

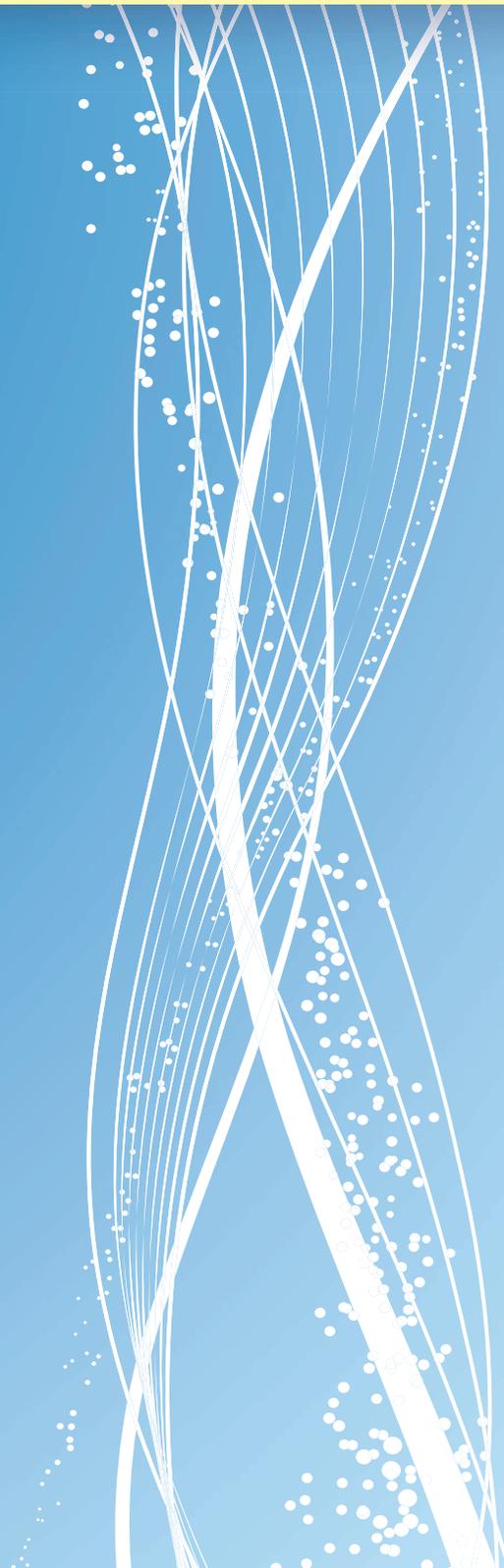
ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ терапия

И ФОТОДИАГНОСТИКА

№ 2/2014

В НОМЕРЕ:

- Оценка противоопухолевой эффективности применения диметилового эфира хлорина e_6 при фотодинамической терапии
- Фотодинамическая терапия заболеваний шейки матки
- Интраоперационная флуоресцентная диагностика при удалении эпендимомы шейно-грудного отдела позвоночника
- Клиническое наблюдение успешной фотодинамической терапии больного с эритроплазией Кейра



РЕДАКЦИЯ:

Главный редактор
Зам. главного редактора

Зав. редакцией
Научный редактор

Литературный редактор
Переводчик
Компьютерная верстка

Филоненко Е.В.
Каплан М.А.
Соколов В.В.
Странадко Е.Ф.
Иванова-Радкевич В.И.
Решетов Д.Н.
Грин М.А.
Моисеева Р.Н.
Урлова А.Н.
Ганеева И.Я.

Адрес редакции:
Россия, Москва, 2-й Боткинский пр. д. 3
Тел. 8 (495) 945-86-60
www.PDT-journal.ru
E-mail: PDT-journal@mail.ru

Подписной индекс «Роспечать» 70249

Издательство «Агентство МОРЕ»
Адрес издательства: Москва, Хохловский пер., д. 9

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-51995, выдано 29.11.2012 Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Тираж – 1000 экз.

©Перепечатка полностью или частями возможна только с письменного разрешения редакции

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ терапия и фотодиагностика

PHOTODYNAMIC therapy and photodiagnosis

УЧРЕДИТЕЛИ:

НП «Национальная Фотодинамическая Ассоциация»
ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» МЗ РФ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Филоненко Е.В., доктор медицинских наук, профессор

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Акопов А.Л., доктор медицинских наук, профессор (Санкт-Петербург)
Вельшер Л.З., доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Гельфонд М.Л., доктор медицинских наук, профессор (Санкт-Петербург)
Истомин Ю.П., доктор медицинских наук, профессор (Беларусь, Минск)
Каплан М.А., доктор медицинских наук, профессор (Обнинск) – зам. гл. редактора
Лощенов В.Б., доктор физико-математических наук, профессор (Москва)
Лукьянец Е.А., доктор химических наук, профессор (Москва)
Мионов А.Ф., доктор химических наук, профессор (Москва)
Пономарев Г.В., доктор химических наук, профессор (Москва)
Романко Ю.С., доктор медицинских наук (Обнинск)
Соколов В.В., доктор медицинских наук, профессор (Москва) – зам. гл. редактора
Стаханов М.Л., доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Странадно Е.Ф., доктор медицинских наук, профессор (Москва) – зам. гл. редактора
Титова В.А., доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Шахова Н.М., доктор медицинских наук, профессор (Нижний Новгород)
Якубовская Р.И., доктор биологических наук, профессор (Москва)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Барышников А.Ю., доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Белый Ю.А., доктор медицинских наук, профессор (Обнинск)
Бриль Г.Е., доктор медицинских наук, профессор (Саратов)
Владимиров Ю.А., Академик РАН, доктор биологических наук, профессор (Москва)
Ворожцов Г.Н., Чл.-корр. РАН, доктор химических наук, профессор (Москва)
Гейниц А.В., доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Коробов А.М., доктор физико-математических наук, профессор (Украина, Харьков)
Махсон А.Н., доктор медицинских наук, профессор (Красногорск)
Петрищев Н.Н., доктор медицинских наук, профессор (Санкт-Петербург)
Попучиев В.В., доктор медицинских наук, профессор (Обнинск)
Сдвижков А.М., доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Тучин В.В., доктор физико-математических наук, профессор (Саратов)
Чиссов В.И., Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва)
Чойзонов Е.Ц., Академик РАН, доктор медицинских наук., профессор (Томск)

FOUNDERS:

Russian Photodynamic Association
P.A.Herzen Moscow Cancer Research Institute

EDITOR-IN-CHIEF:

Filonenko E.V., doctor of medical science, professor

EDITORIAL BOARD:

Akopov A.L., doctor of medical science, professor (Saint-Petersburg)
Velsher L.Z., doctor of medical science, professor (Moscow)
Gelfond M.L., doctor of medical science, professor (Saint-Petersburg)
Istomin Yu.P., doctor of medical science, professor (Belarus, Minsk)
Kaplan M.A., doctor of medical science, professor (Obninsk) – deputy chief editor
Loschenov V.B., doctor of physics and mathematics, professor (Moscow)
Lukyanets E.A., doctor of chemistry, professor (Moscow)
Mironov A.F., doctor of chemistry, professor (Moscow)
Ponomarev G.V., doctor of chemistry, professor (Moscow)
Romanko Yu.S., doctor of medical science (Obninsk)
Sokolov V.V., doctor of medical science, professor (Moscow) – deputy chief editor
Stakhanov M.L., doctor of medical science, professor (Moscow)
Stranadko E.F., doctor of medical science, professor (Moscow) – deputy chief editor
Titova V.A., doctor of medical science, professor (Moscow)
Shakhova N.M., doctor of medical science, professor (Nizhny Novgorod)
Yakubovskaya R.I., doctor of biological sciences, professor (Moscow)

EDITORIAL COUNCIL:

Baryshnikov A.Yu., doctor of medical science, professor (Moscow)
Belyi Yu.A., doctor of medical science, professor (Obninsk)
Brill G.E., doctor of medical science, professor (Saratov)
Vladimirov Yu.A., Academician of RAMS, doctor of biological sciences, professor (Moscow)
Vorozhtsov G.N., Corresponding member of RAS, doctor of chemistry, professor (Moscow)
Geinits A.V., doctor of medical science, professor (Moscow)
Korobov A.M., doctor of physics and mathematics, professor (Ukraine, Kharkov)
Makhson A.N., doctor of medical science, professor (Krasnogorsk)
Petrishev N.N., doctor of medical science, professor (Saint-Petersburg)
Popuchiev V.V., doctor of medical science, professor (Obninsk)
Sdvizhkov A.M., doctor of medical science, professor (Moscow)
Tuchin V.V., doctor of physics and mathematics, professor (Saratov)
Chissov V.I., Academician of RAMS, doctor of medical science, professor (Moscow)
Choinzonov E.Ts., Academician of RAMS, doctor of medical science, professor (Tomsk)

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Эффективность в системе in vitro гликозилированных производных триметилового эфира хлорина e_6 в зависимости от положения углеводного фрагмента в макроцикле

Р.И. Якубовская, А.Д. Плютинская, Е.А. Плотникова, М.А. Грин, А.Ф. Миронов, В.С. Сергеева 3

Оценка противоопухолевой эффективности применения диметилового эфира хлорина e_6 при фотодинамической терапии

М.А. Каплан, В.П. Зорин, А.И. Малыгина, И.В. Каширцева, Л.М. Архипова 8

Фотодинамическая терапия заболеваний шейки матки

Е.В. Гребёнкина, С.В. Гамаюнов, С.С. Кузнецов, О.В. Оноприенко, Н.А. Илларионова, Н.М. Шахова 12

Фотодинамическая терапия в лечении метастатического рака молочной железы

Е.В. Горанская, М.А. Каплан, В.Н. Капинус, Е.В. Ярославцева, И.С. Спиченкова, А.М. Шубина, О.В. Боргуль, Ю.А. Рагулин, М.В. Таибова 15

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Сонодинамическая терапия с фотосенсибилизаторами и ее комбинация с фотодинамической терапией в лечении злокачественных опухолей

Д.А. Церковский, Е.Н. Александрова, Т.П. Лапцевич, Ю.П. Истомин 18

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Интраоперационная флуоресцентная диагностика при удалении эпендимомы шейно-грудного отдела позвоночника

А.М. Зайцев, М.И. Куржупов, Ю.В. Кушель, Е.В. Филоненко, В.И. Иванова-Радкевич 24

Клиническое наблюдение успешной фотодинамической терапии больного с эритроплазией Кейра

Е.В. Филоненко, А.Д. Каприн, Б.Я. Алексеев, А.Н. Урлова 28

МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Интраоперационная флуоресцентная диагностика у больных с метастатическим поражением головного мозга

А.М. Зайцев, М.И. Куржупов, Е.В. Филоненко 31

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Требования к оформлению статей 39

ORIGINAL ARTICLES

Influence of the carbohydrate fragment position in the macrocycle of chlorine e_6 trimethyl ester glycosylated derivatives on their in vitro photo-induced activity

Yakubovskaya RI, Plyutinskaya AD, Plotnikova EA, Grin MA, Mironov AF, Sergeeva VS 3

Assessment of anticancer effect of chlorin e_6 dimethyl ether for photodynamic therapy

Kaplan MA, Zorin VP, Malygina AI, Kashirtseva IV, Arkhipova LM 8

Photodynamic therapy for cervical lesions

Grebenkina EV, Gamajunov SV, Kuznetsov SS, Onoprienko OV, Illarionova NA, Shakhova NM 12

Photodynamic therapy for metastatic breast cancer

Horanskaya EV, Kaplan MA, Kapinous VN, Yaroslavtseva EV, Spichenkova IS, Shubina AM, Borgul OV, Ragulin JuA, Taibova MV 15

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Sonodynamic therapy with photosensitizers and its combination with photodynamic therapy in treatment of malignant tumors

Zerkovskiy DA, Alexandrova EN, Laptsevich TP, Istomin JuP 18

CASE REPORT

Intraoperative fluorescence diagnosis for removal of cervical and thoracic ependymoma

Zaytcev AM, Kurzhupov MI, Kushel' JuV, Filonenko EV, Ivanova-Radkevich VI 24

The case of successful photodynamic therapy in patient with erythroplasia of Queyrat

Filonenko EV, Kaprin AD, Alekseev BYa, Urlova AN 28

МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Intraoperative fluorescence diagnosis in patients with brain metastases (medical technology)

Zaytsev AM, Kurzhupov MI, Filonenko EV 31

INFORMATION FOR AUTHORS

Requirements for submission 39

ЭФФЕКТИВНОСТЬ В СИСТЕМЕ *IN VITRO* ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИМЕТИЛОВОГО ЭФИРА ХЛОРИНА e_6 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОЖЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ФРАГМЕНТА В МАКРОЦИКЛЕ

Р.И. Якубовская¹, А.Д. Плютинская¹, Е.А. Плотникова¹, М.А. Грин², А.Ф. Миронов², В.С. Сергеева³

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздрава РФ, г. Москва

²Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, г. Москва

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, г. Москва

Резюме

Изучены физико-химические и фотофизические свойства гликоконъюгатов на основе триметилового эфира хлорина e_6 с углеводными заместителями в разных положениях макроцикла, а также их фотоиндуцированная активность относительно опухолевых клеток человека (HEp2, A549 и HT29) и животных (LLC) в системе *in vitro*. Показано, что все фотосенсибилизаторы оставались стабильными в течение длительного времени в темновых условиях. При оценке эффективности соединений выявлено, что наибольшую активность проявлял фотосенсибилизатор с галактозой в пирроле А (величина $ИК_{50}$ варьировалась от 27 ± 2 до 75 ± 5 нМ в зависимости от клеточной культуры), в то время как наличие остатка углевода в пирроле С снижало фотоиндуцированную активность в 5–10 раз.

Ключевые слова: фотодинамическое воздействие, гликозилированные производные хлорина e_6 , фотосенсибилизаторы.

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – перспективное направление лечения злокачественных новообразований. Одним из путей усиления эффективности ФДТ является повышение селективности накопления фотосенсибилизаторов (ФС) в опухоли, которое может быть достигнуто за счет связывания молекул красителя с различными системами адресной доставки: моноклональными антителами, липопротеидами, белками и другими векторными молекулами [1]. В качестве лигандов, способных специфически связываться с рецепторами на поверхности опухолевых клеток, могут также выступать и углеводы.

Известно, что на поверхности опухолевых клеток присутствуют рецепторы, распознающие все типы углеводов. Среди них особое место занимают галектины, представляющие собой белки семейства лектинов, специфичные к β -галактозидам. Галектины встречаются в ядре, в составе цитоплазматической мембраны и в экстрацеллюлярном матриксе. Специфичность галектинов к β -галактозидам обусловлена наличием белков консервативного углеводузнающего домена, включающего около 135 аминокислотных остатков, которые образуют два β -складчатых листа, формирующих полость, способную удерживать линейный тетрасахарид [2, 3]. Поэтому β -галактозидные заместители способны улучшить направленную доставку ФС в клетку путем связывания гликоконъюгатов с галек-

тинами на поверхности клетки [4–6]. Также следует отметить, что присоединение углеводных фрагментов к макроциклическому кольцу придает молекуле амфифильный характер, способствует увеличению растворимости ФС в водных средах [7, 8].

Авторами были синтезированы гликоконъюгаты на основе триметилового эфира хлорина e_6 с углеводными остатками в разных положениях макроцикла и изучены их физико-химические и фотофизические свойства, а также фотоиндуцированная противоопухолевая активность в системе *in vitro*.

Материалы и методы

Фотосенсибилизаторы

В качестве фотосенсибилизаторов использовали триметиловый эфир хлорина e_6 (3MeChI) и конъюгаты на его основе с остатком галактозы в пирроле А (3MeChI_gal_NoAc), пирроле С (2MeChI_gal_NoAc) и экзоцикле Е (MeCycloImChI_gal_NoAc) (рис. 1). Синтез фотосенсибилизаторов проведен в МИТХТ им. М.В. Ломоносова [2, 4, 9].

Гликоконъюгаты на основе производных хлорофилла а – гидрофобные соединения, для проведения спектрофотометрических исследований и биологических тестов в системе *in vitro* их растворяли в 100%-ном Кремофоре EL и доводили до концентрации 1 мг/мл 0,9%-ным раствором хлористого натрия. Концентрация Кремофора EL в конечных растворах составляла 5%.

