

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОТЕХНИКИ И ЭЛЕКТРОНИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 535.36;547.979.733;616-006

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИТТЕРБИЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ В ТЕРАНОСТИКЕ РАКА

© 2024 г. И. П. Шилов^{a, *}, В. Д. Румянцев^{a, b}, А. С. Горшкова^a, А. В. Иванов^{c, *}

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

^bМИРЭА – Российский технологический университет,
пр. Вернадского, 78, Москва, 119454 Российская Федерация

^cНациональный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина,
Каширское шоссе, 23, Москва, 115522 Российская Федерация

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

Поступила в редакцию 28.09.2023 г.

После доработки 14.12.2023 г.

Принята к публикации 25.01.2024 г.

Разработаны основы новых методик тераностики рака на базе наноразмерных Yb-комплексов порфиринов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения синтезированных наночастиц на основе Yb-комплексов порфиринов для разработки чувствительных люминесцентных методов диагностики и тераностики опухолей визуально и эндоскопически доступной локализации. Показано, что лазерный фототермолиз на длине волны 750...800 нм в сочетании с ближней ИК-люминесцентной диагностикой (в спектральном диапазоне 900...1100 нм) является пионерской разработкой в области медицинской биофотоники. Предсказано, что синтезированная структура типа лексанполимерная матрица + Yb-порфириновый комплекс + FeO_x может быть востребована для целей магнитолюминесцентной тераностики новообразований. Установлено, что люминесцентная диагностика опухолей в сочетании с фотодинамической терапией в полосе поглощения порфирина (длина волны 635 нм при оптической экспозиционной дозе ~300 Дж/см²) с использованием фармацевтической композиции типа «Флюорскан» может применяться при злокачественных новообразованиях кожи и слизистых оболочек.

Ключевые слова: тераностика, фотодинамическая терапия, иттербиевые комплексы порфиринов, люминесцентная диагностика, злокачественные новообразования

DOI: 10.31857/S0033849424110041, **EDN:** HOJMUZ

ВВЕДЕНИЕ

Лечение больных со злокачественными опухолями остается актуальной, не решенной до конца проблемой, что диктует необходимость дальнейшего научного поиска более эффективных методов диагностики и терапии данных новообразований. В настоящее время в онкологии возникло новое направление — тераностика, которое предполагает использование медицинских препаратов, совмещающих в себе диагностическую и терапевтическую функции, что обуславливает возможность ее применения для персонализированного лечения пациентов [1, 2].

Тераностика направлена на устранение ряда принципиальных недостатков традиционных методов визуализации и диагностики, назначения плана лечения, его проведения и мониторинга результатов. Следует также отметить, что действие вводимых лекарств не является адресным: они

разносятся кровотоком по всему организму, и поэтому их приходится вводить неоправданно много по сравнению с дозой, действительно необходимой для лечения пораженной ткани/органа. В результате велика вероятность побочных эффектов и сильно завышается стоимость лечения [3].

Наноконструкции для тераностики рака, состоящие из наночастиц и инкапсулированных в них наночастиц, имеют очень большие перспективы в онкологии. Важным для наномедицины и, в частности, для нанотераностики событием стало открытие эффекта «усиленного проникновения и удержания» коллоидных частиц в активно растущих опухолях (enhanced permeation and retention, EPR) [4]. До настоящего времени эффект EPR является основой почти всех методик «пассивной» доставки лекарств. Одним из недостатков эффекта EPR с точки зрения применения в наномедицине является трудность удаления наночастиц, уже

освободивших лекарство, из опухоли, для того чтобы освободить место новым носителям с лекарством [5]. Поиск новых полимерных конъюгатов привел к открытию и последующему активному использованию наноносителей на основе полимерных мицелл [6]. Такие полимерные мицеллы имеют уникальную структуру «ядро—оболочка» [7, 8], в которой внутренняя часть может служить наноконтейнером для лекарственных средств, в том числе гидрофобных. Внешняя оболочка мицеллы образована гидрофильными полимерами, такими, например, как полиэтиленгликоль.

Как было показано в [9], для целей тераностики весьма перспективны иттербиевые комплексы порфиринов (ИКП). Введение иона иттербия в центр порфириновой матрицы приводит к резкому снижению фотохимической активности при сохранении свойственной большинству порфиринов тропности к злокачественным опухолям [10]. Ионы иттербия, введенные в соответствующие производные порфирина, в значительной степени снижают квантовый выход генерации синглетного кислорода, а при возбуждении π -электронной системы порфирина наблюдается люминесценция, обусловленная переходами $4f$ -электронов Yb^{3+} : $4F^{5/2} \rightarrow 2F^{7/2}$ [11].

Иттербиевые комплексы порфиринов характеризуются люминесцентным сигналом повышенной интенсивности в ближнем инфракрасном (БИК) спектральном диапазоне 900...1100 нм, в так называемом «окне прозрачности биотканей». ИКП обладают высоким коэффициентом экстинкции $\sim 10^5 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$, временем жизни люминесценции до 10 мкс и квантовым выходом люминесценции вплоть до 1% [12]. Кроме того, некоторые из них относятся к природным порфиринам и, следовательно, малотоксичны.

Разработанные ИКП могут быть использованы в качестве одного из основных компонентов создаваемых нанокомпозитов для тераностики рака.

Целью данной работы является разработка основ новых методик люминесцентной диагностики (ЛД) и тераностики рака с использованием наноразмерных ИКП, а именно: а) люминесцентная диагностика опухолей в БИК-диапазоне в сочетании с плазмонно-резонансной фототермотерапией; б) люминесцентная диагностика опухолей в спектральном БИК-диапазоне в сочетании с локальной ферромагнитной гипертермией; в) люминесцентная диагностика опухолей в БИК-диапазоне в сочетании с фотодинамической терапией в полосе поглощения порфирина.

1. МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Исследования проводили на 30 мышах-самках (питомника «Столбовая» РАН). В качестве модели солидной злокачественной подкожной опухоли была выбрана трансплантируемая эпидермоидная

карцинома легкого Льюис (LLC), штамм которой был получен из банка опухолевых штаммов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Для микроволновой термографии зоны злокачественного роста использовался специально созданный (по техническому заданию НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина к ООО «Фирма РЭС») многоканальный аппаратно-программный комплекс (МАПК) для неинвазивного выявления температурных аномалий внутренних тканей лабораторных животных на глубине нескольких сантиметров [13]. МАПК производит измерение температуры внутренних тканей путем измерения собственного электромагнитного излучения лабораторных животных в микроволновом диапазоне, рабочий диапазон частот приемного канала от 3150 до 3800 МГц. Мощность излучения, поступающая в антенну, определяется термодинамической температурой, параметрами среды и диаграммой направленности антенны. МАПК оснащен приемными антеннами радиодатчиков, позволяющими использовать его в помещениях без специальной экранировки.

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 [14].

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

Синтез иттербиевых комплексов диметилового эфира протопорфирина IX (Yb-ПП) и тетраметилового эфира гематопорфирина IX (Yb-ТМЭ ГП) в виде ацетилацетонатных комплексов проводили в соответствии с методом, описанным в [15].

Иттербиевый комплекс дикалиевой соли 2,4-диметоксигематопорфирина IX для тераностики (Yb-ДМГП), использующей плазмонно-резонансную фототермотерапию, был синтезирован в соответствии с методикой, предложенной в [16]. Исследование биораспределения и фармакокинетики нанокомпозита в органах и тканях животных проводили на макетном лазерно-волоконном флуориметре (ЛВФ).

Лазерно-волоконный флуориметр разработан в ФИРЭ им. В. А. Котельникова РАН [17] и состоит из полупроводникового лазера на длине волны 405 нм (область регистрируемой люминесценции 900...1100 нм); блока модуляции и оцифровки, включающего аналогово-цифровой преобразователь; ноутбука; блока регистрации и обработки сигнала люминесценции, включающего систему интерференционных фильтров, фотодиодный модуль с предусилителем, систему линз; многожильного высокоапертурного волоконно-оптического зонда.

2. ТЕРАНОСТИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ В СОЧЕТАНИИ С ПЛАЗМОННО-РЕЗОНАНСНОЙ ФОТОТЕРАПЕИЕЙ

Иттербиевый комплекс дикалиевой соли 2,4-диметоксигематопорфирина IX впервые был использован для функционализации композитных наночастиц (КНЧ) с целью привнесения в них новых свойств и функций. КНЧ были разработаны группой исследователей под руководством профессора Н. Г. Хлебцова (ФГБУ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, г. Саратов) и состояли из золото-серебряных наноклеток, покрытых мезопористой оболочкой из двуокиси кремния [18]. Такие наноструктуры с введенными в них ИКП обладают рядом важных свойств, включая легко настраиваемый плазмонный резонанс наноклеток (650...950 нм) и удобство функционализации пористой оболочки двуокиси кремния.

Общую схему синтеза композитных наночастиц осуществляли в три этапа (рис. 1). На первом этапе синтезируются серебряные нанокубики размером 30...60 нм, которые используются далее как шаблоны для получения золото-серебряных наноклеток. На втором этапе на Au-Ag-наноклетках формируется пористая нано-оболочка из двуокиси кремния контролируемой толщины (около 40 нм). На третьем этапе полученные частицы функционализируются молекулами ИКП и стабилизируются гуммиарабиком [18].

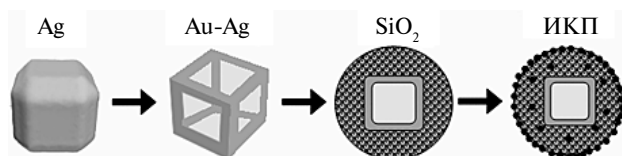


Рис. 1. Схема синтеза композитных мультифункциональных наночастиц на основе золото-серебряных наноклеток, покрытых двуокисью кремния и функционализированных ИКП.

Представленная методика тераностики может быть охарактеризована как БИК-люминесцентная диагностика в сочетании с плазмонно-резонансной фототермотерапией. Наличие ИК-люминесценции в спектральной области 900...1060 нм (рис. 2), соответствующей окну прозрачности биотканей, позволяет оценивать люминесценцию образцов тканей с повышенной чувствительностью.

Данные нанокompозиты позволяют после проведения процедуры ЛД новообразований осуществлять сразу и плазмонно-резонансную фототермотерапию, которая является одной из относительно

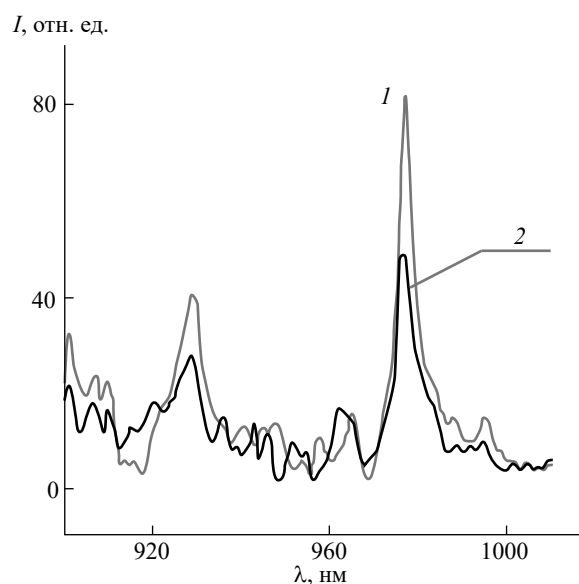


Рис. 2. Спектры ИК-люминесценции нанокompозита (1) и свободного водного раствора ИКП (2).

