

Материалы II Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы Фотодинамической терапии и Фотодиагностики»

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительное изучение новых фотосенсибилизаторов различных классов в системе *in vitro*

Плютинская А.Д.¹, Плотникова Е.А.¹,
Якубовская Р.И.¹, Макарова Е.А.²,
Лукьянец Е.А.², Дудкин С.В.², Грин М.А.³,
Мионов А.Ф.³

¹ФГБУ «МНИОИ им.П.А. Герцена»
Минздравсоцразвития, Москва, Россия
²ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва, Россия
³МИТХТ им.М.В. Ломоносова, Москва,
Россия

Актуальность. В настоящее время остается актуальным поиск новых фотосенсибилизаторов, поглощающих в дальней красной и ближней инфракрасной областях спектра, которые могут рассматриваться как перспективные агенты для диагностики и терапии онкологических заболеваний.

Цель. Сравнительное изучение и отбор новых фотосенсибилизаторов, относящихся к различным классам соединений в системе *in vitro*.

Материалы и методы. В работе изучено 50 соединений: производные природного хлорофилла а и бактериохлорофилла а, синтетические тетрагидро- и тетраазапорфирины. Оценены их физико-химические (растворимость в биосовместимых средах с учетом их гидрофильности, амфифильности и гидрофобности, стабильность в растворах без воздействия светом в динамике) и фотофизические свойства (фотоустойчивость) с использованием методов абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии. На опухолевых клетках человека различного эпителиального происхождения (карциномы гортаноглотки (HEp2), легкого (A549), толстой кишки (HT29) и мочевого пузыря (T24)) оценена эффективность фотосенсибилизаторов при фотодинамическом воздействии (ФДВ) в зависимости от концентрации красителей (от 5нМ до 300 мкМ), длительности инкубации клеток с фотосенсибилизаторами до воздействия (от 30 минут до 6 часов), наличие или отсутствие красителей в среде во время облучения. Оптимальным критерием оцен-

ки эффективности соединений при ФДВ выбрана величина $ИК_{50}$ – концентрация фотосенсибилизатора, при которой наблюдалось 50% гибель опухлевых клеток.

Результаты. Показано, что все изученные фотосенсибилизаторы характеризовались хорошей растворимостью в биосовместимых средах. В каждом классе изученных соединений выявлены фотосенсибилизаторы, проявляющие стабильность в бесклеточной среде как в темновых условиях, так и при воздействии светом. При изучении фотоиндуцированной противоопухолевой активности субстанций показано, что эффективность соединений при ФДВ зависела от их химической структуры, природы боковых заместителей, центрального атома металла и коррелировала с физико-химическими свойствами. Фотоиндуцированная активность красителей увеличивалась в следующем ряду: сульфированные производные фталоцианина $\leq$ синтетические тетрагидропорфирины $\leq$ пурпуринимиды $\leq$ бактериопурпуринимиды. Наибольшая эффективность при ФДВ выявлена: из класса хлорина p_6 : у пурпуринимида с гидроксигруппой в имидном цикле ($ИК_{50} = 35 \pm 10$ нМ, λ_{max} 715 нм), из класса бактериохлорина p : у бактериопурпуринимида с гидроксильным заместителем в пирроле А ($ИК_{50} = 30 \pm 10$ нМ, λ_{max} 780 нм) и с О-пропилоксим-N-пропоксизаместителями ($ИК_{50} = 500 \pm 75$ нМ, λ_{max} 800 нм), из класса синтетических тетрагидропорфиринов – безметального тетрабромидного и октабромидного производных ($ИК_{50} = 0,34 \pm 0,07$ мкМ и $0,37 \pm 0,08$ мкМ, λ_{max} 765 нм, соответственно), а из класса тетраазапорфиринов – сульфированного безметального производного и холинового производного цинкового металлокомплекса ($ИК_{50} = 0,19 \pm 0,3$ мкМ, λ_{max} 665 и 692 нм и $0,3 \pm 0,08$ мкМ, λ_{max} 685 нм, соответственно).

Выводы. Таким образом, на основании скрининга из каждого класса фотосенсибилизаторов отобраны наиболее перспективные соединения, характеризующиеся стабильностью в бесклеточной среде в выбранном временном диапазоне, устойчивостью при воздействии светом и высокой эффективностью при ФДВ относительно опухолевых клеток в культуре.

Противоопухолевая эффективность ФДТ с препаратами фотосенс и радахлорин при использовании импульсно-периодического и непрерывного лазерного излучения *in vivo*

Соколов В.В.¹, Панкратов А.А.¹, Венедиктова Ю.Б.¹, Якубовская Р.И.¹, Лепехин Н.М.²

¹ФГБУ «МНИОИ им П.А. Герцена Минздрава РФ», Москва, Россия

²ООО «НПП ВЭЛИТ», Москва, Россия

Цель. Изучение противоопухолевой эффективности методом фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратами фотосенс и радахлорин в зависимости от характера лазерного излучения (импульсно-периодического и непрерывного).

Материалы и методы. В качестве источников лазерного излучения использовали импульсный лазер на парах меди с перестраиваемой длиной волны генерация излучения от 510 нм до 750 нм и частотой следования импульсов 14,2 кГц («Кулон Мед 03») и диодный лазер с длиной волны генерации излучения 675 нм (ЗАО «Биоспек»). Плотность мощности контролировали приборами: «Laser Power Meter», модель OPM-572 и «OPHIR nova II» соответственно.

Исследования проводили на мышах-гибридах F1 самках с саркомой S37. Лечение начинали на 7-е сутки после инокуляции опухолевого материала. Условия проведения процедуры ФДТ как при импульсном, так и при непрерывном облучении были одинаковы: фотосенс вводили за 4 часа до облучения в дозе 2,0 мг/кг, радахлорин – за 1 час до облучения в дозе 5 мг/кг; параметры лазерного (импульсного и непрерывного) излучения: плотность мощности – 100 мВт/см², плотность энергии – 90 Дж/см². При импульсном облучении использовали три режима: «облучение без пауз», «облучение одна секунда, пауза одна секунда» и «облучение две минуты, пауза одна минута». При непрерывном облучении использовали один режим – «облучение без пауз».

Результаты. ФДТ с препаратом фотосенс при использовании импульсного лазерного излучения в режимах: «облучение без пауз» и «облучение одна секунда, пауза одна секунда» приводило к торможению роста опухоли (ТРО) на 74-79% и 88-100%, соответственно, а также увеличению продолжительности жизни (УПЖ) животных на 30% и 61%, соответственно. Эффективность лечебной процедуры при использовании непрерывного лазерного облучения была существенно ниже. Максимальная величина ТРО, равная 75% была отмечена только на 7-е сутки после лечения, а УПЖ не превысило 2%.

Противоопухолевая эффективность ФДТ с радахлорином при использовании как импульсного, так и

непрерывного лазерного излучения была сопоставимой: ТРО колебалось от 91% до 100%, а УПЖ от 39% до 56%.

Получены предварительные результаты клинических испытаний ФДТ с радахлорином при поверхностной базалиоме кожи лица /1/, при раннем раке бронха /1/, пищевода /2/ и желудка /2/ с импульсно-периодическим режимом лазерного излучения (0,2 секунды лазерного облучения с интервалом 0,2 секунды при дозе радахлорина 0,6-0,8 мг/кг в.т. с интервалом перед лазерным облучением 3 часа и плотностью энергии 150-180 Дж/см²). Во всех случаях достигнута полная регрессия опухоли с высокой селективностью повреждения опухолевой ткани и с минимальной воспалительной реакцией окружающей ткани.

Выводы. ФДТ с препаратом фотосенс при использовании импульсного лазерного излучения у мышей с саркомой S37 оказывала значительно более выраженное противоопухолевое действие по сравнению с ФДТ при использовании непрерывного режима лазерного излучения при одинаковых условиях проведения этой лечебной процедуры. Терапевтическая эффективность ФДТ с препаратом радахлорин была одинаково высокой при облучении опухолевого узла как импульсным, так и непрерывным лазерным излучением. Целесообразно продолжить клинические испытания методики ФДТ с импульсно-периодическим режимом лазерного излучения и различными фотосенсибилизаторами с оценкой ее эффективности (выраженность регрессии опухоли и селективность воздействия на опухолевую ткань) в сравнении со стандартными режимом непрерывного лазерного облучения.

Аминоамиды в ряду бактериохлорофилла *a* и их фотоиндуцированная активность в системах *in vitro* и *in vivo*

Якубовская Р.И.¹, Плотникова Е.А.¹, Морозова Н.Б.¹, Грин М.А.², Миронов А.Ф.²

¹ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва, Россия

²МИТХТ им. М.В. Ломоносова Минобрнауки РФ, Москва, Россия

Введение. На протяжении последних лет проводится активный поиск среди фотосенсибилизаторов (ФС) бактериохлороинового ряда, поглощающих в дальней красной и ближней инфракрасной областях спектра, которые обеспечивают воздействие на пораженную ткань на глубине более 2 см и открывают возможность лечения объемных и глубокозалегающих опухолей.

Цель. Изучение новых аминокамидных производных бактериохлорофилла *a* в системах *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Исследуемые ФС: (1) – метиловый эфир 13¹-(4-аминобутилкарбомойл) и (2) – метиловый эфир 13¹-(4-аминооктилкарбомойл) бактериохлорофилла *a*. Проведено сравнительное изучение фотоиндуцированной активности и темновой цитотоксичности ФС относительно опухолевых клеток человека HEp2 и A549 в зависимости от концентрации (от 15 до 1000 нМ) и времени инкубации до воздействия (от 30 минут до 6 часов), в присутствии и отсутствии красителей в среде во время светового воздействия при плотности энергии 10 Дж/см². *In vivo* исследования проведены на интактных мышах и мышах с саркомой S37. Фотодинамическую терапию (ФДТ) проводили на 7-ой день роста опухоли через 0,5 часа после введения ФС в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг. Для облучения использовали светодиодный источник с длиной волны 759±14 нм, плотность энергии 150 Дж/см².

Результаты. Бактериоаминокамиды (1) и (2) проявили высокую фотоиндуцированную активность в отношении опухолевых клеток HEp2 и A549, которая достигала своего максимума при 4-часовой инкубации (ИК₅₀ ФС (1) составляла 32±3 нМ и 30±2 нМ, а ФС (2) – 43±3 нМ и 35±2 нМ, соответственно). Удаление красителей из культуральной среды перед облучением не снижало эффективность фотодинамического воздействия, что косвенно свидетельствует о проникновении бактериоаминокамидов в клетки и накоплении в клеточных органеллах. Без светового воздействия ФС не оказывали цитотоксического действия на клетки в культурах.

Флуоресцентный анализ показал, что при системном введении оба фотосенсибилизатора имели схожую фармакокинетику: в крови циркулировали в течение 1 суток, в коже и мышце – до 3 суток, в основных внутренних органах (печень, почки, селезенка) – более 3 суток в следовых количествах. Бактериоаминокамиды выводились из организма млекопитающих преимущественно через печень с желчью и почки с мочой.

Максимальная флуоресцентная контрастность бактериоаминокамидов относительно кожи и мышцы выявлена через 0,5 часа и составляла 3,0±0,3 и 2,1±0,6, соответственно.

Оба соединения обладали высокой фотоиндуцированной противоопухолевой активностью: для соединения (1) в дозе 2,5 мг/кг ТРО составляло 100%, КИ – 100%, а для соединения (2) в дозе 5,0 мг/кг: ТРО 91,6–100%, УПЖ – 170,8%, КИ до 66,7%.

Вывод. Таким образом, аминокамидные производные бактериохлорофилла *a*, имеющие максимум поглощения в длинноволновой области спектра, обладают высокой фотоиндуцированной активностью в системах *in vitro* и *in vivo*, быстро выводятся из организма и представляют интерес для дальнейшего изучения.

Создание на основе липосомальных систем доставки лекарственной формы фталоцианинового фотосенсибилизатора Тиосенса

Санарова Е.В.¹, Смирнова З.С.¹, Полозкова А.П.¹, Борисова Л.М.¹, Киселева М.П.¹, Орлова О.Л.¹, Ланцова А.В.¹, Оборотова Н.А.¹, Игнатъева Е.В.¹, Меерович Г.А.²

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва, Россия

²ЦЕНИ ИОФ им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

С целью введения в клиническую практику новых противоопухолевых фотосенсибилизаторов в лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДТО ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН создается липосомальная лекарственная форма (ЛЛФ) отечественного инфракрасного фотосенсибилизатора тиосенса.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования выступает гидрофобная субстанция тиосенса, синтезированная во ФГУП «ГНЦ «НИОПИК». Многослойные липосомы с тиосенсом получали «пленочным» методом, с последующим измельчением везикул до нужного размера на гомогенизаторе высокого давления Microfluidizer M-110S. Для повышения стабильности полученной липосомальной дисперсии фотосенсибилизатора проводили ее лиофилизацию с добавлением в качестве криопротектора сахарозы. Противоопухолевую активность фотодинамической терапии (ФДТ), проводимой с применением ЛЛФ тиосенса изучали на опухоли Эрлиха. Критерием оценки эффективности являлось торможение роста опухоли (ТРО, %).

Результаты. Доклинические исследования, направленные на создание ЛЛФ тиосенса показали, что применение липосомальных систем доставки не только позволяет вводить данный гидрофобный препарат внутривенно, но также улучшает его фармакокинетический профиль. При изучении стабильности липосомального тиосенса по физико-химическим показателям и эффективности ФДТ в отношении переносимых опухолей мышей в течение 2 лет показано отсутствие значимых изменений показателей качества и сохранение значений ТРО на высоком уровне (более 65%).

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о целесообразности применения липосом в качестве систем доставки тиосенса в опухолевую ткань.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических,

инфекционных и других опасных заболеваний» при финансовой поддержке Правительства г. Москвы.

Противовирусный эффект фотодинамической терапии в эксперименте *in vitro*

Хашукоева А.З., Свитич О.А.,
Маркова Э.А., Хлынова С.А.
ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России, Москва, Россия
ФГБУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» РАМН,
Москва, Россия

Введение. Доказана этиологическая роль герпесвирусной инфекции, в частности, вируса простого герпеса 2 типа (ВПГ-2) и цитомегаловируса в патологии и привычном невынашивании беременности. Фотосенсибилизированная фотомодификация крови (ФМК) – высокотехнологичный вариант фотодинамической терапии (ФДТ), основанный на использовании фотодинамического повреждения клеток в ходе фотохимических реакций. Установлена возможность фотодинамической инактивации оболочечных вирусов. Данный факт послужил к проведению экспериментальных *in vitro* исследований по противовирусной ФДТ при герпесвирусной инфекции.

Цель. Изучение и оценка противовирусной эффективности фотосенсибилизированной ФМК при герпесвирусной инфекции.

Материалы и методы. Проводили заражение культуры клеток Vero вирусом простого герпеса 1 (ВПГ-1) и 2 (ВПГ-2) типов. Дозы заражения для ВПГ-1 составили 6,0, 5,0, 4,0 ТЦД₅₀/0,1 мл, и для ВПГ-2 – 4,5, 3,5, 2,5 ТЦД₅₀/0,1 мл. После инфицирования в полученную систему вводили раствор фотосенсибилизатора фотодитазин в различных концентрациях (от 10 до 200 мкг/мл). Затем проводили лазерное облучение. В эксперименте применяли аппарат физиотерапевтический «АФС» (ООО «Полиороник», λ 662 нм, Рвых 180 мВт). Использовали различные дозы лазерного облучения от 0,285 до 10,62 Дж/см². Также изменяли время инкубации до и после облучения. Таким образом, для изучения механизмов фотодинамического воздействия на инфицированную ВПГ культуру клеток и оценки противовирусной эффективности фотосенсибилизированной ФМК была разработана определенная схема проведения экспериментов.

Результаты. Были подобраны оптимальные условия экспериментов (концентрация фотодитазина 10 мкг/мл, доза лазерного облучения 1,8 Дж/см², время облучения 30 сек, соблюдение инкубации до и после облучения – не менее 30 мин) для реализации проти-

вогерпетического эффекта ФДТ *in vitro*. Комплексное воздействие лазерного облучения и фотосенсибилизатора на культуру клеток, инфицированных ВПГ-1 и ВПГ-2, приводило к достоверному снижению титра вируса более чем на два порядка (в 100-1000 раз).

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о наличии противовирусной эффективности фотодинамического воздействия на модели *in vitro*. Экспериментальные данные являются обоснованием к клиническому изучению применения фотосенсибилизированной ФМК у пациенток с привычным невынашиванием беременности.

Конъюгат природного хлорина е6 с бор-содержащими наночастицами вызывает фотопероксидацию липидов в мембранах лизосом и протеолиз

Ефременко А.В.^{1,2}, Феофанов А.В.^{1,2},
Грин М.А.³, Миронов А.Ф.³, Сиваев И.Б.⁴,
Брегадзе В.И.⁴

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

²Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³МГУ тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

Введение. Конъюгат природного хлорина е6 с бор-содержащим нанокластером эффективно накапливается в лизосомах и вызывает фотоиндуцированную цитотоксичность клеток A549 в наномолярном диапазоне.

Цель работы. Получить данные о механизмах фотодинамического воздействия наноконъюгата на уровне клеток, включая воздействие на клеточные структуры, способность влиять на уровень активности клеточных протеаз, вызывать перекисное окисление липидов в клетках A549.

Материалы и методы. Исследования в живых клетках проводились методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Для определения фотопероксидации липидов в клетках использовали сенсор перекисного окисления липидов BODIPY® 581/591 C11. Протеазную активность в цитоплазме клеток после инкубации их с наноконъюгатом и дальнейшего облучения регистрировали при помощи BZipAR.

Результаты. Конъюгат природного хлорина е6 с бор-содержащим кластером в наномолярных концентрациях вызывает фотопероксидацию липидов в мембранах лизосом и протеолиз, приводящих к фотоиндуцированной гибели клеток.

Выводы. Фотодинамический эффект бор-содержащего наноконъюгата связан с перекисным окислением липидов лизосомальных мембран с последующим разрушением лизосом и гибелью клеток.

Эффективность фотодинамической терапии экспериментальной опухоли М-1 с фотосенсибилизатором борированный хлорин липосомальный лиофилизат

Каплан М.А., Осипчук Ю.С., Дрожжина В.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медицинский радиологический научный центр» Минздрава России, Обнинск, Россия

Цель исследования. Изучение эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) саркомы М-1 у крыс в зависимости от дозы фотосенсибилизатора (ФС), при плотности энергии 150 Дж/см² и плотности мощности 0,25 Вт/см² лазерного излучения.

Материалы и методы. Исследования были проведены на беспородных крысах массой 150-180 г. Животные были разделены на группы в соответствии с дозой ФС. Контролем служили интактные животные-опухоленосители. Опухоль перевивали под кожу в область бедра в виде кусочков. В опыт крыс брали на 7-8-ой день при диаметре опухоли 0,7-1,0 см. В качестве ФС использовали борированный хлорин липосомальный лиофилизат, который вводили внутривенно в дозах 0,75; 1,25; 2,5 и 5,0 мг/кг. Через 3,5 часа опухоль облучали лазером. Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2» с длиной волны 661±1 нм. Диаметр светового пятна составлял 1,5 см. Облучение проводили под общим наркозом (2,5% раствор тиопентала натрия). Эффективность ФДТ оценивали: по коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К); по проценту полной регрессии опухоли (ПР%) и торможению роста опухоли (ТРО%) в течение 21 суток. Затем за животными вели наблюдение в течение 50 суток (учета времени заживления кожных язв и возможных рецидивов опухоли).

Результаты. После проведения ФДТ с борированным хлорином липосомальным лиофилизатом в дозах 1,25; 2,5 и 5,0 мг/кг на протяжении 21 суток у всех животных была полная регрессия опухоли. При дозе 0,75 мг/кг на 21-е сутки у 2 животных из 14 наблюдался рецидив опухоли. Наблюдение за животными в течение 50 суток выявило рецидивы опухоли у 2 крыс при дозе 0,75 мг/кг на 24-е и 34-е сутки, у одной крысы из 10 с дозой 1,25 мг/кг на 32-е сутки после ФДТ. В

контроле имел место прогрессирующий рост опухоли по всем срокам исследования.

Таким образом, минимальная доза ФС борированного хлорина липосомального лиофилизата приводящая к полной регрессии саркомы М-1 у 100% животных составила 2,5 мг/кг, при плотности энергии лазерного излучения 150 Дж/см² и плотности мощности 0,25 Вт/см² (при наблюдении за животными в течение 50 суток после ФДТ).

Хлоринаминамид-1 в сочетанной фотодинамической и лучевой терапии саркомы М-1

Каплан М.А., Каширцева И.В.,
Михайловская А.А., Малыгина А.И.
ФГБУ МРНЦ Минздрава России, Обнинск, Россия

Цель. Разработка экспериментальной методики фотодинамической терапии саркомы М-1 в сочетании с лучевой терапией.

Материалы и методы. Исследования проведены на 49 самках беспородных крыс с перевитой подкожно в область бедра опухолью – саркомой М-1. В качестве фотосенсибилизатора использовали препарат хлоринового ряда хлоринаминамид-1 в дозе 1,25 мг/кг (внутрибрюшинное введение). Источником излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2» с длиной волны 662 нм. Доза лазерного облучения (Е) составляла 150 Дж/см² и 300 Дж/см², плотность мощности (ps) 0,34 Вт/см² или 0,51 Вт/см². В качестве источника гамма-излучения использовали аппарат «Луч-1», доза лучевой нагрузки – 20 Гр.

Эффективность лечения оценена по коэффициенту продолженного роста и проценту полной регрессии опухоли в сравнении с контрольной группой.

Животные были разделены на пять групп: четыре опытных и одна контрольная, которую составляли интактные крысы-опухоленосители. Различным группам экспериментальных животных было проведено лечение при следующих условиях:

- 1) ФДТ (Е=150 Дж/см², ps = 0,34 Вт/см²) затем через 48 часов γ-облучение;
- 2) γ-облучение, затем через 48 часов ФДТ (Е=150 Дж/см², ps = 0,34 Вт/см²);
- 3) ФДТ (Е=300 Дж/см², ps = 0,51 Вт/см²), затем через 48 часов γ-облучение;
- 4) γ-облучение, затем через 48 часов ФДТ (Е=300 Дж/см², ps = 0,51 Вт/см²).

Результаты. По полученным данным было установлено, что оптимальной схемой лечения является: γ-облучение, затем через 48 часов ФДТ (Е=300 Дж/см², ps = 0,51 Вт/см²). Процент полной регрессии до-

стигал 90%, коэффициент абсолютного прироста опухоли на 21-е сутки равнялся 0,00 по сравнению с контрольной группой (81,94).

Выводы. Оптимальной схемой лечения (полная регрессия до 90%) при использовании сочетания ФДТ и лучевой терапии саркомы является: γ -облучение (доза 20 Гр), затем через 48 часов ФДТ с фотосенсибилизатором хлоринаминамид-1 в дозе 1,25 мг/кг, доза лазерного излучения 300 Дж/см², плотность мощности лазерного излучения 0,51 Вт/см².

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте

Бурмистрова Н.В., Каплан М.А.,
Малыгина А.И. Пономарев Г.В.
ФГБУ МРНЦ Минздрава России, Обнинск,
Россия

Введение. Одним из важных вопросов фотодинамической терапии является повышение селективности накопления фотосенсибилизатора в опухоли. С целью решения этой проблемы используются разные приемы. Основными являются химическая модификация периферических заместителей сенсибилизатора и использование липосомальных форм препаратов.

Цель работы. Изучение специфической активности модифицированных фотосенсибилизаторов на основе хлорина е6 для фотодинамической терапии саркомы М-1 крыс.

Материалы и методы. Работа выполнена на 170 беспородных крысах (самки) с перевитой под кожу в область бедра саркомой М-1 и на 80 беспородных мышах (самцы) с имплантированной карциномой Эрлиха. Исследуемый фотосенсибилизатор амидамин хлорина использовали в растворе и липосомальной форме для внутрибрюшинного введения, в пелетах и в виде субстанции с ламифареном для введения per os. Облучение проводили через 1,5 часа после введения сенсибилизаторов на полупроводниковом лазерном аппарате «Аткус-2» (λ – 662 нм).

Результаты. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой эффективности препарата амидамин хлорина в качестве фотосенсибилизатора во всех использованных формах применения. Вместе с тем полученные данные говорят о неоднозначном влиянии формы и способа применения сенсибилизатора на результат фотодинамической терапии. Установлено, что максимальный фотодинамический эффект получен при применении амидамина хлорина в липосомальной форме, отмечена полная регрессия опухоли в 100% случаев. При изучении эффективности раствора амидамина об-

наружена четкая зависимость результата лечения от дозы введенного сенсибилизатора и экспозиционной дозы лазерного излучения. Важно отметить, что снижение плотности мощности лазерного излучения является более эффективным, чем снижение плотности энергии. Введение амидамина хлорина в пелетах позволяет добиться регрессии опухоли при высоких дозах препарата. При исследовании фотодинамической активности субстанции ламифарен-амидамин обнаружено, что препарат статистически значимо снижает коэффициент прироста опухолей по сравнению с контролем.

Вывод. Полученные данные указывают на перспективность применения амидамина хлорина во всех использованных формах для фотодинамической терапии онкологических новообразований.

