (a) position A, (b) position B, (c) position C, (d) position D, (e) position E

Bacteria are photo inactivated by the process of photodynamic inactivation (PDI), which is regulated by oxygen, photosensitizer material, and light source. Photoinactivation is the process of preventing cellular metabolism due to cytoplasmic membrane damage brought on by reactive oxygen in lipids and proteins. The membrane transport system in the bacterial cell is either inactive or undergoes cell lysis as a result of reactive oxygen. A 395 nm-wavelength purple LED light source was employed in the study. *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria's absorption spectrum range is taken into account while adjusting the wavelength.

Power density and energy density numbers are determined for each place based on research data. Position C has the highest power density, which also means that this position also has the highest energy density rating. Because the power density at points A, B, D, and E is almost identical, the energy density or dose at these locations is almost identical as well. As a result, the percentage of fatalities in these positions is practically the same.

А photophysical mechanism underlies the photoinactivation process that happens in Bacillus subtilis and Escherichia coli. Bacterial cells will be photo inactivated when the right combination of light and photosensitizer is used. A photosensitization mechanism, such as light absorption by porphyrins, triggers reactions in the substrate to produce radical oxygen species (ROS) [19]. First step is absorption of photon energy by endogenous porphyrin (10<sup>-15</sup> s) followed by porphyrin molecule excitation. The excitation is generally achieved via a one photon transition between the ground state and a singlet excited state. Intersystem crossing generates the sensitizer triplet state. The lifetime of this state is longer (ms) so it will react with biology subtract in types I and II photochemistry mechanisms. A Type I mechanism involves hydrogen-atom abstraction or electron-transfer between the excited porphyrin and a substrate, yielding free radicals [20]. These radicals can react with oxygen to form an active oxygen species such as the superoxide radical anion. In a Type II mechanism, singlet oxygen is generated via an energy transfer process during a collision of the excited porphyrin with triplet oxygen. Effect of ROS is damage to the cytoplasmic membrane, allowing leakage of cellular contents or inactivation of membrane transport systems and enzymes that caused peroxidation in lipid and membrane proteins and cell lysis [21, 22].

Bacillus subtilis and Escherichia coli are Gram positive and Gram-negative bacteria. Differences of PDT inactivation effect on Gram-positive and Gram-negative lies in the structure of the cell wall [23]. On the outside wall of Grampositive bacteria with a thickness of 15-80 nm consisting of 100 layers peptidoglycan associated with lipoprotein that binds to the outer membrane and the peptidoglycan teichuronic acid negatively charged relatively porous. The outer membrane of Gram-negative bacteria consisting of lipopolysaccharide, phospholipids, and lipoproteins. outer membrane serves as a barrier against the damaging effects of the outside of the cell and has a permeability to certain molecules [24]. The outer membrane forms an effective barrier permeability. Photochemical reactions type I operative for Gram (+) and reaction type II operative to Gram (-). 90% of singlet oxygen reacts to the cell lipid bilayer and proteins associated with the membrane transport system, lipid and protein peroxidation occurs causing damage to the cytoplasmic membrane and protein denaturation resulting in inactivation of the membrane transport system, interference with cell wall synthesis and the emergence of a multilamellar structure on the side of the cell divider. which cleaves and leaks potassium ions and then cell lysis occurs [23].

Bacillus subtilis and Escherichia coli undergo photoinactivation by a photophysical mechanism. When the correct amount of light and photosensitizer are utilized, bacterial cells will be photo inactivated. The photoinactivation process starts when processes in the substrate are triggered by a photosensitization mechanism, such as light absorption by porphyrins. Reactive oxygen is produced during this process, which causes the bacterial cell to lyse or disables the membrane transport system. While others blame radicals like HO for the destruction, many authors mistakenly assume that O<sub>2</sub> is the sole species that matters when it comes to bacterial PDI. According to a theory, Grampositive bacteria are more sensitive to O<sub>2</sub>, whereas Gramnegative bacteria are more sensitive to HO. Variations in the amount that PS binds to the bacteria's microenvironment or the amount of NaN3 that enters the bacterial cell walls may also contribute to variations in NaN, inhibition. By employing S. verbascifolium as the PS, we found that the PDI reaction was oxygen-dependent, considerably inhibited by sodium azide, and only marginally inhibited by mannitol. Through the use of type II and type I reactions, respectively, this demonstrated the dependency on singlet oxygen and, to a lesser extent, hydroxyl radicals.

#### Conclusion

The results of this study indicated that 395 nm purple LED irradiation caused a decrease in Log CFU/mL of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria. Inactivation of *Bacillus subtilis* bacteria showed a higher mortality percentage than *Escherichia coli* bacteria. Changes in other irradiation distances also showed a higher percentage of death for *Bacillus subtilis* bacteria than *Escherichia coli* bacteria. The highest percentage of death was 98.5% for *Bacillus subtilis* bacteria and 94.3% for *Escherichia coli* bacteria at position C with an irradiation distance of 3 cm and an energy density of 524 J/cm<sup>2</sup> with an LED exposure time of 120 minutes. This shows that the percentage of death of bacteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* increased with increasing doses of LED energy with the greatest percentage of death in Gram-positive bacteria *Bacillus subtilis*.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Astuti S. D. et al. Antimicrobial photodynamic effects of polychromatic 1 light activated by magnetic fields to bacterial viability // Journal of International Dental and Medical Research. – 2017. – Vol. 10(1). – P. 111-117.
- 2. Rao L. et al. Investigating the inactivation mechanism of Bacillus subtilis spores by high pressure CO, // Frontiers in Microbiology. -2016. – vol. 7. – P. 1411.
- 3. Adji D. and Larashanty H. Comparison of the effectiveness of 70% alcohol, infrared, autoclave and ozone sterilization on the growth of Bacillus subtilis bacteria // Journal of Veterinary Science. – 2007. – Vol. 25(1).
- Astuti, S. D. et al. Photodynamic effectiveness of laser diode combined 4. with ozone to reduce Staphylicoccus aureus biofilm with exogenous chlorophyll of Dracaena angustifolia leaves // Biomedical Photonics. 2019. – Vol. 8(2). – P. 4-13. Ďoi:
- Ernie M.S. et al. An in vitro Anti-microbial Photodynamic Therapy (APDT) 5. with Blue LEDs to activate chlorophylls of Alfalfa Medicago Sativa L on Aggregatibacter actinomycetem comitans // Journal of International
- Dental and Medical Research. 2016. Vol. 9(2). P. 118-125. Hoenes K. et al. Microbial photoinactivation by visible light results in 6. limited loss of membrane integrity // Antibiotics. - 2021. - Vol. 10(3). - P. 341.
- 7. Astuti S. D. at al. Effectiveness Photodynamic Inactivation with Wide Spectrum Range of Diode Laser to Staphylococcus aureus Bacteria with Endogenous Photosensitizer: An in vitro Study // Journal of International Dental and Medical Research. - 2019. - Vol. 12(2). - P. 481-486.
- Habermeyer B. et al. Bactericidal efficiency of porphyrin systems // 8. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines. – 2021. – Vol. 25(05n06). - P 359-381
- Caires C. S. et al. Photoinactivation effect of eosin methylene blue and 9. chlorophyllin sodium-copper against Staphylococcus aureus and Escherichia coli // Lasers in medical science. – 2017. – Vol. 32(5). – P. 1081-1088.
- Astuti, S. D. et al. The effectiveness of nano-doxycycline Activated by 10. Diode Laser Exposure to Reduce S. aureus Biofilms; an in vitro Study // In Photonic Diagnosis and Treatment of Infections and Inflammatory Diseases II. – 2019. – Vol. 10863. – P. 180-191.
- Sunarko S. A. et al. antimicrobial effect of pleomeleangustifolia pheophytin A activation with diode laser to streptococcus mutans // In Journal of Physics: Conference Series. 2017. Vol. 853 (1). P. 11. 7 In Southar of Frights: Conference Series. 2017. – vol. 055 (1). – r. 012039. LOP Publishing. Rozykulyyeva L. et al. Antibacterial activities of green synthesized silver
- 12. nanoparticles from Punica granatum peel extract // In AIP Conference Proceedings. - 2020. - Vol. 2314 (1). - P. 060012. AIP Publishing LLC.
- Dai Q. et al. Carrier recombination mechanisms and efficiency droop 13. in GaInN/GaN light-emitting diodes // Applied Physics Letters. - 2010. - Vol. 97(13). – P. 133507.
- 14. Mardianto A. I. et al. Photodynamic Inactivation of Streptococcus mutan Bacteri with Photosensitizer Moringa oleifera Activated by Light Emitting Diode (LED) // In Journal of Physics: Conference Series. - 2020. – Vol. 1505(1). – P. 012061. IOP Publishing.
- Semyonov D.Yu., Vasil'ev Yu.L., Dydykin S.S., Stranadko E.F., Shubin V.K., Bogomazov Yu.K., Morokhotov V.A., Shcherbyuk A.N., Morozov S.V., 15. Zakharov Yu.I. Antimicrobial and antimycotic photodynamic therapy (review of literature) // Biomedical Photonics. - 2021. - Vol. 10(1). - P. 25-31. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31
- Maclean M. et al. Sporicidal effects of high-intensity 405 nm visible 16. light on endospore-forming bacteria // Photochemistry and photobiology. – 2013. – Vol. 89(1). – P. 120-126.
- 17. Maclean M. et al. 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infection control // Journal of Hospital Infection. - 2014. - Vol. 88(1). - P. 1-11.
- Endarko E. et al. High-intensity 405 nm light inactivation of Listeria monocytogenes // Photochemistry and photobiology. 2012. Vol. 18. 88(5). – P. 1280-1286.
- Plaetzer, K. et al. Photophysics and photochemistry of photodynamic 19. therapy: fundamental aspects // Lasers in medical science. - 2009. Vol. 24(2). – P. 259-268.
- et al. Photodynamic therapy–mechanisms, and combinations // Biomedicine & Kwiatkowski S. 20. et photosensitizers pharmacotherapy. – 2018. – Vol. 106. – P. 1098-1107.
- Juzeniene A. and Moan J. The history of PDT in Norway: Part one: 21. Juzeniehe A. and Moan J. The history of PDT in Norway. Part offer Identification of basic mechanisms of general PDT // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2007. – Vol. 4(1). – P. 3-11. Wainwright M. et al. Photoantimicrobials are we afraid of the light? // The Lancet Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 17(2). – P. e49-e55.
- 22.
- Mamone L et al. Photodynamic inactivation of Gram-positive bacteria 23. employing natural resources // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2014. – Vol. 133. – P. 80-89. Sperandio F. et al. Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-
- 24. negative bacteria // Recent patents on anti-infective drug discovery. - 2013. - Vol. 8(2). - P. 108-120.

#### **REFERENCES**

- Astuti S. D. et al. Antimicrobial photodynamic effects of polychromatic light activated by magnetic fields to bacterial viability, *Journal of International Dental and Medical Research*, 2017, 1 vol. 10(1), pp. 111-117.
- 2. Rao L. et al. Investigating the inactivation mechanism of Bacillus subtilis spores by high pressure CO<sub>2</sub>, Frontiers in Microbiology, 2016, vol. 7, p. 1411.
- 3. Adji D. and Larashanty H. Comparison of the effectiveness of 70% alcohol, infrared, autoclave and ozone sterilization on the growth of Bacillus subtilis bacteria, Journal of Veterinary Science, 2007, vol. 25(1).
- 4. Astuti, S. D. et al. Photodynamic effectiveness of laser diode combined with ozone to reduce Staphylicoccus aureus biofilm with exogenous chlorophyll of Dracaena angustifolia leaves, Biomedical Photonics, 2019, vol. 8(2), pp. 4-13.
- Ernie M.S. et al. An in vitro Anti-microbial Photodynamic Therapy 5. (APDT) with Blue LEDs to activate chlorophylls of Alfalfa Medicago Sativa L on Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Journal of International Dental and Medical Research, 2016, vol. 9(2), pp. 118-125.
- 6. Hoenes K. et al. Microbial photoinactivation by visible light results in limited loss of membrane integrity, Antibiotics, 2021, vol. 10(3), p. 341.
- 7. Astuti S. D. at al. Effectiveness Photodynamic Inactivation with Wide Spectrum Range of Diode Laser to Staphylococcus aureus Bacteria with Endogenous Photosensitizer: An in vitro Study, Journal of International Dental and Medical Research, 2019, vol. 12(2), pp. 481-486.
- Habermeyer B. et al. Bactericidal efficiency of porphyrin systems, 8. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 2021, vol. 25(05n06), pp. 359-381.
- Caires C. S. et al. Photoinactivation effect of eosin methylene blue 9. and chlorophyllin sodium-copper against Staphylococcus aureus and Escherichia coli, Lasers in medical science, 2017, vol. 32(5), pp. 1081-1088
- Astuti, S. D. et al. The effectiveness of nano-doxycycline Activated by 10. Diode Laser Exposure to Reduce S. aureus Biofilms: an in vitro Study, In Photonic Diagnosis and Treatment of Infections and Inflammatory
- *Diseases II*, 2019, vol. 10863, pp. 180-191. Sunarko S. A. et al. antimicrobial effect of pleomeleangustifolia pheophytin A activation with diode laser to streptococcus mutans, *In* 11. Journal of Physics: Conference Series, 2017, vol. 853 (1), p. 012039. IOP
- Publishing. Rozykulyyeva L. et al. Antibacterial activities of green synthesized silver 12. nanoparticles from Punica granatum peel extract, In AIP Conference Proceedings, 2020, vol. 2314 (1), p. 060012. AIP Publishing LLC.
- Dai Q. et al. Carrier recombination mechanisms and efficiency droop 13. in GalnN/GaN light-emitting diodes, Applied Physics Letters, 2010, vol. 97(13), p. 133507.
- Mardianto A. I. et al. Photodynamic Inactivation of Streptococcus 14. mutan Bacteri with Photosensitizer Moringa oleifera Activated by Light Emitting Diode (LED), In Journal of Physics: Conference Series, 2020, vol. 1505(1), p. 012061. IOP Publishing. Semyonov D.Yu., Vasil'ev Yu.L., Dydykin S.S., Stranadko E.F., Shubin V.K.,
- 15. Bogomazov Yu.K., Morokhotov V.A., Shcherbyuk A.N., Morozov S.V., Zakharov Yu.I. Antimicrobial and antimycotic photodynamic therapy (review of literature), Biomedical Photonics, 2021, vol. 10(1), pp. 25-31. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31
- Maclean M. et al. Sporicidal effects of high-intensity 405 nm 16. visible light on endospore-forming bacteria, Photochemistry and photobiology, 2013, vol. 89(1), pp. 120-126.
- 17. Maclean M. et al. 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infection control, Journal of Hospital Infection, 2014, vol. 88(1), pp. 1-11.
- 18. Endarko E. et al. High-intensity 405 nm light inactivation of Listeria monocytogenes, Photochemistry and photobiology, 2012, vol. 88(5), pp. 1280-1286.
- Plaetzer, K. et al. Photophysics and photochemistry of photodynamic 19. therapy: fundamental aspects, Lasers in medical science, 2009, vol. 24(2), pp. 259-268.
- et al. Photodynamic therapy-mechanisms, 20. Kwiatkowski S. photosensitizers and combinations, *Biomedicine & pharmacotherapy*,
- 2018, vol. 106, pp. 1098-1107. Juzeniene A. and Moan J. The history of PDT in Norway: Part one: Identification of basic mechanisms of general PDT, *Photodiagnosis* 21. and photodynamic therapy, 2007, vol. 4(1), pp. 3-11. Wainwright M. et al. Photoantimicrobials are we afraid of the light? *The*
- 22. Lancet Infectious Diseases, 2017, vol. 17(2), pp. e49-e55.
- Mamone L et al. Photodynamic inactivation of Gram-positive 23. bacteria employing natural resources, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, vol. 133, pp. 80-89. Sperandio F. et al. Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-
- 24. negative bacteria, Recent patents on anti-infective drug discovery, 2013, vol. 8(2), pp. 108-120.

#### DEVELOPMENT OF A METHOD FOR ASSESSING THE DEPTH OF PENETRATION OF ETHOSOMES WITH METHYLENE BLUE INTO THE SKIN DURING APPLICATION AND PHOTODYNAMIC EXPOSURE

Loginova A.G.<sup>1</sup>, Nikitenko I.S.<sup>3</sup>, Tikhonovsky G.V.<sup>1</sup>, Skobeltsin A.S.<sup>1,2</sup>, Voitova A.V.<sup>4</sup>, Loschenov V.B.<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow,

Russia <sup>2</sup>Prokhorov General Physics Institute of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia <sup>3</sup>Clinic of Aesthetic Cosmetology and Dermatovenerology LLC «EsteMed», Moscow, Russia <sup>4</sup>LLC BIOSPEC, Moscow, Russia

#### Abstract

A wide range of literature sources report on the potential benefits of transdermal drug delivery. Among these advantages, the following are distinguished – minimal injury, reduction of side effects, and prevention of degradation or metabolism in the gastrointestinal tract or liver. However, transdermal delivery of most molecules often excludes due to the barrier function of the skin, which prevents the penetration of exogenous substances. To overcome this barrier and increase skin absorption, ethosomal complexes use, by means penetration into the deep layers of the skin and/or systemic circulation is possible. This work devotes to the development of a non-invasive method for assessing the depth of penetration by ethosomes with methylene blue (MB) into the skin during application and photodynamic exposure. MB as photosensitizer (PS) was chosen, since there are a sufficient number of publications on its positive effect on the restoration of the cell's respiratory chain of various organs and therefore the restoration of their metabolism. Besides MB has proven to be an effective PS, destructed pathogenic microbes and viruses, including SARS-CoV-2. However, for more effective Covid-19 therapy and antibiotic-resistant microbial diseases, the penetration depth of PS are time consuming and require the use of animal skin or model samples. The LESA-01 BIOSPEC system with specially designed optical adapters that allow assessing the drug fluorescence intensity on skin surface and at a depth of up to 2 mm in the investigation was used.

Keywords: ethosomes, transdermal drug delivery, methylene blue, penetration depth, effectivethickness of the drug layer.

**For citations:** Loginova A.G., Nikitenko I.S., Tikhonovsky G.V., Skobeltsin A.S., Voitova A.V., Loschenov V.B. Development of a method for assessing the depth of penetration of ethosomes with methylene blue into the skin during application and photodynamic exposure, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 11–18. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-11–18.

Contacts: Loschenov V.B., e-mail: loschenov@mail.ru

#### РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОЦЕНКИ ГЛУБИНЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ ЭТОСОМ С МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ В КОЖУ ПРИ АППЛИКАЦИОННОМ ПРИМЕНЕНИИ И ФОТОДИНАМИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИИ

А.Г. Логинова<sup>1</sup>, И.С. Никитенко<sup>3</sup>, Г.В. Тихоновский<sup>1</sup>, А.С. Скобельцин<sup>1,2</sup>, А.В. Войтова<sup>4</sup>, В.Б. Лощенов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия <sup>2</sup>Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>3</sup>Клиника эстетической медицины «ЭстеМед», Москва, Россия<sup>4</sup>ООО «БИОСПЕК», Москва, Россия

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

#### Резюме

В широком спектре литературных источников сообщается о потенциальных преимуществах трансдермальной доставки лекарственных веществ. Среди данных преимуществ выделяют следующие – минимальная травматичность, снижение побочных эффектов, предотвращение деградации или метаболизма в желудочно-кишечном тракте или печени. Однако трансдермальная доставка большинства молекул часто исключается из-за барьерной функции кожи, которая препятствует проникновению экзогенных веществ. Для преодоления данного барьера и увеличения кожного поглощения могут быть использованы этосомальные комплексы, с помощью которых возможно проникновение в глубокие слои кожи и/или системное кровообращение. Данная работа посвящена разработке неинвазивного метода оценки глубины проникновения этосом с метиленовым синим в кожу при аппликационном применении и фотодинамическом воздействии. Именно метиленовый синий был выбранв качестве фотосенсибилизатора (ФС) в работе, поскольку имеется достаточное количество публикаций о его положительном влиянии на восстановление дыхательной цепи клеток различных органов и, тем самым восстановлении их метаболизма. Кроме того, метиленовый синий проявил себя как эффективный ФС, разрушающий патогенные микробы и вирусы, в том числе вирус SARS-CoV-2. Однако для более эффективной терапии Covid-19 и антибиотикорезистентных микробных заболеваний требуется проникновение метиленовый синий в сосудистую систему эпидермиса или слизистой ткани. Наданный момент существующие методы оценки глубины проникновения фотосенсибилизаторов являются трудоёмкими и требуют использования кожи животных или модельных образцов. В работе была использована система ЛЭСА-01 БИОСПЕК со специально разработанными оптическими адапторами, позволяющими оценивать интенсивность флуоресценции препарата наповерхности кожи и на глубине до 2 мм.

