

На правах рукописи

Корчагина Ксения Сергеевна

**Флуоресцентная диагностика при фотодинамической
терапии базальноклеточного рака кожи**

14.01.13 – лучевая диагностика, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Обнинск – 2020

Работа выполнена в Медицинском радиологическом научном центре имени А.Ф. Цыба – филиале федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Гамаюнов Сергей Викторович, кандидат медицинских наук.

Официальные оппоненты:

Гельфонд Марк Львович – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник научного отделения торакальной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Странадко Евгений Филиппович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр лазерной медицины имени О. К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства» Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится « 24 » ноября 2020 года в 11.00 часов на заседании диссертационного совета Д.208.047.03 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба – филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д.4) и на сайте www.nmicr.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук

Ю.В. Гуменецкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является высокотехнологичным методом лечения онкологических заболеваний, основанным на взаимодействии света с фотосенсибилизатором (ФС), накопившимся в опухолевой ткани после введения в организм пациента, в присутствии кислорода [Т. Dougherty et al., 1988]. Широкое применение ФДТ в клинической практике объясняется, с одной стороны, ростом заболеваемости злокачественных новообразований, а с другой – потребностью применения органосохраняющих методов лечения для сохранения качества жизни пациентов [А.Д. Каприн и др., 2019, F. Bray et al., 2018].

Дальнейшее совершенствование метода требует создания и внедрения новых методов контроля селективности накопления ФС в опухоли и ранних способов оценки эффективности проводимой процедуры [К. Blanco et al., 2015].

Избирательное накопление ФС в опухолевой ткани и способность флуоресцировать при освещении источниками света позволяют реализовать принципы тераностики: уникальное сочетание в одной процедуре лечебных и диагностических опций. Кроме того, по интенсивности флуоресценции могут быть косвенно оценены концентрация ФС и его распределение [В.Б. Лощенов и др., 2013].

Анализ экспериментальных работ и отдельных клинических наблюдений свидетельствует о целесообразности изучения уровня флуоресценции до процедуры и его изменения в процессе воздействия как потенциальных предикторов эффективности ФДТ [М. Scott et al., 2000, I. Voere et al., 2006, С. Sheng et al., 2007, S. Gamayunov, 2016]. Однако, большинство доступных по данным литературы исследований выполнялись с использованием в качестве ФС производных 5-аминолевуленовой кислоты [S. Kanick et al., 2015, К. Blanco et al., 2015, А. Sharwani et al., 2014]. Это является ограничением для внедрения полученных данных в отечественную клиническую практику, учитывая, преимущественное применение в ней производных Хлорина Е6. Также необходимо отметить малое число наблюдений и неоднородный характер

выборки (включение в анализ пациентов с различными новообразованиями, отсутствие стандартизации протоколов ФДТ и ФД) в этих исследованиях, что не позволяет получить объективные и достоверные статистические данные.

Таким образом, оценка взаимосвязи параметров флуоресценции и эффективности ФДТ с препаратами хлоринового ряда является актуальным направлением для разработки подходов к индивидуализации лечения и улучшению его результатов.

Цель работы: изучение взаимосвязи параметров флуоресцентной диагностики (флуоресцентной контрастности и фотовыгорания) с эффективностью фотодинамической терапии при базальноклеточном раке кожи.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи:**

1. Изучить возможности методик поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии определять накопление фотосенсибилизатора (Хлорина Е6) в базальноклеточном раке кожи.
2. Изучить возможности методик поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии регистрировать изменение уровня флуоресценции фотосенсибилизатора (Хлорина Е6) при проведении фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи.
3. Разработать формулы расчета параметров флуоресценции (флуоресцентной контрастности и фотовыгорания).
4. Оценить взаимосвязь параметров флуоресценции (флуоресцентной контрастности и фотовыгорания) с непосредственными и отдаленными результатами фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи.

Научная новизна

1. Разработана методика оценки параметров флуоресценции (флуоресцентная контрастность, фотовыгорание) с помощью поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии при проведении фотодинамической терапии с препаратами Хлорина Е6.

2. Впервые предложены формулы расчета параметров флуоресценции (флуоресцентная контрастность, фотовыгорание) при проведении фотодинамической терапии с препаратами Хлорина Е6.
3. Изучена взаимосвязь параметров флуоресценции (флуоресцентной контрастности, фотовыгорания) с непосредственными результатами (количество полных ответов) фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи с препаратами Хлорина Е6.
4. Впервые проанализирована взаимосвязь параметров флуоресценции (флуоресцентной контрастности, фотовыгорания) с отдаленными результатами (количество рецидивов) фотодинамической терапии у пациентов с базальноклеточным раком кожи с препаратами Хлорина Е6.

Научно-практическая значимость

В результате научного исследования разработаны методики флуоресцентной диагностики с целью мониторинга и планирования фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи с российским фотосенсибилизатором Фотодитазин. Подготовлены методические рекомендации для внедрения данных подходов в широкую клиническую практику. Использование предложенных методик может способствовать персонализации фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи и улучшению непосредственных и отдаленных результатов лечения.

Внедрение

Разработанные методики внедрены в клиническую практику онкологических учреждений, а именно АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии, ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», Научно-практического центра диагностики и лечения опухолей кожи Университетской клиники ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России. Основные выводы и результаты используются при обучении студентов и ординаторов на кафедрах ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Личный вклад соискателя

Приведенные в работе данные получены при личном участии соискателя на всех этапах работы. Соискателем составлен план, поставлены задачи, определены этапы исследования, проведен подбор и анализ литературы. Автором самостоятельно выполнялись процедуры флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. При непосредственном участии автора создана электронная база данных пациентов. Статистическая обработка, сопоставление полученных результатов с данными литературы, оформление, публикации результатов исследования, формулирование выводов и рекомендаций принадлежат автору.

Публикации

По результатам исследований опубликовано 17 научных работ, из них 7 статей (в том числе 1 – в зарубежной печати и 5 – в российских рецензируемых журналах). По теме диссертации получен патент (Способ фотодинамической терапии // патент на изобретение RU 0002552032 С1 2014116318/14 от 22.04.2014. Москва: РОСПАТЕНТ, 2015). Получен грант в конкурсе «У.М.Н.И.К - 2013».

