

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОТЕХНИКИ И ЭЛЕКТРОНИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 669.868:547.979.733:535.37

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНФРАКРАСНОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПОВЕРХНОСТНОЙ ЛОКАЦИИ НА ОСНОВЕ ИТТЕРБИЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ

© 2023 г. И. П. Шилов^{а, *}, В. Д. Румянцева^а, А. В. Иванов^{б, с}, Ю. В. Алексеев^с, А. С. Горшкова^а,
М. В. Рябов^с, А. М. Ковалева^д, М. И. Ковалев^е

^аФрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН,
пл. Введенского, 1, Фрязино Московской обл., 141190 Российская Федерация

^бНМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина,
Каширское ш., 23, Москва, 115522 Российская Федерация

^сНаучно-практический центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина, ФМБА,
ул. Студенческая, 40, Москва, 121165 Российская Федерация

^дГородская клиническая больница им. Д.Д. Плетнёва,
11-я Парковая ул., 32, Москва, 105077 Российская Федерация

^еПервый МГМУ им. И.М. Сеченова,
Большая Пироговская ул., 2, стр. 4, Москва, 119435 Российская Федерация

*E-mail: laserlab@ms.ire.rssi.ru

Поступила в редакцию 15.06.2022 г.

После доработки 18.10.2022 г.

Принята к публикации 25.10.2022 г.

Разработана перспективная методика люминесцентной инфракрасной (ИК) диагностики новообразований визуально и эндоскопически доступной локализации (дерматология, гинекология, стоматология) с использованием иттербиевых комплексов порфиринов. Изучены возможные механизмы накопления фармацевтической композиции на основе иттербиевого комплекса 2,4-ди(α-метоксиэтил)дейтеропорфирина IX (Yb-ДМДП) в опухолевых тканях. Проведенные исследования по фармакокинетике и биораспределению данной субстанции в различных органах и новообразованиях лабораторных животных показали значительную селективность накопления наночастиц с ионом иттербия в опухоли уже через 24 ч после внутривенного введения. Для целей люминесцентной ИК-диагностики разработан высокочувствительный лазерно-волоконный флуориметр, работающий в спектральном диапазоне 900...1100 нм. Проведены предклинические испытания разработанной методики люминесцентной ИК-диагностики рака и показана ее перспективность.

DOI: 10.31857/S0033849423030130, EDN: IDRXEU

1. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

В диагностике новообразований в настоящее время реализуется целый ряд направлений медицинского использования источников излучения: рентген, ядерная медицина, магнитно-резонансная визуализация, лазеры, ультразвук, электромагнитные поля ВЧ-КВЧ-диапазона [1]. Каждый из них имеет свои достоинства и недостатки. В этом смысле использование медицинских лазерных технологий намного дешевле, доступней и не уступает другим методам в показателях пространственного разрешения.

На сегодняшний день основным методом лазерной медицинской визуализации и анализа биотканей на наличие новообразований (доброкачественные, злокачественные опухоли) является лазерный флуоресцентный анализ. Флуоресценция

соответствует разрешенному оптическому переходу со сравнительно малым (наносекунды) временем жизни, возникает после поглощения света и связана с электронным переходом из возбужденного состояния молекулы в основное состояние. Интенсивность люминесценции вычисляется по выражению [2]

$$I_F(\lambda) = I_0 \left[1 - 10^{-\varepsilon_{\lambda} c_{ab} d} \right] \eta_F \frac{\Omega}{4\pi}, \quad (1)$$

где I_0 — интенсивность источника возбуждения люминесценции, η_F — квантовый выход люминесценции, ε_{λ} — молярный коэффициент экстинкции, c_{ab} — концентрация поглощающих молекул, d — толщина биослоя, Ω — телесный угол, в котором регистрируется изотропное излучение люминесценции (угловая апертура приемника).

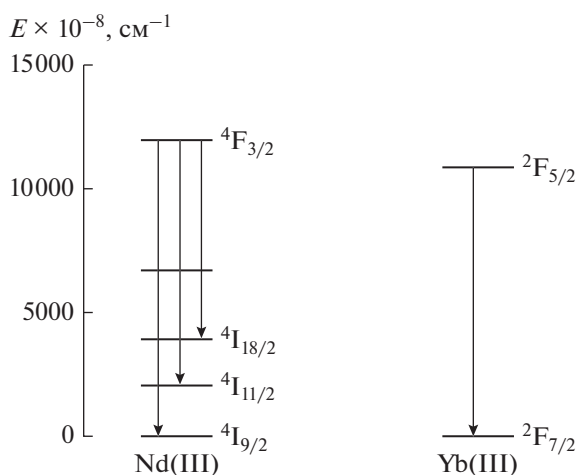


Рис. 1. Диаграмма энергетических уровней и спектров люминесценции ионов Nd(III) и Yb(III).

