РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 782 643**(13) **C1**

(51) МПК
A61N 5/06 (2006.01)
A61K 31/409 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61N 5/06 (2022.08); A61K 31/409 (2022.08); A61P 35/00 (2022.08)

(21)(22) Заявка: **2021133869, 22.11.2021**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.11.2021

Дата регистрации:
31.10.2022

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **22.11.2021**

(45) Опубликовано: **31.10.2022** Бюл. № **31**

Адрес для переписки:
125222, Москва, Уваровский пер., 5, кв. 205, ООО "БИОСПЕК", Алексеева П.М.

(72) Автор(ы):
Алексеева Полина Михайловна (RU),
Эфендиев Канамат Темботович (RU),
Лощенов Максим Викторович (RU),
Гилядова Аида Владимировна (RU),
Ищенко Антон Анатольевич (RU),
Ширяев Артем Анатольевич (RU),
Решетов Игорь Владимирович (RU),
Лощенов Виктор Борисович (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Общество с ограниченной ответственностью "БИОСПЕК" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2482893 C2, 27.05.2013. RU 2284839 C1, 10.10.2006. RU 2274480 C1, 20.04.2006. КРИКУНОВА Л. И. и др. Возможности фотодинамической терапии рака вульвы//Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра), 24 (2), 107-115. DALGIC H. et al. Laser therapy in chronic cervicitis. Arch Gynecol Obstet. 2001 May;** (см. прод.)

(54) СПОСОБ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ И ВУЛЬВЫ ПОД КОНТРОЛЕМ СОВМЕСТНОЙ ВИДЕО- И СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ХЛОРИНОВОГО РЯДА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к онкогинекологии, и может быть использовано для фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы человека. Способ включает внутривенное капельное введение фотосенсибилизатора хлоринового ряда - фотолона, фоторана или фотодитазина в концентрации 0,8-1 мг/кг с экспозицией фотосенсибилизатора в течение 3 часов. Проводят световое воздействие источником лазерного излучения с длиной волны 660 нм, с плотностью мощности 0,3-0,5 Вт/см^2 на поверхности патологически измененных биотканей и плотностью световой энергии 200-300 Дж/см^2, до и после фотодинамической терапии совместно проводят видеофлуоресцентную визуализацию границ новообразований и спектрально-флуоресцентную диагностику. При проведении видеофлуоресцентной визуализации определяют индекс флуоресценции в исследуемой зоне путем вычисления среднего значения интенсивности пикселей изображения, полученного с инфракрасной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, и нормирования на

RU 2782643 C1

RU 2782643 C1

параметры инфракрасной камеры. Далее вычисляют среднее значение интенсивности пикселей изображения красного канала цветной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, и нормируют на параметры цветной камеры, затем первое значение нормируется на второе. При проведении спектрально-флуоресцентной диагностики индекс флуоресценции рассчитывается как отношение площади под спектром флуоресценции хлорина е6 к площади под спектром обратно рассеянного лазерного излучения по формуле $FI=I_{700-800}/I_{650-670}$, где FI - индекс флуоресценции биоткани, отн.ед., $I_{700-800}$ - площадь под спектром флуоресценции хлорина е6, $I_{650-670}$ - площадь под спектром обратно рассеянного лазерного излучения, и при снижении индексов флуоресценции после фотодинамической терапии на 60-80% световое воздействие прекращают. Использование изобретения позволяет визуализировать границы новообразований, оценить степень накопления и уровень фотообесцвечивания фотосенсибилизатора хлоринового ряда в патологически измененных тканях до и после светового воздействия на сенсибилизированные ткани и за счет этого снизить побочные эффекты и избежать продолженного прогрессирования заболевания. 4 ил., 2 пр.

(56) (продолжение):
265(2):64-6. PMID: 11409476 DOI: 10.1007/s004040000135, реферат.

RU 2782643 C1

RU 2782643 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 782 643**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
A61N 5/06 (2006.01)
A61K 31/409 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
A61N 5/06 (2022.08); A61K 31/409 (2022.08); A61P 35/00 (2022.08)

(21)(22) Application: **2021133869, 22.11.2021**

(24) Effective date for property rights:
22.11.2021

Registration date:
31.10.2022

Priority:
(22) Date of filing: **22.11.2021**

(45) Date of publication: **31.10.2022** Bull. № **31**

Mail address:
125222, Moskva, Uvarovskij per., 5, kv. 205, OOO "BIOSPEK", Alekseeva P.M.