Ключевые слова: этосомы, трансдермальная доставка лекарств, метиленовый синий, глубина проникновения, вирусы, микробы.

**Для цитирования**: Логинова А.Г., Никитенко И.С., Тихоновский Г.В., Скобельцин А.С., Войтова А.В., Лощёнов В.Б. Разработка метода оценки глубины проникновения этосом с метиленовым синим в кожу при аппликационном применении и фотодинамическом воздействии // Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 4. – С. 11–18. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-11–18.

Контакты: Лощёнов В.Б., e-mail loschenov@mail.ru

#### Introduction

In recent decades, there has been a diverse and widespread use of lasers in dermatology and cosmetology. Laser methods to correct age-related changes and various skin pathologies are used [6]. Such a desire for laser therapies has led to the development of highly effective, minimally invasive and sparing methods of treatment [1], one of which is photodynamic therapy, which in the treatment of various skin diseases is used. In addition to cancerous and precancerous skin changes, PDT for cosmetic purposes in photo-rejuvenation is used [2]. Improvement of the skin condition during photoaging, prevention of actinic keratoses, the possibility of repeated procedures and a limited number of side effects make the PDT procedure very promising for skin rejuvenation [3]. One of the photosensitizers in PDT is methylene blue (MB). Several clinical studies indicate the effectiveness of MB in the treatment of basal cell carcinoma, Kaposi's sarcoma, melanoma, viral and fungal infections are used [4]. The authors [5] also note the antioxidant effect of MB and prove that its independent use can effectively protect the skin from oxidative stress and slow down skin aging.

The MB photosensitizer differs from a number of other photosensitizers, since during photoexcitation it oxidizes NAD(P)H, which is localized in the mitochondrial matrix, which defines MB as a photosensitizer of mitochondrial action [4,6]. In fact, targeting mitochondria is an important subject of research in PDT, since damage to mitochondria can induce an apoptotic cascade [4,7,8].

#### Brief description of the structure, functions and ways of penetration into the skin

The skin is the outer and largest organ of the human body with a complex structure. The skin performs a protective function and acts as a barrier to the penetration of exogenous substances from the external environment into the body. Stratum corneum (SC) is a "brick" organization consisting of corneocytes embedded in the lipid domain. The strengthening of cell walls is due to the presence of covalently bound lipids and cross-linked proteins, and the connection with neighboring cells occurs through desmosomes. Directly under the SC is a viable epidermis with keratinocytes, formed in the basal layer of the epidermis. Then there is a slow upward migration of these cells to the surface of the skin. Melanocytes, Langerhans cells, migrating macrophages and lymphocytes in the epidermis were also found. Under the epidermis there is a dermis containing structured collagen and elastin fibers. The epidermis and dermis perform an important function in the process of percutaneous absorption. The hypoderm under the dermis is located and is a layer of subcutaneous adipose tissue, provides the main food supply, physical protection and thermal insulation [9,10]. For the vast majority of penetrants, diffusion through SC associated with an obstacle and a restriction on the penetration rate. Since SC consists of dead cells where there is no metabolic activity, the penetration process occurs in a passive way. Such an obstacle to penetration with the composition and structure of the SC itself is related [11]. At the same time, the only continuous region in SC is the lipid domain mainly consisting of ceramides, free fatty acids, cholesterol and cholesterol esters. A distinctive feature is the difference from other biological membranes, which consist mainly of phospholipids. Such a unique composition of SC prevents the penetration of ionic, high-polar substances and macromolecules. Highly polypophilic molecules, passing through the SC, do not easily diffuse into the hydrophilic epidermis and dermis [9].

There are three potential methods of penetration to deep layers by application: the intercellular pathway, the transcellular pathway and the accessory pathway (Fig. 1) [12]. Since sweat glands and hair follicles occupy only 0.1% of the total body surface, the accessory pathway does not contribute much to the penetration of medicinal substances [9,12]. Although, when the penetration of slowly diffusing compounds and substances with high molecular weight, such as nanoparticles, occurs, the accessory pathways may

![](_page_14_Figure_4.jpeg)

Рис. 1. Возможные пути доставки лекарства сквозь роговой слой кожи Fig. 1. Impossible routes of drug delivery trough stratum corneum

have an important role [13]. However, it is generally assumed that the intercellular pathway is the main one for the penetration of most molecules [14].

To achieve the therapeutic amount of the drug in the deep layers of the skin and systemic circulation, appropriate penetration enhancers can be used, which affect the properties of the skin barrier and/or penetrate. Four main methods of enhancing penetration through the skin are most often considered: microneedle delivery, the use of electrical impulses, chemical reinforcement and the use of innovative vesicular carriers [9].

#### Innovative vesicular carries

Liposomes as a drug penetration enhancer during topical application of the drug by Mezei about two decades ago were first investigated [15,16]. According to further studies, it was shown that such rigid particles increase accumulation in the upper layers of the skin and do not lead to an increase of medicinal substance in the deep layers of the skin [17,18]. Therefore, efforts to synthesize lipid vesicular systems that can facilitate the penetration of the drug into the underlying layers of the skin and allow transdermal absorption were made [19,20]. Innovative vesicular carriers should include ethosomes. The main components of the ethosomes are phospholipids, ethanol (20-45%) and water. In special cases, propylene glycol (PG), carbopol and isopropyl alcohol to the composition are added [21].

Eggs, soy, polysynthetic and synthetic products can be used as a source of phospholipids. The high concentration of alcohol in the composition provides a soft shape and allows you to destroy the lipid bilayers of the skin. Ethanol and isopropanol as alcohol can be used. Neutral liposomes tend to stick together, and this leads to leakage of the medicinal substance (MS) from the vesicles. However, ethosomes contain ethanol in their composition, which modifies the total charge of the system, which leads to resistance to agglomeration. The increase of ethanol

![](_page_14_Figure_11.jpeg)

ΟΡИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

concentration from 15 to 45% leads to membrane fluidity, thereby increasing the efficiency of MS capture. However, a further increase in concentration may lead to a violation of the tightness of the membrane. Glycols act as surfactants (surfactants), they enhance the penetration of vesicles. Propylene glycol or transcutol among glycols are used. Additional stability of vesicles by adding cholesterol (0.1-1%) to the composition can be achieved. Oxidative degradation from light of lipids of ethosomal vesicles can be minimized by using the antioxidant  $\alpha$ -tocopherol (a type of vitamin E and has the number E307).

Fig. 2 shows the structural form and the principle of penetration of liposomal vesicles loaded with MB.

#### **Materials and methods**

#### Materials

#### Ethosomes

Egg phospholipids, propylene glycol (PG), bidistilled water (DDW), ethyl alcohol (EtOH), carbopol were used for the preparation of ethosomal vesicles, and PS methylene blue as a therapeutic substance and a method for identifying the depth of penetration on a confocal microscope was used.

#### LESA-01 BIOSPEC system

The diagram of the portable system used in Fig. 3 is shown. The signal from the laser or lamp (1) via a U-shaped optical fiber (3) to the tissue under study is transmitted. The distal end of the fiber (5) receives scattered a fluorescent signal to the receiving fibers that surround the exciting central fiber. At the output end of the optical fiber connected to the spectrometer

![](_page_15_Figure_10.jpeg)

Рис. 3. Схематическое изображение экспериментальной установки, состоящей из: 1 –источника лазерного сигнала, 2 – спектрометр, 3 – оптические волокна, 4 – ПК с программным обеспечением UNO, 5 – торец диагностического катетера, 6 – выход

**Fig. 3.** Schematic representation of an experimental setup consisting of: 1-laser signal source; 2 – spectrometer; 3 – optical fibers; 4 – PC with UNO software; 5 – working part; 6 – output

(2), the fibers form a straight line (6). At the entrance to the spectrometer there is a narrow-band light filter that reduces the intensity of the laser signal scattered backwards. The received signal is digitized and displayed on the screen of a PC with integrated UNO (4) software in real time [26]. The diagram of the portable system used in Fig. 3 is shown. The signal from the laser or lamp (1) via a U-shaped optical fiber (3) to the tissue under study is transmitted. The distal end of the fiber (5) receives scattered fluorescent signal to the receiving fibers that surround the exciting, central fiber. At the output end of the optical fiber connected to the spectrometer (2), the fibers form a straight line (6). There is a narrow-band light filter at the entrance to the spectrometer that reduces the intensity of the laser signal scattered backwards. The received signal on the screen of a PC with the built-in UNO (4) software in real time is digitized and displayed [26].

#### Methods

After preparing the formulations for transdermal delivery by cold method, they at the temperature of 3-4°C in the refrigerator were stored. Ethosomal vesicles by the following methods were characterized.

- 1. Bubble size determination using dynamic light scattering (DLS) and zeta potential using a zeta meter.
- 2. The content of MS in ethosomal systems can be determined using a spectrophotometer.
- 3. The study of the drug release kinetics from the ethosomal system in this work when determining the MS formation in vesicles at different ambient temperatures was carried out 4°C, 27°C and 37°C at regular intervals.
- 4. Using the LESA-01 BIOSPEC spectroanalyzer, studies on human skin and pork skin using a special adapter to determine fluorescence at depth and on the skin surface were carried out.
- 5. Skin penetration study: the ethosomal preparation ability to penetrate the skin layers was determined using laser confocal scanning microscopy (LCSM).

#### **Results and discussions**

#### Synthesis of ethosomal samples

The classic method of ethosomes synthesis was used. Phospholipid and MB in ethanol were dissolved. Twice distilled water slowly in a thin stream with constant stirring at a speed of 700 rpm using a blender for 5 minutes was added. The ethosomal system at a temperature of 30°C during synthesis to room temperature was kept and then cooled.

#### Determination of vesicle size and morphology

Fig. 4a shows the results of the size distribution for

Loginova A.G., Nikitenko I.S., Tikhonovsky G.V., Skobeltsin A.S., Voitova A.V., Loschenov V.B. **Development of a method for assessing the depth of penetration of ethosomes** with methylene blue into the skin during application and photodynamic exposure

samples MB0-MB4. The average size of vesicles dissolved in ethanol, determined by Malvern Zetamaster, was 240.68 nm for the sample CM3.

The size distribution of this ethosomes ranges from tens of nanometers to microns. The size of ethosome depends on can composition of the system. For example, the graph shows an increase in the size of the ethosomes when PG to the samples MS2, MS3 and MS4 is added. Another example may be the formation of a step in the size distribution when carbopol to the composition of MS 4 is added. The smooth surface of the bubbles using SEM was confirmed (Fig. 4b).

#### Drug release kinetics from ethosomes and penetration depth

The stability of the colloidal solution by Malvern Zetamaster for each sample was determined. Fig. 5 shows the distribution of the zeta potential. According to the data obtained, the ethosomes containing a large amount of ethanol in their composition, which causes a modification of the total charge of the system and gives it a certain degree of steric stabilization, leads to an increase in the stability of the system to agglomeration. According to the graph of the zeta potential of the MS4 sample, there are impurities can be concluded.

All samples underwent studies on the kinetics of MB release at different temperature conditions of 27°C, 37°C and exposure time of 10, 20 and 30 minutes. The optical density of the supernatant on a spectrophotometer was determined. The results of the dynamics of the release of MS from ethosomes under various temperature conditions in the Fig. 6ab.

The exposure time increases, the optical density increases, which indicates the release of MB from vesicles. At the same time, there is an increased release at a temperature of 37°C, which indicates an increase in

![](_page_16_Figure_7.jpeg)

![](_page_16_Figure_8.jpeg)

![](_page_16_Figure_9.jpeg)

![](_page_16_Figure_10.jpeg)

the release rate when penetrating into the deep layers of the skin.

The kinetics of the release of MB from ethosomes on the patient's skin and pork skin using the LESA-01 BIOSPEC spectrometer were also determined. Obviously, fluorescence wavelength at depth and on the surface of the patient's skin is different, so this method allows you to determine the concentration and depth of MB penetration (Fig. 7a). The fluorescence wavelength of samples (T1, I, II) and pork skin fluorescence after irradiation in the NIR spectral region does not change during measurement (Fig. 7b). This also proves the above-mentioned removal of MB from vesicles at a temperature of 37°C. The depth of penetration of MB into pork skin on a confocal microscope in the area with and without the SC was studied (Fig. 8).

Based on the obtained results, graph 10 was constructed, which shows that a large concentration of ethosomal complexes in the SC is found, and then

![](_page_16_Picture_14.jpeg)

#### Рис. 4.

а – Распределение по размерам образцов; b – Результаты, полученные после сбора осадка в этаноле с помощью СЭМ **Fig. 4.** 

a – Distribution of samples by size MB0-MB4; b – SEM results obtained after collecting sediment in ethanol

decreases and a local maximum in the basal layer is observed. There is a sufficient concentration of MB at a depth of more than 1.1 mm, which indicates penetration into the dermis. The decrease rate of the MB concentration is significantly lower in comparison with the generally accepted value manifested by the diffuse mechanism of the drug substance distribution. This means that the use of these ethosomal complexes and their stimulation with light significantly increase the depth of MB penetration. After characterization of the complexes, it was necessary to determine the effective thickness of the cream layer in order to maintain the constancy of the results obtained. In this study, the LESA-01 BIOSPEC system was used. The above histogram shows the results after applying the M3 sample to the arm with a thickness of 0.3, 0.5 and 0.8 mm. The histogram shows that after irradiation in the NIR region of the spectrum, the intensity value decreases from 0.3 to 0.8 mm. Then, after PDT, the fluorescence intensity on the surface and

![](_page_17_Figure_3.jpeg)

Рис. 6. Зависимость оптической плотности от длины волны для образца MC2 при температуре:  $a - 27^{\circ}$ C;  $b - 37^{\circ}$ C Fig. 6. Dependence of the optical density on the wavelength for the MB2 sample at an exposure time of 10, 20 and 30 minutes under temperature conditions:  $a - 27^{\circ}$ C;  $b - 37^{\circ}$ C

![](_page_17_Figure_5.jpeg)

#### Рис. 7.

а – спектр флуоресценции образца MB1 сream перед нанесением, спектр флуоресценции образца MB1 сream после нанесения на кожу пациента, спектр флуоресценции образца MB1 cream after NIR на поверхности кожи после облучения в БИК области спектра, спектр флуоресценции образца MB1 cream hand after NIR contact в глубоких слоях кожи до 2 мм после облучения в БИК области спектра; b – T 1, I, II – спектры флуоресценции образцов, pork t1 after NIR, pork t2 after NIR, pork t3 after NIR – спектр флуоресценции образцов на поверхности кожи свиньи после облучения в БИК области спектра Fig. 7.

a – MB1 cream sample is the sample fluorescence spectrum before application, after application on patient's skin, after irradiation in the NIR spectral region, after NIR contact is the fluorescence spectrum of the sample in the deep layers of the skin up to 2 mm after irradiation in the NIR region of the spectrum; b – T1, I, II – fluorescence spectra of samples, pork t1 after NIR, pork t2 after NIR, pork t3 after NIR – fluorescence spectrum of pork skin after irradiation in the NIR spectral region

Loginova A.G., Nikitenko I.S., Tikhonovsky G.V., Skobeltsin A.S., Voitova A.V., Loschenov V.B. **Development of a method for assessing the depth of penetration of ethosomes** with methylene blue into the skin during application and photodynamic exposure

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

![](_page_18_Picture_2.jpeg)

![](_page_18_Picture_3.jpeg)

#### Рис. 8.

а – результаты, полученные с помощью LCSM, в области с роговым слоем; b – результаты, полученные с помощью LCSM, в области без рогового слоя Fig. 8.

a – LCSM results in the area with the stratum corneum; b – LCSM results in the area without the stratum corneum

at a depth of up to 2 mm using an optical adapter was assessed. The data after PDT after an increase in laser radiation intensity are presented. According to the data obtained, applying a cream 0.3 mm thick, there is a decrease in accumulation at depth. Therefore, using a cream thickness of 0.3 mm, there is a maximum accumulation at a depth after NIR and maximum photobleaching after PDT.

#### Conclusion

The research shows that the LESA-01 BIOSPEC system to assess the depth of MB penetration is able, as well as to assess the concentration of accumulated PS in the epidermis and dermis. This system to provide information about the release of PS from vesicles is also able. The effective thickness of the applied preparation was determined. The article presents a comparison of the results of a confocal microscope and the used LESA-

![](_page_18_Figure_10.jpeg)

![](_page_18_Figure_11.jpeg)

Fig. 9. Fluorescence intensity dependence at a wavelength of 676 nm on the penetration depth of the stratum corneum

![](_page_18_Figure_13.jpeg)

Рис. 10. Гистограмма интенсивности флуоресценции после нанесения крема, облучения в области БИК в течение 20 мин. проведение ФДТ на поверхности и глубине в течение 20 мин Fig. 10. Fluorescence intensity histogram after applying the cream to the hand and irradiating the NIR for 20 minutes; and conducting PDT for 20 minutes on the surface and at depth

01 BIOSPEC system. The LCSM has disadvantages such as labor intensity and the use of animal skin or model samples. The investigation shows the MB introduction from vesicles when working with patient skin and pork skin is different. This is also a plus of working with the LESA-01 BIOSPEC system.

#### Acknowledgment

The reported study was funded by RFBR according to the research project No. 20-04-60421.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Loginova A.G., Nikitenko I.S., Tikhonovsky G.V., Skobeltsin A.S., Voitova A.V., Loschenov V.B. Development of a method for assessing the depth of penetration of ethosomes with methylene blue into the skin during application and photodynamic exposure

#### ЛИТЕРАТУРА

- Shepty O. The use of lidocaine / prilocaine anesthetic cream for laser procedures in dermatology and cosmetology // Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology. – 2020. – Vol. 19. – P. 113-120.
- Странадко Е.Ф., Волгин В.Н., Ламоткин И.А. Фотодинамическая терапия базально-клеточного рака кожи с фотосенсибилизатором фотодитазином // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2008. – С. 152-162.
- Goldberg D. J. Photodynamic therapy in skin rejuvenation // Clinics in Dermatology. – 2008. – Vol. 26(6). – P. 608-613.
- Sigrid K., Elisabeth K., Konstantin F. et al. Photodynamic therapy for skin rejuvenation: review and summary of the literature – results of a consensus conference of an expert group for aesthetic photodynamic therapy // JDDG. – 2013. – Vol. 11(2). –P. 137-148.
- Tardivo J.P., Giglio A.D., Carla Santos de Oliveira D.S.G. et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2005. – Vol. 2(3). – P. 175-191.
- Zhengmei X., O'Donovan M., Linlin Sun et al. Anti-Aging Potentials of Methylene Blue for Human Skin Longevity // Scientific Reports. – 2017. – Vol. 7. – P. 5.
- Petrat F., Pindiur S., Kirsch M. et al. NAD(P)H, a Primary Target of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> in Mitochondria of Intact Cells\* // Journal of Biological Chemistry. – 2003. – Vol. 278(5). – P. 3298-3307.
- Kessel D., Luo Y. Mitochondrial photodamage and PDT induced apoptosis // J Photochem Photobiol B:Biol. – 1998. – Vol. 42. – P. 89-95.
- Godin B., Touitou E. Ethosomes: New Prospects in Transdermal Delivery // Critical Reviewstrade; in Therapeutic Drug Carrier Systems. – 2003. – Vol. 20(1).
- Bunting J.R. A test of the singlet oxygen mechanism of cationic dye photosensitization of mitochondrial damage // Photochem Photobiol. – 1992. – Vol. 2. – P. 81-87.
- Johnson P.G., Gallo S.A., Hui S.W. et al. A Pulsed Electric Field Enhances Cutaneous Delivery of Methylene Blue in Excised Full-Thickness Porcine Skin // Journal of Investigative Dermatology. – 1998. – Vol. 111(3). – P. 457–463.
- Schreier H., Bouwstra J. Liposomes and niosomes as topical drug carriers: dermal and transdermal drug delivery // Journal of Controlled Release. – 1994. – Vol. 30(1). – P. 1-15.
- 13. Lane M. Skin penetration enhancers // International journal of pharmaceutics. 2013. Vol. 2. P. 447.
- Lademann J., Richter H., Schanzer S. et al. Penetration and storage of particles in human skin: perspectives and safety aspects // Eur J Pharm Biopharm. – 2010. – Vol. 77, (3). – P. 465-468.
- 15. E. Touitou. Drug delivery across the skin // Expert Opin Biol Ther. – 2002. – Vol. 2. – P. 723-733.
- Mezei M. Gulasekharam Vijeyalakshmi. Liposomes–a selective drug delivery system for the topical route of administration. Lotion dosage form. // Life sciences. – 1980. – Vol. 26. – P. 1473-1477.
- Mezei M., Gulasekharam V., Liposomes A selective drug delivery system for the topical route of administration: gel dosage form // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 1982. – Vol. 34(7). – P. 473-474.
- Egbaria K., Weiner N.D. Liposomes as a topical drug delivery system // Advanced Drug Delivery Reviews. – 1990. – Vol. 5. – P. 287-300.
- Touitou E., Levi-Schaffer F., Nava Dayan et.al. Modulation of caffeine skin delivery by carrier design: liposomes versus permeation enhancers // International Journal of Pharmaceutics. – 1994. – Vol. 103. – P. 131-136.
- Touitou E., Dayan N., Bergelson L. et.al. Ethosomes novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties // Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society. – 2000. – Vol. 65(3).
- Cevc G., Blume G. New, highly efficient formulation of diclofenac for the topical, transdermal administration in ultradeformable drug carriers, Transfersomes // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. – 2001. 10. – Vol. 1514. – P. 191-205.