Существует два подхода флуоресцентной диагностики (ФД) новообразований: а) с использованием специальных вводимых в организм экзогенных флуоресцентных маркеров и б) без их использования, когда диагностика опухолей проводится по флуоресценции эндогенных флуорофоров (прежде всего порфиринов), накапливающихся в опухолевых и других быстро пролиферирующих биотканях.

Следует отметить, что в основе метода ФД опухолей лежат следующие факторы: 1) избирательность накопления флуоресцентного маркера-фотосенсибилизатора (ФС) в тканях новообразований и возможность их обнаружения по характерной флуоресценции на освещаемой лазерным излучением области; 2) различия в интенсивности и спектральном составе собственной флуоресценции здоровых и патологически измененных тканей при их возбуждении лазерным излучением в сине-зеленом и ультрафиолетовом диапазонах спектра.

В последнее время появился ряд работ [3, 4], в которых для различных биомедицинских применений, включая ФД новообразований, предлагаются малотоксичные ФС на основе некоторых лантанидных комплексов порфиринов (ЛКП), люминесцирующих в ближней ИК-области спектра (БИК). К ним относятся комплексы порфиринов на основе Yb, Ho, Er и Nd. БИК-область спектра очень перспективна из-за большей глубины проникновения фотонов через биоткань и минимальной аутофлуоресценции в этом диапазоне спектра [5].

Комплексы порфиринов с неодимом и иттербием характеризуются люминесценцией в БИК-области спектра, которая становится возможной за счет внутримолекулярного переноса энергии с триплетного состояния порфирина, расположен-

ного в диапазоне 12500...13500 см^{-1} , на более низкие резонансные уровни Nd^{3+} и Yb^{3+} (6450, 11500 и 10200 см^{-1} соответственно) (рис. 1). Инфракрасной 4f-люминесценции комплексов лантанидов с порфиринами и другими макроциклическими лигандами посвящен ряд обзоров [6, 7].

Лантанидные комплексы порфиринов обладают повышенным коэффициентом экстинкции в видимом ультрафиолетовом (УФ) диапазоне. При этом у иона Yb^{3+} наблюдается наиболее высокий внутренний квантовый выход (до 4%), благодаря чему он является наиболее перспективным кандидатом на применение в БИК-люминесцентной диагностике новообразований.

Именно поэтому в качестве радикальной идеи в начале 90-х годов прошлого века группой исследователей во главе с В.В. Григорьянцем (ФирЭ им. В.А. Котельникова РАН) было предложено разработать метод ИК-люминесцентной диагностики (ЛД) рака на основе использования некоторых иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП), которые могли бы образовать новый класс малотоксичных ФС [8]. Было показано [9], что введение иона иттербия в центр порфириновой матрицы приводит к резкому снижению фотохимической активности соединения, сохраняя при этом свойственную большинству порфиринов тропность к злокачественным опухолям. Дело в том, что ионы иттербия, введенные в соответствующие производные порфириновых комплексов, в значительной степени снижают квантовый выход генерации синглетного кислорода. Это связано с тем, что люминесцентный уровень иона Yb^{3+} лежит несколько ниже триплетного уровня органической части молекулы ФС, но выше, чем у синглетного кислорода. В итоге возбуждение порфириновой матрицы под влиянием внешнего светового излучения передается не на кислород, а перехватывается ионом Yb^{3+} , тем самым резко снижая сенсибилизированную порфирином генерацию синглетного кислорода. В результате фототоксичность у таких ИКП значительно снижается, а при возбуждении π -электронной системы органической части молекулы у Yb-комплексов наблюдается люминесценция, обусловленная переходами 4f-электронов иона Yb^{3+} : $4F_{5/2} \rightarrow 2F_{7/2}$ [10].

Необходимо также отметить, что в последнее время среди онкологических заболеваний заметно возросли новообразования кожи и слизистых оболочек [11]. Среди терапевтических ФС, используемых и для диагностики рака кожи и слизистых оболочек, особое место занимает препарат "Аласенс" (созданный на основе 5-ALA: 5-аминолевулиновая кислота). Однако присутствующие и недостатки в работе с 5-ALA и ее производными, проявляющиеся в ошибочных ложноположительных диагнозах, связанных с методическими тонкостями диагностической процедуры [12].