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанные методики поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии позволяют определять накопление фотосенсибилизатора в базальноклеточном раке кожи.
2. Методики поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии позволяют оценивать изменения уровня флуоресценции фотосенсибилизатора при проведении фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи.
3. Флуоресцентная контрастность и фотовыгорание могут быть рассчитаны с помощью предложенных формул.
4. Параметры флуоресценции (флуоресцентная контрастность, фотовыгорание) коррелируют с непосредственными и отдаленными результатами фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи.

5. Оценка и расчет флуоресцентной контрастности и фотовыгорания по предложенным методикам могут быть использованы в реальной клинической практике и для планирования дальнейших исследований по изучению влияния этих параметров на эффективность фотодинамической терапии.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на II Всероссийской конференции с международным участием Актуальные вопросы фотодинамической терапии и фотодиагностики (Москва, 2013), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Противоопухолевая терапия: от эксперимента к клинике» (Москва, 2014), III Всероссийской конференции «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (Новосибирск, 2014), International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT) (Кассис, Франция, 2014), International Congress on Advanced Materials Sciences and Engineering (Osaka, Japan, 2019), International conference Topical Problems of Biophotonics (Nizhny Novgorod – Uglich, 2019). Апробация диссертации состоялась 5 марта 2020 года на научной конференции клинического радиологического сектора МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России) (протокол № 48).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 4 глав, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 137 страницах машинописного текста, содержит 1 таблицу, 37 рисунков. Список литературы включает 32 отечественных и 133 зарубежных источника.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Набор клинического материала с формированием базы данных пациентов был проведен на базе отделения фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер» с декабря 2013 г. по март 2017 г.

Общая база данных состояла из 891 наблюдения ФДТ по поводу опухолей кожи. На основании определенных критериев включения и исключения в исследование были отобраны 374 пациента, которым проводилась флуоресцентная диагностика (ФД) методом поверхностной флуоресцентной визуализации и 126 пациентам из них – методом лазерной электронной спектроскопии.

Критерии включения данных пациентов в исследования: морфологическое (гистологическое) подтверждение базальноклеточного рака кожи, первичная опухоль, толщина опухоли до 10 мм включительно, диаметр опухоли до 50 мм включительно, проведение ФДТ по стандартизированной методике, выполненная процедура ФД по разработанной стандартизированной методике, возраст пациента старше 18 лет.

Критерии исключения: толщина опухоли более 10 мм, диаметр опухоли более 50 мм, наличие регионарных и/или отдаленных метастазов, наличие синхронной злокачественной опухоли, наличие рецидива опухоли после проведенного ранее лечения, наличие декомпенсированной сопутствующей патологии (ECOG \geq 3), отзыв согласия на участие в исследовании на любом этапе лечения и наблюдения.

ФД с помощью методик поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии с оценкой уровня контрастности флуоресценции в опухоли и окружающей здоровой коже проводилась через 2 часа после в/в введения Фотодитазина (доза 1 мг/кг) и непосредственно после процедуры ФДТ. Параметры фотодинамического воздействия были строго стандартизированы для всех пациентов. Значения плотности мощности составили 0,30 Вт/см² (0,28-0,32 Вт/см²), плотности дозы – 200 Дж/см².

Дизайн исследования приведен на рисунке 1.

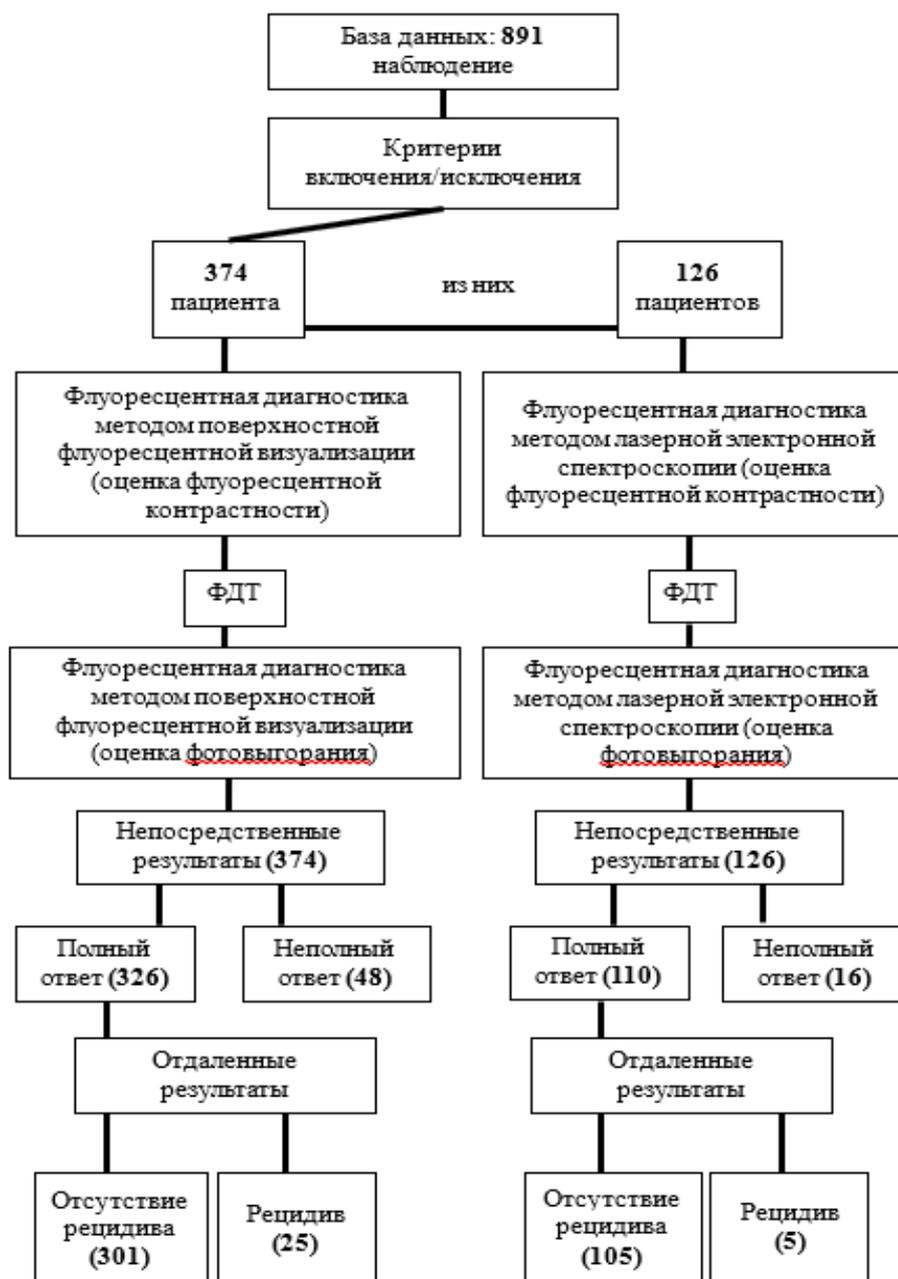


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Методика поверхностной флуоресцентной визуализации