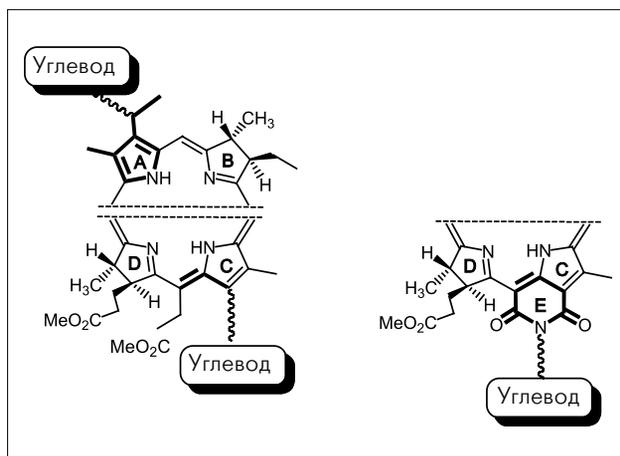


Рис. 1. Способы присоединения углеводных остатков к макроциклическому кольцу триметилового эфира хлорина e_6

Исследования в системе *in vitro*

Методика проведения абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии фотосенсибилизаторов в растворах.

Спектры поглощения исследованных фотосенсибилизаторов в культуральной среде регистрировали на спектрофотометре «Genesys 2» (США) в диапазоне волн длиной от 450 до 850 нм сразу после приготовления растворов, через 0,5; 2; 4 и 24 ч. Концентрация фотосенсибилизаторов в растворе составляла 10 мкг/мл. Растворителем служила среда Игла-МЕМ, содержащая 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). В ходе исследования оценивали изменения оптической плотности и характер спектра в выбранном временном диапазоне.

Флуоресценцию регистрировали контактным способом на лазерном спектральном анализаторе для флуоресцентной диагностики опухолей «ЛЭСА-6» (ТОО «БИО-СПЕК», Россия). Возбуждали флуоресценцию He-Ne лазером при волне генерации длиной 632,8 нм, спектральный диапазон составлял 300–900 нм. Регистрацию спектров флуоресценции проводили сразу после приготовления растворов, через 0,5; 2; 4 и 24 ч. Выбранная концентрация (2,5 мкг/мл) достигалась путем последовательного разведения исходного раствора. В качестве растворителя использовали среду Игла-МЕМ, содержащую 10% ЭТС. Оценивали изменения в интенсивности флуоресценции и характер спектра.

Методика оценки фотостабильности фотосенсибилизаторов в бесклеточной среде

В опытах использовали растворы фотосенсибилизаторов, концентрация красителей в них составляла 2,5 мкг/мл. Растворы готовили непосредственно перед проведением опыта с использованием среды Игла-МЕМ, содержащей 10% ЭТС.

В лунки плоскодонного 96-луночного микропланшета (Corning, США) вносили по 150 мкл раствора. Источником оптического излучения служила галогеновая лампа мощностью 500 Вт, использовался широкополосный фильтр КС-10 ($\lambda \geq 620$ нм) и водный фильтр

толщиной 5 см. Плотность мощности составляла 17,0–17,5 мВт/см², а световая доза – 5 и 10 Дж/см². Интенсивность флуоресценции оценивали до и после облучения в диапазоне 600–800 нм.

Методика проведения фотодинамического воздействия (ФДВ) на опухолевые клетки

Исследования проводили на опухолевых клетках человека, полученных из НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН: эпидермоидной карциноме гортаноглотки (HEp2), аденокарциноме легкого (A549) и карциноме толстой кишки (HT29), а также на опухолевых клетках мыши – карциноме легкого Льюис (LLC), выделенных из солидной опухоли и адаптированных для культивирования в системе *in vitro*. Для пассирования клеток и проведения экспериментов использовали среду Игла-МЕМ с добавлением 2 мМ L-глутамин и 8–10% эмбриональной телячьей сыворотки. Культивировали клетки при температуре 37°C во влажной атмосфере с 5%-ным содержанием CO₂.

Клетки рассеивали в лунки плоскодонного 96-луночного микропланшета (Corning, США) в концентрации $0,7 \times 10^5$ кл/мл, затем инкубировали в течение 28–30 ч в термостате. Далее в лунки планшета вносили тестируемые соединения, варьируя их концентрацию от 5 нМ до 10 мкМ. Для оценки фототоксичности через 0,5; 2; 4 и 6 ч инкубации с фотосенсибилизаторами клетки облучали галогеновой лампой через широкополосный фильтр КС-10 ($\lambda \geq 600$ нм) и водяной фильтр толщиной 5 см, оснащенный системой циркуляции жидкости. Плотность мощности составляла 17,0–17,5 мВт/см², расчетная световая доза – 10 Дж/см². После воздействия клетки инкубировали в стандартных условиях в течение 24 ч. Для оценки цитотоксической активности клетки помещали в затемненные условия на 24 ч. Оценку выживаемости проводили как визуально, с помощью световой микроскопии, отмечая морфологические изменения клеток, так и колориметрическим методом с использованием МТТ-теста [10]. Биологически значимым эффектом считали ингибирование роста клеток в культуре более чем на 50%. Уровень ингибирования роста клеток вычисляли по формуле

$$IP = [(OD_k - OD_o) / OD_k] \cdot 100,$$

где IP – уровень ингибирования роста клеток в культуре, %; OD_o – оптическая плотность в опытных лунках; OD_k – оптическая плотность в контрольных лунках без воздействия, $\lambda = 550$ нм. Данную величину рассчитывали как среднюю по результатам трех независимых тестов.

Результаты исследования

Исследованные соединения

При поиске эффективных фотосенсибилизаторов направленного действия были синтезированы гликоконъюгаты на основе хлорина e_6 с углеводными остатками в разных положениях макроцикла: конъюгат с остатком галактозы в пирроле А (3MeChl_{gal}_NoAc), пирроле С (2MeChl_{gal}_NoAc) и экзоцикле Е

(MeCycloImChI_gal_NoAc). Для их сравнения использовали триметилловый эфир хлорина e_6 (3MeChI), не содержащий углеводных заместителей. Поскольку физико-химические и фотофизические свойства ФС в значительной степени определяют как фотоиндуцированную активность красителей, так и их перспективность для фармакологии, то на первом этапе проводили спектрофотометрические исследования, оценивая стабильность гликоконъюгатов при хранении в темновых условиях и при облучении, что является одним из основных требований, предъявляемых к фотосенсибилизаторам.

Физико-химические и фотофизические свойства гликоконъюгатов

Фотосенсибилизаторы 3MeChI и 3MeChI_gal_NoAc имеют максимумы поглощения и флуоресценции в области 665–670 нм; наличие имидного экзоцикла в структуре MeCycloImChI_gal_NoAc способствует сдвигу максимума в значительной степени в более длинноволновую область ($\lambda_{\max} = 699 \pm 2$ нм), а введение остатка галактозы в пиррол С (2MeChI_gal_NoAc) приводит к смещению максимума поглощения на 10–12 нм влево ($\lambda_{\max} = 654 \pm 3$ нм).

При изучении спектров поглощения и флуоресценции во времени установлено, что все производные хлорина e_6 стабильны в течение 24 ч инкубации при комнатной температуре в затемненных условиях.

Фотосенсибилизаторы в бесклеточной среде подвержены фотовыцветанию, что сопровождается снижением интенсивности флуоресценции в максимуме (рис. 2). Следует отметить, что конъюгаты с остатком галактозы в пиррольном цикле А и экзоцикле Е оказались более устойчивыми. Так, при облучении энергией плотностью 5 Дж/см² интенсивность флуоресценции данных флуорохромов снижалась незначительно (в 1,3–1,4 раза) относительно показателя, детектированного до воздействия светом, и при дальнейшем увеличении плотности энергии до 10 Дж/см² оставалась неизменной.

Фотоиндуцированная активность гликоконъюгатов

На следующем этапе изучали и оценивали фотоиндуцированную активность и темновую цитотоксичность гликоконъюгатов на культурах опухолевых клеток различного генеза в зависимости от концентрации соединений и времени инкубации. Все

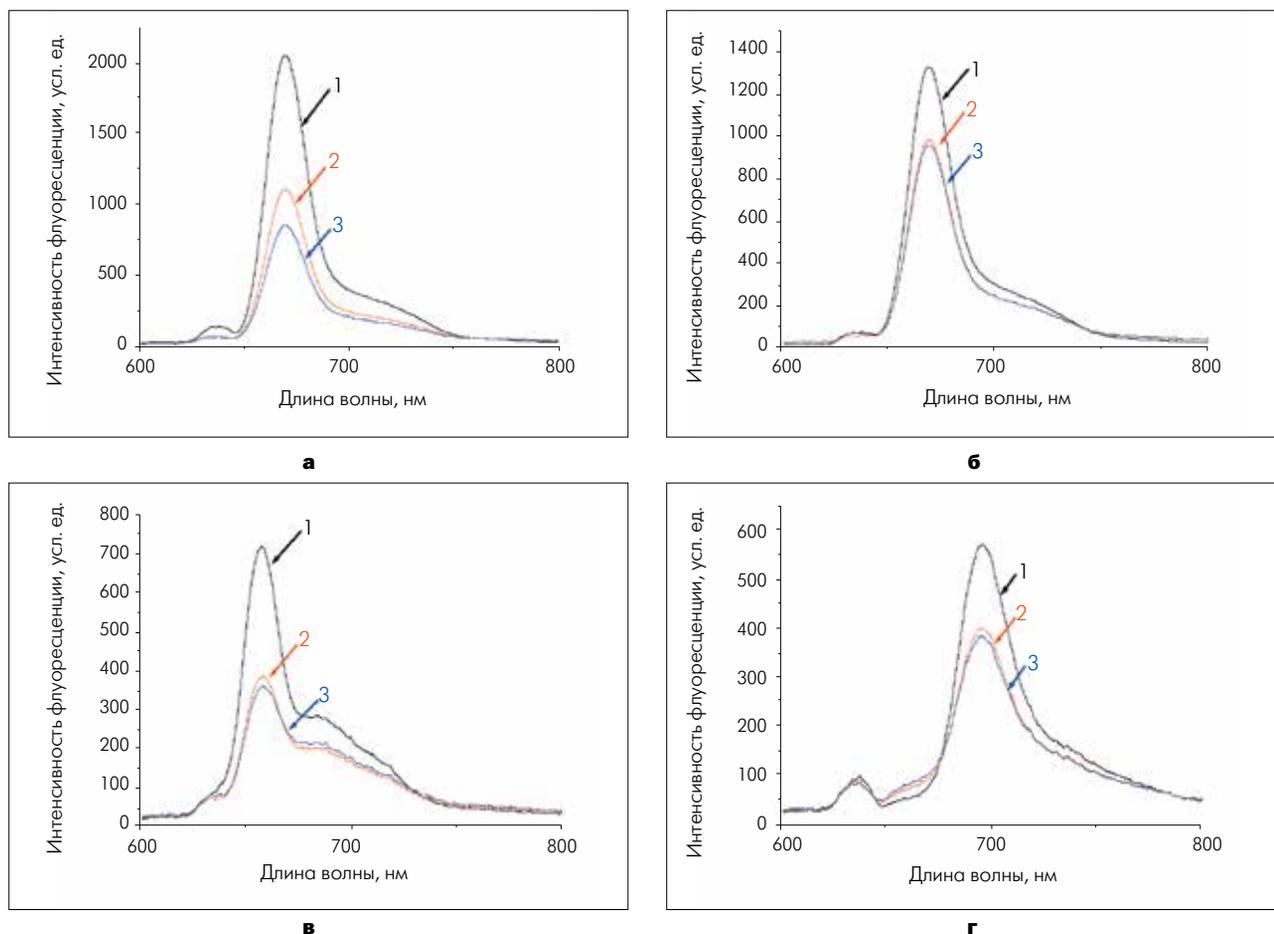


Рис. 2. Спектры флуоресценции 3MeChI (а), 3MeChI_gal_NoAc (б), 2MeChI_gal_NoAc (в), MeCycloImChI_gal_NoAc 9 (г) до воздействия светом (1), при облучении с плотностью энергии 5 Дж/см² (2) и 10 Дж/см² (3) в культуральной среде

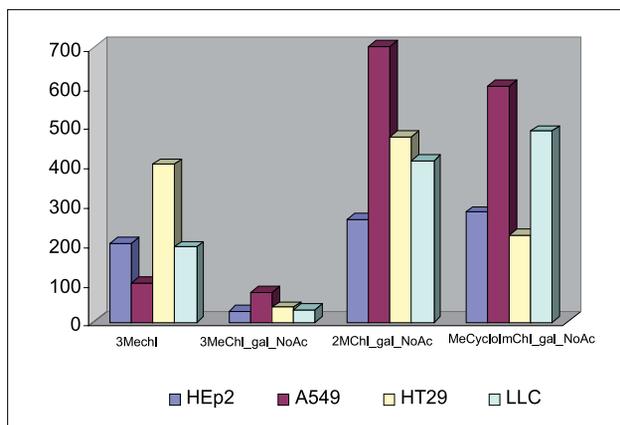


Рис. 3. Фотоиндуцированная активность гликоконъюгатов на клеточных культурах HEp2, A549, HT29 и LLC (время инкубации 4 ч)

фотосенсибилизаторы проявили высокую фотоиндуцированную активность относительно клеток в культуре, без светового воздействия красители не оказывали цитотоксического действия на клетки. Максимальное время накопления ФС в клетках составило 4 ч, при увеличении временного интервала до 6 ч величина $ИК_{50}$ изменялась незначительно (рис. 3).

Среди гликоконъюгатов наибольшей фотоиндуцированной активностью обладал ФС с углеводным фрагментом в пирроле А ($ИК_{50} = 27 \pm 2, 75 \pm 5, 38 \pm 3$ и 31 ± 2 нМ для клеток HEp2, A549, HT29 и LLC, соответственно), что в 7,4; 1,3; 10,5 и 6,1 раза, соответственно, выше, чем у негликозилированного триметилового эфира хлорина e_6 . Введение остатка галактозы в пиррол С и экзоцикл Е уменьшает фотоактивность ФС на порядок.

Таким образом, фотоиндуцированная активность гликоконъюгатов относительно клеток культур

HEp2, A549, HT29 и LLC существенным образом зависит от положения углеводных заместителей в макроцикле.

Удаление фотосенсибилизаторов из культуральной среды перед воздействием светом позволяет оценить вклад фотоиндуцированного повреждения, обусловленного красителем, накопившимся внутри клеток. Удаление конъюгата с остатком галактозы в пирроле А из культуральной среды перед воздействием света не приводило к изменению эффективности фотодинамического воздействия. Это косвенно свидетельствует о том, что уже через 4 ч после внесения ФС фотоиндуцированная цитотоксичность реализуется преимущественно за счет активации внутриклеточного красителя. Удаление остальных флюорохромов значительно снижало эффективность фотодинамического воздействия (таблица).

Заключение

Таким образом, проведенные исследования по изучению фотоиндуцированной активности производных хлорофилла а с углеводными остатками в системе *in vitro* показали, что наиболее эффективным, приводящим к значительному увеличению фотоиндуцированной активности, оказалось введение остатка углевода в пиррол А хлоринового макроцикла (величина $ИК_{50}$ составила 27 ± 2 нМ), тогда как наличие углеводного остатка в пирроле С или в экзоцикле Е значительно снижало фотоиндуцированную активность соединений. По-видимому, изменение положения углеводного остатка в макроцикле влияет на эффективность трансмембранного переноса гликоконъюгатов и их внутриклеточную локализацию.