Надо также отметить, что флуоресценция этого соединения в тканях всегда сопровождается существенно более вероятным процессом генерации синглетного кислорода $^1\text{O}_2$ как в злокачественных, так и в здоровых тканях организма, что может вызывать ряд побочных нежелательных реакций. Попытки снизить до безопасного уровня указанную при ФД роль синглетного кислорода за счет снижения дозы ФС и световой мощности их возбуждения бесперспективны, так как это неизбежно приводит к резкому снижению чувствительности метода.

Таким образом, очевидно, что метод ФД с терапевтическими ФС не в полной мере отвечает задачам ранней диагностики (скрининга) онкозаболеваний, а использование одного лишь спектрального диапазона 600...750 нм, на наш взгляд, не является оптимальным.

Ранее было показано, что Yb-комплекс 2,4-ди(α -метоксиэтил)дейтеропорфирина IX (Yb-ДМДП) может быть использован в качестве основного компонента для ЛД новообразований поверхностной локализации. Для проведения процедур ЛД в ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН разработан высокочувствительный опытный лазерно-волоконный флуориметр (ЛВФ) [13].

Целью настоящей работы является разработка методики БИК-люминесцентной диагностики новообразований поверхностной локализации и оценка перспектив ее использования в дерматологии и гинекологии на основе использования иттербиевых комплексов порфиринов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для люминесцентной диагностики новообразований кожи и слизистых оболочек разработана фармацевтическая композиция (ФК). Она изготовлена на основе Yb-ДМДП [14], который люминесцирует в БИК-области спектра, и различных гелей (кремофор, тизоль, калгель) с использованием обеспечивающих хорошую проницаемость пенетраторов: диметилсульфоксида, глюкозамина и глицерина.

Изучение спектральных и временных характеристик люминесценции синтезированных ИКП проводили на экспериментальном измерительном стробоскопическом стенде для исследования люминесценции и кинетики спектров нефототоксичных фотосенсибилизаторов, разработанном в ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН [15].

Размер наночастиц в суспензии определяли методом динамического рассеяния света на лазерном корреляционном спектрометре "Курс-3" [16], позволяющем проводить измерения в диапазоне 0.5...10⁴ нм.

На макетном ЛВФ исследовали селективность накопления Yb-ДМДП в тканях, а также проводили процедуры ЛД.

Разработанный ЛВФ состоит из полупроводникового лазера на длине волны 405 нм; блока модуляции и оцифровки, включающего аналогово-цифровой преобразователь (АЦП-ЦАП); ноутбука; блока регистрации и обработки сигнала люминесценции, включающего систему интерференционных фильтров, фотодиодного модуля с предусилителем, системы линз; многожильного высокоапертурного волоконно-оптического зонда.

Изучение фармакокинетики проводили на мышцах-самках линии Balb/c с привитой под кожу правого бока саркомой S-37. ФС вводили в хвостовую вену в растворе из расчета 25 мг/кг живого веса. Использовалась стандартная процедура приготовления образцов: навески выбранных тканей и органов по 100 мг гомогенизировали в 4 мл физиологического раствора в ручном стеклянном гомогенизаторе до однородной массы; полученную суспензию клеток сливали в пробирку и проводили измерение их люминесценции в стандартных кюветах. Для массовых измерений люминесценции биологических образцов, неизбежных при изучении биораспределения и фармакокинетики препаратов, использовали макетную установку на базе мощных суперлюминесцентных светодиодов (530 нм, 70 мВт и 400 нм, 50 мВт), и миниспектрометр FSD-10 в качестве приемника сигнала люминесценции в спектральном диапазоне 500...1100 нм [17].

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Спектральные характеристики люминесценции Yb-ДМДП (рис. 2) демонстрируют, что данная субстанция обладает характерной для редкоземельных ионов узкой и достаточно яркой полосой люминесценции, которая для Yb³⁺ находится в ИК-диапазоне 975...985 нм, где собственная люминесценция биотканей практически отсутствует. Для сравнения приведен спектр Yb-комплекса диметилового эфира протопорфирина IX. Практический интерес для использования в медицине представляют субстанции ИКП в 20...40%-ном растворе ДМСО, которые разрешены в медицине. Для таких концентраций ДМСО время жизни люминесценции достигло 5 мкс. Общий квантовый выход люминесценции для Yb-ДМДП рассчитывали по методу, описанному в [18], используя в качестве эталона раствор Zn-тетрафенилпорфирина в этаноле, квантовый выход которого равен 0.03. Расчетный квантовый выход люминесценции составил ~0.9%.