(72) Inventor(s):
Alekseeva Polina Mikhajlovna (RU),
Efendiev Kanamat Tembotovich (RU),
Loshchenov Maksim Viktorovich (RU),
Gilyadova Aida Vladimirovna (RU),
Ishchenko Anton Anatolevich (RU),
Shiryaev Artem Anatolevich (RU),
Reshetov Igor Vladimirovich (RU),
Loshchenov Viktor Borisovich (RU)

(73) Proprietor(s):
Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu "BIOSPEK" (RU)

(54) METHOD FOR PHOTODYNAMIC THERAPY OF CERVICAL AND VULVAR NEOPLASMS UNDER THE CONTROL OF JOINT VIDEO AND SPECTRAL FLUORESCENT DIAGNOSTICS APPLYING CHLORIN SERIES PHOTOSENSITISERS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely, to gynaecological oncology, and can be used for photodynamic therapy of human cervical and vulvar neoplasms. The method includes intravenous drip administration of a chlorin series photosensitiser: photolon, fotoran, or fotoditazin at a concentration of 0.8 to 1 mg/kg with 3-hour exposure of the photosensitiser. Light exposure is conducted by a laser emission source with a wavelength of 660 nm, with a power density of 0.3 to 0.5 W/cm^2 on the surface of the pathologically altered biological tissues, and a light energy density of 200 to 300 J/cm^2, prior to and after the photodynamic therapy; joint video fluorescence visualisation of the boundaries of the neoplasms and spectral- fluorescent diagnostics are performed. During video fluorescence visualisation, the fluorescence index is determined in the examined area by calculating the average value of pixel intensity of the image acquired from the infrared camera in the area isolated by the diagnostic cursor and normalising for the parameters of the infrared camera. The average value of pixel intensity of the image in the red channel of the colour camera in the area isolated by the diagnostic cursor is then calculated and normalised for the parameters of the colour camera, the first value is then normalised for the second. During spectral fluorescence diagnostics, the fluorescence index is calculated as the ratio of the area under the chlorin e6 fluorescence spectrum to the area under the spectrum of backscattered laser emission by the formula $FI=I_{700-800}/I_{650-670}$, wherein FI is the fluorescence index of the biological tissue, rel. U, $I_{700-800}$ is the area under the chlorin e6 fluorescence spectrum, $I_{650-670}$ is the area under the spectrum of backscattered laser emission, and the light effect is ended when the fluorescence indices are reduced by 60 to 80% after the photodynamic therapy.

EFFECT: possibility of visualising the boundaries of neoplasms, evaluating the degree of accumulation and the level of photobleaching of the chlorin series photosensitiser in the pathologically altered tissues prior to and after light exposure of the sensitised tissues,

RU 2782643 C1

RU 2782643 C1

leading to the reduction in side effects and prevented continued progression of the disease.

1 cl, 4 dwg, 2 ex

RU 2782643 C1

RU 2782643 C1

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к медицине, а именноФ к флуоресцентной диагностике и фотодинамической терапии в онкогинекологии.

Уровень техники

Рак шейки матки чаще всего является следствием дисплазии тканей шейки матки. Дисплазия шейки матки, или цервикальная интраэпителиальная неоплазия, в процессе которой происходят структурные изменения в эпителиальных клетках, является предраковым состоянием шейки матки, которое часто протекает бессимптомно. Заболевание обычно развивается при наличии высокоонкогенных типов вируса папилломы человека, который выявляется в 95-98% случаев у пациентов с цервикальной интраэпителиальной неоплазией. Пятилетняя выживаемость в случае преинвазивного рака, вызванного цервикальной интраэпителиальной неоплазией, составляет 65% [Popiel A. et al. Preliminary Study on the Expression of Testin, p16 and Ki-67 in the Cervical Intraepithelial Neoplasia // Biomedicines. - 2021. - Т. 9. - №. 8. - С. 1010].

В настоящее время для лечения новообразований шейки матки и вульвы применяют методы лечения, такие как деструкция очагов (диатермокоагуляция, криодеструкция, лазерное испарение, лучевая терапия и химиотерапия) или удаление патологической ткани (хирургическое, лазерное, электрохирургическое иссечение). Эти методы лечения являются инвазивными и, нередко сопровождаются побочными явлениями и тяжелыми осложнениями, такими как сильная боль, обильные кровопотери, травматизация окружающих тканей и т.д. Данные методы часто приводят к изменениям анатомической структуры шейки матки и вульвы и негативно влияют на дальнейшую возможность зачатия и роды [Casarin J. et al. Preoperative conization and risk of recurrence in patients undergoing laparoscopic radical hysterectomy for early-stage cervical cancer: a multicenter study // Journal of minimally invasive gynecology. - 2021. - Т. 28. - №. 1. - С. 117-123]. В свою очередь, эффективным и минимально инвазивным органосохраняющим способом лечения новообразований шейки матки и вульвы является метод фотодинамической терапии, который способствует уничтожению вируса папилломы человека. Эффективность фотодинамической терапии в ряде случаев составляет 70-90% [Wu A. et al. Effectiveness of photodynamic therapy in women of reproductive age with cervical high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL/CIN2) // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2021. - Т. 36. - С. 102517].