Новые фотосенсибилизаторы на основе бактериопурпуринида и их фотоиндуцированная противоопухолевая активность

Грин М.А.¹, Пантюшенко И.В.¹,
Плотникова Е.А.², Плютинская А.Д.²,
Малыгина А.И.³, Каширцева И.В.³,
Михайловская А.А.³, Якубовская Р.И.²,
Каплан М.А.³, Мионов А.Ф.¹

¹Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Минздрава РФ, Москва, Россия

³Медицинский радиологический научный центр Минздрава РФ, Обнинск, Россия

Цель работы. В настоящем исследовании решается задача повышения эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) глубокозалегающих опухолей путем создания гидрофобных фотосенсибилизаторов (ФС), представляющих собой наноструктурированные водные дисперсии метиловых эфиров О-алкилоксимов N-алкоксибактериопурпуринимидов, имеющих высокую фотоиндуцированную противоопухолевую активность и обеспечивающих полную излеченность животных-опухоленосителей.

Материалы и методы. Заявляемые ФС получены обработкой бактериопурпурина соответствующими алкоксиаминами с последующим метилированием бактериопурпуринимидов диазومتаном. Противоопухолевая эффективность ФС исследовалась на мышах с карциномой легкого Льюис (LLC) и беспородных крысах с привитой саркомой М-1.

Результаты. Полученные красители являются ИК-фотосенсибилизаторами, поглощающими при 800 нм. При их облучении в бесклеточной среде интенсивность флуоресценции снижалась незначительно, изменений в профиле спектра не отмечено, что говорит о фотостабильности данных ФС. Фармакокинетика препаратов, изученная в эффективной (терапевтической) дозе 5,0 мг/кг, свидетельствует о быстрой циркуляции алкоксибактериопурпинимидов и их выведении из организма млекопитающих в течение 24 часов. При исследовании фотоиндуцированной противоопухолевой активности красителей у животных с карциномой легкого Льюис (LLC) выявлена высокая дозозависимая противоопухолевая эффективность: для дозы 5,0 мг/кг фотосенсибилизатора ТРО составило 75 – 100%, УПЖ 50 – 110% (срок наблюдения 120 суток), излеченность животных достигала 30% – 90%. Оптимальными при лечении саркомы М-1 оказались следующие параметры: доза препарата 5,0 мг/кг, доза лазерного излучения 300 Дж/см². При таких условиях удается достичь полной регрессии опухолей в 100% случаев.

Бактериохлорин-содержащая триада для совместной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии рака

Решетников Р.И.¹, Грин М.А.¹, Харитонов О.В.¹, Козлов А.С.², Красновский А.А.², Феофанов А.В.³, Ермакова Д.Э.³, Мионов А.Ф.¹

¹Московский государственный университет тонких химических технологий

им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

³Институт биорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Цель работы. В настоящей работе синтезирована триада, содержащая два остатка бактериохлорина и дикарбоцианиновый краситель, в качестве модельного соединения-тераностика для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии злокачественных новообразований. Исследованы физико-химические и фотобиологические свойства конъюгата с целью оценки возможности использования подобных соединений в онкологии.

Материалы и методы. Синтез конъюгата реализован путем взаимодействия ¹³C¹-(2-аминоэтилкарбомило)бактериохлорина с *N,N'*-ди(карбоксипентил)дикарбоиндоцианиновым красителем Су 5.5. Структура

полученного соединения доказана с помощью ¹H, ¹³C, а также двумерных ЯМР спектров. Измерены квантовые выходы флуоресценции и синглетного кислорода, а также изучено накопление пигмента в клетках аденокарциномы легкого человека А549.

Результаты. Спектральные данные свидетельствуют о том, что в заявляемом конъюгате происходит эффективный перенос энергии от красителя (661 нм) на бактериохлорин (766 нм). Эффективность такого переноса составляет 70%, поэтому карбоцианин сохраняет способность к собственной флуоресценции в составе конъюгата. Последний с высокой эффективностью генерирует синглетный кислород (квантовый выход – 30-40% в зависимости от области возбуждения) за счет переноса энергии от триплетного состояния бактериохлорина на кислород. Хотя квантовые выходы флуоресценции и генерации синглетного кислорода меньше по сравнению со свободными соединениями, они достаточно высоки в связи с чем полученный конъюгат потенциально пригоден для использования как для фотодинамической терапии, так и для флуоресцентной диагностики опухолей. Было показано, что бактериохлорин-содержащая триада эффективно проникает в клетки А549, накапливается в цитоплазме, но не проникает в ядро.

Спектральные особенности различных органов мышцы и накопления в них фотодитазина на различных временных промежутках

Кузнецова Ю.О.¹, Саидов А.С.², Калягина Н.А.³, Ягудаев Д.М.^{2,4}

¹Национальный Исследовательский Ядерный Университет «МИФИ», Москва, Россия

²Управление делами Президента РФ ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр», Москва, Россия

³ФГБУН «Институт Общей Физики им. А.М. Прохорова РАН», Москва, Россия

⁴ГБУЗ «ГКБ № 51» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Цель. Разработать оптимальный алгоритм анализа динамики накопления фотосенсибилизатора (ФС) фотодитазина в органах и тканях мышцы в соответствии с их оптическими свойствами. Задачей работы являлось определение оптических свойств органов мышцы с введенным ФС и без него, с помощью анализа детектируемых спектральных различий, а также изучение изменений спектральных свойств фотодитазина при длительном (6-24 часа) его нахождении в организме мышцы.

Материалы и методы. Для проведения эксперимента в качестве биологических моделей были выбраны белые лабораторные мыши. Фотосенсибилизатор фотодитазин вводился мышам лимфотропно и внутривенно в концентрации 5 мг/кг в объеме 20 мкл/мышь. В качестве источника излучения для передачи излучения к органам и тканям и возбуждения флуоресценции использовался He-Ne лазер с длиной волны 632,8 нм и выходной мощностью 5 мВт. Детектирование сигнала осуществлялось с помощью лазерного спектроанализатора «LESA-01-BIOSPEC» посредством волоконно-оптического зонда. Сначала проводились измерения спектров диффузного отражения и аутофлуоресценции различных органов мышей, затем – измерения накопления препарата в промежутки времени между 15 минутами и 24 часами. При измерениях зонд находился «в контакте» с тканями мыши.

Результаты. В ходе эксперимента изучены особенности поглощения и рассеяния и проанализирована аутофлуоресценция различных органов и тканей здоровых мышей. Проведено исследование динамики накопления ФС в органах мыши в зависимости от времени. Для каждого исследуемого органа мыши с ФС и для каждой временной точки разработаны алгоритмы анализа и обработки данных, необходимые для расчета индекса флуоресценции.

Выводы. Проведенные исследования позволили определить наиболее эффективный алгоритм обработки и анализа спектральных данных различных органов мышей без содержания ФС и с ФС. Такой метод контроля позволяет оценивать оптические свойства тканей, а также отслеживать накопление ФС во всех органах на всех временных промежутках, избегая интерпретационных ошибок. Полученные результаты показывают перспективность проведения дальнейших исследований на здоровых мышах и мышах с воспалением и новообразованиями с целью выявления наиболее эффективных и минимально токсичных методов воздействия препаратов на ткани и органы.

Сравнение аналитических методов предклинического исследования фотодинамической активности красителей

Красновский А.А.¹, Козлов А.С.¹, Стрижаков А.А.², Любичкий О.Б.², Осипов А.Н.²

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской Академии наук (ИНБИ РАН), Москва, Россия

²ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет Росздрава, Москва, Россия

Актуальность. Известно, что эффективность фотодинамической терапии определяется синглетным кислородом (СК) и свободными радикалами, которые генерируются главным образом триплетными молекулами красителей, возникающими при поглощении красителями световой энергии. Наиболее надежным методом изучения СК служит измерение фотосенсибилизированной красителями собственной инфракрасной (1270 нм) фосфоресценции СК, возникающей при возбуждении красителей в аэробных системах. Однако во многих случаях полезно применение химических ловушек СК.

Задача. Задача настоящей работы состояла в анализе сравнительной эффективности и информативности методов, основанных на измерении фосфоресценции СК и окислении СК химических ловушек в водных системах, содержащих порфириновые фотосенсибилизаторы.

Материалы и методы. Фосфоресценцию измеряли с помощью собранного в лаборатории наносекундного лазерного импульсного спектрометра повышенной чувствительности. Исследованы также часто применяемые химические ловушки, которые пригодны для применения в водных средах – 1,3-дифенилизобензофуран (ДФИБФ), мочевиная кислота (МК), имидазол в сочетании с п-нитрозо-N,N-диметиланилином («метод RNO») и парамагнитная ловушка – темпидон. Об образовании СК при использовании ДФИБФ, МК и RNO судили по падению оптической плотности ловушек. В случае темпидона при реакции с СК образуется стабильный радикал ТЕМПО. Образование этого радикала определяли с помощью ЭПР спектрометра. С целью анализа реальных возможностей этих методов мы оценили их относительную чувствительность к СК.

Результаты. Установлено, что самым чувствительным является метод, основанный на применении ДФИБФ. Относительная чувствительность методов соответствует следующему ряду: ДФИБФ (1), МК (0,151), RNO (0,045), темпидон (0,010), фосфоресценция (0,003). Хотя фосфоресцентный метод имеет меньшую чувствительность, он наиболее информативен, так как показывает не только присутствие СК, но и его кинетические параметры. Химические ловушки не информативны в отношении кинетических параметров СК, но из-за более высокой чувствительности позволяют применять для анализа более низкие дозы оптического излучения. Кроме того, из-за избирательного сродства к гидрофобным или гидрофильным структурам, химические ловушки дают возможность анализировать СК в различных компартментах гетерогенных систем. Наилучшие результаты дает параллельное применение метода ловушек и фосфоресцентного метода.

Работа поддержана грантом Российской Академии Наук «Фундаментальные науки - медицине» и Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ).

Фотохимический анализ абсорбционных свойств кислорода в водных средах в связи с проблемами лазерной терапии

Козлов А.С., Красновский А.А.

Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской Академии наук (ИНБИ РАН), Москва, Россия

Введение. В настоящее время лазерная терапия широко используется в практической медицине, хотя ее фотофизический механизм во многих случаях не ясен. Выдвинута гипотеза, что происходит прямое возбуждение лазерным ИК излучением молекул кислорода, растворенного в клетках и тканях. При этом образуется синглетный кислород (СК), который вызывает фотодинамический эффект, т.е. кислород одновременно служит фоторецептором и окисляющим агентом. Простота и наглядность такого механизма привлекли к нему большое внимание. Однако известно, что интенсивность полос поглощения молекул кислорода очень низка. В естественных условиях они настолько слабы, что их невозможно измерить прямыми спектрофотометрическими методами. В течение последних лет мы разработали методы изучения абсорбционных свойств кислорода, основанные на окислении химических ловушек СК (1,3-дифенилизобензофуран и мочева кислота) при прямом возбуждении молекул кислорода ИК лазерным излучением.

Цель. В данном докладе представлены последние результаты, полученные путем применения этого метода к водным, спиртовым (для сравнения) и гетерогенным водно-детергентным системам.

Результаты. Из сравнительного анализа скоростей фотоокисления ловушек при фотосенсибилизированном порфирином и прямом возбуждении кислорода были получены значения оптической плотности и молярного коэффициента поглощения кислородных молекул, соответствующие полосам при 1273 и 765 нм. Таким образом, показано, что процесс фотовозбуждения кислорода действительно происходит в водных системах. Измерены скорость образования СК при лазерном возбуждении и абсорбционные параметры кислорода. Обсуждается значение полученных данных для лазерной терапии.

Метод предобработки в обратной задаче Монте-Карло определения оптических параметров биологической ткани

Холодцова М.Н.^{1,2}, Лощёнов В.Б.¹, Блондель В.²

¹ИОФ РАН, Москва, Россия

²Universite de Lorraine, Нанси, Франция

Цель. Оптимизировать обратную задачу Монте-Карло (МК). Найти точность определения оптических параметров.

Материалы и методы. Прямая задача моделирования излучения в биологической среде представляет собой распространение излучения через одно волокно-источник и приём в 6 волокон на различных расстояниях. Обратная задача МК была построена на алгоритме Левенберга-Марквардта. В среде Matlab было рассмотрено несколько вариантов сглаживания и аппроксимации зависимости количества детектированных фотонов от расстояния, $I(r)$. Было сгенерировано пространство ошибок (сумма квадратов разницы между кривыми $I(r)$ для каждой пары коэффициентов рассеяния и поглощения $(\mu_s, \mu_a) = (10:1000, 0.1:10)$ [см⁻¹] при фиксированном факторе анизотропии, $g = 0.8$. Были проанализированы медиана и стандартное отклонение от точных значений для 500 симуляций распространения фотонов при $\mu_s = 500$ см⁻¹, $\mu_a = 5$ см⁻¹, $g = 0.8$, обработанных с помощью сочетаний сглаживающей и аппроксимирующей функций. Тем же методом были обработаны $I(r)$ для каждой пары (μ_s, μ_a) .

Результаты. Были получены минимумы пространства ошибок для 500 кривых интенсивности, которые в проекции на плоскость (μ_s, μ_a) распределены вокруг кривой экспоненциального спада. Значения μ_s и μ_a находятся в диапазонах 300-1000 см⁻¹ и 1-10 см⁻¹, соответственно. Сглаживание с помощью взвешенной локальной регрессии и аппроксимация функцией вида $(Ae^{-Bx} + Ce^{-Dx})$ является оптимальным, так как в среднем даёт точное значение оптических параметров (μ_s, μ_a) .

Выводы. Было показано, что решение обратной задачи методом МК может привести к ошибочному восстановлению оптических параметров среды. Для преодоления этой проблемы был предложен способ предварительной обработки зависимости интенсивности от расстояния, который повышает вероятность корректного восстановления оптических параметров.

Накопление фотосенсибилизатора при его лимфотропном и внутривенном введении лабораторным животным с экспериментальной моделью воспаления

Саидов А.С.¹, Ягудаев Д.М.^{1,2}, Брехов Е.И.¹, Калягина Н.А.³, Кузнецова Ю.О.⁴

¹Управление делами Президента РФ ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр», Москва, Россия

²ГБУЗ «ГКБ № 51» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

³ ФГБУН «Институт Общей Физики им. А.М.Прохорова РАН», Москва, Россия

⁴Национальный Исследовательский Ядерный Университет «МИФИ», Москва, Россия

Цель. Определить преимущества и недостатки лимфотропного введения фотосенсибилизатора при наличии воспаления яичка по сравнению с внутривенным.

Материалы и методы. В качестве биологических моделей были взяты белые лабораторные мыши с экспериментальной моделью воспаления яичек. Моделирование асептического воспаления яичек проводилось путем введения 10 мкл 10%-го раствора формалина в яичко. Через 2 суток лабораторным животным подкожно (лимфотропно), в паховую область, и внутривенно вводился фотосенсибилизатор (ФС) фотодитазин в концентрации 5 мг/кг. Детектирование накопления ФС (15-1440 мин) осуществлялось с помощью лазерного электронного спектроанализатора «LESA-01 BIOSPEC» посредством волоконно-оптического зонда с одним освещающим и шестью приемными волокнами (диаметром по 200 мкм). Ткань освещалась с помощью He-Ne лазера (632,8 нм, 5мВт). Освещающий конец волокна находился в контакте с тканями мыши.

Результаты. Проведен сравнительный анализ спектров диффузного отражения и флуоресценции препарата в различные временные промежутки после обоих методов введения. Установлено, что на начальных этапах наблюдения (15-200 мин) интенсивность флуоресценции (ИФ) здоровых яичек при подкожном введении ниже, чем при внутривенном. Однако, для того же временного интервала, ИФ в яичках с моделью воспаления оказалась ниже при лимфотропном введении, чем при внутривенном (в 1,2-1,5 раза). В то же время, было выявлено, что содержание ФС в печени, почках, селезенке также ниже при подкожном введении, чем при внутривенном (в среднем, в 2 раза).

Выводы. Изучено накопление фотосенсибилизатора у лабораторных животных экспериментальной моделью воспаления. Установлено, что при лимфотропном введении наблюдается более избирательное накопление ФС в пораженном яичке по сравнению со здоровым, чем при внутривенном. Кроме того, более низкое содержание ФС в печени, почках, селезенке при лимфотропном введении по сравнению с внутривенным, указывает на снижение гепато-, нефро- и спленотоксичности вводимых препаратов.

Противоопухолевая эффективность соно-фотодинамической терапии глиомы С6 крыс с фотосенсибилизатором фотолон в эксперименте *in vitro* и *in vivo*

Александрова Е.Н., Церковский Д.А., Истомин Ю.П.

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

Цель. Исследовать влияние ультразвукового и лазерного излучения на цитотоксические и цитостатические свойства фотосенсибилизатора фотолон в культуре клеток глиомы С6 и на ортотопической модели экспериментальной глиомы у крыс.

Материалы и методы. Культура клеток глиомы С6 (суспензия/монослой) была подвергнута воздействию ультразвуком (УЗ) (0,88 МГц, 0,2–0,7 Вт/см²) в присутствии/отсутствии фотосенсибилизатора (ФС) фотолон в концентрации 1 мкг/мл. Критерием оценки была выживаемость опухолевых клеток. Ортотопическая модель глиомы С6 была воспроизведена через 11-14 дней после инокуляции опухолевых клеток в область левого бокового желудочка головного мозга. Опухоли подвергались УЗ воздействию через 2,0 часа после предварительного введения фотолон в дозе 2,5 мг/кг через краниотомическое отверстие с использованием аппарата для ультразвуковой терапии BTL5710 Sono (BTL Industries Limited, Great Britain). УЗ воздействие осуществлялось с частотой излучения 0,88 МГц, интенсивностью 0,4; 0,7 и 1,0 Вт/см² в течение 10 минут. Фотооблучение опухолей осуществлялось непосредственно после УЗ воздействия с использованием лазерного аппарата «IMAF-AXICON» (Imaf Axicon, Republic of Belarus) в экспозиционных дозах света 50 и 100 Дж/см². Оценка противоопухолевой эффективности производилась после предварительного окрашивания сосудистого русла опухоли 0,6% раствором синьки Эванса.

Результаты. В эксперименте *in vitro* отмечено увеличение цитотоксичности фотолон в 1,5-2,3 раза после УЗ воздействия, цитостатическая активность ФС не изменялась. В эксперименте *in vivo* процент площадей некрозов в гистотопографических срезах опухолей в группах (фотолон + УЗ) составил 61,04±4,77, 82,65±2,71, 79,71±4,66%; в группах (фотолон + фотооблучение) – 61,42±2,62, 85,52±3,79%. Максимальный процент площадей некрозов был достигнут после комбинированного УЗ воздействия (0,88 МГц; 0,7 В/см²; 10 минут) и фотооблучения в экспозиционной дозе света 100 Дж/см² и составил 100%.

Выводы. Результаты данного исследования подтверждают высокую эффективность соно-фотодинамической терапии в лечении экспериментальных опухолей головного мозга.

Влияние ФДТ на отдельные виды микроорганизмов при воспалении в тканях пародонта

Ефремова Н.Н., Дмитриева Н.А.,
Кречина Е.К., Ярыгина Л.Б.

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» МЗ РФ, Москва, Россия

Введение. В литературе имеются данные, подтверждающие антимикробную эффективность метода фотодинамического воздействия на патогенную микрофлору инфекционного очага [Гельфонд Б.Р., 2001; Яшунский Д.В., 2002; Maisch T. et al., 2004]. Получены положительные результаты лечения гнойных заболеваний мягких тканей, трофических язв [Корабев У.М., 2001] и синуситов [Емельяненко Л.А., Блоцкий А.А., 2001].

Цель исследования. Изучить эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) на аэробные микроорганизмы при воспалительных заболеваниях пародонта.

Материалы и методы. Выделенные у пациентов с гингивитом и пародонтитом аэробные микроорганизмы были представлены в виде смешанной культуры стрептококка, *C.albicans*, *E.faecalis* и *E.coli*. В качестве фотосенсибилизаторов были использованы метиленовый синий 0,5-1,0%-ый, толлуидиновый голубой 0,5-1,0%-ый и фотодитазин 0,5%-ый.

Суточные культуры микроорганизмов (в разведении 1:1000) высевали на чашки Петри с селективными питательными средами. Учет результатов проводили через 24 часа путем измерения зоны задержки роста в области светового воздействия.

Результаты. Оценивая полученные результаты можно отметить, что наибольшая активность лазерного излучения отмечена при световой дозе 100 Дж/см². Эффективность ФДТ с использованием различных фотосенсибилизаторов на изучаемые микробные виды была не однозначной. По отношению к смешанной культуре стрептококков наибольшая активность ФДТ была определена у всех фотосенсибилизаторов, несколько сниженное антимикробное действие ФДТ на *S.faecalis* отмечено при использовании 0,5%-го метиленового синего (эффект был несколько хуже). Зона задержки роста составила до 2,5 см. При воздействии ФДТ на *C.albicans* лучшие результаты установлены при

использовании 0,5%-го фотодитазина. При оценке светового воздействия на кишечную палочку (*E.coli*) наибольший антимикробный эффект отмечен при использовании фотосенсибилизаторов 0,5%-го метиленового синего и 0,5%-го фотодитазина.

Выводы. Таким образом, эффективность ФДТ терапии зависит не только от длины волны светового излучения, но и от световой дозы, используемого фотосенсибилизатора, а также от сложности биологической популяции. Проведенные исследования выявили различия эффективности антимикробного действия ФДТ на изучаемые виды микроорганизмов.

Повышение фотодинамической эффективности фотосенса при введении с поливинилпирролидоном

Меерович Г.А., Каршиева С.Ш.,
Меерович И.Г., Лощенов В.Б., Лукьянец Е.А.
Институт общей физики им. А.М. Прохорова
РАН, Москва, Россия

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина
РАМН, Москва, Россия
ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия

Цель исследования. Рассмотрена возможность совершенствования фотодинамической терапии (ФДТ) с фотосенсибилизатором фотосенс при совместном внутривенном введении с гемодезом (водно-солевой раствор поливинилпирролидона).

Материалы и методы. Изучались растворы фотосенса в физиологическом растворе (0,9%-ый раствор NaCl) и в водно-солевом растворе гемодеза, содержащем 6% поливинилпирролидона с молекулярной массой 12600±2700. В экспериментах использовали мышей линии Balb/c. В качестве модельной опухоли использовали аденокарциному Эрлиха (ELD). Для исследований использовались спектроанализатор ЛЭСА-01-Биоспек и лазер ЛФД-01-670-Биоспек (Биоспек, Россия).

Результаты. Изучение *in vivo* флуоресценции фотосенса показало, что в группе мышей, которой фотосенс вводили в растворе гемодеза, на начальном этапе интенсивность флуоресценции и в опухоли, и в нормальной ткани была примерно в 1,5 раза выше по сравнению с группой, которой вводили фотосенс в физиологическом растворе. Через 24 часа после введения интенсивность флуоресценции в опухоли начала спадать с одинаковым клиренсом для обеих групп. В нормальной ткани клиренс был выше в группе, которой фотосенс вводили в растворе гемодеза, что позволило к восьмым суткам после введения существенно снизить концентрацию фотосенса в коже.

Селективность накопления фотосенса в опухоли по сравнению с нормальной тканью была выше на 40-50% при введении его в растворе гемодеза, чем при введении в физиологическом растворе. Применение фотосенса, разведенного в гемодезе, позволило получить более высокий и длительный противоопухолевый эффект в отношении аденокарциномы Эрлиха (ELD) со значимым увеличением продолжительности жизни мышей.

Выводы. Совместное внутривенное введение фотосенсибилизатора фотосенс с поливинилпирролидоном повышает эффективность ФДТ, предположительно за счет уменьшения агрегации молекул фотосенса, а также способствует повышению селективности накопления фотосенса в опухоли и более быстрому выведению фотосенса из нормальной ткани.

Изучение фотоиндуцированной противоопухолевой активности тозилного производного бактериохлорина с использованием традиционных методов оценки эффективности и метода магнитно-резонансной томографии (МРТ) в системе *in vivo*

Морозова Н.Б.¹, Андреева Т.Н.¹,
Кармакова Т.А.¹, Рубцова Н.А.¹,
Якубовская Р.И.¹, Гуляев М.В.²,
Анисимов Н.В.², Пирогов Ю.А.²,
Лукьянец Е.А.³, Макарова Е.А.³

¹ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена»
Минздрава РФ, Москва, Россия

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия

Цель. Оценка эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) с тозилным производным бактериохлорина ((3-ПуMeOTs)₄BC) у мышей с саркомой S37 традиционными методами и методом МРТ.

Материалы и методы. Работа проведена на мышах гибридах BDF₁, самках с привитой саркомой S37 в 100% метастазирующей в лимфатические узлы (ЛУ). ФДТ проводили на 7-ой день роста опухоли. Фотосенсибилизатор (3-ПуMeOTs)₄BC, относящийся к классу бактериохлоринов ($I_{\text{max}} = 760 \text{ нм}$), вводили внутривенно в дозе 5,0 мг/кг и облучали через 30 минут светодиодным источником красного света с максимумом $759 \pm 18 \text{ нм}$ (плотность мощности 100 мВт/см^2 , плотность энергии 150 Дж/см^2). Эффективность ФДТ оценивали как с использованием общепринятых методик

в экспериментальной онкологии посредством измерения объемов первичных и метастатических опухолей *ex vivo*, так и методом МРТ.

МРТ-исследования проводили на биоспектротографе BioSpec 70/30 USR фирмы Bruker (Германия) с постоянным магнитным полем 7 Тл. В ходе работы оценивали состояние паховых, подмышечных и внутрибрюшинных ЛУ на 5, 12, 19 и 26 сутки роста опухоли. Объем ЛУ рассчитывали с помощью программы Image Analysis. Были получены T1-взвешенные изображения с использованием импульсной последовательности MSME (Multi Spin Multi Echo). Наличие метастатического поражения лимфоузлов подтверждали морфологически.