#### REFERENCES

- 1. Shepty O. The use of lidocaine / prilocaine anesthetic cream for laser procedures in dermatology and cosmetology, *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*, 2020, vol. 19, pp. 113-120.
- 2. Stranadko E.F., Volgin V.N., Lamotkin I.A. Photodynamic therapy of basal cell skin cancer with photosensitizer photoditazine, *International Journal of Applied and Fundamental Research*, 2008, pp. 152-162.
- 3. Goldberg D. J. Photodynamic therapy in skin rejuvenation, *Clinics in Dermatology*, 2008, vol. 26(6), pp. 608-613.
- Sigrid K., Elisabeth K., Konstantin F. et al. Photodynamic therapy for skin rejuvenation: review and summary of the literature – results of a consensus conference of an expert group for aesthetic photodynamic therapy, JDDG, 2013, vol. 11(2), pp. 137-148.
- Tardivo J.P., Giglio A.D., Carla Santos de Oliveira D.S.G. et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2005, vol. 2(3), pp. 175-191.
- 6. Zhengmei X., O'Donovan M., Linlin Sun et al. Anti-Aging Potentials of Methylene Blue for Human Skin Longevity, *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, p. 5.
- Petrat F., Pindiur S., Kirsch M. et al. NAD(P)H, a Primary Target of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> in Mitochondria of Intact Cells\*, *Journal of Biological Chemistry*, 2003, vol. 278(5), pp. 3298-3307.
- Kessel D., Luo Y. Mitochondrial photodamage and PDT induced apoptosis, J Photochem Photobiol B:Biol, 1998, vol. 42, pp. 89-95.
- 9. Godin B., Touitou E. Ethosomes: New Prospects in Transdermal Delivery, *Critical Reviewstrade; in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 2003, vol. 20(1).
- Bunting J. R. A test of the singlet oxygen mechanism of cationic dye photosensitization of mitochondrial damage, *Photochem Photobiol*, 1992, vol. 2, pp. 81-87.
- Johnson P.G., Gallo S.A., Hui S.W. et al. A Pulsed Electric Field Enhances Cutaneous Delivery of Methylene Blue in Excised Full-Thickness Porcine Skin, *Journal of Investigative Dermatol*ogy, 1998, vol. 111(3), pp. 457–463.
- 12. Schreier H., Bouwstra J. Liposomes and niosomes as topical drug carriers: dermal and transdermal drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 1994, vol. 30(1), pp. 1-15.
- 13. Lane M. Skin penetration enhancers, *International journal of pharmaceutics*, 2013, vol. 2, p. 447.
- 14. Lademann J., Richter H., Schanzer S. et al. Penetration and storage of particles in human skin: perspectives and safety aspects, *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, vol. 77, (3), pp. 465-468.
- 15. E. Touitou. Drug delivery across the skin, *Expert Opin Biol Ther*, 2002, vol. 2, pp. 723-733.
- Mezei M. Gulasekharam Vijeyalakshmi. Liposomes–a selective drug delivery system for the topical route of administration. Lotion dosage form, *Life sciences*, 1980, vol. 26, pp. 1473-1477.
- Mezei M., Gulasekharam V., Liposomes A selective drug delivery system for the topical route of administration: gel dosage form, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1982, vol. 34(7), pp. 473-474.
- Egbaria K., Weiner N.D. Liposomes as a topical drug delivery system, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1990, vol. 5, pp. 287-300.
- Touitou E., Levi-Schaffer F., Nava Dayan et.al. Modulation of caffeine skin delivery by carrier design: liposomes versus permeation enhancers, *International Journal of Pharmaceutics*, 1994, vol. 103, pp. 131-136.
- Touitou E., Dayan N., Bergelson L. et.al. Ethosomes novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties, *Journal of controlled release official journal of the Controlled Release Society*, 2000, vol. 65(3).
- 21. Cevc G., Blume G. New, highly efficient formulation of diclofenac for the topical, transdermal administration in ultradeformable drug carriers, Transfersomes, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2001, vol. 1514, pp. 191-205.

#### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ РАКЕ ПОЛОСТИ РТА У СОМАТИЧЕСКИ ОТЯГОЩЕННЫХ БОЛЬНЫХ

Ю.А. Панасейкин<sup>1</sup>, В.Н. Капинус<sup>1</sup>, Е.В. Филоненко<sup>2</sup>, В.В. Полькин<sup>1</sup>, Ф.Е. Севрюков<sup>1</sup>, П.А. Исаев<sup>1</sup>, С.А. Иванов<sup>1,3</sup>, А.Д. Каприн<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

<sup>2</sup>МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

<sup>4</sup>ФГБУ "НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

#### Резюме

В настоящей работе продемонстрирован опыт радикального лечения соматически отягощенных пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта методом фотодинамической терапии (ФДТ). Проведено лечение двух соматически отягощенных пациентов (ВИЧ инфекция с ассоциированной легочной гипертензией высокой степени и выраженной кардиальной патологией), которым было не показано выполнение обширных хирургических вмешательств и/или проведение агрессивной химиолучевой терапии в связи с наличием выраженной сопутствующей патологии. У обоих пациентов был диагностирован плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, распространенность опухолевого процесса соответствовала стадии I сТ1N0M0. Пациентам была выполнена ФДТ с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в дозе 1,0 мг/кг массы тела. Параметры облучения: выходная мощность – 1,5 Вт, плотность мощности – 0,31 Вт/см<sup>2</sup>, световая доза – 300 Дж/см<sup>2</sup>. После одного курса ФДТ у обоих пациентов диагностирована полная резорбция первичного опухолевого очага (по RECIST 1.1), но в первом клиническом случае был проведен повторный курс ФДТ в связи с сочетанной патологией слизистой оболочки полости рта – множественными очагами лейкоплакии. В результате лечения также была отмечена полная регрессия всех очагов лейкоплакии. Основным нежелательным явлением являлась боль в течение первых 5–7 дней после вмешательства, успешно купируемая ненаркотическими анальгетиками. Период наблюдения (IQR) пациентов составил 12 и 18 мес соответственно, без признаков рецидива и метастазов. Благодаря использованию метода ФДТ у пациентов удалось избежать проведения обширных хирургических вмешательств и отказаться от агрессивной схемы химиолучевой терапии, как альтернативы хирургическому лечению. ФДТ является малоинвазивным методом радикального лечения локализованного плоскоклеточного рака полости рта с минимальным количеством осложнений, поэтому особенно актуально ее применение у пациентов с выраженной сопутствующей патологией.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак полости рта, ВИЧ инфекция, фотодинамическая терапия, лейкоплакия.

Для цитирования: Панасейкин Ю.А., Капинус В.Н., Филоненко Е.В., Полькин В.В., Севрюков Ф.Е., Исаев П.А., Иванов С.А., Каприн А.Д. Фотодинамическая терапия при раке полости рта у соматически отягощенных больных // Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 4. – С. 19–24. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-19-24.

Контакты: Панасейкин Ю.А., e-mail: deus2@bk.ru

#### PHOTODYNAMIC THERAPY TREATMENT OF ORAL CAVITY CANCER IN PATIENTS WITH COMORBIDITIES

Panaseykin Y.A.<sup>1</sup>, Kapinus V.N.<sup>1</sup>, Filonenko E.V.<sup>2</sup>, Polkin V.V.<sup>1</sup>, Sevrukov F.E.<sup>1</sup>, Isaev P.A.<sup>1</sup>, Ivanov S.A.<sup>1,3</sup>, Kaprin A.D.<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia <sup>2</sup>P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia <sup>3</sup>Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia <sup>4</sup>National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

#### Abstract

We report the experience of radical treatment by photodynamic therapy of patients with squamous cell carcinoma of oral cavity with serious side diseases. Completed treatment of two patients with serious side diseases (HIV infection with associated pulmonary hypertension of high degree and cardiac pathology) suffered from cancer of oral cavity. Extensive surgical treatment and/or aggressive course of chemoradiation therapy were not indicated to them due to concomitant pathology. Both patients were diagnosed with squamous cell carcinoma of oral cavity, with appropriate stage lst. cT1N0M0. Patients received treatment by photodynamic therapy with chorine photosensitizer in dose 1.0 mg/kg. Options of photodynamic were: output power – 1.5W, power density – 0.31 W/cm<sup>2</sup>, light dose – 300 J/cm<sup>2</sup>. After one time session of photodynamic therapy, in both cases full response was diagnosed (according to RECIST 1.1). In one case the second session of photodynamic therapy was performed due to concomitant disease of oral cavity – multiply lesions of leukoplakia and after was diagnosed full remission of all lesions. Major adverse event was pain during the first 5-7 days after treatment, curable by painkillers. Follow-up (IQR) was 12 and 18 month respectively with no evidence of progression. It is available to avoid extensive surgical treatment and aggressive course of chemoradiation therapy (as an alternative) with the use of photodynamic therapy. Photodynamic therapy is minimally invasive method of radical treatment of localized squamous cell carcinoma of oral cavity with minimal adverse events, and could be especially relevant in patients with serious concomitant diseases.

Key words: oral cavity cancer, HIV infection, photodynamic therapy, leukoplakia.

For citations: Panaseykin Y.A., Kapinus V.N., Filonenko E.V., Polkin V.V., Sevrukov F.E., Isaev P.A., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Photodynamic therapy treatment of oral cavity cancer in patients with comorbidities, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 19–24. (in Russian) doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-19-24.

Contacts: Панасейкин Ю.А., e-mail: deus2@bk.ru

#### Введение

Согласно международным и отечественным клиническим рекомендациям основной методикой лечения рака полости рта является хирургический метод. При отсутствии противопоказаний рекомендуется удаление первичного очага в пределах неизмененных тканей [1]. По результатам планового морфологического исследования и оценки прогностически неблагоприятных факторов, таких как экстранодальное распространение метастазов в лимфатических узлах шеи (ENE+), позитивные (R1), или близкие края (<5мм) резекции, первичная опухоль с распространенностью рТ3-4, метастазы в регионарных лимфатических узлах pN2-3, метастазы в IV и V локорегионарных группах, наличие периневральной, периваскулярной, перилимфатический инвазии, вырабатывается методика адьювантного лечения (лучевая или химиолучевая терапия), либо динамическое наблюдение при их отсутствии [2, 3, 4].

Альтернативой хирургической методике является проведение дистанционной лучевой терапии (ДЛТ) или химиолучевой терапии (ХЛТ) в самостоятельном варианте, с подведением суммарной очаговой дозы до 72 Гр на область первичного очага и до 63 Гр на области субклинического распространения [5]. Возможно применение брахитерапии в качестве самостоятельной методики радикального лечения рака полости рта с использованием радионуклидов Ir-192, CF-252 и других [6, 7]. Химиотерапию и таргетную терапию используют в комбинации и/или в самостоятельном варианте в основном в качестве паллиативной методики у пациентов, которым другие методики радикального лечения не показаны. При этом в первой линии рекомендованы высокотоксичные схемы с препаратами платины и иммунотерапия с ингибиторами pd-L1 [8, 9, 10].

Хирургическое лечение является инвазивной методикой лечения с возможным развитием различных осложнений, вплоть до летальных. При этом не всегда возможно провести полноценную социальную и косметическую реабилитацию, что снижает качество жизни пациента. Кроме того, данный вид лечения не рекомендован у пожилых и/или соматически отягощенных пациентов.

ХЛТ, применяемая в качестве альтернативы хирургическому лечению, наиболее эффективна с препаратами платины, приводящими к развитию нежелательных реакций, таких как нефротоксичность, кардиотоксичность, полинейропатия, снижение слуха и другие. При ХЛТ для эрадикации опухоли органов полости рта в самостоятельном варианте требуется подведение суммарных доз, превышающих толерантность окружающих нормальных тканей, что в свою очередь ведет к развитию таких осложнений как мукозиты, остеомиелиты, гипосаливации, длительно незаживающие язвенные процессы в полости рта и в месте подведения лучевых доз. Таким образом, выбор тактики лечения у пожилых и/или соматически отягощённых пациентов является сложной задачей для онколога. Лечение рака полости рта должно быть не только радикальным, с минимальным количеством осложнений, но и сохранить качество жизни пациента на «дооперационном» уровне [11].

Фотодинамическая терапия (ФДТ) может быть использована в качестве самостоятельного радикального варианта лечения пациентов с злокачественными новообразованиями (ЗНО) полости рта, соответствующими T1–T2 стадии и при глубине инвазии до 7 мм, при отсутствии альтернативных методик радикального лечения, таких как оперативное вмешательство, ДЛТ и ХЛТ. При ретроспективном метаанализе по сравнению результатов лечения ЗНО полости рта (хирургический метод и ФДТ), эффективность была сопоставима, однако после ФДТ отмечалось достоверное улучшение качества жизни по сравнение с хирургическим методом [11].

При анализе 43 исследований эффективности ФДТ суммарно у 2121 пациента с ЗНО головы и шеи (преимущественно полости рта), с распространённостью T1–T2, наилучший ответ был получен при раке языка. Полная регрессия наблюдалась в 94,4% случаев, 5-летняя выживаемость составила 84,2% [12]. ФДТ также может применяться и в качестве паллиативного метода лечения пациентов с местнораспространенными опухолями головы и шеи, при которых другие методы локального лечения (хирургия, лучевая терапия) исчерпаны [13, 14]. При ФДТ может проводиться не только дистанционное облучение лазерным светом, но и внутритканевое облучение для уменьшения объема массивных опухолевых очагов [15]. При этом возможно достижение ремиссии и/или симптоматического улучшения в виде снижения боли, кровотечения, распада опухоли. Было проведено мультицентровое исследование по оценке эффективности ФДТ в качестве паллиативного лечения местнораспространенного нерезектабельного рака головы и шеи, по результатам которого у 53% пациентов был достигнут клинический ответ. Размер опухоли уменьшился более чем на 50% у 28% пациентов. Полная регрессия новообразований отмечена в 17% случаев. Средняя выживаемость в исследовании составила 226 дней, что больше аналогичного показателя после применения традиционной химиотерапии. Кроме того, у пациентов не было отмечено значительных побочных эффектов, связанных с ФДТ [16]. Применение ФДТ не исключает возможности одновременного или последовательного применения других видов лечения, таких как хирургия, ХЛТ, химио- и иммунотерапия [12, 16, 17].

#### Клиническое наблюдение 1

В клинику МРНЦ им. А.Ф. Цыба обратился пациент П. 1978 г.р., с жалобами на язвенный дефект в области слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти справа (рис. 1а).

При осмотре в ретромолярной области справа определена опухоль с неровными, нечеткими краями, с изъявлением, контактно кровоточащая, также отмечены множественные диффузные очаги эрозивно-язвенной лейкоплакии (рис. 1b) с формированием островковых очагов эпителиита 2ст., умеренно болезненные при контакте. Регионарные лимфатические узлы не увеличены.

При гистологическом исследовании на фоне лейкоплакии диагностирован инвазивный умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак.

По результатам КТ ближе к углу нижней челюсти определяется округлый участок повышенного накопления контрастного вещества, с нечеткими границами, максимальными видимыми размерами 10×8 мм, с глубиной инвазии до 4 мм; деструктивных изменений со стороны рядом расположенного участка тела нижней челюсти не отмечено. По данным УЗИ увеличенных лимфатических узлов на шее, в над- и в подключичных областях не выявлено.

Установлен основной диагноз: рак ретромолярной области справа Iст. сТ1N0M0. В ходе дообследования у пациента была диагностирована выраженная сопутствующая патология: ВИЧ инфекция ст. 4А (на фоне антиретровирусной терапии) и ВИЧ-ассоциированная высокая легочная гипертензия. Диагностирована выраженная кардиальная патология: хроническая сердечная недостаточность, нарушение кровообращения 2А, функциональный класс 2 с сохранением фракции выброса равной 56%. Дилатационная кардиомиопатия. В анамнезе у пациента хронический вирусный гепатит С вне репликации. Хроническая обструктивная болезнь легких, бронхитический тип. Из эндокринологической патологии выявлены первичный гипотиреоз в стадии субкомпенсация, метаболический синдром, инсулинорезистентность, ожирение 2 ст. Варикозная болезнь нижних конечностей 2 ст.

![](_page_22_Picture_10.jpeg)

![](_page_22_Picture_11.jpeg)

- Рис. 1. Рак ретромолярной области справа: а – вид опухоли до ФДТ:
- b сопутствующая лейкоплакия верхнего неба справа:
- с общий вид зоны воздействия ФДТ на 21-е сутки:
- d общий вид через 6 мес после ФДТ;
- е общий вид через 12 мес после ФДТ.
- Fig. 1. Cancer of the right retromolar region:
- a tumor before PDT;
- b leukoplakia of the right upper palate;
- c 21st day after PDT;
- d 6 months after PDT;
- e 12 months after PDT.

Таким образом, по шкале P-POSSUM риск летальных осложнений при операционном вмешательстве достигал 40%.

Проведен междисциплинарный онкологический консилиум с участием хирургов, радиотерапевтов, химиотерапевтов и специалистов отделения фотодинамической терапии. С учетом длительно существующей иммуносупрессии, множественных очагов лейкоплакии, наличия воспалительных изменений слизистой полости рта, высокого риска развития осложнений при подведении радикальных доз лучевой терапии на фоне сопутствующей патологии принято решение о проведении курса ФДТ в самостоятельном варианте.

Пациенту была выполнена ФДТ с фотосенсибилизатором фотолон, который вводили внутривенно капельно в дозе 1,0 мг/кг массы тела. Для купирования болевого синдрома использованы препараты: растворы кеторолака1,0 мл в/м, промедола 2% 1,0 мл в/м, реланиума 0,5% 2,0 мл в/м, дополнительно сделана местная анестезия раствором ропивакаина. Через 3 ч после введения фотосенсибилизатора была проведена ФДТ при следующих параметрах: источник лазерного света аппарат «Латус 2» (662 нм), дистанционное облучение новообразования при плотности мощности 0,31 Вт/см<sup>2</sup>, плотность световой энергии составила 300 Дж/см<sup>2</sup>, количество полей – 1, время процедуры – 16 мин. После ФДТ отмечены начальные признаки геморрагического некроза, отечность. К 10-м суткам сформировался геморрагический струп в виде фибриновой пленки, к 14-м суткам – краевое отторжение некротических тканей, к 21-м суткам – активная эпителизация (рис 1с).

Пациент был выписан из стационара на 3-и сутки после ФДТ.