Среди методов диагностики новообразований шейки матки и вульвы, таких как спектроскопия упругого оптического рассеяния, флуоресцентная спектроскопия, рамановская спектроскопия, мультимодальная спектроскопия и спектроскопия диффузного отражения [Liu W. et al. Study of cervical precancerous lesions detection by spectroscopy and support vector machine // Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies. - 2020. - С. 1-7], особый интерес вызывает спектрально-флуоресцентная и видео-флуоресцентная диагностика, так как данные методы позволяют интраоперационно и с высокой степенью точности выявлять границы новообразований. При фото динамической терапии в организм человека вводится фотосенсибилизатор, выявляются очаги накопления фотосенсибилизатора, которые в дальнейшем подвергаются световому воздействию. Одними из самых распространенных фотосенсибилизаторов, разрешенных для клинического применения при фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы, являются фотосенсибилизаторы хлоринового ряда, активным веществом которых является хлорин е6. К преимуществам хлорина е6 относится низкая фототоксичность и частота побочных эффектов, простота синтеза и высокая селективность накопления преимущественно в опухолевой ткани. Хлорин е6

обеспечивает высокий квантовый выход синглетного кислорода при фотодинамической терапии. Хлорин е6 накапливается в основном в клетках крови и кровеносных сосудах. Однако, циркулирующий по кровеносным сосудам хлорин е6 способен легко диффундировать в опухолевую ткань за счет большей проницаемости сосудов опухоли по сравнению с сосудами здоровой ткани. Максимум накопления хлорина е6 в опухоли наблюдается через 2-3 ч после внутривенного введения, 98% препарата выводится из организма или метаболизируется в течение первых 48 ч [Shirmanova M. V. et al. Comparative study of tissue distribution of chlorin e6 complexes with amphiphilic polymers in mice with cervical carcinoma // J Anal Bioanal Tech S. - 2014. - Т. 1. - С. 008].

Имеются методы фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики, аналогичные предлагаемому изобретению.

В патенте RU 2274480 C1 описан способ лечения фоновых и предраковых заболеваний шейки матки. Суть способа заключается в проведении фотодинамической терапии с применением геля "Фотодитазин" на основе глюкаминовой соли хлорин е6 при концентрации активного вещества 0,3-0,5%. Время экспозиции фотосенсибилизатора составляет 2 ч. Исследуемые ткани новообразований облучают лазерным излучением в непрерывном режиме с длиной волны 660 нм, мощностью на выходе 1,0 Вт и плотностью энергии 80-200 Дж/см^2 в течение 8-20 минут. Предлагается при лечении неосложненных форм эктопии использовать плотность энергии 80 Дж/см^2, время воздействия 8-10 минут. Осложненные формы эктопии, лейкоплакии и дисплазии предлагается облучать при плотности энергии до 200 Дж/см^2, время воздействия составляет до 20 минут.

В патенте RU 2609995 C2 представлен способ фотодинамической терапии фоновых и предраковых заболеваний шейки матки. На поверхность шейки матки и в цервикальный канал наносят фотосенсибилизатор на основе Се6 - «РадаГель» с концентрацией активного вещества 0,5%. Время накопления препарата составляет 40-60 минут. Облучение проводится лазерным излучением с длиной волны 662 нм и плотностью энергии 200-250 Дж/см^2.

В патентах RU 2394616 C1 и RU 2432976 C1 описаны способы консервативного лечения и профилактики рецидивов дисплазии и рака шейки матки, ассоциированного с вирусом папилломы человека. Фотодинамическая терапия проводится с препаратом на основе гидроксиалюминия трисульфофталоцианина - Фотосенс, который внутривенно вводится в организм пациента в дозе 0,2-0,3 мг/кг. Облучение патологических тканей проводится лазерным излучением с длиной волны 670 нм и плотностью мощности 100-200 мВт/см^2, а плотность энергии составляет 150-200 Дж/см^2.

В патенте RU 2445991 C2 представлен способ органосохраняющего лечения больных начальной формы рака вульвы. Перед проведением фотодинамической терапии вульвы пациенту внутривенно вводится препарат на основе хлорина е6 - Радахлорин в дозе 1,0-1,2 мг/кг и перорально вводится препарат на основе 5-аминолевулиновой кислоты - Аласенс в дозе 30 мг/кг. Исследуемые ткани вульвы дистанционно поверхностно облучаются лазерным излучением с длиной волны 662 и 630 нм и плотностью энергии 80-150 Дж/см^2.