Критериями эффективности ФДТ при обоих подходах являлись ТРО (%) – торможение роста опухоли, ИТМ (%) – индекс торможения метастазирования, ЧМ (%) – частота метастазирования, а также УПЖ (%) – увеличение продолжительности жизни и КИ (%) – критерий излеченности животных.

Результаты. Показано, что (3-ПуMeOTs)₄BC обладает высокой фотоиндуцированной противоопухолевой активностью. Так, по оценке традиционными методами ТРО составляет 90,1–100%, УПЖ – 188,7%, КИ – 66,7%, ЧМ – 33,7%, ИТМ – 94,5%. Метод МРТ с морфологическим подтверждением поражения ЛУ дает полную картину развития опухолевого процесса у мышей с саркомой S37 после лечения методом ФДТ в динамике прижизненно. Анализ результатов позволяет зафиксировать ФДТ с (3-ПуMeOTs)₄BC выраженную эффективность ФДТ с (3-ПуMeOTs)₄BC: первичная опухоль подвергается полной резорбции; регионарный ЛУ, в котором на 5 сутки выявлялись опухолевые клетки, постепенно уменьшается в размерах и на 26 сутки метастазы в нем уже не регистрируются. Размеры остальных лимфоузлов остаются в норме и метастазы в них также не регистрируются. Внутрибрюшинные ЛУ у леченных животных не визуализируются при всех сроках наблюдения. У контрольных животных, напротив, развивается картина распространенного опухолевого процесса, которая включает рост первичной опухоли, увеличение в размерах всех групп лимфоузлов и поражение их метастазами, что подтверждено морфологически.

Выводы. Производное бактериохлорина (3-ПуMeOTs)₄BC обладает высокой фотоиндуцированной противоопухолевой активностью. Метод МРТ позволяет наглядно прижизненно оценить развитие первичного и метастатического поражения в лимфоузлах у мышей с опухолями в динамике, что может быть использовано для оценки эффективности противоопухолевого воздействия на минимальном количестве животных и получении объективной картины результатов проведенного лечения.

Экспериментальное исследование фармакокинетики хлорина е6, модифицированного амфифильными полимерами, методами флуоресцентного имиджинга *in vivo* и тканевой экстракции *ex vivo*

Ширманова М.В.¹, Гаврина А.И.²,
Аксенова Н.А.³, Соловьёва А.Б.³
Загайнова Е.В.¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

³Институт химической физики РАН, Москва, Россия

Актуальность. Актуальной задачей во флуоресцентной диагностике и фотодинамической терапии является поиск фотосенсибилизаторов (ФС) с высокой избирательностью накопления в опухоли и быстрым выведением из нормальных тканей. В качестве перспективных ФС, обладающих высокой фотодинамической активностью и флуоресценцией в красной области спектра, рассматриваются хлорины.

Цель. Изучение фармакокинетики хлорина е6, модифицированного амфифильными полимерами, на животных с опухолями.

Материалы и методы. Работа выполнена на мышцах линии СВА, самках, с подкожно привитой опухолью – рак шейки матки человека РШМ-5. Исследованы комплексы хлорина е6 с поливинилпирролидоном (ПВП), и поливиниловым спиртом (ПВС), плурониками F108 и F127. ФС вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг. Динамику накопления ФС в опухоли *in vivo* оценивали методом поверхностного флуоресцентного имиджинга на установке IVIS-Spectrum (Caliper Life Sciences, США). Абсолютное содержание ФС в плазме крови и экстрактах опухоли и нормальных тканей определяли спектрофлуориметрически.

Результаты. Анализ флуоресценции опухолей *in vivo* показал, что модификация хлорина е6 амфифильными полимерами приводит к увеличению времени удержания ФС в опухоли на максимальном уровне с 2 до 4 часов. При этом из всех исследуемых комплексов только модификация ПВС повышала избирательность накопления ФС в опухолевой ткани. Для комплекса с ПВС обнаружено увеличение содержания в опухоли в максимуме накопления до 10,67 мкг/г по сравнению с чистым хлорином, где оно составляло 5,08 мкг/г, и снижение содержания в коже с 1,47 до 0,65 мкг/г соответственно. Для всех форм ФС максимальные кон-

центрации определены в кишечнике и фекалиях, минимальные – в мышцах, яичниках и сердце.

Вывод. Проведенные исследования демонстрируют перспективность модификации хлорина е6 поливиниловым спиртом и указывают на необходимость дальнейшего изучения фотодинамической активности комплекса е6-ПВС в опухолях.

Спектроскопический метод определения концентрации протопорфирина IX и гемоглобина для интраоперационного определения границ опухоли

Савельева Т.А.¹, Лощенов В.Б.¹,
Горяйнов С.А.², Шишкина Л.В.²,
Потапов А.А.²

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²НИИ нейрохирургии им. академика Бурденко РАМН, Москва, Россия

Цель. Создание метода одновременного анализа спектров флуоресценции и диффузного отражения лазерного и широкополосного излучения для определения концентрации флуоресцентного опухолевого маркера, гемоглобина, а также изменения рассеивающих свойств опухолевых тканей в клинических условиях.

Материалы и методы. Было проведено численное и физическое моделирование взаимодействия лазерного и широкополосного излучения с биологическими тканями и оптическими фантомами для различных граничных условий, реализуемых при спектроскопических измерениях в клинических условиях. Для регистрации комбинированных спектров использован спектроанализатор ЛЭСА-01-БИОСПЕК, оснащенный перекрестной системой фильтров и специальным оптоволоконным зондом, позволяющими разделить видимую область спектра на диапазоны регистрации спектра диффузного отражения и флуоресценции.

Результаты. Разработан алгоритм анализа комбинированных спектров, применение которого в клинических условиях продемонстрировало повышение чувствительности с 78% до 96%, специфичности – с 60% до 82% по сравнению с методом флуоресцентной визуализации распределения в тканях протопорфирина IX с использованием микроскопа.

Выводы. Предложен метод комбинированного анализа таких маркеров опухолевых изменений как концентрация 5-АЛК индуцированного протопорфирина IX, концентрация и степень оксигенации гемоглобина, а также структурные изменения, происходящие в тканях на клеточном и субклеточном уровне. Показано повы-

шение эффективности определения границ инфильтрирующих опухолей за счет учета нескольких параметров по сравнению с анализом одного параметра – концентрации 5-АЛК индуцированного протопорфирина IX.

Флюоресцентные методы контроля фотодинамической терапии артрозов с применением наночастиц фталоцианина алюминия (экспериментальное исследование)

Макаров В.И.¹, Бородкин А.В.¹,
Николенко В.Н.², Жарова Т.А.²,
Иванников С.В.², Лощёнов В.Б.¹

¹ФГБУН Институт общей физики
им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Первый Московский Государственный
Медицинский Университет имени И.М. Сече-
нова, Москва, Россия

Цель. Оценка возможности применения наночастиц фталоцианина алюминия для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии (ФДТ) заболеваний крупных суставов и разработка методов флюоресцентного контроля за фотодинамической терапией артрозов крупных суставов *in vivo*.

Материалы и методы. Исследование проводилось на экспериментальных животных – кроликах (самцах). В оба коленных сустава в суставную сумку вводилось 0,5 мл коллоида наночастиц AlPc (nAlPc) с характерными размерами 200-300 нм. На одном коленном суставе предварительно создавалась модель гонартроза, другой сустав оставляли здоровым с целью выявления разницы в интенсивности и скорости «активации» наночастиц AlPc в патологии и норме. Спектры флюоресценции измеряли в здоровой и патологически измененной биоткани сустава до введения nAlPc, через 1,5 часа, а также через 2, 7 и 10 суток после введения nAlPc. Процедура ФДТ проводилась через 7 и 10 суток после введения nAlPc с использованием полупроводникового лазера (длина волны 671,6 нм) и волоконно-оптического катетера с сапфировой иглой и диффузором на конце для более равномерного температурного распределения внутри сустава. Световая доза составила 30 Дж/см³.

Результаты. Интенсивность флюоресценции в патологически измененном суставе через 2 суток после введения наночастиц AlPc в 5-7 раз выше, чем в здоровом суставе. Данный результат позволяет утверждать, что процесс «активации» nAlPc интенсивно происходит только в той биоткани, где идут воспалительные процессы. Максимальная интенсивность флюоресценции в патологически измененном суставе наблюдалась через 2 суток после введения наноча-

стиц, а в здоровом суставе – через 7 суток. Интенсивность флюоресценции после светового воздействия снизилась в 3 раза, практически до показателей здоровой биоткани сустава.

Вывод. Показано, что оптико-спектральные методы могут эффективно использоваться для высокоточной оценки динамики развития артрозов или ингибирования воспалительного процесса в суставе по интенсивности флюоресценции, индуцированной наночастицами AlPc.

Применение фотодинамической терапии в профилактике развития спаечной болезни при кардиотомном синдроме в эксперименте

Макаров В.И.¹, Васильченко С.Ю.¹,
Цыганков Ю.М.², Городков А.Ю.²,
Бокерия Л.А.², Кузьмин С.Г.³

¹ФГБУН Институт общей физики
им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²ФГБУ «Научный центр сердечно-
сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева»,
Москва, Россия

³ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия

Цель. Оценка возможности применения фотодинамической терапии (ФДТ) в профилактике спаечной болезни при перикардотомии в эксперименте на крысах.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проведено на 9 интактных белых крысах мужского пола массой 300-350 г. Торакотомия проводилась в IV-V межреберье слева. По передней поверхности выполнили перикардотомию размером 0,5 см. Фотодинамическое облучение проводили на следующий день после операции. Облучение области перикарда осуществляли транскутанно и бесконтактно через 2 часа после введения препарата ала-сенс в/в в дозе 200 мг/кг на длине волны 635 нм. Было проведено планирование фотодинамической терапии методами численного моделирования взаимодействия лазерного излучения с многослойной биологической тканью. В результате была рассчитана световая доза, полученная тканями перикарда. Перед и после облучения проводили измерение спектров флюоресценции с целью оценки накопления 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) индуцированного протопорфирина IX (ППИХ) и контроля ФДТ. В исследование было включено 2 группы: I группа – 6 крыс (3 с ФДТ, 3 контрольных, срок 7 дней); II группа – 6 крыс (3 с ФДТ, 3 контрольных, срок 1 месяц). После выведения животных из эксперимента визуально оценивали слипание перикарда и эпикарда на

макропрепарате сердца, проводили гистологическое исследование микропрепарата (окраска гематоксилин-эозином).

Результаты. В I группе у крыс с ФДТ спаечный процесс распространялся локально в области перикардиотомии. Во II группе у крыс с ФДТ при макроскопии спаечный процесс распространялся локально между перикардом и эпикардом у 2 крыс; у 1 крысы спаечный процесс – между перикардом и эпикардом только по линии рассечения. У контрольных крыс отмечали выраженный спаечный процесс между перикардом и эпикардом с вовлечением левого лёгкого. На гистологических препаратах через 7 дней после ФДТ наблюдали менее выраженную лейкоцитарно-макрофагальную инфильтрацию и меньшее количество фибробластов в области перикардиотомии по сравнению с контролем. Это различие менее выражено через 1 месяц после перикардиотомии.

Вывод. Показано снижение интенсивности развития спаечных процессов после проведения ФДТ у крыс после перикардиотомии в эксперименте.

Изготовление облучателей для ФДТ внутренних органов

Волков В.В.¹, Ивичева С.Н.¹, Каргин Ю.Ф.²

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова, РАН, Москва, Россия

²Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова, РАН, Москва, Россия

Цель. Создание волоконно-оптических средств доставки света с цилиндрическим облучателем для эффективного проведения сеансов ФДТ, гипертермии и лазерной индуцированной коагуляции тканей внутренних органов при терапии онкологических и неонкологических заболеваний.

Материалы и методы. Для изготовления цилиндрических рассеивателей на кварцевой сердцевине оптоволокна был выбран метод нанодисперсного осаждения оксида титана. Осаждая слои оксида титана на поверхности кварцевого волновода, мы можем добиться значительного рассеяния проходящих световых мод за счет нарушения условия полного внутреннего отражения и создания шероховатости. В качестве активного реагента оксида титана приготавливались растворы разной концентрации тетрагидроксититана – $Ti(OC_2H_5)_4$ – с добавлением этанола. В процессе гидролиза эти растворы распадаются с образованием полимерных пленок гидроксида титана на поверхности кварцевого волокна.

На дистальном конце волоконного световода оставляли оголенные части кварцевой сердцевины длиной 5-30 мм. Оголенную часть окунали в приготовленный раствор, после чего на воздухе, в котором

при нормальных условиях существуют пары воды, в результате гидролиза на кварцевой сердцевине осаждался атомарный слой гидротированного оксида титана. Время высыхания составляло 10-15 минут. Затем осуществляли повторное окунание. В результате этих экспериментов получали аморфные гидротированные слои оксида титана. Процесс контролировали с помощью растрового электронного микроскопа. Исследовались оптические и термические свойства волоконных световодов с цилиндрическими диффузорами на дистальном конце в зависимости от концентрации раствора, толщины слоя (количество окунаний) и температуры последующего локального отжига слоев.

Результаты. В результате проведенных исследований на дистальном конце кварцевого волокна волоконно-оптической системы доставки излучения были изготовлены цилиндрические облучатели длиной 5-30 мм. На основе предложенной методики были разработаны волоконно-оптические устройства, позволяющие проводить ФДТ, гипертермию и лазерную индуцированную коагуляцию тканей внутренних органов. Рабочая часть этих устройств включает в себя сапфировый капилляр и цилиндрический облучатель.

Выводы. Разработанные устройства доставки света проходят клинические исследования и могут быть предложены для использования в онкологии, урологии, гинекологии нейрохирургии и при лечении геморроя методами ФДТ и лазерной индуцированной коагуляции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ. № проекта 13-02-00662.

Прецизионные средства доставки и методы контроля лазерного излучения при ФД и ФДТ

Грачев П.В.¹, Волков В.В.¹, Линьков К.Г.¹, Макаров В.И.¹, Зеленков П.В.², Жуков В.Ю.²

¹Институт Общей Физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Научный Исследовательский Институт Нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

Цель. Разработка прецизионных средств доставки лазерного излучения и высокоточных методов контроля проведения флюоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ).

Методы и объекты исследования. Для расширения возможностей ФД и ФДТ необходимо доставлять излучение и регистрировать флюоресценцию из труднодоступных участков различных органов. При этом необходимо обеспечить бестравматичность процедуры для окружающих здоровых тканей. Такими объектами являются некоторые опухоли мозга, подкожные образования, внутрисосудистые бляшки и тромбы.

Результаты. Разработано и апробировано уникальное устройство для стереотаксической биопсии с одновременной ФД, которое не усложняет стандартный алгоритм проведения биопсии головного мозга, не увеличивает время проведения процедуры и вероятность послеоперационных осложнений. Разработано и апробировано волоконно-оптическое устройство с электронной системой охлаждения для контактного облучения внутрикожных опухолей и метастазов, позволяющее достигать эффекта гипертермии и ФДТ на глубине без повреждения кожных покровов. Разработана и апробирована серия ангиоскопических волоконно-оптических баллонных катетеров для доставки лазерного и приема флуоресцентного излучения.

Выводы. Разработанные прецизионные устройства для доставки лазерного излучения и высокоточные методы контроля существенно повысили точность ФД и эффективность ФДТ.

Работа частично выполнена по договорам с НИОПИК и Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

Наночастицы кристаллического метилфеофорбида *a* в качестве нового эффективного класса фотосенсибилизаторов

Лощенов В.Б.¹, Рябова А.В.¹, Пономарев Г.В.²

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН, Москва, Россия

Введение. Возможность применения метилфеофорбида *a* и его производных в качестве фотоактивных субстанций для фотодинамической терапии исследовалась с 80-х годов прошлого века.

Цель. В настоящей работе демонстрируется эффективное использование кристаллических наночастиц метилфеофорбида *a*, позволяющее устранить недостатки применения молекулярных растворов фотосенсибилизаторов.

Материалы и методы. В работе исследовали фотодинамические свойства водных коллоидов наночастиц метилфеофорбида *a*, в том числе *in vivo*: на клеточных культурах с использованием конфокальной микроскопии и на моделях экспериментальных опухолей методом лазерно-индуцированной люминесцентной спектроскопии.

Результаты. Разрабатываемые наночастицы обладают высоким коэффициентом оптического поглощения в ближней инфракрасной области. Спектры флуоресценции имеют максимум на 810 нм. В кристаллическом виде метилфеофорбид *a* не фототоксичен, однако, при взаимодействии с клеточными структурами наблюдается диссоциация наночастиц на отдельные фотоактивные молекулы.

Выводы. Оптические характеристики позволяют использовать наночастицы метилфеофорбида *a* как универсальный биосовместимый акцептор световой энергии. Это позволит проводить локальное терапевтическое воздействие на ткани, содержащие наночастицы, путем облучения короткоимпульсным или непрерывным лазером с соответствующей длиной волны. Таким образом, будет обеспечиваться двойная селективность воздействия: за счет избирательного накопления наночастиц в опухолях и за счет локального лазерного воздействия, что позволит избежать повреждения здоровых тканей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-02-12080-офи-м.

Фотодинамическая активность наночастиц металлов с конъюгированными фталоцианинами

Рябова А.В.¹, Д. В. Поминова, А. И. Климов², Ю. А. Крутяков², Г. В. Лисичкин², Л.И. Соловьева³, Е. А. Лукьянец³, В. Б. Лощенов¹, В. И. Конов¹

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия

Введение. Увеличение контрастности накопления фотосенсибилизаторов в тканях-мишенях по сравнению со здоровыми тканями и повышение фотодинамической активности фотосенсибилизатора остаются актуальными задачами. Дополнительные преимущества в накоплении фотосенсибилизаторов дает использование наночастиц в качестве транспортирующих агентов.

Цель. В работе показано усиление генерации синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) при локализации фотосенсибилизаторов (фталоцианинов Al, Zn – МРС) в непосредственной близости от металлических наночастиц (серебра и золота) за счет энергии локализованного поверхностного плазмонного резонанса.

Материалы и методы. Квантовый выход образования $^1\text{O}_2$ определяли по уменьшению оптического поглощения ловушки (подходящего химического тушителя $^1\text{O}_2$), а фотодинамическую активность МРС – по скорости необратимого химического тушения $^1\text{O}_2$ при реакциях с биологическими молекулами, экспериментально определяемой по изменению оксигенации гемоглобина образца.

Результаты. Исследуемые в работе наночастицы в отдельности от МРС не обладают фототоксичностью II

типа. Однако при конъюгации МРс на их поверхность в некоторых случаях происходит существенное увеличение (до 7 раз) фотодинамической активности.

Выводы. Наночастицы с конъюгированными фталоцианинами металлов обладают не только повышенной тропностью к солидным злокачественным опухолям, (вследствие размерного фактора) но и более высокой фотодинамической эффективностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства г. Москвы в 2008-2012 гг. и гранта РФФИ № 12-02-12080-офи-м.

Применение фотосенсибилизаторов для очистки водоёмов от потенциально патогенной микрофлоры

Сапожников Ф.В.¹, Гайнанова О.Ю.¹, Рябова А.В.², Лукьянец Е.А.³, В. Б. Лощенов²

¹Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

³ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия

Введение. Водоёмы хозяйственного значения испытывают интенсивную антропогенную нагрузку, подвержены споровому заражению различной микрофлоры, в том числе – патогенной. Они способны вызывать болезни кожи, дыхательных органов и слизистых оболочек, расстройства пищеварительного тракта и нервной системы. Существующие отработанные методы хлорирования и озонирования воды, препятствующие развитию патогенной микрофлоры применимы не везде.

Цель. В работе предложен метод фотодинамической очистки водоёмов с использованием фталоцианина алюминия.

Материалы и методы. В качестве подопытного объекта мы использовали сообщество прокариотных и эукариотных микроорганизмов из придонного слоя мезотрофного водоема, испытывающего умеренную антропогенную нагрузку. К биоте добавляли водный раствор сульфированного фталоцианина алюминия (препарат фотосенс производства ФГУП ГНЦ «НИОПИК»), спустя 20 минут инкубации проводили облучение лазером с длиной волны 633 нм, 100 мВт/см².

Результаты. Эксперимент в реальном времени показал, что уже через шесть минут воздействия лазера на клетки (36 Дж/см²) происходило общее замедление подвижности всех гетеротрофов. Затем у эукариотических жгутиконосцев нарушалась мембрана и происходил лизис протопластов (клетки лопались). В прокариотных клетках наблюдали отчетливое агрегирование протопластов в виде отдельных разрозненных зерен. При деградации клеточного содержимого внешние очертания спирохет, спирохет и трихомов оставались прежними.

К концу 4-ой минуты эксперимента вся гетеротрофная микрофлора, агрегированная вокруг мертвых колонок, теряла признаки жизни. Аналогичного эффекта на диатомовых, а также автотрофных эвгленах и других хлорофилл-содержащих формах отмечено не было.

Выводы. Показана возможность фотодинамической очистки водоёмов при массовом развитии потенциально патогенной гетеротрофной микрофлоры.

Изучение фотодинамического действия метилового эфира о-этилоксим-N-этоксикарбиопурпуринида на флуоресцирующие опухолевые модели

Меерович И.Г.¹, Казачкина Н.И.¹, Пантюшенко И.В.², Грин М.А.², Савицкий А.П.¹

¹ФБГУН Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук, Москва, Россия

²ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В.Ломоносова», Москва, Россия

Цель работы. Разработка методики скрининга ИК-фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) рака *in vivo* с использованием цветных флуоресцирующих белков.

Материалы и методы. В качестве ИК-фотосенсибилизатора использовался метиловый эфир О-этилокси-N-этоксикарбиопурпуринида в виде кремоформной дисперсии. Используемые клеточные линии: флуоресцирующая клеточная линия меланомы человека mel Kor-TurboRFP, клеточная линия мышинной меланомы B16. Для трансфекции использовалась плазмидная ДНК pmKate2-N (“Евроген”, Россия). В экспериментах использовались мыши линии BalbC/Nu (самки, 20-22 г) и линии C57BL/6 (самки, 22-24 г) (ЭДТО ГУ РОНЦ им.Н.Н. Блохина). Исследования проводились с использованием волоконного спектроанализатора Lesa-01-Biospec, лазера ЛФТ-800-01-БИОСПЕК (800 нм), флуориметра Fluoroscanner II, флуоресцентной аналитической системы получения изображений UVP iBox.

Результаты. Получена и охарактеризована флуоресцирующая клеточная линия меланомы B16, стабильно экспрессирующая дальне-красный флуоресцирующий белок mKate2 (B16-mKate2). В экспериментах *in vitro* кремоформная дисперсия метилового эфира О-этилокси-N-этоксикарбиопурпуринида является высокоэффективным фотосенсибилизатором (ФС) в отношении клеток B16-mKate2 и mel Kor-TurboRFP, проявляя в отношении клеток B16-mKate2 также заметную темновую токсичность. Для мышей с опухолями melKor-TurboRFP было показано, что накопление ФС является максимальным в интервале

2,5-5 часов после введения. В экспериментах *in vivo* исследуемый фотосенсибилизатор вызывает при ФДТ флуоресцирующей меланомы B16-mKate2 торможение роста опухоли выше 75%, при ФДТ флуоресцирующей меланомы mel Kor-mKate2 – выше 70%.

Выводы. С использованием флуоресцирующих опухолевых моделей меланомы B16-mKate2 и mel Kor-TurboRFP показано, что метиловый эфир О-этилоксиа N-этоксидициклоимида бактериохлорина р является эффективным ИК-фотосенсибилизатором.

Работа проводилась при поддержке программы Президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине”.

Сравнительный анализ эффективности генерации синглетного кислорода при прямом возбуждении на длине волны 1,27 мкм и при использовании фотосенсибилизатора

Рябова А.В., Филатова С.А., Камынин В.А., Курков А.С., Лощенов В.Б.

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

Цель. Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование генерации синглетного кислорода при прямом возбуждении в полосу 1,27 мкм триплетного кислорода в растворах и при возбуждении в полосу 690 нм с использованием фотосенсибилизатора фталоцианина алюминия.

Материалы и методы. Для возбуждения молекулярного кислорода использовался специально изготовленный в ИОФ РАН волоконный лазер на основе ВКР преобразования с длиной волны излучения 1,27 мкм и мощностью от 0 до 900 мВт. Квантовый выход образования в воде без фотосенсибилизаторов $^1\text{O}_2$ определяли по уменьшению оптического поглощения ловушки. Утилизацию молекулярного кислорода, при облучении раствора определяли по изменению оксигенации гемоглобина в эритроцитах, специально введенных в раствор в следовом количестве. Кроме того был проведен эксперимент по облучению лазером 1270 нм клеточной культуры HeLa с дальнейшей фиксацией процессов клеточной гибели. В качестве сравнения был использован раствор фталоцианина алюминия в сочетании с лазерным возбуждением 690 нм 300 мВт/см².

Результаты. С точностью до ошибки эксперимента прямое возбуждение не вызвало генерации синглетного кислорода и не вызвало клеточной гибели. Напротив использование фталоцианина алюминия в качестве фотосенсибилизатора в дозе 1мг/кг вызвало уверенную генерацию синглетного кислорода. Попытка увеличить квантовый выход генерации $^1\text{O}_2$ заменой простой воды на дейтерированную не изменила результат.