Регистрация поверхностной флуоресценции осуществлялась методом поверхностного флуоресцентной визуализации с использованием флуоресцентной визуализирующей системы (ФВС) «Флуовизор» (регистрационное удостоверение № РЗН 2015/2870, ООО «Аткус», Санкт-Петербург, Россия). Основы получения флуоресцентного изображения показаны на рисунке 2а. При воздействии лазерного света ($\lambda = 662$ нм) на изучаемую

поверхность ткани, часть его отражается с сохранением длины волны, а остальная проникает вглубь тканей, где участвует в активации накопленного ФС. Активированный ФС в триплетном состоянии может переносить энергию на окружающие структуры или переходить на более низкие энергетические уровни с испусканием квантов флуоресценции. Длина волны флуоресценции при этом оказывается смещена в длинноволновый диапазон (сдвиг Стокса) до 720 нм. Установленная в принимающем блоке система фильтров задерживает отраженный свет и пропускает образованную в ходе фотохимических реакций флуоресценцию в длинноволновом диапазоне. Сигнал поступает на детектор и преобразуется в изображение на мониторе ПК.

Технические параметры ФВС «Флуовизор»

В медицинском приборе «Флуовизор» (регистрационное удостоверение № РЗН 2015/2870) лазерный свет для возбуждения Фотодитазина генерируется светодиодным источником излучения, формирующим равномерное поле засветки, диаметром 15 см с длиной волны 660 нм (ширина спектра излучения ± 20 нм., совпадает с максимум поглощения «Фотодитазина» на 662 нм) с плотностью мощности на поверхности объекта 0.1 мВт/см². Фильтр SL 755/90 (Фотооптические фильтры, Обнинск, Россия) позволяет блокировать отраженный свет от источника и детектировать флуоресцентный сигнал «Фотодитазина» в полосе 710-800 нм, т.е. на «хвосте» спектра эмиссии, имеющего плато. Флуоресценция регистрируется цифровой CCD камерой, основанной на матрице Sony ICX-429AL (Sony ICX-429AL; Sony, Токуо, Япония) с разрядностью 8 бит, число активных пикселей 752 x 582. Фокусное расстояние до объекта – 50 см. Общий вид установки изображен на рисунке 3а.

Методика лазерной электронной спектроскопии

ФД методом лазерной электронной спектроскопии проводилась с использованием прибора ЛЭСА-01-Биоспек (регистрационное удостоверение № 29/05020400/0617-00, ООО «Биоспек», ИОФ РАН, Москва, Россия).

Принцип работы лазерного электронного спектрального анализатора (ЛЭСА) показан на рисунке 2б. По фиброволокну гибкого многоканального Y-

образного катетера лазерный свет от источника излучения (гелий-неонового лазера) подается к биоткани (опухоли или нормальным тканям). Отраженный лазерный свет, аутофлуоресценция эндогенных флуорофоров и флуоресценция ФС поступают в 6 принимающих волокон Y-образного катетера и передаются на высокочувствительный спектрометр. Далее информация обрабатывается программным обеспечением Unomomento на ПК и выводится на экран монитора в виде спектра. Программное обеспечение позволяет проводить математическую обработку спектров и на основании интенсивности флуоресценции оценивать концентрацию ФС в конкретной точке исследования.

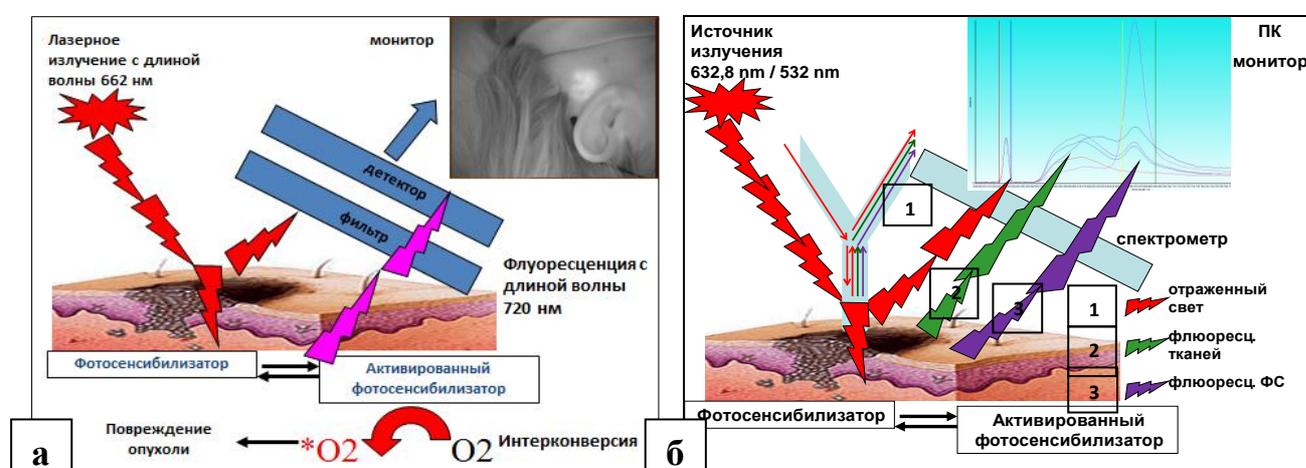


Рисунок 2 – Принцип получения флуоресцентных изображений (описание в тексте)

а – методом поверхностной флуоресцентной визуализации; б – методом лазерной электронной спектроскопии.

Технические параметры лазерного электронного спектрального анализатора ЛЭСА-01-Биоспек

Лазерное излучение для возбуждения ФС генерировалось высокоточным гелий-неоновым лазером с длиной волны 532 нм и мощностью до 8 мВт. Подача и детекция излучения осуществлялась по многоволоконному гибкому Y-образному катетеру диаметром 1,8 мм и длиной не менее 1,8 м (тип Y-образный DC-R-1-6). Время измерения составляет от 0,1с, возможный диапазон измерений расположен в интервале 450-1100 нм. Минимально возможная для определения концентрация ФС 0,05 мг/кг. Общий вид установки изображен на рисунке 3б.