новых и многообещающих методик лечения опухолей. Она базируется на лазерном нагреве металлических наночастиц, главным образом золотых и диэлектрик-золотых, серебряно-золотых нанокompозитов в области их плазмонного резонанса. Локальный нагрев коллоидных золотых наночастиц диаметром ~20 нм вблизи поверхности злокачественных опухолевых клеток вызывает гибель последних при облучении импульсным зеленым лазером (~20 нс) с высокой пиковой мощностью. Как было показано в [18], в дополнение к длинноволновому плазмонному резонансу вблизи 750...800 нм (лазерный фототермолиз) разработанные нанокompозиты имеют и пики поглощения вблизи 405 нм, а также ИК-люминесценцию в области 900...1100 нм, что присуще ИКП и используется для ЛД новообразований (см. рис. 2).

Были исследованы токсичность, биораспределение и фармакокинетика субстанции ИКП для здоровых мышей и мышей с привитой карциномой Эрлиха. Оказалось, что разработанные нанокompозиты имеют хороший контраст накопления в опухоли по сравнению со здоровой соседней тканью. На рис. 3 представлены сравнительные результаты по биораспределению свободного препарата ИКП и композитных наночастиц, функционализированных ИКП. Видно, что биораспределение обоих препаратов имеет сходный характер с хорошим контрастом накопления в опухоли. Отметим, что для более ранних временных интервалов доминирует накопление препарата ИКП в печени и селезенке в согласии с имеющимися данными по биораспределению и токсичности наночастиц [19].

Размеры нанокompозитов играют ключевую роль в их доставке и накоплении в опухоли. Размер

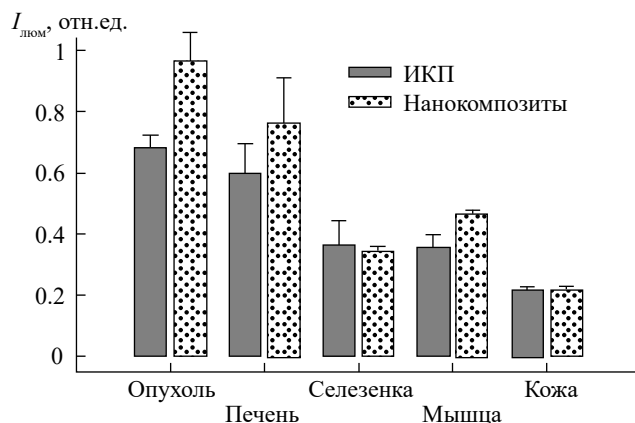


Рис. 3. Биораспределение нанокompозита и свободного водного раствора ИКП в органах мышей с привитой карциномой Эрлиха.

данного нанокompозита составил 100...150 нм, что близко к порам эндотелиального слоя новообразованных сосудов опухоли (свыше 200 нм). Таким образом, и здесь работает эффект EPR. Вследствие этого разработанные нанокompозиты обладают повышенной селективностью накопления в опухоли.

3. ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ В СОЧЕТАНИИ С ЛОКАЛЬНОЙ ФЕРРОМАГНИТНОЙ ГИПЕРТЕРМИЕЙ

Для тераностики опухолей глубокой тканевой локализации проведен синтез наночастиц, содержащих ядро оксидов железа и лексан-полимерную оболочку (ЛПМ), включающую ИКП [20]. При этом предполагалось, что наночастицы FeO_x в накопившей их опухолевой ткани будут ответственны за проведение процедуры локальной ферромагнитной гипертермии в радиочастотном диапазоне, где практически отсутствует поглощение самих биотканей. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения синтезированных наночастиц со структурой ЛПМ+ИКП+ FeO_x для тераностики, позиционированной нами как магнито-люминесцентная тераностика (МЛТ).

Следует отметить, что к настоящему времени весьма развиты и продолжают совершенствоваться методы, использующие магнитные наночастицы (МНЧ) и греющие радиочастотные электромагнитные поля (ЭМП). В их число выходит и магнитная гипертермия (МГТ), при этом частота ЭМП составляет 200...1000 кГц. В последнее время развитие получили также и нетепловые механизмы магнитной тераностики (механизм магнитомеханической актуации), использующие негреющие ЭМП (1...1000 Гц) [3]. Использование МНЧ позволяет локально повысить интенсивность воздействия и снизить частоту и величину необходимой

индукции переменного ЭМП, а следовательно, уменьшить вероятность нежелательных побочных эффектов со стороны поля.

В большинстве биомедицинских приложений в качестве материала магнитного ядра используют магнетит Fe_3O_4 ($J_s \approx 80 \text{ А} \times \text{м}^2/\text{кг}$ — намагниченность насыщения магнетита), имеющий существенно меньшую токсичность, чем чистые магнитные металлы и многие магнитные сплавы. Структурная схема синтезированного нами нанокompозита ЛПМ+ИКП+ FeO_x для МЛТ представлена на рис. 4.