Способ получения флуоресцентных изображений органов и тканей с параллельным наблюдением в видимом диапазоне спектра

Бородкин А.В., Лощенов М.В., Линьков К.Г.
Институт общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук, Москва, Россия

Цель работы. Создание нового метода получения флуоресцентных изображений органов и тканей с возможностью проведения диагностического сеанса без затемнения помещения и создание аппарата для реализации такого метода.

Материалы и методы. В системе с параллельным наблюдением для возбуждения флуоресценции используются светодиоды большой мощности, излучающие в синем (395-405 нм), зеленом (520-530 нм) и красном (625-635 нм) диапазонах спектра. Светодиоды формируют пятно диаметром около 8 см с равномерно распределенным по площади излучением. Расстояние от аппарата до исследуемого участка – 10 см. Световое излучение в каждом из диапазонов по отдельности используется для возбуждения флуоресценции в новообразованиях с накопленным фотосенсибилизатором. При помощи высокочувствительной монохромной камеры регистрируется распределение флуоресценции в длинноволновой области спектра.

Результаты. Конфокальное расположение источников света, возбуждающих флуоресценцию, позволило избавиться от теней и бликов, которые могли бы исказить флуоресцентную картину и этим самым затруднить проведение диагностики. Применяя последовательную комбинацию возбуждающего излучения и оптического отклика исследуемого участка, аппарат позволяет определить границы новообразования более точно. Программное обеспечение, обеспечивающее в результате анализа набора флуоресцентных изображений вывод на экран всех флуоресцирующих участков (потенциальные новообразования), окрашенных в красный цвет, дает возможность простой визуальной объективной оценки исследуемой ткани. Апробация системы показала высокую диагностическую эффективность при минимальных концентрациях фотосенсибилизаторов.

Выводы. Предложенная методика и аппарат для ее реализации позволяет устранить недостаток, связанный с необходимостью полного затемнения кабинета для получения точных результатов. Сохраняется высокая диагностическая достоверность и возможность получения количественных результатов в режиме реального времени, характерные для флуоресцентной диагностики.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эндоскопическая фотодинамическая терапия рака пищевода

Странадо Е.Ф.¹, Мазурин В.С.²,
Шабаров В.Л.², Майоров Г.А.¹

¹ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины ФМБА России», Москва, Россия

²Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Цель. Изучение возможности применения фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении неоперабельных больных раком пищевода.

Материалы и методы. ФДТ проведена 44 неоперабельным больным раком пищевода. Из них 2 – с первичным раком средне-грудного отдела пищевода 1-2 ст., 23 – с первичным распространенным обтурирующим раком шейного отдела пищевода 3-4 ст., 10 – с первичным распространенным обтурирующим раком средне- и нижнегрудного отдела пищевода 3-4 ст., 4 – с рецидивом рака среднегрудного отдела пищевода после повторных реканализаций YAG-Ne лазером, 3 – с рецидивом рака среднегрудного отдела пищевода после химио- и лучевой терапии, 2 – с рецидивом рака в пищеводно-кишечном и пищеводно-желудочном анастомозе с переходом на нижнегрудной отдел пищевода.

Результаты. Проведение ФДТ у 2 больных ранним раком пищевода с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, послужившими противопоказанием к хирургическому лечению, позволило достигнуть полной резорбции опухоли с длительностью безрецидивного периода более 1 года и общей продолжительностью жизни более 3,5 лет. При распространенном обтурирующем просвет раке пищевода применяли несколько вариантов ФДТ, рассчитанной на паллиативный эффект: улучшение проходимости пищи по пищеводу, улучшение качества и продолжительности жизни больных. У 4 больных с рецидивом дисфагии после реканализации YAG-Ne лазером ФДТ привела к более длительной ремиссии (6-7 месяцев) за счет сосудистого механизма действия ФДТ, нарушающей кровоснабжение остаточной опухоли на длительный период времени. Этот же механизм позволил достичь ремиссии у остальных больных, проходивших лечение методом ФДТ, сроком от 2 до 4 месяцев. Обширный обтурирующий рак пищевода является

показанием к ретроградной однократной или многокурсовой эндоскопической ФДТ. При полной обтурации пищевода введение световодов с цилиндрическим диффузором осуществляли после бужирования опухолевой стриктуры по струне-проводнику под рентгено-телевизионным контролем. При наличии экзофитного компонента стенозирующей опухоли, растущей в просвет пищевода, применяли метод комбинированного подведения света для ФДТ: наряду с внутриопухолевым или внутрисветовым облучением использовали поверхностное эндоскопическое облучение экзофитного компонента опухоли. Подобные варианты ФДТ применяли одномоментно или поэтапно по мере достижения определенных результатов в реканализации пищевода и улучшения состояния больных.

При рецидиве дисфагии после стентирования вследствие прорастания опухоли через стенки протеза или роста опухоли выше и ниже стента ФДТ является единственно возможным методом ликвидации опухолевой стриктуры.

Паллиативная ФДТ показана также при рецидиве рака в пищеводно-желудочном анастомозе после проксимальной резекции желудка и ниже-грудного отдела пищевода и в пищеводно-кишечном анастомозе после гастрэктомии с резекцией абдоминального отдела пищевода, в том числе при высоком распространении рецидивного процесса по пищеводу.

У больных с первичным раком шейного отдела пищевода и с рецидивом рака после лучевой терапии, стентирование которым невыполнимо, ФДТ также является единственным применимым методом лечения.

Таким образом, эндоскопическая ФДТ при отсутствии абсолютных противопоказаний сочетает в себе значительную эффективность не только при раннем, но и при далеко зашедшем обтурирующем раке пищевода и способна улучшить результаты лечения этой тяжелой категории больных.

ФДТ можно эффективно использовать с паллиативной целью при распространенном обтурирующем раке пищевода, при рецидиве рака в пищеводно-кишечном и пищеводно-желудочном анастомозах с переходом на ниже-грудной отдел пищевода.

Паллиативная эндоскопическая ФДТ значительно улучшает качество и продолжительность жизни больных с обструктивными формами рака пищевода. Эффект реканализации длится 6-7 месяцев. При рецидиве дисфагии повторная ФДТ оказывает благоприятный эффект.

Опыт фотодинамической терапии раннего рака желудка

Романов В.А.¹, Странадко Е.Ф.²,
Решетников А.В., Смирнов Е.А.¹

¹ФГБУЗ «Клиническая больница № 119

ФМБА России», Москва, Россия

²ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва, Россия

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) при раннем раке желудка с 2001 по 2012 годы применена нами у 55 больных. Мужчин было 45 (81%), женщин - 10 (19%). Средний возраст 70 лет. Показаниями для ФДТ послужили высокий риск операции у 50 (92%) больных и отказ от оперативного лечения у 5 (8%). Размеры опухоли колебались от 5 мм до 6 см в диаметре. 42 больным (76%) с поверхностными типами раннего рака (IIb,IIc) ФДТ проведена в качестве монотерапии. При экзофитных формах (тип I, тип IIa) у 13 больных (24%) ФДТ сочетали с эндомукозальной резекцией и подслизистой диссекцией. Всего проведено 250 курсов ФДТ (от 1 до 25 у одного больного). Лечение проводили в стационаре. В качестве фотосенсибилизатора использовали бремехлорин, производимый в Нидерландах из субстанции радахлорин. Препарат содержит три хлорина, каждый из которых имеет свою мишень в опухоли: хлорин еб – преимущественно сосуды опухоли, хлорин рб – клеточные оболочки и пурпурин 5 – митохондрии, лизосомы и ядра раковых клеток. Препарат прошел доклинические исследования в России и во Франции и клинические испытания I и II фазы в России. Вводили 0,35% раствор внутривенно на физиологическом растворе за 7 часов до светового воздействия из расчета 1,0 мг/кг. Препарат отличается хорошими спектральными характеристиками, быстрым (в течение 7 часов) избирательным накоплением в опухоли, интенсивным клиренсом (на 98% за 2 суток), длительной задержкой в опухоли в высокой концентрации, низкой общей токсичностью и практически отсутствием кожной фототоксичности. В качестве источника света применяли диодный лазерный модуль ML662-SP с длиной волны 662 нм производства ЗАО «МИЛОН». Свет подводили по кварцевому волокну с цилиндрическим диффузором длиной 1,5-2 см на конце, проведенному через инструментальный канал эндоскопа. Использовали выходную мощность излучения лазера 1,2 Вт. Световая доза составляла 200-300 Дж/см². Общее количество энергии 3-3,5 кДж на 1 сеанс облучения. Контрольный осмотр проводили через 24 часа и на 5 сутки. Оценивали интенсивность геморрагического некроза опухоли и размер дефекта. Начиная с 1-2 суток, в течение 4 недель проводили противоязвенную терапию. Эффективность ФДТ оценивали через 1 месяц. Проводили визуальный осмотр с эндоскопией для определения полноты тера-

пии и брали биопсию. Результаты ФДТ оценивали по общепринятым критериям ВОЗ, учитывающим клиническую (эндоскопическую) динамику со стороны опухоли и результаты гистологического исследования биопсийного материала.

Результаты. Терапевтический эффект ФДТ имел место в 100% случаев. Полная резорбция отмечена у 23 больных (42%), частичная резорбция – у 32 (58 %). Исхода «без эффекта» и прогрессирования процесса не наблюдали. Больным с частичной регрессией проводили повторные курсы ФДТ: 3 и более курсов в год до отрицательных результатов биопсии и отсутствия опухоли при контрольной эндоскопии. В результате повторных курсов ФДТ в течение года частичная регрессия переходила в полную и процент полного излечения увеличился до 82%. Обследование больных проводили в течение первого года через каждые 3 месяца с взятием биопсии, а в последующем через каждые 6 месяцев. Сроки наблюдения составляли от 1 года до 12 лет. Рецидивы были диагностированы у 12 больных (21,8%) в сроки от 1 до 9 лет. У 9 больных с успехом применили повторные курсы ФДТ, 3 больных с рецидивами подвергнуты хирургическому лечению.

Заключение. Залогом успеха при ФДТ раннего рака желудка является детальный контроль с обязательной эндоскопией для определения полноты терапии. При наличии частичной резорбции курсы ФДТ необходимо повторять до полной резорбции опухоли.

Применение фотодинамической терапии в лечении рака большого дуоденального сосочка и внепечёночных желчных протоков

Лобаков А.И.¹, Странадко Е.Ф.², Морохотов В.А.¹, Круглов Е.Е.¹, Межетович А.А.¹, Сачечелашвили Г.Л.¹, Захаров Ю.И.¹, Румянцев В.Б.¹, Богомазов Ю.К., Корсакова Н.А.¹

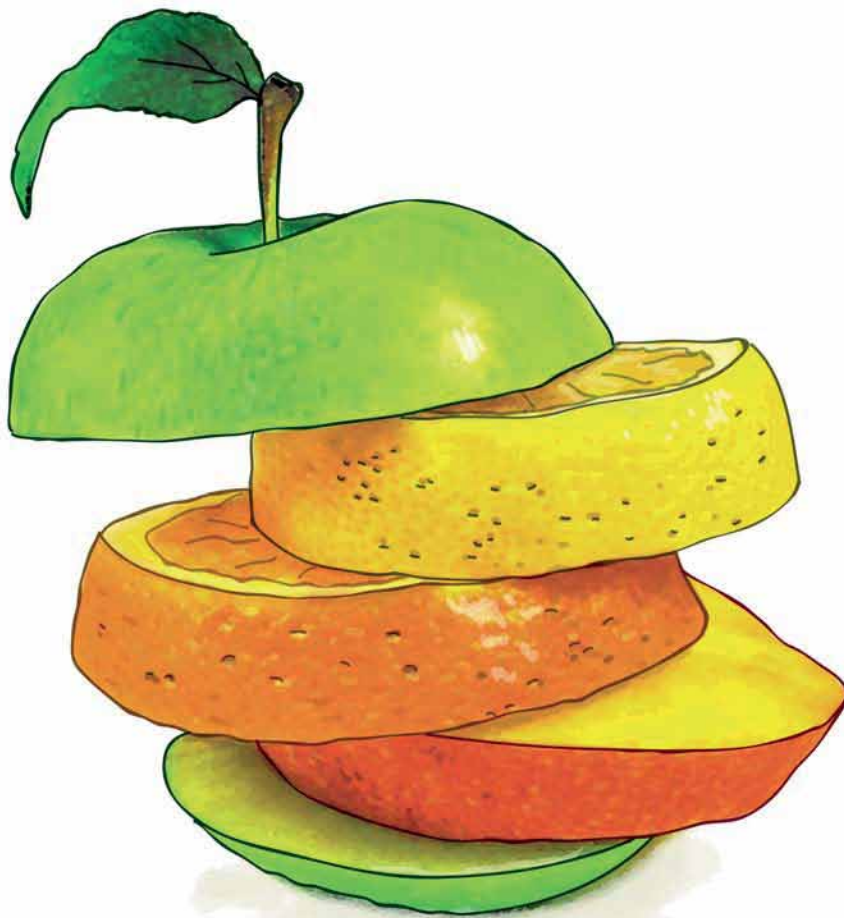
¹ГБУЗ «Московский Областной Научно-исследовательский Клинический Институт им. М.Ф.Владимирского», Москва, Россия

²ФГБУ «ГНЦ Лазерной медицины ФМБА России», Москва, Россия

Введение. В структуре онкологических заболеваний рак большого дуоденального сосочка (БДС) и внепечёночных желчных протоков (ВЖП) составляет 1-3%. Наиболее угрожающим осложнением данной патологии является механическая желтуха, на ликвидацию которой направлены основные усилия хирургов. Анатомическая близость к магистральным сосудам, инфильтративный рост опухоли, бессимптомное



Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика



Органосберегающие технологии

Диагностика и терапия поверхностных опухолей

Селективное разрушение опухоли

Активация фотосенсибилизатора лазером



Организация кабинета ФДТ и ФД



Содействие в обучении специалистов

ЗАО «Компания «Интермедсервис»

www.intermedservice.ru

+7 495 544 40 44



ФОТОДИТАЗИН® [fotoditazin]

фотосенсибилизатор хлоринового ряда

«ФОТОДИТАЗИН®» гель - РУ № ФСР 2012/130043 от 03.02.2012 г.

«ФОТОДИТАЗИН®» концентрат для приготовления раствора для инфузий - РУ № ЛС 001246 от 18.05.2012 г.



«ФОТОДИТАЗИН®» применяется для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии* злокачественных опухолей** различных локализаций и патологий неонкологического характера в следующих областях медицины:

- гинекология
- урология
- травматология
- офтальмология
- дерматология
- стоматология

В соответствии с приказами МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ:

- * Приказ № 1629н от 29 декабря 2012 г.
«Об утверждении перечня видов высокотехнологичной медицинской помощи»
- ** Приказ № 915н от 15 ноября 2012 г. «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «онкология»

ООО «ВЕТА-ГРАНД» 

123056, Россия, г.Москва, ул. Красина, д.27, стр.2
тел.: +7(499)253-61-81, +7(499)250-40-00
e-mail: fotoditazin@mail.ru

 www.fotoditazin.com
www.фотодитазин.рф

течение заболевания, пожилой возраст пациентов и наличие у них тяжёлой сопутствующей патологии приводят к тому, что подавляющее число больных является неоперабельными к моменту установления диагноза.

Данной группе больных, независимо от стадии заболевания, выполняются паллиативные вмешательства, направленные на устранение непроходимости желчных протоков, но не оказывающие непосредственного противоопухолевого воздействия. Средняя продолжительность жизни после выполнения паллиативных операций, как правило, не превышает 8-16 месяцев. Специфическое противоопухолевое лечение малоэффективно, что вынуждает искать альтернативные способы борьбы со злокачественными опухолями ВЖП. Одним из таких методов лечения является фотодинамическая терапия (ФДТ).

Рак БДС и ВЖП относится к опухолям так называемых труднодоступных локализаций, что вызывает определённые трудности для подведения лазерного излучения к данным опухолям при проведении ФДТ.

Цель. Разработка способов подведения лазерного излучения к БДС и различным отделам ВЖП и оценить эффективность ФДТ у больных со злокачественными новообразованиями данных локализаций.

Материалы и методы. С 2001 по 2013 гг. ФДТ выполнена 28 больным раком БДС и ВЖП. Средний возраст составил 68,5 лет. Мужчин было 9, женщин – 19. У всех больных при морфологической верификации выявлена аденокарцинома различной степени дифференцировки.

Выбор ФДТ в качестве метода лечения был обусловлен тяжёлой сопутствующей патологией у 21 пациента (III класс и выше по ASA), 4-ой стадией заболевания у 5 больных, отказом от предложенного радикального хирургического лечения в 2 случаях. 25 пациентам ранее были выполнены паллиативные вмешательства, направленные на купирование явлений механической желтухи. Трёх больным раком БДС явления механической желтухи удалось ликвидировать консервативной терапией и ФДТ, в результате которой произошла реканализация опухолевого стеноза и улучшение оттока желчи в двенадцатиперстную кишку (ДПК). В последующем данной группе больных в связи с дальнейшим ростом опухоли выполнено стентирование терминального отдела холедоха через 6, 9 и 11 месяцев после первого сеанса ФДТ. В среднем «безжелтушный» период после применения только ФДТ составил 7,8 месяцев.

В качестве ФС мы использовали сульфированный фталоцианин алюминия (фотосенс) и производные хлорина E₆ (фотодитазин, радахлорин). В качестве источника света использовали лазерные аппараты с длинной волны, соответствующей пику поглощения фотосенсибилизатора: при ФДТ с фотодитазинном и радахлорином - 662 нм, при ФДТ с фотосенсом – 670 нм.

Способы подведения лазерного излучения были следующие:

- эндоскопическое поверхностное облучение опухоли БДС со стороны просвета ДПК световодом с торцевым диффузором;
- эндоскопическое внутрипросветное облучение терминального отдела общего желчного протока (ОЖП) и БДС световодом с цилиндрическим диффузором длиной 2-4 см, введённого через устье БДС или папилосфинктеротомическое отверстие;
- парастентальное облучение опухоли световодом с цилиндрическим диффузором, проведенным под рентгено-телевизионным контролем параллельно стенту, установленному ранее для декомпрессии билиарного тракта;
- чрезфистульное внутрипросветное облучение опухоли световодом с цилиндрическим диффузором длиной 2-5 см с рентгеноконтрастными метками, установленным под рентгенотелевизионным контролем (при наличии желчного свища, наложенного ранее для декомпрессии билиарного тракта);
- комбинированные способы подведения света и облучения опухоли.

Количество сеансов ФДТ варьировало от 1 до 5 с интервалом в 3-12 месяцев. Анализ выживаемости проводили при помощи построения кривых Каплан-Мееера. Значимость различий между группами оценивалась при помощи критериев Log rank и Breslow. Статистическая обработка данных проводилась на программе SPSS v.17.

Результаты. Эффективность лечения определяли на основании клинических и инструментальных методов обследования (МРТ, УЗИ, ЭГДС с гистологическим исследованием биоптатов). Основным критерием эффективности лечения являлась продолжительность жизни больных в сравнении с контрольной группой больных, которым выполнялись только паллиативные желчеотводящие вмешательства.

В основной группе больных раком БДС (20 пациентов) медиана времени дожития составила 18 месяцев [95% доверительный интервал (95% ДИ): 16-20 мес.]. В группе сравнения (15 пациентов) – 12 месяцев (95% ДИ: 9,25-14,75 мес.). Продолжительность жизни больных раком БДС во всей группе составила от 1 до 60 месяцев.

Выводы.

1. Желчеотводящие операции с ФДТ увеличивают продолжительность жизни больных в сравнении с группой пациентов без применения ФДТ.
2. ФДТ является оптимальным методом лечения соматически тяжёлых пациентов, радикальное хирургическое лечение которых сопряжено с большим риском развития летального исхода.
3. Оценка эффективности ФДТ при раке ОЖП, ворот печени и желчного пузыря требует дальнейшего изучения ввиду небольшого количества наблюдений.

Фотодинамическая терапия базальноклеточного рака ЛОР-органов

Волгин В.Н.¹, Странадко Е.Ф.², Кагоянц Р.В.³

¹ФГКУ «ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко», Москва, Россия

²ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва, Россия

³ФБОУ «Ставропольская государственная медицинская академия», ГБУ «Ставропольский краевой клинический онкологический диспансер», Ставрополь, Россия

Введение. Во всём мире наблюдается устойчивый рост рака ЛОР-органов. Преимущественно поражается гортань и кожа ЛОР-органов. Из всех видов лечения в последнее время все больше расширяется спектр применения фотодинамической терапии (ФДТ) при различных опухолях ЛОР-органов.

Цель. Оценка эффективности ФДТ при лечении рака ЛОР-органов.

Материалы и методы. Проведено лечение 96 больных первичным и рецидивным раком кожи ЛОР-органов методом ФДТ с фотосенсибилизатором фотодитазин. У всех больных выявлен базальноклеточный рак кожи (БКРК). Возраст больных колебался от 20 до 95 лет, составляя в среднем 71 год. Мужчин было 63(65,6%), женщин – 23 (34,4%).

Больных с поражением носа было 66(68,8%), с поражением ушной раковины и наружного слухового прохода – 30 (31,2%).

Также пролечено 20 больных раком гортани в возрасте от 46 до 82 лет (средний возраст составил $61,3 \pm 7,5$ лет). Мужчин было 17 (85%), женщин – 3 (15%). У 8 больных лечение проводили по поводу первичного рака гортани, в 12 случаях ФДТ проводили по поводу рецидива рака гортани. У 3 пациентов рецидив возник после лучевой терапии, 9 пациентам ранее проведено комбинированное лечение. В условиях стационара лечение проведено 12 (60%) больным, амбулаторно пролечено 8 (40%) пациентов. По гистологической структуре у 15 больных верифицирован плоскоклеточный ороговевающий рак гортани, у 3 – плоскоклеточный неороговевающий рак, у 1 – недифференцированный рак, у 1 – веррукозная карцинома надгортанника. Для ФДТ использовали фотосенсибилизаторы: фотогем, фотосенс, радахлорин и лазерные установки «Кристалл», «Аткус-2», «Латус» с длиной волны 662 нм и выходной мощностью 2-5 Вт. Плотность мощности излучения составляла 0,1-1,5 Вт/см². Фотосенсибилизаторы вводили внутривенно.

Оценку результатов ФДТ проводили по следующим критериям: полная резорбция (ПР) опухоли – отсутствие признаков опухолевого роста; частичная резорбция (ЧР) – уменьшение размеров опухоли не

менее, чем на 50%; без эффекта (БЭ) – уменьшение размера опухоли менее, чем на 50%.

Результаты и выводы. При БКРК ЛОР-органов ПР опухолей наступила у 89 (92,7%) больных, частичная – у 7 (7,3%). У больных с поражением носа ПР наступила у 62 (93,9%), частичная – у 4(6,1%). Среди пациентов с локализацией в области ушной раковины и наружного слухового прохода ПР наступила у 27(90%), частичная – у 3(10%). При диспансерном динамическом наблюдении в сроки до 7 лет у 80 (89,9%) больных рецидивов не выявлено.

При раке гортани объективный противоопухолевый эффект наблюдался у 18 больных (90%). Из них полная регрессия опухоли наблюдалась у 9 пациентов (45%), частичная – тоже у 9 (45%). У 2 больных (10%) результат лечения был расценен как отсутствие эффекта (визуальное уменьшение опухоли менее чем на 50%).

Проведенный анализ позволяет сделать вывод о том, что ФДТ можно использовать при первичном и рецидивном раке ЛОР-органов с высоким терапевтическим эффектом. Резистентности к ФДТ ни при первичном, ни при рецидивном раке не выявлено. Косметические результаты при лечении данным методом БКРК расценены как хорошие и отличные.

Изучение фармакокинетики фотодитазина для выбора оптимального времени светового воздействия

Волгин В.Н.¹, Странадко Е.Ф.², Кагоянц Р.В.³, Кабанова М.А.⁴

¹ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

²ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва, Россия

³ГБУ «Ставропольский клинический онкологический диспансер»

⁴КВД № 31, Москва, Россия

Материалы и методы. При проведении фотодинамической терапии (ФДТ) изучена фармакокинетика фотодитазина у 30 больных базальноклеточным раком кожи (БКРК), имевших 163 опухоли. Исследованы 42 нодулярные опухоли стадии T1 и T2. Фармакокинетика фотодитазина изучена методом флуоресцентной диагностики (ФД) на спектрально-флуоресцентной установке СПЕКТР-«Кластер». Определяли интенсивность флуоресценции каждой опухоли в условных единицах в 4 точки: в центре и крае опухоли, на расстоянии 5 мм от края опухоли и на коже симметричного здорового участка без опухоли. Измерения проводились с интервалом 30 минут в течение 8 часов после введения фотосенсибилизатора (ФС). Последнее измерение проводили через 1 сутки.

Результаты. Накопление фотодитазина в центре опухоли во все временные интервалы было несколько выше по сравнению с краем опухоли, а на расстоянии 5 мм от края и на симметричном участке кожного покрова без опухоли накопления фотодитазина было значительно ниже ($p < 0,05$). При оценке достоверности различий средних величин выявлено, что показатели накопления фотодитазина в ткани опухоли отличались от таковых на местах ее отсутствия в интервале времени от 1 до 5 часов после введения ФС. Нами определен индекс контрастности, т.е. отношение уровня накопления ФС в опухоли к здоровой ткани с вычетом исходных значений флюоресценции за счет эндогенных порфиринов до введения ФС. Установлено, что индекс контрастности в интервале времени от 1 до 5 часов колебался от $2,6 \pm 1,0$ до $3,3 \pm 1,4$, что является достаточным для проведения ФДТ.