Таким образом, подтвержден факт того, что Yb-ДМДП обладает повышенными фотофизическими характеристиками (время жизни люминесценции ~1...10 мкс, квантовый выход люминес-

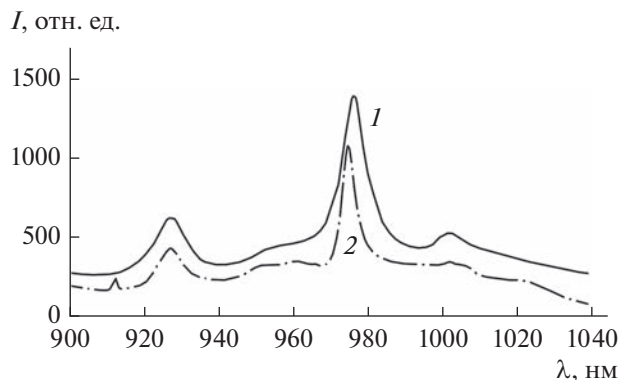


Рис. 2. Спектр люминесценции образцов ИКП: 1 – Yb-комплекс 2,4-ди(альфа-метоксиэтил)дейтеропорфирина IX, 2 – Yb-комплекс диметилового эфира протопорфирина IX; ИКП в 40%-ном растворе ДМСО, концентрация комплексов 10^{-6} М.

ценции вплоть до 1%, коэффициент экстинкции составил $\sim 1.96 \times 10^5 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ на длине волны 398 нм).

Необходимым требованием, предъявляемым к субстанциям для данной методики ЛД, помимо повышенных фотофизических свойств, является также наличие туморотропных свойств, т.е. селективности накопления вещества в опухолевых тканях. С этой целью были проведены исследования по изучению механизмов накопления ИКП в опухолевых тканях. Важным моментом при этом является изучение биораспределения и фармакокинетики в режимах *ex vivo* и *in vivo*.

На рис. 3 представлено распределение интенсивности люминесценции от различных органов и тканей мышей в зависимости от времени накопления данной субстанции в биотканях. В первые часы после введения субстанции происходит ее локализация в основном в паренхиматозных органах, прежде всего в селезенке, что полностью согласуется с данными по острой токсичности, когда селезенка является главной мишенью для данного вещества. Но в течение суток ИКП уже значительно “вымывается” из этих органов и постепенно оседает в опухолевой ткани.

Максимальное накопление препарата в опухоли наблюдается через 45...48 ч (характерное время накопления в опухоли для производных гематопорфирина). Максимальный люминесцентный диагностический контрастный индекс (ЛДКИ) опухоль/мышца (отношение интенсивности люминесценции опухоли к интенсивности люминесценции в сравняемом органе или ткани), равный 14.0, наблюдался через 48 ч после инъекции. Контраст опухоль/печень и опухоль/селезенка для 48 ч наивысший – 5.8 и 8.4 соответственно. Самый же оптимальный для практических диагностических целей временной интервал при использова-

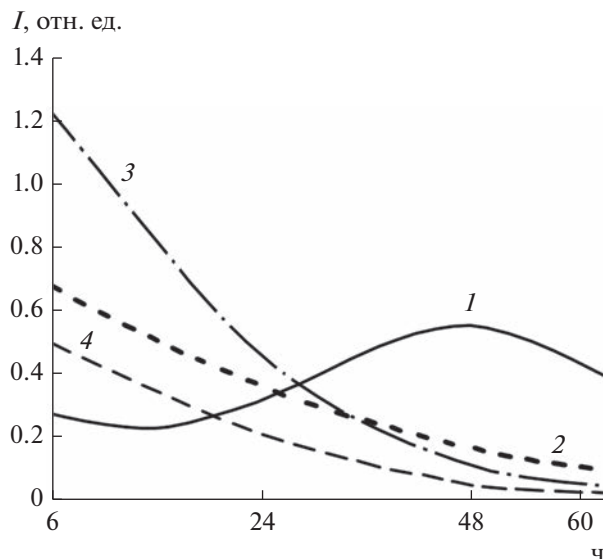


Рис. 3. Фармакокинетика Yb-ДМДП в органах и тканях мышей (внутривенное введение в дозе 10 мг/кг веса): 1 – опухоль, 2 – почки, 3 – селезенка, 4 – мышца.

нии данного препарата, на наш взгляд, находится в интервале 24...30 ч. На рис. 4 представлена гистограмма распределения интенсивности люминесценции в различных органах и тканях мыши через 24 ч после внутривенного введения препарата. Из графика следует, что ЛДКИ для данного временного интервала (ЛДКИ опухоль/мышца ~ 12.0) почти не уступает ЛДКИ для 48-часового накопления.

