



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
НАУК О ЖИЗНИ

Спектроскопический комбинированный контроль фотодинамической терапии в процессе лазерного облучения

Эфендиев Канагат Темботович, Алексеева П.М., Ширяев А.А.,
Решетов И.В., Лощенов В.Б.

E-mail: kanamatius@mail.ru



Пятая международная конференция • Школа молодых учёных

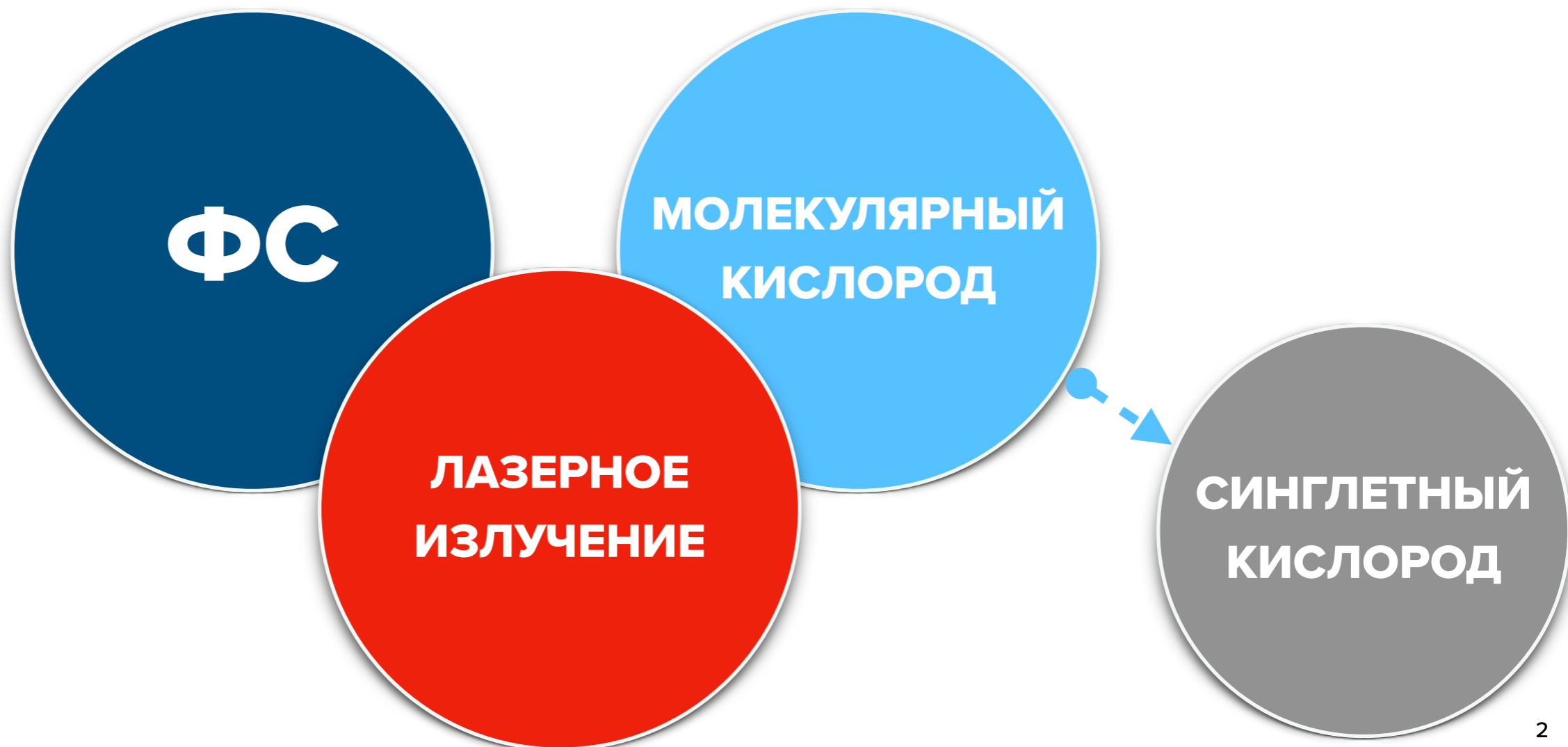
**ФИЗИКА —
НАУКАМ О ЖИЗНИ**

Санкт-Петербург • 16–19 октября • 2023

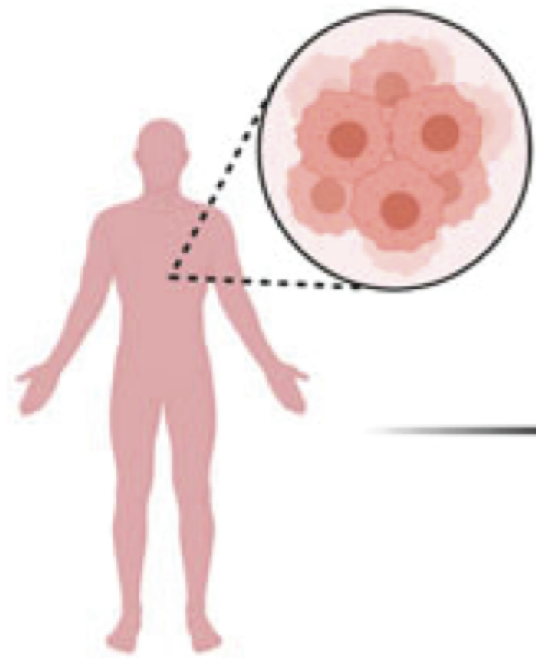


Фотодинамическая терапия (ФДТ) - метод лечения социально значимых заболеваний, основанный на применении фотосенсибилизаторов и света определенной длины волны

Фотосенсибилизатор (ФС) - вещество, увеличивающее чувствительность тканей к воздействию света



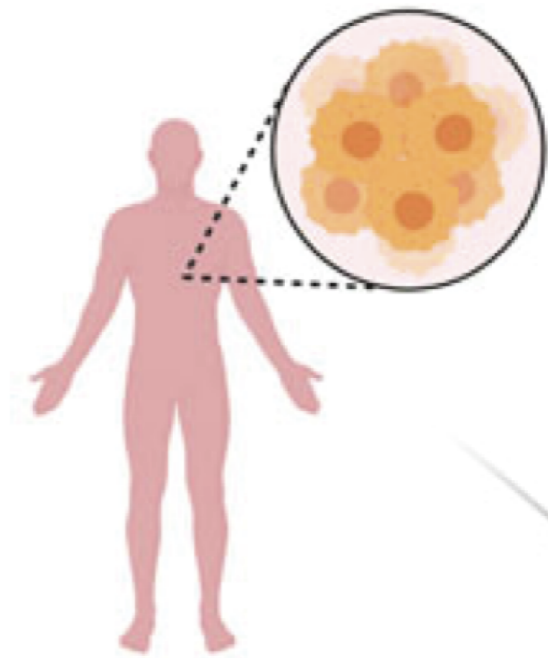
Основные этапы фотодинамической терапии



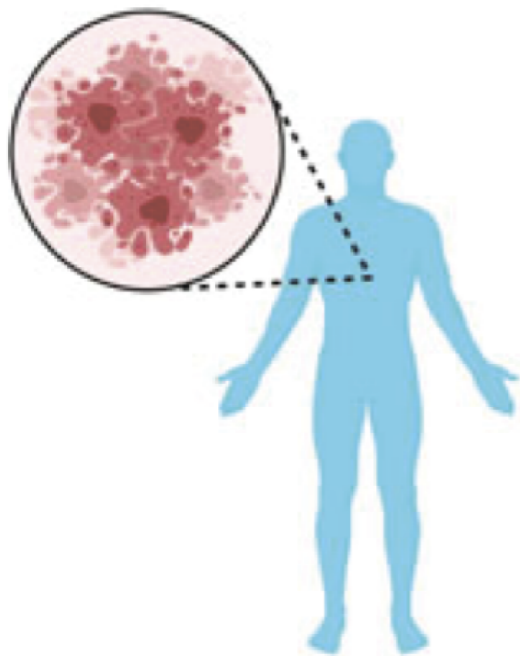
Пациент с опухолью



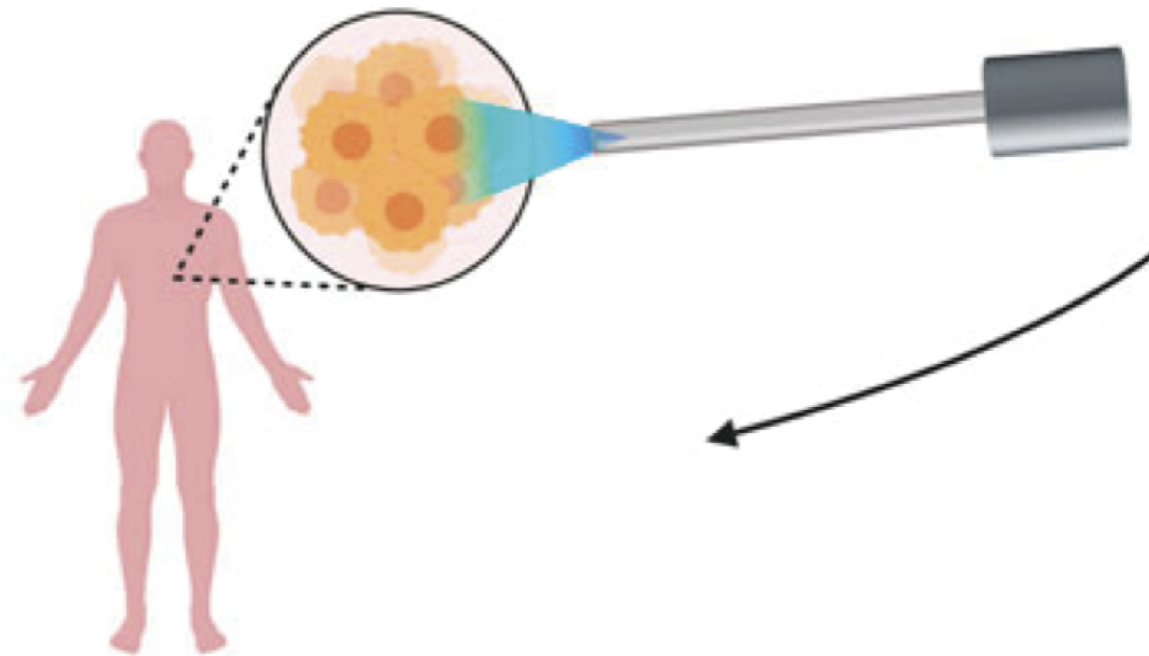
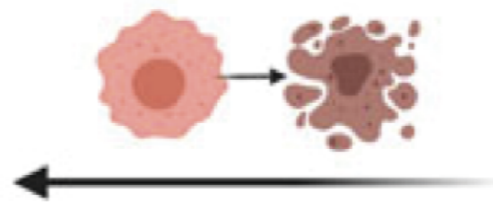
Введение ФС



Экспозиция ФС/Флуоресцентная диагностика



Деструкция клеток/тканей опухоли



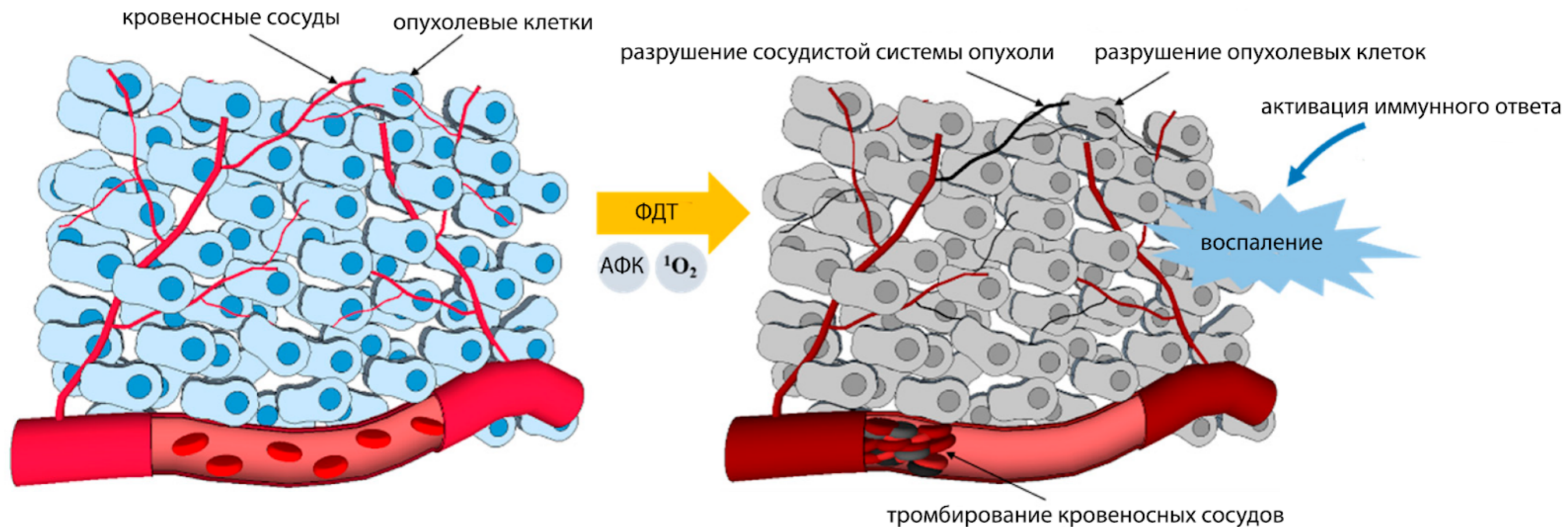
Лазерное воздействие

Механизмы действия фотодинамической терапии на опухоль

Активные формы кислорода (АФК) могут *:

- разрушить опухолевые клетки, вызывая апоптоз и/или некроз
- разрушить сосудистую систему опухоли
- активизировать иммунный ответ

Эффективность ФДТ зависит от всех механизмов.