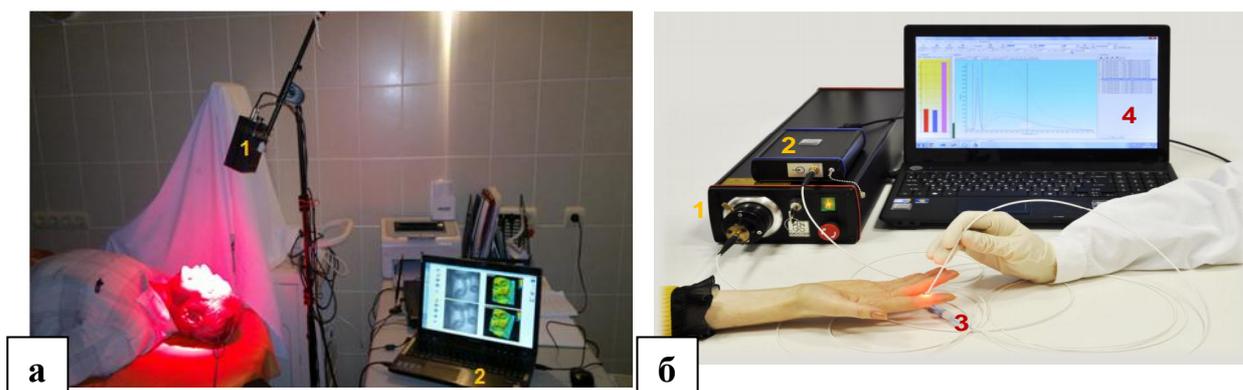


Рисунок 3 – Общий вид установок для проведения ФД

а – флуоресцентная визуализирующая система «Флуовизор»: 1 – головка камеры с источником диагностического излучения, фильтром и CCD камерой. 2 – ПК с программным обеспечением и монитором; б – лазерный электронно-спектральный анализатор ЛЭСА-01-Биоспек: 1 – гелий-неоновый лазер (источник излучения); 2 – спектрометр; 3 – Y-образный катетер, соединенный с источником излучения и спектрометром; ПК с программным обеспечением и монитором для вывода на экран спектральных изображений.

Для последующего анализа результатов нами были разработаны формулы для расчета параметров флуоресценции.

Флуоресцентную контрастность (FC) рассчитывали по формуле:

$$FC = I_t(0)/I_N(0), \quad (1)$$

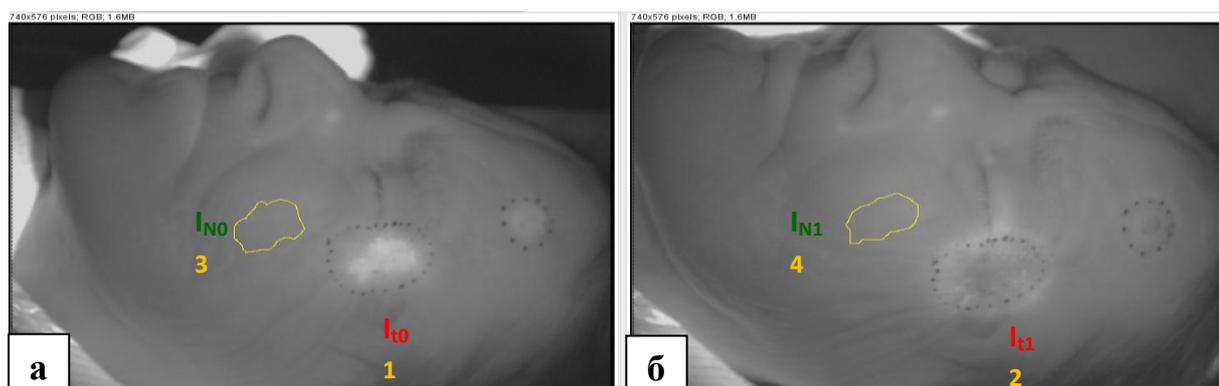
где $I_t(0)$ – интенсивность флуоресценции в опухоли, $I_N(0)$ – интенсивность флуоресценции в нормальной коже.

Фотовыгорание (dFC) определяли как изменение FC после ФДТ, выраженное в процентах по отношению к исходной, и рассчитывали по формуле:

$$dFC = (1 - [I_t(1)/I_N(1)]/[I_t(0)/I_N(0)]) * 100\% \text{ или } (1 - FC(1)/FC(0)) * 100\%, \quad (2)$$

где $I_t(0)$ – интенсивность флуоресценции в опухоли, $I_N(0)$ – интенсивность флуоресценции в нормальной коже, $I_t(1)$ – интенсивность флуоресценции в опухоли после ФДТ, $I_N(1)$ – интенсивность флуоресценции в нормальной коже после ФДТ, $FC(0)$ – флуоресцентная контрастность до ФДТ, $FC(1)$ – флуоресцентная контрастность после ФДТ.

Примеры получаемых данных измерения флуоресценции для обеих методик с рассчитанными параметрами FC и dFC приведены на рисунках 4,5.



B	Field	Area	Min	Max	Mean	
Tumor, I_t(0)		4731	136	195	169,28	FC 1.36
Normal, I_N(0)		4731	115	131	124,76	
Tumor, I_t(1)		4464	115	156	134,59	dFC 24.7%
Normal, I_N(1)		4464	119	145	131,39	

Рисунок 4 – Данные поверхностной флуоресцентной визуализации, полученные с помощью прибора Флуовизор, у пациентки П. 70 лет с базальноклеточным раком кожи левой височной области T1N0M0 I ст.

а – флуоресцентное изображение перед проведением процедуры ФДТ (через 2 часа после введения ФС). Оконтурирована площадь опухоли, на которой измеряется интегральная интенсивность флуоресценции $I_t(0)$, и соответствующая площадь окружающей здоровой кожи для определения интегральной интенсивности флуоресценции в нормальных тканях $I_N(0)$; б – флуоресцентное изображение непосредственно после проведения процедуры ФДТ. Проведено выделение области опухоли, на которой измеряется интегральная интенсивность флуоресценции после ФДТ $I_t(1)$, и соответствующая область окружающей здоровой кожи для определения интегральной интенсивности флуоресценции в нормальных тканях $I_N(1)$; в – таблица данных с рассчитанными значениями FC и dFC.