Следует отметить, что избирательность доставки порфиринов в раковые клетки увеличивается при использовании соединений (т.е. конъюгатов) металлокомплексов порфиринов (МКП) с сывороточными альбуминами [19]. В исследованиях в качестве модельного белка сыворотки крови человека очень часто используется бычий сывороточный альбумин (БСА), поскольку они являются на 76% гомологичными [20].

Основной функцией альбумина в организме является транспортная функция: он переносит гормоны, жирные кислоты, лекарства, а также обладает высокой способностью к связыванию с металлами.

Сайт (или центр) связывания молекулы – это особый участок в молекуле, ответственный за присоединение к ней лиганда. Число сайтов связывания n – это число ионов металла, которое связывается с макромолекулой белка.

Вторыми после альбумина эндогенными носителями в плазме крови являются липопротеины, которые, как известно [19], служат транспортерами для относительно гидрофобных лекарственных форм. Липопротеины очень привлекательны для транспортной доставки лекарств к опухолевым

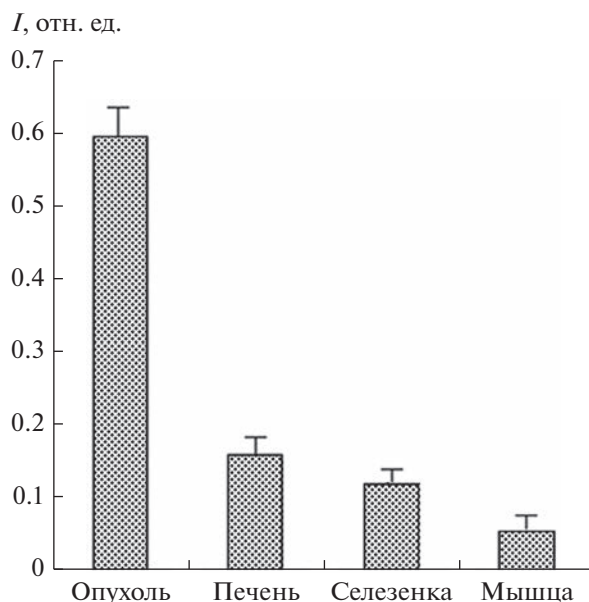


Рис. 4. Гистограмма распределения интенсивности люминесценции в различных органах и тканях мыши (с опухолью карцинома Эрлиха) через 24 ч после внутривенного введения препарата (при дозе Yb-ДМДП 10 мг/кг).

клеткам, имеющим большое количество липопротеиновых рецепторов. Это приводит к большей селективности накопления липопротеинов в опухоли по сравнению с нормальными тканями. Отчасти этим объясняется, почему амфифильные МКП имеют существенно более высокую селективность накопления в опухолях. В то же время известно, что селективность накопления в опухоли в значительной степени зависит от размеров субстанций.

Селективность накопления ИКП и их комплексов с эндогенными переносчиками может быть связана с их размерами, *a priori* лежащими в нанометровом диапазоне. Среди методов измерения размеров наночастиц в жидких средах оптимальным является метод динамического рассеяния света, реализуемый в лазерных корреляционных спектрометрах (ЛКС) [21]. Его достоинства: возможность работы в жидкой среде в условиях, близких к нативным; возможность оперативного получения распределения наночастиц по размерам в диапазоне 1...10 000 нм; отсутствие воздействия на объект исследования; простота пробоподготовки.

Измерения, проведенные на лазерном спектрометре динамического рассеяния света КУРС-3, показали, что более 95% от общего количества субстанции Yb-ДМДП при концентрации 10^{-4} М имеют размер около 5 нм, что составляет примерно половину от среднего размера молекулы сывороточного альбумина (9 нм) [22] в организме. Чем меньше размер наночастиц, тем меньше вероятность захвата их ретикуло-эндотелиальной системой организма и тем больше время их циркуляции кровотоком в организме и возможность образо-

вания конъюгатов с молекулами альбумина. Появляющиеся в небольшом количестве через 55 мин после смешения растворов конъюгаты в виде плеча на гистограмме распределения частиц по размерам через сутки выделяются в самостоятельную фракцию со значительной концентрацией частиц со средним размером 20...25 нм.

Таким образом, не удивительно, что максимум накопления субстанции Yb-ДМДП в опухоли, установленный при исследовании фармакокинетики, составляет 45...48 ч после введения, поскольку только через сутки после введения препарата начинает эффективно работать транспортная функция альбумина. Как было показано в [23], суммарное количество специальных центров в молекуле альбумина, способных связывать многие типы лекарств, составляет более 2 единиц. В результате средний размер конъюгата Yb-ДМДП/БСА, измеренный нами ЛКС-методом, с учетом дисперсии составил 20...25 нм. Представленный конъюгат имеет высокую селективность накопления в опухоли, что подтверждается проведенными нами исследованиями фармакокинетики и биораспределения ИКП в биотканях. Результат связан, на наш взгляд, с размерностью конъюгата и Yb-ДМДП (длительное время циркуляции в кровотоке), природной туморотропностью порфиринов, а также амфифильностью Yb-ДМДП.