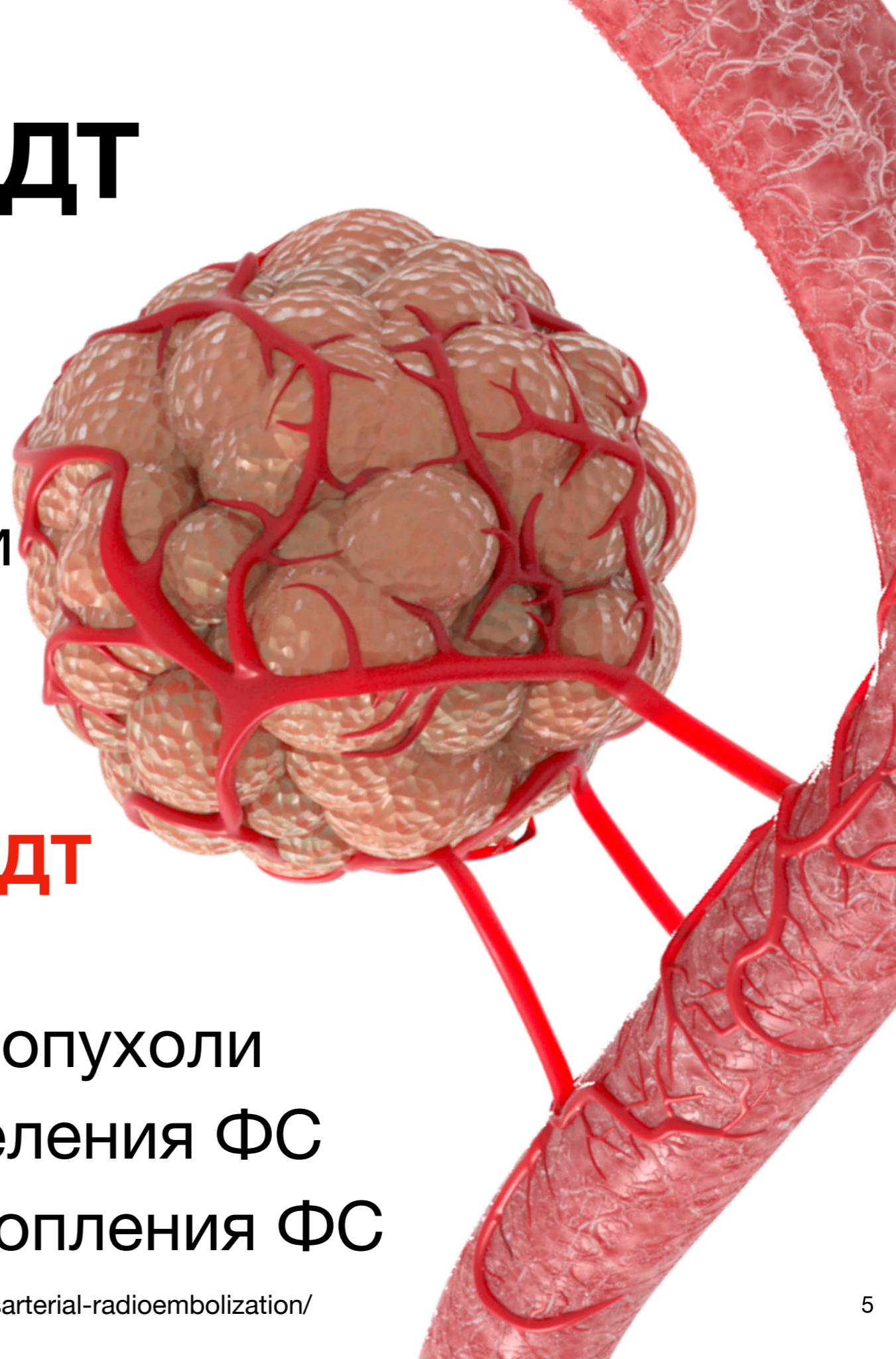
Механизмы разрушения опухоли при ФДТ

Преимущества ФДТ

- малоинвазивность
- селективность воздействия
- возможность комбинации с другими методами

Сложности применения ФДТ

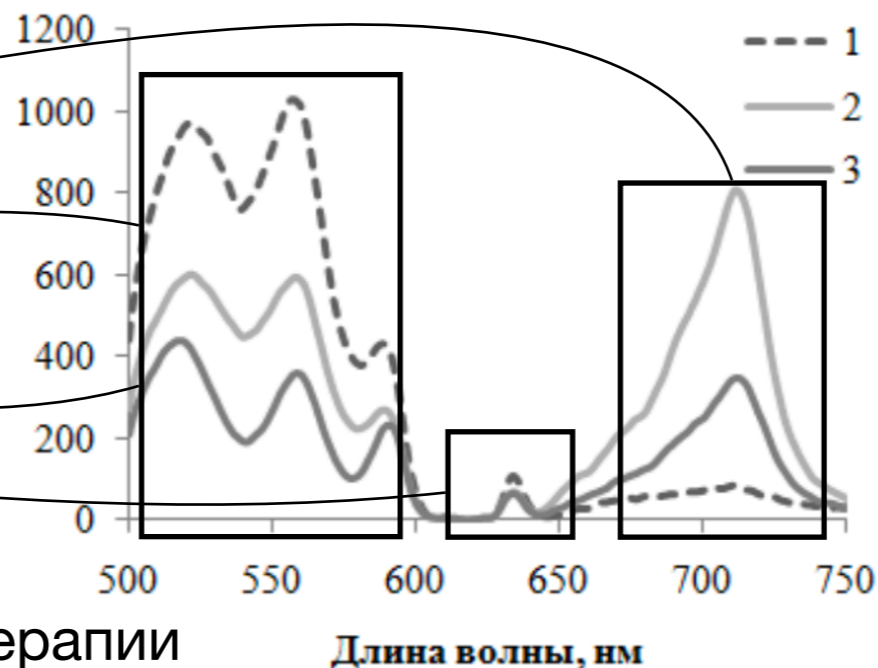
- гетерогенность опухоли
- большая глубина инвазии опухоли
- неоднородность распределения ФС
- низкая селективность накопления ФС



Актуальность и мотивация

Важные параметры:

- интенсивность флуоресценции
- уровень оксигенации
- уровень кровенаполненности
- оптические свойства тканей



Недостатки методов [1, 2]:

- Отсутствие контроля в процессе терапии
- Необходимость применения отдельных источников света для диагностики и терапии

Пример регистрируемых спектральных зависимостей [1, 2]

БЫЛО

спектроскопическая диагностика

фотодинамическая терапия

1-2 мин

1-2 мин

1-2 мин

СТАЛО

спектроскопическая диагностика
фотодинамическая терапия

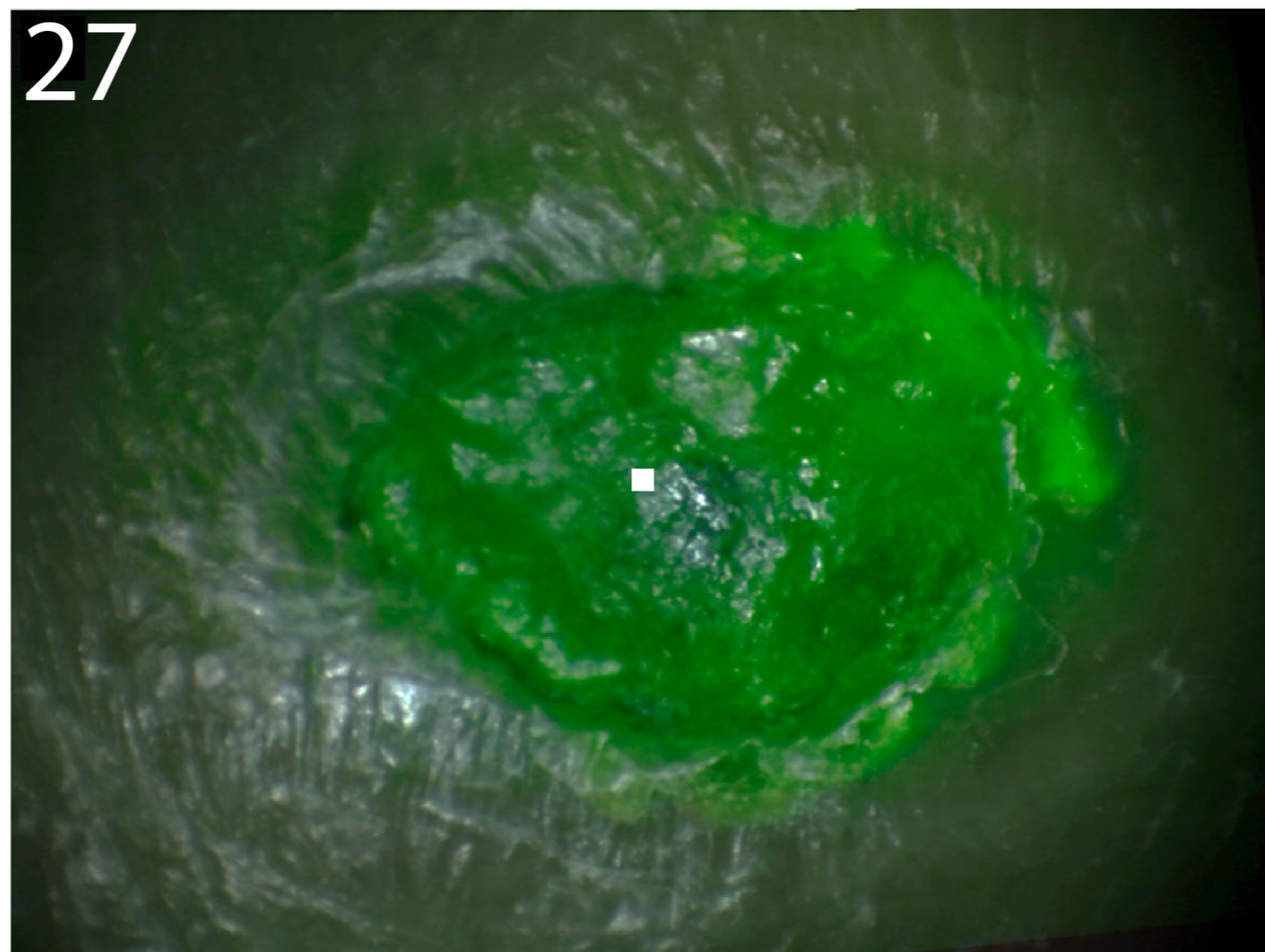
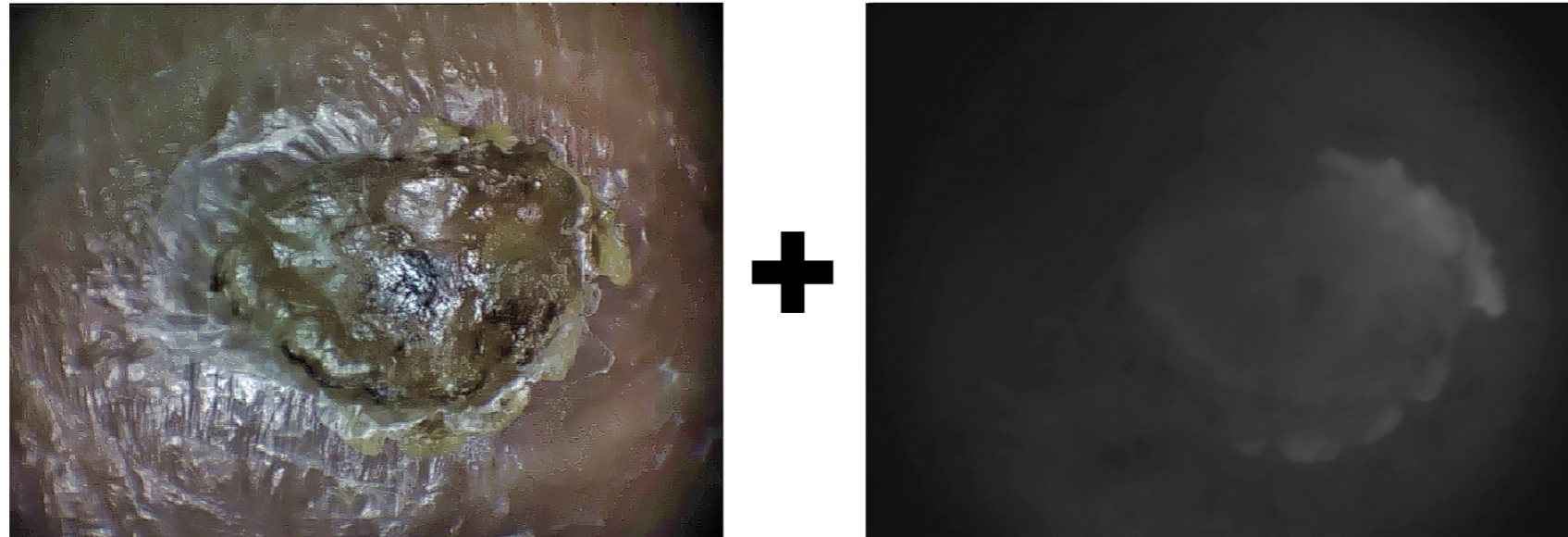
фототераностика опухолей

Время лазерного облучения

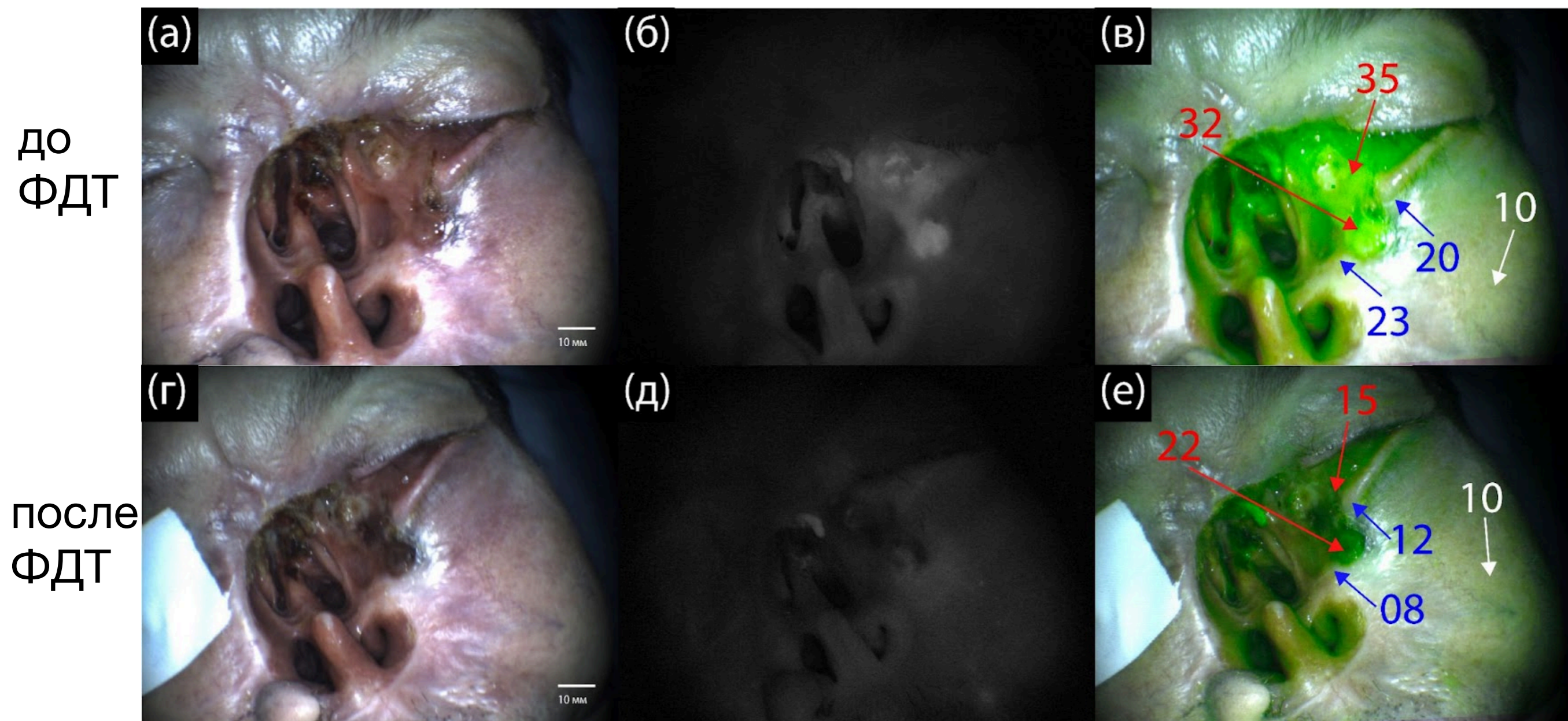
[1] Рябова А. В., Стратонников А. А., Лощенов В. Б. Лазерно-спектроскопический метод оценки эффективности фотосенсибилизаторов в биологических средах //Квантовая электроника. – 2006. – Т. 36. – №. 6. – С. 562-568.