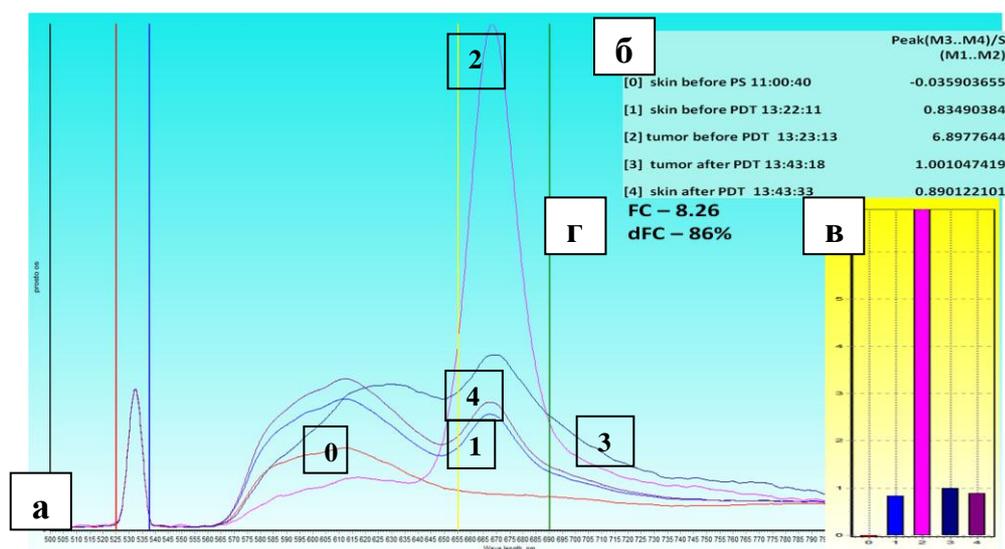


Рисунок 5 – Данные лазерной электронной спектроскопии, полученные с помощью прибора ЛЭСА-01-Биоспек, у пациента П. 64 лет с базальноклеточным раком кожи правой щеки T1N0M0 I ст.

а – спектры флуоресценции: 0 – нормальная кожа до введения ФС; 1 – нормальная кожа через 2 часа после введения ФС; 2 – опухоль через 2 часа после введения ФС; 3 – опухоль после ФДТ; 4 – нормальная кожа после ФДТ; б – значение интенсивности флуоресценции в условных единицах, нормированное на обратное рассеяние источника; в – графическое изображение интенсивности флуоресценции; г – рассчитанные значения FC и dFC.

Непосредственный ответ на ФДТ оценивался через 2 месяца после лечения. Отсутствие опухоли расценивалось как полный ответ. Неполный ответ и прогрессирование рассматривались как неудовлетворительный результат.

При анализе отдаленных результатов оценивалось наличие рецидива в зоне лазерного воздействия, выявленного клинически, в том числе с использованием дерматоскопии, и подтвержденного гистологически. Период наблюдения за отобранной группой пациентов составил от 1,5 до 6,8 лет, с медианой наблюдения равной 3,9 года.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показатели FC, оцененные у 374 пациентов с помощью ФВС, располагались в интервале значений от 0,7 (min) до 4,6 (max); Me(25%;75%) = 1.13 (1.03; 1.33) (рисунок ба).

С помощью математического алгоритма, основанного на последовательном анализе дискретных значений, было определено пороговое значение FC, которое составило 1,1. Для проведения последующего анализа все пациенты в зависимости от значения порогового уровня были разделены на 2 группы: низкая FC (low-FC) при $FC \leq 1,1$ и высокая FC (high-FC) при $FC > 1,1$. При подгрупповом анализе уровня флуоресценции low-FC диагностирована у 42,5% (159/374), а high-FC – у 57,5% (215/374) пациентов.

Показатели FC, оцененные у 126 пациентов с помощью ЛЭСА располагались от 0,73 (min) до 168,3 (max) ; $Me(25\%;75\%) = 3,99$ (1,88; 7,6) (рисунок 6б). Пороговое значение для FC составило 3,6, в зависимости от которого все пациенты были разделены на группы низкой FC (low-FC, $FC \leq 3,6$) и высокой FC (high-FC, $FC > 3,6$). В соответствии с определенными параметрами low-FC диагностирована у 48,4% (61/126) пациентов, а high-FC – у 51,6% (65/126) пациентов.

При определении dFC у 374 пациентов методом флуоресцентной поверхностной визуализации данные распределились следующим образом: минимальный уровень dFC – минус 81,55 (фоторазгорание); максимальный dFC – 87,69; $Me(25\%;75\%) = 19,7$ (8,43; 32,54) (рисунок 7а). В качестве порогового значения для dFC выбрана точка равная 16,7%, с последующим выделением групп низкого dFC (low-dFC, $FC \leq 16,7\%$) и высокого dFC (high-dFC, $dFC > 16,7\%$). В группу low-dFC вошло 45,7% (171/374), а в high-dFC – у 54,3% (203/374) пациентов.

Значения dFC, полученные у 126 пациентов с использованием лазерной электронной спектроскопии, располагались в следующем интервале: минимальный уровень dFC – минус 796,9% (фоторазгорание); максимальный dFC – 99,42%; $Me(25\%;75\%) = 77,15$ (46,62; 88,35) (рисунок 7б). Было определено пороговое значение уровня dFC равное 66,8%. В соответствии с этим пациенты были разделены на группу с низким dFC (low-dFC, $FC \leq 66,8\%$) и высоким dFC (high-dFC, $dFC > 66,8\%$). В зависимости от порогового значения, low-dFC было определено у 36,5% (46/126) пациентов, high-dFC – у 63,5 (80/126) пациентов.