Есть еще один фактор, увеличивающий туморотропность ИКП к опухолевым клеткам. Как следует из [24], мембранная поверхность опухолевых клеток инициирует необычайно высокий уровень отрицательно заряженных фосфолипидов. В связи с чем положительно заряженные

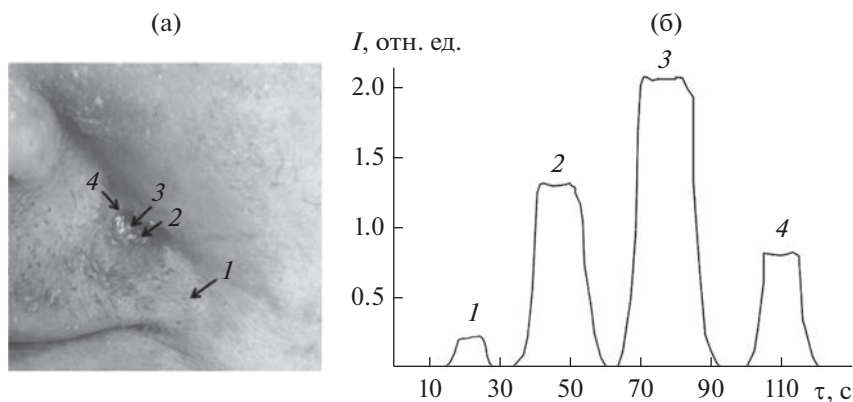


Рис. 5. Временная зависимость интегральной интенсивности люминесценции при базальноклеточном раке кожи (поверхностная форма) от различных участков (б), соответствующие фотографии (а): 1 – неизменная кожа, внешне здоровая, обработанная гелем, 2, 3 – пораженные опухолью области с изъязвлениями, 4 – участок опухолевого роста без изъязвления.

протеины, которые таким образом селективно таргетируют эти анионные мембранные поверхности и отличают их от здоровых клеток, представляют значительный интерес в качестве зондов для обнаружения опухолевых клеток. В [19] было показано, что сывороточные альбумины на своей периферии имеют положительный заряд, что приводит к существенному увеличению туморотропных свойств ИКП в конъюгате с сывороточными альбуминами.

4. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИК-ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ

В качестве диагностикума для проведения процедуры ИК-ЛД поражений кожи и слизистых оболочек использовалась ФК на основе дикалиевой соли Yb-ДМДП.

С помощью разработанного устройства нами были изучены ЛДКИ, полученные от различных участков кожи и слизистых оболочек. Установлено, что разработанная конструкция опытного образца ЛВФ БИК-диапазона (900...1100 нм) в сочетании с применением созданной ФК обеспечивает достижение высоких значений ЛДКИ новообразование/норма (5...50 единиц), что позволяет с повышенной точностью определять границы распространенности кожных новообразований.

Была разработана методика ИК-люминесцентной диагностики и проведены предклинические испытания по накоплению иона иттербия в патологически измененных и здоровых тканях при базальноклеточном раке кожи (БКРК) (поверхностная форма) от различных ее участков с помощью опытного образца ЛВФ. В данном случае исследовалась интегральная интенсивность люминесценции (в спектральном диапазоне 900...1100 нм) и, соответственно, накопление ИКП в различных элементах новообразований и областях здоровой

кожи. С помощью ЛВФ можно оценить величину ЛДКИ, который составлял для БКРК от 5.0 до 8.5 единиц.

Данная ФК применялась у 35 дерматологических больных. У большинства пациентов имели место множественные и сочетанные поражения кожи. Гель наносили на здоровую кожу и поверхность новообразований на 40 мин. Затем остатки препарата тщательно удаляли и измеряли уровни интегральной люминесценции. Вследствие того, что Yb-ДМДП практически не обладает световой токсичностью, при нанесении этих гелей на кожу не происходит отрицательного воздействия на живой организм в виде появления побочных реакций.