В патенте EP 2727603 A1 предложен метод флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизирующего агента на основе тетрапиррола или 5-аминолевулиновой кислоты и ее эфиров с облучением патологических тканей различных новообразований, в том числе дисплазии и рака

шейки матки, светом с длиной волны от 480 до 580 нм, предпочтительно с длиной волны от 500 до 530 нм.

В патенте US 5612540 A представлен оптический метод обнаружения новообразований шейки матки с помощью флуоресцентной спектроскопии, не включающий введения в организм пациента фотосенсибилизатора. Регистрируются спектры интенсивности эндогенной флуоресценции, испускаемой образцом ткани в результате воздействия на нее излучением с длинами волн в диапазоне от 200 нм до 700 нм. По спектрам интенсивности эндогенной флуоресценции полученных образцов тканей шейки матки производится идентификация патологической аномальной ткани шейки матки.

Все вышеперечисленные методы флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии шейки матки и вульвы имеют существенные недостатки. Основным недостатком этих методов является отсутствие количественного контроля степени накопления и фотообесцвечивания фотосенсибилизатора в патологических тканях при проведении фотодинамической терапии, что может приводить к неблагоприятным результатам при применении одного протокола лечения в случаях с различным уровнем накопления фотосенсибилизатора. Степень накопление фотосенсибилизатора может сильно различаться как в различных типах биотканей, так и в разных областях одного типа тканей, что также влияет на скорость фотообесцвечивание фотосенсибилизатора в процессе фотодинамической терапии. Поэтому контролировать фотообесцвечивание фотосенсибилизатора необходимо на всех этапах фотодинамической терапии, чтобы достичь равномерного и достаточного светового воздействия (оптимальной плотности энергии), избежать термических и дальнейших некротических повреждений, и, тем самым, минимизировать побочные эффекты и избежать продолженного прогрессирования заболевания.

Ближайшим аналогом к предлагаемому изобретению (прототипом) является способ лечения дистрофических заболеваний вульвы RU 2482893 C2 путем проведения фотодинамической терапии, которое включает внутривенное введение фотосенсибилизатора хлоринового ряда - Фотодитазина в дозе 0,8-1,0 мг/кг и проведение через 90-120 мин после введения светового воздействия на область вульвы в непрерывном режиме без анестезии светодиодным аппаратом при длине волны 660 нм и дозе подводимой световой энергии 180-250 Дж/см^2 в течение суммарного времени светового воздействия 30-50 мин. Предлагается повторно использовать метод фотодинамической терапии для получения положительных результатов лечения при сохранении у пациента клинических проявлений заболевания. Большая площадь патологического очага вульвы делится на квадранты, которые последовательно подвергаются световому облучению.

Недостатки данного метода заключаются в отсутствии возможности контроля накопления фотосенсибилизатора в тканях шейки матки и вульвы в процессе фотодинамической терапии, что может приводить к неблагоприятным результатам лечения, например, термическим или некротическим повреждениям ткани, вследствие переизбытка световой энергии, или рецидивам заболевания, вызванным недостаточным облучением ткани. Другим недостатком способа, выбранного нами в качестве прототипа, является отсутствие мониторинга фотообесцвечивания фотосенсибилизатора, т.е. изменения концентрации фотосенсибилизатора в процессе фотодинамической терапии, что также может приводить к различным по эффективности результатам лечения. Для разных новообразований шейки матки и вульвы скорость фотообесцвечивания фотосенсибилизатора при одинаковых плотностях мощности и времени светового воздействия может сильно варьироваться в зависимости от

оптических свойств тканей и вследствие их негомогенности. По результатам исследований [Zheng Q. et al. The contribution of reactive oxygen species to the photobleaching of organic fluorophores // Photochemistry and photobiology. - 2014. - Т. 90. - №. 2. - С. 448-454] фотообесцвечивание фотосенсибилизатора на уровне 50-70% является наиболее эффективным.

Раскрытие сущности изобретения

Задачей предлагаемого изобретения является разработка метода фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы под контролем совместного интраоперационного применения видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики, позволяющих визуализировать границы новообразований, оценить степень накопления и уровень фотообесцвечивания фотосенсибилизатора хлоринового ряда в патологически-измененных тканях до и после светового воздействия на сенсибилизированные ткани.

Поставленная задача решается интраоперационной флуоресцентной визуализацией сенсибилизированных тканей новообразований шейки матки и вульвы пациентов посредством проведения видео-флуоресцентной диагностики с оценкой интенсивности флуоресценции фотосенсибилизатора до и после фотодинамической терапии.

Задача также решается параллельным интраоперационным определением концентрационного распределения фотосенсибилизатора в тканях шейки матки и вульвы пациентов посредством проведения спектрально-флуоресцентной диагностики с оценкой индекса флуоресценции фотосенсибилизатора до и после фотодинамической терапии.