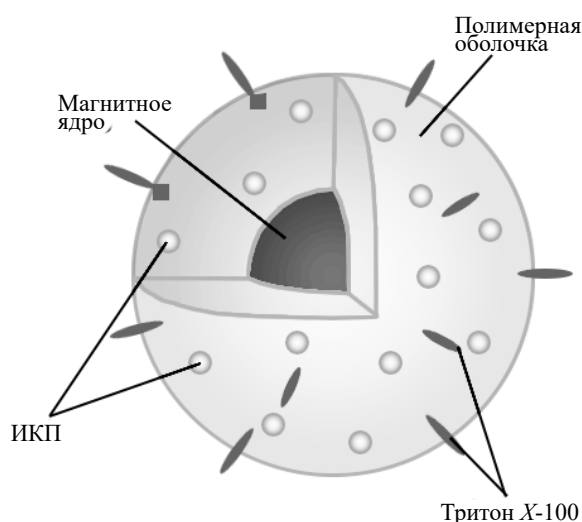


Рис. 4. Структурная схема нанокompозита ЛПМ + ИКП + FeO_x (ИКП — Yb-ПП).

Для придания поверхности частиц гидрофильности, а следовательно, меньшей агрегируемости и более длительной циркуляции в организме, в органическую фазу вводили неионогенный детергент Тритон X-100. При образовании частиц гидрофобная часть детергента встраивалась в частицу, а гидрофильная (полиэтиленгликолевая) оставалась на поверхности. Для большей стабилизации итербиевого комплекса использовали дополнительный комплексообразователь — триоктилфосфиноксид (ТОФО). Необходимо отметить, что в отсутствие ТОФО люминесценция от таких композитных наночастиц (КНЧ) практически не наблюдается.

Спектрально-кинетические характеристики (спектры в диапазоне 800...1060 нм и времена жизни люминесценции) получали с помощью измерительного стробоскопического стенда с возбуждением в видимом диапазоне спектра [14].

Проведенная оценка распределения синтезированных частиц ЛПМ+ИКП+ FeO_x по размерам показала, что с увеличением концентрации полимера в реакционном объеме получают частицы большего

диаметра. На рис. 5 представлено распределение КНЧ по размерам в диапазоне 100...300 нм (при концентрации ЛПМ в реакционной смеси ~ 100 мкг/л).

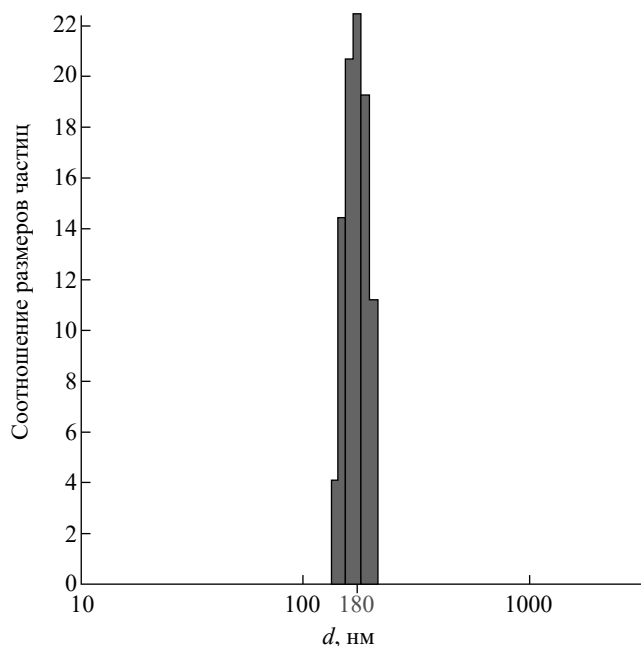


Рис. 5. Распределение композитных наночастиц по размерам (при концентрации ЛПМ в реакционной смеси ~ 100 мкг/л).

Как видно из рис. 5, средний измеренный диаметр синтезированных КНЧ составил ~180 нм. Размер КНЧ в диапазоне 150...200 нм является оптимальным для длительной циркуляции КНЧ в организме и преимущественном накоплении их в опухоли вследствие проникновения через поры эндотелия кровеносных сосудов. Размер КНЧ менее 150 нм приводит к ухудшению люминесцентных свойств нанокompозита (меньшее число в нем инкорпорированных частиц ИКП). Размер КНЧ более 200 нм приводит к существенному (~30%) снижению селективности накопления нанокompозита в опухоли, что резко снижает эффективность МЛТ.

Представленные на рис. 6 спектры эмиссии водных суспензий синтезированных наночастиц в БИК-диапазоне подтверждают, что в них сохраняется типичный для люминесценции Yb^{3+} характер: наличие наиболее интенсивной полосы в области 980 нм, обусловленной основным переходом, и появление дополнительных полос в области 925 нм и 1010 нм, обусловленных внутримультиплетными переходами.

Как видно из рис. 6, включение ядра FeO_x в наночастицы со средним размером ~20 нм приводит к некоторому снижению интенсивности