[2] Савельева, Т. А. Комбинированный спектроскопический метод исследования сильно рассеивающих биологических сред: специальность 01.04.21 "Лазерная физика": диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук. – Москва, 2013. – 118 с. ⁶

Видео-флуоресцентная визуализация распределения ФС в опухоли

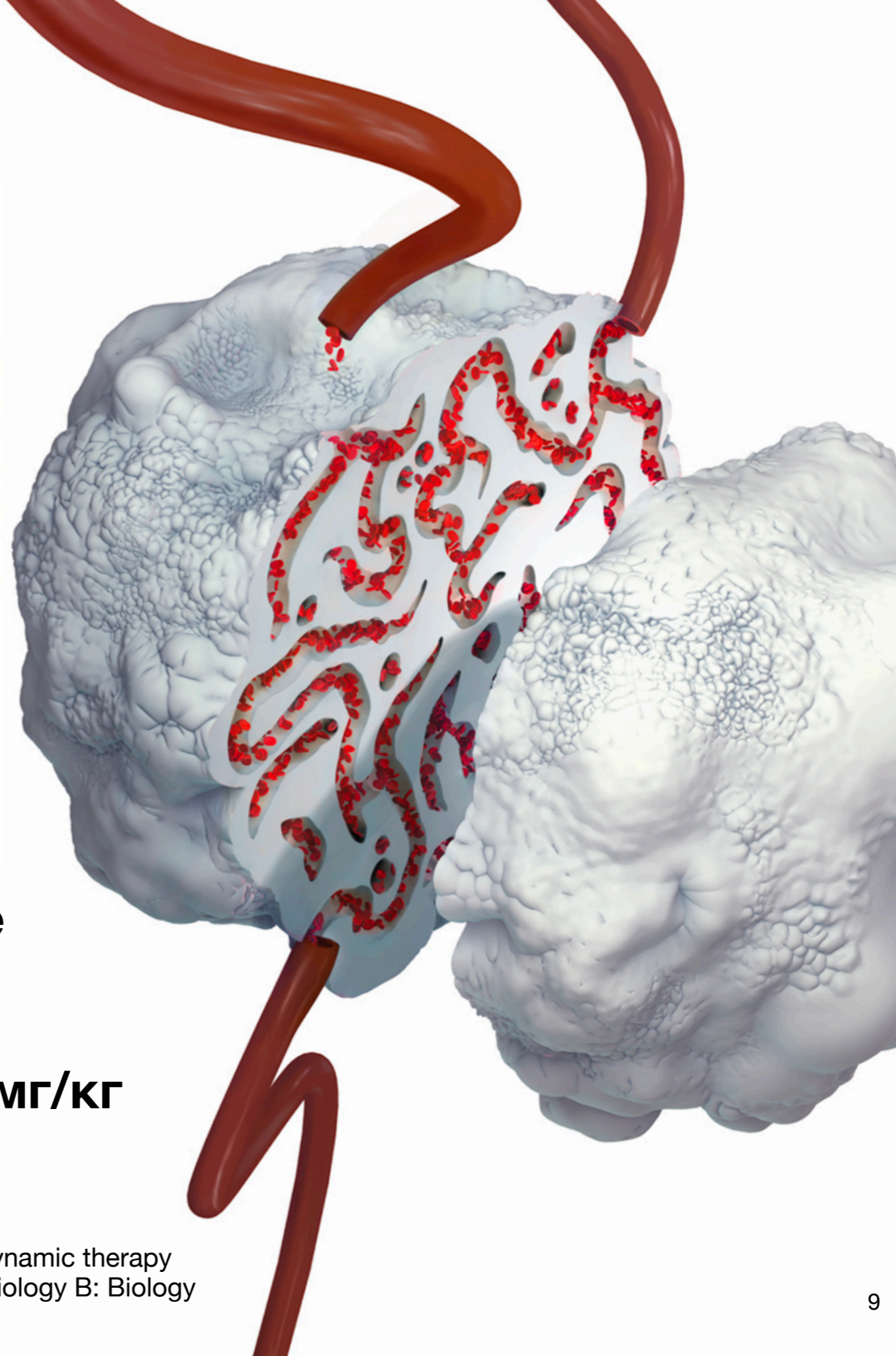
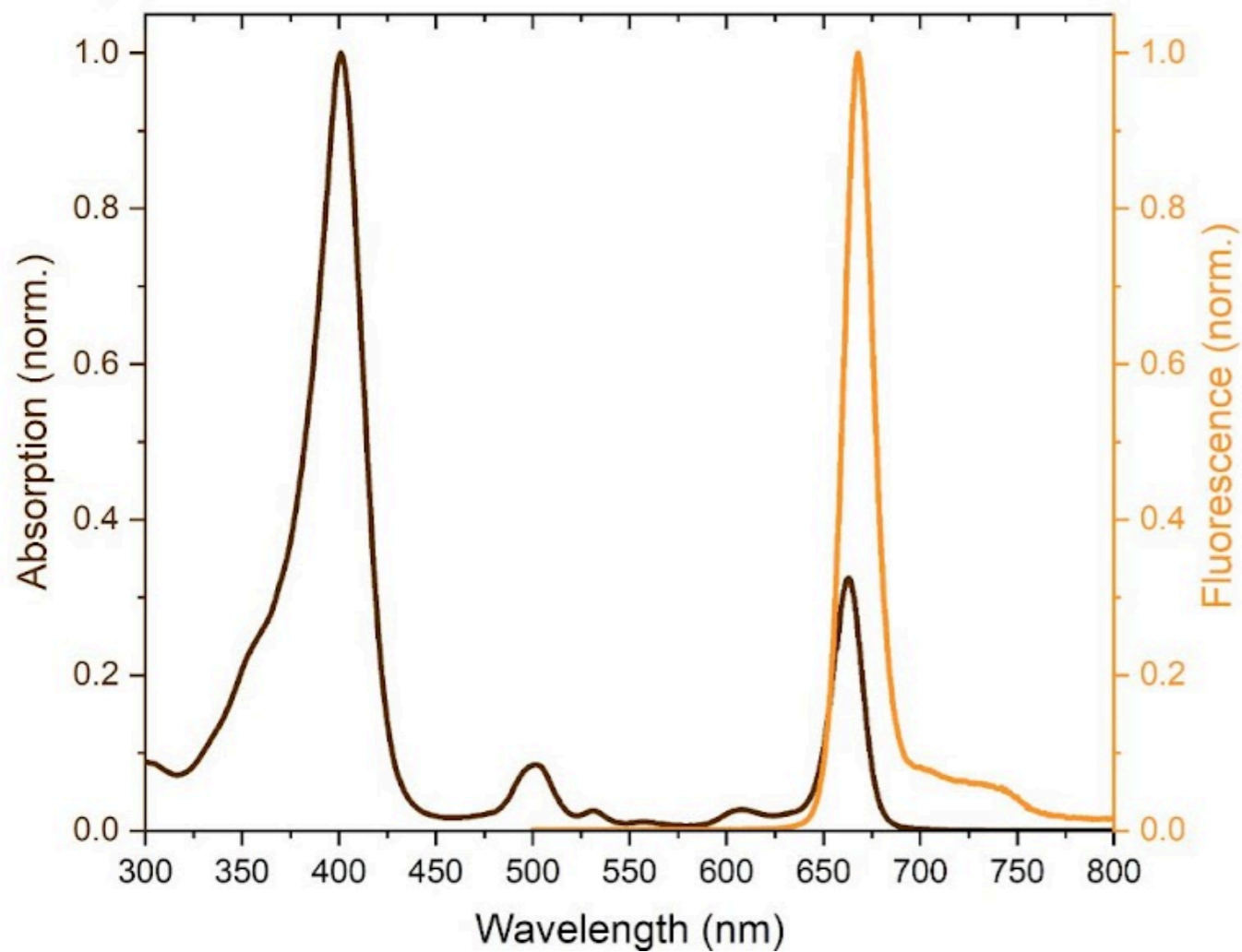


Видео-флуоресцентная визуализация распределения ФС в опухоли



Видео-флуоресцентная визуализация опухоли

ФС хлоринового ряда

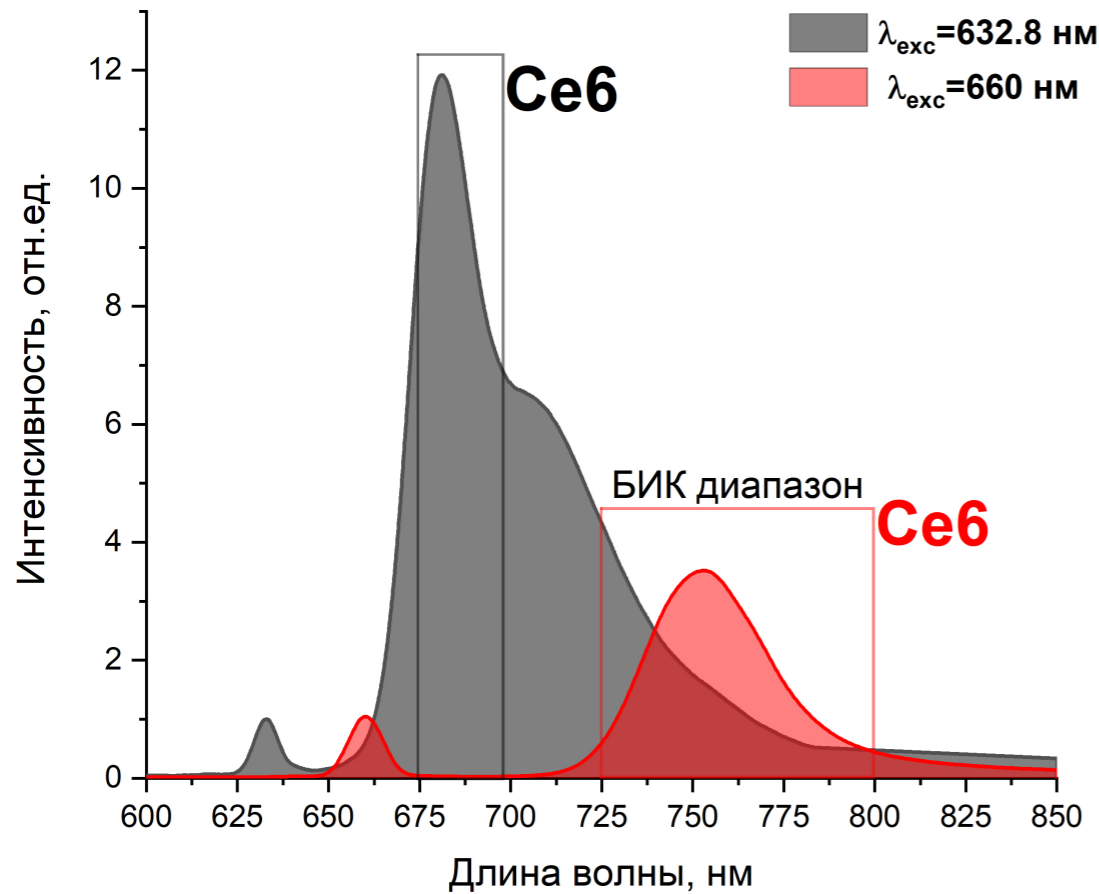


Внутривенное капельное введение

Время накопления 3-3,5 часа

Доза препарата в концентрации 1 мг/кг

Метод спектрально-флуоресцентной навигации распределения фотосенсибилизатора в БИК-диапазоне



Photodiagnosis and Photodynamic Therapy

Volume 42, June 2023, 103566



Near-infrared phototheranostics of tumors with protoporphyrin IX and chlorin e6 photosensitizers

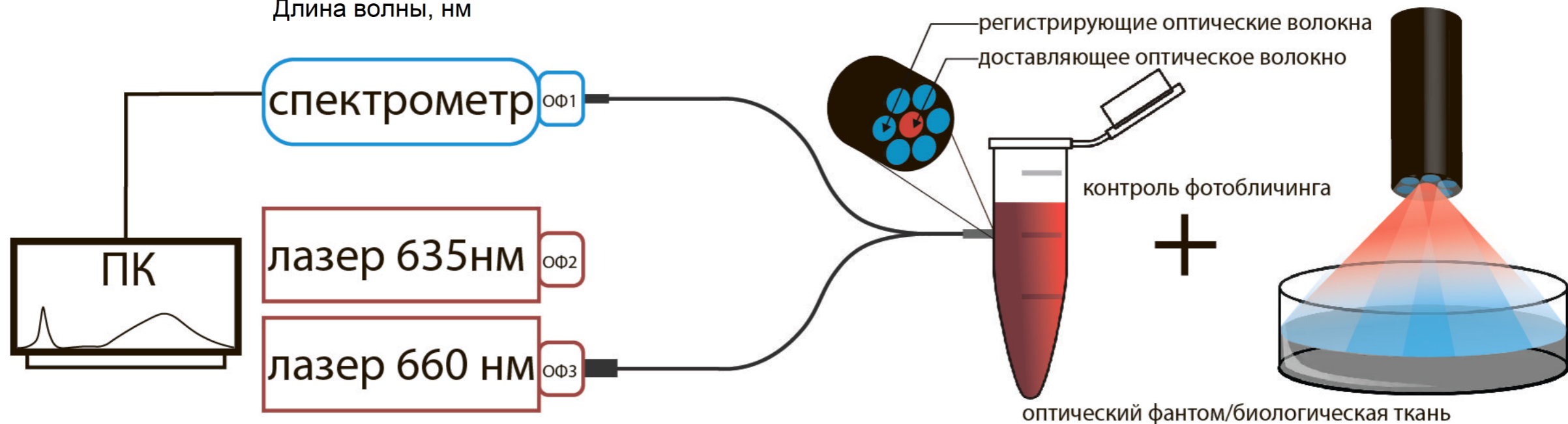
Kanamet Efendiev^{a,b}, Polina Alekseeva^a, Artem Shiryayev^c, Arina Voitova^d, Kirill Linkov^a, Tatiana Pisareva^c, Igor Reshetov^c, Victor Loschenov^{a,b}

Show more

+ Add to Mendeley Share Cite

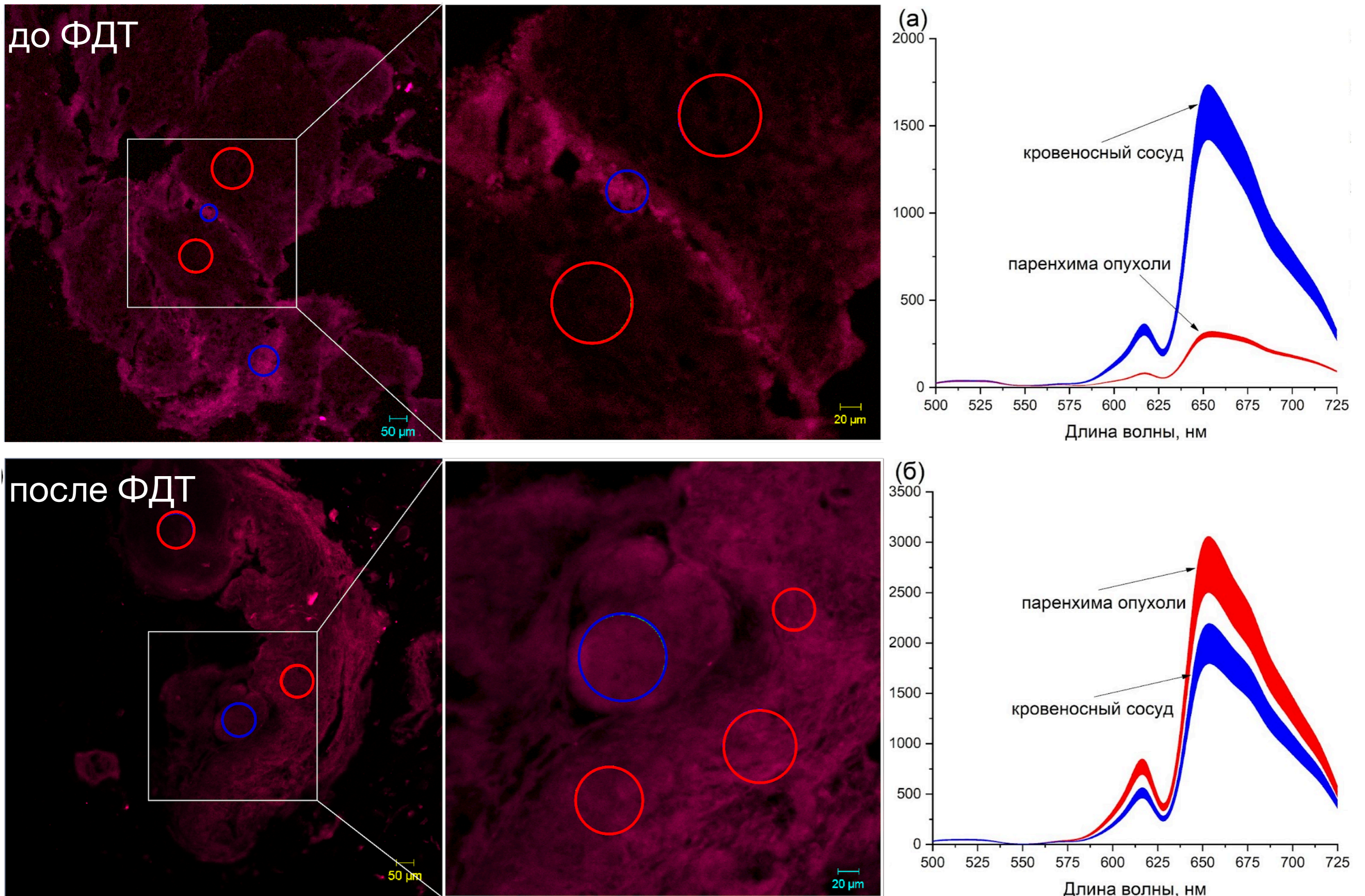
<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103566>