Выводы. Таким образом, ФДТ при использовании фотодитазина можно с успехом проводить в течение более длительного периода времени, равного 4 часам после введения ФС, в отличие от 2 часов, рекомендованных в инструкции к препарату. В крайних интервалах кривой накопления ФС (1-2 часа и 4-5 часов) содержание препарата в опухоли меньше по сравнению с соседними точками, что требует увеличения световой дозы лазерного излучения в 1,2-1,5 раза.

Фотодинамическая терапия при лечении диссеминированной меланомы кожи

Кудрявцева Г.Т., Кудрявцев Д.В.,
Каплан М.А., Селиванова Н.В., Боргуль О.В.
ФГБУ МРНЦ Минздрава РФ, Обнинск,
Россия

Лечение диссеминированной меланомы кожи (ДМК) представляет сложную проблему из-за неблагоприятного прогноза течения заболевания: медиана выживаемости составляет всего около 6 месяцев.

Цель исследования. Изучение эффективности противоопухолевых препаратов и фотодинамической терапии (ФДТ) в комплексном лечении ДМК кожи на основании общей и безрецидивной выживаемости, оценки гематологической и общей токсичности препаратов.

Материалы и методы. Проведено комплексное лечение 61 больному с ДМК, мужчин – 23, женщин – 38, возраст от 24 до 82 лет. У 20 из 61 пациентов проведена фотодинамическая терапия (ФДТ) одновременно с химиотерапией. Лечение проводилось до прогрессирования и под контролем показателей крови. Химиотерапия и химиотерапия с системной фотодинамической терапией (ФДТ) проведена 61 больному. Дакарбазин (n-22) применяли по 1000 мг/м^2 каж-

дый 21 день, 6-10 курсов. Мюстофоран (фотемустин) (n-14) по 100 мг/м^2 в 1, 8, 15 день, затем через 4-5 недель – по 100 мг/м^2 1 раз в 3 недели, 5-6 курсов. Темодал (темозоломид) (n-11), по 200 мг/м^2 , пять дней подряд каждые 28 дней, 5-6 курсов. Полихимиотерапия (ПХТ) (n-14): цисплатин $\sim 100 \text{ мг}$, доксорубин $\sim 40-50 \text{ мг}$, дакарбазин 1000 мг/м^2 проводилась 1 раз в 3-4 недели.

Результаты. Дакарбазин – живы больше 12 мес. 10 из 22 больных (45,5%), трое с признаками прогрессии, медиана выживаемости 11,8 мес., при добавлении ФДТ у 8 из 22 – 16,2 мес.; мюстофоран – живы 9 из 14 (64,3%), 1 с признаками болезни, медиана выживаемости – 15,8 мес., с ФДТ – один больной жив более 24 мес.; темодал – живы больше 12 мес. 6 из 11 (54,5%), 2-е из них с признаками болезни, медиана выживаемости 10,2 мес., с ФДТ у 3 пациентов – 11,8 мес.; при ПХТ жив 1 из 14 (7,1%), медиана выживаемости – 9,5 мес., с добавлением ФДТ у 8 больных – 8,3 мес. Наиболее обнадеживающие результаты получены при использовании дакарбазина и ФДТ, мюстофорана и ФДТ. Лимитирующим фактором являются гематологическая токсичность мюстофорана и общетоксическая при ПХТ.

Выводы. Результаты ХТ ДМК в сочетании с ФДТ существенно не отличаются от таковых в основной группе, отмечается тенденция к повышению результатов в группе с использованием дакарбазина и ФДТ, мюстофорана и ФДТ, так же улучшалось общее самочувствие пациентов, они легче переносили лекарственное лечение, восстанавливались гематологические показатели.

Фотодинамическая терапия позволяет уменьшить объем резекции при немелкоклеточном раке легкого

Акопов А.Л., Чистяков И.В., Уртенкова М.А.,
Русанов А.А., Казаков Н.В., Герасин А.В.,
Папаян Г.В.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Вовлечение в опухолевый процесс бифуркации трахеи при немелкоклеточном раке легкого (НМКРЛ) нередко определяет нерезектабельность больных, а поражение главных бронхов – необходимость выполнения пневмонэктомии, что также не всегда возможно по функциональным соображениям (неоперабельность).

Методы. Проведен анализ результатов комбинированного лечения таких пациентов, включающего предоперационную химиотерапию и эндобронхиальную

фотодинамическую терапию (ФДТ) с последующей операцией и интраоперационной ФДТ краев резекции. В исследование включено 26 проспективных пациентов центральным НМКРЛ II-III стадии с поражением главных бронхов или нижних отделов трахеи, которые исходно расценивались как нерезектабельные (13 больных с вовлечением в опухолевый процесс дистальных отделов трахеи) или неоперабельные (15 больных по функциональным соображениям не могли перенести пневмонэктомию). После проведенного предоперационного лечения, трех курсов противоопухолевой химиотерапии и трех сеансов эндобронхиальной ФДТ, пациенты обследованы повторно и, при наличии ремиссии, оперированы. Интраоперационно, после удаления препарата в пределах макроскопически здоровых тканей, осуществлялась ФДТ краев резекции. ФДТ проводилась с использованием хлорина Е6 (радахлорин) и облучением светом длиной волны 662 нм.

Результаты. При контрольном исследовании после завершения первого этапа лечения возможность выполнения операции отмечена у 22 больных из 26 (84%). У 10 больных из 13 элементы опухоли в зоне бифуркации трахеи не определялись, им произведена пневмонэктомию. У 12 больных из 15, которым исходно было показано выполнение пневмонэктомии, опухоль из главных бронхов элиминировалась, этим пациентам произведена лобэктомия. При плановом патоморфологическом исследовании 19 оперативных вмешательств из 22 расценены как радикальные (R0-86%), три – как нерадикальные (R1-14%). Степень лимфогенного метастазирования pN0 диагностирована у шести больных (27%), pN1 - у 14 (64%) и pN2 - у двух больных (9%). Операционная летальность составила 5%. В течение последующего наблюдения (от 6 месяцев до 5 лет) ни у одного пациента не отмечено развитие местного рецидива. Годичная выживаемость составила 95%, трехлетняя – 91%.

Выводы. ФДТ может играть важную роль в комбинации с хирургическим лечением НМКРЛ и позволяет уменьшить объем резекции у части исходно нерезектабельных или неоперабельных больных.

Эндобронхиальное лечение неоперабельного рака легкого с применением фотодинамической терапии

Акопов А.Л., Русанов А.А., Казаков Н.В., Герасин А.В., Уртенкова М.А., Одинцова С.В.
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Цель. Оценить непосредственные и отдаленные результаты эндобронхиальной фотодинамической

терапии (ФДТ) производным хлорина е6 у больных центральным немелкоклеточным раком легкого III и IV стадии.

Материалы и методы. С января 2008 г. по май 2013 г. авторами наблюдались 275 пациентов неоперабельным центральным немелкоклеточным раком легкого III-IV стадии, которым, наряду с другими методами лечения, выполнялась эндобронхиальная ФДТ. Показаниями к эндобронхиальному лечению было наличие центральной стенозирующей опухоли, а также местные рецидивы после ранее перенесенных оперативных вмешательств по поводу НМКРЛ (41 пациент), микроскопически нерадикальные резекции (8 пациентов), поддерживающая терапия при полных ремиссиях лекарственного лечения (11 пациентов), критические стенозы трахеи и главных бронхов (24 пациента), периферический рак легкого (7 пациентов). В качестве фотосенсибилизатора применялись производные хлорина е6, в качестве источника света – аппарат «Лахта-Милон», генерирующий излучение длинной волны 662 нм. В результате облучения достигалась плотность энергии 100-150 Дж/см². Всем пациентам проводилась противоопухолевая химиотерапия. ФДТ сочеталась с другими видами эндобронхиального лечения экзофитной части опухоли: с аргонплазменной коагуляцией (125 больных), лазерной фотодеструкцией (20 больных), электрокоагуляцией (17 больных), а также с эндопротезированием трахеи/главного бронха (47 больных).

Результаты. Количество сеансов ФДТ у каждого больного составило от одного до семи, с интервалом между сеансами от трех до девяти недель. Каждый сеанс эндобронхиальной ФДТ длился, в среднем, 12-15 минут. Осложнений эндобронхиальной ФДТ не отмечено за исключением кровохарканья у двух больных, развившегося в первые сутки после процедуры и купированного консервативно. Полная бронхоскопическая ремиссия (ПР) достигнута у 23% больных, частичная ремиссия (ЧР) – у 77% больных, уменьшения экзофитной части опухоли не отмечено у 2% больных. Частота ПР была существенно выше у больных, лечение которых включало весь комплекс эндобронхиального воздействия на опухоль (ФДТ, деструкция опухоли, эндопротезирование). В то же время частота ПР и ЧР, оцениваемая по результатам компьютерной томографии, была несколько ниже (19% и 70%, соответственно). Годичная выживаемость составила 66%, 2-летняя – 25%.

Заключение. ФДТ с производными хлорина е6 является эффективным компонентом комбинированного лечения неоперабельного рака легкого, позволяющим достичь высоких показателей объективного ответа на терапию и выживаемости.

Флюоресцентная диагностика опухолей головного мозга

Куржупов М.И., Зайцев А.М., Филоненко Е.В.
ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена
Минздрава России», Москва, Россия

Цель исследования. Оценка накопления эндогенного протопорфирина IX в ткани внутримозговых метастазов и мозговой ткани, улучшение результатов хирургического лечения внутримозговых метастазов с использованием интраоперационной флюоресцентной диагностики (ФД) с препаратом аласенс.

Материалы и методы. Для проведения ФД был использован отечественный препарат аласенс. Для визуального изучения флюоресценции использовали операционный микроскоп Carl Zeiss Opmi Pentero (Германия) и/или установку «D-Light AF System» Karl Storz (Германия), для проведения локальной флюоресцентной спектроскопии – установку «LESA-01-BIOSPEC» (Россия). Во время операции под контролем ФД производилось максимально-радикальное удаление опухоли.

Результаты. Исследование проведено на 94 разнополюх больных с метастазами различных опухолей: 10 – колоректальный рак, 35 – немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), 8 – меланома, 21 – рак молочной железы, 3 – невыявленный первичный очаг, 10 – почечноклеточный светлоклеточный рак, 2 – рак предстательной железы, 3 – рак яичника, 1 – рак ротоглотки, 1 – рак желудка. У 13 больных были изучены особенности распределения аласенс-индуцированного ППХ в зависимости от срока проведения ФД и морфологического диагноза: флюоресцентная контрастность опухоль/нормальная ткань головного мозга в группе больных с интервалом 3-5 часов составляла от 5,4 до 70,5 (в среднем $28,8 \pm 20,2$), в группе больных с интервалом в 7-8 часов – от 4,4 до 10,2 (в среднем $7,3 \pm 4,1$). В среднем интенсивность флюоресценции составила: при немелкоклеточном раке легкого – $17,4 \pm 7,4$ усл.ед., при раке молочной железы – $11,2 \pm 3,9$ усл.ед., при нейроэндокринном раке – $9,7 \pm 4,1$, при раке яичников – $14,1 \pm 3,0$, при почечно-клеточном светлоклеточном раке – $21,1 \pm 4,9$, при пигментной меланоме – 0,04. Флюоресцентная контрастность опухоль/нормальная ткань мозга в среднем составила: при НМКРЛ – 27,9, при раке молочной железы – 33,9, при нейроэндокринном раке – 7,5, при раке яичников – 58,8, при почечно-клеточном светлоклеточном раке – 13,5. Интенсивная флюоресценция всех опухолей (с высокой флюоресцентной контрастностью) зарегистрирована в независимости от морфологической структуры внутримозговых метастазов, исключая метастаз пигментной меланомы, при котором флюоресценция ППХ в опухоли была минимальна. С учетом данных интенсивности флюо-

ресценции и планового гистологического исследования чувствительность флюоресцентной диагностики внутримозговых метастазов с препаратом аласенс составила 97,9%, специфичность – 100%. По данным послеоперационной диагностики (МРТ/КТ головного мозга с контрастным усилением) тотального удаления внутримозговых метастазов удалось достичь в 100% случаев в группе, где была применена фотодинамическая диагностика, тогда как в контрольной группе (137 больных) этот показатель составил 80%.

Вывод. Фотодинамическая диагностика внутримозговых метастазов позволяет снизить число диагностических ошибок, достоверно оценить границы внутримозговых метастазов и повысить радикальность оперативного вмешательства до 100%.

Флюоресцентная диагностика внутримозговых метастазов

Куржупов М.И., Зайцев А.М., Филоненко Е.В.
ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена
Минздрава России», Москва, Россия

Цель исследования. Улучшение результатов хирургического лечения внутримозговых метастазов с использованием интраоперационной фотодинамической терапии (ФДТ) в сочетании с фотодинамической диагностикой (ФД) с препаратом аласенс.

Материалы и методы. Для проведения ФД и ФДТ был использован отечественный препарат аласенс. Для фотодинамической диагностики использовали операционный микроскоп Carl Zeiss Opmi Pentero (Германия) и/или установку «D-Light AF System» Karl Storz (Германия). Во время операции под контролем ФД производилось максимально-радикальное удаление опухоли, после чего проводился сеанс ФДТ полости удаленной опухоли с использованием диодного лазера «ЛФТ-630-01-БИОСПЕК» (Россия).

Результаты. В МНИОИ им. П.А. Герцена проведена научно-исследовательская работа по повышению абластичности нейрохирургических операций, путем использования интраоперационной ФДТ в сочетании с ФД метастатического поражения головного мозга. В исследование был включен 231 разнополюх больной, в основную группу (операция с ФД и ФДТ) вошло 94 пациента, в контрольную группу (только операция) – 137, группы статистически сопоставимы. Период наблюдения за больными составил от 6 до 80 месяцев. Общая и безрецидивная выживаемость в группе с ФД и ФДТ выше, чем в контрольной группе, как в целом, так и в каждом RPA-классе. Медиана общей выживаемости в группе с ФД и ФДТ – 9 месяцев, в контрольной группе – 6 месяцев ($p < 0,01$); в 1 RPA-класс в группе исследования – 28 месяцев, в контрольной

группе 19 месяцев ($p=0,34$); 2 RPA-классе – 8 и 6 месяцев ($p<0,05$); в 3 RPA-классе – 8 и 5 месяцев ($p<0,01$), соответственно. Медиана безрецидивной выживаемости составила в группе исследования – 8 месяцев, в контрольной группе 5 месяцев ($p<0,01$), в 1 RPA-классе в группе исследования – 26 месяцев, в контрольной группе – 16 месяцев ($p=0,43$), в 2 RPA-классе – 7 и 5 месяцев ($p<0,01$), в 3 RPA-классе – 7 и 3 месяца ($p<0,05$), соответственно. Продолженный рост метастаза в сроки от 1 до 6 месяцев диагностирован: в группе исследования – у 2 из 94 больных (2,1%), в контрольной группе – у 37 из 137 пациентов (27%). В более поздние сроки у 3 пациентов в каждой из групп. Таким образом, рецидив удаленного метастаза в группе исследования развился у 5 больных (5,3%) и у 40 больных (29%) в контрольной группе ($p<0,05$).

Выводы. Интраоперационная фотодинамическая терапия в сочетании с флуоресцентной диагностикой с препаратом аласенс у больных с метастатическим поражением головного мозга показала высокую эффективность в лечении внутримозговых метастазов за счет повышения абластичности операции, что привело к повышению как безрецидивной, так и общей выживаемости.

Использование флуоресцентной визуализирующей системы для мониторинга ФДТ

Корчагина К.С.¹, Гамаюнов С.В.^{1,2},
Каров В.А.², Калугина Р.Р.², Гребенкина Е.В.²,
Шахова Н.М.³

¹ ГБОУ ВПО «НижГМА Минздрава РФ»,
Н. Новгород, Россия

² БУЗ Нижегородский областной онкологический диспансер, Н. Новгород, Россия

³ Институт прикладной физики РАН,
Н. Новгород, Россия

Цель. Изучить возможности использования флуоресцентной визуализирующей системы для оценки параметров флуоресценции с целью индивидуализации фотодинамической терапии (ФДТ).

Материалы и методы. На базе Нижегородского областного онкологического диспансера при проведении ФДТ рака кожи проведено изучение накопления и выгорания фотосенсибилизатора в опухолевой ткани у 192 пациентов. Параметры флуоресценции оценивались с помощью флуоресцентной визуализирующей системы производства ООО «Аткус».

Результаты. При анализе характера ответа опухоли на проведение ФДТ в зависимости от степени накопления препарата достоверных различий не вы-

явлено. Частота рецидивов опухоли при отсутствии накопления препарата составила 5,8%, при слабом и хорошем накоплении – 1,6%. При анализе полноты выгорания препарата установлено: при полном выгорании препарата полный ответ достигнут в 89% случаев, при частичном выгорании в 87% и при отсутствии выгорания – в 81%. При полном выгорании препарата рецидивов не отмечено, при частичном выгорании частота рецидивов составила 2,4%, при отсутствии выгорания – 6,3%. Наилучшие результаты достигнуты в подгруппе с сочетанием хорошего накопления препарата с полным его выгоранием после проведения процедуры. Полный ответ достигнут в 90% случаев, рецидивов при сроках наблюдения от 3 до 20 месяцев не выявлено.

Выводы. Использование системы визуализации флуоресценции позволяет оценить параметры флуоресценции, выявить предикторы рецидива и оптимизировать параметры воздействия. Преимуществами системы являются возможность оценки флуоресценции, неинвазивный характер исследования и получение реального изображения пациента и опухоли. Основным недостатком системы – качественная оценка полученных результатов. Необходима дальнейшая модификация программного обеспечения для возможности количественной оценки градиента накопления препарата в опухолевой ткани и его выгорания.

Фотодинамическая терапия дистрофических заболеваний вульвы

Хашукоева А.З., Купеева Е.С.,
Нариманова М.Р.

ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, Москва, Россия

Цель. Изучение эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) у пациенток с дистрофическими заболеваниями вульвы.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 82 пациенткам с доброкачественными заболеваниями вульвы, из них у 64 (78,0%) был диагностирован склеротический лишай вульвы, у 15 – плоскоклеточная гиперплазия вульвы (18,3%), у 3 – смешанная дистрофия (3,7%). У 40 пациенток (48,8%) при ПЦР с ДНК-типированием соскоба с вульвы был выявлен ВПЧ, из них у 21 – ВПЧ высокоонкогенных типов (52,5%), у 19 – низкоонкогенных типов (47,5%). Все пациентки были разделены на 2 группы: в 1-ой группе 64 пациентки, которым фотодитазин вводился внутривенно капельно в дозе 1 мг/кг массы тела, во 2-ой – 18 пациенток, которым фотодитазин наносился местно в виде 0,5%-го геля пенетратора из расчета 1 мл на 3-5 см² поверхности вульвы. Световое воздействие проводили в непрерывном или фракционном режиме, длитель-

ность облучения – 30-40 минут, плотность энергии – 100-250 Дж/см² для вульвы.

Результаты. Лечебный эффект после ФДТ при патологии вульвы оценивался визуально, субъективно (исчезновение зуда) и по данным цитологического исследования соскоба с вульвы и морфологического исследования биоптата вульвы через 2 месяца после ФДТ. Положительный лечебный эффект был достигнут у всех пациенток через 2 месяца после ФДТ. В течение 1 года рецидивы заболевания выявлены в 1-ой группе в 10,7% случаев, во 2-ой – в 21,4% случаев. Пациенткам с диагностированным рецидивом заболевания проведен повторный сеанс ФДТ. Полная клиническая ремиссия через 1 год после проведения сеанса ФДТ была достигнута в 89,7% наблюдений в 1-ой и в 78,6% - во 2-ой группах. При повторном обследовании через 2 месяца после ФДТ только у 3 пациенток выявлен ВПЧ низкоонкогенных типов.

Побочные проявления заключались в болевом синдроме после проведения ФДТ, который купировался приемом НПВС.

Выводы. ФДТ вульвы – надежный и безопасный метод лечения дистрофических заболеваний, который может служить эффективной профилактикой развития рака вульвы. Полученные результаты фотодинамической терапии с использованием фотодитазина при лечении женщин с дистрофическими заболеваниями вульвы показали его высокую лечебную активность, минимальное количество побочных эффектов и осложнений, выраженный противовирусный эффект, методическую простоту исполнения, что делает возможным проведение ФДТ дистрофических заболеваний вульвы не только в стационарных, но и в амбулаторных условиях.

Неоадьювантная и интраоперационная фотодинамическая терапия в комбинированном лечении злокачественных новообразований

Гельфонд М.Л., Левченко Е.В., Мамонтов О.Ю., Балдуева И.А., Нехаева Т.Л., Новик А.В., Анисимов В.В., Семилетова Ю.В., Мяснянкин М.С.

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова»
Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Фотодинамическая терапия (ФДТ), наряду с лучевой и химиотерапией, во многих специализированных клиниках России становится полноценным и эффективным компонентом комбинированного лечения злокачественных новообразований.

Материалы и методы. Эффективной ФДТ должна предшествовать флуоресцентная диагностика (ФД). Для этой цели в ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург) создан и проходит клиническую

апробацию комплекс, принцип работы которого основан на регистрации фотолуминесценции фотосенсibilизатора, его пространственного распределения в 3D режиме, что позволяет судить о форме и границах опухолевой инфильтрации тканей.

В неоадьювантном режиме ФДТ проводилась при хирургическом лечении меланом кожи (n=25). Интраоперационная ФДТ использовалась при лечении больных с мезотелиомой плевры (n=15) и раком желудка (n=29).

Результаты. При проведении неоадьювантной ФДТ у больных первичной меланомой выявлено статистически значимое повышение содержания CD3+ CD4+ Т-хелперов (p=0,02), активированных CD3+ CD4+HLADR+ Т-хелперов (p=0,05), CD3-CD19+ В-лимфоцитов (p=0,02), что свидетельствует об активации Т- и В-клеточного звена иммунной системы. Отдаленные результаты изучаются.

Интраоперационная ФДТ при раке желудка проводилась у больных с IIIa и IIIb стадией заболевания. Отдаленные результаты лечения в этой группе прослежены у 26 из 29 больных. В целом, пятилетняя безрецидивная выживаемость составила 78% против 38% в контрольной группе.

Изучение отдаленных результатов лечения у больных с мезотелиомой плевры показало, что из 15 пациентов у 9 человек не зафиксировано развития местного рецидива, а из 11 больных с прогрессированием заболевания в 6 случаях развились местные рецидивы и у 11 пациентов – отдаленные метастазы. Это позволяет сделать вывод, что при комбинированном лечении мезотелиомы плевры, кроме использованных нами технологий, могут быть показаны адьювантные лучевая и системная химиотерапия.

Выводы. Таким образом, фотодинамическая терапия является одним из перспективных терапевтических методов, которые появились в онкологии за последние 30 лет. Выяснение механизмов фотоиндуцированной клеточной гибели и влияния ФДТ на иммунную систему пациентов позволит создать эффективные схемы лечения онкологических больных.

Флуоресцентный контроль при фотодинамической терапии ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки

Хачатурян А.Р., Папаян Г.В., Петрищев Н.Н.
Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Включение фотодинамической терапии (ФДТ) в арсенал хирургических методов лечения в гинекологии расширило возможности радикальной и

одновременно щадящей терапии заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека (ВПЧ).

Цель работы. Разработка оптимальных условий проведения ФДТ ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки за счет флуоресцентного контроля.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 52 пациенткам с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки. Обследование включало: PAP-тест, выявление ВПЧ высокого онкогенного риска методом ПЦР-real-time, кольпоскопия и, по показаниям, прицельная биопсия, в результате которых у 24 (46%) пациенток была верифицирована дисплазия шейки матки 1 степени, у 7 (14%) – дисплазия 2 степени, у 21 (40%) – рецидивирующий цервицит без клеточной атипии. Фотосенсибилизатор (ФС) фотодитазин вводился внутривенно капельно. ФДТ проводили аппаратом «Аткус-2» в постоянном режиме через 1,5-2 часа после завершения инфузии. Процесс накопления ФС в тканях и степень выцветания флуорофора в ходе облучения при ФДТ контролировали путем количественной оценки интенсивности красной флуоресценции с помощью мультиспектрального флуоресцентного видеоскопоскопа «LuxCol-C» (Корея).

Результаты и заключение. При контрольном обследовании через 3, 6 и 12 месяцев после ФДТ были получены: отрицательный ВПЧ-тест – у всех пациенток, отсутствие клеточной атипии – в 98,1% случаев. Возможность мониторингирования в свете флуоресценции процесса накопления ФС, фотовыцветания его в ходе ФДТ позволила прицельно облучать зоны с наибольшей концентрацией ФС, а постоянная оценка интенсивности флуоресценции позволяла прекращать облучение в момент полного обесцвечивания флуорофора ФС вследствие его полного распада. Флуоресцентный контроль позволил обнаружить феномен спонтанного нарастания красной флуоресценции через 3-5 минуты после окончания ФДТ. При этом флуоресценция имела не гетерогенный, как в начале сеанса ФДТ, а однородный характер. Данный феномен требует дальнейшего изучения. Таким образом, флуоресцентный контроль при проведении ФДТ позволяет впервые реализовать принятый в современной лучевой терапии постулат: «облучаю то, что вижу и вижу то, что облучаю».