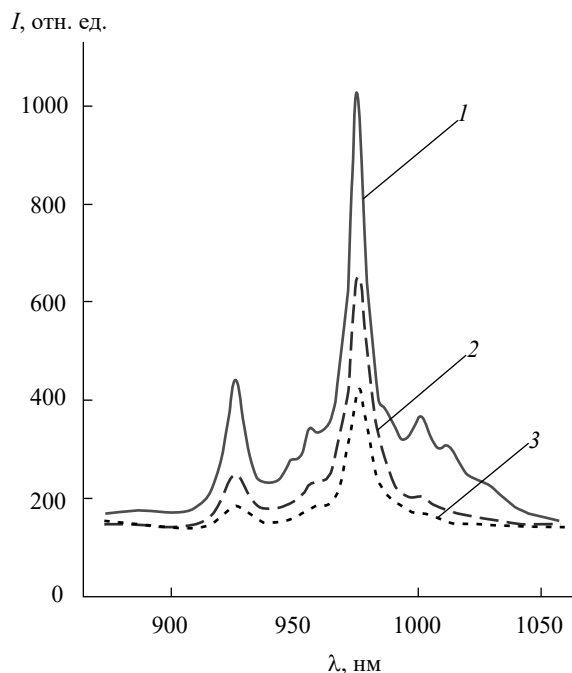


Рис. 6. Эмиссионные спектры в ближней ИК-области спектра ($\lambda_{\text{возб}} \sim 532$ нм) нано-композитов ЛПМ + Yb-TMЭ ГП без МНЧ-ядра (1) и с ядром Fe_3O_4 среднего размера которого $d \sim 20$ (2) и ~ 30 (3) нм.

люминесценции Yb-TMЭ ГП и всей КНЧ в целом, в то время как включение магнетитового ядра с размером 30 нм в КНЧ приводит к более чем двукратному снижению интенсивности люминесценции Yb-TMЭ ГП в синтезированных вариантах МНЧ. При этом следует отметить, что основная доля люминесценции приходится на самую мелкодисперсную (надосадочную) фракцию. Это свидетельствует о том, что грубодисперсная суспензия, содержащая «крупные» ядра FeO_x , практически не люминесцирует. Некоторое снижение интенсивности люминесценции в случае МНЧ с размером 20 нм может быть компенсировано увеличением терапевтической дозы нанокompозита, что является допустимым для осуществления процедур ЛД опухолей.

Представленные данные свидетельствуют о том, что для получения более качественных люминесцирующих наночастиц с ядром оксидов железа, содержащих ИКП, необходимо использовать более монодисперсную исходную суспензию FeO_x . Оптимальными размерами МНЧ в КНЧ на их основе при осуществлении процедур локальной магнитной гипотермии является диапазон $d = 10...15$ нм. Это связано с эффективностью нагрева МНЧ в радиочастотном магнитном поле.

Исследование биораспределения и фармакокинетики нанокompозита в органах и тканях животных проводили на макетном лазерно-волоконном флуориметре. По истечении определенных промежутков времени в интервале от 0.5 до 72 ч после

введения препарата группы мышей по три особи выводили из опыта, после чего у них для спектрального исследования проводили биопсию органов и тканей: легкого, сердца, печени, селезенки, почек, мышцы, кожи и опухоли.

Средний размер МНЧ составлял ~ 10 нм, а доза субстанции, вводимая мышам внутривенно, составила ~ 1 мг/кг веса, что намного ниже дозы выживаемости и терапевтических доз фотосенсибилизаторов при фотодинамической терапии опухолей. Следует отметить, что используемые в нанокompозите ИКП обладают почти нулевой фотоцитотоксичностью. Исследование фармакокинетики показало, что в первые часы после введения субстанции она локализуется в основном в паренхиматозных органах, прежде всего в селезенке, что полностью согласуется с данными по острой токсичности, когда селезенка является мишенью номер 1 для этого нанокompозита. Но в течение 12 ч препарат уже значительно «вымывается» из этих органов и довольно прочно оседает в опухолевой ткани. На основе спектрофлуорометрических измерений строилась гистограмма распределения интенсивности люминесценции в различных органах и тканях мыши после внутривенного введения препарата (режим *ex vivo*).

На рис. 7 представлена гистограмма распределения интенсивности люминесценции в различных органах и тканях мыши после внутривенного введения препарата. Приведенные результаты показывают значительную селективность накопления КНЧ в опухоли уже через 12 ч после внутривенного введения. Этот результат можно частично объяснить размерным эффектом (размер наночастиц композита не превышает 200 нм), что вполне согласуется с размерами пор сосудистой сети в опухолевой ткани.

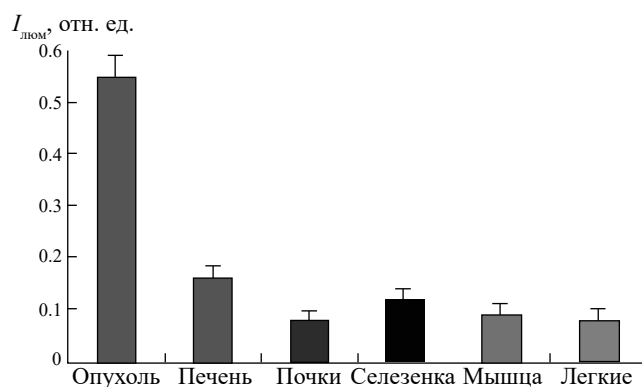


Рис. 7. Гистограмма распределения интенсивности люминесценции в различных органах и тканях мыши после внутривенного введения препарата (режим *ex vivo*, доза 1 мг/кг веса, время накопления 12 ч).

4. ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА В СОЧЕТАНИИ С ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИЕЙ

Иттербиевый комплекс дикалиевой соли 2,4-ди(α -метоксиэтил) дейтеропорфирина IX при различных условиях может проявлять как диагностические, так и терапевтические свойства. Дело в том, что при выведении Yb^{3+} из порфириновой матрицы безметалльная форма порфирина приобретает уже повышенные цитотоксические свойства за счет образования синглетного кислорода $^1\text{O}_2$ после воздействия лазерным излучением на определенной длине волны.