Таблица

Фотоактивность в зависимости от присутствия фотосенсибилизатора в среде инкубации во время облучения (культура HEp2, время инкубации 4 ч)

Фотосенсибилизатор	Величина $ИК_{50}$, нМ, при	
	облучении с ФС в среде инкубации	облучении без ФС в среде инкубации (удаление непосредственно перед облучением)
3MeChI	200 \pm 12	280 \pm 17
3MeChI_gal_NoAc	27 \pm 2	29 \pm 3
2MeChI_gal_NoAc	260 \pm 15	640 \pm 22
MeCycloImChI_gal_NoAc	280 \pm 14	690 \pm 24

* 3MeChI – триметиловый эфир хлорина e_6 ; 3MeChI_gal_NoAc – конъюгат на основе триметилового эфира хлорина e_6 с остатком галактозы в пирроле А; 2MeChI_gal_NoAc – конъюгат на основе триметилового эфира хлорина e_6 с остатком галактозы в пирроле С; MeCycloImChI_gal_NoAc – конъюгат на основе триметилового эфира хлорина e_6 с остатком галактозы в экзоцикле Е; ФС – фотосенсибилизатор.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия рака – новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Соровский образовательный журнал. – 1996. – № 8. – С. 32–40.
2. Grin M.A., Lonin I.S., Makarov A.I. et al. Synthesis of chlorin-carbohydrate conjugates by «click chemistry» // Mendeleev Commun. – 2008. – Vol. 18. – No. 3. – P. 135–137.
3. Zhang M., Zhang Z., Blessington D. et al. Pyropheophorbide 2-deoxyglucosamide: a new photosensitizer targeting glucose transporters // Bioconjugate Chem. – 2003. – V. 14(4). – P. 709–714.
4. Grin M.A., Lonin I.S., Lakhina A.A., Ol'shanskaya E.S. et al. 1,3 – dipolar cycloaddition in the synthesis of glycoconjugates of natural chlorins and bacteriochlorins // J. Porphyrins Phthalocyanines. – 2009. – Vol. 13. – P. 336–345.
5. Luksiene Z. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment // Medicina. – 2003. – V. 39 (12). – P. 1137–1150.
6. Park Y.K., Bold B., Cui B.C. et al. Binding Affinities of Carbohydrate-Conjugated Chlorins for Galectin-3 // Bull. Korean Chem. Soc. – 2008. – V. 29 (1). – P. 130–134.
7. Bonnett R., Martinez G. Photobleaching of sensitizers used in photodynamic therapy // Tetrahedron. – 2001. – V. 57 (47). – P. 9513–9547.
8. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W. et al. Photodynamic therapy // J. Natl. Cancer I. – 1998. – V. 90 (12). – P. 889–905.
9. Grin M.A., Lonin I.S., Lakhina A.A., Mironov A.F. Cross-metathesis of olefins in a synthesis of glycoconjugates based on chlorophyll a derivatives // Mendeleev Communication. – 2012. – V. 22. – P. 157–158.
10. Carmichael J., DeGraff W.G., Gazdar A.F. et al. // Cancer Res. – 1987. – Vol. 47. – P. 936–942.

INFLUENCE OF THE CARBOHYDRATE FRAGMENT POSITION IN THE MACROCYCLE OF CHLORINE e_6 TRIMETHYL ESTER GLYCOSYLATED DERIVATIVES ON THEIR IN VITRO PHOTO-INDUCED ACTIVITY

Yakubovskaya RI¹, Plyutinskaya AD¹, Plotnikova EA¹, Grin MA², Mironov AF², Sergeeva VS³

¹ P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow

² Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow

³ N.I. Pirogov Russian State Medical University, Moscow

The physicochemical and photophysical properties, as well as photo-induced activity, of glycoconjugates based on chlorine e_6 trimethyl ether with various positions of carbohydrate fragment in the macrocycle have been studied. The photo-induced activity was investigated in the human (HEp2, A549 and HT29) and animal (LLC) cell lines. The tested compounds showed *in vitro* both high photo-induced activity and high stability in the dark. The photosensitizer with galactose in the A pyrrole ring demonstrated the highest activity (the half maximal inhibitory concentration (IC50) varied from 27±2 nM to 75±5 nM in tests on different cell lines). Dyes with sugar substitutes in the C pyrrole ring were 5–10 times less active.

Keywords: photodynamic exposure, chlorin-carbohydrate conjugates, photosensitizers.

Контакты: Плютинская А.Д. E-mail: anna2031@rambler.ru

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДИМЕТИЛОВОГО ЭФИРА ХЛОРИНА e_6 ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

М.А. Каплан, В.П. Зорин, А.И. Малыгина, И.В. Каширцева, Л.М. Архипова
ФГБУ «Медицинский Радиологический научный центр» МЗ РФ, г. Обнинск

Резюме

Приведены результаты изучения противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии с диметиловым эфиром хлорина e_6 при лечении беспородных крыс с саркомой М-1. Препарат вводили животным внутривенно и внутривенно и внутривенно в дозах 1,25 мг/кг (световая доза облучения 300 Дж/см²) или 2,5 мг/кг (доза облучения 150 Дж/см²). Результаты спектрометрии показали, что максимальное накопление препарата в опухоли было достигнуто через 2 ч после внутривенного и через 3 ч после внутривенного введения фотосенсибилизатора, поэтому облучение сенсibilизированных опухолей проводили через указанные промежутки времени. Наибольшая эффективность фотодинамической терапии с диметиловым эфиром хлорина e_6 была достигнута в режиме с внутривенным введением препарата в дозе 1,25 мг/кг и дальнейшим сеансом облучения через 3 ч, плотность энергии облучения 300 Дж/см² (процент полного излечения животных 86%).

Ключевые слова: противоопухолевая эффективность, фотодинамическая терапия, фотодинамическое воздействие, диметиловый эфир хлорина e_6 .

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод локального воздействия на опухоль, позволяющий минимизировать повреждение здоровых тканей. Реализация фотодинамического эффекта происходит за счет взаимодействия фотосенсибилизатора (ФС), избирательно накапливающегося в опухолевых тканях, и света с длиной волны, соответствующей максимуму на спектре поглощения ФС. Эффективность ФДТ определяется свойствами ФС (селективностью, фотохимической активностью); проникающей способностью, дозой и мощностью лазерного излучения, а также васкуляризацией и оксигенацией опухолевой ткани [1].

Одной из актуальных задач оптимального проведения ФДТ является поиск ФС, способного обеспечить эффективное практическое использование этого метода. По мере накопления экспериментального и клинического материала были сформулированы основные требования к оптимальному ФС, включающие биологические (токсические и фармакокинетические), фотофизические и химико-технологические критерии. Уровень и селективность накопления фотосенсибилизатора в опухоли, а также скорость его выведения из нормальной ткани являются важнейшими характеристиками для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики. Они влияют как на эффективность этих методов, так и на вероятность побочных эффектов, в частности вероятность повреждения при ФДТ нормальной ткани, прилегающей к патологическому очагу [2, 3].

Материалы и методы

Диметиловый эфир хлорина e_6 относится к препаратам хлоринового ряда, которые уже хорошо заре-

комендовали себя и получили широкое применение в клинической практике. Цель исследования – оценка противоопухолевой эффективности ФДТ с использованием диметилового эфира хлорина e_6 на модели опухоли саркомы М-1.

Для достижения поставленной цели необходимо:

- 1) провести измерения накопленного фотосенсибилизатора в опухолевой и здоровой тканях и установить динамику его накопления;
- 2) провести серию опытов с использованием исследуемого препарата при различных параметрах фотодинамического воздействия;
- 3) оценить эффективность фотодинамической терапии с использованием диметилового эфира хлорина e_6 в качестве фотосенсибилизатора.

Исследования противоопухолевой эффективности ФДТ с тестируемым препаратом проведены на 71 самке беспородных крыс. Животные были получены из вивария ФГБУ МРНЦ Минздрава России и содержались в стандартных условиях. В качестве опухолевой модели была выбрана саркома М-1. Опухоль прививалась на внешнюю поверхность бедра животных. Шерстный покров крыс предварительно депилировали. Замеры диаметров опухоли выполняли перед введением препарата (исходные данные) и на 21-е сутки после лечения.

Для проведения процедуры всех животных наркотизировали 0,25%-ным раствором тиопентала натрия в дозе 0,1 мл на 100 г веса животного. Растворы диметилового эфира хлорина e_6 вводили внутривенно и внутривенно (в дозах 2,5 мг/кг и 1,25 мг/кг массы животного). Источником излучения служил лазерный аппарат «Аткус-2». Световую дозу подводили перпендикулярно поверхности опухоли с помощью кварцевых моноволоконных торцевых световодов.

Облучение проводили через 2 и 3 ч после введения препарата. После лечения животные сутки содержались в темноте.

Перед сеансом ФДТ проводили оценку динамики накопления сенсibilизатора в опухолевой и здоровой тканях с помощью диагностического спектрометрического комплекса «Les-a-6» (ООО «БИОСПЕК», Москва). Для этого к коже над опухолью подводили датчики в трех точках под прямым углом к объекту. Накопление сенсibilизатора в здоровых тканях определяли на противоположном бедре. Перед измерением шерстный покров депилировали. Время экспозиции составляло 1–2 с. Индекс контрастности опухоль/здоровая ткань вычисляли по отношению величин накопления ФС в опухоли и здоровой ткани.

Эффективность проведенного фотодинамического воздействия с исследуемым препаратом оценивали:

1. По коэффициенту абсолютного прироста опухоли. Объемы опухолей вычисляли по формуле

$$V = \frac{1}{6} \pi d_1 d_2 d_3, \quad (1)$$

где d_1, d_2, d_3 – три взаимно перпендикулярные диаметра опухоли, см; V – объем опухоли, см³.

Коэффициент абсолютного прироста опухоли K рассчитывали по формуле

$$K = \frac{V_t - V_0}{V_0}, \quad (2)$$

где V_0, V_t – объем опухоли до воздействия и в определенный срок наблюдения соответственно, см³.

2. По проценту полной регрессии.

Под полной регрессией (ПР) принимали отсутствие видимой и пальпируемой опухоли.

Исследования проведены на 4 опытных группах животных. В каждой группе был использован свой режим фотодинамического воздействия (таблица). После ФДТ проводили контроль воздействия.

Результаты и обсуждение

На основании результатов исследования динамики накопления препарата в опухолевой и здоровой тканях были выбраны следующие значения временных интервалов между введением препарата и облучением сенсibilизированной опухоли:

– при внутрибрюшинном способе введения – 3 ч (рис. 1а), при внутривенном – 2 ч (рис. 1б).

Исходя из выбранных временных интервалов, были определены условия режима фотодинамического воздействия в опытных группах (таблица).

В группе № 1 с внутривенным введением фотосенсibilизатора в дозе 2,5 мг/кг и плотностью энергии облучения 150 Дж/см² (облучение через 2 ч) коэффициент абсолютного прироста достигал 42,84 (рис. 2), случаев полной регрессии на 21-е сутки наблюдения за животными не зафиксировано (рис. 3). При внутрибрюшинном введении препарата и проведении ФДТ через 3 ч в таком же режиме (группа № 2) коэффициент абсолютного прироста опухоли составлял 47,89 (рис. 2), а процент полной регрессии составил 25% (рис. 3).

В группе №3 при внутривенном введении препарата в концентрации 1,25 мг/кг и последующим через 2 ч сеансом облучения (плотность энергии облучения 300 Дж/см²), к концу срока наблюдения коэффициент абсолютного прироста опухоли достигал 21,7 (см. рис. 2), процент случаев полной регрессии опухолевого очага составил 55% (см. рис. 3), а при тех же параметрах фотодинамического воздействия с внутрибрюшинным введением препарата за 3 ч до облучения (группа № 4) коэффициент абсолютного прироста составил 5,9 (см. рис. 2), процент полного излечения животных – 86% (см. рис. 3).

Согласно полученным данным можно утверждать, что оптимальный терапевтический эффект был достигнут в группе № 4 (доза препарата 1,25 мг/кг, внутрибрюшинное введение, плотность облучения 300 Дж/см², облучение через 3 ч).

Заключение

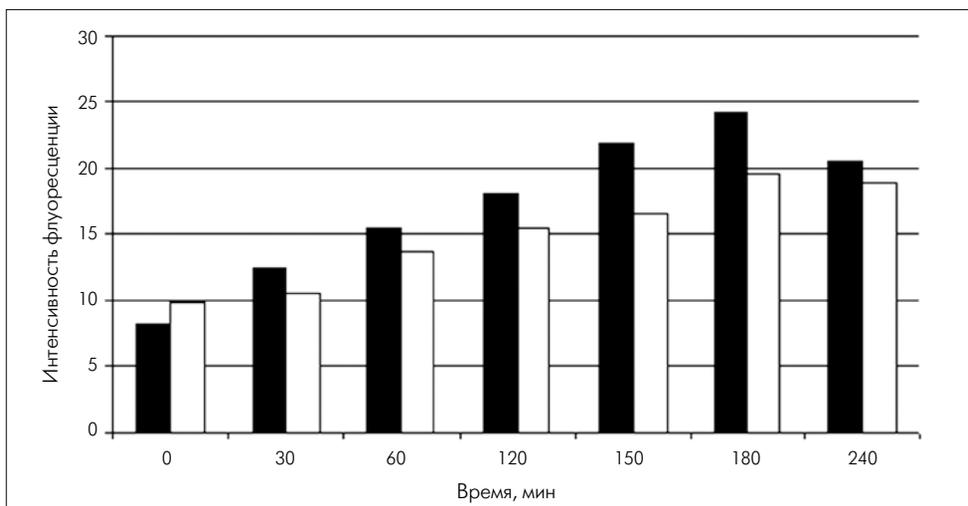
При изучении динамики накопления препарата установлено, что при внутривенном введении максимум накопления препарата в опухоли регистрируется через 2 ч, при внутрибрюшинном – через 3 ч.

Максимальная эффективность ФДТ с диметиловым эфиром хлорина e_6 у крыс с саркомой М-1 была достигнута при внутрибрюшинном введении препарата в дозе 1,25 мг/кг и сеансе облучения с плотностью энергии 300 Дж/см², проводимом через 3 ч после введения фотосенсibilизатора (процент полного излечения животных – 86%).

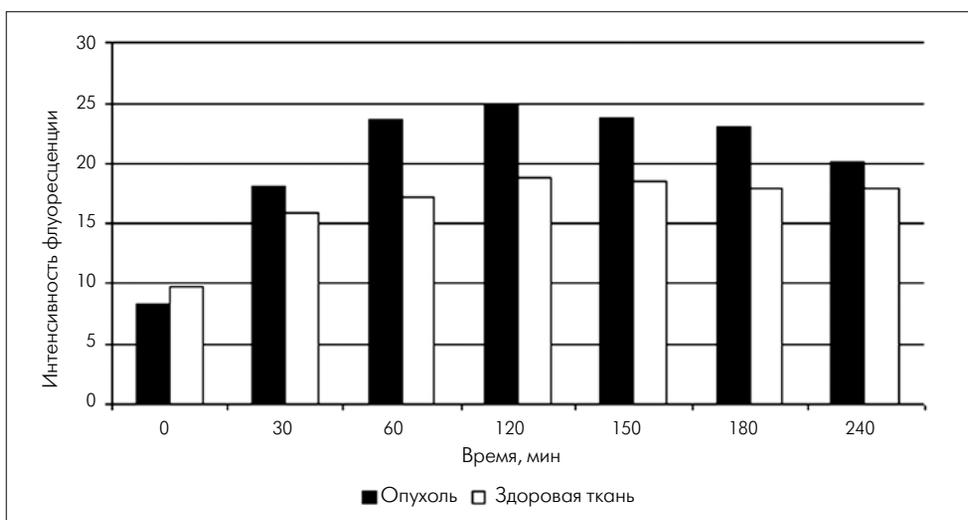
Таблица

Исследуемые режимы фотодинамического воздействия с использованием диэтилового эфира хлорина e_6 в качестве фотосенсibilизатора

№ группы	Доза препарата, мг/кг	Способ введения	Плотность энергии лазерного излучения, Дж/см ²	Временной интервал облучения, ч
1	2,5	Внутривенно	150	2
2	2,5	Внутрибрюшинно	150	3
3	1,25	Внутривенно	300	2
4	1,25	Внутрибрюшинно	300	3



а



б

Рис. 1. Динамика накопления диметилового эфира хлора e_6 при внутрибрюшинном (а) и внутривенном введении (б)