Эпителизация раневого дефекта происходила в амбулаторных условиях, использовались препараты, обладающие противовоспалительными и репаративными свойствами, полное заживление с хорошим функциональным и косметическим эффектом отмечено через 8 нед.

При контрольном осмотре через 6 мес после лечения диагностированы новые очаги лейкоплакии небольших размеров до 10 мм (рис. 1d) и выполнен повторный курс ФДТ.

В настоящее время (12 мес от начала лечения) пациент находится под динамическим наблюдением без признаков прогрессии заболевания (рис. 1е) с сохраненным соматическим статусом (ECOG 0).

#### Клиническое наблюдение 2

В клинику МРНЦ им. А.Ф. Цыба обратилась пациентка А. 1932 г.р., с жалобами на образование в области слизистой щеки справа.

При клиническом осмотре на слизистой правой щеки в задних отделах определена опухоль эрозивно-язвенного характера роста, с нечеткими, неровными краями, размером до 1,2 см (рис. 2а); регионарные лимфатические узлы не увеличены.

Заключение гистологического исследования: умеренно дифференцированный неороговевающий плоскоклеточный рак. Для уточнения распространенности процесса, наличия регионарного и отдаленного метастазирования проведено инструментальное обследование. По данным МРТ в области слизистой щеки определен очаг повышенного накопления контрастного вещества, с нечеткими границами, максимальными видимыми размерами 12×8 мм, с глубиной инвазии до 6 мм; деструктивных изменений со стороны рядом расположенного участка тела нижней челюсти не отмечено. При УЗИ на слизистой правой щеки определено гипоэхогенное образование с нечетким, неровным контуром, глубиной инвазии 4,7-5 мм Увеличенных лимфатических узлов на шее, в над- и в подключичных областях не выявлено.

Установлен основной диагноз: рак слизистой щеки IIст. cT2N0M0. У пациентки имелся ряд сопутствующих заболеваний. Из кардиальной патологии пациентка страдала артериальной гипертензией II ст., риск 4, ишемической болезнью сердца с атеросклерозом аорты, клапанов сердца, коронарных артерий, нарушением кровообращения 2А, хронической сердечной недостаточность, с функциональным классом 2 и сохраненной функцией выброса 67%. В анамнезе хирургическое лечение по поводу аневризмы брюш-

![](_page_23_Picture_15.jpeg)

Рис. 2. Рак слизистой правой щеки: а – вид опухоли до ФДТ; b – общий вид зоны воздействия ФДТ на 3-и сутки; с – общий вид через 18 мес после ФДТ.

Fig. 2. Cancer of the mucous membrane of the right cheek: a - tumor before PDT; b - 3st day after PDT; c - 18 months after PDT

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Ю.А. Панасейкин, В.Н. Капинус, Е.В. Филоненко, В.В. Полькин, Ф.Е. Севрюков, П.А. Исаев, С.А. Иванов, А.Д. Каприн Фотодинамическая терапия при раке полости рта у соматически отягощенных больных

ной части аорты. Хроническая болезнь почек, 4 ст. при скорости клубочковой фильтрации 28 мл/мин. Варикозная болезнь нижних конечностей 3 ст.

Пациентка обсуждена на онкологическом консилиуме. Учитывая распространенность опухолевого процесса, выраженную сопутствующую патологию, возраст, объем предполагаемого хирургического вмешательства, в качестве альтернативной методики лечения предложено проведение ФДТ в самостоятельном варианте.

Пациентке была выполнена ФДТ с фотолоном, который вводили внутривенно капельно в дозе 1,0 мг/кг массы тела. Для купирования болевого синдрома использованы растворы препаратов: кеторолака 1,0 мл в/м, промедола 2% 1,0 мл в/м, реланиума 0,5% 2,0 мл в/м. Дополнительно сделана местная анестезия раствором ропивакаина.

ФДТ была проведена через 3 ч после введения фотолона при следующих параметрах: источник лазерного света аппарат «Латус 2» (662 нм), дистанционное облучение новообразования при плотности мощности 0,31 Вт/см<sup>2</sup>, плотность световой энергии составила 300 Дж/см<sup>2</sup>, количество полей – 1, время процедуры – 16 мин.

Пациентка выписана из стационара на 3-и сутки после ФДТ, местно отмечены признаки геморрагического некроза, отечность (рис. 2b).

На сроках наблюдения 18 мес признаков местного рецидива и метастазирования не выявлено (рис. 2с).

#### Обсуждение

В представленных клинических примерах ФДТ была выполнена пациентам из различных возрастных групп (43 и 89 лет, соответственно), у которых по данным клинико-инструментального обследования подтвержден сN0 статус регионарных лимфатических узлов и глубина инвазии первичного очага составила 4 и 6 мм, соответственно. ФДТ была выбрана как альтернативный вариант лечения, так как проведение хирургического вмешательства или ХЛТ было связано с риском развития тяжелых осложнений, вследствие наличия выраженной сопутствующей патологии.

Выполнение ФДТ не сопровождалось техническими трудностями (рис. 3), в обоих случаях было достаточно одного поля облучения для охвата опухолевого поражения слизистой полости рта и зон потенциального субклинического поражения (по 0,5 см от видимых границ опухоли). Не потребовалось длительного пребывания в стационаре, пациенты были выписаны на 3-е сутки после лечения.

Из нежелательных явлений отмечалась боль (grade 1 CTCAE) и отек (grade 1 CTCAE), купировавшиеся нестероидными противовоспалительными средствами и противоотечной терапией.

У обоих пациентов диагностирована полная резорбция первичного опухолевого очага (по RECIST 1.1) на фоне проведенного однократного курса ФДТ.

![](_page_24_Picture_14.jpeg)

Рис. 3. Сеанс ФДТ Fig. 3. PDT treatment

В первом клиническом случае был проведен повторный курс ФДТ в связи с сочетанной патологией слизистой оболочки полости рта – множественными очагами лейкоплакии, результатом которого была установлена полная регрессия всех очагов лейкоплакии. Период наблюдения (IQR) пациентов составил 12 и 18 мес, соответственно, без признаков рецидива и метастазов.

#### Заключение

Представленный клинический опыт демонстрирует возможности ФДТ как малоинвазивного, эффективного метода радикального лечения рака слизистой оболочки полости рта Т1-Т2. ФДТ с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда может быть альтернативным вариантом лечения пожилых и соматически отягощенных пациентов, у которых выполнение обширных хирургических вмешательства и/или проведение агрессивной ХЛТ сопряжено с развитием серьезных осложнений. Особенно актуальным этот метод представляется при лечении сочетанной патологии слизистой полости рта, такой как новообразование и лейкоплакия слизистой. Однако для комплексной оценки эффективности лечения, частоты развития нежелательных явлений, выработки показаний и противопоказаний к ФДТ необходим анализ большего количества пациентов.

При 3НО полости рта на определенных этапах лечения как с радикальной, так и с паллиативной целью возможно применение такой современной технологии как ФДТ, которая обладает выраженным противоопухолевым эффектом и отличается избирательностью поражения опухолевой ткани, отсутствием значимых местных и системных побочных эффектов и возможностью повторения курсов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // Cancer of the Oral Cavity. – 2022. – Version 2.
- Bernier J., Domenge C., Ozsahin M., Matuszewska K., Lefèbvre J.L., Greiner R.H., Giralt J. et al. European Organization for Research and Treatment of Cancer Trial 22931. Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer // N Engl J Med. – 2004. – Vol. 350(19). – P. 1945-1952. doi: 10.1056/NEJMoa032641. PMID: 15128894.
- Cooper J.S., Zhang Q., Pajak T.F., Forastiere A.A., Jacobs J., Saxman S.B. et al. Long-term follow-up of the RTOG 9501/intergroup phase III trial: postoperative concurrent radiation therapy and chemotherapy in high-risk squamous cell carcinoma of the head and neck // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 2012. – Vol. 84(5). – P. 1198-1205. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.05.008. Epub 2012 Jun 30. PMID: 22749632; PMCID: PMC3465463.
- Bachaud J.M., Cohen-Jonathan E., Alzieu C., David J.M., Serrano E., Daly-Schveitzer N. Combined postoperative radiotherapy and weekly cisplatin infusion for locally advanced head and neck carcinoma: final report of a randomized trial // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 1996. – Vol. 36(5). – P. 999-1004. doi: 10.1016/s0360-3016(96)00430-0. PMID: 8985019.
- Wu Q., Mohan R., Morris M. et al. Simultaneous integrated boost intensitymodulated radiotherapy for locally advanced head-andneck squamous cell carcinomas. I: dosimetric results // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 2003. – Vol. 56. – P. 573-585.
- Панасейкин Ю.А., Севрюков Ф.Е., Исаев П.А., Васильков С.В., Дербугов Д.Н., Семин Д.Ю., Медведев В.С., Полькин В.В., Каприн А.Д., Иванов С.А. Способ лечения начальных стадий рака полости рта // Патент №2713940 11.02.2020 Бюл.5.
- Mazeron J.J., Ardiet J.M., Haie-Meder C. et al. GEC-ESTRO recommendations for brachytherapy for head and neck squamous cell carcinomas // Radiother Oncol. – 2009. – Vol. 91(2). – P. 150-156.
- Ye W., Schmitt N.C. Pembrolizumab for recurrent/metastatic head and neck cancer: equally promising for Asian patients? // Annals of Translational Medicine. – 2019. – Vol. 7(S1). – P. 14.
- Chow L.Q., Haddad R., Gupta S. et al. Antitumor activity of pembrolizumab in biomarker- unselected patients with recurrent and or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: results from the phase Ib KEYNOTE-012 expansion cohort // J Clin Oncol. – 2016. – Vol. 34. – P. 3838-3845.
- Hsu C., Lee S.H., Ejadi S. et al. Safety and antitumor activity of pembrolizumab in patients with programmed death-ligand 1-positive nasopharyngeal carcinoma: results of the KEYNOTE-028 study // J Clin Oncol. – 2017. – Vol. 35. – P. 4050-4056.
- Lebedev M.V., Abdullina Yu.A., Zakharova I.Yu. Specialized medical care for patients with malignant neoplasms of the maxillofacial area in the Penza region of Russia // Biomedical Photonics. – 2021. – Vol. 10(3). – P. 23-31. https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-3-23-31.
- Ibarra A.M.C., Cecatto R.B., Motta L.J., Dos Santos Franco A.L. et al. Photodynamic therapy for squamous cell carcinoma of the head and neck: narrative review focusing on photosensitizers // Lasers Med Sci. – 2022. – Vol. 37(3). – P. 1441-1470. doi: 10.1007/s10103-021-03462-3. Epub 2021 Dec 2. PMID: 34855034
- 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.
- Lebedev M.V., Kerimova K.I. Optimization of provision of specialized medical care for patients with maxillofacial neoplasms in the Penza region of Russia // Biomedical Photonics. – 2021. – Vol. 10(1). – P. 32-38. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-32-38.
- Huang Z. A. Review of Progress in Clinical Photodynamic Therapy // Technol. Cancer Res. Treat. – 2005. – Vol. 4(3). – P. 283-293.
- 16. D'Cruz A., Wenig B., Iqbal A. et al.: Foscan-mediated photodynamic therapy in the palliative treatment of advanced head and neck cancer // Poster presentation Fifth International Congress on Head and Neck Oncology; San Francisco, USA. – 2000.
- Panaseykin Y.A., Filonenko E.V., Sevrukov F.E., Kapinus V.N., Polkin V.V., Isaev P.A., Kaprin A.D., Ivanov S.A. Possibilities of photodynamic therapy in the treatment of malignant tumors of the oral cavity // Biomedical Photonics. – 2021. – Vol. 10(3). – P. 32-38.

#### REFERENCES

- 1. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, *Cancer of the Oral Cavity*, 2022, Version 2.
- 2. Bernier J., Domenge C., Ozsahin M., Matuszewska K., Lefèbvre J.L., Greiner R.H., Giralt J. et al. European Organization for Research and Treatment of Cancer Trial 22931. Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer, *N Engl J Med*, 2004, vol. 350(19), pp. 1945-1952. doi: 10.1056/NEJMoa032641. PMID: 15128894.
- 3. Cooper J.S., Zhang Q., Pajak T.F., Forastiere A.A., Jacobs J., Saxman S.B. et al. Long-term follow-up of the RTOG 9501/intergroup phase III trial: postoperative concurrent radiation therapy and chemotherapy in high-risk squamous cell carcinoma of the head and neck, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, vol. 84(5), pp. 1198-1205. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.05.008. Epub 2012 Jun 30. PMID: 22749632; PMCID: PMC3465463.
- Bachaud J.M., Cohen-Jonathan E., Alzieu C., David J.M., Serrano E., Daly-Schveitzer N. Combined postoperative radiotherapy and weekly cisplatin infusion for locally advanced head and neck carcinoma: final report of a randomized trial, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, vol. 36(5), pp. 999-1004. doi: 10.1016/s0360-3016(96)00430-0. PMID: 8985019.
- Wu Q., Mohan R., Morris M. et al. Simultaneous integrated boost intensitymodulated radiotherapy for locally advanced head-andneck squamous cell carcinomas. I: dosimetric results, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, vol. 56, pp. 573-585.
- Panaseikin Yu.A., Sevryukov F.E., Isaev P.A., Vasilkov S.V., Derbugov D.N., Semin D.Yu., Medvedev V.S., Polkin V.V., Kaprin A.D., Ivanov S.A. Method of treatment of the initial stages of oral cancer, 2003, *Patent No. 2713940 11.02.2020 Byul.5.*
- Mazeron J.J., Ardiet J.M., Haie-Meder C. et al. GEC-ESTRO recommendations for brachytherapy for head and neck squamous cell carcinomas, *Radiother Oncol*, 2009, vol. 91(2). pp. 150-156.
- 8. Ye W., Schmitt N.C. Pembrolizumab for recurrent/metastatic head and neck cancer: equally promising for Asian patients? *Annals of Translational Medicine*, 2019, vol. 7(S1). P. 14.
- Chow L.Q., Haddad R., Gupta S. et al. Antitumor activity of pembrolizumab in biomarker- unselected patients with recurrent and or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: results from the phase Ib KEYNOTE-012 expansion cohort, *J Clin Oncol*, 2016, vol. 34, pp. 3838-3845.
- Hsu C., Lee S.H., Ejadi S. et al. Safety and antitumor activity of pembrolizumab in patients with programmed death-ligand 1-positive nasopharyngeal carcinoma: results of the KEYNOTE-028 study, J Clin Oncol, 2017, vol. 35, pp. 4050-4056.
- Lebedev M.V., Abdullina Yu.A., Zakharova I.Yu. Specialized medical care for patients with malignant neoplasms of the maxillofacial area in the Penza region of Russia, *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10(3), pp. 23-31. https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-3-23-31.
- Ibarra A.M.C., Cecatto R.B., Motta L.J., Dos Santos Franco A.L. et al. Photodynamic therapy for squamous cell carcinoma of the head and neck: narrative review focusing on photosensitizers, *Lasers Med Sci*, 2022, vol. 37(3), pp. 1441-1470. doi: 10.1007/s10103-021-03462-3. Epub 2021 Dec 2. PMID: 34855034.
- 13. 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.
- 14. Lebedev M.V., Kerimova K.I. Optimization of provision of specialized medical care for patients with maxillofacial neoplasms in the Penza region of Russia, *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10(1), pp. 32-38. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-32-38.
- 15. Huang Z. A. Review of Progress in Clinical Photodynamic Therapy, *Technol. Cancer Res. Treat*, 2005, vol. 4(3), pp. 283-293.
- 16. D'Cruz A., Wenig B., Iqbal A. et al.: Foscan-mediated photodynamic therapy in the palliative treatment of advanced head and neck cancer, *Poster presentation Fifth International Congress on Head and Neck Oncology; San Francisco, USA*, 2000.
- Panaseykin Y.A., Filonenko E.V., Sevrukov F.E., Kapinus V.N., Polkin V.V., Isaev P.A., Kaprin A.D., Ivanov S.A. Possibilities of photodynamic therapy in the treatment of malignant tumors of the oral cavity, *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10(3), pp. 32-38.

#### ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ У ПАЦИЕНТОВ С IV СТАДИЕЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.Е. Цеймах<sup>1</sup>, С.Г. Штофин<sup>2</sup>, В.А. Куртуков<sup>2</sup>, В.Н. Теплухин<sup>3</sup>, Я.Н. Шойхет<sup>1</sup>, М.Е. Цеймах<sup>1</sup> <sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

 $^2$ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Городская больница №5, Барнаул, Россия

#### Резюме

В работе представлены результаты исследования выживаемости больных раком поджелудочной железы (РПЖ) IV стадии после комплексного паллиативного лечения. Целью исследования было определить прогностические факторы, влияющие на выживаемость больных РПЖ IV стадии, которым планируется проведение сочетанной (локальной и системной) фотодинамической терапии (ФДТ). В основной группе, включавшей 19 пациентов, проводили паллиативное лечение с применением сочетанной ФДТ. В группе сравнения, включавшей 28 пациентов, проводили паллиативное лечение без ФДТ. На фоне применения сочетанной ФДТ в основной группе наблюдали статистически значимое увеличение продолжительности жизни по сравнению с группой сравнения. Установлено, что на 3-месячную выживаемость пациентов, которым планируется проведение сочетанной ФДТ, влияет исходный уровень фибриногена. Уровень фибриногена выше 3,40 г/л позволяет прогнозировать снижение вероятности 3-месячной выживаемости после проведения ФДТ. Использование исходного уровня фибриногена в качестве прогностического фактора позволяет провести отбор пациентов на комплексное лечение с применением ФДТ и повысить их выживаемость.

Ключевые слова: злокачественные новообразования поджелудочной железы, фотодинамическая терапия, прогнозирование, выживаемость, прогностические факторы.

**Для цитирования:** Цеймах А.Е., Штофин С.Г., Куртуков В.А., Теплухин В.Н., Шойхет Я.Н., Цеймах М.Е. Прогнозирование влияния фотодинамической терапии на выживаемость у пациентов с IV стадией злокачественных новообразований поджелудочной железы // Biomedical Photonics. – 2022. – T. 11, № 4. – C.25–31. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-25-31.

Контакты: Цеймах E.A. e-mail: alevtsei@rambler.ru

#### PREDICTION OF THE EFFECT OF PHOTODYNAMIC THERAPY ON SURVIVAL IN PATIENTS WITH STAGE IV **OF PANCREATIC CANCER**

Tseimakh A.E.<sup>1</sup>, Shtofin S.G.<sup>2</sup>, Kurtukov V.A.<sup>2</sup>, Teplukhin V.N.<sup>2</sup>, Shoykhet Ia. N.<sup>1</sup>, Tseimakh M.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Altai State Medical University, Barnaul, Russia <sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University, Novisibirsk, Russia <sup>3</sup>State hospital No5, Barnaul, Russia

#### Abstract

The article presents the results of a study of survival after complex palliative treatment of patients with malignant tumors of the pancreas stage IV in two comparable groups of patients. The aim of the study is to determine the prognostic factors affecting survival in patients with stage IV pancreatic cancer who received local and systemic photodynamic therapy. In the main group, which consisted of 19 patients with histologically verified stage IV pancreatic maligant tumor, palliative treatment was performed using photodynamic therapy. In the comparison group, consisting of 28 patients with histologically verified malignant tumor of the pancreas stage IV, palliative treatment was performed without the use of photodynamic therapy. On the background of the use of local and systemic photodynamic therapy in the main group it was observed a statistically significant increase in life expectancy compared with the comparison group. The three-month survival of patients who received local and systemic photodynamic therapy is affected by the level of fibrinogen before treatment. The level of fibrinogen above 3.40 g/l makes it possible to predict a decrease in the probability of three-month survival after photodynamic therapy. Thus, complex treatment with the use of photodynamic therapy for stage IV malignant tumors of the pancreas can increase the survival rate of patients.

Key words: malignant tumors of the pancreas, photodynamic therapy, forecasting, survival, prognostic factors.

For citations: Tseimakh A.E., Shtofin S.G., Kurtukov V.A., Teplukhin V.N., Shoikhet Ia.N., Tseimakh M.E. Prediction of the effect of photodynamic therapy on survival in patients with stage IV of pancreatic cancer, Biomedical Photonics, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 25–31. (in Russian) doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-4-25-31.