Фотодинамическая терапия при хориоидальной неоваскуляризации

Белый Ю.А., Терещенко А.В.

Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Калуга, Россия

Ведение. Хориоидальная неоваскуляризация (ХНВ) – одна из самых распространенных причин потери центрального зрения в индустриальном мире.

Развитием ХНВ сопровождаются возрастная макулярная дегенерация, осложненная миопия и др.

Цель исследования. Повышение эффективности лечения ХНВ методом фотодинамической терапии (ФДТ).

Материалы и методы. Пролечены 10 пациентов с хориоидальными неоваскулярными мембранами (ХНВМ), развившимися на фоне возрастной макулярной дегенерации и осложненной миопии. Внутривенно вводили фотосенсибилизатор (ФС) хлоринового ряда в дозе 0,5 мг/кг в течение 10 минут, одновременно с этим в кубитальную вену другой руки проводили внутривенное лазерное облучение крови с длиной волны, соответствующей максимуму поглощения ФС светового излучения, с мощностью 50 мВт, затем транспупиллярно облучали очаг одним пятном лазерного излучения с той же длиной волны, с плотностью энергии 15 Дж/см².

Результаты. При контрольном осмотре через 1 месяц острота зрения в 9 случаях повысилась на 0,05-0,1 (до 0,2-0,3) и в одном не изменилась (0,32 н/к). При осмотре глазного дна наблюдалась положительная динамика в виде значительного уменьшения субретинального отека и кровоизлияний. К 3 месяцам в макулярной области сформировался плоский хориоретинальный очаг с умеренной пигментацией, субретинальный отек и кровоизлияния полностью рассосались. На контрольных ангиограммах отмечалось отсутствие экстравазальной флуоресценции из новообразованных сосудов ХНВМ. По данным ОКТ толщина сетчатки в области фовеа уменьшилась с 238-244 до 175-180 мкм, признаков истончения нейроретина не обнаружено. В сроки наблюдения до 2 лет рецидивов развития ХНВМ ни в одном случае не отмечено.

Заключение. Предлагаемый способ позволяет достичь избирательной облитерации новообразованных сосудов ХНВМ при минимальном повреждающем воздействии на интактные структуры сетчатки.

Непосредственные результаты комбинированной терапии пациентов с меланомой хориоидеи больших размеров с применением фотодинамической терапии

Науменко Л.В., Карман А.В.

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

Цель исследования. Разработка и внедрение в медицинскую практику органосохраняющего комплексного метода лечения больных меланомой хориоидеи больших размеров путем сочетания лазерной

транспуиллярной термо- и фотодинамической терапии с внутривенным введением фотолон и брахитерапией изотопами $^{106}\text{Ru}+^{106}\text{Rh}$.

Материалы и методы. В эксперименте на мышах линии C57Bl с перевивной опухолью меланомы B-16 разработана экспериментальная модель схемы комбинированного лечения, которая была использована в клинике у 16 пациентов обоего пола с клинически установленным диагнозом меланомы хориоидеи T2-3N0M0 (высота 7 мм более, основание 15 мм и более). Транспуиллярную лазерную термотерапию проводили с использованием полупроводникового лазера с длиной волны излучения 805 нм (Найдек, Япония). Фотодинамическую терапию осуществляли лазером с длиной волны 661 нм (ЛЭМТ, Беларусь) через модифицированную щелевую лампу. В качестве фотосенсибилизатора использовали препарат фотолон (РУП Белмедпрепараты, Минск). Экспозиционная плотность энергии составила 100 Дж/см². Для брахитерапии использовали β-офтальмоаппликаторы с изотопами $^{106}\text{Ru}+^{106}\text{Rh}$ (Физико-энергетический институт им. А.И. Лейпунского, Обнинск), доза облучения составила 110 Гр на верхушке опухоли.

Результаты. Процедуру фотодинамической терапии пациенты переносили удовлетворительно. За период наблюдения у всех отмечен положительный ближайший результат, проявляющийся в снижении уровня кровотока и уменьшении диаметра наибольшего сосуда в ткани опухоли, уменьшении размеров и объема опухоли, снижении скорости линейного кровотока, индекса периферического сопротивления и пульсационного индекса в опухоли. Полная резорбция опухоли зарегистрирована у 9 пациентов, стабилизация опухолевого процесса – у 5 пациентов. В связи с развившимися осложнениями при сочетании лазерной транспуиллярной термо- и фотодинамической терапии с внутривенным введением фотолон и авастина, брахитерапией изотопами $^{106}\text{Ru}+^{106}\text{Rh}$ у 2 пациентов произведена энуклеация глазных яблок.

Выводы. Первые результаты свидетельствуют о положительном местном результате от проведенного комбинированного лечения меланомы хориоидеи больших размеров с использованием фотодинамической терапии.

Влияние ФДТ с фотосенсом на клетки иммунной системы

Шаронов Г.В.^{1,2}, Феофанов А.В.¹,
Филоненко Е.В.³

¹Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

²Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Фотоферез – экстракорпоральная фотодинамическая терапия крови – широко применяется в отечественной и зарубежной клинической практике уже более 10 лет для лечения Т-лимфом и подавления иммунного ответа после трансплантации чужеродных органов и при аутоиммунных заболеваниях. При этом используются фотосенсибилизаторы УФ-А диапазона (315-400 нм) – 8-метоксипсорален и тигазон. Механизм их действия основан на преимущественном накопления в Т-лимфоцитах, связывании с ДНК, блокировке деления клеток под действием света и апоптозе. Фотоферез вызывает также специфический иммунный ответ против аутореактивных клеток за счет поглощения и презентации антигенов апоптотических Т-клеток макрофагами и дендритными клетками. Однако, связывание с ДНК, УФ облучение и формирование сшивок и разрывов в цепи ДНК при фотоферезе с 8-метоксипсораленом и тигазоном – это сильнейшие мутагенные и онкогенные факторы. При использовании фотосенсибилизатора фотосенс эти факторы отсутствуют.

Цель. Изучить воздействие фотофереза с фотосенсом на лейкоциты.

Материалы и методы. С помощью проточной цитометрии была установлена кинетика накопления фотосенса в лейкоцитах. Облучение крови проводили при максимальном накоплении фотосенсибилизатора в клетках – через 24 часа после внутривенного введения. Для определения влияния фотофереза мы измеряли гибель клеток (апоптоз, некроз) через 2 и 4 часа после облучения и абсолютное количество лейкоцитов различных субпопуляций (Т-, В-лимфоциты, NK клетки, моноциты/макрофаги, гранулоциты) до облучения, через 4 часа после облучения и после культивирования клеток *in vitro* в течение 1-7 суток.

Результаты. После облучения крови пациентов, получавших фотосенс, число CD14+ моноцитов/макрофагов резко возрастает уже через сутки и через двое суток в 2-3 раз превышает их число в контрольных образцах, облученных без фотосенса. При этом мы не обнаружили снижения числа клеток и апоптоза ни одной из субпопуляций. Фенотипический анализ показал, что индуцированные CD14+ клетки являются дендритным клеткам.

Выводы. Нами впервые обнаружена ФДТ-опосредованная индукция дендритных клеток при полном отсутствии клеточной гибели. Механизм индукции предстоит установить.

Фотодинамическая терапия в лечении меланомы хориоидеи

Белый Ю.А., Терещенко А.В.

Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Калуга, Россия

Введение. Одним из перспективных функционально-сберегающих методов лечения меланомы хориоидеи (МХ) считается фотодинамическая терапия (ФДТ).

Цель. Разработка эффективного и минимально-травматичного способа фотодинамической терапии меланомы хориоидеи.

Материалы и методы. Пролечены 8 пациентов с меланомами хориоидеи с проминенцией 4,5-4,8 мм. Пациентам внутривенно вводили фотосенсибилизатор (ФС) хлоринового ряда в дозе 0,8-1 мг/кг веса: 70% дозы – капельно в течение 20 минут, а через 1,5 часа оставшиеся 30% дозы – болюсно. По окончании введения ФС проводили транспупиллярную ФДТ. В ходе ФДТ транспупиллярное лазерное облучение новообразования с длиной волны 662 нм, полями (диаметром 3 мм), с перекрытием соседних полей на 5-10% площади осуществляли следующим образом: облучали периферию опухоли с захватом здоровых тканей не менее, чем на 1 мм от офтальмоскопически видимой границы опухоли с плотностью энергии на одно поле 25-40 Дж/см², затем облучали всю поверхность опухоли концентрично от периферии к центру с плотностью энергии 110-120 Дж/см² на одно поле. Через 2 недели повторяли внутривенное введение ФС и транспупиллярное лазерное облучение поверхности опухоли.

Результаты. Через 1 месяц во всех случаях высота новообразований по данным В-сканирования уменьшилась в среднем на 1,5 мм. Отмечено прилегание экссудативной отслойки сетчатки. Через 3 месяца после первого сеанса ФДТ высота опухолей уменьшилась до 1,5-1,8 мм. По данным ультразвукового исследования в режиме энергетического доплеровского картирования в течение периода наблюдения отмечалось постепенное обеднение сосудистого русла опухоли вплоть до полного его исчезновения. Через 1,5 года после ФДТ на месте новообразований определялся плоский хориоретинальный рубец с грубой неравномерной пигментацией, признаков продолженного роста, рецидива и метастазирования ни в одном случае выявлено не было.

Заключение. Предлагаемый способ позволяет достичь полной резорбции меланомы хориоидеи, отсутствия рецидивов и метастазирования в отдаленном послеоперационном периоде.

Фотодинамическая терапия в профилактике рубцевания путей оттока, созданных в ходе антиглаукоматозной операции

Белый Ю.А., Терещенко А.В., Юдина Н.Н.

Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Калуга, Россия

Введение. Трабекулэктомия – наиболее часто применяемая хирургическая методика для снижения внутриглазного давления (ВГД) у пациентов с глаукомой. Однако, по данным литературы, в 30% случаев к 6-8-ой неделе после операции происходит рубцевание фильтрационной зоны. Фибробласты теноновой капсулы приводят к фибропролиферативному процессу, в результате созданная фистула закрывается. Для повышения эффективности фильтрационной хирургии в качестве антифиброзной терапии применяли такие средства как митомицин С и 5-фторурацил. Несмотря на положительное воздействие, их диффузия в окружающие ткани вызывала токсические явления. Такие осложнения, как эндофтальмит, гипотоническая макулопатия и ряд других ограничили их клиническое применение и поспособствовали поиску альтернативных методик.

Цель исследования. Создание эффективного способа профилактики рубцевания путей оттока, созданных в ходе антиглаукоматозной операции.

Материалы и методы. Пролечены 7 пациентов (7 глаз) с глаукомой различных стадий. В ходе антиглаукоматозной операции после удаления глубокого склерального лоскута, наружной стенки шлеммова канала и корнеосклеральной ткани на склеральное ложе наносили фотосенсибилизирующий гель (ФС гель), содержащий 0,5% ФС хлоринового ряда, укладывали поверхностный склеральный лоскут, выдерживали 1-2 минуты, по истечении которых остатки геля удаляли и проводили лазерное облучение склерального ложа и внутренней поверхности поверхностного склерального лоскута полями с плотностью энергии 15 Дж/см² на одно поле.

Результаты. Послеоперационный период протекал без осложнений. На первые сутки после операции P_o составило 19-21 мм рт ст, коэффициент легкости оттока 0,14-0,17. При выписке на седьмые сутки после операции: P_o =15-19 мм рт ст, коэффициент легкости оттока – до 0,18, острота зрения и поле зрения не изменились. В течение срока наблюдения до 2 лет тонографические показатели оставались в пределах нормы во всех случаях.

Заключение. Разработанная методика обеспечивает длительное сохранение созданных в ходе антиглаукоматозной операции путей оттока внутриглазной жидкости.

Фотодинамическая терапия и флюоресцентная диагностика злокачественных новообразований параорбитальной области

Ярославцева-Исаева Е.В., Каплан М.А., Капинус В.Н., Спиченкова И.С., Горанская Е.В.
Отделение фотодинамической диагностики и терапии ФГБУ МРНЦ Минздрав, Обнинск, Россия

Цель исследования. Оценить эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) больных злокачественными новообразованиями параорбитальной области.

Материалы и методы. С 2002 по 2011 гг. проведены курсы ФДТ 118 больным злокачественными новообразованиями параорбитальной области, с фотосенсибилизаторами фотолон – 93, фотодитазин – 17, радахлорин – 8 больным. У 107 больных морфологически верифицирован базальноклеточный рак с распространенностью процесса: Т1 – у 58 (54,2%) больных, Т2 – у 45 (42,1%) больных, Т4 – у 7 (3,7%) больных. У 6 больных – плоскоклеточный рак с распространенностью Т1 – у 1 больного, Т2 – у 5 больных. У 1 больного – изъязвленная невоклеточная меланома стадии Т2, у 1 – метатипический рак стадии Т1. Локализация процесса: у 6 (5,1%) – верхнее веко, у 46 (38,9%) – нижнее веко, у 56 (47,5%) – внутренний угол глаза, у 10 (8,5%) – наружный угол глаза. Кроме того, 30 (25,4%) пациентов получали ранее лечение: лучевую терапию – 21 пациент, хирургическое иссечение – 4 пациента, лазерную деструкцию – 3 пациента, ФДТ – 2 пациента. Вводили фотолон в/в капельно в дозе 1,1-1,5 мг/кг, фотодитазин, радахлорин в дозе 0,6-0,8 мг/кг. Спектрометрия через 3 часа после введения фотолон выявила высокий уровень накопления фотосенсибилизатора в опухолевой ткани по отношению к видимо здоровой ткани (индекс контрастности от 1:3 до 1:6 в зависимости от клинической формы опухоли), после внутривенного введения фотодитазина и радахлорина индекс контрастности составил от 1:1,5 до 1:3. Облучение проводили дистанционно, у 5 больных интерстициально на лазерных аппаратах «Латус», «Аткус» (662нм), количество курсов 1-2, доза лазерного облучения от 100-300 Дж/см².

Результаты исследования. Непосредственно после лечения наблюдали выраженный отек глаза в течение 1-2 суток при использовании фотолон и незначительный при использовании фотодитазина и радахлорина. Через 3 месяца у 92 (82,9%) больных получена полная регрессия, у 19 (17,1%) – частичная регрессия опухоли. У больных сформировались неглубокие рубцы и сохранилась функция зрения, у 5 отмечали незначительный дефект век. Пациентам со стадией болезни Т4 лечение проводили с паллиативной целью. Эти пациенты наблю-

дались без прогрессирования от 6 месяцев до 2 лет. На сроках наблюдения от 7 месяцев до 10 лет у 5 (5,4%) пациентов с полной регрессией выявлены рецидивы.

Выводы. ФДТ больных злокачественными новообразованиями параорбитальной области стадии Т1-2 приводит к полной, безрецидивной регрессии в 78,4% случаев с хорошими косметическими результатами; с распространенностью процесса Т4 – позволяет уменьшить объем опухоли, сократить сроки прогрессирования и улучшить качество жизни.

ФДТ в комбинированном лечении эпителиальных злокачественных новообразований кожи с экзофитным и внутритканевым типом роста

Капинус В.Н., Каплан М.А., Ярославцева-Исаева Е.В.
ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Минздрава России, Обнинск, Россия

Актуальность. Результаты лечения рака кожи часто остаются неудовлетворительными, и одна из причин развития рецидивов – инфильтративно-язвенный тип роста с глубокой инвазией. Ограничивающим фактором применения фотодинамической терапии (ФДТ) является то, что разрушение опухолевой ткани происходит только на глубине 10-12 мм, поэтому при наличии экзофитного компонента новообразования и при более выраженной опухолевой инфильтрации для достижения адекватного результата лечения необходимо дополнительно использовать внутритканевое воздействие.

Цель исследования. Разработка и оценка лечебной эффективности методики комбинированного применения интерстициальной ФДТ или электрохимического лизиса (ЭХЛ) с дистанционной ФДТ при лечении экзофитных и внутритканевых форм рака кожи.

Материалы и методы. Лечение было проведено 58 больным раком кожи в возрасте от 55 до 88 лет. У 51 пациента был верифицирован базальноклеточный рак кожи, у 4 – плоскоклеточный рак и у 3 – рак потовых желез. Из них экзофитный тип роста отмечался у 23 (35,9%) пациентов, а инфильтрация подлежащих тканей – у 35 (64,1%) больных. У 26 (38,5%) пациентов был впервые диагностирован рак кожи, у 32 (61,5%) пациентов имели место рецидивы заболевания.

Для проведения ФДТ использовался фотосенсибилизатор фотолон в дозе 1,0-2,0 мг/кг, лазерный аппарат «Латус-2» (662 нм).

На 1-ом этапе было проведено внутритканевое воздействие: 46 больным выполнена интерстициальная ФДТ с использованием световодов с гибким ци-

линдрическим диффузором длиной 1,0 и 2,0 см диаметром 600 мкм (количество позиций диффузора от 1 до 10), выходная мощность 200-300 мВт, время воздействия составляло от 15 до 25 минут; 12 пациентам – ЭХЛ на аппарате «ЕСУ-300» (Soring), при параметрах: сила тока 50-80 мА, время – 25-40 мин, заряд – 2100-3200 Кл, число электродов от 4 до 10. На 2-ом этапе проводилась ФДТ с дистанционным подведением лазерного света в дозах 50-300 Дж/см² при плотности мощности 300-400 мВт/см².

Результаты. Полная регрессия опухолевых очагов была зарегистрирована у 46 из 58 больных (79,3%), частичная регрессия – у 12 (20,7%) пациентов. На сроках наблюдения от 6 месяцев до 3 лет у 18 (31,0%) из 58 пациентов были диагностированы рецидивы заболевания.

Вывод. Методика последовательного внутритканевого и дистанционного видов воздействия расширяет возможности оказания консервативного органосберегающего лечения рака кожи с экзофитным и внутритканевым типом роста.

Динамика частоты циркулирующих опухолевых клеток под влиянием системной фотодинамической терапии

Ткаченко Н.П., Каплан М.А., Замулаева И.А., Селиванова Е.И., Капинус В.Н., Макаренко С.А.
ФГБУ МРНЦ Министерства здравоохранения РФ, Обнинск, Россия

Цель исследования. Изучение механизма системной фотодинамической терапии (ФДТ).

Материалы и методы. Группу исследования составили 25 больных с раком молочной железы, легких, кожи на разных стадиях (II-IV) опухолевого процесса. Системная ФДТ была первым этапом лечения пациентов, в последующем они получали полихимиотерапию, лучевое, гормональное, хирургическое лечение. Фотосенсибилизатор хлоринового ряда фотолон вводили внутривенно (1,5 мг/кг), одновременно проводилось лазерное облучение крови (λ - 661 нм, Р - 20 мВт, t - 50 мин). При помощи проточной цитометрии проводили идентификацию циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) по иммунофенотипу $\text{Er-CAM}(\text{CD326})+\text{CD45}$. Среди ЦОК определяли опухолевые клетки, экспрессирующие маркер CD44, который применяется для выявления стволовых (стволовоподобных) клеток опухолей ряда локализаций.

Результаты. В течение первых трёх суток после ФДТ частота ЦОК постепенно снижалась, затем оставалась на достигнутом уровне до конца наблюдения (7 суток). Частота ЦОК в первые трое суток была обратно пропорциональна времени после лечения ($R=-0,98$;

$p=0,01$). Через 3 суток после лечения частота ЦОК уменьшилась в среднем на 30% от исходной величины. Подобным образом в процессе лечения изменялось количество стволовых CD44+клеток. При этом их относительное количество среди ЦОК существенно не изменялось и составляло до лечения $70\pm 5\%$, на третьи сутки - $67,5\pm 5,3\%$. На индивидуальном уровне эффект ФДТ зависел от частоты ЦОК до лечения: уменьшение частоты этих клеток происходило статистически значимо чаще у больных с исходно высокой, чем низкой частотой ЦОК ($p=0,05$). Уменьшение частоты ЦОК сопровождалось повышением уровня их апоптотической гибели, оцениваемой по транслокации фосфотидилсерина на внешнюю поверхность мембраны по связыванию с аннексином.

Выводы. Одним из реализуемых механизмов системной ФДТ является уменьшение в периферической крови онкологических больных циркулирующих опухолевых клеток, в том числе стволовых.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ №13-04-01721.

Антимикробная фотодинамическая терапия заболеваний уха, горла и носа

Наседкин А.Н., Грачев Н.С., Логунова Е.В., Русанова Е.В.
МОНИКИ им М.Ф. Владимирского, ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

Цель. Повышение эффективности лечения больных с гнойно-воспалительными заболеваниями уха, горла и носа в условиях снижения иммунитета и повышенной резистентности к антибиотикам с помощью фотодинамического воздействия.

Материал и методы. В эксперименте определяли минимальные дозы лазерного облучения для получения фотохимической реакции на штаммах *S.aureus*, *S.epidermidis*, *E.coli*, *K. pneumoniae*, а также *C.albicans* и плесневых грибов, полученных из клинического материала. В стационаре или амбулаторно антимикробную фотодинамическую терапию (АФДТ) проводили у 114 больных в возрасте от 14 до 62 лет с обострением хронического или с острым гнойным гайморитом (мужчин 61, женщин 53). АФДТ была проведена 93 больным в возрасте от 18 до 67 лет (ж - 54, м - 39) с хроническим тонзиллитом и 18 больным 14-38 лет (ж - 14, м - 7) с острым гнойным или с обострением хронического гнойного среднего отита. В качестве фотосенсибилизатора (ФС) использовали 0,35% раствор радахлорина (ООО «Рада-Фарма», Москва, Россия). Для получения фотохимической реакции использовали лазерный аппарат «Лахта-Милон» (ЗАО «Милон лазер», Санкт-Петербург), генерирующий излучение $\lambda-662\pm 3$ нм, совпадающее с

пиком поглощения фотосенсибилизатора, мощностью до 1,0 Вт, транслируемое по кварц-полимерным волокнам с различной индикатрисой свечения на рабочем торце. Разработана схема проведения АФДТ в гнойно-воспаленном очаге (околоносовая пазуха, лакуна небной миндалины, барабанная полость) (патент РФ: № 2228775, 2002). Контроль эффективности АФДТ проводили путем сопоставления результатов микробиологических исследований до и после лечения.

Результаты. В эксперименте была показана минимальная доза лазерного излучения (6 Дж/см^2) для получения бактерицидного эффекта в отношении всех микроорганизмов, участвовавших в исследовании. АФДТ в клинических условиях позволила получить излечение: у 80,7% больных гнойным гайморитом; в 76,3% - больных с хроническим тонзиллитом; у 16 из 18 больных с гнойным средним отитом. Снижению эффективности метода АФДТ способствуют: одонтогенный характер и полипозная форма гайморита; токсико-аллергическая форма хронического тонзиллита II степени; нарушение проходимости слуховой трубы, наличие полипов или холестеатомы в барабанной полости у больных с гнойным средним отитом.

Фотодинамическая терапия при базальноклеточном раке кожи лица

Петровский В.Ю.¹, Залевская О.И.²

¹ФГБУ «Российский научный центр рентгено-радиологии», Москва, Россия

²ООО «Рада-Фарма», Москва, Россия

Введение. Рак кожи в России занимает 2-3-е место среди всех онкологических заболеваний и в последние годы характеризуется высокими темпами прироста. Наибольшая часть опухолей кожи, в частности базальноклеточного рака, локализована в анатомопографически и косметически неудобных зонах на лице, где проведение органосохраняющего, функционально и косметически щадящего и высокоэффективного лечения наиболее обоснованно. Высокая частота рецидивирования данного рака обуславливают целесообразность поиска новых подходов в лечении базальноклеточного рака. Одним из современных методов противоопухолевой терапии, соответствующих указанным требованиям, может считаться фотодинамическая терапия (ФДТ).

Цель. Изучение эффективности ФДТ при базальноклеточном раке кожи лица.

Материалы и методы. В исследование включено 30 больных раком кожи, которым было выполнено 1-2 сеанса ФДТ (всего 34 сеанса). Средний возраст больных в основной группе составил 64 года. Соотношение мужчин и женщин 1:3, преобладали больные с T1 и T2 стадиями (27 больных), у 17 больных (56,6%)

выявлены рецидивные опухоли. Использованы два фотосенсибилизатора – радахлорин (Россия) и фотолон (Беларусь), доза препаратов составила 1 мг/кг и 1,5 мг/кг веса, соответственно. Лечение проводилось на аппарате «Лазон-ФТ» (Россия). Лазерное облучение проводилось в непрерывном режиме облучения с выходной мощностью 0,3-0,5 Вт, по 1-2 световым полям и световой дозой 200 Дж/см^2 .

Результаты. У всех 30 больных имелась сопутствующая соматическая патология субкомпенсированного и декомпенсированного характера (по шкале ECOG-WHO до лечения у 15 (50%) пациентов – 2 балла, у 8 (26,6%) пациентов – 3 балла). При проведении ФДТ не было зарегистрировано никаких осложнений при соблюдении светового режима. 28 больных (93,6%) на протяжении всего периода динамического наблюдения (12-24 месяца) не было отмечено признаков прогрессирования заболевания и констатирован отличный/хороший косметический эффект. Также не отмечалось ухудшения состояния больных по шкале ECOG-WHO после лечения (у 17 (56,6%) пациентов – 2 балла, у 5 (16,6%) пациентов – 3 балла). У одной больной с рецидивным течением заболевания остаточная опухоль потребовала проведения через 3 месяца повторного сеанса. Также у одной больной, наблюдавшейся более 3 лет, отмечен локальный рецидив заболевания на 38-ом месяце наблюдения – пациентке проведен 1 дополнительный сеанс ФДТ.