Предложена новая методика тераностики злокачественных новообразований кожи и слизистых оболочек на основе фармацевтической композиции (ФК) «Флюроскан», состоящей из иттербиевого комплекса дикалиевой соли 2,4-ди(α -метоксиэтил)-дейтеро-порфирина IX (Yb -ДМДП), люминесцирующего в БИК-области спектра (900...1100 нм), и различных гелей, обеспечивающих хорошую проникаемость в кожу и слизистые оболочки.

Проведенные исследования показали, что добиться удаления иона Yb^{3+} из порфириновой матрицы можно путем обработки субстанции слабыми кислотами (аскорбиновая, лимонная). На рис. 8 представлены результаты обработки раствора ИКП аскорбиновой кислотой.

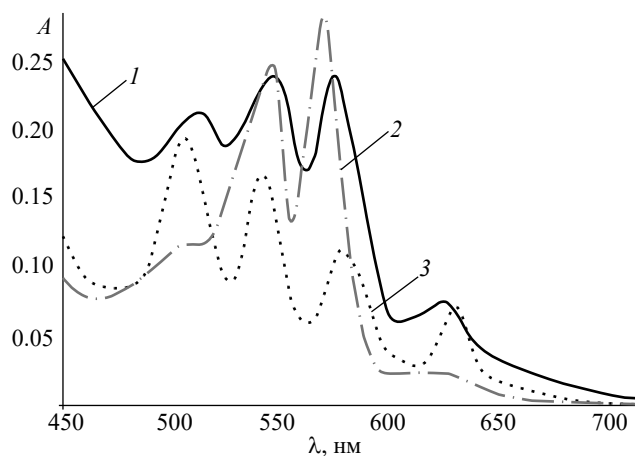


Рис. 8. Электронные спектры поглощения: 1 – Yb -ДМДП + аскорбиновая кислота, 2 – Yb -ДМДП, 3 – безметалльный ДМДП.

Полученные данные подтверждают исход Yb^{3+} из порфириновой матрицы, поскольку обработка кислотами приводит к появлению четырех Q-полос вместо двух в области 500...600 нм. Особенно эффективна обработка аскорбиновой кислотой при концентрации 1% ($\text{pH} = 4.3$). Для сравнения

приведен спектр поглощения безметалльного ДМДП (рис. 8, кривая 3).

При аппликационном введении ФК проводится фотодиагностика с выявлением области патологии, после чего данная область обрабатывается раствором аскорбиновой кислоты. При этом наблюдается интенсивный исход иона Yb^{3+} из порфиринового макроцикла, и в ткани остается только безметалльная форма порфиринового комплекса, после чего возможно проведение процедуры фотодинамической терапии (ФДТ) выявленных участков патологии в полосе поглощения ДМДП (на длине волны 635 нм).

Тераностику злокачественных новообразований кожи и слизистых оболочек с использованием данной ФК осуществляют следующим образом. Вначале производится процедура ЛД, при которой обрабатываются гелем ФК подозрительные участки кожи и слизистых оболочек. Вследствие того, что ИКП практически не обладают световой токсичностью, при нанесении этих гелей на кожу и слизистые оболочки не происходит отрицательного воздействия на живой организм в виде появления побочных дерматологических реакций. По истечении 30...40 мин после обработки данным препаратом кожных новообразований и близко расположенных здоровых тканей измеряется диагностический контрастный индекс — отношение интенсивности люминесценции тканей (новообразование/норма), который может составлять от 2.5 до 15.0 в зависимости от типа кожного повреждения и концентрации ИКП в ФК. Далее перед стадией ФДТ проводится обработка патологически измененных участков биоткани насыщенным раствором аскорбиновой кислоты (1 г в 3 мл 0.9% NaCl).

Ее накопление в биоткани проводили в течение 10...15 мин. По истечении данного времени измерялась интегральная интенсивность люминесценции в БИК-диапазоне на различных участках биотканей. При этом интегральная интенсивность БИК-люминесценции падает почти в три раза по сравнению с необработанной аскорбиновой кислотой биотканью, что подтверждает интенсивный исход иона иттербия из порфиринового макроцикла.

Таким образом, в накопленной биотканью ФК в основном присутствует безметалльная форма порфиринового комплекса. На следующем этапе тераностики проводится процедура ФДТ выявленных ранее пораженных участков биоткани посредством обработки их терапевтическим лазером на длине волны 635 нм. При этом экспозиционная доза составляет 100...300 Дж/см².

Для проведения процедуры тераностики были подготовлены три группы мышей линии С57ВL с внутрикожно перевитой аденокарциномой легкого LLC (опухоль Льюиса) по шесть особей в каждой: 1-я группа — контрольная (без проведения ФДТ), 2-я группа — для проведения ФДТ с дозой 300 Дж/см², 3-я группа — для проведения ФДТ

с дозой 100 Дж/см². Размер поверхности опухоли у всех мышей составлял примерно 1 см². Далее после процедуры ЛД в соответствующих группах мышей при одинаковых условиях проводился сеанс ФДТ с заданной дозировкой.

До, во время и после воздействия лазерным излучением регистрировалась термограмма опухолевого узла (рис. 9, 10).