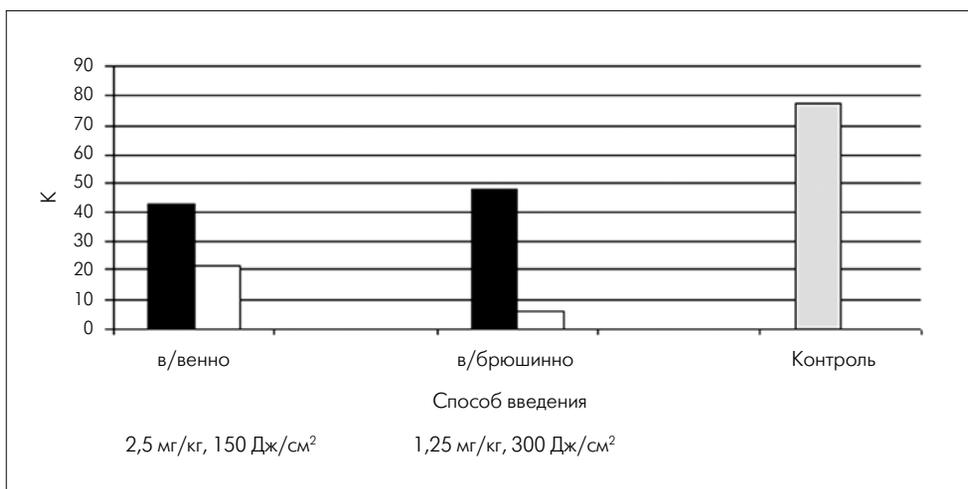


Рис. 2. Коэффициент абсолютного прироста опухоли К на 21-е сутки

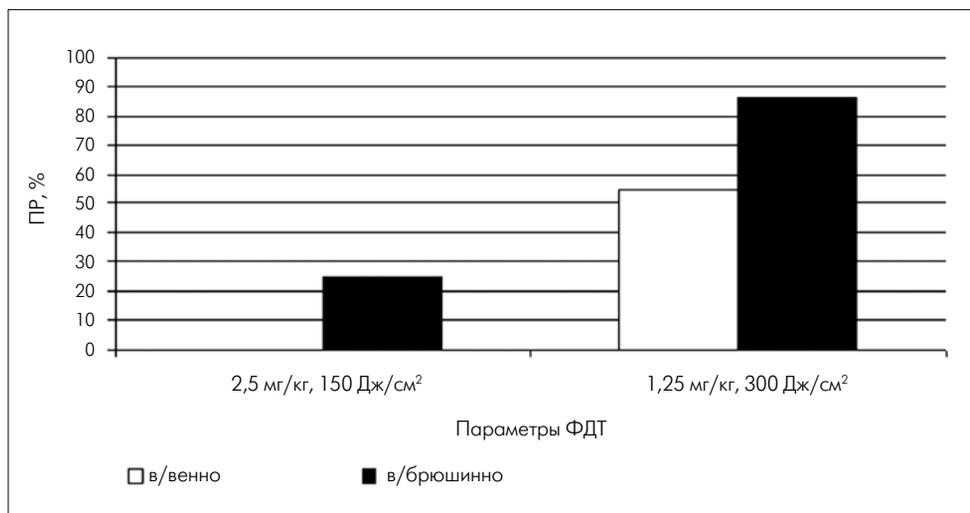


Рис. 3. Полная регрессия опухоли (ПР) на 21-е сутки

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия – новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Сороковский образовательный журнал. – 1996. – № 8. – С. 32–40.
2. Castano A.P. et al. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2004. – Vol. 1. – P. 279–293.
3. Juzeniene A. and Moan J. The history of PDT in Norway/ Part one: Identification of basic mechanisms of general PDT // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2007. – Vol. 4. – P. 3–11.

ASSESSMENT OF ANTICANCER EFFECT OF CHLORIN e_6 DIMETHYL ETHER FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

Kaplan MA, Zorin VP, Malygina AI, Kashirtseva IV, Arkhipova LM
Russian Medical Radiology Research Centre, Obninsk

Results of the study for anticancer efficacy of photodynamic therapy with chlorin e_6 dimethyl ether for treatment of outbred rats with sarcoma M-1 are represented. The drug was given intravenously or intraperitoneally at a dose of 1.25 mg/kg body weight (light dose – 300 J/cm²) or 2.5 mg/kg body weight (light dose – 150 J/cm²). The spectrometry showed that maximal drug accumulation in tumor was in 2 h after intravenous injection or 3 h after intraperitoneal injection of photosensitizer, thus, sensitized tumors were irradiated according to these time intervals. Intraperitoneal injection of chlorin e_6 dimethyl ether at a dose of 1.25 mg/kg body weight with treatment session in 3 h and light dose of 300 J/cm² was the most effective (the complete response in animals – 86%).

Keywords: anticancer effect, photodynamic therapy, photodynamic exposure, chlorin e_6 dimethyl ether.

Контакты: М.А.Каплан, E-mail: Kaplan@mrrc.obninsk.ru

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Е.В. Гребёнкина¹, С.В. Гамаюнов¹, С.С. Кузнецов², О.В. Оноприенко¹,
Н.А. Илларионова¹, Н.М. Шахова³

¹ ГБУЗ НО «Нижегородский областной онкологический диспансер», г. Н. Новгород

² ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» МЗ РФ, г. Н. Новгород

³ ФГБУН «Институт прикладной физики РАН», г. Н. Новгород

Резюме

Описан опыт лечения предрака и раннего рака шейки матки методом фотодинамической терапии у 12 пациенток с диагнозом CIN II-III и cancer in situ. Фотосенсибилизатор хлоринового ряда фотолон вводили внутривенно в дозе 0,75–1,15 мг/кг массы тела пациентки. Через 1,5–2 ч выполняли сеанс облучения с использованием полипозиционной методики лазерного воздействия (плотность энергии лазерного излучения одной позиции 150 Дж/см², плотность мощности 400–500 мВт/см²). Через 30 дней после лечения проводили конизацию шейки матки с выскабливанием цервикального канала, оценивая результат фотодинамической терапии. По результатам гистологического исследования послеоперационного материала эффект лечения у 4 пациенток оценен как полная регрессия, у 7 пациенток обнаружены мелкие очаги CIN I, у 1 пациентки – очаги CIN II. У 8 из 10 ВПЧ-положительных пациенток после проведения лечения была получена полная эрадикация ВПЧ. При проведении процедуры облучения не было зарегистрировано серьезных нежелательных явлений.

Выраженный терапевтический эффект, высокая противовирусная активность и хорошая переносимость позволяют рассматривать фотодинамическую терапию в качестве альтернативного органосохраняющего лечения раннего рака и предрака шейки матки.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, предрак шейки матки, CIN, cancer colli uteri in situ, ВПЧ, противовирусная активность.

Введение

Рак шейки матки (РШМ) находится на первом месте по частоте злокачественных новообразований у женщин репродуктивного возраста (15–39 лет) и является чаще всего причиной смерти от онкологических заболеваний в развивающихся странах [1]. В последнее десятилетие регистрируется увеличение практически вдвое числа заболевших женщин в возрасте от 20 до 40 лет (41,21%). Это особенно заметно в группе пациенток моложе 29 лет, где прирост этого показателя за это десятилетие составил около 15% [2].

Предрак шейки матки – цервикальные интраэпителиальные неоплазии (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) – инициируется и поддерживается персистирующей инфекцией, вызванной вирусами папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) [3]. В настоящее время не существует методов прогнозирования течения CIN у конкретной больной, то есть определить наступит ли стойкая персистенция или прогрессия в сторону более высокой степени неоплазии либо инвазивного РШМ и продолжительность этого процесса невозможно [4]. Для предсказания исхода неоплазии и построения индивидуального прогноза изучается продукция молекулярных маркеров при разных степенях CIN и стадиях РШМ и их экспрессия под влиянием отдельных генов ВПЧ, в основном Е6 и Е7, на этапах вирусного канцерогенеза. Наиболее изученным из них является p16INK4a, однако

данные о других маркерах инициируемой ВПЧ ВКР опухолевой трансформации клеток через различные сигнальные пути часто противоречивы [7, 8]. При CIN I вероятность регрессии высока (60–70%), а регрессирующие крайне редко CIN II–III являются облигатным предраком [9].

Опыт показывает, что необходим поиск органосохраняющих методов лечения, а также разработка и внедрение новых, патогенетически обоснованных подходов к лечению ВПЧ – ассоциированных поражений цервикального эпителия. Решение этих задач стало возможным в результате применения в клинической онкологии новых современных методов лечения злокачественных новообразований, в том числе основанных на достижениях химии, биологии и квантовой физики. Среди них особое место занимает фотодинамическая терапия (ФДТ). ФДТ – метод лечения опухолевых заболеваний, основанный на взаимодействии фотосенсибилизатора и света строго определенной длины волны. В результате фотодинамической реакции происходит некроз опухолевой ткани и ее замещение соединительно-тканевыми структурами. Фотохимическая реакция ведет к прямой гибели клеток за счет синглетного кислорода, повреждению сосудистого русла опухолевой ткани, вызывает иммунный ответ.

ФДТ вирус-ассоциированного предрака и начального рака шейки матки активно изучается и приме-

няется в ведущих онкологических учреждениях РФ, в частности в ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена» [8]. На базе Нижегородского областного онкологического диспансера ФДТ для лечения фоновых и предраковых заболеваний шейки матки начали применять в марте 2012 г.

Материалы и методы

В настоящем исследовании на базе Нижегородского областного онкологического диспансера изучен терапевтический эффект после проведения ФДТ различной патологии шейки матки.

Цель исследования – определение эффективности и безопасности проведения ФДТ у больных с CIN II-III, cancer in situ шейки матки. Необходимо было оценить эффективность и переносимость ФДТ у пациенток с CIN II-III и cancer in situ шейки матки после проведения ФДТ; оценить переносимость сеанса ФДТ в сравнении со стандартной схемой лечения таких пациенток (конизация шейки матки и выскабливание цервикального канала) и выявить возможные побочные эффекты и осложнения при проведении ФДТ.

В рамках исследования было обследовано и пролечено 12 пациенток в возрасте от 26 до 38 лет, из них 8 больных были с диагнозом CIN III, 4 – с диагнозом cancer in situ.

Комплексное клиническое обследование включало ОКТ-кольпоскопию (кольпоскопия с проведением традиционных тестов + ОКТ – оптическая когерентная томография в скоростной модификации), качественный ПЦР-анализ на абсолютные патогены, исследование мазка на флору влагалища, ВПЧ-тестирование, цитологическое исследование, биопсию шейки матки.

Лечение пациенток было двухэтапным: на первом этапе проводилась ФДТ шейки матки, на втором этапе через 30 дней после ФДТ – конизация шейки матки с выскабливанием цервикального канала (оценивался эффект ФДТ).

Лазерное воздействие на шейку матки осуществлялось в первую фазу менструального цикла (для исключения беременности) через 1,5–2 ч после введения фотосенсибилизатора хлоринового ряда фотолон в дозе 0,75–1,15 мг/кг. Препарат вводился внутривенно в 200 мл физиологического раствора в течение 30 мин. Использовалась полипозиционная методика лазерного воздействия: ФДТ проводилась как на всем протяжении цервикального канала, так и всей площади влагалищной порции шейки матки. Для доставки лазерного излучения к эндоцервику применяли кварцевые световоды с цилиндрическими диффузорами длиной 3,0 см, дающими матрицу света на 360%, к влагалищной порции шейки матки – макролинза со световым пятном диаметром от 1,0 до 2,0 см. Плотность энергии лазерного излучения одной позиции облучения составляла 150 Дж/см², плотность мощности 400–500 мВт/см².

Результаты

У пациенток инфицированность ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 45, 56 типы) была выявлена у 10 из 12 пациенток, 2 женщины были вирус-негативными. После проведения сеанса ФДТ завершение процессов эпителизации шейки матки наступало к 4-ой неделе, в этот срок оценивалась противовирусная эффективность ФДТ. Результаты показали, что полная эрадикация ВПЧ достигнута у 8 из 10 ВПЧ-положительных пациенток.

На втором этапе лечения, который выполнялся после полной эпителизации шейки матки (через 1 мес. после ФДТ) была проведена конизация с выскабливанием цервикального канала. Гистологическое исследование послеоперационного материала позволило оценить эффективность ФДТ. В результате у 4 пациенток была достигнута полная регрессия первичной опухоли, мелкие фокусы CIN I зафиксированы у 7 пациенток, у 1 пациентки сохранилась CIN II. У всех пациенток с частичной опухолевой регрессией края резекции были CIN-негативными.

При проведении ФДТ не зарегистрировано осложнений или побочных эффектов. Отмечена хорошая переносимость процедуры ФДТ, лишь у 2 пациенток наблюдались боли внизу живота во время ФДТ, что потребовало назначения нестероидных противовоспалительных средств с анальгетической целью.

Сроки наблюдения за пациентками составили 9 мес. ОКТ-кольпоскопия, цитологическое, вирусологическое исследование, по необходимости гистологическое (биопсия) исследование, проводились каждые 3 мес. Отмечен один рецидив cancer in situ у пациентки после ФДТ и последующей конизации, что потребовало проведения повторного сеанса ФДТ. Следует отметить, что у данной больной после ФДТ зарегистрирована частичная регрессия опухоли с наличием участков CIN II.

Заключение

Проведенные исследования показали, что ФДТ шейки матки является альтернативным методом лечения раннего рака и предрака шейки матки, дает возможность сохранить анатомическую и функциональную целостность органа, что немаловажно для реализации репродуктивной функций. Наши результаты подтверждают полученные в ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» данные, что ФДТ вирус-ассоциированного предрака и начального рака шейки матки является «минимальным вариантом» органосберегающего лечения с одновременным противоопухолевым и противовирусным воздействием.

Зарегистрированные у большинства пациенток положительные результаты лечения свидетельствуют о высокой противоопухолевой эффективности ФДТ. Полная эрадикация ВПЧ у 80% ВПЧ-положительных пациенток свидетельствует о выраженном противовирусном эффекте ФДТ, что значительно снижает вероят-

ность возникновения рецидивов папилломавирусной инфекции и ассоциированных с ней CIN.

Отсутствие осложнений и побочных эффектов ФДТ в данном исследовании может свидетельствовать о безопасности метода. ФДТ шейки матки не требует наркоза.

Неполный ответ или рецидивы после ФДТ полученные в данном исследовании, по нашему мне-

нию, могут быть связаны с применением неадекватной дозы облучения, недостаточным накоплением фотосенсибилизатора в опухоли. Неудачи могут быть минимизированы при использовании флюоресцентного мониторинга накопления препарата и его выгорания в ходе лечения, применения многоэтапного лечения и комбинации ФДТ с другими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jemal A., Siegel R., Ward E. Cancer Statistics, 2008 // CA Cancer J Clin. – 2008. – Vol. 58. – P. 71–96.
2. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность). – М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2010. – 256 с.
3. Fisher M., Rosenfeld W.D., Burk R.D. Cervicovaginal human papillomavirus infection in buburman adolescents and young adults // J Pediatr. – 2001. – Vol. 119. – P. 821–825.
4. Роговская С.И. Практическая кольпоскопия. – М.: «ГЕОТАР-Медицина», 2011.
5. Короленкова Л.И. Клинические и технические особенности электрохирургической конизации шейки матки у больных цервикаль-
- ной интраэпителиальной неоплазией III // Акуш. и гин. – 2012. – № 3. – С. 54–59.
6. Киселев В.И., Киселев О.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М., 2003. – 90 с.
7. Sun X.G., Ma S.Q., Zhang J.X., Wu M. Predictors and clinical significance of the positive cone margin in cervical intraepithelial neoplasia III patients // Chin. Med. J. – 2009. – Vol. 122, № 4. – P. 367–372.
8. Трушина О.И., Новикова Е.Г. Возможности фотодинамической терапии для вторичной профилактики вирус-ассоциированного предрака шейки матки // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 3 (45). – С. 16–21.

PHOTODYNAMIC THERAPY FOR CERVICAL LESIONS

Grebekina EV¹, Gamajunov SV¹, Kuznetsov SS², Onoprienko OV¹, Illarionova NA¹, Shakhova NM³.

¹Nizhny Novgorod regional oncological dispensary, Nizhny Novgorod

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod

³Institute of Applied Physics of RAS, Nizhny Novgorod

The experience of treatment for precancer and early cervical cancer by photodynamic therapy in 12 patients with primary diagnosis H-SIL (CIN II–III) and cancer in situ is described. Chlo-rine photosensitizer Photolon was given intravenously at a dose of 0.75–1.15 mg/kg body weight. 2.5 h later the treatment with polyposition laser exposure (light dose – 150 J/cm², light power density – 400–500 mW/cm²) was made. Thirty days later conization of the cervix with endocervical curettage assessing therapeutic response of cervical tumor tissue was performed. According to histological data complete response was in 4 patients, minute foci of CIN I were determined in 7 patients, 1 patient had foci of CIN II. 8 of 10 HPV-positive patients had complete eradication of HPV after treatment. There were no serious adverse events after light exposure.

Marked therapeutic response, high anti-viral activity and good feasibility allow to consider photodynamic therapy as alternative organ-sparing treatment of early cancer and pre-cancer of cervix.