Contacts: Tseimakh A.E. e-mail: alevtsei@rambler.ru

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

А.Е. Цеймах, С.Г. Штофин, В.А. Куртуков, В.Н. Теплухин, Я.Н. Шойхет, М.Е. Цеймах Прогнозирование влияния фотодинамической терапии на выживаемость у пациентов с IV стадией злокачественных новообразований поджелудочной железы

#### Введение

Рак поджелудочной железы (РПЖ) является важной проблемой современной онкологии. Являясь относительно редко встречающимся заболеванием, занимающим в структуре онкологической заболеваемости России лишь 3,3%, он находится на пятом месте в структуре онкологической смертности [1–5].

Современным стандартом лечения пациентов со злокачественными новообразованиями панкреатобилиарной зоны является комплексное лечение, в котором главную роль играет хирургический метод. При этом вследствие длительного периода стертых симптомов и позднего обращения пациентов на момент постановки диагноза более половины больных уже имеют запущенную IV стадию основного заболевания [1, 2]. Большинству больных возможно провести лишь паллиативное лечение, при этом важнейшим фактором успешного лечения является ликвидация жизненно угрожающих осложнений, таких как механическая желтуха и холангит [6–10]. На фоне развития технологий декомпрессии желчевыводящих протоков, появления новых схем и препаратов химиотерапевтического лечения прогностическая медиана выживания данных пациентов не меняется на протяжении многих лет, по-прежнему составляя 3,7 мес в случае нерезектабельности опухоли, что составляет одну из самых низких медиан выживаемости среди опухолей гастроинтестинального тракта [2]. Летальность на первом году жизни у пациентов с РПЖ также остается высокой, достигая 68% [1].

Поэтому, вследствие отсутствия значимого улучшения результатов паллиативного лечения, несмотря на развитие лекарственной терапии, идет поиск других методов паллиативного лечения данной категории пациентов.

Одним из таких методов является фотодинамическая терапия (ФДТ). ФДТ – это метод воздействия на опухолевые клетки с помощью специальных лекарственных средств, которые накапливаются в них и, становясь химически активными в присутствии света определенной длины волны и кислорода, приводят эти клетки к гибели путем апоптоза, некроза и аутофагии. Проведенные в 2002 и 2014 гг. исследования влияния контактной ФДТ на исходы комплексного лечения РПЖ позволяют говорить о перспективности применения ФДТ в сочетании с хирургическими методами с целью повышения продолжительности жизни пациентов с бластомами панкреатобилиарной зоны [8, 9].

Целью исследования являлось определение прогностических факторов, влияющих на выживаемость больных РПЖ IV стадии, которым планируется проведение локальной и системной ФДТ.

#### Материалы и методы

В открытое нерандомизированное сравнительное исследование выживаемости были включены 47 пациентов с гистологически верифицированным РПЖ IV стадии, проходивших комплексное лечение на базе краевого гепатологического центра КГБУЗ «Городская больница №5, г. Барнаул» (г. Барнаул, РФ) с 2017 по 2020 гг. Пациенты были разделены на две группы. Критериями включения в исследование были возраст от 18 до 95 лет, гистологически верифицированный диагноз РПЖ IV стадии, подписанное информированное согласие на оперативное лечение в период госпитализации. Критериями исключения были досуточная летальность, ВИЧ-инфицирование и инфицирование вирусными гепатитами B, C и D, острый инфаркт миокарда с кардиогенным шоком, наличие онкологического заболевания крови.

В основную группу вошли 19 пациентов, которым проводили комплексное паллиативное лечение с применением ФДТ. Группа сравнения включала 28 пациентов, подвергнутых комплексному паллиативному лечению без ФДТ. Распределение пациентов в группы проводили без использования рандомизации: пациенты, подписавшие согласие на проведение ФДТ вследствие наличия противопоказаний к применению альтернативных методов лечения, были включены в основную группу. Отказавшиеся от проведения ФДТ пациенты были включены в группу сравнения. Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (выписка из протокола №11 от 27.11.2017 г.). Сравнительная характеристика групп по полу и возрасту представлена в табл. 1. Статистически значимых различий выявлено не было.

Сравнительная характеристика групп по гистологическому типу злокачественного новообразования представлена в табл. 2. Статистически значимых различий выявлено не было.

Паллиативное хирургическое лечение включало в себя оперативное лечение жизнеугрожащих осложнений, прежде всего механической желтухи: чрескожное чреспеченочное моно- и билобарное дренирование желчных протоков, стентирование желчных протоков под ультразвуковым и рентгенологическим контролем, выполнение обходных билиодигестивных анастомозов. Симптоматическое консервативное лечение включало в себя инфузионную, дезинтоксикационную, анальгетическую, гепатопротекторную, антибактериальную терапию [5].

У всех пациентов основной группы проводили паллиативную сочетанную ФДТ с использованием внутривенного фотосенсибилизатора фотодитазин (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия). Препарат растворяли в 0,9% физиологическом растворе, вводили внутривенно капельно в дозе 1–1,4 мг/кг массы тела. В процессе введения проводили внутривенную системную ФДТ через периферический доступ в кубитальную вену с использованием аппарата для внутривенного облучения крови с источником монохроматического света мощностью 0,7 Вт с длиной волны 662–665 нм, экспозиционной дозой света 1200–1400 Дж/см<sup>2</sup>, плотностью мощности излучения 0,22 Вт/см<sup>2</sup>. По истечении 5 ч с момента окончания инфузии осуществляли

локальную контактную ФДТ путем облучения с использованием программного специализированного лазерного двухволнового аппарата мощностью 0,7 Вт монохроматическим светом с длиной волны 662 нм, экспозиционной дозой света 220 Дж/см<sup>2</sup>, плотностью мощности излучения 0,22 Вт/см<sup>2</sup> через чрескожный чреспеченочный антеградный доступ и эндоскопически при видеоэзофагодуоденоскопии через ретроградный доступ под контролем эндо–УЗИ [13]. Целью

#### Таблица 1

Сравнительная половозрастная характеристика пациентов Table 1

Comparative characteristics of patients by age and sex

| Показатель            | Основная группа<br>Main group |        | Группа с<br>Comparis | р     |       |  |
|-----------------------|-------------------------------|--------|----------------------|-------|-------|--|
| Index                 | M±                            | SD     | M±                   |       |       |  |
| Возраст<br>Age        | 62,53:                        | ±10,74 | 60,79±9,27           |       | 0,568 |  |
|                       | абс.<br>abs                   | %      | абс.<br>abs          | %     | р     |  |
| Женский пол<br>Female | 8                             | 42,11  | 14                   | 50,00 | 0,815 |  |
| Мужской пол<br>Male   | 11                            | 57,89  | 14                   | 50,00 | 0,815 |  |

Примечание: p – статистическая значимость различий между основной группой и группой сравнения. Note: p – statistical significance of differences beween the main group nd the comparison group

#### Таблица 2

Сравнительная характеристика больных по гистологическому типу злокачественного новообразования Table 2

Comparative characteristics of patients by hystology of tumor

|  | Основная группа<br>Main group |       | Группа сравнения<br>Comparison group |       |       |  |
|--|-------------------------------|-------|--------------------------------------|-------|-------|--|
| Тистологический тип/нізтоюдісаї туре   | абс.<br>abs.                  | %     | абс.<br>abs.                         | %     | P     |  |
| Высокодифференцированная аденокарцинома<br>High differentiated adenocarcinoma          | 3                             | 15,79 | 5                                    | 17,86 | 0,834 |  |
| Умеренно дифференцированная аденокарцинома<br>Moderately differentiated adenocarcinoma | 4                             | 21,05 | 8                                    | 28,57 | 0,811 |  |
| Низкодифференцированная аденокарцинома<br>Low differentiated adenocarcinoma            | 8                             | 42,11 | 12                                   | 42,86 | 0,803 |  |
| Недифференцированная аденокарцинома<br>Non-differentiated adenocarcinoma               | 3                             | 15,79 | 2                                    | 7,14  | 0,644 |  |
| Плоскоклеточный рак<br>Squamous cell carcinoma   | 1                             | 5,26  | 0                                    | 0     | 0,844 |  |
| Нейроэндокринный рак<br>Neuroendocrine cancer  | 0                             | 0     | 1                                    | 3,57  | 0,843 |  |

Примечание: p – статистическая значимость различий между основной группой и группой сравнения. Note: p – statistical significance of differences beween the main group nd the comparison group проведения локальной ФДТ было достижение апоптоза клеток по периферии новообразования в сочетании с комплексным уменьшением концентрации атипических клеток в системном кровотоке посредством воздействия системной ФДТ.

Комплексное лечение с применением локальной и системной ФДТ проводили с использованием следующего алгоритма: флуорсцентная диагностика на лазерной электронно-спектральной установке «Биоспек» (ООО «Новые хирургические технологии», Россия), локальная и системная ФДТ на программном специализированном лазерном двухволновом аппарате «ЛАМИ-Гелиос» (ООО «Новые хирургические технологии», Россия) по ТУ 9444-001-53807582-2010.

Осложнения хирургического лечения оценивали по шкале Clavien-Dindo [14]. У всех больных основной группы анализировали показатели гемостаза, протеолиза и системного воспаления. Определение концентрации фибриногена в плазме по Clauss (1957) проводили набором реагентов фирмы «Технология – Стандарт» (Россия).

Для определения концентрации тканевого активатора плазминогена (t-PA) в сыворотке крови использовали набор для иммуноферментного анализа TECHNOZYM t-PA Ag EDTA ELISA (кат. № TC12007, Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH, Австрия), измеряли оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм, с помощью автоматического фотометра для микропланшет Elx808 (BioTec Instruments, Inc., США).

Для определения концентрации ингибитора тканевого активатора плазминогена-1 (PAI-1) в сыворотке крови использовали набор для иммуноферментного анализа TECHNOZYM PAI-1 Antigen ELISA (кат. № TC12075, Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH, Австрия), измеряли оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм, с помощью автоматического фотометра для микропланшет Elx808 (BioTec Instruments, Inc., США).

Для определения концентрации тканевого фактора (TF) в сыворотке крови использовали набор для иммуноферментного анализа IMUBIND Tissue Factor ELISA (кат. № REF845, BioMedica Diagnostics, CША), измеряли оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм, с помощью автоматического фотометра для микропланшет Elx808 (BioTec Instruments, Inc., CША).

Для определения концентрации ингибитора пути тканевого фактора (TFPI) в сыворотке крови использовали набор для иммуноферментного анализа Human Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) ELISA Kit (кат. № ET1005-1, Assaypro, CША), измеряли оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм, с помощью автоматического фотометра для микропланшет Elx808 (BioTec Instruments, Inc., CША). Для определения концентрации фактора некроза опухоли-альфа (TNF-α) в сыворотке крови использовали набор для иммуноферментного анализа Human TNF alpha total Platinum ELISA (кат. № BMS2034/BM-S2034TEN, Bender MedSystems GmbH, Австрия), измеряли оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм, с помощью автоматического фотометра для микропланшет Elx808 (BioTec Instruments, Inc., США).

Статистический анализ проводили с помощью пакета статистических программ SigmaPlot 14.0 (регистрационный номер 775400014). Для сравнения двух несвязанных групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, поскольку, согласно критерию Шапиро Уилка, все изучаемые показатели кроме пола и возраста имели распределение, отличное от нормального в обеих исследовательских группах. Для сравнения несвязанных групп с нормальным распределением применяли параметрический критерий Стьюдента, относительных величин – z-критерий Фишера. Результаты для показателей с распределением, отличным от нормального, представлены в виде медианы (Me), первого (Q1), третьего (Q3) квартилей, среднего значения (М) и его стандартного отклонения (SD). Результаты для показателей с нормальным распределением представлены в виде среднего значения (М) и его стандартного отклонения (SD). Для оценки общей продолжительности жизни применяли метод кривых Каплана-Мейера, для сравнительного анализа выживаемости использовали лог-ранговый критерий. Для определения предсказательной способности показателей использовали ROC-анализ с расчетом AUC, точек отсечения с чувствительностью и специфичностью, отношения правдоподобия (LR+ и LR-) и прогностичности результата (р). Критический уровень значимости результатов исследования принимали р <0,05.

#### Обсуждение и результаты

У пациентов основной группы не наблюдали послеоперационных осложнений после ФДТ. У одного больного основной группы (5,26%) была выявлена эмпиема желчного пузыря после проведенного стентирования желчных протоков. У одного пациента группы сравнения (3,57%) была выявлена серома послеоперационного шва после проведенной гепатикоеюностомии, еще у одного пациента группы сравнения (3,57%) была выявлена подпеченочная гематома после проведенного чрескожного чреспеченочного монолобарного дренирования желчных протоков.

Не было выявлено статистически значимых различий относительно количества послеоперационных осложнений между сравниваемыми группами (p=0,649), все осложнения имели IIIa степень по классификации Clavien-Dindo. При оценке продолжительности жизни в параллельно сравниваемых группах (табл. 3) медиана выживания в основной группе была статистически значимо выше по сравнению с группой сравнения (p = 0,04) (рис. 1).

Большинство исследований в области ФДТ РПЖ проведены у пациентов без отдаленного метастатического поражения. В исследованиях Bown и соавт. [8], Hugget и соавт. [9], а также последовавших исследованиях различных фотосенсибилизаторов по оригинальным методикам, описанным в обзоре Karimnia и соавт. [6], представлены прежде всего ближайшие результаты применения локальной ФДТ у пациентов с IV стадией заболевания при локальном прогрессировании РПЖ. Медиана выживания в этих исследованиях варьировала от 9,5 до 11 мес у пациентов с II и III стадией злокачественного процесса. При этом актуальными остаются вопросы о возможности улучшения отдаленных результатов у пациентов с IV стадией заболевания, составляющих большинство среди впервые диагностированных больных, а также установление факторов, влияющих на эффективность не только местного применения ФДТ, но и на отдаленные исходы лечения.

Методом ROC-анализа был проведен анализ причинно-следственной связи ряда маркеров гемостаза, системного воспаления и протеолиза, взятых до проведения ФДТ, и 3-месячной выживаемости (табл. 4 и рис. 2). Получены статистически значимые результаты взаимосвязи уровня фибриногена и 3-месячной выживаемости при проведении ФДТ (p=0,039), остальные показатели статистически значимого влияния не

#### Таблица З

Выживаемость пациентов в основной и контрольной группах Table 3

Comparative analysis of survival of patients

| Группа Group                       | Медиана выживания, дни<br>Median survival, days<br>Me (Q1; Q3) | 95% доверительный интервал<br>95% confidence interval | р    |
|------------------------------------|--|---|------|
| Основная<br>Main                   | 148 (287;72)   | 86,145–209,855  | 0.04 |
| Сравнения (контроль)<br>Comparison | 68 (188;35)  | 61,253–74,7477  | 0,04 |

Примечание: p – статистическая значимость различий между основной группой и группой сравнения. Note: p – statistical significance of differences beween the main group nd the comparison group

![](_page_30_Figure_11.jpeg)

![](_page_30_Figure_12.jpeg)

**Рис. 1.** Выживаемость пациентов с РПЖ при проведении паллиативного хирургического лечения с применением сочетанной ФДТ и без ее применения.

Fig. 1. Comparative characteristics of survival in patients who underwent palliative surgical treatment of a malignant pancreatic tumor using local and systemic PDT and without using of it. Рис. 2. Результаты ROC-анализа влияния уровня фибриногена на 3-месячную выживаемость больных РПЖ IV стадии.

Fig. 2. Results of ROC analysis of the effect of fibrinogen on threemonth survival in patients with stage IV pancreatic cancer.

#### Таблица 4

Результаты ROC-анализа влияния уровня фибриногена на 3-месячную выживаемость больных РПЖ IV стадии Table 4

Results of ROC analysis of the effect of fibrinogen on three-month survival in patients with stage IV pancreatic cancer

| Показатель<br>Index                | AUC (площадь под<br>ROC-кривой)<br>AUC (area under the<br>ROC curve) | Стандартная ошибка<br>(m)<br>Standard error (m) | 95% доверительный<br>интервал AUC, (95%Cl)<br>95% confidence<br>interval AUC, (95%Cl) | Уровень<br>значимости (p)<br>Significance level<br>(p) |
|------------------------------------|--|---|---|--|
| Фибриноген, г/л<br>Fibrinogen, g/l | 0,7986   | 0,1185  | 0,5664; 1,031   | 0,039  |
| LR+ = 6,75; LR- = 0,28             |  |   |   |  |
| TNF-α                              | 0,571429   | 0,187718  | 0,2035; 0,9394  | 0,68   |
| TF                                 | 0,261905   | 0,152083  | -0,03618; 0,5600  | 0,15   |
| TFPI                               | 0,452381   | 0,18798   | 0,08394; 0,8208   | 0,78   |
| ТРА                                | 0,571429   | 0,197777  | 0,1838; 0,9591  | 0,67   |
| TPA/PAI                            | 0,6  | 0,185531  | 0,2364; 0,9636  | 0,57   |

имели (p>0,1). Качество модели было признано хорошим (площадь под ROC-кривой составила 0,7986). Отсекающий предел, при котором чувствительность прогностической модели соответствует 75%, специфичность – 89%, составил 3,40 г/л. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что уровень фибриногена выше 3,40 г/л позволяет прогнозировать снижение вероятности 3-месячной выживаемости после проведения ФДТ.

Изменения системы гемостаза у онкологических пациентов являются одной из основных проблем современной онкологии, при этом тромботические осложнения – одна из ведущих причин смерти больных [16]. Фибриноген представляется важным показателем коагуляционного гемостаза, нарушения в котором играют ведущую роль в тромботических осложнениях при злокачественных новообразованиях и влияют на выживаемость пациентов [16].

Результаты проведенного исследования подтвердили данные, полученные в предыдущих исследованиях, посвященных ФДТ. ФДТ является методом выбора у пациентов с РПЖ, которым не показаны не только радикальное хирургическое лечение, но и другие методы паллиативного лечения вследствие их высокой

#### ЛИТЕРАТУРА

- Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. – 2021. – С. 239.
- Hang J. et al. Prediction of overall survival for metastatic pancreatic cancer: Development and validation of a prognostic nomogram with data from open clinical trial and real-world study // Cancer Medical. – 2018. – vol. 7(7). – P. 2974-84. doi: 10.1002/cam4.1573.

токсичности. Особенно это актуально для пациентов с IV стадией заболевания, у которых ФДТ позволяет значительно увеличить продолжительность жизни при отсутствии побочных эффектов от терапии. При выборе тактики ведения этих пациентов, особенно с мультиморбидностью, важное значение имеет наличие доступного в рутинной практике хирурга и онколога способа прогнозирования эффективности ФДТ. Предложенный по результатам проведенного исследования способ [17] позволяет выявить пациентов с РПЖ IV стадии, которым ФДТ может с высокой вероятностью увеличить продолжительность жизни по сравнению с другими методами паллиативного лечения.

#### Заключение

Таким образом, комплексное паллиативное лечение, включающее сочетанную ФДТ, больных РПЖ позволяет увеличить продолжительность жизни пациентов, не оказывая на них побочных эффектов. Исходя из вышеизложенного, сочетанное применение локальной и системной ФДТ можно рекомендовать как метод выбора при комплексном паллиативном лечении этой сложной категории пациентов.

#### REFERENCES

- 1. Status of oncological care for the population of Russia in 2020 / ed. AD Kaprin, VV Starinskogo, GV Petrova - M.: MNIOI named after. P.A. Herzen, branch of the FSBI «NMICR» of the Russian Ministry of Health, 2021, p. 239.
- 2. Hang J. et al. Prediction of overall survival for metastatic pancreatic cancer: Development and validation of a prognostic nomogram with data from open clinical trial and real-world study, *Cancer Medical*, 2018, vol. 7(7), pp. 2974-84. doi: 10.1002/cam4.1573.