Get rights and content



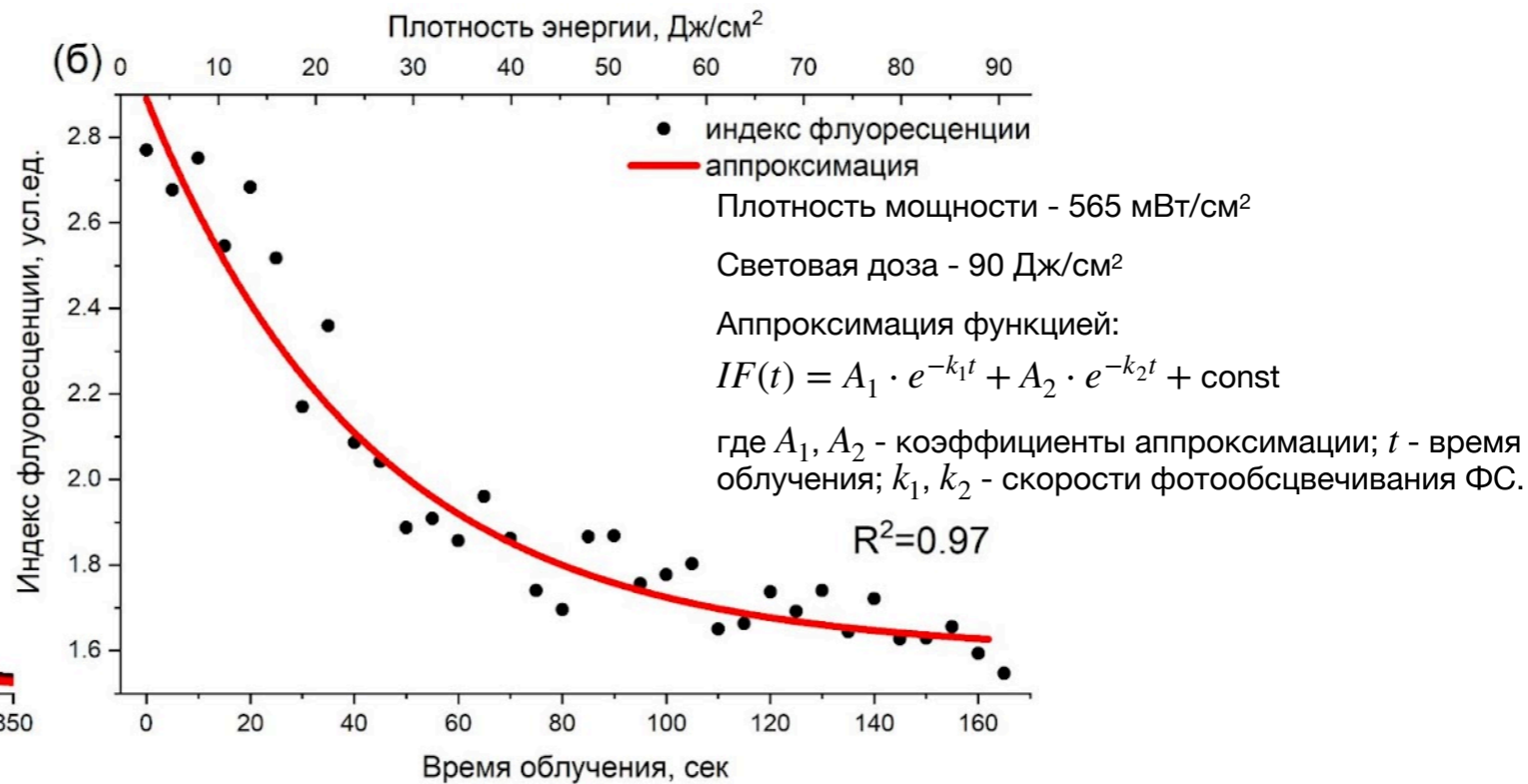
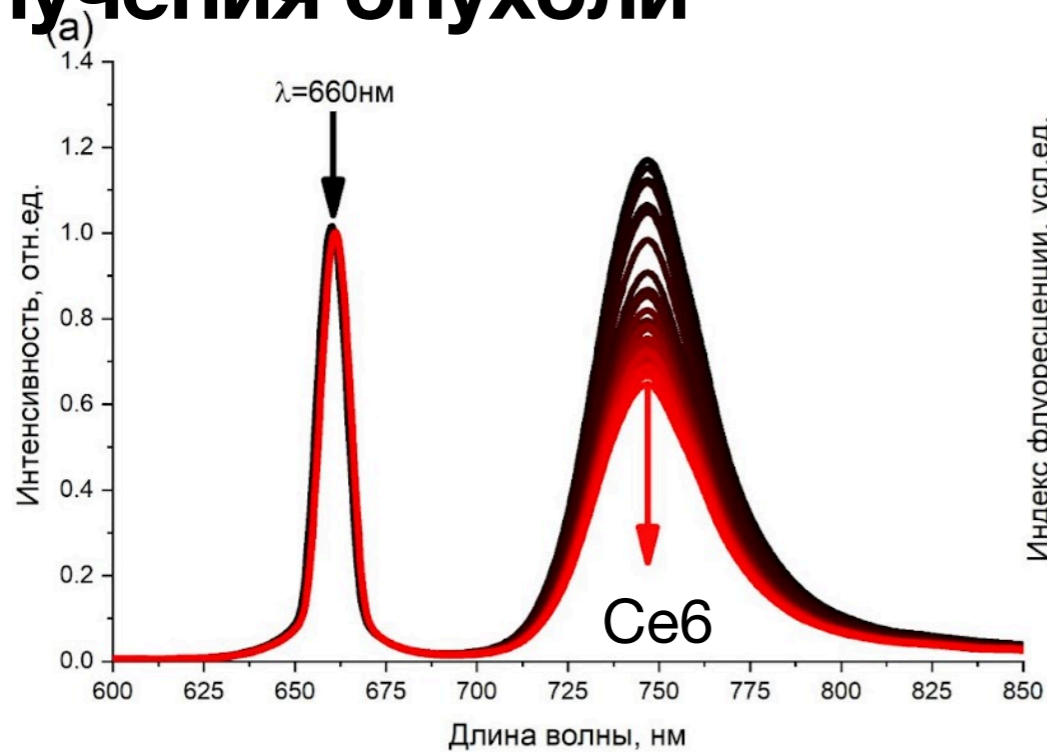
Патент № 2777486 С1 Российская Федерация, МПК А61N 5/067. Устройство для проведения фотодинамической терапии с возможностью одновременного спектрально-флуоресцентного контроля фотобликинга фотосенсибилизатора : № 2021127035 : заявл. 24.06.2021 : опубл. 04.08.2022 / К. Т. Эфендиев, П. М. Алексеева, А. А. Ширяев, В. Б. Лоценов.

Микроскопическое распределение Себ в опухоли

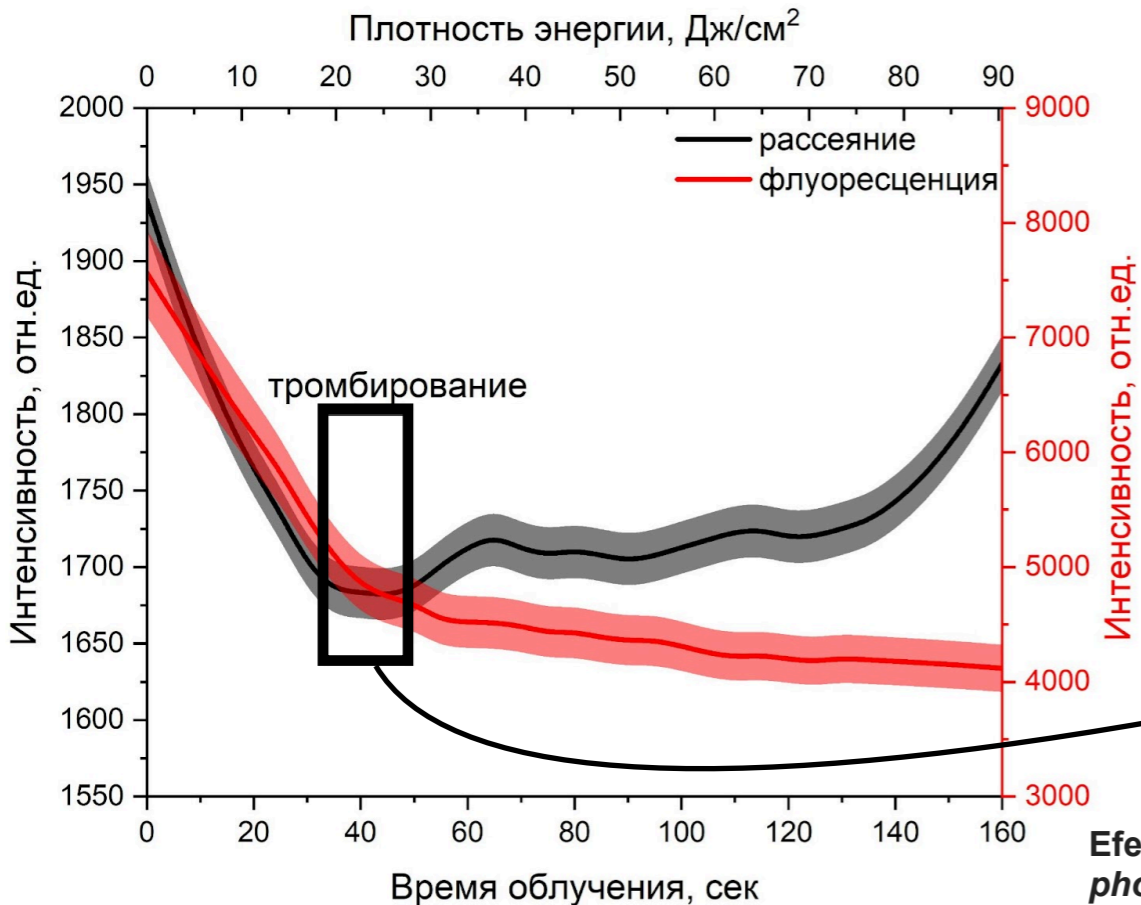


Микроскопические флуоресцентные изображения опухоли кожи до и после ФДТ

Спектроскопический контроль ФДТ в процессе лазерного облучения опухоли



Спектрально-флуоресцентный контроль ФДТ в процессе лазерного облучения



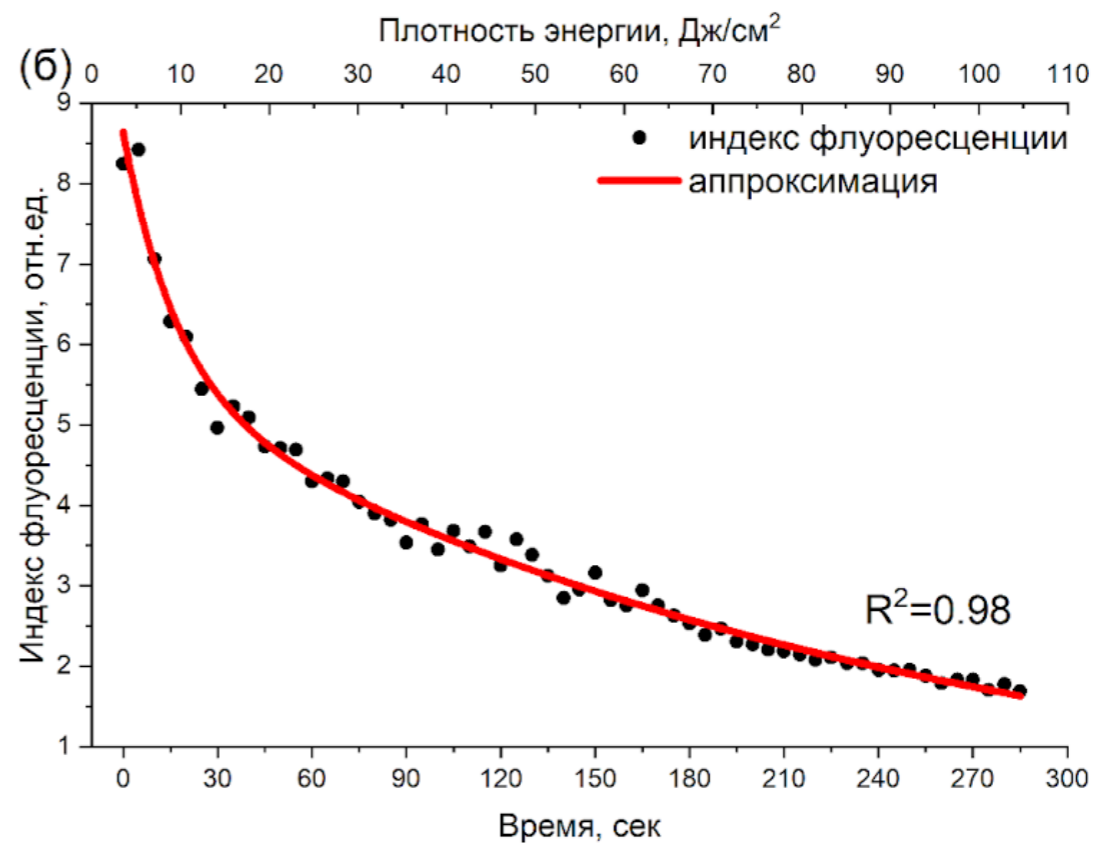
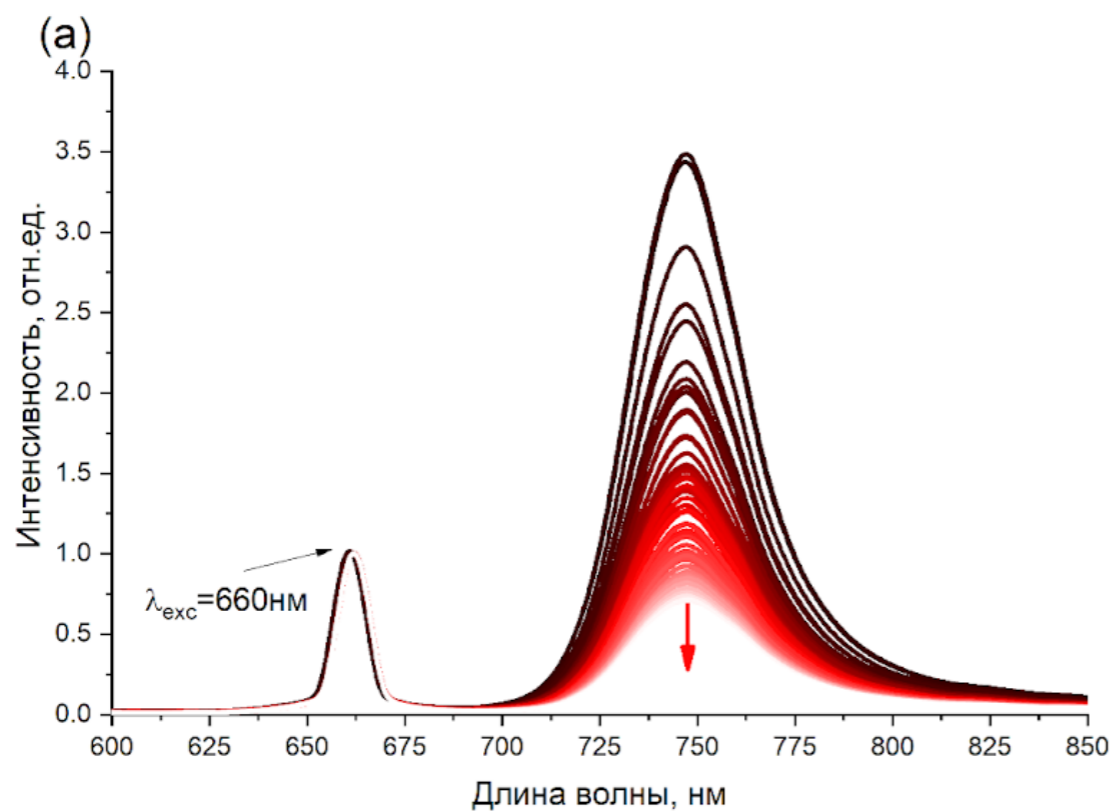
белый тромб