Задача также решается применением способа мониторинга изменения концентрации фотосенсибилизатора в процессе фотодинамической терапии с использованием одного источника лазерного излучения с длиной волны 660 нм, соответствующего пику поглощения хлорина е6.

Осуществление метода

На первом этапе пациент проходит необходимые диагностические мероприятия для постановки диагноза заболевания, обследуется с помощью ПЦР-диагностики на наличие онкогенных типов вируса папилломы человека. Перед началом диагностики и лечения проводится осмотр слизистой вульвы, влагалища и шейки матки пациента с помощью вагинальных зеркал с целью оценки формы, площади и расположения патологически измененных областей.

В качестве фотосенсибилизатора для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии используются коммерчески доступные фотосенсибилизаторы: Фотолон. Фоторан, Фотодитазин, активным веществом которых является тринатриевая соль Се6. Рассчитанная доза фотосенсибилизатора 0,8-1,2 мг/кг от массы тела пациента растворяется в 150 мл 0,9% раствора натрия хлорида. До начала фотодинамического воздействия пациенту внутривенно капельно инфузируется приготовленный ex tempore раствор в течении 30 мин. Фотосенсибилизатор вводится в затемненном помещении. Пациент проходит инструктаж о необходимости строгого соблюдения светового режима (исключение воздействия прямого солнечного света и т.д.). Время экспозиции фотосенсибилизатора составляет 3 часа.

До введения фотосенсибилизатора, с целью оценки эндогенной флуоресценции, и спустя 3 часа после введения фотосенсибилизатора, с целью оценки экзогенной флуоресценции хлорина е6, интраоперационно проводится визуализация границ сенсибилизированных тканей шейки матки и вульвы пациента с помощью видео-флуоресцентной диагностики при использовании двухканальной флуоресцентной видеосистемы (Фиг. 1). Регистрация видеоизображений осуществляется в видимом и длинноволновом (выше 650 нм) оптических диапазонах с возможностью оценки индекса

флуоресценции выделенных зон, а возбуждение флуоресценции фотосенсибилизатора осуществляется источником лазерного излучения с длиной волны 635 нм. Интенсивность флуоресценции исследуемых тканей оценивается посредством вычисления индекса флуоресценции в исследуемой зоне. Индекс флуоресценции рассчитывается по следующему принципу: вычисляется среднее значение интенсивности пикселей изображения, полученного с инфракрасной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, и нормируется на параметры инфракрасной камеры. Далее, вычисляется среднее значение интенсивности пикселей изображения красного канала цветной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, и нормируется на параметры цветной камеры. Затем первое значение нормируется на второе, получая индекс флуоресценции.

До ФДТ параллельно проводится спектрально-флуоресцентная диагностика в красном и ближнем инфракрасном диапазонах спектра (620-850 нм) с использованием волоконного спектрометра и возбуждением флуоресценции фотосенсибилизатора источником лазерного излучения с длиной волны 623,8 или 660 нм. При спектральной диагностике регистрируются спектры (Фиг. 2) и рассчитываются индексы флуоресценции биотканей (Фиг. 3). Индекс флуоресценции при спектрально-флуоресцентной диагностике рассчитывается автоматически, как отношение площади под спектром флуоресценции хлорина е6 к площади под спектром обратно рассеянного лазерного излучения.

В случае применения источника с длиной 632,8 нм для расчета индекса флуоресценции применяют следующую формулу: $F1=I_{650-700}/I_{625-640}$, где F1 - индекс флуоресценции биоткани (отн.ед.), $I_{650-700}$ - площадь под спектром флуоресценции хлорина е6, $I_{625-640}$ - площадь под спектром обратно рассеянного лазерного излучения.

В случае применения источника с длиной волны 660 нм для расчета индекса флуоресценции применяют следующую формулу: $F1=I_{700-800}/I_{650-670}$, где F1 - индекс флуоресценции биоткани (отн.ед.), $I_{700-800}$ - площадь под спектром флуоресценции хлорина е6, $I_{650-670}$ - площадь под спектром обратно рассеянного лазерного излучения.

Фотодинамическая терапия проводится с использованием полупроводникового лазера с длиной волны 660 нм и максимальной выходной мощностью лазерного излучения 1,5 Вт в непрерывном режиме воздействия. Плотность мощности лазерного излучения варьируется от 0,1 до 0,5 Вт/см^2. Плотность световой энергии при фотодинамической терапии слизистой шейки матки и вульвы составляет 100-300 Дж/см^2.