- Общероссийский национальный союз «Ассоциация онкологов России». Рак поджелудочной железы // Клинические рекомендации. – 2021. – С. 67. Ссылка активна на 28.06.2022. https:// oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/04/kr\_rakpodzheludochnoj-zhelezy\_aor.pdf
- Ducreux M. et al. ESMO Guidelines Committee. Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Annals of oncology. – 2015. – Suppl 5. – P. 56-68. doi: 10.1093/annonc/mdv295.
- Российское общество хирургов. Механическая желтуха // Клинические рекомендации. 2018. С. 106. Ссылка активна на 28.06.2022. http://xn----9sbdbejx7bdduahou3a5d.xn--p1ai/stranica-pravlenija/klinicheskie-rekomendaci/urgentnaja-abdominalnaja-hirurgija/klinicheskie-rekomendaci-mehanicheskaja-zheltuha.html
- Karimnia V. et al. Photodynamic Therapy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma // Cancers (Basel). – 2021. – vol. 13(17). – P. 4354. doi: 10.3390/cancers13174354.
- Lu Y et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: A meta-analysis // Clinics and research in hepatology and gastroenterology. – 2015. – vol. 39(6). – P. 718-724. doi: 10.1016/j.clinre.2014.10.015.
- Bown S.G. et al. Photodynamic therapy for cancer of the pancreas // Gut. – 2002. – vol. 50(4). – P. 549-557. doi: 10.1136/gut.50.4.549.
- Huggett M.T. et al. Phase I/II study of verteporfin photodynamic therapy in locally advanced pancreatic cancer // British journal of cancer. – 2014. – vol. 110(7). – P. 1698-1704. doi: 10.1038/bjc.2014.95
- Wang L., Yu W.F. Obstructive jaundice and perioperative management // Acta Anaesthesiologica Taiwanica. 2014. vol. 52(1). P. 22-29. doi: 10.1016/j.aat.2014.03.002.
- Della Corte V. et al. Inflammation, Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness as Therapeutic Targets in Cardiovascular Medicine // Curr Pharm Des. – 2016. – vol. 22(30). – P. 4658-4668.
- 12. Hamilos M. et al. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options // Cardiovasc Diagn Ther. 2018. vol. 8(5). P. 568-580.
- 13. Цеймах А.Е., Лазарев А.Ф., Куртуков В.А. и соавт. Способ комплексного мини-инвазивного лечения механической желтухи, холангита, внутрипеченочных абсцессов опухолевого генеза с применением локальной и системной фотодинамической терапии. Патент РФ №2704474, 2019. [Tseimakh A.E et al. Method for complex mini-invasive treatment of obstructive jaundice, cholangitis, intrahepatic abscesses of tumor genesis using local and systemic photodynamic therapy. Patent RF, no. 2704474, 2019. (In Russian)]
- Dindo D., Demartines N. and Clavien P.A. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey // Annals of Surgery. – 2004. – vol. 240(2). – P. 205-213.
- DeWitt J.M. et al. Phase 1 study of EUS-guided photodynamic therapy for locally advanced pancreatic cancer // Gastrointest Endosc. – 2019. – vol. 89(2). – P. 390-398.
- Streiff M.B. et al. Cancer-Associated Venous Thromboembolic Disease, Version 2.2021 NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // Journal of the National Comprehensive Cancer Network. 2021. vol. 19(10). P. 1181-1201.
- 17. Цеймах А.Е, Куртуков В.А, Шойхет Я.Н. Способ прогнозирования трехмесячной выживаемости у больных со злокачественным новообразованием поджелудочной железы IV стадии при использовании фотодинамической терапии. Патент РФ №2779088, 2021. [Tseimakh A.E., Kurtukov V.A. and Shoikhet Ya.N. A method for predicting three-month survival in patients with stage IV pancreatic cancer using photodynamic therapy. Patent RF, no. 2779088, 2021. (In Russian)]

- Russian Oncology Association. Pancreas cancer. Clinical guidelines, 2021, p. 67. (In Russian) https://oncology-association.ru/wpcontent/uploads/2021/04/kr\_rak-podzheludochnoj-zhelezy\_aor. pdf
- Ducreux M. et al. ESMO Guidelines Committee. Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up, *Annals of oncology*, 2015, Suppl 5, pp. 56-68. doi: 10.1093/annonc/mdv295.
- Russian Association of Surgeons. Obstructive jaundice, *Clinical guidelines*, 2018, p. 106. (In Russian).http://xn---9sbdbejx7bdduahou3a5d.xn--p1ai/stranica-pravlenija/klinicheskie-rekomendaci/ urgentnaja-abdominalnaja-hirurgija/klinicheskie-rekomendacimehanicheskaja-zheltuha.html
- Karimnia V. et al. Photodynamic Therapy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, *Cancers (Basel)*, 2021, vol. 13(17), p. 4354. doi: 10.3390/cancers13174354.
- Lu Y. et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: A meta-analysis, *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 2015, vol. 39(6), pp. 718-724. doi: 10.1016/j.clinre.2014.10.015.
- 8. Bown S.G. et al. Photodynamic therapy for cancer of the pancreas, *Gut*, 2002, vol. 50(4), pp. 549-557. doi: 10.1136/gut.50.4.549.
- Huggett M.T. et al. Phase I/II study of verteporfin photodynamic therapy in locally advanced pancreatic cancer, *British journal of cancer*, 2014, vol. 110(7), pp. 1698-1704. doi: 10.1038/bjc.2014.95
- Wang L., Yu W.F. Obstructive jaundice and perioperative management, *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 2014, vol. 52(1), pp. 22-29. doi: 10.1016/j.aat.2014.03.002.
- Della Corte V. et al. Inflammation, Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness as Therapeutic Targets in Cardiovascular Medicine, *Curr Pharm Des*, 2016, vol. 22(30), pp. 4658-4668.
- 12. Hamilos M. et al. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options, *Cardiovasc Diagn Ther*, 2018, vol. 8(5), pp. 568-580.
- Tseimakh A.E. et al. Method for complex mini-invasive treatment of obstructive jaundice, cholangitis, intrahepatic abscesses of tumor genesis using local and systemic photodynamic therapy, 2019, Patent RF, no. 2704474, 2019. (In Russian)
- 14. Dindo D., Demartines N. and Clavien P.A. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Annals of Surgery*, 2004, vol. 240(2), pp. 205-213.
- DeWitt J.M. et al. Phase 1 study of EUS-guided photodynamic therapy for locally advanced pancreatic cancer, *Gastrointest Endosc*, 2019, vol. 89(2), pp. 390-398.
- Streiff M.B. et al. Cancer-Associated Venous Thromboembolic Disease, Version 2.2021 NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 2021, vol. 19(10), pp. 1181-1201.
- 17. Tseimakh A.E., Kurtukov V.A. and Shoikhet Ya.N. A method for predicting three-month survival in patients with stage IV pancreatic cancer using photodynamic therapy, 2021, Patent RF, no. 2779088, 2021. (In Russian)

**ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ** 

#### Е.В. Филоненко<sup>1</sup>, В.И. Иванова-Радкевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup>«Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия <sup>2</sup>Российский Университет дружбы народов, Москва, Россия

#### Резюме

Флуоресцентная диагностика – перспективный метод диагностики немеланоцитарных опухолей кожи, позволяющий выявить клинически не определяемые очаги рака кожи и уточнить границы распространения опухолевого процесса. Основными лекарственными препаратами для проведения флуоресцентной диагностики являются лекарства на основе 5-аминолевулиновой кислоты и ее метилового эфира. Показатели чувствительности флуоресцентной диагностики при базальноклеточном, плоскоклеточном раке кожи и экстрамаммарном раке Педжета достигают 79,01–100,0%, специфичности – 55,6–100,0%. Эффективность этого метода может снижаться за счет гиперкератинизации, ороговения и присутствия некротической ткани на поверхности опухолевых очагов. Сравнительные исследования результатов флуоресцентной диагностики и гистологического картирования при удалении опухоли методом микрографической хирургии Мооса показали высокую корреляцию результатов определения краев опухоли этими методами. Это свидетельствует о том, что безопасная и технически легко выполнимая флуоресцентная диагностика может служить хорошей альтернативой микрографической хирургии Мооса – одному из наиболее точных, но достаточно трудозатратному и технически сложному методу определения границ очагов рака кожи.

Ключевые слова: флуоресцентная диагностика, рак кожи, базальноклеточный рак кожи, плоскоклеточный рак кожи, экстрамаммарный рак Педжета, край опухоли, 5-аминолевулиновая кислота, метиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты.

Для цитирования: Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Флуоресцентная диагностика при немеланоцитарных опухолях кожи // Biomedical Photonics. – 2022. – Т. 11, № 4. – С. 32–40. doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-32-40.

Контакты: Филоненко E.B., e-mail: derkul23@yandex.ru

#### FLUORESCENT DIAGNOSTICS OF NON-MELANOMA SKIN CANCER

#### Filonenko E.V.<sup>1</sup>, Ivanova-Radkevich V.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRC of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia <sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

#### Abstract

Fluorescent diagnostics is a promising method for diagnosing non-melanocytic skin tumors, which makes it possible to identify clinically undetectable skin cancer foci and clarify the margin of the tumor lesion. The main drugs for fluorescent diagnostics are drugs based on 5-aminolevulinic acid and its methyl ester. Sensitivity indicators of fluorescent diagnostics in basal cell, squamous cell carcimoma and extramammary Paget's cancer reach 79.0–100.0%, specificity – 55.6–100%. The effectiveness of this method may be reduced due to hyper-keratinization, keratinization, and the presence of necrotic tissue on the surface of tumor foci. Comparative studies of the results of fluorescent diagnostics and histological mapping during tumor removal using Mohs micrographic surgery showed a high correlation of the results of determining the tumor edges by these methods, which indicates that safe and technically easily performed fluorescent diagnostics can serve as a good alternative to Mohs micrographic surgery, one of the most accurate , but rather labor-intensive and technically complex method for determining the boundaries of skin cancer foci.

Key words: fluorescent diagnostics, skin cancer, basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, Paget's extramammary desease, tumor margin, 5-aminolevulinic acid, 5-aminolevulinic acid methyl ester.

For citations: Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Fluorescent diagnostics of non-melanoma skin cancer, Biomedical Photonics, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 32–40. (in Russian) doi: 10.24931/2413–9432–2022–11-4-32-40.

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

#### Введение

Опухолевые поражения кожи являются одними из наиболее часто встречающихся новообразований в общей структуре онкологической заболеваемости. В последние десятилетия в мире наблюдается значительный рост заболеваемости раком кожи. В 2021 г. в России было выявлено 68240 случаев рака кожи (кроме меланомы), и 442619 пациентов с диагнозом рака кожи (кроме меланомы) находились на диспансерном учете к концу 2021 г. [1]. В основе успешного лечения больных со злокачественными новообразованиями кожи лежит выполнение адекватного по объему специализированного лечения, которое обеспечивается только своевременной и точной диагностикой с оценкой истинных границ опухолевого поражения. Диагностика опухолей и предопухолевых поражений кожи основана на данных клинической картины, полученной при визуальном наружном осмотре пациента, и инструментальных методов исследования. Для выявления рака кожи успешно применяют флуоресцентную диагностику (ФД) – исследование, основанное на избирательном накоплении фотосенсибилизатора или индукции образования эндогенных фотосенсибилизаторов – порфиринов – в ткани опухоли с последующей регистрацией их флуоресценции при облучении светом определенной длины волны [2, 3].

Работ, посвященных применению ФД, как диагностического метода в клинической практике, немного. Поиск в базе данных Pubmed по ключевым словам «fluorescent diagnostics, photodiagnostics, photodynamic diagnostics, photosensitizer, skin tumors» позволил выявить около 150 научных работ, 80% которых оказались посвящены изучению кинетики накопления фотосенсибилизатора в опухолевых очагах и здоровой коже методом локальной флуоресцентной спектроскопии для оптимизации методик фотодинамической терапии с различными фотосенсибилизаторами, а также изучению явления аутофлуорсценции опухолевых тканей. Только 19 статей за последние 20 лет соответствовали тематике настоящего обзора. Представленные в них данные были проанализированы и включены в обзор.

В большинстве исследований для выполнения ФД немеланоцитарных опухолей кожи применяли препараты 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) и ее производных. 5-АЛК является промежуточным метаболитом биосинтеза гема. Экзогенное введение 5-АЛК увеличивает скорость продукции фотоактивного протопорфирина IX (ППІХ) во всех клетках организма, в которых происходит процесс биосинтеза гема. Фермент феррохелатаза катализирует превращение ППІХ в фотонеактивный гем. В неизмененных клетках этот процесс происходит довольно быстро (2–4 ч). В опухолевых клетках в связи с большей активностью ферментов начального этапа синтеза гема (в частности, порфобилиногендеаминазы), а также в результате снижения активности в них (из-за ограниченной доступности Fe<sup>2+</sup>) феррохелатазы происходит накопление фотоактивного ППІХ. Увеличение концентрации ППІХ в опухоли происходит в течение нескольких часов, а высокий уровень его удерживается до 24 ч, в то время как в нормальных клетках ППІХ быстро превращается в фотонеактивный гем под действием феррохелатазы. Таким образом в интервале приблизительно от 2 до 24 ч наблюдается значительная разница (до 10–15 раз) между концентрацией фотоактивного ППІХ в опухолевых и здоровых тканях. Это позволяет выполнять процедуру ФДТ с минимальным воздействием на здоровые ткани, определять оптимальные границы резекции при хирургическом удалении, а также с высокой эффективностью проводить ФД для выявления опухолей и уточнения их границ [2, 4, 5].

Следует отметить, что даже без экзогенного введения 5-АЛК в тканях местнораспространенных, особенно распадающихся опухолей флуоресценция порфиринов несколько выше, чем в окружающих здоровых тканях, за счет биохимических механизмов, описанных выше. С.Т. Andrade и соавт. считают, что только дополнительное экзогенное введение 5-АЛК и ее производных в большинстве случаев приводит к усилению контраста флуоресценции опухолевых и здоровых тканей и возможности проведения полноценной диагностики [6]. В своих исследованиях авторы продемонстрировали интенсивную аутофлуоресценцию очагов базальноклеточного рака кожи (БКРК), актинического кератоза и, в меньшей степени, себорейного кератоза. Для очагов актинического кератоза и себорейного кератоза дополнительное местное применение раствора 5-АЛК не приводило к увеличению интенсивности флуоресценции. Авторы считают, что возможной причиной являлось неэффективное проникновение раствора 5-АЛК за счет гиперкератинизации и некротической ткани на поверхности очагов. Также часть очагов БКРК и актинического кератоза имели обширное ороговение на поверхности, которое, по всей видимости, действовало как физический барьер для проникновения раствора 5-АЛК. В таких очагах даже через 60 мин после применения 5-АЛК не было отмечено увеличения интенсивности флуоресценции. Возможным решением является удаление кератинового слоя кюретажем, который является простой медицинской процедурой. Для очагов себорейного кератоза высокое поглощение света меланином препятствует визуализации флуоресценции как в случае аутофлуоресценции, так и при ФД с экзогенным введением 5-АЛК. Интенсивность флуоресценции очагов БКРК достоверно увеличивалась после местного применения раствора 5-АЛК, что позволило авторам рекомендовать ФД для диагностики этой патологии.

В исследовании S. Neus и соавт. [7] также подтверждена высокая диагностическая ценность ФД у больных БКРК. Авторы оценивали эффективность ФД у пациентов с очагами БКРК на коже головы. Границы опухоли определяли с использованием лампы Вуда по флуоресценции после экспозиции 20% мази 5-АЛК в течение 3,5 ч. Резекцию опухоли проводили по определенным с помощью ФД границам. Было проанализировано 28 очагов БКРК. В 22 (78,6%) случаях границы, определенные по ФД, полностью совпадали с результатами гистопатологического исследования. В 6 очагах границы, определенные по ФД, не коррелировали с гистопатологически оцененными границами опухоли. Из них 4 (14,3%) очага были удалены не полностью; 2 (7,1%) очага были удалены полностью, что указывает на то, что опухоль находилась в пределах определенного по ФД края, но не на краю иссечения. Следовательно, частота неполного удаления очагов БКРК составила 14,3% (4 из 28). Показатели чувствительности и специфичности ФД составили 79% и 100%, соответственно.

В 2015 г. Е.В. Филоненко [2] были опубликованы результаты исследования эффективности ФД с 5-АЛК (раствор для приема внутрь в дозе 1,0 мг/кг массы тела за 3 ч до проведения диагностики) у 237 больных БКРК, плоскоклеточным раком кожи (ПКРК) и метатипичным раком кожи. У 100% больных ФД позволила уточнить границы опухолевых очагов. У 118 пациентов было выявлено 506 очагов дополнительной флюоресценции, из которых у 63 больных при морфологическом исследовании был диагностирован рак кожи. Чувствительность метода составила 100,0%, специфичность – 55,6%.

Аналогичные результаты были получены и в других исследованиях, посвященных ФД у больных с БКРК и ПКРК. В исследовании J. Liutkeviciute-Navickiene и соавт. [8] ФД с 5-АЛК и метиловым эфиром 5-АЛК (МЭ-АЛК) в виде местной аппликации была проведена 126 пациентам с БКРК и ПКРК. Чувствительность метода составила 95,4%, специфичность – 88,6%. Ү. Won и соавт. [9] применили технологию компьютеризированного анализа флуоресцентных изображений при проведении ФД с МЭ-5АЛК 10 пациентам с БКРК. Чувствительность метода составила 82,6%, специфичность – 94,1%.

В последние годы были опубликованы результаты ряда исследований, в которых эффективность ФД с 5-АЛК и ее производными оценивали в сравнении с микрографической хирургией Мооса (MMS) – одним из наиболее точных, но достаточно трудозатратным и технически сложным методом определения границ очагов рака кожи. При использовании MMS происходит иссечение новообразования с одновременным гистологическим исследованием послойных срезов. Пораженная ткань удаляется слой за слоем, и удаленные слои отправляются на срочный гистологический анализ. При обнаружении злокачественных клеток иссечение тканей продолжается. Так происходит до тех пор, пока вся очередная резецированная область не будет состоять из здоровых тканей. MMS обеспечивает интраоперационную микроскопическую оценку 100% краев поражения, что позволяет удалить только пораженную ткань и снизить частоту рецидивов [10]. Высокая распространенность рака кожи в сочетании с затратами и временем, связанными с MMS, определяет актуальность разработки новых методов уточнения краев опухоли, которые могли бы повысить эффективность MMS или являться альтернативой MMS [11, 12]. Ряд исследований показал корреляцию результатов определения краев опухоли методом ФД с результатами определения границ опухоли методом MMS.

В исследовании В. Stenquist и соавт. [13] у 12 пациентов с БКРК результаты флуоресценции после применения мази с 5-АЛК и гистологического картирования с помощью MMS коррелировали в 42% опухолей с частичной корреляцией в остальных очагах. A.M. Wennberg и соавт. [14] показали сильную корреляцию границ опухоли по данным цифровой флуоресцентной визуализации после предварительной экспозиции мази с 5-АЛК с гистологическим картированием с помощью MMS у 50% пациентов. Еще в одном исследовании [15] оценивали эффективность применения ФД с МЭ-АЛК для уточнения границ опухолевого поражения очагов БКРК. Время экспозиции мази с фотосенсибилизатором было увеличено по сравнению со стандартными методиками и составило в среднем 13 ч. В исследовании участвовали 27 больных БКРК, средний диаметр очагов составлял 1,05±0,35 см. Границы опухолевых очагов были определены с использованием цифровой системы визуализации флуоресценции с оценкой накопления ППІХ в опухолевой ткани по отношению к нормальной ткани. Затем очаги БКРК были удалены хирургически в соответствии с границами, установленными методом MMS. В 12 (44,44%) из 27 очагов край опухоли по данным ФД совпал с гистопатологической картиной. Среднее значение флуоресцентной контрастности составило 2,7. 15 пигментированных очагов БКРК показали ослабленную или отсутствующую флуоресценцию в центре, флуоресценция на их периферии была использована в качестве ориентира для резекции. В этих 15 очагах количество дополнительных этапов резекции MMS, необходимых для очистки латерального края, каждый с дополнительным иссечением 1 мм, составило один этап в 14 (93,3%) очагах БКРК и два этапа в 1 (6,6%) очаге БКРК. Близкие по эффективности результаты были получены в исследовании Jeon и соавт. [16]. 38 больным ПКРК были определены границы опухоли методом ФД с использованием 20% мази 5-АЛК или 16% мази МЭ-АЛК, после чего опухоль была резецирована. Среднее количество дополнительных этапов резекции MMS, понадобившихся для полного удаления опухоли, составило 1,37±0,75. В контрольной группе (29 пациентов) резекцию проводили без ФД, среднее количество дополнительных резекций составило 1,83±0,89 (p = 0,02). В группе ФД в 29 случаях (76,3%) для полного удаления опухоли потребовалась одна дополнительная резекция, тогда как в 9 наблюдениях (23,7%) потребовалось две или более резекций. В группе контроля одна дополнительная резекция потребовалась в 13 случаях (44,8%) для полного иссечения опухоли, в 16 случаях (55,2%) две резекции или более (р = 0,008).