Для термографии зоны злокачественного роста использовали специально созданный МАПК. Усредненная термограмма, характерная для 2-й группы мышей, представлена на рис. 9. Видно, что колебания температуры в зоне роста первичного узла опухоли при воздействии лазерным излучением (см. рис. 9, область А) составили около 5 °С, не достигая 40 °С. После прекращения воздействия лазером (область Б) фоновые температурные флуктуации в опухолевой ткани становятся малоамплитудными (менее 0.5 °С). Данный факт свидетельствует о нарушении ее биоэнергетики

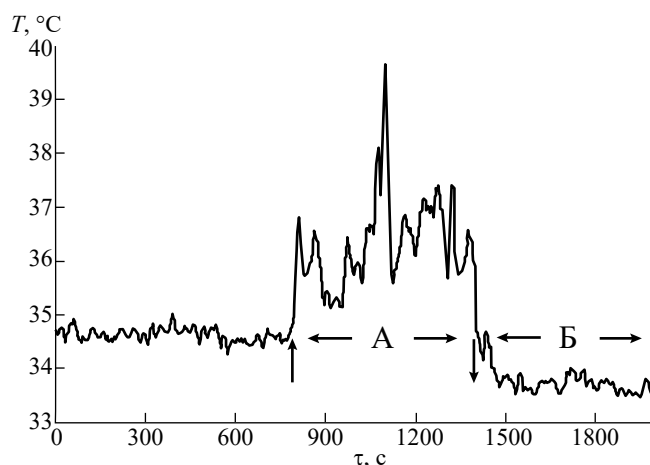


Рис. 9. Усредненная термограмма, характерная для 2-й группы лабораторных мышей (экспозиционная доза 300 Дж/см²).

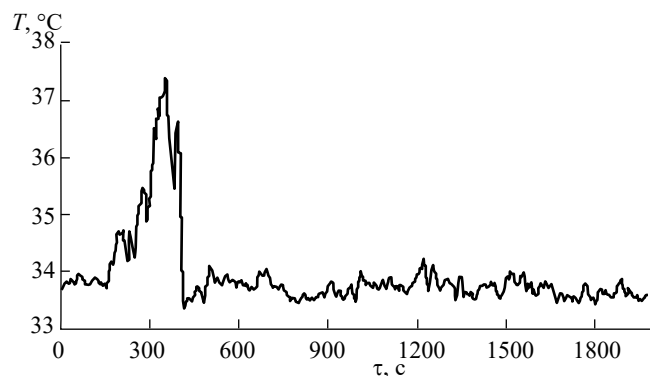


Рис. 10. Фоновая запись термограммы эпидермоидной карциномы легкого Льюиса, при воздействии излучением 500 мВт/см²; 200 с, экспозиционная доза 100 Дж/см².

и микроциркуляции кровотока вследствие деструктивных изменений, вызванных проведенной ФДТ. Видимо, можно говорить о частичном некрозе опухолевой ткани. Средняя выживаемость 2-й группы мышей оказалась максимальной среди всех групп и составила два месяца. Как видно из рис. 9, терапевтический эффект достигнут целиком благодаря ФДТ, без участия процесса гипертермии, которая осуществляется при температурах выше 42 °С.

Во втором случае был применен щадящий режим ФДТ первичного узла опухоли: плотность мощности 500 мВт/см², время воздействия 200 с, экспозиционная доза 100 Дж/см² (см. рис. 10). Вследствие воздействия излучения заданных параметров изменение температуры ΔT °С в зоне роста первичного узла опухоли составила 3.5 °С. После прекращения воздействия излучением изменение амплитудно-частотных характеристик фоновых температурных флуктуаций в опухолевой ткани существенно меньше (например, амплитуда флуктуаций температуры около 0.5 °С), чем в предыдущем случае, что свидетельствует о менее выраженных деструктивных изменениях в ткани опухоли, вызванных проведенной ФДТ.

Нам представляется, что в этих двух случаях с разными экспозиционными дозами задействованы разные физиологические механизмы, что необходимо учитывать при проведении ФДТ в клинике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения синтезированных наночастиц на основе ИКП для разработки чувствительных люминесцентных методов диагностики опухолей визуально и эндоскопически доступной локализации. Лазерный фототермолиз на длине волны 750...800 нм в сочетании с БИК-люминесцентной диагностикой (в спектральном диапазоне 900...1100 нм) является пионерской разработкой в области медицинской биофотоники.

Синтезированная структура типа ЛПМ+ИКП+FeO_x может быть востребована для целей МЛТ. Включение ядра FeO_x в наночастицы позволяет проводить контролируемую локальную высокочастотную гипертермию патологических участков глубокой тканевой локализации, накопивших нанокompозит, хотя и приводит к незначительному уменьшению его диагностического потенциала (к приблизительно двукратному снижению интенсивности люминесценции ИКП). Однако этот недостаток может быть компенсирован некоторым увеличением терапевтической дозы нанокompозита.

Люминесцентная диагностика опухолей в сочетании с фотодинамической терапией в полосе поглощения порфирина может быть весьма перспективна при злокачественных новообразованиях кожи и слизистых оболочек с использованием

ФК типа «Флюроскан». Полученные результаты свидетельствуют о перспективности разработанной методики тераностики на основе использования ближней ИК-люминесцентной диагностики кожных новообразований и слизистых оболочек на базе субстанции типа Yb-ДМДП и проведения фотодинамической терапии в полосе поглощения порфирина. Показано, что терапевтический эффект достигается целиком благодаря ФДТ, без участия процесса гипертермии, которая осуществляется при температурах выше 42 °С. Для целей тераностики на основе данной субстанции разработанная фармацевтическая композиция «Флюроскан» в виде геля. «Флюроскан» прошел сертификацию и разрешен к использованию на территории РФ, Республики Беларусь и Казахстана.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны сотрудникам ИЕиМ УрФУ А. П. Сафронову и Г. В. Курляндской и зав. лабораторией импульсных процессов Института электрофизики УрО РАН (г. Екатеринбург) И. В. Бекетову за предоставление наночастиц магнетита, которые были получены и первично аттестованы в этой лаборатории.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

До экспериментов и в период их проведения животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России в соответствии с «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей».