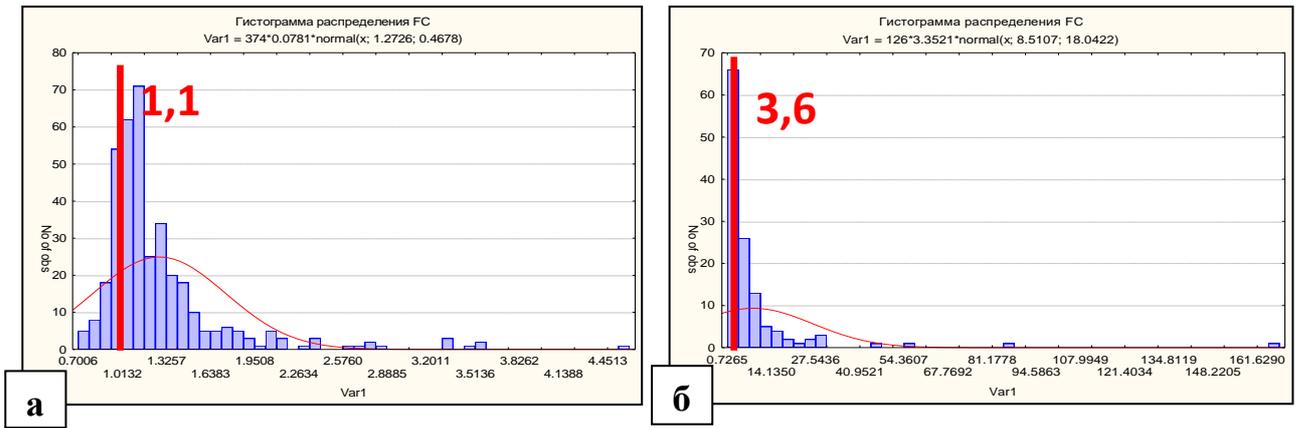


Рисунок 6 – Гистограмма распределения FC

а – при измерении ФВС, n=374; б – при измерении ЛЭСА, n=126

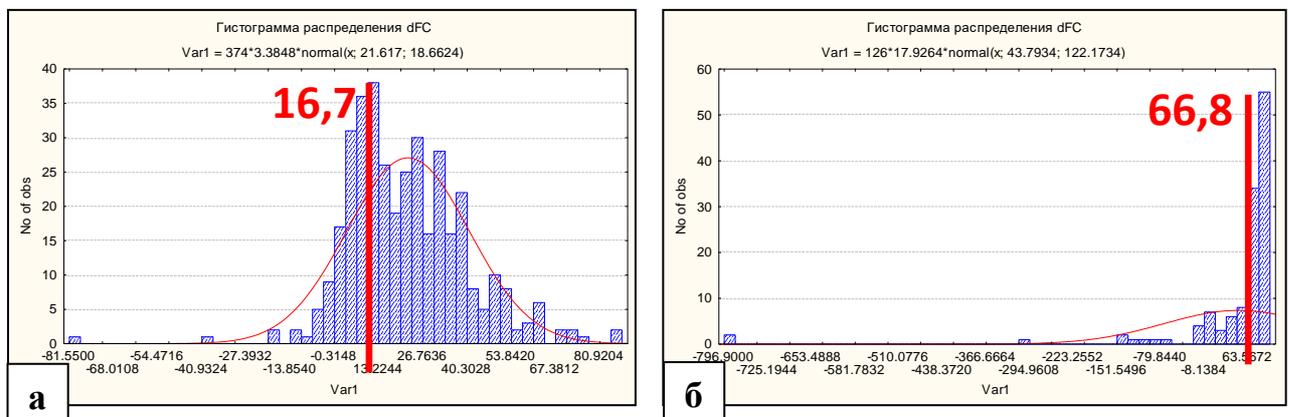


Рисунок 7 – Гистограмма распределения dFC

а – при измерении ФВС, n=374; б – при измерении ЛЭСА, n=126.

Таким образом, было показано, что методики поверхностной флуоресцентной визуализации и лазерной электронной спектроскопии позволяют определить разницу в уровне флуоресцентного сигнала в опухоли и в здоровой ткани (FC) и изменение флуоресцентного сигнала в процессе ФДТ (dFC).

Несмотря на однородную группу исследуемых опухолей (гистологический тип, размер) и стандартизированные параметры проведения ФД и ФДТ, измеренные значения параметров флуоресценции существенно отличались среди пациентов. Это подтверждает наличие выраженных индивидуальных особенностей опухолей у разных пациентов, различий в микроциркуляции, фармакокинетики и фармакодинамики ФС. Все это может оказать существенное влияние на эффективность ФДТ и должно учитываться при планировании параметров воздействия и для мониторинга процедуры.

При анализе полученных данных была продемонстрирована взаимосвязь FC и dFC, измеренных методом поверхностной флуоресцентной визуализации, с эффективностью ФДТ. Выявлено статистически значимое увеличение количества полных ответов опухоли на процедуру ФДТ при FC, выше порогового значения (91,2 % против 81,8%, $\chi^2 = 7,222$; $p=0.008$) (рисунок 8а). Та же закономерность отмечена и для параметра dFC: количество полных ответов при high-dFC в сравнении с low-dFC составило 91,1% против 82,5% соответственно ($\chi^2 = 6,246$; $p=0.013$) (рисунок 8б).



Рисунок 8 – Анализ ответа опухоли на ФДТ через 2 месяца после проведения процедуры в зависимости от FC (а) и dFC (б) при измерении ФВС, n=374

При анализе отдаленных результатов отмечено статистически значимое снижение количества рецидивов в группе high-FC в сравнении с low-FC (4,5% против 10,5%, $\chi^2 = 4,148$; $p=0,042$) (рисунок 9а). При этом статистически значимая корреляция эффективности с dFC не была достигнута. Так, количество рецидивов в группе high-dFC составило 5,4%, а в группе low-dFC 10,7% случаев ($\chi^2 = 3,214$; $p=0,073$) (рисунок 9б).



Рисунок 9 – Анализ рецидивов в зависимости от FC (а) и dFC (б) при измерении ФВС, n=326, медиана наблюдения 3,9 года

Зависимость непосредственных результатов ФДТ от FC и dFC, определенных методом лазерной электронной спектроскопии, оказалась на

уровне тенденций и не достигла статистически значимых различий. Так количество полных ответов в подгруппах high FC и low FC составило 90,8% против 83,6% соответственно ($\chi^2 = 1,456$; $p = 0,228$); полный ответ при high-dFC отмечен у 90%, а при low-dFC – у 82,6% пациентов ($\chi^2 = 1,439$; $p = 0,231$).