В литературе описаны попытки применять метод ФД для дифференциальной диагностики опухолевых и предопухолевых заболеваний кожи с определением стадии заболевания по интенсивности флуоресценции. Т. Smits и соавт. [17] продемонстрировали, что ФД с производными 5-АЛК нельзя использовать в качестве неинвазивной диагностической процедуры для дифференцировки различных стадий актинического кератоза, поскольку не было обнаружено существенных различий во флуоресценции между различными стадиями заболевания. Однако флуоресцентная контрастность при болезни Боуэна, как правило, выше, чем при поражениях КІЛ І и КІЛ ІІ. Самая высокая флуоресцентная контрастность была обнаружена в очагах ПКРК, но небольшое количество таких очагов (3 из 86 поражений, подвергнутых биопсии, были классифицированы как ПКРК) и тот факт, что они принадлежали одному пациенту, не позволили провести надежное статистическое сравнение. В дальнейших исследованиях [18] авторами было показано, что только очаги KIN I и KIN III показывают достоверные различия в значениях флуоресцентной контрастности (1,3 и 2,5, соответственно; p<0,05). Самые высокие коэффициенты контрастности были определены у очагов микроинвазивного ПКРК – 2,7.

В ряде исследований показана высокая эффективность ФД у пациентов с экстрамаммарным раком Педжета (ЭМРП). М. Wan и соавт. [19] у 21 больного ЭМРП определяли границы опухолевого поражения методом ФД (20% мазь 5-АЛК, время экспозиции 3,5 ч) и методом множественных поисковых биопсий (MSBs). Авторами показана сильная корреляция между результатами исследования границ опухолевого поражения, установленными обоими методами.

Высокая диагностическая ценность ФД при ЭМРП подтверждена и в исследовании М. Wu и соавт. [20], в котором участвовали 36 пациентов. В качестве фотосенсибилизатора использовали 5-АЛК в виде 20% раствора со временем экспозиции 2 ч. Границы опухоли определяли визуально методами ФД и ФД в сочетании с отражательной конфокальной микроскопией. У пациентов были взяты 130 образцов, в которых был подтвержден опухолевый процесс. Из 130 срезов с патогистологически подтвержденным опухолевым процессом 83 среза (63,8%) располагались за пределами макроскопически определенных границ опухолевых очагов с расстоянием 3,5±3,1 мм и медианой 2,7 мм; 46 (35,4%) срезов находились за границами маркерной линии опухолевых очагов, определенной методом ФД с расстоянием 2,1±1,7 мм и медианой 1,5 мм; 27 (20,8%) срезов – за пределами маркерной линии ФД с отражательной конфокальной микроскопией с расстоянием 1,4±1,2 мм и медианой 0,9 мм.

Несмотря на высокую чувствительность и специфичность ФД рака кожи, продолжается разработка модифицированных методик ФД, направленных на повышение этих показателей. Van der Beek и соавт. [21] представили результаты исследования, демонстрирующие существенное увеличение специфичности и чувствительности ФД с 5-АЛК в виде липосомального спрея при использовании метода оценки нормированной флуоресценции. Данный подход позволяет уменьшить вклад внешних факторов, искажающих интенсивность флуоресценции ППІХ, например, отражение из-за неперпендикулярного попадания света на кожу, поглощение излучения более толстым роговым слоем или изменение интенсивности излучения из-за разницы в расстоянии между кожей и источником света. Методика основана на одновременном измерении ППІХ-опосредованной флуоресценции и аутофлуоресценции после облучения импульсным светом с длиной волны 407 нм. Источником аутофлуоресценции, скорее всего, является связанный коллаген. Поскольку спектры излучения аутофлуоресценции и флуоресценции ППІХ разделены, существует техническая возможность одновременного измерения аутофлуоресценции в зеленой области спектра и флуоресценции ППІХ в красной области спектра. Одновременно система вычисляет нормированную флуоресценцию ППІХ. В результате, если существует переменная, влияющая на интенсивность обоих типов флуоресценции, можно отфильтровать этот «шум», используя данные по интенсивности аутофлуоресценции. Записанная интенсивность флуоресценции визуализируется с помощью наложения псевдоцветов, где красный цвет указывает на самый высокий уровень флуоресценции, синий – на самый низкий уровень флуоресценции на изображении. Анализируемый очаг считали потенциально подозри-

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

ФД может быть использована не только для определения границ опухолевого поражения, но и как метод контроля эффективности лечения. М. Bosseila и соавт. [22] оценивали изменение флуоресцентной контрастности очагов грибовидного микоза у 22 пациентов методом флуоресцентной спектроскопии с 20% мазью 5-АЛК (3-часовая экспозиция). Диагностику проводили два раза: до и после проведения специализированного лечения в течение 12 нед, включающего узкополосную средневолновую терапию UVB (311 нм) и ПУВА-терапию с 8-метоксипсораленом в сочетании с подкожным введением интерферона IFN-α в резистентные очаги. Исследования показали, что положительная динамика, подтвержденная снижением уровня злокачественных CD4+/CD7- Т-клеток, сопровождалась уменьшением средней флуоресцентной контрастности с 2,2 до 1,94 (р = 0,009). На основании полученных данных авторы делают вывод, что в случае грибовидного микоза ФД может представлять собой эффективный инструмент для оценки ответа опухолевого очага на терапию.

тельным на наличие патологического процесса при

превышении интенсивности флуоресценции (норми-

рованной или нет) на 33% и более флуоресценцию

в нормальной коже. Использование методики оценки

нормированной флуоресценции позволило повысить чувствительность ФД с 39% до 97% и специфичность –

с 27% до 100%.

J. de Leeuw и соавт. [23] предложили использовать метод ФД для скрининга опухолевых и предопухолевых заболеваний у людей, работающих на улице и подвергающихся постоянному воздействию УФ-излучения. В исследовании приняли участие 93 добровольца. У каждого пациента в качестве профотосенсибилизатора использовали два препарата: 5-АЛК и МЭ-АЛК, что позволило сравнить их эффективность. МЭ-АЛК в виде 16% крема наносили под окклюзионную повязку на правую сторону лба на 3 ч. Липосомальный спрей 5-АЛК 0,5% наносили каждые 5 мин на левую сторону лба без окклюзии в течение 2,5 ч с последующей 0,5-часовой паузой, позволяющей липосомам 5-АЛК полностью впитаться в кожу. Сразу после этого были сделаны флуоресцентные снимки обеих сторон лба. Флуоресцентное изображение правой (обработанной МЭ-АЛК) стороны лба показывало очень высокую и однородную интенсивность флуоресценции в большинстве исследованных участков кожи с низким различием между нормальной и пораженной кожей. Левая сторона (обработанная липосомальным спреем 5-АЛК) в большинстве случаев показывала низкую флуоресценцию нормальной кожи и умеренную, но отчетливую флуоресценцию очагов немеланоцитарных опухолей кожи. При этом авторы отмечают, что значительно более низкое поглощение 5-АЛК в липосомах нормальной кожи приводит к меньшей степени фоточувствительности, а более быстрый клиренс 5-АЛК обеспечивает лучший профиль безопасности по сравнению с кремом МЭ-АЛК (8 ч против 36 ч фотосенсибилизации).

В результате исследования флуоресценция была обнаружена в 287 поражениях у 61 пациента. По данным гистологического исследования у 28 пациентов положительная флуоресценция была выявлена в 212 доброкачественных поражениях. В том числе у 22 пациентов в 204 флуоресцирующих очагах была диагностирована гиперплазия сальных желез, а остальные 8 очагов ложноположительной флуоресценции у 6 пациентов соответствовали вирусным бородавкам, доброкачественному лихеноидному воспалению и диспластическим меланоцитарным невусам. У 29 пациентов в 71 очаге флуоресценции был гистологически подтвержден актинический кератоз, у 4 пациентов – 3 очага БКРК и 1 очаг ПКРК. Ложноотрицательная флуоресценция была обнаружена только в одном очаге, расположенном на волосистой части головы (отрицательный результат флуоресцентного обнаружения поражения, клинически подозреваемого и гистологически подтвержденного как актинический кератоз). У 5 больных были выявлены флуоресцентным методом и впоследствии подтверждены гистологическим исследованием 5 очагов актинического кератоза, до этого не отмеченные ни больными, ни врачами, проводившими обследование. При сочетании системы обнаружения флуоресценции, используемой в этом исследовании, с клиническим исследованием и дерматоскопией специфичность этого метода составила 92%.

В литературе найдена одна работа, посвященная оценке эффективности применения для ФД фотосенсибилизаторов не на основе 5-АЛК и ее производных. S.V. Катгаvа и соавт. [24] 40 пациентам с ПКРК была проведена ФД с фотосенсибилизатором на основе хлорина еб (в/в введение в дозе 1,0 мг/кг массы тела за 4–6 ч до диагностики). Чувствительность метода составила 90%, специфичность – 80%, точность – 87,5%, положительная прогностическая ценность – 93%, отрицательная прогностическая ценность – 72%.

В табл. суммированы результаты основных исследований эффективности ФД при немеланоцитарных опухолях кожи.

#### Таблица

Сводные данные результативности применения флуоресцентной диагностики у пациентов с немеланоцитарными опухолями кожи **Table** 

| Ju | Summary data on the effectiveness of the use of hubbescence diagnostics in patients with hole-melanoma skin cancer |   |  |  |  |  |  |  |  |
|----|--|---|--|--|--|--|--|--|--|
|    | Авторы<br>Authors  | Число<br>пациентов<br>Number<br>of patients | Диагноз<br>Diagnosis   | Фотосенсибилиза-<br>тор Photosensitizer    | Длина волны<br>излучения<br>Radiation<br>wavelength  | Результаты<br>Results  |  |  |  |
| 1  | Won и со-<br>авт. 2007, [9]<br>Won et al.,<br>2007 [9]   | 10  | БКРК<br>BCC  | MЭ-АЛК<br>20% мазь<br>MAL<br>20% ointment  | Лампа Вуда,<br>λ макс 365 нм<br>Wood's lamp,<br>λ max 365 nm   | Чувствительность 82,6%<br>Специфичность 94,1%<br>Sensitivity 82.6%<br>Specificity 94.1%  |  |  |  |
| 2  | Smits и со-<br>авт. 2007,<br>[17]<br>Smits et al.,<br>2007 [17]  | 14  | 86 очагов, в том<br>числе 3 ПКРК, 67<br>актинический<br>кератоз (32 КІN<br>I, 18 КІN II, 17 КІN<br>III), 10 нормаль-<br>ная кожа<br>86 lesions,<br>including 3<br>SCC, 67 actinic<br>keratosis (32 КІN<br>I, 18 КІN II, 17 КІN<br>III), 10 normal skin | 5-АЛК<br>20% мазь<br>5-ALA<br>20% ointment | Ксеноновая<br>лампа<br>с фильтром<br>370-440 нм.<br>Xenon light<br>source with a<br>custom band<br>pass filter<br>370-440 nm | He обнаружено существенных раз-<br>личий во флуоресценции между<br>различными стадиями актиниче-<br>ского кератоза. Флуоресцентная<br>контрастность при болезни Боуэ-<br>на, как правило, выше, чем при<br>поражениях KIN I и KIN II<br>No significant differences in<br>fluorescence were found between<br>different stages of actinic keratosis.<br>Fluorescent contrast in Bowen's<br>disease is generally higher than in<br>KIN I and KIN II lesions |  |  |  |

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

| 3 | Neus и со-<br>авт., 2008 [7]<br>Neus et al.,<br>2008 [7]   | 28  | БКРК<br>ВСС  | 5-АЛК<br>20% мазь<br>5-ALA<br>20% ointment   | Лампа Вуда,<br>λ макс 365 нм<br>Wood's lamp,<br>λ max 365 nm  | Частота полного удаления опухо-<br>левого очага БКРК 85,7%, неполно-<br>го удаления – 14,3%.<br>Чувствительность 79%.<br>Специфичность 100%<br>The frequency of complete removal<br>of the tumor focus of BCC is 85.7%,<br>incomplete removal is 14.3%.<br>Sensitivity 79%.<br>Specificity 100%   |
|---|--|-----|--|--|---|---|
| 4 | de Leeuw<br>и соавт,<br>2009 [23]<br>de Leeuw<br>et al., 2009<br>[23]  | 93  | Скрининг<br>опухолевых и<br>предопухолевых<br>заболеваний у<br>людей, работаю-<br>щих на улице и<br>подвергающихся<br>постоянному<br>воздействию<br>УФ-излучения<br>Screening for<br>neoplastic and<br>preneoplastic<br>diseases in<br>people who work<br>outdoors and<br>are constantly<br>exposed to UV<br>radiation | 5-АЛК<br>(0,5% 5-АЛК, инкапсу-<br>лированная в одно-<br>слойные липосомы<br>размером 50 нм;<br>спрей 5-АЛК 0,5%<br>каждые 5 мин в тече-<br>ние 2,5 ч на поражен-<br>ный участок кожи).<br>МЭ-АЛК<br>16% мазь (экспозиция<br>3 ч)<br>5-АLА<br>0.5% 5-АLА<br>encapsulated in 50 nm<br>sized unilamellar<br>liposomes.<br>The 5-ALA 0.5% spray<br>every 5 minutes for<br>2.5 hours to the<br>involved skin area.<br>MAL<br>16% ointment<br>(exposure 3 hours) | LED,<br>λ maκc 450 HM<br>LED,<br>λ max 450 nm   | Положительная флуоресценция<br>обнаружена у 61 пациента. Из них<br>у 28 – доброкачественные пораже-<br>ния (в том числе у 22 – гиперпла-<br>зия сальных желез), у 33 – опухо-<br>левая и предопухолевая патология<br>(в том числе у 29 – актинический<br>кератоз, у 3 – БКРК, у 1 – ПКРК)<br>Positive fluorescence was found in<br>61 patients. Of these, 28 had benign<br>lesions (including 22 had sebaceous<br>gland hyperplasia), 33 had tumor<br>and precancerous pathologies<br>(actinic keratosis in 29, BCC in 3 and<br>SCC in 1 patient) |
| 5 | Liutkevi-<br>ciūte-<br>Navickiene<br>µ coabt.,<br>2009 [8]<br>Liutkevi-<br>ciūte-<br>Navickiene<br>et al.,<br>2009 [8] | 126 | ПКРК и БКРК<br>SCC and BCC   | 5-АЛК<br>и МЭ-АЛК<br>(экспозиция<br>2-4 ч)<br>5-ALA<br>and ME-ALA<br>(exposure<br>2-4 hours)   | λ макс<br>378-426 нм.<br>λ max<br>378-426 nm  | Чувствительность 95,4%.<br>Специфичность 88,6%.<br>Положительная прогностическая<br>ценность 6,1%.<br>Отрицательная прогностическая<br>ценность 96,3%.<br>В 30% случаев границы опухоле-<br>вой ткани при применении МЭ-<br>АЛК определялись более четко,<br>чем при применении 5-АЛК<br>Sensitivity 95.4%.<br>Specificity 88.6%.<br>Positive predictive value 6.1%.<br>Negative predictive value 96.3%.<br>In 30% of cases, the boundaries of<br>the tumor tissue were more clearly<br>defined with MAL than with 5-ALA                          |
| 6 | Kleinpen-<br>ning<br>μ coabτ.,<br>2010 [18]<br>Kleinpen-<br>ning et al.,<br>2010 [18]                                  | 13  | 36 очагов, в том<br>числе 7 ПКРК,<br>17 актинический<br>кератоз (5 KIN I,<br>6 KIN II, 6 KIN III),<br>3 БКРК, 9 нор-<br>мальная кожа<br>36 lesions,<br>including<br>7 SCC, 17 actinic<br>keratosis (5 KIN I,<br>6 KIN II, 6 KIN III),<br>3 BCC, 9 normal<br>skin   | МЭ-АЛК<br>16% мазь<br>MAL<br>16% ointment.   | Ксеноновая<br>лампа<br>с фильтром<br>370-440 нм<br>Xenon light<br>source with<br>a custom band<br>pass filter<br>370-440 nm | Только очаги KIN I и KIN III пока-<br>зывают достоверные различия<br>в значениях флуоресцентной<br>контрастности (1,3 и 2,5, соответ-<br>ственно; p<0,05). Самые высокие<br>коэффициенты контрастности<br>были определены у очагов микро-<br>инвазивного ПКРК – 2,7<br>Only KIN I and KIN III foci show<br>significant differences in fluorescent<br>contrast values (1.3 and 2.5,<br>respectively; p<0.05). The highest<br>contrast ratios were determined in<br>foci of microinvasive squamous cell   |

### ENF

|                            | E.B. | Филоненко, | В.И. Ив | ановаРади | кевич |
|----------------------------|------|------------|---------|-----------|-------|
| Флуоресцентная диагностика | при  | немеланоци | тарных  | опухолях  | кожи  |

| 2 | 7 | Kamrava<br>и соавт.,<br>2012 [24]<br>Kamrava<br>et al.,<br>2012 [24]                 | 40   | ПКРК<br>SCC   | Хлорин еб<br>1 мг/кг за 4-6 ч до ФД.<br>Chlorine e6<br>1 mg/kg 4-6 hours<br>before FD  | λ макс 633 нм.<br>λ max 633 nm   | Чувствительность 90%.<br>Специфичность 80%.<br>Точность 87,5%.<br>Положительная прогностическая<br>ценность 93%.<br>Отрицательная прогностическая<br>ценность 72%.<br>Sensitivity 90%.<br>Specificity 80%.<br>Accuracy 87.5%.<br>Positive predictive value 93%.<br>Negative predictive value 72%.  |
|---|---|--|--|---|--|--|--|
| ٤ | 8 | Van der<br>Beek<br>и соавт.,<br>2012 [21]<br>Van der<br>Beek<br>et al.,<br>2012 [21] | 30   | БКРК,<br>актинический<br>кератоз<br>BCC, actinic<br>keratosis   | 5-АЛК.<br>5-ALA  | λ макс 407 нм.<br>λ max 407 nm   | Специфичность и чувствитель-<br>ность метода ненормированной<br>флуоресценции существенно<br>ниже, чем у метода обнаружения<br>нормированной флуоресценции<br>(27% и 39% против 100% и 97%).<br>The specificity and sensitivity of<br>the non-normalized fluorescence<br>method is significantly lower than<br>that of the normalized fluorescence<br>detection method (27% and 39%<br>versus 100% and 97%).   |
| ŝ | Ð | Jeon и со-<br>авт.,<br>2013, [16]<br>Jeon et al.,<br>2013, [16]                      | 38 пациен-<br>тов в груп-<br>пе ФД и 29<br>пациентов<br>в контроль-<br>ной группе.<br>38 patients<br>in the FD<br>group<br>and 29<br>patients in<br>the control<br>group | ПКРК<br>SCC   | 19 пациентов:<br>MЭ-АЛК<br>16% мазь,<br>экспозиция 3 ч.<br>19 пациентов:<br>5-АЛК<br>20% мазь,<br>экспозиция 6 ч.<br>19 patients:<br>MAL<br>16% ointment,<br>exposure 3 hours.<br>19 patients:<br>5-ALA<br>20% ointment,<br>exposure 6 hours.  | Jamna Byga,<br>λ makc 356 нм.<br>Wood's lamp,<br>λ max 365 nm                                    | После резекции опухоли среднее<br>количество дополнительных ре-<br>зекций по Моосу, понадобившихся<br>для полного удаления опухоли,<br>было ниже в группе ФД (1,37±0,75),<br>чем в группе без ФД (1,83±0,89).<br>After tumor resection, the mean<br>number of additional Mohs<br>resections required to completely<br>remove the tumor was lower in the<br>FD group (1.37±0.75) than in the<br>non-FD group (1.83±0.89)  |
| 1 | 0 | Andrade и<br>coabt., 2014<br>[6]<br>Andrade et<br>al., 2014 [6]                      | 43   | 71 очаг пора-<br>жения, в том<br>числе 29 БКРК,<br>31 актинический<br>кератоз, 11 себо-<br>рейный кератоз.<br>71 lesions,<br>including 29<br>BCC, 31 actinic<br>keratosis, 11<br>seborrheic<br>keratosis. | 5-АЛК<br>5% раствор был<br>использован для 54<br>очагов (21 БКРК, 22<br>актинический кера-<br>тоз, 11 себорейный<br>кератоз). 10% раствор<br>– для 17 очагов (8<br>БКРК и 9 актиниче-<br>ский кератоз).<br>5-ALA<br>5% 5-ALA solution was<br>applied on 54 lesions<br>(21 BCCs, 22 AK, and 11<br>SK). 10% ALA solution<br>was applied on 17<br>lesions (8 BCCs and 9<br>AK). | LED, λ Makc 400<br>HM, 50 MBT/cm <sup>2</sup><br>LED, λ max 400<br>nm, 50 mW/<br>cm <sup>2</sup> | В очагах БКРК отмечено достоверное увеличение интенсивности<br>флуоресценции в 3 раза через 1 ч<br>после нанесения раствора 5-АЛК.<br>В очагах актинического и себорейного кератоза интенсивность<br>флуоресценции в течение 1 ч<br>после нанесения раствора 5-АЛК<br>оставалась на уровне аутофлуоресценции.<br>In the foci of BCC, a significant<br>increase in fluorescence intensity by<br>3 times was noted 1 hour after the<br>application of the 5-ALA solution.<br>In the foci of actinic and seborrheic<br>keratosis, the fluorescence intensity<br>remained at the autofluorescence<br>level for 1 hour after application of<br>the 5-ALA solution |
| 1 | 1 | Филоненко<br>E.B., 2015 [2]<br>Filonenko<br>E.V., 2015 [2]                           | 227  | БКРК, ПКРК,<br>метатипичный<br>рак кожи<br>BCC, SCC,<br>metatypical skin<br>cancer  | 5-АЛК<br>(раствор для приема<br>внутрь 1 мг/кг за 3 ч<br>до ФД)<br>5-ALA<br>(oral solution 1 mg/kg<br>3 hours before FD)   | LED,<br>λ макс<br>400-405 нм<br>LED,<br>λ max<br>400-405 nm                                      | Чувствительность 100,0%.<br>Специфичность 55,6%<br>Sensitivity 100.0%.<br>Specificity 55.6%  |