Временная зависимость интегральной интенсивности люминесценции при базальноклеточном раке кожи (поверхностная форма) от различных ее участков представлена на рис. 5. Исследования по накоплению иона иттербия в патологически измененных и здоровых тканях проводили на макетном ЛВФ. В данном случае исследовалась интегральная интенсивность люминесценции (в спектральном диапазоне 900...1100 нм) и, соответственно, накопление ИКП в различных элементах новообразований и областях здоровой кожи. С помощью графика на рис. 5 можно оценить величину ЛДКИ:

$$\begin{aligned} \text{ЛДКИ} &\sim I_{\text{поз.3}}/I_{\text{поз.1}} = \\ &= 2.0 \text{ отн. ед.}/0.2 \text{ отн. ед.} = 10.0. \end{aligned}$$

Отметим, что уровни люминесценции между здоровой кожей и опухолевыми очагами существенно различаются. Накопление препарата обусловлено состоянием эпидермиса, зависит от наличия воспалительных процессов, степени пролиферативной активности клеток, их малигнизации и локализации в структурах кожи. В дальнейшем методика может быть применена для дифферен-

циальной диагностики рака кожи, выявления скрытых очагов опухолевого роста и контроля эффективности проводимой терапии.

В Первом МГМУ им. И.М. Сеченова нами были проведены исследования также и по диагностике рака шейки матки (РШМ). По данным Федеральной службы государственной статистики России за 10 лет с 2005 по 2014 гг. заболеваемость раком шейки и тела матки увеличилась на 49.2%.

Эти данные свидетельствуют о высокой актуальности проблемы ранней диагностики РШМ. Под наблюдением находились 40 женщин, которые были разделены на две группы. В первую группу вошли женщины с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени (HSI) Во вторую (контрольную) группу вошли женщины без патологических изменений ШМ. У женщин проводили измерение уровня люминесценции тканей ШМ после их сенсibilизации ИКП [25].

Гель ФК наносили на влагалищную часть ШМ на 40 мин. Перед измерением люминесценции гель смывали струей стерильного физиологического раствора. В процессе изучения селективности накопления наночастиц ионов иттербия дистальный конец волоконно-оптического зонда ЛВФ устанавливали на расстоянии 2...3 мм от поверхности биоткани, включали полупроводниковый лазер, оптическую мощность на дистальном конце зонда доводили до 10 мВт. Задающим генератором обеспечивался импульсный режим работы лазера с длительностью импульса 0.5 мс и частотой посылок 20...50 Гц. Люминесцентный сигнал, характерный для ИКП, выделялся блоком интерференционных фильтров и поступал на фотодиодный блок с предусилителем. После усиления и оцифровки сигнал отображался на ноутбуке в виде временного профиля интенсивности люминесценции от всех органов, включая опухоль.

Во время исследования ШМ разбивали на условные секторы в соответствии с циферблатом часов от 0 до 12. Рабочий манипулятор – световодный зонд ЛВФ – последовательно подносили к каждому сектору, сканируя всю визуальную доступную поверхность ШМ, и отмечали уровень люминесценции. В областях визуальном измененных, подозрительных на наличие патологических изменений тканей измерение интенсивности люминесценции производили прицельно. Измерение интенсивности люминесценции следует производить в определенной последовательности: сначала измерять уровень в области интактных визуальном неизмененных тканей, затем в тканях с минимальными изменениями, затем в тканях с наиболее выраженными изменениями. Такая последовательность измерений связана с автоматически изменяющейся чувствительностью ЛВФ и изменением масштаба строящихся графиков, ха-

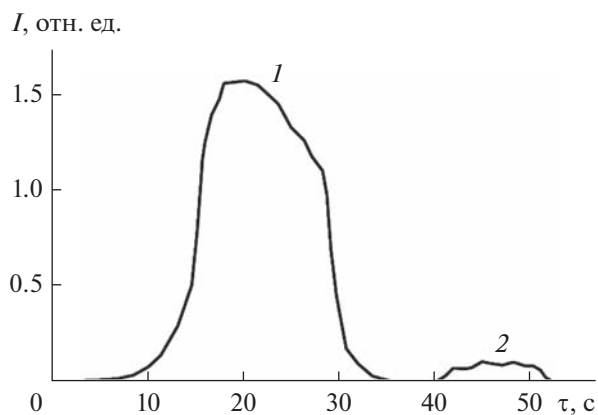


Рис. 6. Интенсивность люминесценции от тканей с РШМ (1) и соседних здоровых тканей (2).

рактеризующих интенсивность люминесценции от конкретного участка биоткани. Выявлены достоверные различия между 1-й и 2-й группами пациентов по уровню люминесценции. Интенсивность люминесценции от тканей ШМ без патологических изменений варьировала вплоть до 0.15 отн. ед.

Интенсивность люминесценции от тканей ШМ с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени (HSIL) увеличилась до 1.75 отн. ед. (рис. 6), т.е. более чем на порядок величины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведены предклинические испытания разработанных методов ИК-люминесцентной диагностики рака в медицинских учреждениях РФ (при базальноклеточном раке кожи и РШМ). Разработанная методика ЛД позволяет выявлять объективные различия между морфологически нормальными и патологически измененными тканями при диагностике заболеваний кожи и слизистых оболочек и рака шейки матки.