При анализе полученных данных взаимосвязь между параметрами флуоресценции, оцененными методом лазерной электронной спектроскопии, и эффективностью лечения в отдаленные сроки также не обнаружена. Процент рецидивов в группах high-FC и low-FC составил 3,4% и 5,9% (точный критерий Фишера $p = 0,661$), а в группах high-dFC и low-dFC 4,2% и 5,3% соответственно (точный критерий Фишера $p = 1,00$). Отсутствие значимых различий может быть обусловлено малым количеством событий, вследствие высокой эффективности использованной методики ФДТ, клинически обоснованным отбором пациентов на проведение данной процедуры (в общей подгруппе отмечено всего 5 рецидивов на 126 наблюдений) и большой гетерогенностью полученных результатов.

Полученные данные свидетельствуют о наличии предиктивной роли FC в отношении непосредственных результатов лечения. В подгруппе пациентов с low-FC целесообразно применять модифицированные методики ФДТ. Среди таких подходов может рассматриваться коррекция параметров лазерного воздействия (плотности дозы и плотности мощности), двухфазное введение FC, сочетание в/в и аппликационной форм, комбинация ФДТ с другими методиками (гипертермия).

Полученные результаты продемонстрировали корреляцию уровня dFC с непосредственными результатами ФДТ. Учитывая зависимость этого параметра от плотности дозы лазерного воздействия, для повышения эффективности ФДТ в подгруппе low-dFC целесообразна модификация процедуры путем увеличения времени терапевтического воздействия до достижения dFC выше порогового значения. Однако данные подходы требуют проведения дополнительных клинических исследований.

Обнаружена взаимосвязь между FC и количеством рецидивов после проведения ФДТ. Высокий риск рецидива заболевания в группах с низкой FC определяет необходимость более интенсивного динамического контроля у этой

категории пациентов. Также в этой группе могут использоваться модифицированные методики ФДТ.

Полученные данные продемонстрировали потенциальную значимость уровня dFC как предиктора эффективности ФДТ. В отдаленные сроки наблюдения количество рецидивов в подгруппе high-dFC было ниже. Зависимость уровня и динамики dFC от параметров лазерного излучения, делает данный параметр крайне перспективным в отношении планирования ФДТ и разработки индивидуализированных методик воздействия. Однако данное предположение требует проведения дополнительных исследований.

Настоящее исследование показывает целесообразность использования поверхностной флуоресцентной визуализации в клинической практике для прогнозирования результатов лечения базальноклеточного рака кожи методом ФДТ. Использование данных, полученных при ФД, можно рассматривать как первый, но важный шаг к индивидуализации методики ФДТ.

ВЫВОДЫ

1. Разработанные методики ФД позволяют измерять уровень флуоресценции в опухоли и здоровых тканях у пациентов с базальноклеточным раком кожи в рамках реальной клинической практики с расчетом FC в диапазоне от 0,7 (min) до 4,6 (max); Me(25%;75%) = 1,13 (1,03; 1,33) для поверхностной флуоресцентной визуализации и от 0,73 (min) до 168,3 (max); Me(25%;75%) = 3,99 (1,88; 7,6) для лазерной электронной спектроскопии.

2. Разработанные методики ФД позволяют определять изменение уровня флуоресценции в опухоли в процессе ФДТ у пациентов с базальноклеточным раком кожи в рамках реальной клинической практики. Интервал значений dFC составил от минус 81,55% до 87,69%; Me(25%;75%) = 19,7 (8,43; 32,54) для поверхностной флуоресцентной визуализации и от минус 796,9% до 99,42%; Me(25%;75%) = 77,15 (46,62; 88,35) для лазерной электронной спектроскопии.

3. Разработанные формулы для расчета FC и dFC позволяют оценивать взаимосвязь этих параметров флуоресценции с результатами процедуры ФДТ.

4. При FC и dFC, определенных методом поверхностной флуоресцентной визуализации, выше пороговых значений показано статистически значимое увеличение количества полных ответов (FC: 91,2 % против 81,8% ($\chi^2 = 7,222$; $p=0.008$) и dFC: 91,1% против 82,5% ($\chi^2 = 6,246$; $p=0.013$)), что определяет предиктивную значимость параметров флуоресценции для непосредственных результатов ФДТ.

5. При FC, определенной методом поверхностной флуоресцентной визуализации, выше пороговых значений показано статистически значимое снижение количества рецидивов (FC: 4,5% против 10,5%, $\chi^2 = 4,148$; $p=0,042$), что определяет предиктивную значимость параметров флуоресценции для отдаленных результатов ФДТ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовано выполнять ФД у пациентов с базальноклеточным раком кожи в ходе проведения ФДТ для оптимизации режимов лазерного воздействия, мониторинга эффективности процедуры и определения прогноза результатов лечения.

2. Рекомендовано соблюдать разработанные методики ФД и использовать разработанные формулы расчета параметров флуоресценции (FC и dFC) для унификации интерпретации данных.

3. В зависимости от показателя FC целесообразно осуществлять отбор пациентов:

– с повышенным риском «неудачи» непосредственных результатов ФДТ с целью коррекции режимов лазерного воздействия или рассмотрения других терапевтических опций;

– с повышенным риском рецидива для последующего интенсифицированного динамического наблюдения;

– с низким «терапевтическим окном» селективного повреждения опухолевых тканей (при низкой FC), для которых оправданным является разработка и применение дополнительных методик протекции окружающих здоровых тканей (экранирование, криопротекция и т.д.) или иных подходов,

обеспечивающих высокую селективность лазерного воздействия (дополнительное местное введение ФС, двухфазное введение ФС, сочетание ФДТ с лазерной гипертермией или фотохимиотерапией).

4. Параметр dFC может быть использован для отбора пациентов:
 - с повышенным риском «неудачи» непосредственных результатов ФДТ с целью модификации параметров воздействия или методики ФДТ;
 - с повышенным риском рецидива для последующего интенсифицированного динамического наблюдения.