Keywords: photodynamic therapy, cervical pre-cancer, CIN, cancer colli uteri in situ, HPV, anti-viral activity.

Контакты: Н.М.Шахова, E-mail: natalia.shakhova@gmail.com

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.В. Горанская, М.А. Каплан, В.Н. Капинус, Е.В. Ярославцева, И.С. Спиченкова,
А.М. Шубина, О.В. Боргуль, Ю.А. Рагулин, М.В. Таибова

ФБГУ «Медицинский радиологический научный центр» МЗ РФ, г. Обнинск

Резюме

Приведены результаты лечения внутрикожных метастазов рака молочной железы методом фотодинамической терапии. Исследовано 46 пациенток, суммарное число пролеченных внутрикожных метастазов составило 535. Для проведения фотодинамической терапии использовали фотосенсибилизатор фотолон, который вводили пациенткам внутривенно в дозе 0,9–1,6 мг/кг массы тела за 3 ч до проведения сеанса облучения (длина волны 661 ± 1 нм, плотность мощности 0,11–0,56 Дж/см²), мощность на выходе волокна 0,3–2,0 Вт, плотность энергии 50–600 Дж/см². В результате лечения полная регрессия метастатических очагов была получена в 33,6% случаев, частичная – в 39,4%, стабилизация – в 22,6%, прогрессирование зарегистрировано в 4,3% случаев. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения метода фотодинамической терапии для лечения метастатических очагов рака молочной железы как одного из этапов комбинированного лечения.

Ключевые слова: рак молочной железы, фотолон, фотодинамическая терапия, внутрикожные метастазы.

Введение

Заболеваемость раком молочной железы (РМЖ) в России, как и в большинстве стран Европы и Северной Америки, постоянно растет и занимает лидирующее место в структуре онкологической заболеваемости женского населения. Согласно статистическим данным в 2010 году РМЖ впервые выявлен у 54872 больных, из них заболевание в I–II стадии обнаружено у 63,6%, в III – у 25,8% и в IV – у 10,0%, у 0,6% больных стадию заболевания определить не удалось. Отметим, что, несмотря на эффективные методы диагностики, число больных с диагнозом РМЖ III–IV стадий достаточно высоко [1].

По частоте метастазирования в кожу РМЖ уступает лишь меланоме. У женщин при выявлении кожных метастазов диагноз рак молочной железы ставится в 51,0–70,7% случаев. В 20% случаев впервые обнаруженный рак молочной железы сопровождается метастазами заболевания в кожу [2].

Внутрикожные метастазы при РМЖ возникают лимфогенным, гематогенным и имплантационным путем. Метастатические очаги представляют собой округлые или овальные узелки плотной или плотноэластической консистенции размером от 1–2 мм до 1–3 см в диаметре. Они не вызывают боли, подвижные, без эрозии или изъязвления. Иногда метастазы имеют необычную конфигурацию, напоминают фурункулы, пиогенные гранулемы или кератоакантомы. Внутрикожные метастазы чаще бывают множественными, располагаются рассеянно или локализованно. Внутрикожные метастазы при РМЖ чаще локализуются на передней грудной стенке (30–46%), в зоне послеоперационного рубца (20–30,4%), на боковой поверхности грудной клетки и спине (30%), реже на лице (22,2%), на коже головы (13,5%) и шее (9%) [3].

Лечение метастатического РМЖ – системное (химиотерапия, гормонотерапия), сочетается с лучевой терапией и, при возможности, с дальнейшим лазерным иссечением метастатического очага в пределах здоровых тканей. Хирургическое удаление метастазов рака молочной железы не всегда возможно из-за множественного характера поражения и большой распространенности процесса. Соматическое состояние больных, перенесших комбинированное лечение и полихимиотерапию (ПХТ), порой не позволяет осуществлять хирургическое вмешательство в необходимом объеме. Результативность консервативной терапии у больных с метастазами РМЖ во многом зависит от чувствительности опухоли к лучевому, лекарственному и гормональному лечению. Множественный характер внутрикожного метастазирования в ряде случаев ограничивает возможности лучевого лечения. Таким образом, основным методом лечения больных с метастазами РМЖ остается химиогормонотерапия с многократным повторением курсов лечения. Положительный эффект ПХТ (т.е. полная или частичная регрессия) при метастазах РМЖ в кожу и мягкие ткани с применением стандартных схем лечения достигается в 22–27% случаев, срок ремиссии 2–3 мес. Для продления сроков ремиссии требуется многокурсовая ПХТ. Кроме того надо отметить иммуносупрессивное действие лучевой терапии и химиотерапии. Неудовлетворенность результатами терапии больных РМЖ заставляет клиницистов искать новые методы лечения. Для местного лечения единичных кожных метастазов традиционно используется хирургический метод, реже лучевая терапия. Из других методов надо отметить местную химиотерапию, электрохимиотерапию, брахитерапию, лазерную деструкцию, криотерапию, гипертонию и т.д. [4, 5].

Одним из эффективных методов лечения злокачественных образований является фотодинамическая терапия (ФДТ). ФДТ основана на способности опухолевых тканей накапливать фотосенсибилизаторы в значительно большей степени, чем окружающие здоровые ткани. При облучении светом в клетках опухолевой ткани происходит фотохимическая реакция, в результате которой образуются цитотоксические агенты, приводящие к некрозу и гибели опухоли [6, 7, 8]. Сопутствующий тромбоз сосудов опухоли и стимуляция локального противоопухолевого иммунитета также способствуют гибели опухолевых клеток [9, 10]. Высокая избирательность поражения опухолей, отсутствие выраженных побочных реакций, возможность повторных курсов лечения и сочетание в одной процедуре диагностики и лечения качественно отличает метод ФДТ. Метод может применяться как самостоятельно, так и в сочетании с хирургическим и лучевым лечением для улучшения результатов и профилактики рецидивов. ФДТ применяют в случае неэффективности химиотерапии, лучевого лечения, при рецидивах заболевания после хирургического вмешательства, а также с паллиативной целью.

По данным отечественных авторов, при проведении дистанционной ФДТ внутрикожных метастазов РМЖ полной регрессии удается достигнуть в 39–51% случаев, частичной в 36%, стабилизация процесса достигается в 4% случаев, объективный положительный ответ составляет 87–98%. По данным зарубежных авторов, полная регрессия составляет 65–73%, частичная – 18%, объективный ответ – 100% [2, 11, 13].

Цель данного исследования – оценка эффективности применения фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором фотолон у больных с метастазами рака молочной железы в кожу.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 46 больных с внутрикожными метастазами рака молочной железы, наблюдавшихся в Медицинском радиологическом научном центре с 1998 по 2012 г. Средний возраст пациенток составил 60 лет (от 39 до 72). Все опухолевые образования были морфологически верифицированы. На момент лечения у 25 (54,3%) больных были выявлены только внутрикожные метастазы, у 21 больной (45,7%), помимо поражения кожи, имелись метастазы в лимфатические узлы, кости, печень, легочную ткань, вторую молочную железу. Место локализации внутрикожных образований: передняя грудная стенка – у 21 больного (46%), зона операционного рубца – у 20 (43%), метастатическое поражение нескольких зон (кожа передней грудной и брюшной стенки, спины, кожа головы) – у 5 (11%).

Для проведения ФДТ использовали препарат фотолон, являющийся представителем класса сенсибилизаторов, производных хлорина е6, электронный спектр поглощения которого имеет 4 пика в области 506, 536, 610 и 666 нм [9].

Фотолон вводили внутривенно в дозе 0,9–1,6 мг/кг массы тела больной. За 20 мин до начала сеанса ФДТ проводилась премедикация с использованием нарко-

тических и ненаркотических анальгетиков. Всем пациентам после введения фотолон проводили процедуру флуоресцентного исследования с визуальной оценкой флуоресцентного изображения и локальной флуоресцентной спектроскопией. Для проведения ФДТ использовали полупроводниковый лазерный аппарат «Латус-2». Длина волны излучения аппарата составляла 661 ± 1 нм, что соответствует максимуму спектрального поглощения фотолон, максимальная выходная мощность 2 Вт. Для доставки световой энергии к опухоли использовались гибкие моноволоконные кварцевые световоды. Размер полей облучения варьировал от 1 до 6 см, число полей от 1 до 30, плотность мощности (P_s) от 0,11 до 0,56 мВт/см², выходная мощность (P_v) от 0,3 до 2 Вт, плотность энергии (E) от 300 до 600 Дж/см². Суммарно у исследованных больных проведено лечение 535 очагов внутрикожных метастазов рака молочной железы.

Перед лечением с диагностической целью проводилось флуоресцентное исследование, при этом метастатические очаги визуализировались в виде ярко свяжющихся пятен на фоне темных здоровых тканей. Такая диагностика позволяла увидеть дополнительные опухолевые микроочаги, не диагностируемые визуально и при УЗИ. Локальную флуоресцентную спектроскопию проводили на специальном комплексе «Lesa-6» (ЗАО «БИОСПЕК», Россия). В качестве источника излучения, возбуждающего флуоресценцию фотосенсибилизатора в биологических тканях, использовалось излучение He-Ne-лазера (633 нм). Средняя мощность лазерного излучения 2 мВт, плотность энергии локального лазерного излучения на поверхности тканей в процессе одного обследования не более 1 Дж/см², что существенно ниже уровня индуцирования необратимых фотохимических повреждений тканей, нежелательных при диагностических обследованиях. Исследования проводили при легком касании торцом оптоволоконного световода ткани под прямым углом к объекту. Наиболее высокий уровень интенсивности флуоресценции в опухолевых тканях по отношению к здоровой коже наблюдали через 3 ч после введения фотолон в используемых дозах.

С учетом результатов флуоресцентного обследования больных и данных о распространенности опухолевого процесса и соматического состояния больной проводили сеанс ФДТ. Границы полей облучения обозначали метками с отступлением не менее 0,5 см от видимых границ метастатических очагов, при лечении проводилась защита окружающих здоровых тканей экранами из светонепроницаемых материалов. Сеанс ФДТ проводили через 3 ч после введения препарата, то есть при достаточно высоком градиенте накопления фотосенсибилизатора в пораженных тканях. К опухолям подводилось лазерное излучение плотностью энергии 300–600 Дж/см² в зависимости от клинической и морфологической формы опухоли, глубины инфильтрации. Плотность мощности рассчитывали путем деления величины мощности на выходе световода на площадь облучения:

$$P_s = P_v/S,$$

где P_s – плотность мощности, Вт/см²; P_v – выходная мощность, Вт; S – площадь светового пятна, см². Время облучения T (с) определяли путем деления

заданной величины плотности энергии (E , Дж/см²), которую необходимо подвести к опухоли на рассчитанную плотность мощности:

$$T = E/Ps.$$

Результаты и обсуждение

Непосредственно после сеанса ФДТ отмечалось выраженное побледнение опухолевого очага за счет спазма и стаза в сосудах тканей, а через 1–2 сут. в зоне лечения мы наблюдали гиперемию, отек, болезненность при пальпации. Признаки воспаления, как правило, нарастали до конца первой недели, а затем начинали уменьшаться. На месте метастатического очага формировался геморрагический некроз и последующее формирование плотного струпа через 2–3 недели. Иногда у пациенток отмечали повышение температуры в первые сутки до субфебрильной. При множественных очагах применялось антибактериальное лечение, при болевом синдроме – анальгетики.

Результаты лечения внутрикожных метастазов РМЖ оценивали через 1–2 мес. после окончания лечения по принятым критериям ВОЗ: полная регрессия (ПР) – полное исчезновение визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста, установленное через 1 мес. после проведенного лечения; частичная регрессия (ЧР) – уменьшение размеров опухоли (или суммы площадей опухолевых образований) на 50% и более,

установленное через месяц после проведения лечения; стабилизация (Ст) – уменьшение размеров опухоли (или суммы площадей) менее чем на 50% или отсутствие изменений; прогрессирование (Пр) – увеличение размеров опухоли (хотя бы одного из очагов) на 20% или появление новых. Также оценивали объективный ответ – сумма полной и частичной регрессии (ПР+ЧР); лечебный эффект – сумма полной регрессии, частичной регрессии и стабилизации (ПР+ЧР+Ст). Из 535 (100%) очагов ПР была получена в 33,6% случаев ($n=180$), ЧР – в 39,4% ($n=211$), Ст – в 22,6% ($n=121$), Пр – в 4,3% ($n=23$). Объективный ответ получен в 73,1% случаев, лечебный эффект – в 95,7%.

Заключение

Фотодинамическая терапия метастазов рака молочной железы позволила достигнуть лечебного эффекта в 95,7% случаев. Объективный ответ получен для 73,1% очагов, при этом полная регрессия метастатических очагов отмечена в 33,7% и частичная – в 39,4%. Фотодинамическую терапию можно считать методом, который при наименьшем количестве побочных эффектов позволяет достичь хорошего результата. Фотодинамическая терапия при метастатическом раке молочной железы должна сочетаться с системным лечением (химио-, гормонотерапия) и, при необходимости, с лучевой терапией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2010 году. М.: ФГУ «МНИОИ им П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2011. – 188 с.
2. Reynolds T. Photodynamic Therapy Expands Its Horizons // JNCI J Natl Cancer Inst. – 1997. – Vol. 89, № 2. – P. 112–114.
3. Huinink W. ten Bokkel Treatment of skin metastases of breast cancer // Cancer Chemother. Pharmacol. – 1999. – №44. – P.31–33.
4. Clive S., Gardiner J., Leonard R.S.F. Miltefosine as a topical treatment for cutaneous metastases in breast carcinoma // Cancer Chemother Pharmacol. – 1999. – № 44. – P. 29–30.
5. Gehl J., Matthiessen L.M., Humphreys A. Management of cutaneous metastases by electrochemotherapy // J. Clin. Oncol. – 2010. – № 28. – P. 15.
6. Странадко Е. Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии // Российский онкологический журнал. – 2008. – Т. 4, №4. – С. 52.
7. Dougherty T. J. An update on photodynamic therapy applications // J Clin Laser Med Surg. – 2002. – Vol. 20, №1. – P. 3–7.
8. Huang Z., Xu H., Meyers A. D. et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors-potential and technical challenges // Technol. Cancer Res. Treat. – 2008. – Vol.7, №4. P. 309–320.
9. Anderson C., Hrabovsky S., McKinley Y. et al. Phthalocyanine photodynamic therapy disparate effects of pharmacological inhibitors on cutaneous photosensitivity and on tumour regression // J. Photochem. Photobiol. – 1997. – Vol. 65, № 5. – P. 895–901.
10. Castano A. P., Mroz P., Hamblin M. R. Photodynamic therapy and antitumour immunity // Nature Reviews Cancer. – 2006. – №6. – P. 535–545.
11. Cuenca R. E., Allison R. R., Sibata C. et al. Breast Cancer With Chest Wall Progression: Treatment With Photodynamic Therapy // Annals of Surgical Oncology. – 2004. – Vol.11, №3. – P. 322–327.
12. Wyss P., Schwarz V., Dobler-Girdziunaite D. et al. Photodynamic therapy of locoregional breast cancer recurrences using a chlorin-type photosensitizer // Int. J. Cancer. – 2001. – № 93. – P. 720–724.

PHOTODYNAMIC THERAPY FOR METASTATIC BREAST CANCER

Horanskaya EV., Kaplan MA, Kapinous VN, Yaroslavtseva EV, Spichenkova IS, Shubina AM, Borgul OV, Ragulin JuA, Taibova MV.

Russian Medical Radiology Research Centre, Obninsk

Results of treatment for cutaneous metastasis of breast cancer with photodynamic therapy are represented. The study included 46 patients, the total number of treated cutaneous metastases was 535. For photodynamic therapy photosensitizer photolon given intravenously at a dose of 0.9–1.6 mg/kg body weight 3 h before treatment session (wave length 661±1 nm, плотность мощности 0,11–0,56 J/cm²), мощность на выходе волокна 0,3–2,0 Wt, light dose 50–600 J/cm². Complete regression of metastasis was obtained in 33.6% of cases, partial – in 39.4%, stabilization – in 22.6%, progression of disease was in 4.3% of cases. The results show the perspective of photodynamic therapy for metastasis as one of the step of treatment.

Keywords: breast cancer, photolon, photodynamic therapy, cutaneous metastasis.