Доставка лазерного излучение для облучения новообразований шейки матки и вульвы проводится с помощью оптического волокна торцевого типа. Для облучения цервикального канала используется оптическое волокно с цилиндрическим диффузором. После проведения фотодинамической терапии повторно проводится видео-флуоресцентная визуализация новообразований (Фиг. 4) и спектрально-флуоресцентная диагностика тканей (Фиг. 2-3). которые подвергались фотодианамическому воздействию и далее прицельно оценивается фотообесцвечивание фотосенсибилизатора по изменяющимся индексам флуоресценции. При достижении фотообесцвечивания фотосенсибилизатора на у ровне 60-80% световое воздействие на сенсибилизированные ткани прекращается.

Краткое описание чертежей

Изобретение иллюстрируется следующими рисунками.

На Фиг. 1 приведены изображения слизистой шейки матки пациента до

фотодинамической терапии: а. Черно-белый режим; б. Цветной режим: в. Совмещенный режим (в верхнем левом углу изображения отображается индекс контрастности в отн.ед.).

На Фиг. 2 приведены спектры флуоресценции нормальной и патологической слизистой шейки матки пациента до и после фотодинамической терапии в исследуемых зонах. а. Зона 1; б. Зона 2; в. Зона 3; г. Зона 4.

На Фиг. 3 приведена диаграмма индексов флуоресценции для каждой исследуемой зоны шейки матки.

На Фиг. 4 приведены изображения слизистой шейки матки пациента после фотодинамической терапии; а. Черно-белый режим; б. Цветной режим: в. Совмещенный режим (в верхнем левом углу изображения отображается индекс контрастности в отн.ед.).

Предлагаемое изобретение иллюстрируется нижеприведенными примерами

Пример 1

Пациент А., 32 года с дисплазией шейки матки тяжелой степени. Обнаружен вирус папилломы человека 16 типа по результатам ПЦР-диагностики. Исследование было проведено в Университетской клинической больнице №1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Институте кластерной онкологии им. Л.Л. Левшина. Пациент хорошо перенес внутривенное введение препарата Фотолон в дозе 1 мг/кг. Не наблюдалось побочных эффектов и аллергических реакций. До и после фотодинамической терапии проведена видео- и спектрально-флуоресцентная диагностика. С помощью двухканальной видеосистемы получены изображения шейки матки до и после фотодинамической терапии. До фотодинамической терапии индекс флуоресценции в области патологической ткани составил 36 отн.ед., после фотодинамической терапии индекс снизился до 10 отн.ед. Фотообесцвечивание фотосенсибилизатора по результатам видео-флуоресцентной диагностики составило 73%. Это продемонстрировало уменьшение интенсивности флуоресцентного сигнала патологической ткани после фотодинамической терапии, вследствие фотообесцвечивания фотосенсибилизатора, до значений, которые соответствуют нормальной ткани (индекс контрастности ≤10 отн.ед.). В результате спектральной диагностики с возбуждением флуоресценции полупроводниковым лазером с длиной волны 660 нм получены спектры флуоресценции и обратно рассеянного лазерного излучения. Рассчитанный индекс флуоресценции в исследуемой зоне шейки матки до фотодинамической терапии составлял 8,9 отн.ед., а нормальной ткани - 2,2. После фотодинамической терапии, вследствие фотообесцвечивания фотосенсибилизатора, интенсивность флуоресценции снизилась до значения, соответствующего нормальной ткани слизистой оболочки. Индекс флуоресценции патологической ткани после фотодинамической терапии составил 1,9 отн.ед. Фотообесцвечивание фотосенсибилизатора по результатам спектрально-флуоресцентной диагностики составило 79%. Плотность энергии при фотодинамической терапии составляла 200 Дж/см^2, плотность мощности - 0,3 Вт/см^2. Успешное лечение и полная регрессия патологических тканей у пациента были подтверждены морфологическим исследованием материала биопсии шейки матки, взятого у пациента через 3 месяца после фотодинамической терапии. Не наблюдался ранее выявленный тип вируса папилломы человека и признаков дисплазии, и не было противопоказаний для планирования беременности.

Пример 2

Пациент Б., 53 года с преинвазивным раком шейки матки. Обнаружены вирусы папилломы человека 16 и 6 типа по результатам ПЦР-диагностики. Исследование было