2. Методика отличается высокой чувствительностью. Интенсивность люминесценции от тканей с РШМ увеличивается более чем на порядок по сравнению с соседней здоровой тканью.

3. Изучение уровня люминесценции является перспективным направлением для разработки нового метода диагностики патологических состояний в дерматологии и гинекологии. В дальнейшем методика может быть применена для дифференциальной диагностики рака кожи, выявления скрытых очагов опухолевого роста и контроля эффективности проводимой терапии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзадания ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все пациенты приняли участие в исследовании добровольно в соответствии с современными этическими нормами. (Протокол проведения исследования № 4/2020 от 05.02.2020 утвержден на кафедральной конференции кафедры акушерства и гинекологии №1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова).

Работы с лабораторными животными (мыши) проведены в соответствии с соблюдением этических аспектов выполнения экспериментальных исследований (Европейская концепция о защите позвоночных животных, г. Страсбург, от 18.03.1986 г.)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Наркевич Б.Я. // Медицинская физика. 2014. Т. 61. № 1. С. 82.
2. Тучин В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. Саратов: изд. Саратов. ун-та, 1998.
3. Comby S., Bunzli J. Lanthanide near-infrared luminescence in molecular probes and devices. Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths. Amsterdam: Elsevier Science, 2007. P. 217.
4. Bulach V., Sguerra F., Hosseini M.W. // Coord. Chem. Rev. 2012. V. 256. P. 1468.
5. Achilefu S. // Nature Photonics. 2005. V. 1. P. 496.
6. Korovin Yu., Rusakova N. // Rev. Inorg. Chem. 2001. V. 21. № 3–4. P. 299.
7. Миронов А.Ф. // Успехи химии. 2013. Т. 82. № 4. С. 333.
8. Gaiduk M.I., Grigoryants V.V., Mironov A.F. et al. // J. Photochem. Photobiol., B: Biology. 1990. V. 7. № 1. P. 15.
9. Ivanov A.V., Rumyantseva V.D., Shchamkhalov K.S., Shilov I.P. // Laser Phys. 2010. V. 20. P. 2056.
10. Гайнов В.В., Шайдуллин Р.И., Рябушкин О.А. // Квант. электроника. 2011. Т. 41. С. 637.
11. Алексеев Ю.В., Румянцев В.Д., Шилов И.П. и др. // Лазерная медицина. 2017. № 2. С. 14.
12. Zaak D., Karl A., Knüchel R., Stepp H. et al. // BJU Intern. 2005. V. 96. P. 217.
13. Шилов И.П., Кочмарев Л.Ю., Новичихин Е.П. // Мед. техника. 2020. № 6. С. 1.
14. Щелкунова А.Е., Болтухина Е.В., Румянцев В.Д. и др. // Макрогетероциклы. 2019. Т. 12. С. 366.
15. Маркушев В.М., Румянцев В.Д., Шилов И.П., Горшкова А.С. // Журн. радиоэлектроники. 2018. № 8.
16. Иванов А.В., Певгов В.Г. // Интеграл. 2011. № 59. С. 6.
17. Даниелян Г.Л., Румянцев В.Д., Шамхалов К.С. и др. // Журн. нейрокомпьютеры: разработка, применение. 2012. № 4. С. 53.
18. Коровин Ю.В., Русакова Н.В., Попков Ю.А., Доценко В.П. // Журн. прикл. спектроскопии. 2002. Т. 69. С. 732.
19. Mishra P.P., Patel S., Datta A. // J. Phys. Chem. B. 2006. V. 110. P. 21238.
20. Huang B.X., Kim H.-Y. // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2004. V. 15. P. 1237.
21. Dynamic Light Scattering – Applications of Photon Correlation Spectroscopy / Ed. R. Pecora. N.Y.: Plenum Press, 1985. P. 20.
22. Алехин А.П., Болейко Г.М., Гудкова С.А. и др. // Рос. нанотехнологии. 2010. Т. 5. С. 128.
23. Добрецов Г.Е., Сырейщикова Т.И., Грызунов Ю.А. и др. // Биофизика. 2010. Т. 55. С. 213.
24. Smith B.A., Akers W.J., Leevy W.M. et al. // J. ACS. 2010. V. 132. № 1. P. 67.
25. Kovalev M., Kovaleva A., Shilov I. et al. // 2nd Intern. Symp. “Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine”. October 10–14, 2017, Moscow. MEPhI. P. 232.