| 12 | El Hoshy<br>и соавт.,<br>2016 [15]<br>El Hoshy et<br>al., 2016 [15] | 27 | БКРК<br>ВСС  | 5-AJK 20% мазь<br>5-ALA 20% ointment              | Ксеноновая<br>лампа<br>с фильтром<br>370-440 нм<br>Xenon light<br>source with a<br>custom band<br>pass filter<br>370-440 nm | B 12 (44,44%) очагах границы<br>опухоли, определенные ФД,<br>полностью совпали с границами,<br>определенными гистопатологиче-<br>ски. В 14 очагах гистопатологиче-<br>ски границы опухоли были больше<br>на 1 мм, чем определяемые ФД,<br>в 1 – больше на 2 мм<br>In 12 (44.44%) foci, the boundaries<br>of the tumor, determined by<br>FD, completely coincided with<br>the boundaries determined<br>histopathologically. In 14 foci,<br>histopathologically, the boundaries<br>of the tumor were 1 mm larger than<br>those determined by FD, and in<br>1 foci, they were 2 mm larger |
|----|---|----|--------------|---|---|--|
| 13 | Wan<br>и соавт.,<br>2018 [19]<br>Wan et al.,<br>2018 [19]           | 21 | ЭМРП<br>EMPD | 5-АЛК 20% мазь<br>5-ALA 20% ointment              | Лампа Вуда,<br>λ макс 365 нм<br>Wood's lamp,<br>λ max 365 nm  | Показана сильная корреляцию<br>между границами опухолевого по-<br>ражения, определенными методом<br>флуоресцентной диагностики,<br>и границами, определенными ме-<br>тодом биопсии с гистопатологией<br>A strong correlation was shown<br>between the boundaries of the<br>tumor lesion, determined by the<br>method of fluorescence diagnostics,<br>and the boundaries, determined<br>by the method of biopsy with<br>histopathology  |
| 14 | Wu и соавт.,<br>2021 [20]<br>Wu et al.,<br>2021 [20]                | 36 | ЭМРП<br>EMPD | 5-АЛК,<br>20% раствор/<br>5-ALA,<br>20% solution/ | Jamna Byga,<br>λ макс 365 нм<br>Wood's lamp,<br>λ max 365 nm  | Визуальный осмотр – 63,8% лож-<br>ноотрицательных результатов,<br>$\Phi J = 35,4\%$ ложноотрицательных<br>результатов, $\Phi J$ + конфокальная<br>микроскопия – 20,8% ложноотри-<br>цательных результатов<br>Visual examination - 63.8% of false<br>negative results, FD - 35.4% of false<br>negative results, FD + confocal<br>microscopy - 20.8% of false negative<br>results  |

Примечание: \*ФД – флуоресцентная диагностика, 5-АЛК – 5-аминолевулиновая кислота, МЭ-АЛК – метиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты, БКРК – базальноклеточный рак кожи, ПКРК – плоскоклеточный рак кожи, ЭМРП – экстрамаммарный рак Педжета. Note: \*FD - fluorescent diagnostics, 5-ALA - 5-aminolevulinic acid, MAL - 5-aminolevulinic acid methyl ester, BCC - basal cell carcinoma, SCC - squamous cell carcinoma, EMPD - extramammary Paget's desease

#### Заключение

Основными показаниями к ФД с 5-АЛК являются определение клинически плохо выраженных опухолей кожи, поиск скрытых очагов предрака и рака кожи, а также уточнение границ опухолевого поражения и контроль эффективности различных вариантов специализированного лечения.

ППІХ-индуцированная флуоресценция при предоперационном планировании является ценным методом определения периферических границ опухоли.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Состояние онкологической помощи населению в России в 2021 году / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А Герцена» Минздрава России. – 2022. – С. 239.
- 2. Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика с аласенсом у больных раком кожи // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2015. – Т.4, №1. – С. 14-17. doi.org/10.24931/2413-9432-2015-4-1-14-17
- Filonenko E.V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020 // Biomedical Photon-

Края новообразований, определяемые гистологическим картированием при удалении опухоли методом микрографической хирургии Мооса, хорошо коррелируют с границами, обнаруживаемыми специфичной для опухоли флуоресценцией, что свидетельствует о возможности использования ФД как полноценной альтернативы микрографической хирургии Мооса – одному из наиболее точных, но достаточно трудозатратному и технически сложному методу определения границ очагов рака кожи.

#### REFERENCES

- 1. The state of cancer care to the population in Russia in 2021 / Ed. Kaprina A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. M.: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution «P.A. Herzen FMIC» of the Ministry of Health of Russia, 2022, p. 239.
- Filonenko E.V. Fluorescent diagnostics with alasens in patients with skin cancer, *Photodynamic therapy and photodiagnostics*, 2015, vol.4(1), pp. 14-17. doi.org/10.24931/2413-9432-2015-4-1-14-17
- Filonenko E.V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020, *Biomedical Photonics*,

ics. – 2021. – T.10 №4. – C.4-22. doi.org/10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22

- Ivanova-Radkevich V.I. Biochemical Basis of Selective Accumulation and Targeted Delivery of Photosensitizers to Tumor Tissues // Biochemistry (Mosc). – 2022. – Vol. 87(11). – P. 1226-1242. doi: 10.1134/ S0006297922110025.
- Szeimies R., Landthaler M. Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis of skin cancers // Recent Results Cancer Res. – 2002. – Vol. 160. – P. 240-245. doi: 10.1007/978-3-642-59410-6\_28.
- Andrade C.T., Vollet-Filho J.D., Salvio A.G., Bagnato V.S., Kurachi C. Identification of skin lesions through aminolaevulinic acid-mediated photodynamic detection // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2014. – Vol. 11(3). – P. 409-415. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.05.006.
- Neus S., Gambichler T., Bechara F.G., Wöhl S., Lehmann P. Preoperative assessment of basal cell carcinoma using conventional fluorescence diagnosis // Arch Dermatol Res. – 2009. – Vol. 301(4). – P. 289-294. doi: 10.1007/s00403-008-0911-9.
- 8. Liutkeviciūte-Navickiene J. et al. Fluorescence diagnostics of skin tumors using 5-aminolevulinic acid and its methyl ester // Medicina (Kaunas). – 2009. – Vol. 45(12). – P. 937. doi:10.3390/medicina45120120
- Won Y., Hong S.H., Yu H.Y., Kwon Y.H., Yun S.J., Lee S.C., Lee J.B. Photodetection of basal cell carcinoma using methyl 5-aminolaevulinate-induced protoporphyrin IX based on fluorescence image analysis // Clin Exp Dermatol. – 2007. – Vol. 32. – P. 423-429.
- Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V. Photodynamic therapy in the treatment of extramammary paget's disease // Biomedical Photonics. – 2022. – Vol. 11(3). – P. 24-34. https://doi.org/10.24931/2413-9432-2022-11-3-24-34
- 11. Tierney E., Hanke C.W. Cost effectiveness of Mohs micrographic surgery // J Drugs Dermatol. 2009. Vol. 8. P. 914-22.
- Tierney E., J. Petersen, C.W. Hanke Photodynamic diagnosis of tumor margins using methyl aminolevulinate before Mohs micrographic surgery // J Am Acad Dermatol. – 2011. – Vol. 64(5). – P. 911-918. doi: 10.1016/j.jaad.2010.03.045.
- Stenquist B., Ericson M.B., Strandeberg C., Mo"Ine L., Rose'n A., Larko" O. et al. Bispectral fluorescence imaging of aggressive basal cell carcinoma combined with histopathological mapping: a preliminary study indicating a possible adjunct to Mohs micrographic surgery // Br J Dermatol. – 2006. – Vol. 154. – P. 305-309.
- Wennberg A.M., Gudmundson F., Stenquist B., Ternesten A., Mo'lne L., Rose'n A. In vivo detection of basal cell carcinoma using imaging spectroscopy // Acta Derm Venereol. – 2000. – Vol. 80. – P. 152.
- El Hoshy K., Bosseila M., El Sharkawy D., Sobhi R. Can basal cell carcinoma lateral border be determined by fluorescence diagnosis? Verification by Mohs micrographic surgery // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2016. – Vol. 14. – P. 4-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.01.001.
- Jeon S.Y., Kim K.H., & Song K.H. Efficacy of Photodynamic Diagnosis-Guided Mohs Micrographic Surgery in Primary Squamous Cell Carcinoma // Dermatologic Surgery. – 2013. – Vol. 39(12). – P. 1774-1783. doi:10.1111/dsu.12359
- Smits T., Kleinpenning M.M., Blokx W.A. et al. Fluorescence diagnosis in keratinocytic intraepidermal neoplasias // J Am Acad Dermatol. – 2007. – Vol. 57. – P. 824-831.
- Kleinpenning M.M., Wolberink E.W., Smits T., Blokx W.A.M. et al. Fluorescence diagnosis in actinic keratosis and squamous cell carcinoma // Photodermatol Photoimmunol Photomed. – 2010. – Vol. 26(6). – P. 297-302. doi: 10.1111/j.1600-0781.2010.00546.x.
- Wan M., et al. Clinical Benefits of Preoperative Conventional Fluorescence Diagnosis in Surgical Treatment of Extramammary Paget Disease // Dermatol Surg. – 2018. – Vol. 44(3). – P. 375-382. doi: 10.1097/ DSS.00000000001329
- Wu M., Huang L., Lu X., Li J., Wang Y., Zang J., Mo X., Shao X., Wang L., Cheng W., He F., Zhang Q., Zhang W., Zhao L. Utility of photodynamic diagnosis plus reflectance confocal microscopy in detecting the margins of extramammary Paget disease // Indian J Dermatol Venereol Leprol. – 2021. – Vol. 87(2). – P. 207-213. doi: 10.25259/IJDVL\_90\_20.
- Van der Beek N., Leeuw J., Demmendal C., Bjerring P., Neumann H.A.M. PpIX fluorescence combined with auto-fluorescence is more accurate than PpIX fluorescence alone in fluorescence detection of non-melanoma skin cancer: an intra-patient direct comparison study // Laser Surg Med. – 2012. – Vol. 44. – P. 271-276.
- Bosseila M., Mahgoub D., El-Sayed A., Salama D., Abd El-Moneim M., Al-Helf F. Does fluorescence diagnosis have a role in follow up of response to therapy in mycosis fungoides? // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2014. – Vol. 11(4). – P. 595-602. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.10.008
- de Leeuw J. et al. Fluorescence detection and diagnosis of non-melanoma skin cancer at an early stage // Lasers in Surgery and Medicine. – 2009. – Vol. 41. – P. 96-103. doi:10.1002/lsm.20739
- Kamrava S.K., Behtaj M., Ghavami Y., Shahabi S., Jalessi M., Afshar E.E., Maleki S. Evaluation of diagnostic values of photodynamic diagnosis in identifying the dermal and mucosal squamous cell carcinoma // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2012. doi: 10.1016/j.pdpdt.2012.03.004

2021. - vol. 10(4), pp. 4-22. doi.org/10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22

- Ivanova-Radkevich V.I. Biochemical Basis of Selective Accumulation and Targeted Delivery of Photosensitizers to Tumor Tissues, *Biochemistry (Mosc)*, 2022, vol. 87(11), pp. 1226-1242. doi: 10.1134/ S0006297922110025.
- Szeimies R., Landthaler M. Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis of skin cancers, *Recent Results Cancer Res*, 2002, vol. 160, pp. 240-245. doi: 10.1007/978-3-642-59410-6\_28.
- Andrade C.T., vollet-Filho J.D., Salvio A.G., Bagnato V.S., Kurachi C. Identification of skin lesions through aminolaevulinic acid-mediated photodynamic detection, *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2014, vol. 11(3), pp. 409-415. doi: 10.1016/j.pdptt.2014.05.006.
- Neus S., Gambichler T., Bechara F.G., Wöhl S., Lehmann P. Preoperative assessment of basal cell carcinoma using conventional fluorescence diagnosis, *Arch Dermatol Res*, 2009, vol. 301(4), pp. 289-294. doi: 10.1007/ s00403-008-0911-9.
- 8. Liutkeviciūte-Navickiene J. et al. Fluorescence diagnostics of skin tumors using 5-aminolevulinic acid and its methyl ester, *Medicina (Kaunas)*, 2009, vol. 45(12), pp. 937. doi:10.3390/medicina45120120
- Won Y., Hong S.H., Yu H.Y., Kwon Y.H., Yun S.J., Lee S.C., Lee J.B. Photodetection of basal cell carcinoma using methyl 5-aminolaevulinateinduced protoporphyrin IX based on fluorescence image analysis, *Clin Exp Dermatol*, 2007, vol. 32, pp. 423-429.
- Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V. Photodynamic therapy in the treatment of extramammary paget's disease, *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11(3), pp. 24-34. https://doi.org/10.24931/2413-9432-2022-11-3-24-34
- Tierney E., Hanke C.W. Cost effectiveness of Mohs micrographic surgery, J Drugs Dermatol, 2009, vol. 8, pp. 914-22.
- E. Tierney, J. Petersen, Hanke C.W. Photodynamic diagnosis of tumor margins using methyl aminolevulinate before Mohs micrographic surgery, *J Am Acad Dermatol*, 2011, vol. 64(5), pp. 911-918. doi: 10.1016/j. jaad.2010.03.045.
- Stenquist B., Ericson M.B., Strandeberg C., Mo<sup>-</sup>Ine L., Rose<sup>-</sup>n A., Larko<sup>-</sup>O. et al. Bispectral fluorescence imaging of aggressive basal cell carcinoma combined with histopathological mapping: a preliminary study indicating a possible adjunct to Mohs micrographic surgery. *Br J Dermatol*, 2006, vol. 154, pp. 305-309.
- Wennberg A.M., Gudmundson F., Stenquist B., Ternesten A., Mo"Ine L., Rose n A. In vivo detection of basal cell carcinoma using imaging spectroscopy. *Acta Derm Venereol*, 2000, vol. 80, pp. 152.
- El Hoshy K., Bosseila M., El Sharkawy D., Sobhi R. Can basal cell carcinoma lateral border be determined by fluorescence diagnosis? Verification by Mohs micrographic surgery. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2016, vol. 14, pp. 4-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.01.001.
- Jeon S.Y., Kim K.H., & Song K.H. Efficacy of Photodynamic Diagnosis-Guided Mohs Micrographic Surgery in Primary Squamous Cell Carcinoma. *Dermatologic Surgery*, 2013, vol. 39(12), pp. 1774-1783. doi:10.1111/dsu.12359
- Smits T., Kleinpenning M.M., Blokx W.A. et al. Fluorescence diagnosis in keratinocytic intraepidermal neoplasias. *J Am Acad Dermatol*, 2007, vol. 57, pp. 824-831.
- Kleinpenning M.M., Wolberink E.W., Smits T., Blokx W.A.M. et al. Fluorescence diagnosis in actinic keratosis and squamous cell carcinoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2010, vol. 26(6), pp. 297-302. doi: 10.1111/j.1600-0781.2010.00546.x.
- Wan M. et al. Clinical Benefits of Preoperative Conventional Fluorescence Diagnosis in Surgical Treatment of Extramammary Paget Disease, *Dermatol Surg*, 2018, vol. 44(3), pp. 375-382. doi: 10.1097/ DSS.00000000001329
- Wu M., Huang L., Lu X., Li J., Wang Y., Zang J., Mo X., Shao X., Wang L., Cheng W., He F., Zhang Q., Zhang W., Zhao L. Utility of photodynamic diagnosis plus reflectance confocal microscopy in detecting the margins of extramammary Paget disease, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 2021, vol. 87(2), pp. 207-213. doi: 10.25259/IJDVL\_90\_20.
- Van der Beek N., Leeuw J., Demmendal C., Bjerring P., Neumann H.A.M. PpIX fluorescence combined with auto-fluorescence is more accurate than PpIX fluorescence alone in fluorescence detection of non-melanoma skin cancer: an intra-patient direct comparison study, *Laser Surg Med*, 2012, vol. 44, pp. 271-276.
- Bosseila M., Mahgoub D., El-Sayed A., Salama D., Abd El-Moneim M., Al-Helf F. Does fluorescence diagnosis have a role in follow up of response to therapy in mycosis fungoides? *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2014, vol. 11(4), pp. 595-602. doi:10.1016/j. pdpdt.2014.10.008
- 23. de Leeuw J. et al. Fluorescence detection and diagnosis of non-melanoma skin cancer at an early stage, *Lasers in Surgery and Medicine*, 2009, vol. 41, pp. 96-103. doi:10.1002/lsm.20739
- 24. Kamrava S.K., Behtaj M., Ghavami Y., Shahabi S., Jalessi M., Afshar E.E., Maleki S. Evaluation of diagnostic values of photodynamic diagnosis in identifying the dermal and mucosal squamous cell carcinoma, *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2012. doi: 10.1016/j. pdpdt.2012.03.004

![](_page_42_Picture_0.jpeg)

## ЖИВАЯ ЭНЕРГИЯ 3FIA

# ФОТОРАН Еб ФОТОРАН Еб 50 M 50 mr

# Фоторане;

### НОВЫЙ РОССИЙСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

![](_page_42_Picture_5.jpeg)

Действующее вещество природного

![](_page_42_Picture_7.jpeg)

происхождения

![](_page_42_Picture_9.jpeg)

Быстрое накопление в патологической ткани -1,5-3 часа

![](_page_42_Picture_11.jpeg)

Отсутствие аллергических реакций

Длительное хранение без потери активности вещества - 3 года

#### ПАРТНЁРЫ:

![](_page_42_Picture_15.jpeg)

Отсутствие гепато и нефротоксичности, низкая фототоксичность

![](_page_42_Picture_17.jpeg)

Низкая стоимость

![](_page_42_Picture_19.jpeg)

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

![](_page_43_Picture_0.jpeg)

фотосенсибилизатор хлоринового ряда

![](_page_43_Picture_2.jpeg)

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

![](_page_43_Figure_4.jpeg)

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 «BETA-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