

УДК 535.37+541.14

Самцов М. П.¹, Тарасов Д. С.¹, Луговский А. П.¹, Белько Н. В.¹, Воропай Е. С.¹,
Петров П. Т.², Зильберман Р. Д.², Савин А. О.²

ТРИКАРБОЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ ДЛЯ ФОТОТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКИ

¹ Научно-исследовательское учреждение «Институт прикладных физических проблем имени А. Н. Севченко» Белорусского государственного университета

² Институт биоорганической химии НАН Беларуси

Результаты исследований эффективности ФДТ с использованием разрабатываемого фотосенсибилизатора на основе трикарбоцианинового красителя и перспективности данной разработки

Развитие метода фотодинамической терапии (ФДТ) и внедрение его в различные сферы медицинской практики: онкологию, офтальмологию, гинекологию, урологию, стоматологию и др. связано с появлением в последнее время высокоэффективных фотосенсибилизаторов (ФС) и мощных компактных источников светового излучения. ФДТ является малоинвазивным и органосохраняющим методом лечения. Ранее разработанный ФС «Фотолон» в настоящее время широко используется в РНПЦ «Онкология» для лечения цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки. Излечено более 2 тысяч больных, при этом регрессия составляет 94%. ФДТ сочетает в одной процедуре возможность диагностики и терапии, сохранения анатомической целостности шейки матки и репродуктивной функции.

Расширение сферы применения ФДТ в онкологии требует высоко активных ФС, с большей глубиной проникновения активирующего его светового излучения в опухолевые ткани, с более высоким индексом накопления фотосенсибилизатора в клетках - мишенях по сравнению с существующими.

В значительной степени этим требованиям отвечает разработанный в НИИПФП фотосенсибилизатор на основе трикарбоцианинового красителя с ковалентно связанным низкомолекулярным полиэтиленгликолем [1,2]. Разработана схема синтеза и лабораторный регламент получения данного ФС, прототип лекарственной формы в виде лиофилизированного порошка, содержащего краситель и глюкозу в соотношении 1:30, разработаны методики контроля количественного содержания активного компонента – красителя в лекарственной форме ФС.

В качестве источника излучения в ФДТ на моделях перевивных опухолей использовали полупроводниковый лазер с длиной волны света 750 нм с максимальной световой мощностью 1,6 Вт, а также светодиоды с длиной волны 775-783 нм с максимальной световой мощностью 1 Вт.

Методом лазерной контактной спектроскопии проведено исследование распределения и кинетики накопления ФС в органах и тканях, что позволило изучить уровень накопления ФС в опухолевой ткани асцитной карциномы Эрлиха, карциномы легких Льюиса и меланомы clone M-3 в сравнении со здоровой мышечной тканью. В результате установлено, что в течение 1 часа после внутривенного введения достигается максимальная концентрация ФС в опухолевых тканях и сохраняется до 6 часов, при этом индекс контрастности накопления достигает значений 4-7, т.е. содержание ФС в опухолевых тканях по сравнению со здоровой тканью достигает указанных значений. (У разрешенных к использованию в клинической практике ФС этот показатель составляет 2-2,5).

Оценка противоопухолевой эффективности разрабатываемого ФС осуществлялась путем использования экспериментальных моделей перевиваемых опухолей на лабораторных животных. По коэффициенту торможения роста опухоли (ТРО), динамике роста опухоли и излеченности животных. ТРО характеризует степень замедления роста опухоли в испытуемой группе животных по сравнению с контрольной (срок наблюдения 21 сутки), излеченность – это доля животных в группе, для которых достигнуто полное избавление от опухоли.

Установлено, что излучение полупроводникового лазера с длиной волны 750 нм без дополнительных оптических устройств является в значительной степени неоднородным по сечению светового пучка, освещенность различается в 3-4 раза. Путем использования линзового растрового рассеивателя достигнуто существенное снижение разброса интенсивности, обеспечено снижение этого параметра более чем в 5 раз.

Экспозиционная световая доза света ($\text{Дж}/\text{см}^2$) определялась по средней плотности мощности в пределах светового пятна на поверхности облучаемой ткани и длительности облучения. Для установления наилучших условий фотовоздействия проведены исследования реакции лабораторных животных при изменении плотности мощности падающего излучения в диапазоне 50 - 170 $\text{мВт}/\text{см}^2$ и длины волны в области 668-780 нм. В процессе фотовоздействия использованы экраны для устранения возможности попадания лазерного излучения на иные участки тела мышей кроме опухолевых узлов. В эксперименте на беспородных крысах изучена глубина некроза опухолевой ткани перевивных опухолей: саркомы М-1, альвеолярный рак печени РС-1, лимфосаркомы Плисса (ЛФС). При этом достигался полный некроз опухолей, максимальная глубина поражения достигала 27 мм. Средняя глубина некроза опухолей саркомы М-1 у крыс при воздействии света с длиной волны 780 нм в 1,5 раза больше по сравнению с воздействием светом с $\lambda=740$ нм и в 3 раза больше по сравнению с $\lambda=668$ нм.