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, а также при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FSFZ-2023-0004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cheng S. H., Lee S. H. Chen M.-C. et al. // J. Mater. Chem. 2010. V. 20. № 29. P. 6149.
doi.org/10.1039/c0jm00645a
2. Bardhan R., Chen W., Bartels M. et al. // Nano Lett. 2010. V. 10. P. 4920.

- doi.org/10.1021/nl102889y
3. Головин Ю. И., Клячко Н. Л., Мажуга А. Г. и др. // Рос. нанотехнологии. 2018. Т. 13. № 5–6. С. 3.
 4. Maeda H. // J. Pers. Med. 2021. V. 11. № 3. P. 229. doi.org/10.3390/jpm11030229
 5. Ngoune R., Peters A., von Elverfeldt D. et al. // J. Controlled Release. 2016. V. 238. P. 58. doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.07.028
 6. Nishiyama N., Kataoka K. // Pharmacol. Ther. 2006. V. 112. P. 630.
 7. Guan Q., Wang M. // Nano Life. 2021. V. 11. № 4. P. 2141004. doi.org/10.1142/S1793984421004X
 8. Кокшарова Ю. А., Губинс С. П., Таранов И. В. и др. // РЭ. 2022. Т. 67. № 2. С. 99. doi.org/10.31857/S0033849422020073
 9. Khlebtsov B., Panfilova E., Khanadeev V. et al. // ACS Nano. 2011. V. 5. № 9. P. 7077. doi.org/10.1021/nn2017974
 10. Ivanov A. V., Romyantseva V. D., Shchamkhalov K. S., Shilov I. P. // Laser Phys. 2010. V. 20. № 12. P. 2056. doi.org/10.1134/s1054660x10220032
 11. Гайнов В. В., Шайдуллин Р. И., Рябушкин О. А. // Квант. электроника. 2011. Т. 41. № 7. С. 637.
 12. Шилов И. П., Румянцева В. Д., Иванов А. В. и др. // РЭ. 2023. Т. 68. № 4. С. 399. doi.org/10.31857/S0033849423030130
 13. Веснин С. Г. Антенна аппликатор для неинвазивного измерения температуры внутренних тканей биологического объекта. Патент РФ на изобретение № 2306099. Оpubл. офиц. бюл. «Изобретение. Полезные модели» № 26 от 20.09.2007 г.
 14. Маркушев В. М., Румянцева В. Д., Шилов И. П., Горшкова А. С. // Журн. радиоэлектроники. 2020. № 11. doi.org/10.30898/1684-1719.2020.11.5
 15. Ивановская Н. П., Шилов И. П., Иванов А. В. и др. // Рос. нанотехнологии. 2019. Т. 14. № 5–6. С. 87. doi.org/10.21517/1992-7223-2019-5-6-87-95
 16. Щелкунова А. Е., Болтухина Е. В., Румянцева В. Д. и др. // Макрогетероциклы. 2019. Т. 12. № 3. doi.org/10.6060/mhc190658s
 17. Шилов И. П., Кочмарев Л. Ю., Новичихин Е. П. // Мед. техника. 2020. № 6. С. 1.
 18. Хлебцов Б. Н., Панфилова Е. В., Ханадеев В. А. и др. // Рос. нанотехнологии. 2011. Т. 6. № 7–8. С. 112.
 19. Хлебцов Б. Н., Хлебцов Н. Г., Терентюк Г. С. и др. Композитные наночастицы для фотодинамической диагностики. Патент РФ на изобретение № 2463074. Оpubл. офиц. бюл. «Изобретение. Полезные модели» № 28 от 10.10.2012.
 20. Ivanovskaya N. P., Shilov I. P., Shchamkhalov K. S. et al. // Macroheterocycles. 2015. V. 8. № 1. P. 50. doi.org/10.6060/mhc140715r

USE OF YTTERBIUM PORPHYRINS COMPLEXES IN CANCER THERANOSTICS

I. P. Shilov^{a, *}, V. D. Romyantseva^{a, b, *}, A. S. Gorshkova^a, A. V. Ivanov^c

^a Fryazino Branch Kotelnikov Institute of Radioengineering and Electronics of RAS,
Vvedenskii Squar., 1, Fryazino, Moscow Region, 141190 Russian Federation

^b MIREA – Russian Technological University,
Vernadsky Prosp., 78, Moscow, 119454 Russian Federation

^c National Medical Research Center of Oncology named after N. N. Blokhin,
Kashirskoe Shos., 23, Moscow, 115522 Russian Federation

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

Received September 28, 2023, revised December 14, 2023, accepted January 25, 2024

The principles of new cancer theranostics methods based on nanosized Yb-porphyrins complexes have been developed. The obtained data indicate the promise of using synthesized nanoparticles based on Yb-porphyrins complexes for the development of sensitive luminescent diagnostics and theranostics methods for tumors of visually and endoscopically accessible localization. It is shown that laser photothermolysis at a wavelength of 750...800 nm in combination with near-IR luminescent diagnostics (in the spectral range of 900...1100 nm) is a pioneering development in the medical biophotonics. It is predicted that the synthesized structure of the Lexan-polymer matrix + Yb-porphyrin complex + FeO_x can be in demand for the purposes of neoplasms magneto-luminescent theranostics. It has been established that tumors luminescent diagnostics in combination with photodynamic therapy in the porphyrin absorption band (wavelength 635 nm at an optical exposure dose of ~300 J/cm²) using the Fluroscan-type pharmaceutical composition can be used for malignant neoplasms of the skin and mucous membranes.

Keywords: theranostics, photodynamic therapy, ytterbium complexes of porphyrins, luminescent diagnostics, malignant neoplasms