красный тромб

Процесс тромбирования сосудов после ФДТ



Тромбирование капилляров в зоне лазерного облучения



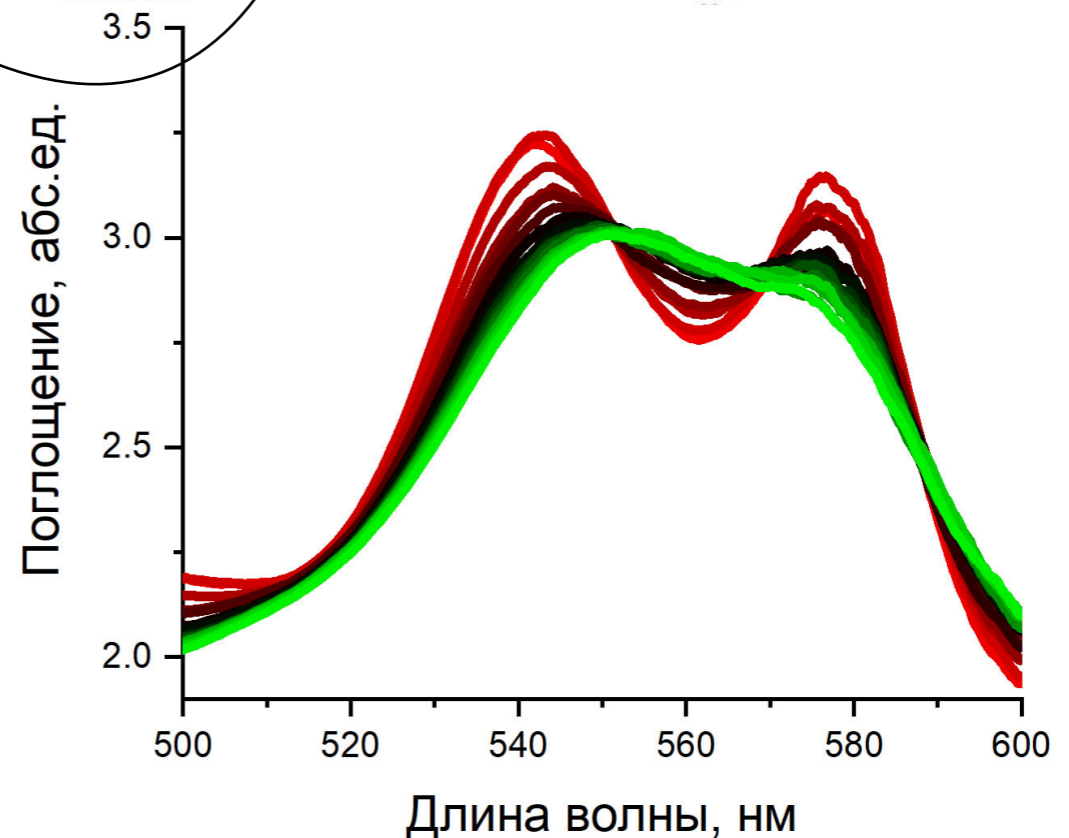
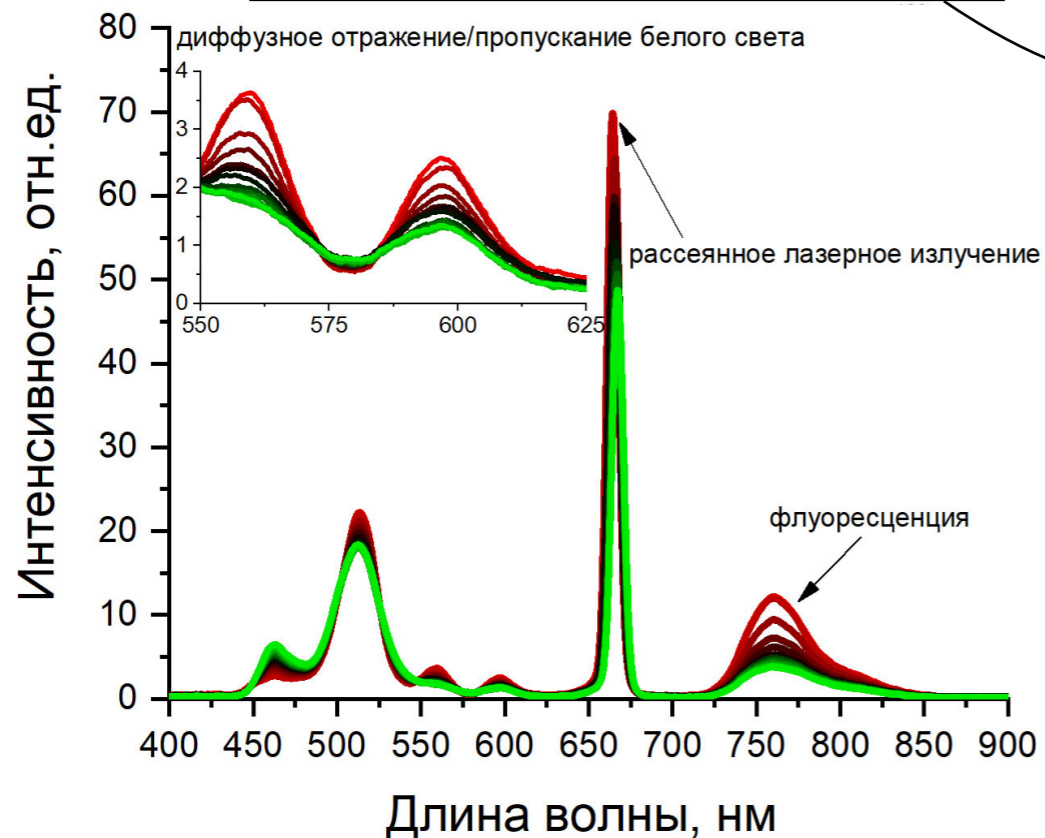
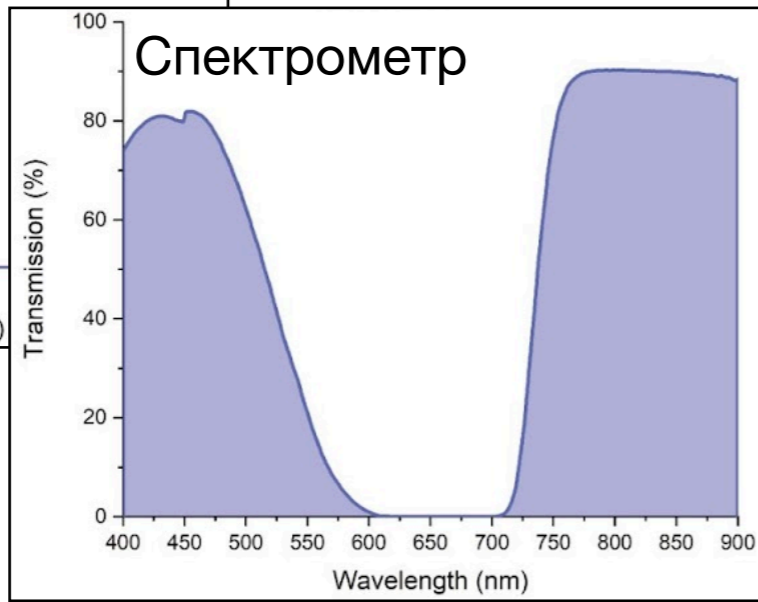
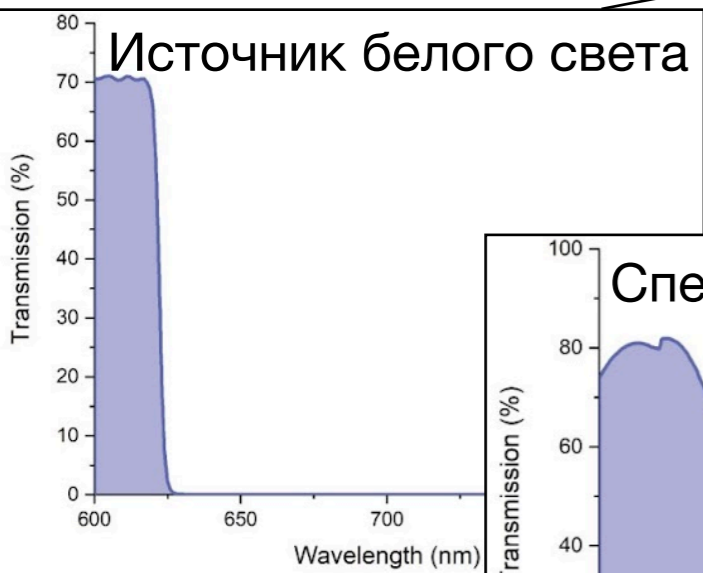
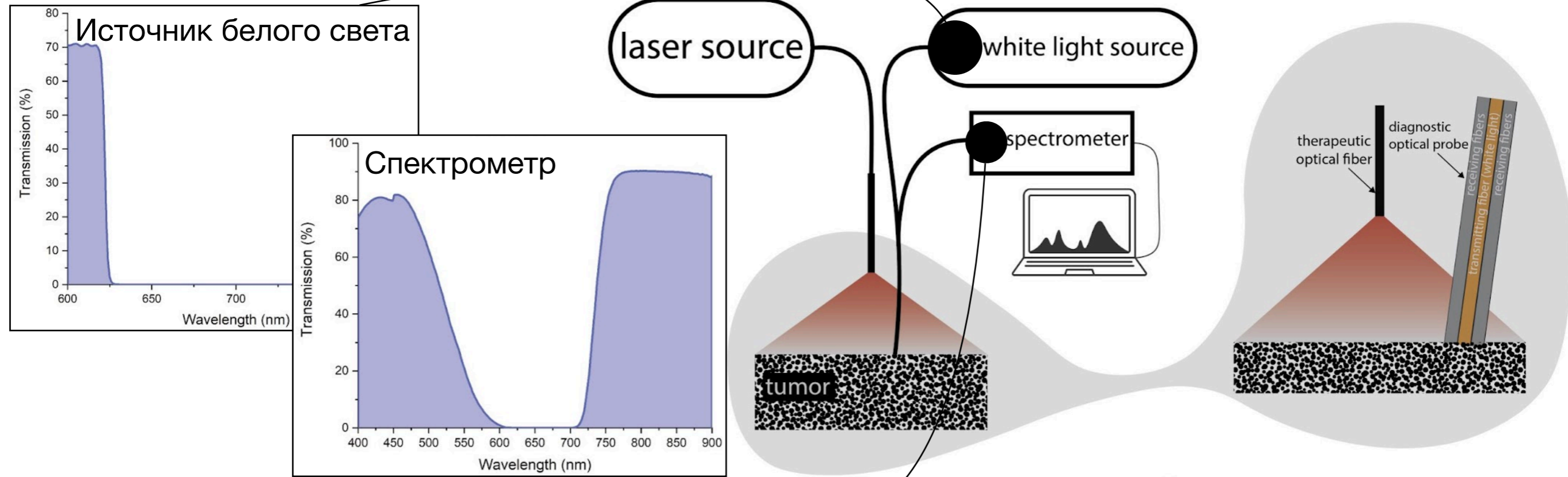
до ФДТ