Контакты: М.А.Каплан, E-mail: Kaplan@mrrc.obninsk.ru

СОНОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ И ЕЕ КОМБИНАЦИЯ С ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИЕЙ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

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

РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, г. Минск, Беларусь

Резюме

В обзоре подробно освещены механизмы, лежащие в основе применения сонодинамической терапии с фотосенсибилизаторами (ультразвук + фотосенсибилизатор), а также комбинации сонодинамической и фотодинамической терапии (ультразвук + фотосенсибилизатор + световое воздействие) для лечения злокачественных новообразований. Приведены и проанализированы данные по эффективности применения указанных методов с фотосенсибилизаторами различной химической структуры в экспериментальных исследованиях в системах *in vitro* и *in vivo* на различных опухолевых моделях, а также в клинических исследованиях.

Ключевые слова: ультразвук, сонодинамическая терапия, комбинированное лечение, соносенсибилизаторы, фотосенсибилизаторы.

Усовершенствование известных и разработка новых методов лечения онкологических больных продолжает оставаться одной из актуальнейших задач современного здравоохранения. В последнее время надежды на улучшение результатов лечения злокачественных заболеваний связывают с разработкой многокомпонентных методов, предусматривающих проведение лучевой и химиотерапии в сочетании с физическими средствами модификации, в частности ультразвуком.

Ультразвук обладает уникальной способностью проникновения в биологические ткани, легко дозируется по интенсивности, а современная аппаратура позволяет точно определять глубину его проникновения, то есть воздействовать на необходимые органы и ткани в зависимости от их расположения, используя низко-, средне- или высокочастотные колебания. Исторические аспекты использования ультразвука в онкологии подробно описаны в обзорах К.П. Балицкого (1977 г.) [1] и F.W. Kremkau (1979 г.) [2].

Механизм терапевтического действия ультразвука до настоящего времени изучен еще недостаточно. Большинство исследователей считают, что ультразвук оказывает на организм механическое тепловое, физико-химическое, рефлекторное и другие действия. В зависимости от основных параметров (частота, интенсивность) излучения сформировались отдельные направления в онкологии, использующие ультразвук, – ультразвуковая гипертермия, неинвазивная HIFU хирургия, сонодинамическая терапия, ультразвуковая наномедицина.

Высокочастотный ультразвук (1,0–31,5 МГц) характеризуется преобладанием теплового эффекта и используется для создания в опухолях локальной гипертермии (40–45°C), позволяющей преодолеть химио- и радиорезистентность. Высокоинтенсивный (от 3 до 10⁴ Вт/см²) сфокусированный ультразвук частотой 1–10 МГц, при поглощении которого темпе-

ратура в очаге превышает 60°C, применяют для неинвазивной хирургии глубокорасположенных опухолей. Низкоинтенсивный (до 3 Вт/см²) ультразвук физиотерапевтического диапазона (частотой до 3 МГц) оказывает на биологические ткани специфическое нетепловое воздействие, обусловленное механическим повреждением клеток, кавитацией и сонохимическими реакциями [3].

Результаты экспериментальных исследований показали, что низкоинтенсивный ультразвук, даже без существенного увеличения температуры, вызывает в системе *in vitro* торможение роста и гибель опухолевых клеток человека: лейкоза K562, HL-60, HL-525, KG1a, Nalm-6 [4, 5], аденокарциномы молочной железы MCF-7, карциномы яичников SC-OV-3 [6], эпидермоидного рака [7], карциномы шейки матки HeLa, карциномы толстой кишки HT-29, карциномы десны Ca9 22 [8–10], глиомы C6 [11], а также угнетает рост перевивных опухолей крыс: гепатомы Зайделя, саркомы M-1 [7], холангиоцеллюлярного рака PC-1 [12], глиомы C6 [13]. Торможение роста опухолей при действии ультразвука физиотерапевтического диапазона связывают с повреждением сосудов и нарушением кровоснабжения опухолевых клеток [14].

Сонодинамическая терапия злокачественных опухолей с фотосенсибилизаторами в системе *in vitro*

Ультразвуковое излучение в нетепловом режиме способствует увеличению проницаемости клеточных мембран и потенцирует цитотоксичность многих химических соединений, в том числе противоопухолевых препаратов. Так, ультразвуковая обработка опухолевых клеток рака яичника человека повышает цитостатическую эффективность платидиама, 5-фторурацила, эпопозида, фарморубина, карбоплатина и таксотера. Воздействие низкоинтенсивного ультразвука не влияет на пролиферацию и способствует увеличению накопления адриамицина в клетках карци-

номы яичника человека и усилению цитотоксичности. На асцитной опухоли Эрлиха в системе *in vivo* ультразвук (0,8 МГц, 1–3 Вт/см²) замедляет рост опухоли под действием 5-фторурацила [3]. Локальное ультразвуковое облучение холангиоцеллюлярного рака РС-1 крыс (0,88 и 2,64 МГц, 3 Вт/см²) усиливало противоопухолевый эффект сарколизина, карбоплатина, доксолема, 5-фторурацила, метатрексата [12]. Возможность увеличения радиочувствительности опухолевых клеток в результате предварительной обработки ультразвуком показана в ряде работ [15, 16].

Новое направление в онкологии, основанное на значительном усилении цитотоксического эффекта ультразвука при комбинации с лекарственным веществом, получило название сонодинамическая терапия (СДТ). Препараты, способные повышать биологическую эффективность ультразвукового излучения, принято называть соносенсибилизаторами. Первоначально СДТ представляла собой метод лечения злокачественных опухолей, основанный на совместном использовании химиопрепаратов и ультразвукового излучения определенных параметров.

Термины «сонодинамическая терапия» и «соносенсибилизатор» были предложены в начале 1990-х годов [17]. Классический фотосенсибилизатор (ФС) гематопорфирин может быть активирован не только светом, но и ультразвуком, проявляя выраженный противоопухолевый эффект. Так, гематопорфирин увеличивал в системе *in vitro* гибель опухолевых клеток саркомы 180 мыши и гепатомы АН 130 крысы под действием ультразвука (1,92 МГц) интенсивностью 1,27 и 3,18 Вт/см² с 30–50% до 95–99% [17].

Возможные механизмы цитотоксичности включают физическую дестабилизацию клеточных мембран и образование соносенсибилизаторами радикалов, которые инициируют перекисное окисление мембранных липидов. Отмечено отсутствие корреляции между эффективностью производных порфирина при фотодинамическом и сонодинамическом воздействиях. В отличие от фотосенсибилизации производные порфирина проявляли соносенсибилизирующие свойства только при наличии во внеклеточном окружении, а не внутри клетки [18].

Опубликованы данные многочисленных исследований по использованию для СДТ ФС 1 го и 2 го поколений. В отличие от противоопухолевых препаратов ФС в используемых для СДТ дозах не оказывают цитотоксического действия в отсутствие ультразвука. В экспериментах на культурах опухолевых клеток и перевивных опухолях лабораторных животных исследованы соносенсибилизирующие свойства ФС порфиринового ряда и других соединений. Показано усиление действия ультразвука на различные опухолевые клетки в системе *in vitro* (саркомы 180, гепатомы 22, карциномы Эрлиха, лейкемии L1210 мыши, гепатомы АН 130, глиомы С6 крыс, лейкемии HL-60, HL-525 и K562, глиомы U251 и U937, аденокарциномы легкого SPCA-1 человека) такими ФС, как гематопорфирин, фотофрин, фотофрин II, мезопорфирин, протопорфирин, протопорфирин IX, TPPS, АТХ-70, АТХ-S10, фео-

форбид а, AlPcS4, хлорин PAD-S31 [3], метиленовый синий [19], эритрозин, родамин [20], NРe6 [21], бенгальский розовый [22], 5-аминолевулиновая кислота [23], хлорин е₆ [24], фотолон [25]. Представленные в таблице данные свидетельствуют об увеличении в 1,4–5,5 раза цитотоксического действия ультразвука частотой 0,88–2,2 МГц и интенсивностью 0,15–6 Вт/см² в сочетании с различными ФС.

Сонодинамическая терапия злокачественных опухолей с фотосенсибилизаторами в системе *in vivo*

В 1990 г. был апробирован метод сонодинамической терапии с ФС гематопорфирин на мышцах с саркомой 180. Показатель торможения роста опухоли, демонстрирующий эффективность метода, в опытной группе был на 74% выше, чем в контроле [39]. В 2003–2004 гг. проведены исследования противоопухолевой эффективности СДТ с другими ФС. Мышам с карциномой 26, имплантированной в почечную паренхиму, вводили внутривенно АТХ-70 в дозе 2,5 мг/кг и через 24 ч осуществляли воздействие ультразвуком интенсивностью 8 Вт/см² и переменной частотой 0,5 и 1,0 МГц. Были отмечены увеличение эффективности терапии опухоли по сравнению с контролем более чем в 2,5 раза [40] и прямая зависимость эффективности от параметров ультразвукового излучения и дозы фотофрина II на гепатоме АН130 крыс [41]. Значительное торможение опухолевого роста карциномы мышей наблюдалось при использовании производного фталоцианина в дозе более 2,5 мг/кг и ультразвука интенсивностью выше 3,0 Вт/см² [42]. Локальное воздействие ультразвука (1,92 МГц, 3,0 Вт/см²) через 24 ч после введения крысам с индуцированной опухолью молочной железы 2,5 мг/кг АТХ-70 приводило к полному торможению роста опухоли в отличие от действия одного ультразвука или АТХ-70 [43]. Торможение роста саркомы 180 мышей при сочетании гематопорфирина или протопорфирина IX с ультразвуком (1,9–2,2 МГц; 5 Вт/см²) составило 35 и 46% по сравнению с контрольной группой [44].

Проведено исследование противоопухолевой эффективности метода СДТ с ФС SF-1 (на основе хлорофилла) в дозе 20 мг/кг на мышцах с саркомой 180. Животным вводили внутривенно ФС и подвергали локальному ультразвуковому воздействию частотой 1 МГц и интенсивностью 0,3; 0,6 и 1,2 Вт/см². Эффективность проведенного воздействия оценивалась по изменению объема и массы опухолей в группах через 2 недели. Авторы отметили, что при увеличении интенсивности ультразвука существенно замедляется опухолевый рост по отношению к контролю (при оценке по объему опухолей в 2,3; 7,3 и 18,4 раза; при оценке по массе опухолей в 8,5; 17,2 и 40 раз соответственно). Необходимо отметить, что в течение первой недели наблюдения торможение роста опухоли возрастало в 3,6–3,7 раза вне зависимости от интенсивности ультразвукового облучения. Морфологическое исследование показало, что в исследуемых группах (интенсивность – 0,6 и 1,2 Вт/см²) необратимые изменения в опухолевой ткани в виде коагуляционного некроза развивались уже через 2–3 ч после проведенного воздействия [45].

Таблица

Коэффициент усиления цитотоксического действия ультразвука при сочетании с ФС

ФС	Интенсивность, Вт/см ²	Частота, МГц	Культура опухолевых клеток	КУ	Источник
Гематопорфирин	3,18	1,92	Саркома 180 мыши	2	[18]
	3,18	1,92	Гепатома АН 130 крысы	2	[18]
	4,5	1,92	Саркома 180 мыши	2	[27]
	6	1,93	Лейкемия HL-60 человека	2,4	[28]
	0,5	1	Глиома С6 крысы	2,6	[29]
	1	1	- " -	1,9	[11]
	1	1,34	Карцинома Эрлиха	1,4	[30]
Фотофрин	0,15–0,45	0,27	Лейкемия HL-60 человека	1,9–2,8	[31]
Мезопорфирин	4	1,94	Лейкемия L1210 мыши	2	[19]
Протопорфирин IX	4,5	1,92	Саркома 180 мыши	5,0	[32]
	3	2,2	- " -	2,2	[33]
	1	1,34	Карцинома Эрлиха	1,8	[30]
	1	1,43	Гепатома 22 мыши	2,6	[34]
	3	2,2	Саркома 180 мыши	2,1	[35]
АТХ-70	4,5	1,92	Саркома 180 мыши	4	[27]
	15	0,05	Лейкемия HL-525 человека	2	[36]
	15	0,05	Лейкемия HL-60 человека	3,8	[36]
АТХ-S10	3	1,92	Саркома 180 мыши	2	[37]
Феофорбид а	4,5	1,92	Саркома 180 мыши	2	[32]
	0,97	2	Гепатома 22 мыши	2,6	[38]
5-аминолевулиновая кислота	0,46	1,7	Лейкемия K562 человека	3,7	[24]
Хлорин е ₆	1	1	Аденокарцинома легкого SPCA-1 человека	1,7–3,5	[25]
НРе6	6	1,93	Лейкемия HL-60 человека	2,2	[22]
Фотолон	0,2–0,7	0,88	Глиома С6 крысы	1,5–3,4	[26]
Бенгальский розовый	5,9	1,93	Саркома 180 мыши	2–3	[23]
Бенгальский розовый	2,3	1,2	Лимфома U937 человека	1,8	[21]
Эритрозин В	2,3	1,2	- " -	2,0	[21]
Родамин 6G	2,3	1,2	- " -	5,5	[21]
Родамин 123	2,3	1,2	- " -	2,4	[21]
Сульфородамин	1,5	1,2	- " -	1,6	[21]

* ФС – фотосенсибилизатор, УЗ – ультразвук, КУ – коэффициент усиления цитотоксического действия ультразвука.

В результате СДТ гепатомы 22 мышей с использованием протопорфирина IX в дозе 5,0 мг/кг и ультразвука (1,43 МГц; 3,0 Вт/см²; 3 мин.) на 14-е сутки эксперимента отмечено торможение роста опухолей на 46–54% по сравнению с контролем [46]. Аналогичные результаты на мышцах с аденокарциномой получены при исследовании сонодинамической активности протопорфирина IX, конъюгированного с наночастицами золота [47].

Опыты, проведенные на мышцах со спонтанной аденокарциномой молочной железы показали, что совместное применение ультразвука частотами 150 кГц и 1 МГц (с суммарной интенсивностью

2,2 Вт/см²) и гематопорфирина в дозе 5,0 мг/кг приводит к достоверному увеличению продолжительности жизни животных по сравнению с использованием каждой из этих двух частот ультразвука [48].

Исследование эффективности совместного использования ультразвукового излучения двух частот (150 КГц и 1 МГц, интенсивность 2,2 Вт/см²) в режиме фракционирования при СДТ с фотофрином II спонтанной аденокарциномы молочной железы мышцей показало, что использование пяти фракций ультразвука приводит к более выраженному торможению роста опухолей по сравнению с тремя фракциями [49].

Введение крысам с холангиоцеллюлярным раком РС-1 препарата терафтал в сочетании с аскорбиновой кислотой усиливало в 2 раза противоопухолевый эффект локального ультразвукового облучения (0,88 и 2,64 МГц, 3 Вт/см²) [12].

При использовании для СДТ ФС хлорина е6 в дозе 10 мг/кг и выше наблюдалось выраженное увеличение эффекта ультразвука (4,0 Вт/см²), торможение роста гепатомы мышей в опытной группе значительно возрастало по сравнению с контрольной группой [50]. Аналогичные результаты получены при использовании хлорина е6 и ультразвука (1,6 Вт/см²) на мышцах с перивитой аденокарциномой SPCA-1 человека [51].

Первые шаги в изучении возможности использования СДТ у лабораторных животных для лечения злокачественных опухолей головного мозга (имплантированные глиомы) предприняли авторы работы [52]. При торможении роста глиомы С6 крыс при использовании ультразвука (2 МГц, 25 Вт/см²) и ФС Rose Bengal отмечено отсутствие температурных изменений в опухоли. Площадь среза опухоли в интактном контроле составила 19,53±3,89 мм², в группе животных, пролеченных только ультразвуком, – 10,64±2,21 мм², после СДТ – 3,01±1,74 мм².

Способность ФС к избирательному накоплению в опухолевых клетках при системном введении позволяет индуцировать цитотоксичность в патологическом очаге с минимальными повреждениями окружающих здоровых тканей. Преимуществом СДТ является возможность фокусировки ультразвука в области глубокорасположенных опухолей. Ohnura T. с соавторами [53] продемонстрировали высокую эффективность совместного использования 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) в дозе 100 мг/кг и ультразвукового излучения (1,04 МГц; 10 Вт/см²) в лечении глубокорасположенной глиомы С6 крыс. Полученные результаты свидетельствуют о достоверном торможении роста опухолей в группе животных, пролеченных методом СДТ, по сравнению с контрольной группой и группой животных, пролеченных ультразвуком без предварительного введения ФС. Площадь среза опухоли в интактном контроле составила 29,94±10,39 мм², в группе животных, пролеченных только ультразвуком, – 30,81±9,65 мм², после СДТ – 18,32±5,69 мм².