СПИСОК НАУЧНЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Корчагина, К.С.** Использование флуоресцентной визуализирующей системы для мониторинга ФДТ / К.С. Корчагина, С.В. Гамаюнов, В.А. Каров, Р.Р. Калугина, Е.В. Гребенкина, Н.М. Шахова // Материалы II Всероссийской конференции с международным участием «Фотодинамическая терапия и Фотодиагностика». – Москва, 2013. – С.53.
2. Гамаюнов, С.В. Фотодинамическая терапия – преимущества новой методики и особенности организации службы / С.В. Гамаюнов, Н.М. Шахова, А.Н. Денисенко, **К.С. Корчагина**, Е.В. Гребенкина, Р.Р. Скребцова, В.А. Каров, В.М. Терехов, И.Г. Терентьев // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2014. – №2. – С. 101-104.
3. **Корчагина, К.С.** Прогностическое значение параметров флуоресценции при фотодинамической терапии / К.С. Корчагина, С.В. Гамаюнов, В.А. Каров, Р.Р. Калугина, Е.В. Гребенкина, Н.М. Шахова, В.М. Терехов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Противоопухолевая терапия: от эксперимента к клинике». – Москва, 2014. – С.101.
4. Шахова, Н.М. Мультиmodalный неинвазивный мониторинг ФДТ / Н.М. Шахова, С.В. Гамаюнов, Е.В. Гребенкина, Р.Р. Скребцова, В.А. Каров, **К.С. Корчагина**, А.Е. Майхир, О.С. Стрельцова, И.В. Турчин, В.М. Терехов // Материалы III Всероссийской конференции с международным участием

«Фотодинамическая терапия и Фотодиагностика». – Новосибирск, 2014. – С.39.

5. Гамаюнов, С.В. Флуоресцентный мониторинг фотодинамической терапии рака кожи в клинической практике / С.В. Гамаюнов, Е.В. Гребенкина, А.А. Ермилина, В.А. Каров, К. König, **К.С. Корчагина**, Р.Р. Скребцова, В.М. Терехов И.Г. Терентьев, И.В. Турчин, Н.М. Шахова // Современные технологии в медицине. – 2015. – Т.7. – №2. – С. 75-83.

6. **Корчагина, К.С.** Изучение возможностей флюоресцентного мониторинга фотодинамической терапии в клинике / К.С. Корчагина, С.В. Гамаюнов, Р.Р. Скребцова, В.А. Каров // Материалы Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева, в рамках II Форума молодых ученых U-NOVUS «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». – Томск, 2015. – С. 24.

7. Гамаюнов, С.В. Подходы к неинвазивному контролю ФДТ в реальном времени / С.В. Гамаюнов, Е.В. Гребенкина, **К.С. Корчагина**, С.С. Кузнецов, Е.В. Губарькова, Р.Р. Скребцова, В.А. Каров, И.Г. Терентьев, И.В. Турчин, М.А. Шахова, Н.М. Шахова // Материалы IV Всероссийской конференции «Фотодинамическая терапия и Фотодиагностика». – Санкт-Петербург, 2015. – С. 27.

8. Гамаюнов, С.В. Фотодинамическая терапия – возможности, преимущества, вопросы организации службы / С.В. Гамаюнов, **К.С. Корчагина** // Здравоохранение Чувашии. – 2016. – №2. – С. 34-37.

9. Гамаюнов, С.В. Возможности оптимизации клинических исходов фотодинамической терапии с использованием оптической визуализации / С.В. Гамаюнов, Р.Р. Скребцова, **К.С. Корчагина**, Д.А. Сапунов, М.А. Шахова, Н.М. Шахова // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т.44. – №2. – С. 148-157.

10. Gamayunov, S. Fluorescence imaging for photodynamic therapy of non-melanoma skin malignancies – A retrospective clinical study / S. Gamayunov, I. Turchin, I. Fiks, M. Kleshnin, N. Shakhova, **К. Korchagina** // Photonics & Lasers in Medicine. – 2016. – Т.5. – №2. – С. 101-111.

11. Shakhova, M. Optical Bioimaging as a Tool for Prognosis of Oncologic and Functional Results of PDT of Non-Melanoma Skin Carcinoma / M. Shakhova, S. Gamajunov, **K. Korchagina**, M. Kirillin, D. Sapunov, I. Turchin, N. Shakhova // Meeting Congress «Cancer Imaging and Therapy». – Florida, 2016. – JM3A.47.
12. Гамаюнов, С.В. Флуоресцентный мониторинг фотодинамической терапии немеланомных опухолей кожи / С.В. Гамаюнов, И.В. Турчин, **К.С. Корчагина**, М.С. Клешнин, Н.М. Шахова // Материалы V Всероссийской конференции «Фотодинамическая терапия и Фотодиагностика». – Москва, 2016. – С. 53-54.
13. Gamayunov, S. Planning and monitoring PDT in clinical practice / S. Gamayunov, S. Ivanov, I. Turchin, E. Zagainova, **K. Korchagina** // International Congress on Advanced Materials Science and Engineering. – Osaka, 2019. – P.338.
14. Gamayunov, S.V. Noninvasive optical imagine for monitoring PDT in clinic / S.V. Gamayunov, **K.S. Korchagina**, S.A. Ivanov, M.A. Sirotkina, E.V. Gubarkova, I.V. Turchin, N.D. Gladkova, E.V. Zagaynova, I.V. Balalaeva, N.Y. Shilyagina, N.M. Shakhova // VII International Symposium «Topical problems of biophotonics». – Nizhny Novgorod, 2019. – P.227-228.
15. **Корчагина, К.С.** Оценка взаимосвязи параметров флуоресценции и эффективности фотодинамической терапии на модели базальноклеточного рака кожи / К.С. Корчагина, С.В. Гамаюнов, В.В. Южаков, Ю.С. Романко, С.А. Иванов, А.Д. Каприн // Материалы VIII Всероссийского конгресса с международным участием «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика». – Москва, 2019. – С. 30.
16. **Корчагина, К.С.** Флуоресцентная визуализация немеланомных злокачественных новообразований кожи - ретроспективное клиническое исследование / К.С. Корчагина, С.В. Гамаюнов, И.В. Турчин, С.А. Иванов // Уральский медицинский журнал. – 2020. – Т.187. – №4. – С. 173-180.
17. **Корчагина, К.С.** Флуоресцентная диагностика в клинической практике / К.С. Корчагина, С.В. Гамаюнов, С.А. Иванов // Современная наука: Актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2020. – №4-2. – С. 75-80.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

в/в – внутривенное

ЛЭСА – лазерный электронный спектральный анализатор

ФВС – флуоресцентная визуализирующая система

ФД – флуоресцентная диагностика

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФС – фотосенсибилизатор

dFC – фотовыгорание

FC – флуоресцентная контрастность

high-FC – высокая флуоресцентная контрастность

high-dFC – высокое фотовыгорание

low-FC – низкая флуоресцентная контрастность

low-dFC – низкое фотовыгорание