после ФДТ

100 500
МКМ

100 500
МКМ

Метод комбинированного контроля ФДТ в процессе лазерного облучения

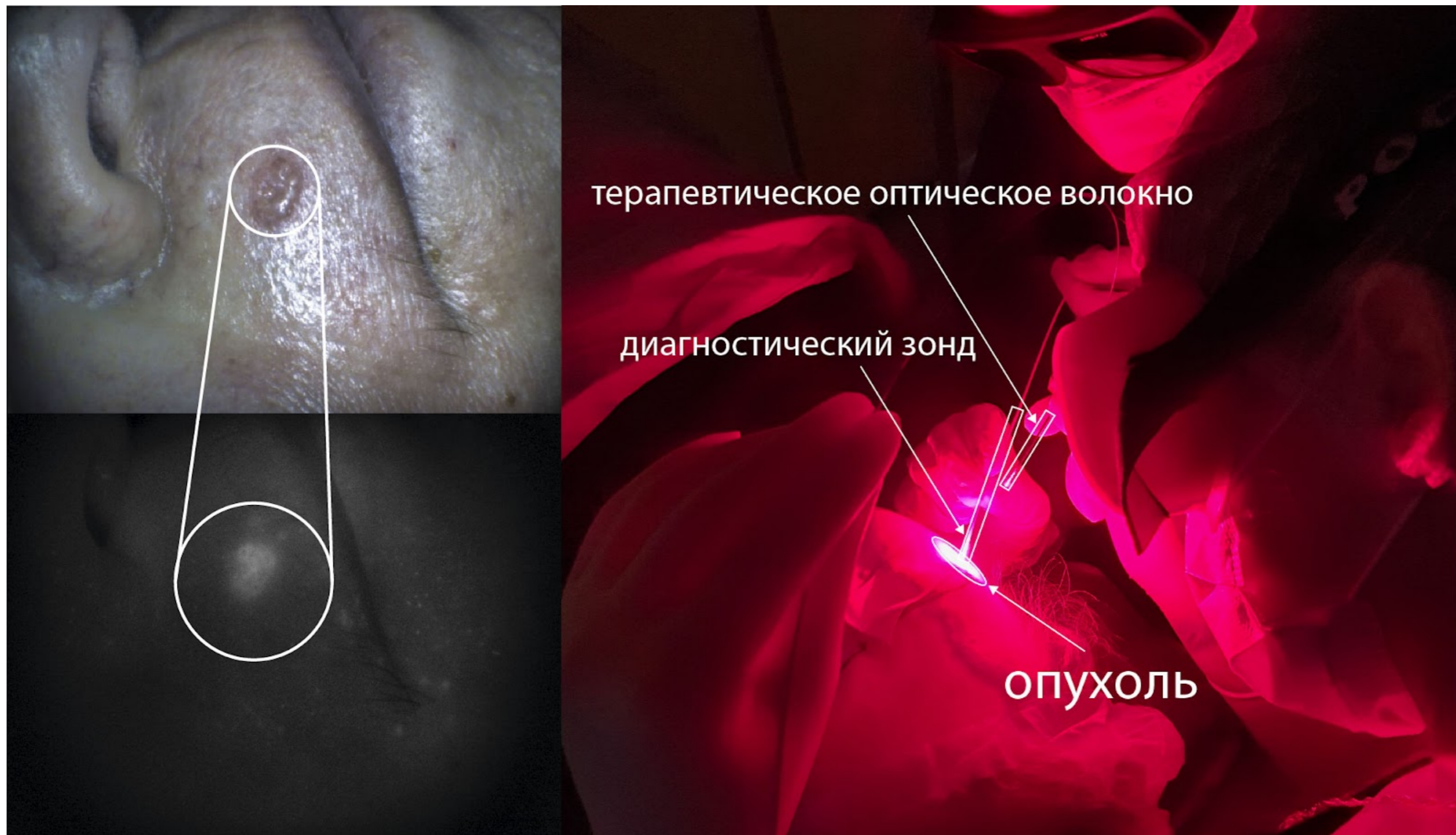


начало облучения



конец облучения

Интраоперационный комбинированный контроль лазерного облучения опухоли



Интраоперационный комбинированный контроль процесса фототерапии опухоли

Плотность мощности: 50-800 мВт/см²

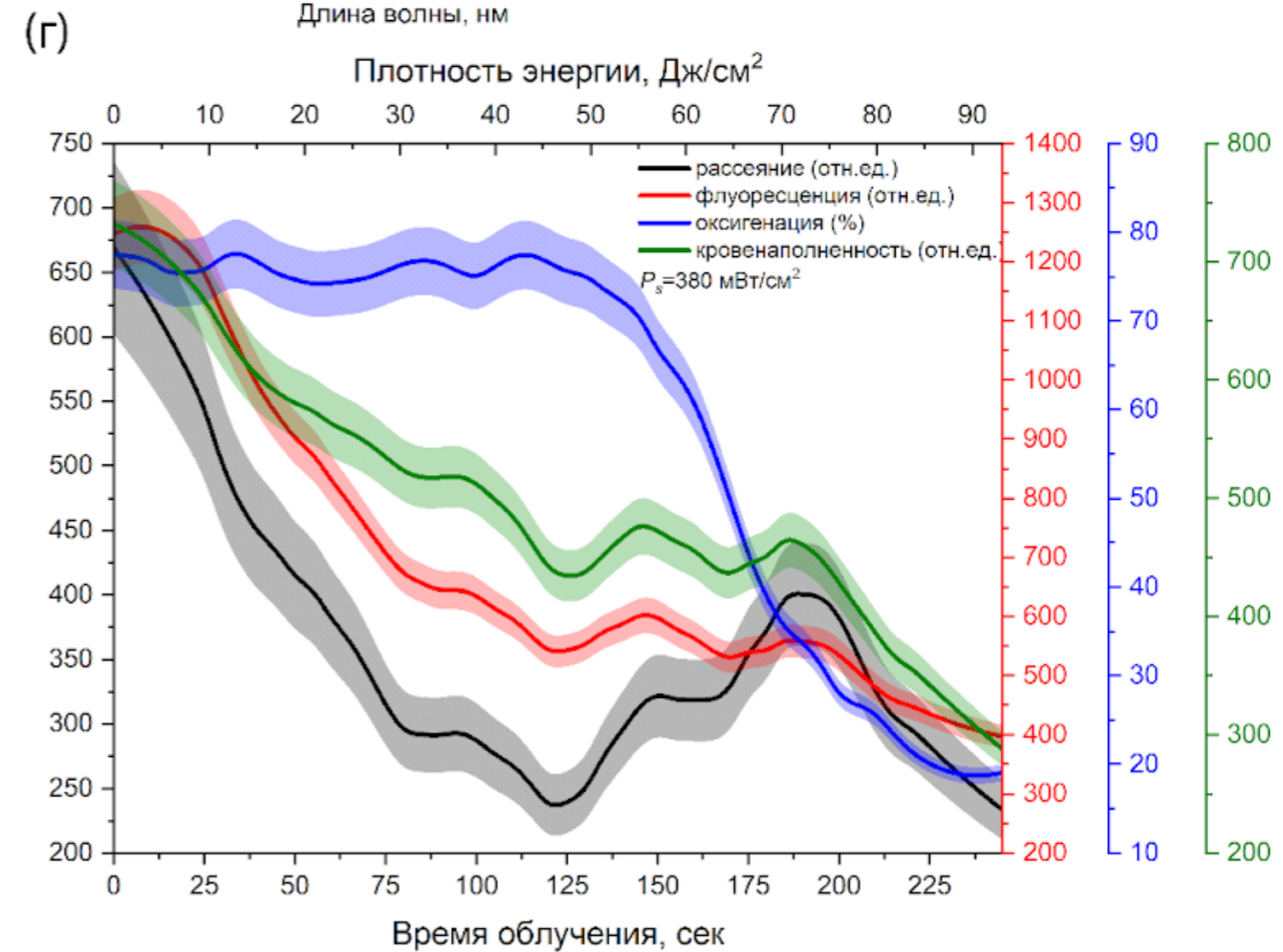
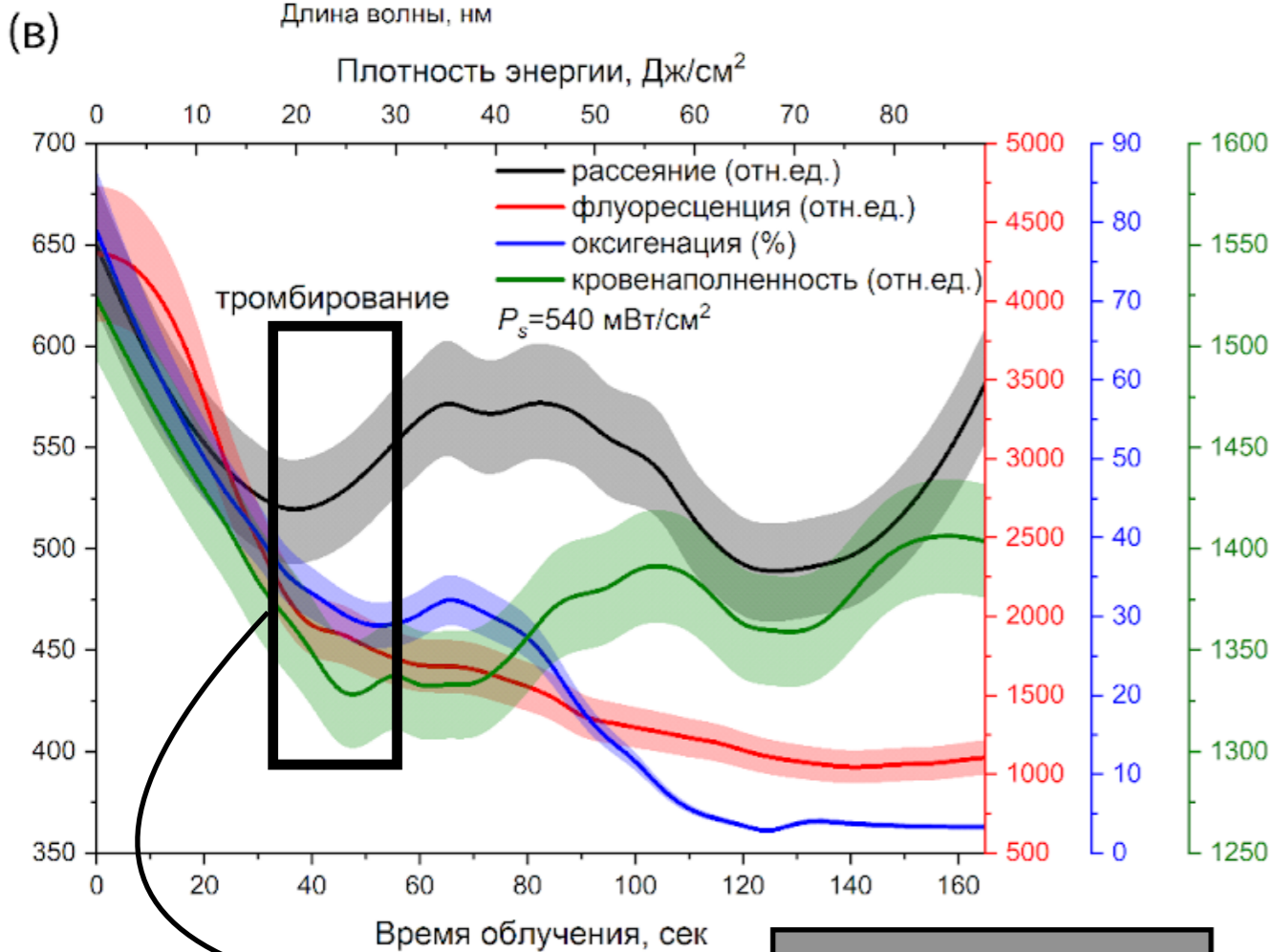
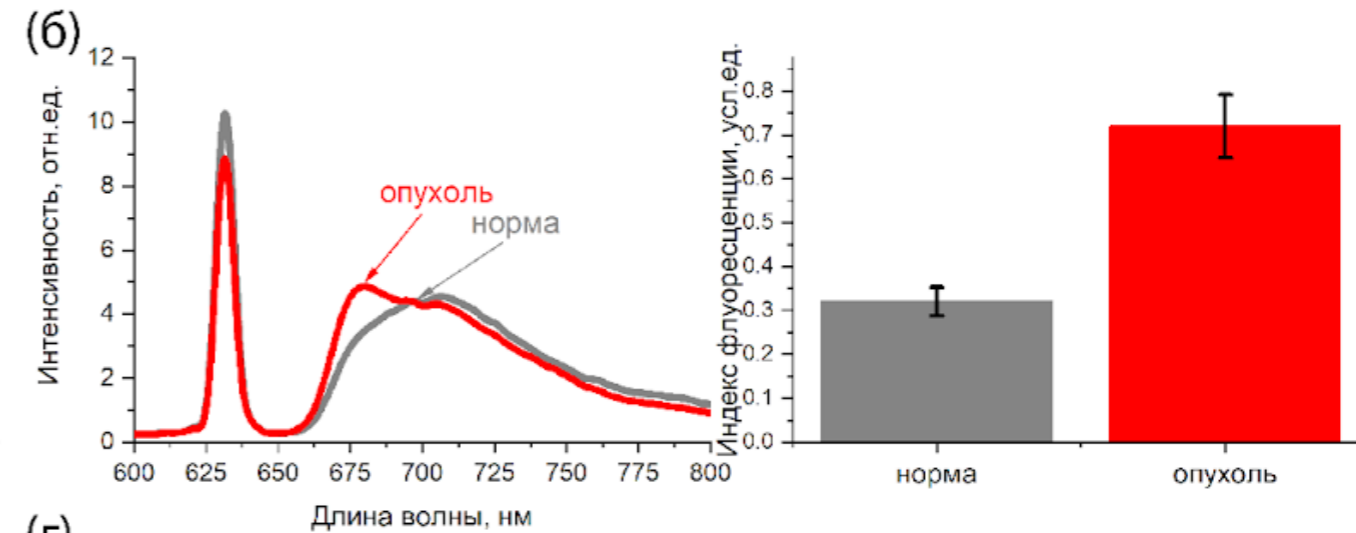
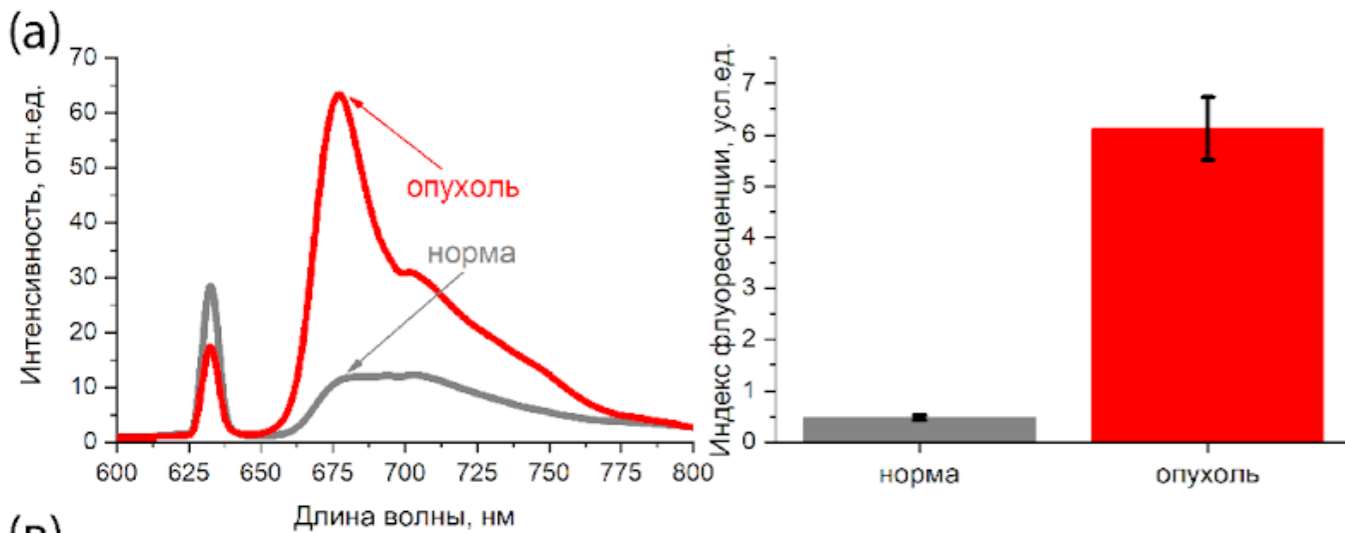
Световая доза (плотность энергии): 50-200 Дж/см²

ФДТ: фотообесвечивание ФС > 70%, оксигенация на уровне 0-10%

Спектроскопический комбинированный контроль ФДТ опухоли в процессе лазерного облучения

высокое накопления Себ

низкое накопление Себ



белый тромб

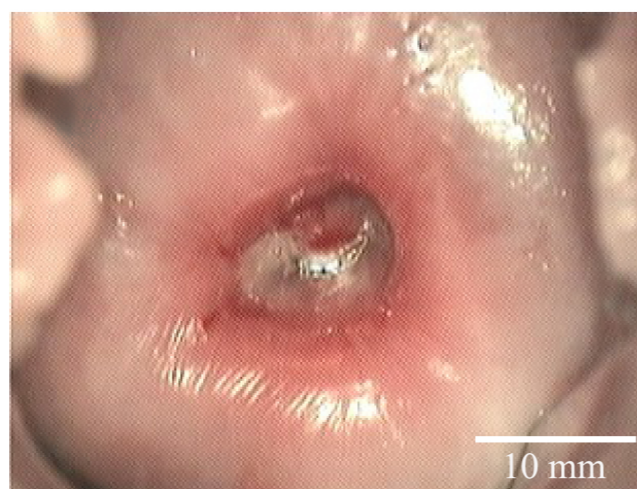
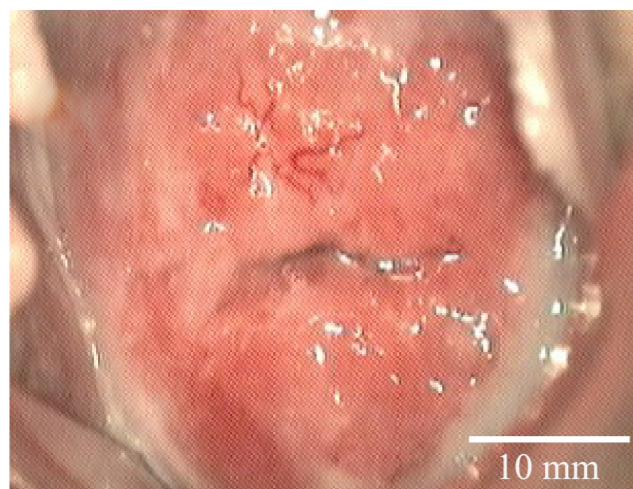
Клиническая эффективность разработанных методов и устройств

Разработан метод интраоперационного мониторинга ФДТ:

- Концентрационного распределения Себ.
- Кинетики изменения фотообесцвечивания Себ.
- Состояния сосудистой системы тканей.
- Оксигенированности гемоглобина.
- Кровенаполненности тканей.