Для профилактики термического повреждения нормальных тканей головного мозга животных при СДТ глиомы С6 крыс предложено использование фракционированного режима ультразвукового излучения частотой 1 МГц и интенсивностью 2,65 Вт/см². Через 2 недели после проведенного лечения средний объем опухолей в контрольной группе составил 122,48±39,64 мм³, в группе животных, пролеченных только ультразвуком, – 87,42 ± 21,40 мм³, после СДТ с 5-АЛК (60 мг/кг) – 10,50±8,20 мм³. Полученные результаты свидетельствуют о высокой противоопухолевой эффективности СДТ с 5-АЛК. Отсутствие выраженных побочных реакций проводимого лечения подтверждает его безопасность при лечении глубокорасположенных злокачественных глиом [54].

Эффективность СДТ с метиленовым синим исследована на крысах с карциносаркомой Уокера [55].

Введение по периметру опухоли лекарственной композиции (0,005 г метронидазола + 0,005 г метиленового синего + 25% раствора димексида) с последующим воздействием ультразвука (880 кГц, 0,4 Вт/см²) приводило спустя 6–7 суток к полному отторжению опухоли у 90% животных; на 90-е сутки рецидивы определены у 5 животных из 15; рецидивы и метастазы – у 2 из этих 5 особей. Выявленные в результате экспериментальных исследований данные о значительном усилении деструкции опухолей при использовании СДТ позволили авторам работы [55] приступить к изучению возможности использования этой технологии в клинике. Новый метод лечения апробирован на 22 больных с различными опухолями ЛОР-органов (опухоль наружного носа, полости носа, околоносовых пазух). На основании полученных результатов авторы пришли к выводу, что СДТ представляет особый интерес для онкологии не только ввиду простоты методики и относительно небольшой стоимости (не сопоставимой со стоимостью аппаратуры для лучевой терапии), но и благодаря отсутствию неблагоприятных побочных эффектов [55].

Комбинированное применение сонодинамической и фотодинамической терапии злокачественных опухолей

Несмотря на наличие выгодных преимуществ, основным ограничением существующего метода ФДТ является относительно небольшая глубина проникновения лазерного излучения и повреждения опухолей при применении стандартных методик. Возможным решением данной проблемы является совместное использование лазерного и ультразвукового излучения. При этом значительно увеличивается глубина и площадь повреждения опухолевого очага за счет суммирования эффектов каждого из компонентов. На данный момент противоопухолевая эффективность комбинированного применения сонодинамической и фотодинамической терапии подтверждена результатами нескольких экспериментальных исследований на культуре клеток [20, 58] и лабораторных животных [57, 59, 60].

При сравнительном исследовании цитотоксического эффекта сонодинамического и фотодинамического воздействия с ФС мезопорфирин на клетках лейкемии L1210 мыши было показано, что облучение светом (0,27 Дж/см²) опухолевых клеток после инкубации с мезопорфирином и воздействия ультразвуком (1,94 МГц, 7,5 Вт/см²) существенно снижает выживаемость клеток по сравнению с действием только мезопорфирина и ультразвука [56]. Эти данные послужили основанием для дальнейшей разработки метода СДТ в комбинации с ФДТ злокачественных опухолей.

При комбинации методов ФДТ (88 или 44 Дж/см²) и СДТ (1 МГц, 0,51 Вт/см²) с применением препаратов АТХ-70 или феофорбид а наблюдали значительное усиление противоопухолевого эффекта. Глубина некроза опухоли увеличилась в 2–3 раза, а торможение роста карциномы кожи мышей составило 92–98%, тогда как после одной ФДТ или СДТ этот показатель составил 27–77%. Комбинированное применение методов с использованием в качестве ФС феофорбида а привела к излече-

нию 25% животных на 20-е сутки эксперимента; продолжительность жизни животных превысила 120 суток, в то время как после монотерапии с использованием ФДТ или СДТ составила 77–95 суток [57].

На опухолевой модели фибросаркомы мыши после ФДТ с ФС индоцианином зеленым торможение роста опухоли на 27-е сутки составило 42%, после СДТ с этим же препаратом – 67%, после комбинации ФДТ и СДТ – 98% [58].

Исследование эффективности сочетанного применения ФДТ (300 Дж/см²) и СДТ (1,1 МГц, 1,0 Вт/см²) с липосомальной формой фталоцианина цинка на карциноме мышей показало достоверное увеличение продолжительности жизни животных по сравнению с каждым из воздействий в отдельности [59].

При использовании ФС фотолон получено выраженное синергетическое действие ультразвукового (1 МГц, 0,7 Вт/см²) и лазерного (50 и 100 Дж/см²) излучения на перевитую крысам глиому С6 [60].

Предпринимаются первые попытки применения СДТ (в том числе в сочетании с ФДТ) в клинических условиях. Так, метод СДТ с новым фотосенсибилизатором SF1 (на основе хлорофилла) оказал существенный терапевтический эффект у 3 пациенток с метастатическим

раком молочной железы [61]. Получены положительные результаты лечения с использованием комбинации СДТ и ФДТ у 12 пациенток с гистологически подтвержденным распространенным раком молочной железы [62].

Положительные результаты лечения комбинацией СДТ и ФДТ с фотосенсибилизатором SF1 первичных и метастатических опухолей (включая рефрактерные к химиотерапии) отмечены у 115 пациентов с различным диагнозом (рак молочной железы, мочевого пузыря, шейки матки, меланомы, колоректальный рак, рак почки, мезотелиома, рак легкого, лимфома, рак простаты, саркома, глиобластома, опухоли головы и шеи и др.) [63].

Заключение

Несмотря на то, что к настоящему времени опубликованы только единичные работы, посвященные использованию комбинированной фото- и сонодинамической терапии, можно предположить, что применение этого метода в клинической практике за счет возможности увеличения глубины повреждения и эффективности лечения злокачественных опухолей в будущем станут весьма востребованными в клинической онкологии методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ультразвук в терапии злокачественных опухолей / Под ред. К.П. Балицкого. – Киев: Наукова думка, 1977 – 157 с.
2. Kremkau F.W. Cancer therapy with ultrasound: A historical review // J. Clin. Ultrasound. – 1979. – Vol. 7. – P. 287–300.
3. Rosenthal I., Sostaric J. Z., Riesz P. Sonodynamic therapy – a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound // Ultrasonics Sonochem. – 2004. – Vol. 11(3). – P. 349–363.
4. Lagneaux L. Ultrasonic low-energy treatment: A novel approach to induce apoptosis in human leukemic cells // Exp. Hematol. – 2002. – Vol. 30, Issue 11. – P. 1293–1301.
5. Ashush H. et al. Apoptosis induction of human myeloid leukemic cells by ultrasound exposure // Cancer Res. – 2000 – Vol. 60. – P. 1014–1020.
6. Сергеева Н.С. и др. Влияние различных режимов низкочастотного ультразвука на выживаемость опухолевых клеток человека in vitro // Бюл. exper. биол. мед. – 2001. – Т.131, № 3. – С. 331–334.
7. Бирюков Ю.В. О влиянии ультразвука низкой частоты на клетки опухоли in эксперименте // Груд. хирургия. – 1989. – № 3 – С. 64–69.
8. Kaufman G. E. et al. Lysis and viability of cultured mammalian cells exposed to 1 MHz ultrasound // Ultrasound Med. Biol. – 1977. – Vol. 3, Issue 1. – P. 21–25.
9. Hrazdira I., Skorpikova J., Dolnikova M. Ultrasonically induced alterations of cultured tumour cells // Eur. J. Ultrasound. – 1998. – Vol. 8. – P. 43–49.
10. Fang H. Y. et al. The effects of power on-off durations of pulsed ultrasound on the destruction of cancer cells // Int. J. Hyperthermia. – 2007 – Vol. 23, No 4. – P. 371–380.
11. Dai S., Hu S., Wu C. Apoptotic effect of sonodynamic therapy mediated by hematoporphyrin monomethyl ether on C6 glioma cells in vitro // Acta Neurochir. – 2009. – Vol. 151. – P. 1655–1661.
12. Андропова Н. В. и др. Комбинированная терапия злокачественных опухолей с использованием локального ультразвукового воздействия (экспериментальное исследование) // Рос. биотерап. ж. – 2005. – Т. 4, № 3. – С.103–107.
13. Nonaka M. et al. Sonodynamic therapy consisting of focused ultrasound and a photosensitizer causes a selective antitumor effect in a rat intracranial glioma model // Anticancer Res. – 2009. – Vol. 29, No.3. – P. 943–950.
14. Wood A.K.W. et al. The antivascular action of physiotherapy ultrasound on murine tumors // Ultrasound Med Biol. – 2005. – Vol. 31, No 10. – P. 1403–1410.
15. Martins B. I. et al. Survival of cultured mammalian cells exposed to ultrasound // Rad. Environm. Biophys. – 1977. – Vol. 14. – P. 243–250.
16. Kobayashi H., Sakuma S. Treatment of human superficial tumors by ionizing radiation combined with ultrasound // Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi. – 1991. – Vol. 51, No 2. – P. 149–154.
17. N. Yumita et al. Hematoporphyrin as a sensitizer of cell damaging effect of ultrasound // Jpn. J. Cancer Res. – 1989. – Vol. 80. – P. 219–222.
18. Kessel D., Porphyrin-induced enhancement of ultrasound cytotoxicity // Int. J. Radiat. Biol. – 1994. – Vol. 66, No 2. – P. 221–228.
19. Заболотный Д.И., Пухлик С.М., Пионтовская М.Б. Новые возможности применения сонодинамической терапии в онкоортологии // Вестник оториноларингологии. – 2006. – № 3. – С. 23–26.
20. Hiraoka W. et al. Comparison between sonodynamic effect and photodynamic effect with photosensitizers on free radical formation and cell killing // Ultrasonics Sonochemistry – 2006. – Vol. 13. – P. 535–542.
21. Yumita N. et al. Sonodynamically-induced apoptosis, necrosis, and active oxygen generation by mono-l-aspartyl chlorin e6 // Cancer Sci. – 2008. – Vol. 99, No 1. – P. 166–172.
22. Umemura S. et al. Sonodynamically induced effect of rose bengal on isolated sarcoma 180 cells // Cancer Chemother/ Pharmacol. – 1999. – Vol. 43, No 5. – P. 389–393.
23. He Y. et al. 5-Aminolaevulinic acid enhances ultrasound-induced mitochondrial damage in K562 cells // Ultrasonics. – 2010. – Vol. 50. – P. 777–781.
24. Zheng R. et al. The sonodynamic effects of chlorin e6 on the proliferation of human lung adenocarcinoma cell SPCA-1 // Chin. J. Lung Cancer. – 2010. – Vol. 13, No 3. – P. 201–205.
25. Tserkovsky D.A., Alexandrova E.N., Istomin Y.P. Photolon enhancement of ultrasound cytotoxicity // Exp. Oncol. – 2011. – Vol. 33, No 2. – P. 107–109.
26. Umemura S.I., Yumita N., Nishigaki R. Enhancement of ultrasonically induced cell-damage by a gallium-porphyrin complex ATX-70 // Jpn. J. Cancer Res. – 1993. – Vol. 84. – P. 582.
27. Yumita N., Han Q.S., Umemura S. Sonodynamically induced apoptosis with porfimer sodium in HL-60 cells // Anticancer Drugs. – 2007. – Vol. 18, No 10. – P. 1149–1156.
28. Li J. et al. In vitro study of hematoporphyrin monomethyl ether-mediated sonodynamic effects on C6 glioma cells // Neurol. Sci. – 2008 – Vol. 29. – P. 229–235.
29. Wang P. et al. Comparison between sonodynamic effects with protoporphyrin IX and hematoporphyrin on the cytoskeleton of Ehrlich ascites carcinoma cells // Cancer Biother. Radiopharm. – 2010. – Vol. 25, No 1. – P. 55–64.
30. Tachibana K. et al. Enhancement of cell killing of HL-60 cells by ultrasound in the presence of the photosensitizing drug Photofrin II // Cancer Letters. – 1993. – Vol. 72, No 3. – P. 195–199.

31. Umemura K. et al. Sonodynamically induced antitumor effect of pheophorbide a // *Cancer Lett.* - 1996. - Vol. 102, No 1-2. - P. 151-157.
32. Liu Q. et al. Sonodynamic effects of protoporphyrin IX disodium salt on isolated sarcoma 180 cells // *Ultrasonics.* - 2006. - Vol. 45, No 1-4. - P. 56-60.
33. Mi N. et al. Induction of sonodynamic effect with protoporphyrin IX on isolate hepatoma 22 cells // *Ultrasound Med. Biol.* - 2009. - Vol. 35, No 4. - P. 680-686.
34. Wang X.B. et al. Study of cell killing effect on S180 by ultrasound activating protoporphyrin IX // *Ultrasonics.* - 2008. - Vol. 48, No 2. - P. 135-140.
35. Miyoshi N., Misik V., Riesz P. Sonodynamic toxicity of gallium-porphyrin analogue ATX-70 in human leukemia cells // *Radiat. Res.* - 1997. - Vol. 148, No 1. - P. 43-47.
36. Yumita N. et al. Sonodynamically induced antitumor effect of 4-formylloximethylidene-3-hydroxy-2-vinyl-deuterio-porphyrin(IX)-6,7-dia spartic acid (ATX-S10) // *Jpn. J. Cancer Res.* - 2000. - Vol. 91, No 2. - P. 255-260.
37. Xu J. et al. Sonodynamic action of pyropheophorbide-a methyl ester in liver cancer cells // *J. Ultrasound Med.* - 2010. - Vol. 29, No 7. - P. 1031-1037.
38. Chen Z. et al. Use of a novel sonosensitizer in sonodynamic therapy of U251 glioma cells in vitro // *Exp. Ther. Med.* - 2012. - Vol. 3, No 2. - P. 273-278.
39. Yumita N., Nishigaki T., Umemura K. Synergetic effect of ultrasound and hematoporphyrin on sarcoma 180 // *J. Jpn. Cancer Res.* - Vol. 81. - 1990. - P. 304.
40. Yumita N., Sasaki K., Umemura S., Yukawa A. Sonodynamically induced antitumor effect of gallium-porphyrin complex by focused ultrasound on experimental kidney tumor // *Cancer Lett.* - 1997. - Vol. 112, No 1. - P. 79-86.
41. Yumita N., Umemura S. Sonodynamic therapy with photofrin II on AH130 solid tumor. Pharmacokinetics, tissue distribution and sonodynamic antitumor efficacy of photofrin II // *Cancer Chemother. Pharmacol.* - 2003. - Vol. 51, No. 2. - P. 174-178.
42. Yumita N., Umemura S. Sonodynamic antitumor effect of chloroaluminum phthalocyanine tetrasulfonate on murine solid tumour // *J. Pharm. Pharmacol.* - 2004. - Vol. 56, No. 1. - P. 85-90.
43. Yumita N. Sonodynamic therapy on chemically induced mammary tumor: pharmacokinetics, tissue distribution and sonodynamically induced antitumor effect of gallium-porphyrin complex ATX-70 // *Cancer Chemother. Pharmacol.* - 2007. - Vol. 60. - P. 891-897.
44. Liu Q. et al. Comparison between sonodynamic effect with protoporphyrin IX and hematoporphyrin on sarcoma 180 // *Cancer Chemother Pharmacol.* - 2007. - Vol. 60, No 5. - P. 671-680.
45. Wang X., Lewis T., Mitchell D. The tumoricidal effect of sonodynamic therapy (SDT) on S-180 sarcoma in mice // *Integr. Cancer Ther.* - 2008. - Vol. 7. - P. 96-102.
46. Wang X. et al. Sonodynamically induced anti-tumor effect with protoporphyrin IX on hepatoma-22 solid tumor // *Ultrasonics.* - 2011. - Vol. 51, No 5. - P. 539-546.
47. Sazgarnia A. et al. A novel nanosonosensitizer for sonodynamic therapy: in vivo study on a colon tumor model // *J. Ultrasound Med.* - 2011. - Vol. 30, No 10. - P. 1321-1329.
48. Alamolhoda M. et al. Comparing the in vivo sonodynamic effects of dual- and single-frequency ultrasound in breast adenocarcinoma // *Journal of Medical Ultrasonics.* - 2012. - Vol. 39, No 3. - P. 115-125.
49. Barati A.H., Mokhtari-Dizaji M. Ultrasound dose fractionation in sonodynamic therapy // *Ultrasound Med. Biol.* - 2010. - Vol. 36, No 6. - P. 880-887.
50. Shi H. et al. Pharmacokinetic study of a novel sonosensitizer chlorin-e6 and its sonodynamic anti-cancer activity in hepatoma-22 tumor-bearing mice // *Biopharm. Drug Dispos.* - 2011. - Vol. 32, No 6. - P. 319-332.
51. Chen B. et al. The tumor affinity of chlorin e6 and its sonodynamic effects on non-small cell lung cancer // *Ultrason. Sonochem.* - 2013. - Vol. 20, No 2. - P. 667-673.
52. Nonaka M. et al. Sonodynamic therapy consisting of focused ultrasound and a photosensitizer causes a selective antitumor effect in a rat intracranial glioma model // *Anticancer Res.* - 2009. - Vol. 29, No 3. - P. 943-950.
53. Ohmura T. et al. Sonodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid and focused ultrasound for deep-seated intracranial glioma in rat // *Anticancer Res.* - 2011. - Vol. 31, No 7. - P. 2527-2533.
54. Jeong E.G. et al. Sonodynamically induced antitumor effects of 5-aminolevulinic Acid and fractionated ultrasound irradiation in an orthotopic rat glioma model // *Ultrasound Med Biol.* - 2012. - Vol. 38, No 12. - P. 2143-2150.
55. Заболотный Д.И., Пухлик С.М., Пионковская М.Б. Новые возможности применения сонодинамической терапии в онкологии // *Вестник оториноларингологии.* - 2006. - № 3. - С. 23-26.
56. Kessel D. Modes of photodynamic vs. sonodynamic cytotoxicity // *J. Photochem. Photobiol.* - 1995. - Vol. 28. - P. 219-221.
57. Jin Z.H. Combination effect of photodynamic and sonodynamic therapy on experimental skin squamous cell carcinoma in C3H/HeN mice // *J. Dermatol.* - 2000. - Vol. 27. - P. 294-306.
58. Nomikou N. et al. The effects of ultrasound and light on indocyanine-green-treated tumour cells and tissues // *Chem. Med Chem.* - 2012. - Vol. 7, No 8. - P. 1465-1471.
59. Bakhshizadeh M. et al. Effects of Combined Sonodynamic and Photodynamic Therapies on a Colon Carcinoma Tumor Model // *Iran J Basic Med Sci* - 2011. - Vol. 14, No 3. - P. 205-212.
60. Tserkovsky D.A. et al. Effects of combined sonodynamic and photodynamic therapies with photolon on a glioma C6 tumor model // *Exp Oncol.* - 2012. - Vol. 34, No 4. - P. 332-335.
61. Wang X., Mitchell D., Lewis T. J. Primary clinical use of sonodynamic therapy (SDT) for advanced breast cancer // *Journal of Clinical Oncology.* - 2008. - Vol. 26, No 15. - P. 12-29.
62. Wang X. et al. Sonodynamic and photodynamic therapy in advanced refractory breast cancer // *Journal of Clinical Oncology.* - 2012. - Vol. 30, No 27, suppl. - P. 118.
63. Kenyon, J.N., Fulle R.J., Lewis T.J. Activated Cancer Therapy Using Light and Ultrasound - A Case Series of Sonodynamic Photodynamic Therapy in 115 Patients Over a 4 Year Period // *Current Drug Therapy.* - 2009. - Vol. 4. - P. 179-193.