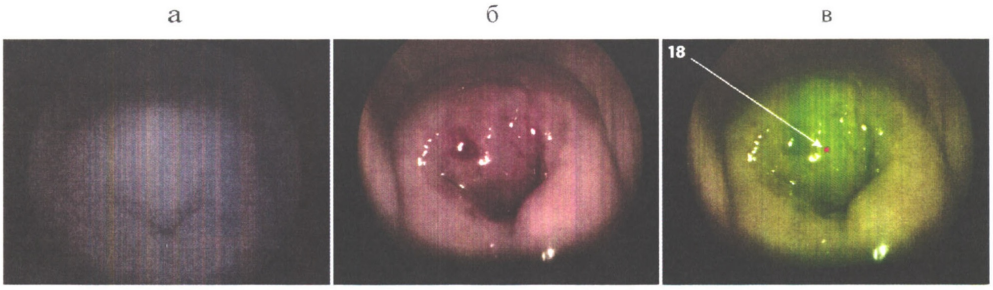
проведено в Университетской клинической больнице №1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Институте кластерной онкологии им. Л.Л. Левшина. Пациент хорошо перенес внутривенное введение препарата Фотолон в дозе 0,8 мг/кг. Не наблюдалось побочных эффектов и аллергических реакций. До и после фотодинамической терапии проведена видео- и спектрально-флуоресцентная диагностика. С помощью двухканальной видеосистемы получены изображения шейки матки до и после фотодинамической терапии. До фотодинамической терапии индекс флуоресценции в области патологической ткани составил 38 отн.ед., после фотодинамической терапии индекс снизился до 1 1 отн.ед. Фотообесцвечивание фотосенсибилизатора по результатам видео-флуоресцентной диагностики составило 71%. В результате спектральной диагностики с возбуждением флуоресценции полупроводниковым лазером с длиной волны 660 нм получены спектры флуоресценции и обратно рассеянного лазерного излучения. Индекс флуоресценции патологической ткани шейки матки до фотодинамической терапии составлял 8,7 отн.ед., а нормальной ткани - 2,5 отн.ед. После фотодинамической терапии, вследствие фотообесцвечивания фотосенсибилизатора, интенсивность флуоресценции снизилась до значения, соответствующего нормальной ткани слизистой оболочки. Индекс флуоресценции патологической ткани после фотодинамической терапии составил 2,6 отн.ед. Фотообесцвечивание фотосенсибилизатора по результатам спектрально-флуоресцентной диагностики составило 70%. Плотность энергии при фотодинамической терапии составляла 200 Дж/см^2. плотность мощности - 0,3 Вт/см^2. По результатам морфологического исследования материала биопсии шейки матки, взятого у пациента через 3 месяца после фотодинамической терапии, не наблюдалось признаков дисплазии шейки матки и ранее выявленных типов вируса папилломы человека.

(57) Формула изобретения

Способ фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы человека, включающий внутривенное капельное введение фотосенсибилизатора хлоринового ряда, отличающийся тем, что внутривенно капельно вводят фотолон, фоторан или фотодитазин в концентрации 0,8-1 мг/кг с экспозицией фотосенсибилизатора в течение 3 часов, проводят световое воздействие источником лазерного излучения с длиной волны 660 нм, с плотностью мощности 0,3-0,5 Вт/см^2 на поверхности патологически измененных биотканей и плотностью световой энергии 200-300 Дж/см^2, до и после фотодинамической терапии совместно проводят видеофлуоресцентную визуализацию границ новообразований и спектрально-флуоресцентную диагностику, при проведении видеофлуоресцентной визуализации определяют индекс флуоресценции в исследуемой зоне путем вычисления среднего значения интенсивности пикселей изображения, полученного с инфракрасной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, и нормирования на параметры инфракрасной камеры, далее вычисляют среднее значение интенсивности пикселей изображения красного канала цветной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, и нормируют на параметры цветной камеры, затем первое значение нормируется на второе, при проведении спектрально-флуоресцентной диагностики индекс флуоресценции рассчитывается как отношение площади под спектром флуоресценции хлорина е6 к площади под спектром обратно рассеянного лазерного излучения по формуле $FI=I_{700-800}/I_{650-670}$, где FI - индекс флуоресценции биоткани, отн.ед., $I_{700-800}$ - площадь под спектром флуоресценции хлорина е6, $I_{650-670}$ - площадь под спектром обратно рассеянного лазерного излучения, и при снижении индексов флуоресценции после фотодинамической терапии на 60-80%