Количество процедур, после которых отсутствовали типы ВПЧ	Количество пациентов	
	Абс.	%
1	48	92
2	4	8

Количество процедур, после которых наблюдался регресс поражения	Количество пациентов	
	Абс.	%
1	42	81
2	10	19



Рак шейки матки до и спустя 1 месяц после ФДТ

Опухоли кожи до ФДТ и спустя 1 месяц после ФДТ

**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!**



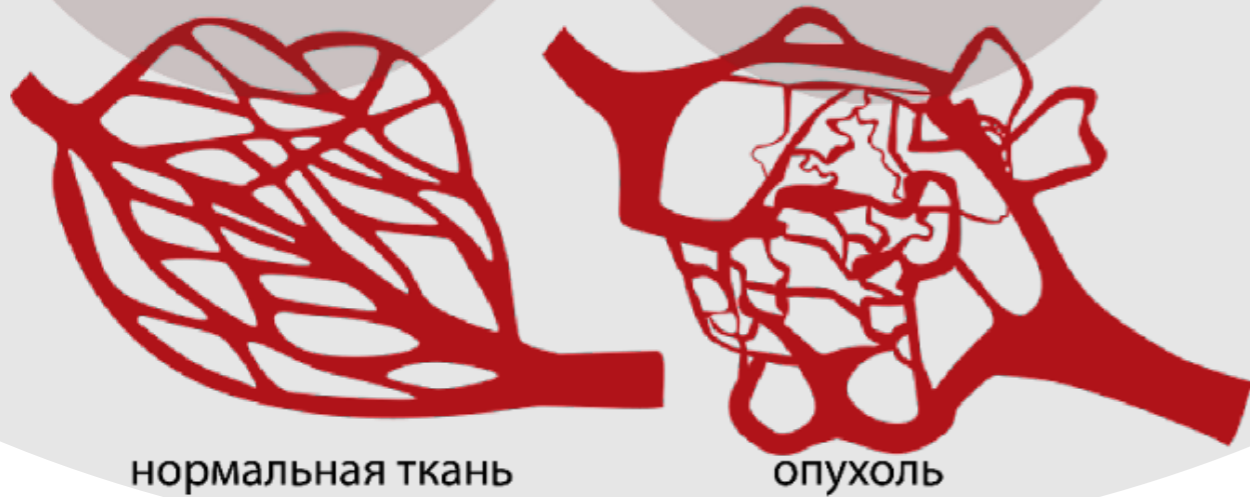
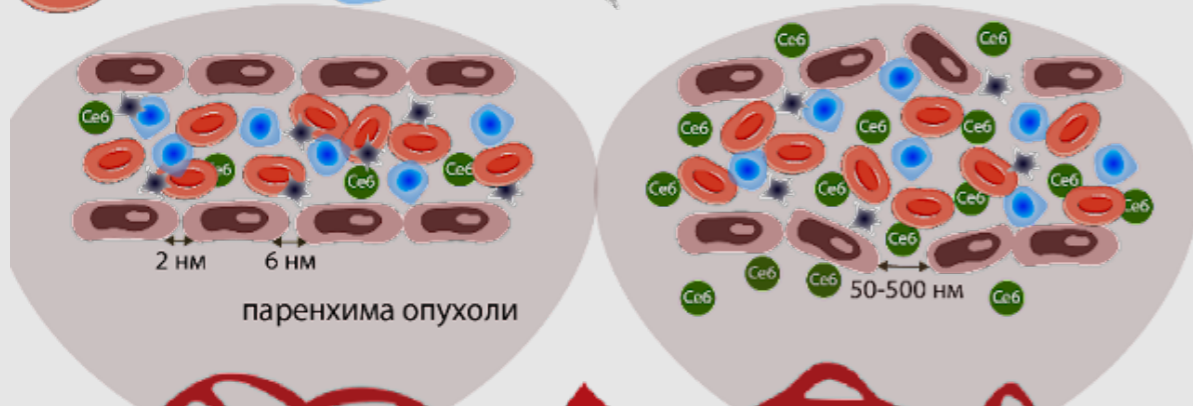
kanamatius@mail.ru



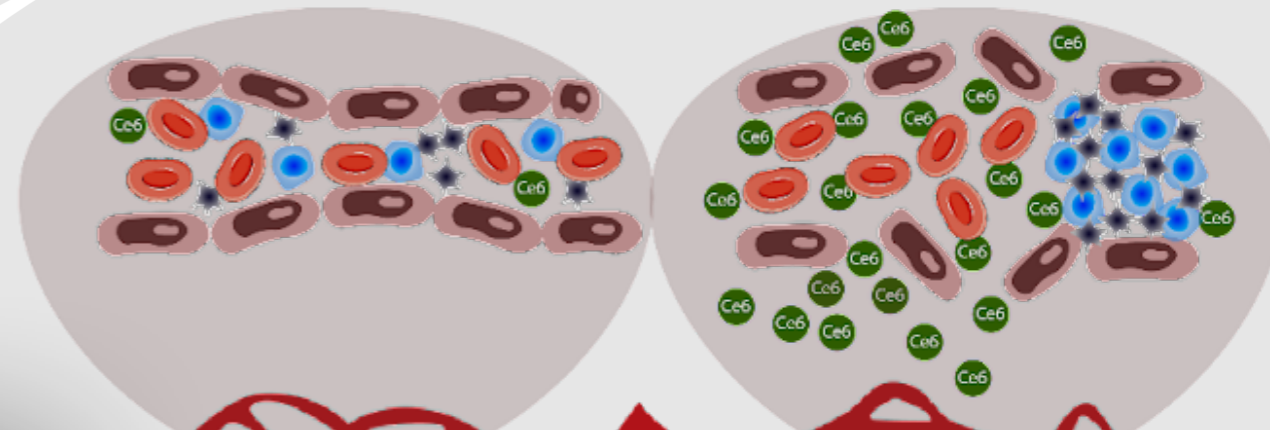
+7(988) 928 77 88

Эффективность низкоинтенсивного предварительного лазерного облучения опухоли

эритроцит лейкоцит тромбоцит эндотелий сосудов Ce6 молекула ФС



процесс сужения и тромбирование кровеносных сосудов

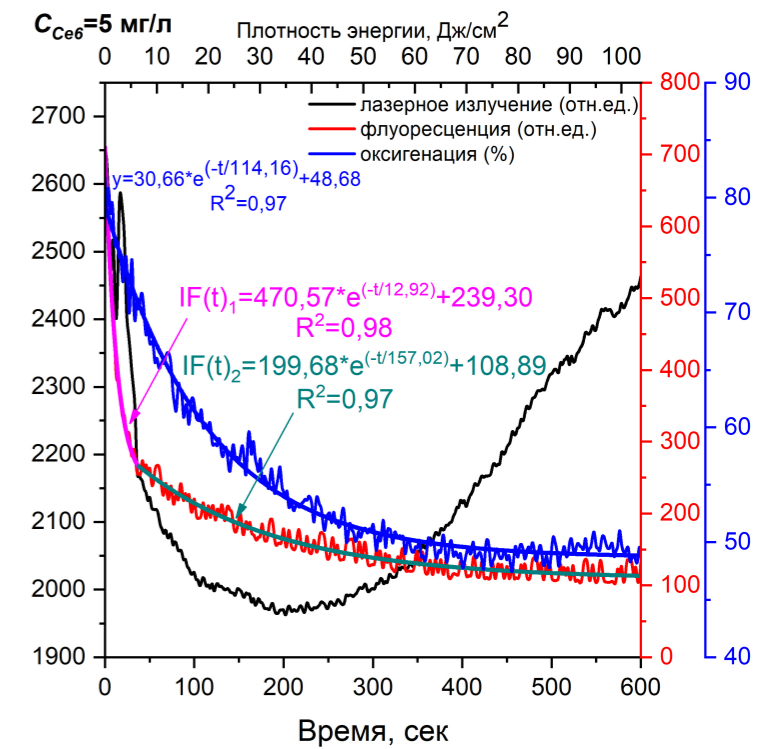
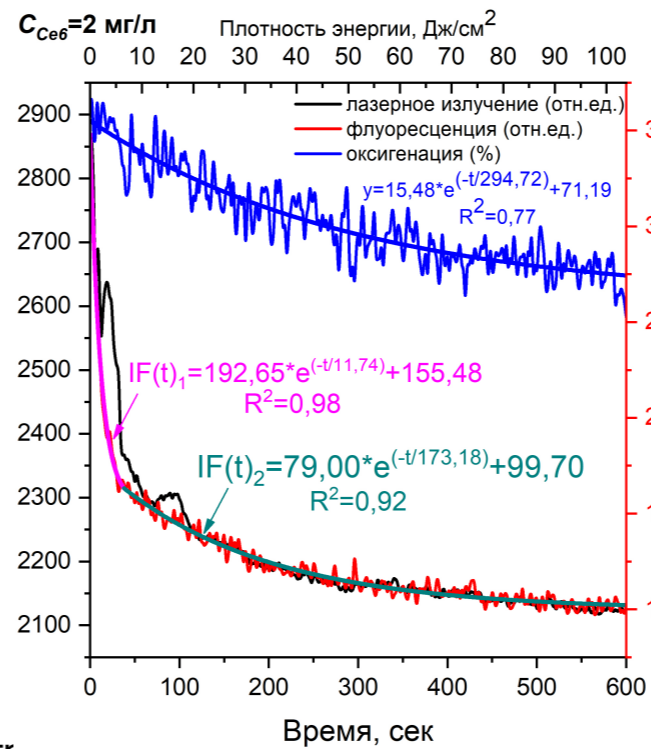
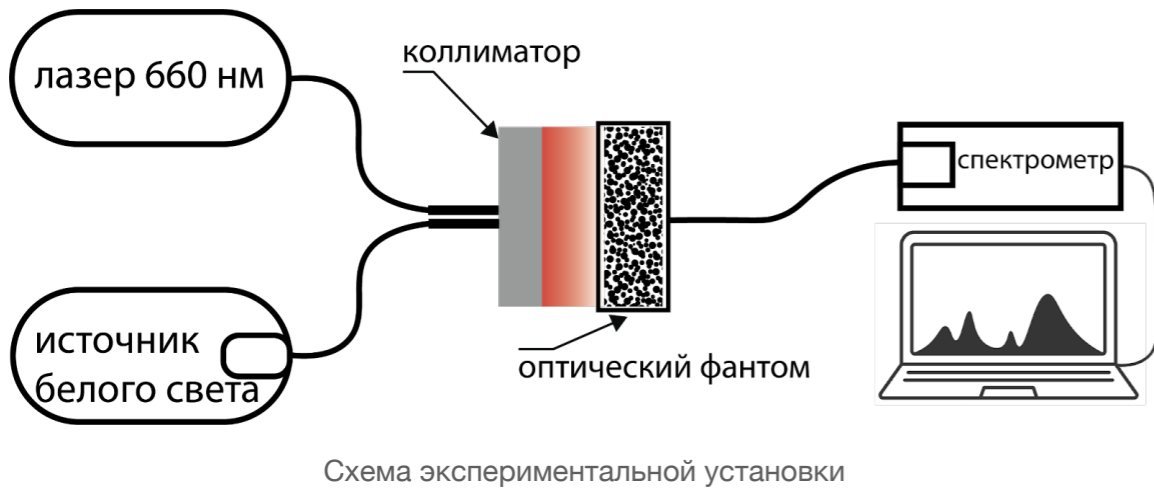


Метод позволяет:

- увеличить концентрацию Ce6
- избежать полного тромбирования сосудов
- сократить количество процедур ФДТ

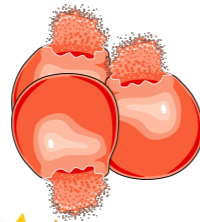


Комбинированный контроль ФДТ в процессе лазерного облучения оптических фантомов

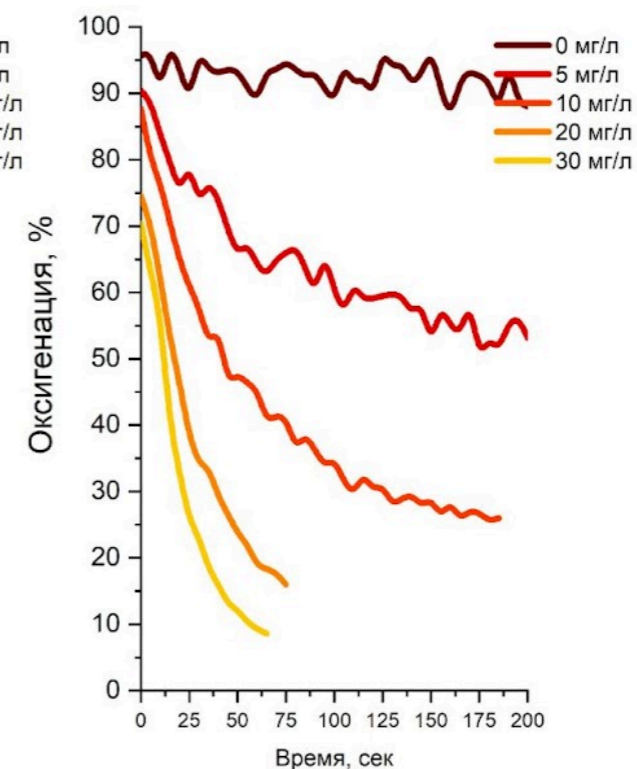
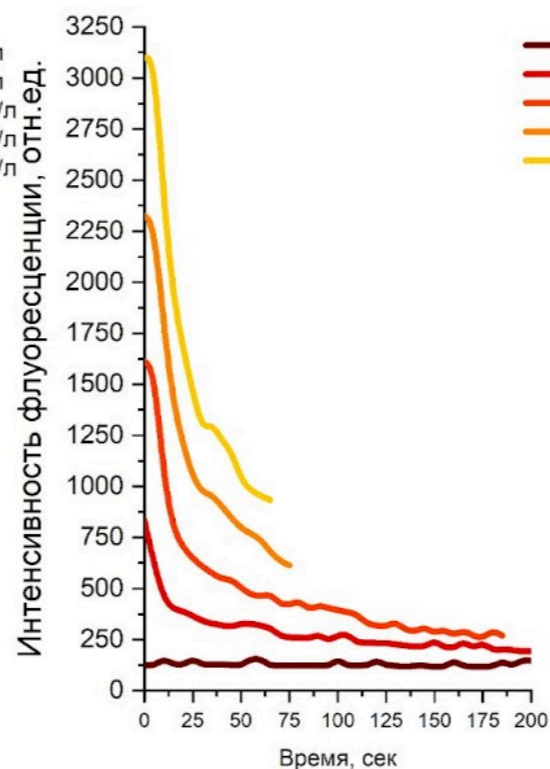
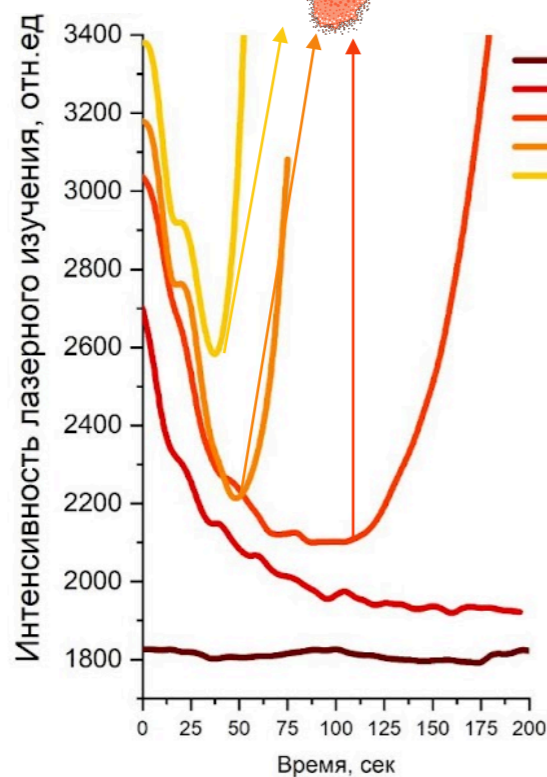


Плотность мощности ($\lambda_{exc}=660 \text{ нм}$) - $173 \pm 5 \text{ мВт/см}^2$

Плотность мощности белого света - $11 \pm 3 \text{ мВт/см}^2$



разрушение эритроц



Фотообесцвечивание фотосенсибилизатора в процессе фотодинамической терапии

Выделяют два основных механизма фотобликинга ФС с необратимой потерей флуоресцентных свойств:

1. деструкция и необратимая потеря флуоресцентных свойств молекулой ФС, вследствие атаки АФК (преимущественно синглетным кислородом $^1\text{O}_2$) - АФК-опосредованный механизм;
2. деструкция молекулы ФС, вследствие взаимодействия молекулы ФС в возбужденном триплетном состоянии T_1 непосредственно с окружающими биологическим субстратом (клеточной мембраной или молекулой), либо взаимодействия непосредственно с молекулярным кислородом $^3\text{O}_2$ - не АФК-опосредованный механизм.