Выводы. Фотодинамическая терапия при лечении рака кожи лица позволяет провести органосохраняющее лечение в полном объеме, в том числе при рецидивирующем течении заболевания, с хорошим косметическим эффектом и хорошими отдаленными результатами лечения.

Фотодинамическая терапия цервикальной интраэпителиальной неоплазии стадии II-III

Артемьева Т.П.

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

Введение. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) является одним из наиболее частых предраковых гинекологических заболеваний в Республике Беларусь. За последние два десятилетия существенно возросла частота встречаемости данной патологии. Женщин с впервые установленным диагнозом ЦИН, как правило, подвергают хирургическому лечению.

Цель. Оценка результатов использования нового органосохраняющего метода лечения ЦИН с использованием фотодинамической терапии (ФДТ) с фотолоном.

Материалы и методы. В исследование было включено 188 женщин детородного возраста с морфологически верифицированным диагнозом ЦИН стадии II-III. Среди этих пациенток 44 (24,4%) имели ЦИН II, 144 (75,6%) – ЦИН III и рак *in situ*. У 143 (76,0%) пациенток локализация поражения – в эктоцервиксе, у 32 (17%) – в эндоцервиксе. Фотолон вводился внутривенно в дозе 2,0-2,5 мг/кг массы тела. Уровни накопления фотолон определялись с использованием волоконно-оптической спектроскопии на анализаторе ЛЕСА-6 с He-Ne-диагностическим лазером (Biospek, Россия). Через 3 часа после введения фотолон проводилось фотоблучение в два этапа в условиях соблюдения светового режима на терапевтической лазерной установке «УПЛ-ФДТ» ($\lambda=660$ нм), производства ЛЭМТ Со (Минск, Беларусь). Влагалищная часть шейки матки облучалась с использованием оптического световода (Polironik, Россия) с микролинзой. Цервикальный канал – световодом с цилиндрическим рассеивателем.

Результаты. После проведения ФДТ сроки наблюдения у 17 пациенток составили менее 1 года, у 29 пациенток – 1-2 года, у 45 пациенток – 2-3 года, у 55 – 3-5 лет и у 42 – более 5 лет. Частота полных регрессий после ФДТ с фотолоном, подтвержденных морфологически, составила 94,1% (177 пациенток), частичных регрессий – 3,2% (6 пациенток), стабилизаций – 1,6% (3 пациентки) и прогрессирования – 1,1% (2 пациентки).

Выводы. Высокая селективность повреждающего действия, низкий риск развития серьезных побочных реакций и осложнений, короткий период системной фоточувствительности и высокая терапевтическая эффективность выгодно отличают метод ФДТ с фотолоном от традиционных деструктивных методов лечения ЦИН II-III.

Фотодинамическая терапия с фотолоном в Республике Беларусь

Истомин Ю.П., Артемьева Т.П., Церковский Д.А.
Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

Цель. Обобщение существующего клинического опыта применения ФДТ с фотолоном и изучение непосредственных и отдаленных результатов использования метода у 480 пациентов со злокачественными опухолями и предраковыми различными типами и локализациями.

Материалы и методы. Нами были проанализированы непосредственные и отдаленные результаты ФДТ с фотолоном у 118 пациентов с базальноклеточным раком кожи, 51 пациента с внутрикожными и подкожными метастазами меланомы кожи и рака гортани, 27 пациентов с местно-распространенным поверхностным раком мочевого пузыря, 35 пациентов с

раком полости рта и ротоглотки Tis-T1N0M0 и 188 пациентов с цервикальной интраэпителиальной неоплазией стадии II-III (CIN II-III). Эффективность системной ФДТ с фотолоном была оценена у 61 пациента с раком шейки матки, молочной железы и сепсисом (количество процедур ФДТ было 131). Фотолон вводился внутривенно в дозе 2,0-2,5 мг/кг массы тела. Фотоблучение опухолей осуществлялось через 3 часа после введения фотосенсибилизатора с использованием терапевтического лазера «UPL-PDT» с длиной волны 660 ± 5 нм, производства LEMT Co (Минск, Беларусь). Период наблюдения составил от 6 месяцев до 6 лет.

Результаты. Из 118 пациентов с базальноклеточным раком кожи полные регрессии опухолей (ПР) были достигнуты у 107 пациентов (90,7%), частичные регрессии (ЧР) – у 10 (8,5%) и стабилизации – у 1 (0,8%). Из 51 пациента с внутрикожными и подкожными метастазами меланомы кожи и рака гортани (количество опухолевых очагов составило более 350) ПР была достигнута у 15 пациентов (29,4%), ЧР – у 26 (51,0%), стабилизация (СТ) опухолевого процесса – у 6 (11,8%) и прогрессирование – у 4 (7,8%). Среди 27 пациентов с местно-распространенным поверхностным раком мочевого пузыря наблюдались следующие результаты: ПР – 23 (85,2%), ЧР – 3 (11,1%), СТ – 1 (3,7%). Все 35 пациентов с раком полости рта и ротоглотки Tis-T1N0M0 были полностью излечены после ФДТ с фотолоном. Из 188 пациентов с ЦИН II (44 женщины), ЦИН III (133 женщины) и раком *in situ* (11 женщины) ПР была достигнута у 177 (94,1%), ЧР – у 6 (3,2%), СТ – у 3 (1,6%) и прогрессирование заболевания – у 2 (1,1%). Лазерное облучение в сочетании с внутривенным введением фотолон повышало противоопухолевый иммунитет и улучшало качество жизни пациентов.

Выводы. Полученные данные показывают, что ФДТ с фотолоном является весьма эффективным методом терапии опухолей кожи, ЦИН II-III степени, ранних стадий рака полости рта и ротоглотки, местно-распространенного и поверхностного рака мочевого пузыря.

Сочетанная фотодинамическая терапия и лучевая терапия злокачественных новообразований полости рта

Пурцхванидзе В.А.¹, Сухова М.Ю.²

¹Медицинский центр высоких технологий «ЛазерВита», Москва, Россия

²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна, Москва, Россия

Введение. Полость рта представляет собой сложную в анатомо-топографическом отношении область, в формировании которой участвуют губы, язык, дно полости рта, верхняя и нижняя челюсти, твердое и мягкое небо, передние небные дужки. В силу тесного анатомическо-

го расположения органов злокачественные опухоли полости рта очень быстро распространяются на соседние области и ткани. Особая сложность анатомического строения данной области, исключительные страдания больных, частые отказы больных от хирургических вмешательств и трудность лечения традиционными методами заставляют постоянно искать новые методы лечения. До настоящего времени не существует универсального метода лечения рака этих локализаций.

Цель исследования. Оценить эффективность сочетания фотодинамической терапии и лучевой терапии при лечении злокачественных новообразований полости рта.

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) в сочетании с лучевой терапией проведена 22 больным с начальными стадиями злокачественных новообразований орофарингеальной области, в том числе пролечены с диагнозом рак губы – 10 больных, рак языка – 7 больных, рак слизистой оболочки щеки – 2 больных, рак дна полости рта – 3 больных.

В качестве источника лазерного излучения использовалась установка для фотодинамической терапии «Эломед». В качестве фотосенсибилизатора применялись препараты производные хлорина Е6 – радахлорин и фотодитазин. Плотность энергии опухолей наружных локализации – 200–400 Дж/см². Лучевая терапия проводилась на зону регионального метастазирования. Суммарная доза облучения составила от 40 до 50 Гр.

Результаты. У всех включенных в исследование пациентов непосредственный результат лечения оценен, как полная регрессия опухоли. Длительность безрецидивного периода после проведения лечения составляла более 5 лет у 7 из 10 пациентов с диагнозом рак нижней губы и у 4 из 7 пациентов с диагнозом рак языка. У остальных 11 пациентов безрецидивный период длился менее 2 лет.

Вывод. Сочетанное воздействие фотодинамической терапии и лучевой терапии является высокоэффективным и органосохраняющим лечением начальных стадий злокачественных новообразований полости рта, которое позволяет добиться полного выздоровления пациентов, сохранить орган, избежать побочных явлений традиционных методов лечения, максимально сохранить жизнеспособность здоровой ткани, обеспечив при этом хороший терапевтический эффект и косметический результат.

Фотодинамическая терапия в лечении раннего рака пищевода и желудка

Соколов В.В., Карпова Е.С., Павлов П.В.,
Белоус Т.А.
ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» МЗ РФ,
Москва, Россия

Цель. Оценить эффективность методов эндоскопического лечения больных ранним раком пищевода и желудка.

Задачи. Разработать и усовершенствовать методики эндоскопической хирургии и фотодинамической терапии больных ранним раком пищевода и желудка, определить критерии отбора больных для эндоскопического внутрипросветного лечения.

Материалы и методы. С 1987 года по настоящее время в МНИОИ им. П.А. Герцена проведено эндоскопическое лечение 88 больных ранним раком пищевода и 127 больных ранним раком желудка в возрасте от 18 до 87 лет с использованием различных вариантов электрохирургического воздействия, фотодинамической терапии, а также их комбинированного применения.

Результаты. Применение различных методов эндоскопической хирургии и фотодинамической терапии для лечения больных ранним раком пищевода и желудка позволяет у 80% признанных ранее инкурабельными по соматическому статусу больных добиться полного удаления опухоли.

Выводы. В зависимости от формы роста опухоли, ее размеров, локализации, морфологической структуры разработаны оптимальные варианты органосохраняющего и функционально-щадящего эндоскопического лечения больных ранним раком пищевода и желудка. Ведущим методом является эндоскопическая мукозэктомия с диссекцией в подслизистом слое. Фотодинамическая терапия, в том числе и многокурсовая ФДТ, применяется как самостоятельный метод и как завершающий этап при комбинированном способе лечения.

Роль флуоресцентных методов исследования при комплексной бронхологической диагностике скрытых форм раннего центрального рака легкого

Соколов В.В., Телегина Л.В., Якубовская Р.И.,
Кармакова Т.А., Франк Г.А., Волченко Н.Н.
ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» МЗ РФ,
Москва, Россия

Цель. Изучить в сравнительном аспекте возможности выявления и верификации скрытых форм раннего центрального рака легкого (РЦРЛ) при использовании современных методик флуоресцентного и спектроскопического бронхологического диагностического исследования.

Задачи. Разработать оптимальный вариант мультимодальной бронхоскопической диагностики РЦРЛ при исследовании трахеобронхиального дерева в режимах белого света с высоким разрешением (WLI), узкоспек-

тральной эндоскопии (NBI), аутофлюоресценции (AFI), 5-АЛА-индуцированной флюоресценции (PDD), флюоресценции с экзогенными фотосенсибилизаторами (FD), виртуальной спектроскопии с оценкой индекса Hb (IHb), локальной флюоресцентной спектроскопии с трехволновым возбуждением (LFS), эндобронхиальной ультрасонографии (EBUS), флюоресцентной микроскопии скарификатов слизистой бронхов на MUC I.

Материал и методы. Исследование выполнено на основе анализа накопленного клинического опыта в ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» за период с 1992 по 2013 гг. в бронхоскопическом выявлении и диагностики 172 очагов РЦРЛ у 125 больных.

Результаты. При использовании новой схемы комплексного бронхоскопического и иммуноцитохимического исследования более чем в два раза повышается диагностика скрытых, рентгеногегативных форм РЦРЛ, а иммуноцитохимическое исследование на MUC I позволяет прогнозировать возникновение предраковых очагов слизистой оболочки бронхов.

Выводы. Каждый из современных методов бронхоскопической диагностики раннего центрального рака легкого обладает высокой чувствительностью, но разной специфичностью. Необходимо создание оптимальной схемы комплексной эндоскопической и морфологической диагностики РЦРЛ.

Фотодинамическая терапия в комбинации с эндобронхиальной хирургией при раннем центральном раке легкого

Соколов В.В., Телегина Л.В., Гладышев А.А.,
Пикин О.В.
ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» МЗ РФ,
Москва, Россия

Цель. Разработка и совершенствование методов эндобронхиальной хирургии и фотодинамической терапии (ФДТ) при раннем центральном раке легкого (РЦРЛ).

Материалы и методы. За период с 1984 по 2013 гг. в ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» МЗ РФ разработаны методы эндобронхиальной хирургии и ФДТ у 125 больных ранним центральным раком легкого (172 опухоли). У 36 (45%) больных была выявлена единичная опухоль, у 89 (55%) больных – две или более опухоли. Метакронный РЦРЛ был выявлен в 75% наблюдений, синхронный – в 25%. РЦРЛ был рентгеногегативным у 96% больных. У всех пациентов был плоскоклеточный тип строения опухоли. ЦРЛ у 42 больных был в стадии в стадии 0 (TisNOMO) и у 89 – в стадии I (T1NOMO). Всем больным было отказано в проведении традиционного хирургического лечения.

Для лечения РЦРЛ с 1984 г. мы применяли электрокоагуляцию в качестве основного метода эндобронхиальной хирургии для удаления опухолей. С 1993 г. мы стали использовать метод ФДТ с различными фотосенсибилизаторами и отечественными лазерными установками. На протяжении последних десяти лет для проведения ФДТ применяем фотосенс, аласенс и радахлорин по разработанным в отделении методикам. В настоящее время методом выбора для эндобронхиального лечения РЦРЛ является ФДТ как самостоятельный метод, либо в сочетании с аргонно-плазменной коагуляцией (АПК).

Результаты. Благодаря применению указанных методик удалось добиться полной регрессии РЦРЛ в 89% случаев, а при опухолях размером по плоскости до 1 см – в 100%. При динамическом наблюдении в сроки от 1 года до 15 лет рецидив диагностирован в 17% наблюдений. У всех больных с диагностированным рецидивом было успешно повторно проведено эндоскопическое лечение или сочетанная ЛТ. Метакронный РЦРЛ был выявлен у 21%.

Выводы. Разрабатываемые методы эндобронхиальной хирургии и ФДТ позволяют проводить радикальное лечение у больных РЦРЛ и увеличить число излеченных больных с хорошими функциональными результатами.

Локальная флюоресцентная диагностика для оценки эффективности фотодинамической терапии

Кречина Е.К.¹, Мустафина А.Ч.¹,
Макаров В.И.², Муравьев М.В.³

¹ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» МЗ РФ, Москва, Россия
²ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия
³ООО «Панков Медикл», Москва, Россия

Цель исследования. Изучить фармакокинетику 1%-го геля-фотосенсибилизатора гелеофор, предназначенного для флюоресцентной диагностики тканей десны.

Материалы и методы. Проведено обследование 21 человек в возрасте 18-35 лет. В 1-ю группу были включены 6 пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ), во 2-ю группу – 10 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести (ХГПлст), в 3-ю группу – 5 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести (ХГПсст). Для измерения спектров эндогенной и экзогенной флюоресценции и контроля фотодинамической терапии (ФДТ) использовалась лазерная электронно-спектральная

установка «ЛЭСА-01-Биоспек» (Россия), λ -632,8 нм. Для оценки внутритканевой концентрации фотосенсибилизатора рассчитывался нормированный индекс флуоресценции (If). ФДТ проводилась светодиодным аппаратом «Спектр» (Россия) с λ -662 нм, N-2,5 Вт, доза облучения составляла 60,85 Дж/см² (5 мин), 85,70 Дж/см² (7 мин), 95,34 Дж/см² (8 мин).

Результаты. Максимальная концентрация препарата в тканях десны при ХГКГ достигалась через 5 минут экспозиции и составила 2,9 мкг/мл. If через 5, 7 и 8 минут светодиодного облучения составил $6,1 \pm 1,0$ усл. ед.; $4,8 \pm 0,8$ усл. ед. и $4,1 \pm 0,7$ усл. ед., соответственно, в зависимости от дозы облучения.

При воспалении в пародонте (ХГПлст) максимальная концентрация препарата достигалась также на 5 минут и была в 1,5 раз выше, чем при ХГКГ. Через 5, 7 и 8 мин светодиодного облучения If также возрастал в 1,6, 1,5 и 1,1 раза, соответственно.

При более выраженной степени воспаления в пародонте (ХГПсст) максимальная концентрация препарата достигалась на 5 минуте, возрастала в еще большей степени (в 2,2) по сравнению с ХГКГ. Через 5, 7 и 8 мин светодиодного облучения If увеличивался в 1,9, 1,7 и 1,4 раза, соответственно, по сравнению с ХГКГ.

Выводы. Таким образом, при воспалении пародонта время максимального накопления 1%-го геля-фотосенсибилизатора гелеофор одинаково и составляет 5 минут, а время светового облучения, при котором происходит инактивация препарата по мере усиления степени тяжести воспаления в пародонте возрастает от 5 до 8 минут.

Фотодинамическая терапия функционально неоперабельных больных раком желудочно-кишечного тракта

Соколов Д.В.¹, Соколов В.В.², Махсон А.Н.¹

¹МГОб № 62, Москва, Россия

²ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена», Москва, Россия

Цель. В большинстве случаев рак желудочно-кишечного тракта диагностируется у лиц старше 60 лет, имеющих выраженную сопутствующую патологию, исключающую возможность выполнения хирургической операции, что диктует необходимость разработки новых методов функционально-щадящего лечения. Для этой категории пациентов в течение последних десятилетий ведутся разработки новых методов лечения, одним из которых является эндоскопическая внутрипросветная фотодинамическая терапия (ФДТ).

Материалы и методы. С 2005 по 2013 гг. ФДТ была проведена у 23 функционально неоперабельных боль-

ных (32 опухоли) раком пищевода, желудка и толстой кишки. У 12 пациентов метод ФДТ был использован для удаления ранних форм рака (Tis-1N0M0) пищевода, желудка и толстой кишки, у 11 пациентов для паллиативного лечения при рецидиве и местно-распространенным раком желудка и пищевода. Во время сеансов лечения использовались следующие отечественные препараты: фотогем (производное гематопорфирина), аласенс (5-аминолевулиновая кислота), фотосенс (сульфированный фталоцианин алюминия) и радахлорин (хлорин е6). При выполнении сеансов фотодинамической терапии использовались отечественные лазерные установки ЛФТ-630-Биоспек, ЛФТ-670-Биоспек и Лахта-Милон (662 нм) на длине волны, соответствующей поглощению используемого фотосенсибилизатора. Применялись методики дистанционного и контактного облучения с использованием микролинз и диффузоров различной конфигурации и длины.

Результаты. В группе функционально неоперабельных больных ранними формами рака (Tis-1N0M0) пищевода, желудка и толстой кишки полная регрессия первичной опухоли отмечена в 89% случаев. Отмечена прямая зависимость полной регрессии от размеров опухоли. Рецидив в сроки от 5 месяцев до 5 лет диагностирован в 20% случаев. По поводу рецидива проводилась многокурсовая фотодинамическая терапия. Осложнений не отмечено.

В группе функционально неоперабельных больных рецидивным и местно-распространенным раком пищевода и желудка полная регрессия опухоли отмечена в 10% случаев, частичная регрессия – в 90% случаев. Максимальный срок наблюдения составил 4 года.

Выводы. Таким образом, использование фотодинамической терапии у больных ранним раком желудочно-кишечного тракта с тяжелой сопутствующей патологией может быть альтернативой хирургическому лечению. В случае паллиативного лечения у всех больных с местно-распространенным опухолевым процессом удается добиться частичной резорбции первичной опухоли.

Флюоресцентная гистероскопия в ранней диагностике патологии эндометрия

Серова Л.Г., Филоненко Е.В., Чулкова О.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия
Московский научно-исследовательский институт им П.А. Герцена, Москва, Россия

Введение. В связи с увеличением роста заболеваемости и «омоложения» рака эндометрия встает вопрос об усовершенствовании методов ранней диагностики

данной патологии. На сегодняшний день рак эндометрия занимает первое место среди злокачественных опухолей женских половых органов и составляет 24,2%. Распознавание и лечение ранних форм рака предупреждают запущенность онкологического процесса и способствуют снижению смертности от него.

Цель исследования. Повышение эффективности первичной и уточняющей диагностики предрака и начальных форм рака эндометрия.

Материалы и методы. Перед исследованием всем пациенткам в полость матки вводили 10 мл 3%-го раствора аласенса (5-аминолевуленовая кислота, ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия), приготовленного непосредственно перед введением. Время экспозиции составляло 2 часа, в течение которого пациентка находилась в горизонтальном положении. Аллергических реакций на введение препарата не отмечено.

Диагностическую цервикогистероскопию с флюоресцентным исследованием и последующей биопсией эндометрия с раздельным диагностическим выскабливанием выполняли в малой операционной под внутривенным обезболиванием по общепринятой методике. Флюоресцентная диагностика проводилась с использованием аппаратуры и инструментария фирмы «Karl Storz» (Германия) D- Light системы с длиной волны 380-440 нм, что позволяло произвести осмотр полости матки в двух режимах: «белого света» и «флюоресценции».

Обследованы 154 женщины с патологией эндометрия: с фоновыми процессами (полип тела матки), атипической гиперплазией эндометрия и начальным раком тела матки. Средний возраст больных составил 38 лет. Все пациентки были разделены на 2 группы. I группу составила 101 женщина. Эти пациентки поступили в МНИОИ им П.А. Герцена для первичного обследования с целью морфологической верификации диагноза. II группа была представлена 53 женщинами репродуктивного возраста с ранее установленным диагнозом атипическая гиперплазия эндометрия и начальный рак эндометрия. Этой группе пациенток флюоресцентная гистероскопия выполнялась в качестве мониторинга за проводимой самостоятельной гормонотерапией на различных этапах лечения и через один год после проведения гормонотерапии, как органосохраняющего метода лечения.

Результаты. На основании сопоставления данных флюоресцентной гистероскопии с данными морфологического исследования в I группе была выявлена предопухоловая патологии (атипическая гиперплазия эндометрия) у 21 больной, начальный рак тела матки у – 61 пациентки и у 19 пациенток был диагностирован доброкачественный процесс – железистые полипы эндометрия. Во II группе на основании сопоставления флюоресцентной гистероскопии и морфологических данных у 5 больных в процессе лечения выявлена неизлеченность процесса и у 4 пациенток – рецидив заболевания через год после окончания лечения.

Заключение. Таким образом, применения метода флюоресцентной диагностики с использованием препарата аласенс позволяет выявлять микроскопические очаги предопухоловой и опухоловой патологии эндометрия на визуально неизменной слизистой полости матки, а также выполнять прицельную биопсию измененных участков из зон флюоресценции для улучшения ранней диагностики данной патологии.

Оценка эффективности фотодинамической терапии при эндодонтическом лечении

Рабинович И.М., Дмитриева Н.А., Голубева С.А.
ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздрава России,
Москва, Россия

Цель. Оценка эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении заболеваний пульпы и периодонта в клинической практике при использовании светодиодной лампы «Fotosan» (длина волны 625-635 нм) и фотосенсибилизатора толудинового синего.

Материалы и методы. Под наблюдением находились пациенты в возрасте от 17 до 65 лет, которым было проведено эндодонтическое лечение пульпита и периодонтита. Обоснованием применения метода ФДТ в качестве антисептической обработки корневых каналов явилось микробиологическое исследование. Было исследовано 70 проб содержимого корневых каналов (35 до лечения и 35 после лечения). Эндодонтическое лечение проводилось по протоколу Европейской эндодонтической Ассоциации. После расширения каждый корневой канал заполнялся фотосенсибилизатором толудиновым синим. Экспозиция в канале составляла 10 секунд. Фотосенсибилизатор активировался светодиодной лампой «Fotosan» в течение 1 минуты в каждом канале. Затем каналы промывались стерильной дистиллированной водой и высушивались, после чего брался повторный посев. На завершающем этапе лечения каналы пломбировались методом латеральной конденсации.

Результаты. Рост микробной флоры получен в 100% посевов проб, взятых до начала лечения. После ФДТ полное отсутствие микробов было достигнуто в 20% случаев. *Enterococcus faecalis* был выделен в 61,5% случаев до лечения, после лечения его количество составило 22,3%. Наилучший результат был достигнут в отношении зеленеющего стрептококка: до лечения он был выделен в 92,3% случаев, после – в 6,7%. Количество негемолитического стрептококка снизилось с 61,5% до 33,4%. Наиболее устойчив к ФДТ оказался эпидермальный стафилококк: до лечения он был выделен в 84,6% случаев, после – в 46,2%. До лечения грибы рода кандиды выделены в 23,1% случа-

ев, после – не обнаружены. Представители кишечной флоры были высеяны в 15,4% случаев до лечения, после – их рост не наблюдался.

Выводы. Полученные результаты клинко-лабораторного исследования свидетельствуют о выраженном антибактериальном эффекте ФДТ при эндодонтическом лечении.

Сочетанная фотодинамическая и лучевая терапия злокачественных опухолей

Филинов В.Л., Сдвижков А.М., Борисов В.И., Калмыков А.С., Дружкова Н.В.
ГУЗ Онкологический клинический диспансер № 1 ДЗМ, Москва, Россия

Введение. Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это уже традиционный метод лечения больных. Глубина проникновения дистанционного терапевтического лазерного излучения составляет 36 мм, что ограничивает возможности метода. Практически все злокачественные опухоли имеют тенденцию к накоплению фотосенсибилизаторов. ФДТ эффективна при многих нозологических формах злокачественных опухолей. Интерстициальная и контактная ФДТ позволяют увеличить глубину проникновения света в ткани и повысить фотодинамический эффект. В настоящее время ФДТ в основном применяется при проведении лечения больных злокачественными опухолями 1 стадии процесса. В России основной контингент специализированных онкологических учреждений – это пациенты с 3-4 стадией заболевания. Эффективность лучевого лечения зависит от чувствительности опухолей к ионизирующему излучению. Ряд опухолей являются радиорезистентными. Клинические исследования препарата фотосенс в рамках Московской научной программы показали, что сочетанная (ФДТ+ДГТ) терапия повышает эффективность лечения больных злокачественными опухолями.