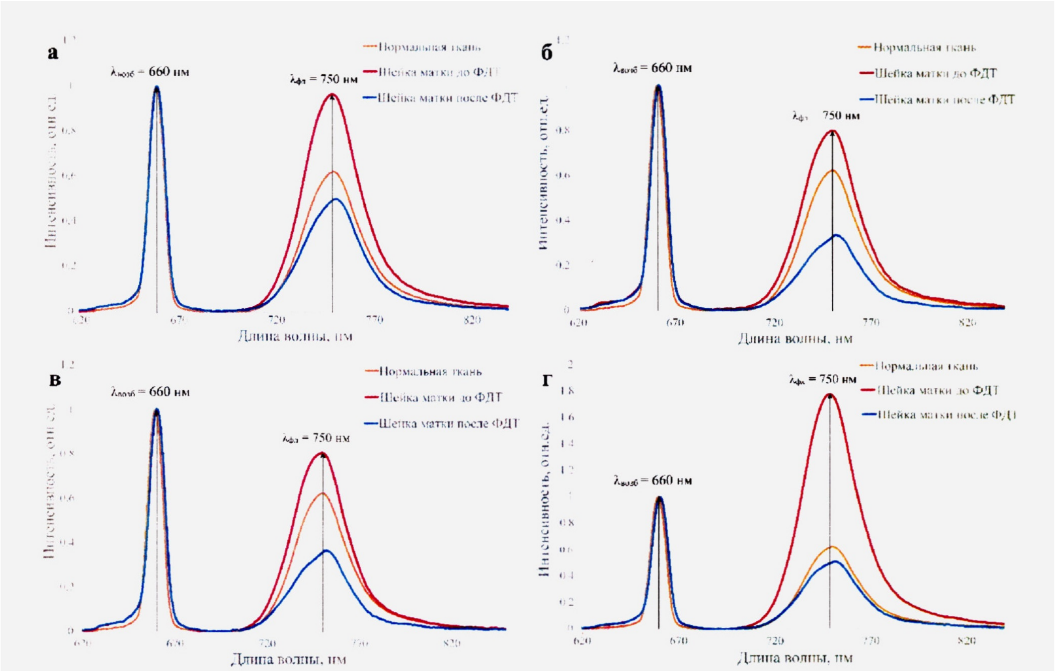
световое воздействие прекращают.

1



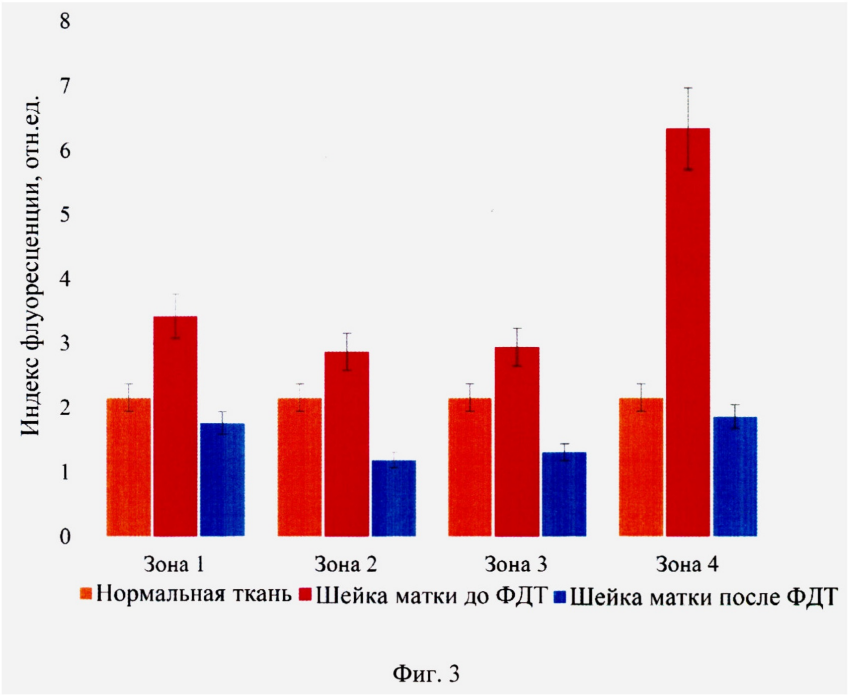
Фиг. 1

2


а
б
в
г
Нормальная ткань
Шейка матки до ФДТ
Шейка матки после ФДТ
λвозб = 660 нм
λфл = 750 нм
Интенсивность, отн.ед.
Длина волны, нм

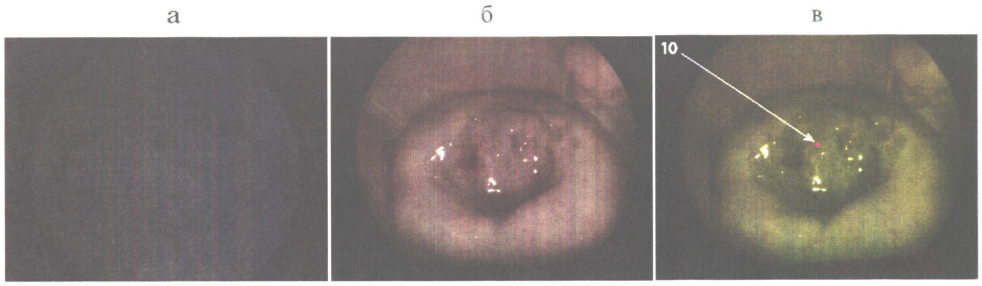
Фиг. 2

3


Индекс флуоресценции, отн.ед.
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Зона 1
Зона 2
Зона 3
Зона 4
Нормальная ткань
Шейка матки до ФДТ
Шейка матки после ФДТ

Фиг. 3

4



Фиг. 4