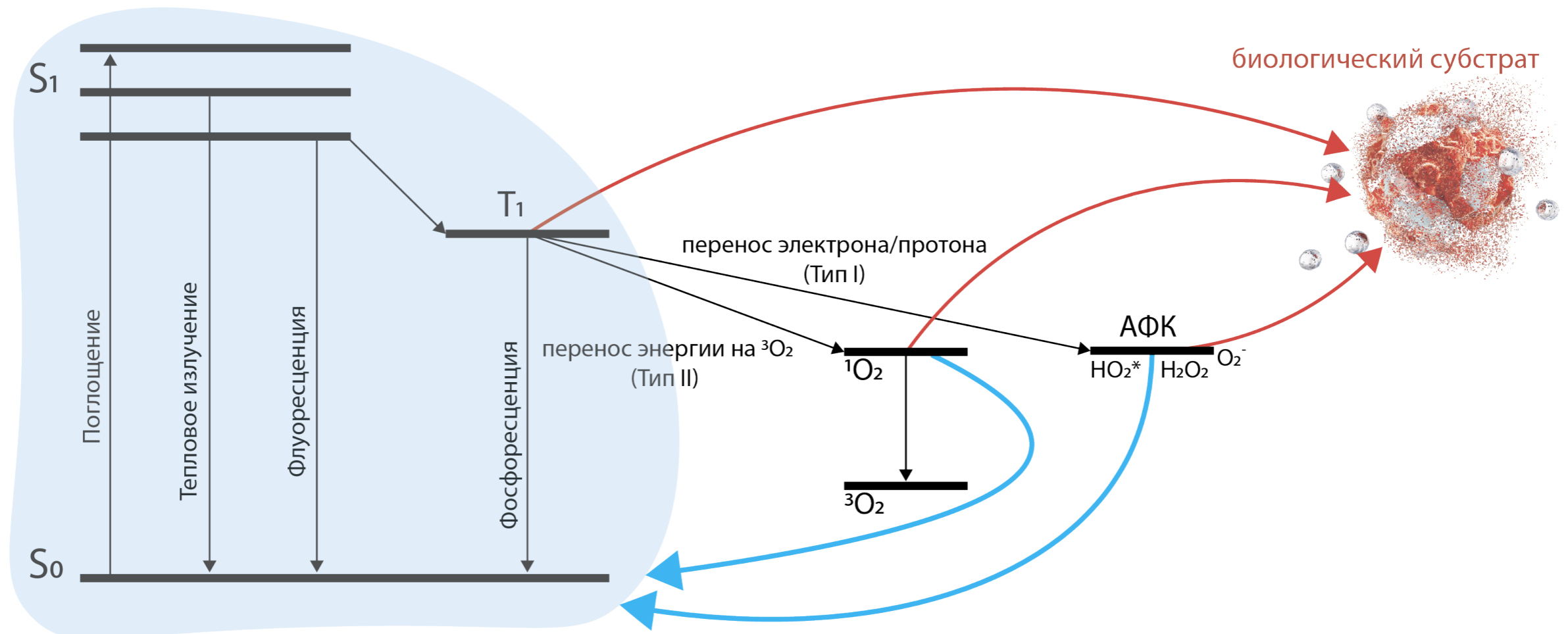


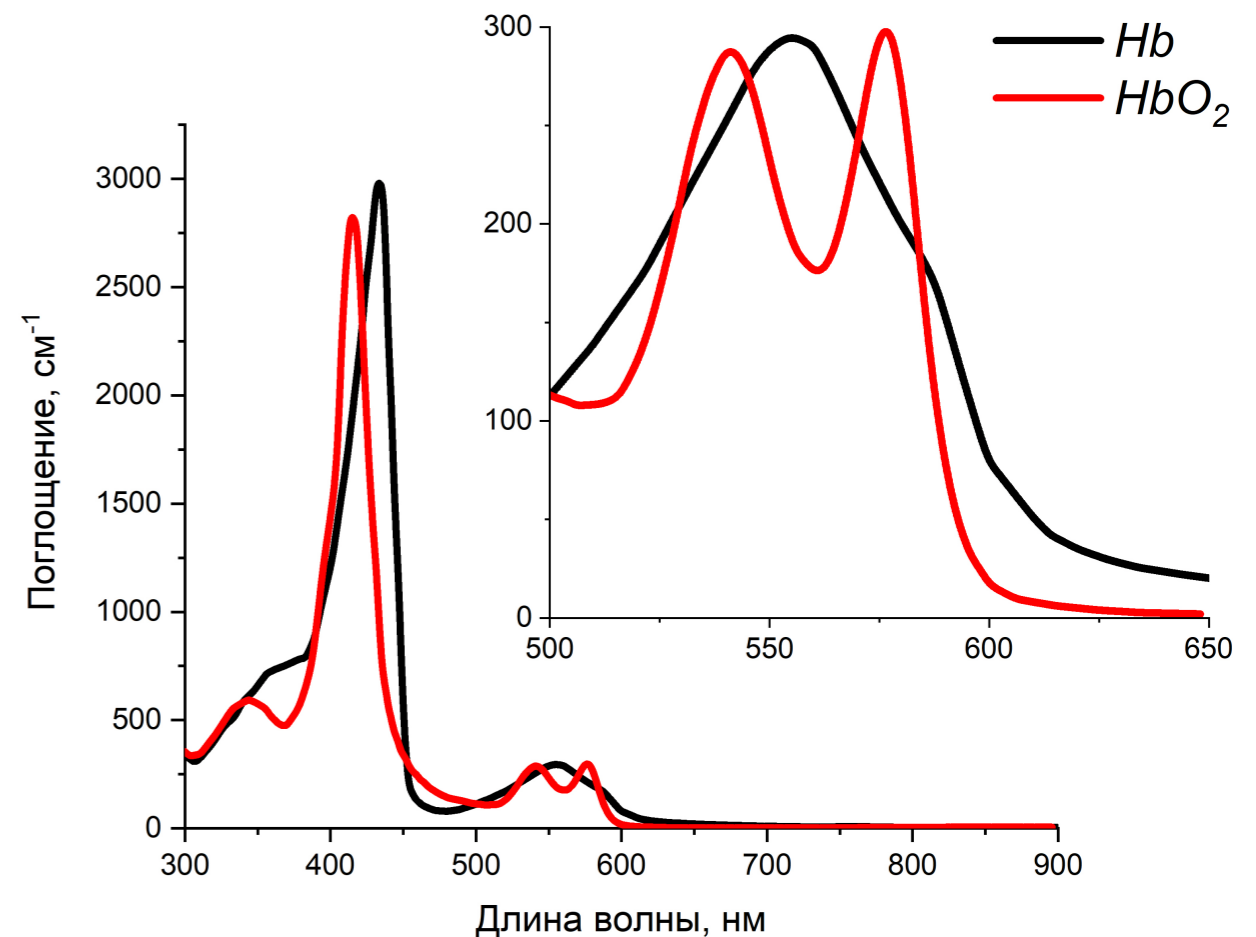
Схема фотовозбуждения и фотобликинга ФС в присутствии кислорода и биомолекул. S_0 , S_1 и T_1 - основное, возбужденное синглетное и триплетное состояние ФС. $^3\text{O}_2$ и $^1\text{O}_2$ - основное триплетное и возбужденное синглетное состояние кислорода. O_2^- - супероксид, HO_2^* - гидропероксильный радикал, H_2O_2 - пероксид водорода

Спектроскопический метод оценки оксигенации гемоглобина

Количественное определение уровня оксигенации производится с использованием логарифма обратного отражения

$$A_{exp}(\lambda) = \ln \left(\frac{I_{ref} - I_{dark}}{I - I_{dark}} \right)$$

где I_{ref} - отраженный сигнал от стандартного рассеивающего образца $BaSO_4$; I_{dark} - темновой шум в отсутствии света; I - интенсивность диффузно отраженного света от ткани. Коэффициент отражения $BaSO_4$ приблизительно составляет 1.



Экспериментальная зависимость $A_{exp}(\lambda)$ описывается модельной функцией:

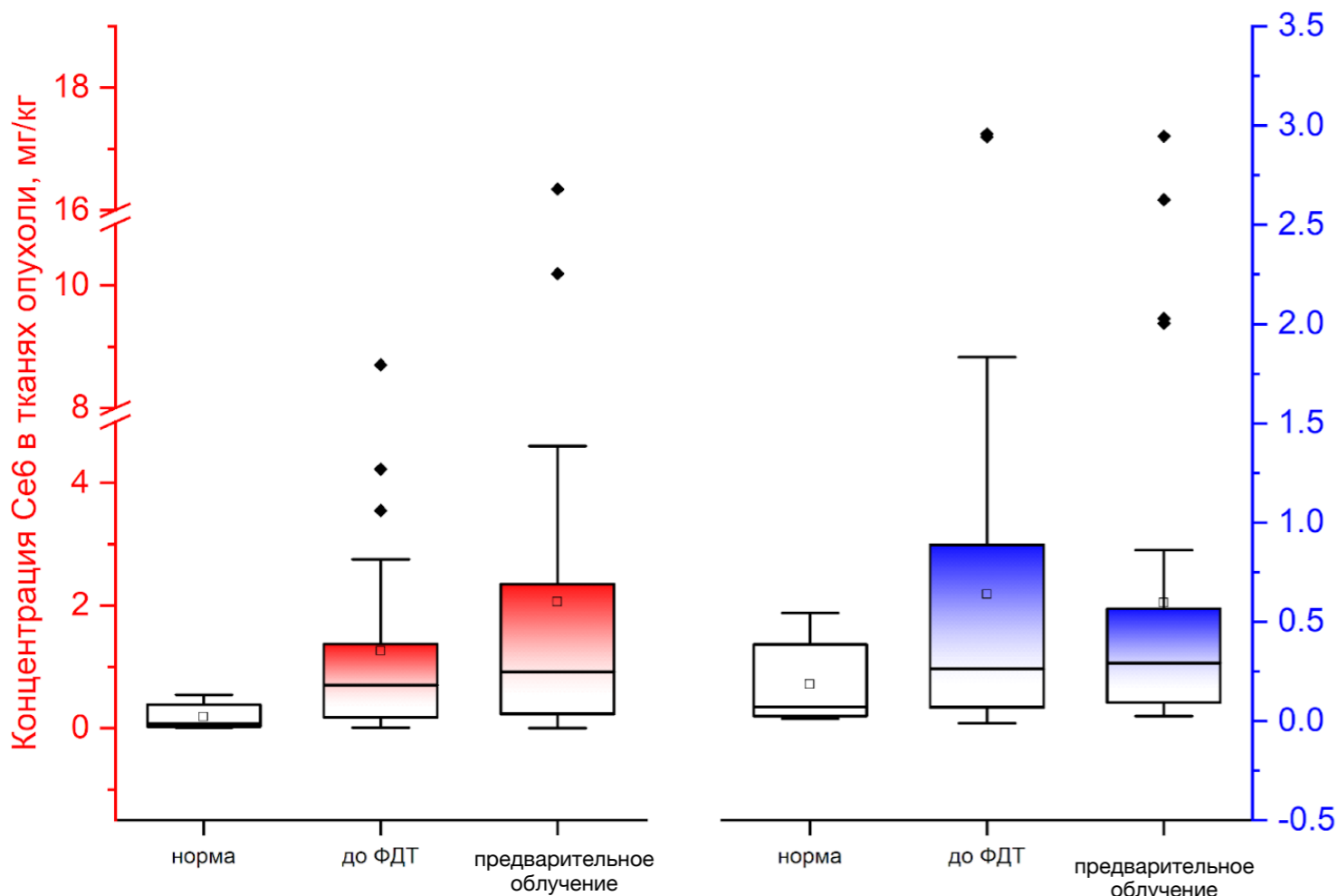
$$A_{model}(\lambda) = c_0 + c_1(\lambda) + \langle L \rangle \left[c_{Hb} \epsilon_{Hb}(\lambda) + c_{HbO_2} \epsilon_{HbO_2}(\lambda) \right] \ln 10$$

где c_0 и c_1 – коэффициенты, учитывающие вклад рассеяния и поглощения ткани, не связанные с гемоглобином; c_{Hb, HbO_2} , ϵ_{Hb, HbO_2} – коэффициенты экстинкции и концентрации оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина.

Значения данных коэффициентов, а также величин $\langle L \rangle c_{Hb}$ и $\langle L \rangle c_{HbO_2}$ определяются путем минимизации разности между экспериментальными и модельными спектрами методом наименьших квадратов в диапазоне длин волн 500-600 нм.

$$S_{O_2} = \frac{\langle L \rangle c_{HbO_2}}{\langle L \rangle c_{HbO_2} + \langle L \rangle c_{Hb}} = \frac{c_{HbO_2}}{c_{HbO_2} + c_{Hb}}$$

Концентрационное распределение Се6



Распределение концентраций Се6 в нормальных тканях, опухоли и границе до и после предварительного лазерного облучения

Опухоль

индексы флуоресценции после предварительного лазерного облучения **УВЕЛИЧИВАЛИСЬ**

Граница опухоли

индексы флуоресценции после предварительного лазерного облучения **УМЕНЬШАЛИСЬ**

$p < 0.01$, ранговый W -критерий Вилкоксона для $n=26$

до облучения:

норма ~ 0,07 мг/кг

опухоль ~ 0,71 мг/кг

граница опухоли ~ 0,26 мг/кг

после облучения:

норма ~ 0,07 мг/кг

опухоль ~ 0,92 мг/кг

граница опухоли ~ 0,29 мг/кг

Клинические результаты

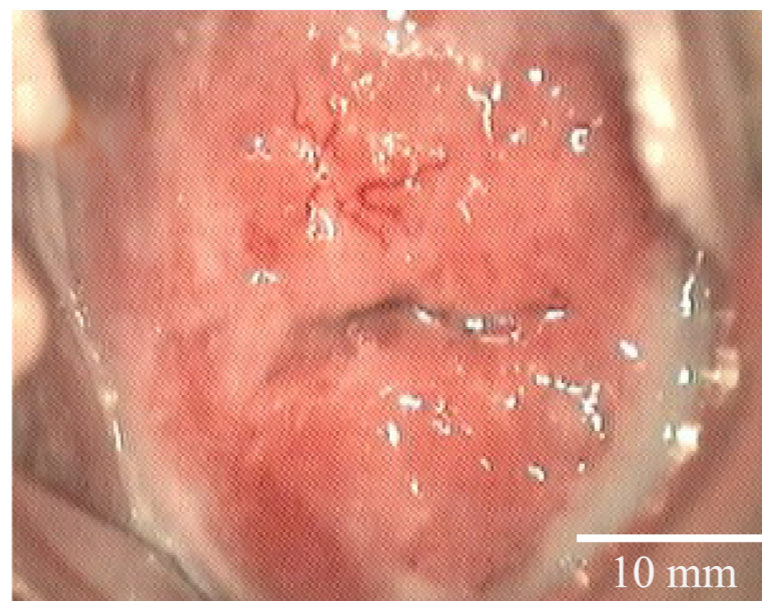
ФДТ способствует уничтожению ВПЧ и приводит к регрессу опухоли.

Фотосенсибилизатор	Хлорин е6 (Ce6)
Способ введения	Внутривенный
Концентрация	0,8–1,0 мг/кг
Время накопления	3–4 ч
Плотность мощности лазерного излучения	$\leq 0,3 \text{ Вт/см}^2$
Плотность энергии лазерного излучения	100–250 Дж/см ²
Время облучения	5–15 мин

Количество процедур, после которых отсутствовали типы ВПЧ	Количество пациентов	
	Абс.	%
1	48	92
2	4	8

Количество процедур, после которых наблюдался регресс поражения	Количество пациентов	
	Абс.	%
1	42	81
2	10	19

ДО ФДТ



ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ ФДТ



Изображения шейки матки пациентки с преинвазивным раком

Представленная статья включала исследование на 52 пациентках в возрасте 22–53 лет с дисплазией тяжелой степени и раком шейки матки, инфицированных онкогенными типами ВПЧ 6, 11, 16, 18, 33, 35, 56.

В рамках всех исследований (на сегодняшний день) - 107 пациенток.

Метод комбинированного контроля ФДТ в процессе лазерного облучения