Материалы и методы. В ОКД №1 сочетанную (ФДТ+ДГТ) терапию получили 142 больных опухолями различной локализации и морфологической структуры. Стадии процесса от T1N0M0 до T4N1M1. Опухоли были первичные, рецидивные и метастатические. Локализация опухолей: рак кожи, мягких тканей, ЛОР органов и женских наружных половых органов. В лечении применялся отечественный фотосенсибилизатор фотосенс, который позволяет проводить сочетанную терапию фракционно и в полном объеме. Использовались отечественные полупроводниковые лазеры производства «Биоспек». ДГТ проводилась с использованием аппаратов Рокус-АМ, Агат-С. Сочетанная терапия проводилась при первичных опухолях, рецидивных, метастатических, а так же, как адъювантное

послеоперационное лечение. Проводилась дистанционная и контактная ФДТ.

Результаты. Сочетанная (ФДТ+ДГТ) терапия позволила значительно повысить эффективность лечения больных 2-3 стадии процесса, в том числе и в случае радиорезистентных опухолей. Суммарная доза ДГТ в ряде случаев была меньше традиционной терапевтической без ухудшения результатов лечения. Лучевая реакция здоровых тканей на ионизирующее излучение была значительно ниже в сочетании с ФДТ. Сочетанная терапия расширила возможности ФДТ в лечении больных 2-3 стадией процесса, а так же повысила эффективность хирургического лечения применением адъювантной ФДТ. В основном больные получали лечение в амбулаторных условиях. В процессе и после проведения сочетанной и комбинированной ФДТ осложнений не наблюдалось.

Заключение. Сочетанная (ФДТ+ДГТ) у больных злокачественными опухолями различной стадии, локализации и морфологической структуры является высокотехнологичным, перспективным и эффективным методом лечения. Резистентность опухолей к химиотерапии и лучевому лечению не являются противопоказанием для проведения сочетанной (ФДТ+ДГТ) терапии.

Возможности внутриплевральной фотодинамической терапии у больных с первичным и метастатическим поражением плевры, осложненным злокачественным плевритом

Пикин О.В., Трахтенберг А.Х., Филоненко Е.В., Вурсол Д.А., Крылова Г.П., Глушко В.А., Колбанов К.И., Амиралиев А.М.
ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Минздрава России», Москва, Россия

Введение. Лечение больных с первичным (мезотелиома) и метастатическим поражением плевры является актуальной проблемой клинической онкологии. В последние годы в мире получила широкое применение фотодинамическая терапия (ФДТ) мезотелиомы плевры и метастазов в плевру опухолей различных локализаций.

Материалы и методы. МНИОИ им. П.А. Герцена располагает опытом ФДТ 105 больных с первичным и метастатическим поражением плевры, из них мезотелиома диагностирована у 14, метастатическое поражение плевры опухолей различных локализаций – у 91 пациентов. Торакоскопия выполнена 51, торакотомия – 15 больным. Во время операции выполняли множественную биопсию париетальной и висцеральной

ной плевры с целью морфологической верификации диагноза. Во время торакоскопии или торакотомии в плевральную полость устанавливали от 2 до 6 диффузоров. Всем пациентам лечение проводилось на фоне плеврального дренажа и активной аспирации из плевральной полости. Для ФДТ использовали препарат фотосенс, который вводили интравенно в дозе 20 мг (110 мл 0,02%-го раствора) через 1 сутки после операции или после эвакуации жидкости. Первый сеанс ФДТ выполняли через 2-3 часа после введения фотосенса, последующие сеансы с интервалом 24 часа. Обычно проводили 3-5 сеансов ФДТ на фоне активной аспирации плевральной полости.

Результаты. У всех больных до начала ФДТ отмечалось активное накопление экссудата в плевральной полости, требовавшее многократных пункций, стойкий болевой синдром, симптомы интоксикации и дыхательной недостаточности. У 96 (91,4%) больных отмечено резкое снижение экссудации, а затем и прекращение накопления жидкости в плевральной полости. При этом ни у одного больного с зарегистрированным положительным эффектом ФДТ не отмечено повторного накопления жидкости в плевральной полости. Исчезновение или значительное уменьшение болевого синдрома зафиксировано у 83 (79,0%) пациентов. Средний срок наблюдения составил 25,2 месяца, максимальный срок наблюдения – 48 месяцев.

Вывод. Таким образом, фотодинамическая терапия злокачественных плевритов позволяет добиться хорошего паллиативного эффекта и улучшить качество жизни у этой категории больных.

Собственный результат ФДТ с препаратом аласенс при ВВК, БВ и НВ

Асланян К.О.², Аполихина И.А.¹,
Холодцова М.Н.³, Тетерина Т.А.¹

¹Кафедра акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ФППО врачей ГОУ ВПО Первый Государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

²ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

³ИОФ РАН Лаборатория лазерной биоспектроскопии Universite de Lorraine, CRAN, ENSEM, Франция

Введение. Многообразие различных микроорганизмов, участвующих в возникновении бактериаль-

ного вагиноза, объясняет термин «бактериальный», а в связи с отсутствием в отделяемом влагалища лейкоцитов — клеток, ответственных за развитие воспалительной реакции, произошло изменение термина «вагинит» на термин «вагиноз». Бактериальный вагиноз – нарушение микроэкологии влагалища – наиболее распространенное состояние у женщин детородного возраста. Вульвовагинальный кандидоз – это воспалительное заболевание слизистых оболочек влагалища и наружных половых органов, вызванное грибами рода *Candida*, которые отличаются высокой приспособляемостью и способностью активизироваться при появлении в организме ИППП и возбудителей др. инфекций. Альтернативным методом при отсутствии эффекта от традиционной терапии является фотодинамическая терапия.

Цель исследования. Оценка эффективности и безопасности проведения флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии с 5-аминолевулиновой кислотой (5-АЛК) у женщин с хроническим вульвовагинальным кандидозом (ВВК), бактериальным вагинозом (БВ) и неспецифическим вагинитом (НВ).

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) проведена 60 пациенткам, из них у 20 был диагностирован вульвовагинальный кандидоз, у 25 – бактериальный вагиноз и у 15 – неспецифический вагинит. После введения тампона с 1,5%-ым раствором 5-АЛК во влагалище было проведено спектрально-флуоресцентное исследование на диагностической установке «Спектр-Кластер». Визуальная оценка накопления протопорфирина IX в тканях вульвы была проведена с использованием синей лампы с длиной волны 400 нм (ООО «Полиорник»). Статистическая оценка спектров всех пациенток показала накопление протопорфирина IX преимущественно в пораженных участках слизистой влагалища и вульвы. Через 2 часа после введения тампона всем пациенткам проводилось 4 сеанса ФДТ лазером синего света с длиной волны 400 нм (1 сеанс в 3 дня). Эффективность лечения оценивали на основании микроскопии мазков по Грамму, ПЦР в режиме реального времени (фемофлор) и результатов бактериальных посевов.

Результаты. После сеансов ФДТ при оценке клинической эффективности у всех пациенток исчезли или значительно уменьшились жалобы на зуд и жжение сразу после первого сеанса. У 6 (40%) пациенток с вульвовагинальным кандидозом сохранялись жалобы на незначительные выделения, однако у 4 (26%) пациенток они прошли сразу же после второго сеанса ФДТ, а у 2 (13%) после третьего сеанса. У 15 (60%) пациенток с бактериальным вагинозом сохранились жалобы на незначительные выделения, которые прошли сразу же после второго сеанса ФДТ. У всех пациенток с неспецифическим вагинитом отмечалось уменьшение гиперемии и количество вагинальных выделений.

При оценке мазков на флору у всех 20 пациентов с вульвовагинальным кандидозом отмечалась положительная динамика: у 8 (40%) пациенток в мазке на флору, взятом до начала лечения, был выявлен лейкоцитоз, у 12 (60%) – только грибы рода *Candida*.

После 1 сеанса ФДТ грибы рода *Candida* выявлялись в бактериальном посеве у 11 пациенток (73%), уже после второго сеанса ФДТ – у 8 пациенток (53%), после 3 сеанса – у 4 пациенток (27%), после 4 сеанса – у 5 пациенток (33%).

Окончательно эффективность оценивали через 4 недели после проведения 4-го сеанса ФДТ, которая отмечалась у 16 пациенток и составила 80%. По данным ПЦР в режиме реального времени (фемофлор) после проведения сеансов ФДТ уменьшалась общая бактериальная масса, у пациенток с бактериальным вагинозом, количество гарднерелл после первого сеанса до нормы. У пациенток с вульвовагинальным кандидозом количество грибов снижалось после второго-третьего сеансов.

Заключение. Проанализировав полученные результаты, можно сделать вывод о достаточно высокой эффективности ФДТ вульвовагинального кандидоза, бактериального вагиноза и неспецифического вагинита (80%). Об этом свидетельствуют как исчезновение жалоб у пациенток, отсутствие грибов рода *Candida* и восстановление микробиоценоза влагалища по данным мазков на флору, ПЦР в режиме реального времени (фемофлор) и бактериального посева. По сравнению с традиционным методом лечения в 5 раз снижается количество рецидивов заболевания. Таким образом, ФДТ можно рассматривать в качестве альтернативного метода лечения вульвовагинального кандидоза, который не только обеспечивает эффективное лечение, но и, впоследствии, снижает частоту рецидивирования процесса.

Флуоресцентная диагностика доброкачественных заболеваний желудка

Терещенко С.Г., Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., Межетович А.А., Титаева А.А.

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Цель. Исследование эндогенной флуоресценции слизистой оболочки при различных доброкачественных поражениях желудка.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 432 пациента. Произведена оценка эндоген-

ной флуоресценции слизистой оболочки 576 патологических образований желудка (множественные эрозии – 27, хроническая язва – 187, термическая язва после полипэктомии – 23, гиперпластический полип – 132, аденома – 49, фовеолярная гиперплазия – 28, гетеротопия поджелудочной железы – 12, хронический гастрит – 48, эрозии оперированного желудка – 5, язва гастроэнтероанастомоза – 43, послеязвенный рубец – 22). Все поражения изначально рассматривались как доброкачественные. Для исследования применялся спектроанализатор ЛЭСА-01, который позволяет регистрировать спектр диффузного отражения и вынужденной флуоресценции тканей в оптическом диапазоне длин волн от 500 до 690 нм с минимальным интервалом времени 0,5 сек, и устройство для амплитудной калибровки. Измерения проводили в центре патологического очага и в области его края, акцентируя внимание на зоне изменений слизистой оболочки (гиперемия, эрозия, изъязвление и т.д.), а также в интактной слизистой оболочке. Для количественной оценки эндогенной флуоресценции использовался коэффициент флуоресцентной контрастности – Kf.

Результаты. Для визуально неизменной слизистой желудка Kf составил $0,25 \pm 0,07$, при гастрите $0,26 \pm 0,08$. Анализ спектрограмм оболочки при таких поражениях желудка, как фовеолярная гиперплазия, хронические эрозии, послеязвенные рубцы и эктопии поджелудочной железы, показал, что их спектры аутофлуоресценции по своим характеристикам не отличаются друг от друга и спектров контрольной группы. Средние значения Kf в точках, находящихся в области поражения, составили $0,27 \pm 0,04$ и достоверно не отличались от показателей в интактной слизистой $0,23 \pm 0,05$ и слизистой контрольной группы. Kf язвенного поражения составил в желудке $0,50 \pm 0,09$, в области анастомоза $0,52 \pm 0,09$, в области термического дефекта после полипэктомии $0,52 \pm 0,06$, и достоверно ($p < 0,05$) отличался от контрольной группы. Динамические наблюдения в процессе лечения показали, что при регрессии язвенного поражения отмечается постепенная стабилизация Kf. Спектры аутофлуоресценции слизистой оболочки гиперпластических полипов не отличались от спектров в контрольной группе, но имели различие со спектрами в интактной слизистой оболочке, в среднем коэффициент флуоресцентной контрастности слизистой оболочки гиперпластического полипа составил $0,24 \pm 0,05$, и достоверно ($p < 0,05$) был ниже аналогичного в интактной слизистой $0,37 \pm 0,04$. В среднем коэффициент флуоресцентной контрастности слизистой аденом составил $0,44 \pm 0,06$, и был достоверно ($p < 0,05$) выше аналогичного в интактной слизистой $0,28 \pm 0,05$.

Выводы. Оценка эндогенной флуоресценции может быть использована в эндоскопическом диагностическом исследовании, особенно для решения вопроса о необходимости и выборе места прицельной

биопсии в случае сомнительной визуальной и морфологической картины. Относительная экономичность, малая инвазивность, отсутствие побочных эффектов и необходимости предварительной специальной подготовки делают эндоскопическую биоспектрофотометрию методом выбора при динамическом наблюдении за больными с хроническими заболеваниями желудка и кишечника.

Возможности оценки эндогенной флуоресценции в диагностике неспецифического язвенного колита

Великанов Е.В., Терещенко С.Г., Никитина Н.В., Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г.
Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Цель. Улучшение результатов диагностики неспецифического язвенного колита.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 180 больных с неспецифическим язвенным колитом. Мужчин было 76, женщин – 104. Больные были в возрасте от 14 до 86 лет. Длительность анамнеза заболевания колебалась от 1 года до 15 лет. Исследования проводили при поступлении больного в клинику (в фазу активного воспаления) и каждые 10 дней до наступления клинической ремиссии. Оценка эндогенной флуоресценции, индуцированной твердотельным лазером с длиной волны 532 нм. (зеленый лазер) проводилась на спектроанализаторе «ЛЭСА-01» по разработанному показателю. Для количественной оценки эндогенной флуоресценции нами использовался модифицированный коэффициент флуоресцентной контрастности – Kf. Колоноскопию выполняли по стандартной методике. Все измерения проводились в режиме реального времени. Измерения проводили в центре патологического очага, в области его края, а также интактной слизистой оболочки. Дистальный конец волоконно-оптического кабеля ЛЭСА непосредственно контактировал с исследуемой тканью. Из точек флуоресценции выполняли прицельную биопсию. Эффективность комплексной диагностики определяли на основании сравнения оптических данных с результатами плановых гистологических исследований биопсийного и операционного материалов.

Результаты. Спектры эндогенной флуоресценции при неспецифическом язвенном колите имели отличие от спектров интактной слизистой оболочки. В среднем Kf измененной толстой кишки

при неспецифическом язвенном колите составил Kf 1 – $0,93 \pm 0,07$ ($p < 0,05$), Kf 2 – $1,02 \pm 0,06$, Kf 3 – $0,83 \pm 0,07$ ($p < 0,05$), интактной слизистой оболочки Kf 1 – $1,2 \pm 0,1$, Kf 2 – $1,1 \pm 0,06$, Kf 3 – $0,57 \pm 0,07$. Среднее значение коэффициента флуоресцентной контрастности измененной толстой кишки при тяжелом поражении составило Kf 1 – $0,63 \pm 0,05$, Kf 2 – $0,83 \pm 0,04$, Kf 3 – $0,79 \pm 0,06$, и отличалось от изменений при нетотальном течении неспецифического язвенного колита. В ходе проводимого лечения, по мере стихания воспаления форма спектра принимала вид характерный для интактной слизистой оболочки. У 6 больных не отмечено улучшение эндоскопической картины, не было тенденции к нормализации Kf. У 3 больных в результате прицельной биопсии и проведенного гистологического исследования выявлена аденокарцинома, у 2 больных высокая степень дисплазии.

Выводы. Применение флуоресцентной диагностики позволяет проводить «оптическую биопсию». Внутриорганный флуоресцентный мониторинг способствует уточнению характера и границ патологического процесса в слизистой оболочке толстой кишки при неспецифическом язвенном колите. Позволяет объективно оценивать активность воспалительного процесса, контролировать его в ходе лечения, констатировать полноту ремиссии и планировать восстановительные операции.

Интраоперационная флуоресцентная диагностика и лазерная спектроскопия в хирургии глиом головного мозга

Горяйнов С.А.¹, Потапов А.А.¹, Шурхай В.А.¹, Шишкина Л.В.¹, Лощенов В.Б.², Савельева Т.А.², Кузьмин С.Г.³

¹НИИ нейрохирургии им. акад.

Н.Н. Бурденко РАМН, Москва, Россия

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

³ФГУ ГНЦ НИОПИК, Москва, Россия

Введение. Современные стандарты нейрохирургических операций предполагают использование различных методов пред и интраоперационной нейроанатомической, нейрофизиологической и нейрометаболической навигации, в том числе с применением 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК).

Материалы и методы. С 2010 по 2013 гг. в нашей клинике выполнено 114 оперативных вмешательств у пациентов с различными опухолями головного мозга с использованием интраоперационной флуоресцентной навигации и лазерной биоспек-

троскопии. В исследуемую группу входили 17 пациентов с глиомами Grade I-II WHO и 97 пациентов с глиомами Grade III-IV. Оценка видимой флуоресценции (ВФ) проводилась с помощью микроскопа Carl Zeiss Pentero. Для интраоперационного анализа количественного накопления 5-АЛК использован оригинальный лазерный спектральный анализатор БИОСПЕК. В ходе оперативного вмешательства проводились измерения содержания протопорфирина IX (ППИХ) с параллельным забором множественных биоптатов. С помощью анализатора вычислялся флуоресцентный контраст (ФК), представляющий соотношение между пиком флуоресценции ППИХ и отраженным лазерным сигналом.

Результаты. ВФ получена нами у 10 из 17 пациентов (58,8%) с опухолями Grade I-II. В группе из 97 пациентов с глиомами Grade III-IV ВФ наблюдалась у 87 (89,7%) пациентов. При анализе множественных биопсий чувствительность метода ВФ с микроскопом составила 78%, специфичность – 60%; при лазерной спектроскопии – 88% и 82%, соответственно. Интенсивность видимой флуоресценции коррелировала со степенью накопления контрастного препарата по данным предоперационных МРТ ($p < 0,05$). Достоверно чаще ВФ отмечалась при опухолях размером более 30 мм, а также в группе пациентов с продолженным ростом глиом.

Выводы. Флуоресцентная диагностика в хирургии внутримозговых опухолей с 5-АЛК, дополненная лазерной спектроскопией, является быстрым и эффективным методом интраоперационной диагностики, дополняя традиционные методы навигации.

Фотодинамическая терапия в лечении воспалительных заболеваний суставов у детей и подростков

Курченко С.Н.¹, Дудин М.Г.¹, Шашко А.А.,
Нетелько Г.И.², Пономарев Г.В.³

¹СПб ГУЗ «Восстановительный Центр детской ортопедии и травматологии «ОГОНЕК», Санкт-Петербург, Россия

²ФГУ (РОСНИИТО им. Р.Р. Вредена) Росмедтехнологий, Санкт-Петербург, Россия

³Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия

Введение. Воспалительные заболевания суставов занимают одно из ведущих мест в структуре патологии и являются потенциально опасными с

точки зрения риска развития инвалидности у детей. Одним из наиболее тяжелых заболеваний данного класса является ювенильный артрит (ЮА), или ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) по современной номенклатуре. Болезнь характеризуется прогрессирующим, рецидивирующим течением, нередко приводящим к инвалидности. По данным детской клиники Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, при наиболее тяжелых системных формах ЮИА инвалидность достигает 25–30%. Зарубежные авторы сообщают, что частота инвалидизации по состоянию опорно-двигательного аппарата при ЮИА колеблется от 17% до 41%, в зависимости от варианта артрита. Тяжелые двигательные нарушения чаще вызываются сочетанными деформациями крупных суставов нижних конечностей и кистей.

Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное заболевание, характеризующееся пролиферацией синовиальной оболочки, образованием паннуса и эрозией суставов, приводящее к постепенной их деструкции, а в ряде случаев к характерным внесуставным поражениям.

Воспаление является основным патологическим процессом, определяющим клинические проявления РА. При этом тяжелый прогноз заболевания обусловлен, прежде всего, прогрессированием эрозивно-деструктивного процесса в костно-хрящевом остоле суставов.

При РА имеет место эндотелиальная пролиферация синови, при этом вновь образовавшиеся сосуды состоят практически из эндотелиальной выстилки. О. FitzGerald и соавт. установили, что васкулярная пролиферация при РА обнаруживается только в тканях воспаленных суставов.

Учитывая тот факт, что в патогенезе развития заболевания большую роль играют факторы не-оангиогенеза и связанной с этим патологической пролиферации синовиальной оболочки перспективным представляется применение метода фотодинамической терапии, как метода, блокирующего капиллярный кровоток в области поражения и препятствующего прогрессированию воспаления в суставной сумке.

Материалы и методы. Для реализации метода был использован отечественный фотосенсибилизатор фотодитазин и источник лазерного излучения разрешенного к медицинскому применению лазерного аппарата, имеющего длину волны 660–670 нм.

В условиях ГУЗ СПб ВЦДОиТ «ОГОНЕК» проведено лечение 86 пациентов с воспалительными заболеваниями суставов в возрасте от 4 до 17 лет. Процедура фотодинамической терапии (ФДТ) проводилась однократно после тщательного обследования пациентов. Контрольные исследования проводились на 3 и 10 сутки.

Результаты. Все пациенты легко переносили процедуру лазерного воздействия. Осложнений во время процедуры не отмечалось. В ближайший и отдаленный периоды наблюдения осложнений ФДТ не наблюдалось.

Применение неинвазивного метода местного воздействия на пораженный сустав с помощью геля фотодитазин и дозированного лазерного излучения позволило эффективно купировать основные клинические симптомы воспалительного процесса в суставах. Уменьшалась интенсивность выраженность болевого синдрома, уменьшалась отечность в проекции поражения, нормализовалась местная температурная реакция кожи.

При исследовании показателей клинического анализа крови в динамике отмечено нормализация основных показателей белой крови.

Данные рентгенологического и ультразвукового исследования свидетельствуют положительной динамике воспалительного процесса. Уменьшается гиперплазия синовиальной оболочки, ликвидируется выпот в полости сустава, изменяется качественный состав выпота - исчезают нити фибрина и мелкодисперсные включения.

Выводы. Таким образом, ФДТ с местным применением фотодитазина является эффективным средством при лечении воспалительных заболеваний суставов у детей и подростков. Простота методики ФДТ, а также ее высокая эффективность позволяют рекомендовать данный метод лечения для широкого использования в практическом здравоохранении.

Возможности фотодинамической диагностики при хирургическом лечении рака почки

Чернышев И.В., Рошин Д.А., Алтунин Д.В., Ханакеев Р.А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт урологии» Минздрав РФ, Москва, Россия

Цель. Оценка эффективности и безопасности проведения флуоресцентной диагностики (ФД) у больных раком почки.

Материалы и методы. В исследование включены 56 больных раком почки (РП), которым проводилось: 19 (35%) больным – открытая резекция почки, 30 (53%) – лапароскопическая резекция почки, 6 (12%) – ретроперитонеоскопическая резекция почки. При всех оперативных вмешательствах выполнялась тепловая ишемия: от 10

до 35 мин. Возраст пациентов: 52 (28-74) года. Группа пациентов была представлена 33 мужчинами (59%) и 23 женщинами (41%). При этом у 27 (48%) пациентов опухоль была локализована в левой почке, у 25 (44%) пациентов в правой почке, двухстороннее синхронное поражение – у 4 (8%) пациентов. Больные в зависимости от предоперационной стадии распределились следующим образом: pT1a – 20 (86%) пациентов, pT2a – 3(14%). В качестве фотосенсибилизатора был использован отечественный препарат аласенс (5-аминолевулиновая кислота). При резекции почки оценивалась зона хирургического края на предмет радикальности произведенного вмешательства: при флуоресцентном контроле регистрировалось наличие либо отсутствие зон патологического свечения на резецированной поверхности. Анализ полученных спектров проводили с помощью компьютерной программы LESA-Soft 9.

Результаты. У 47 (84%) пациентов не было обнаружено положительной флуоресценции хирургического края резекции. Из них у 47 пациентов (84%) отсутствие опухолевой ткани при диагностике было подтверждено гистологическим исследованием. Из общей группы у 9 (16%) пациентов (7 пациентов – открытая резекция почки, 1 – лапароскопическая резекция почки, 1 – ретроперитонеоскопическая резекция почки) ФД продемонстрировала позитивную флуоресценцию хирургического края. У 7 (12%) пациентов выполнялась резекция флюоресцентно-позитивного хирургического края, который был подтвержден морфологически – почечно-клеточный рак, при контрольной ФД позитивной флуоресценции хирургического края не было выявлено. У 2 (3%) пациентов после лапароскопической резекции почки и 1 (2%) пациента после ретроперитонеоскопической резекции почки имело место ложноположительная флуоресценция, гистологическое заключение – ангиомиолипома. Чувствительность метода ФД в общей группе составила 23%, специфичность – 71%.

Заключение. Полученные нами предварительные результаты свидетельствуют о том, что препарат в значительно большей степени накапливается в опухолевой ткани по сравнению с нормальной почечной паренхимой, и интенсивность флуоресценции в опухолевой ткани существенно выше. Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о высокой эффективности применения метода флуоресцентной диагностики в оценке радикальности оперативного вмешательства при органосохраняющем лечении почечно-клеточного рака, тем самым снижая риск местного рецидива заболевания и, следовательно, повышая продолжительность безрецидивного выживания пациентов.