Выявлены оптимальные дозы фотосенсибилизатора и экспозиционные дозы фотооблучения для ФДТ злокачественных опухолей. Показано, что наибольшая противоопухолевая активность фотосенсибилизатора проявляется при введении 10,7 мг/кг красителя для мышей с перевивной опухолью, штамм карцинома легких Льюиса и на модели перевивных опухолей асцитной карциномы Эрлиха, при плотности мощности излучения 100 $\text{мВт}/\text{см}^2$ для лазера с длиной волны 750 нм и 50 $\text{мВт}/\text{см}^2$ – для светодиода с максимумом излучения на 780 нм. В результате установлено, что у мышей-самцов ICR с привитой асцитной карциномой Эрлиха при воздействии излучением в экспозиционной дозе 180 $\text{Дж}/\text{см}^2$ полупроводникового лазера с $\lambda=750$ нм при плотности мощности 100 $\text{мВт}/\text{см}^2$ или светодиода с $\lambda=780$ нм при плотности мощности 50 $\text{мВт}/\text{см}^2$ при поддержании одинакового числа поглощенных квантов света в единицу времени в единице объема ткани, коэффициент торможения роста опухоли достигает 100 %.

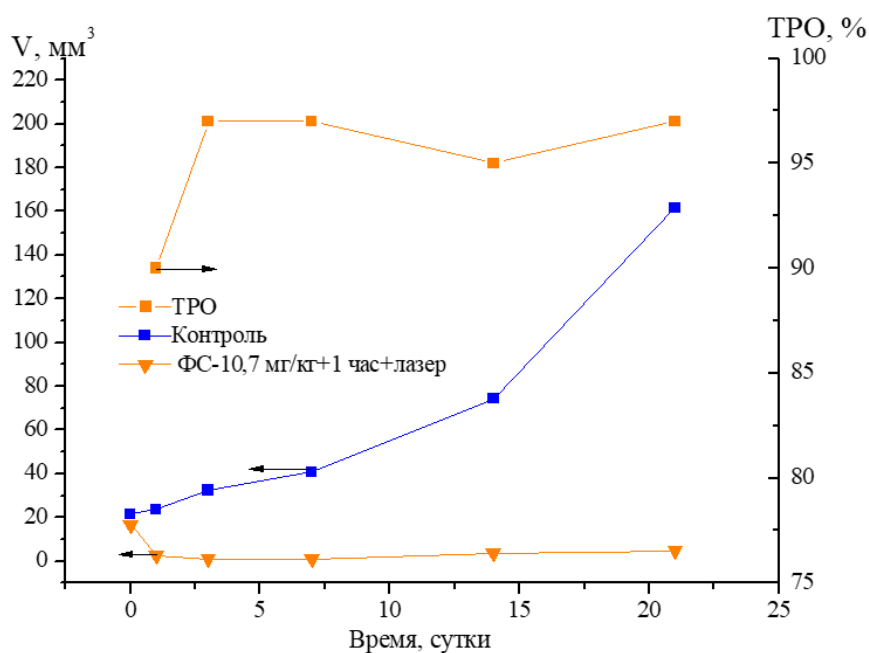


Рисунок 1. Динамика роста опухоли и коэффициента торможения роста опухоли (ТРО) у мышей-самцов линии C57BL/6 с перевивной карциномой легких Льюиса после ФДТ при фотовоздействии излучением лазера $\lambda = 750$ нм с экспозиционной дозой 160 $\text{Дж}/\text{см}^2$ при плотности мощности 100 $\text{мВт}/\text{см}^2$, доза фотосенсибилизатора 10,7 мг/кг

Проведено сравнение противоопухолевой активности фотосенсибилизатора на основе индотрикарбацианинового красителя и разрешенного к использованию в медицинской практике препарата Фотолон на половозрелых инбредных мышках-самках линии C57BL/6. В этом эксперименте использовали асцитную карциному Эрлиха, которую перевивали на наружную поверхность бедра животных. Параметры проведения ФДТ для обоих фотосенсибилизаторов были идентичными по следующим параметрам: одинаковая опухолевая модель, способ введения препарата, параметры светового пятна на поверхности опухолевого узла. С целью обеспечения одинаковых условий фотовоздействия на образцы подвод светового излучения от разных лазеров осуществлялся с помощью одного и того же световода и линзового растрового рассеивателя. Установлено, что новый фотосенсибилизатор обладает противоопухолевой фотодинамической эффективностью такую же как Фотолон, а по индексу контрастности и глубине повреждения опухолевых тканей превосходит его.

Проведены исследования острой и субхронической токсичности лекарственной формы фотосенсибилизатора, установлено отсутствие местного и системного токсического действия при 5-ти кратном внутривенном введении в экспериментальной терапевтической дозе крысам-самцам Wistar.

Проведены исследования направленные на выяснение механизма сохранения фотоактивности разработанного ФС в гипоксических условиях. Для установления возможности образования радикалов проведены исследования по фемтосекундной спектроскопии для молекул в форме тесных контактных пар и изучено влияние особенностей структуры молекул индотрикарбацианиновых красителей на их спектрально-люминесцентные и окислительно-восстановительные свойства.

Совокупность полученных результатов свидетельствует о высокой эффективности ФДТ при использовании разработанного фотосенсибилизатора на основе трикарбацианинового красителя и перспективности данной разработки.

Список литературы

1. Патент на изобретение: Модифицированный полиэтиленгликолем водорастворимый фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии злокачественных опухолей / Самцов М.П., Луговский А.П., Луговский А.А., Петров П.Т., Воропай Е.С., Истомин Ю.П., Каплевский К.Н., Демид Д.И., Тарасов Д.С. // Патент РФ №21252. МПК. С 07D 209/04, С 09В 23/06, А 61Р 35/00; Опубл. 30.08.2017// Афіційны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2017. – № 4. – С. 93.
2. Alexander Lugovski, Michael Samtsov, Kirill Kaplevsky, Petr Petrov, Eugene Voropay, Dmitri Tarasau, Yuri P. Istomin Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics//Journal of Photochemistry and Photobiology A, 2016.V.316, P.31-36.