SONODYNAMIC THERAPY WITH PHOTSENSITIZERS AND ITS COMBINATION WITH PHOTODYNAMIC THERAPY IN TREATMENT OF MALIGNANT TUMORS

Zerkovskiy DA, Alexandrova EN, Laptsevich TP, Istomin JuP

N.N. Alexandrova Republic Research and Practical Centre of oncology and medical radiology, Minsk, Belarus

The article reviews mechanisms of sonodynamic therapy with photosensitizers (ultrasound + photosensitizer) and combination of sonodynamic with photodynamic therapy (ultrasound + photosensitizer + light exposure) for treatment of malignant tumors. Efficacy of these methods with photosensitizers of different chemical structure in experimental study in vitro and in vivo on different tumor models and in clinical trials was assessed.

Keywords: ultrasound, sonodynamic therapy, combined modality treatment, sonosensitizers, photosensitizers.

Контакты: Ю.П. Истомин, E-mail: istomin06@mail.ru

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ УДАЛЕНИИ ЭПЕНДИМОМЫ ШЕЙНО-ГРУДНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

А.М. Зайцев¹, М.И. Куржупов¹, Ю.В. Кушель², Е.В. Филоненко¹, В.И. Иванова-Радкевич³

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

²ФГБУ «Научно-исследовательский институт нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко» Российской академии медицинских наук, г. Москва

³ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва

Резюме

Описан клинический случай успешного проведения интраоперационной флюоресцентной диагностики (ИОФД) при хирургическом удалении эпендимомы шейно-грудного отдела позвоночника в МНИОИ им. П.А. Герцена. Для выполнения ИОФД применяли препарат аласенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»). Пациент принимал внутрь раствор препарата в дозе 20 мг/кг массы тела за 2,5 ч до начала операции. Диагностика была проведена через 3,0 ч после приема аласенса. При флюоресцентной диагностике была отмечена флюоресценция опухоли и отсутствие флюоресценции неизмененных тканей спинного мозга. Объем хирургического вмешательства определен с учетом данных ИОФД. По результатам контрольной МРТ шейного и верхнегрудного отдела позвоночника с контрастным усилением и динамического наблюдения за пациентом подтверждена радикальность удаления опухоли и отсутствие осложнений после проведенного лечения.

Ключевые слова: эпендимома, аласенс, интраоперационная флюоресцентная диагностика.

Эпендимомы спинного мозга – наиболее часто встречающиеся интрамедуллярные опухоли у взрослых, лечение которых сводится к их максимально радикальному удалению. В общей структуре опухолей центральной нервной системы интрамедуллярные опухоли занимают около 4% [1]. В свою очередь, до 60% от всех интрамедуллярных опухолей у взрослых составляют эпендимомы [2]. Эпендимомы по своей гистологической структуре представляют доброкачественные опухоли с низкой скоростью роста, наиболее часто они локализуется в шейном отделе спинного мозга [1]. Больным с эпендимомой спинного мозга показано хирургическое лечение, причем объем хирургического вмешательства должен быть максимально радикальным [1–3]. В последнее время в литературе стали появляться сообщения о применении при хирургическом удалении эпендимом интраоперационной фотодинамической терапии (ИОФД) с препаратом аласенс [4].

В МНИОИ им. П.А. Герцена проведено лечение больного Н. с эпендимомой на уровне С4-Th2 позвонков в ноябре 2012 г. Возраст больного – 41 год.

Для интраоперационной флюоресцентной диагностики использован отечественный препарат аласенс (производства ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», регистрационное удостоверение ЛП-001848). Для проведения диагностики использован операционный микроскоп Carl Zeiss Opmi Pentero с блоком для флюоресцентной диагностики (ФД). Для до- и послеоперационной диагностики применен магнитнорезонансный томограф General Electric с напряженностью магнитного поля 1,5 Т и контрастный препарат магневист.

В анамнезе с мая 2012 г. у больного появилась слабость в нижних конечностях, которая постепенно нарастала. В дальнейшем присоединились снижение чувствительности в нижних конечностях, запоры и эректильная дисфункция. При МРТ шейного и верхнегрудного отдела позвоночника с контрастным усилением выявлено интрамедуллярное кистозно-солидное образование спинного мозга на уровне С4-Th3 позвонков (рис. 1).



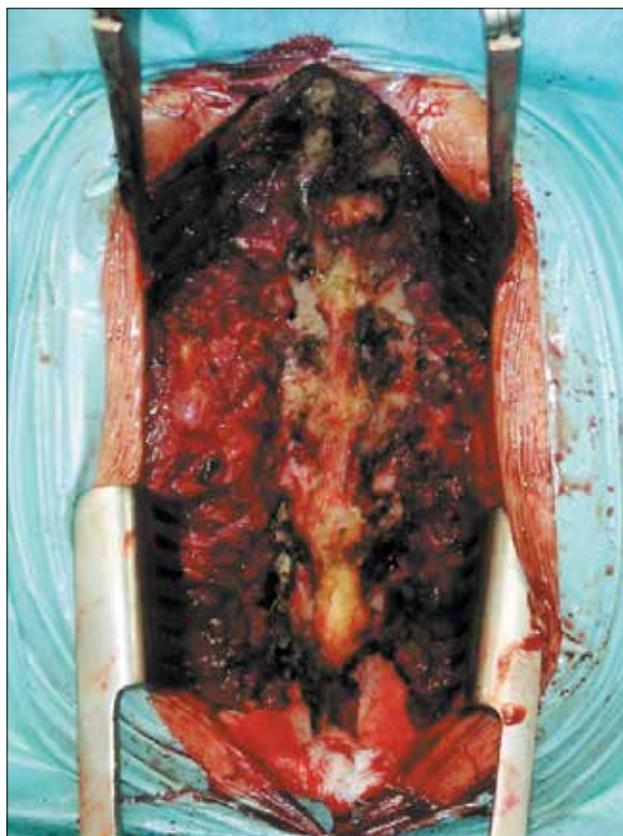
Рис. 1. МРТ шейного и верхнегрудного отделов спинного мозга с контрастным усилением до операции

С указанными симптомами и результатами обследования пациент обратился в МНИОИ им. П.А. Герцена, где 22.11.2012 проведено микрохирургическое удаление интрамедуллярной опухоли С4-Тh2 позвонков с ИОФД. Для ИОФД использовали препарат аласенс, который больной принимал внутрь за 2,5 ч до начала операции (за 3,0 ч до проведения ИОФД) в дозе 20 мг/кг массы тела.

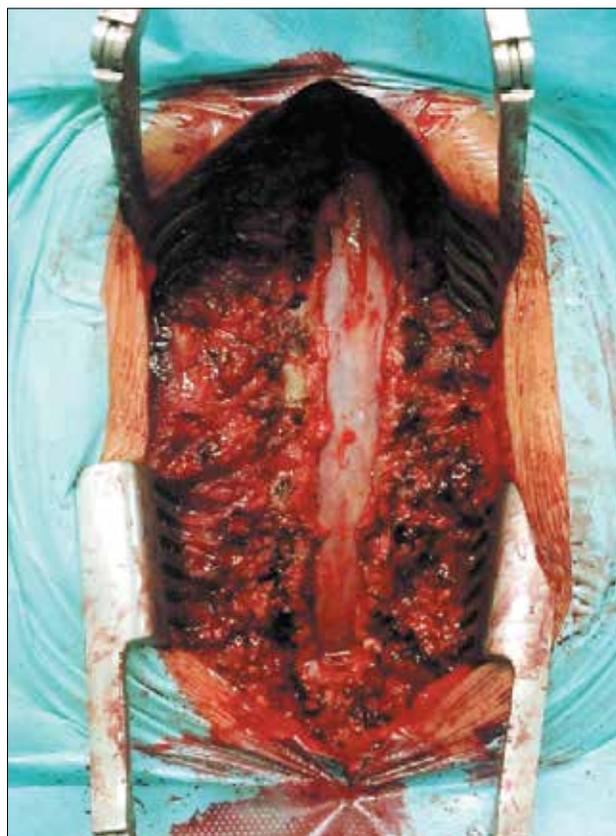
В процессе операции под эндотрахеальным наркозом в положении сидя (рис. 2.) из линейного разреза на уровне С3-Тh3 позвонков выполнена ламинотомия на уровне С4-Тh2. Дуральный мешок был раздут, напряжен, пульсация не прослеживалась. Произведен линейный разрез твердой мозговой оболочки. Рассечена арахноидальная оболочка и в области задней спайки спинного мозга выполнена энцефалотомия. Визуализирована опухоль желто-серого цвета, мягкой консистенции, слабо кровоснабжаемая. При флюоресцентной диагностике отмечена розовая флюоресценция опухоли и отсутствие флюоресценции ткани спинного мозга (рис. 3), опухоль была удалена до видимо неизменного вещества мозга как при осмотре в белом свете, так и при флюоресцентной диагностике. После удаления опухоли был проведен гемостаз с использованием биполярной коагуляции и Surgicel, твердая мозговая



а



б



в

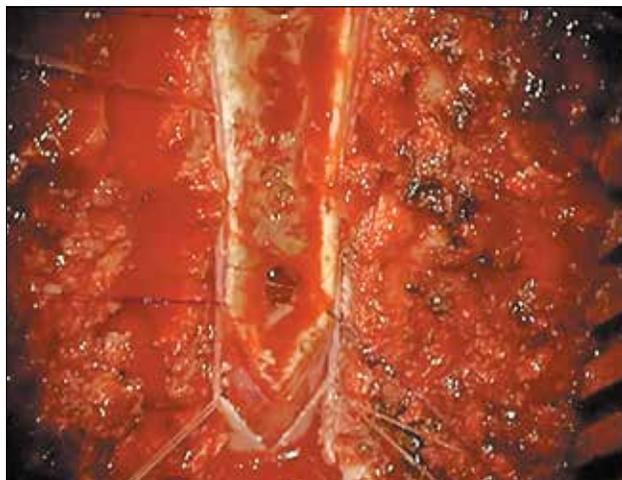
Рис. 2. Положение больного на операционном столе и вид операционной раны: а – положение больного на операционном столе; б – вид операционной раны до ламинотомии; в – вид операционной раны после ламинотомии

оболочка ушита герметично, костный лоскут уложен на место и фиксирован костными швами (рис. 4а), ушиты мягкие ткани (рис. 4б).

По данным гистологического и иммуногистохимического исследований (№ X 7505-09/оп от 22.11.2012) диагностирована эпендимома (реакция с Ki67 положительная в единичных клетках опухоли).

Контрольная МРТ шейного и верхнегрудного отдела позвоночника с контрастным усилением, выполненная 23.11.2012, подтвердила удаление опухоли и отсутствие осложнений (рис. 5).

В послеоперационном периоде у больного в течение 1 мес. регрессировали неврологические нарушения.

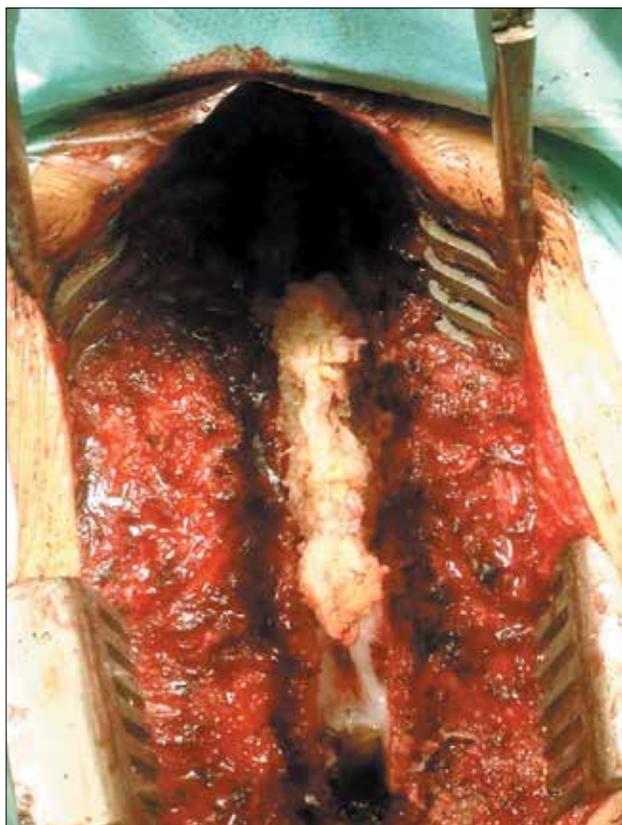


а



б

Рис. 3. Вид операционной раны до удаления опухоли, а – в белом свете видна опухоль желто-серого цвета; б – при осмотре в режиме флюоресценции опухоль светится розовым



а



б

Рис. 4. Вид операционной раны с уложенным и фиксированным костным лоскутом (а); ушитая операционная рана (б)

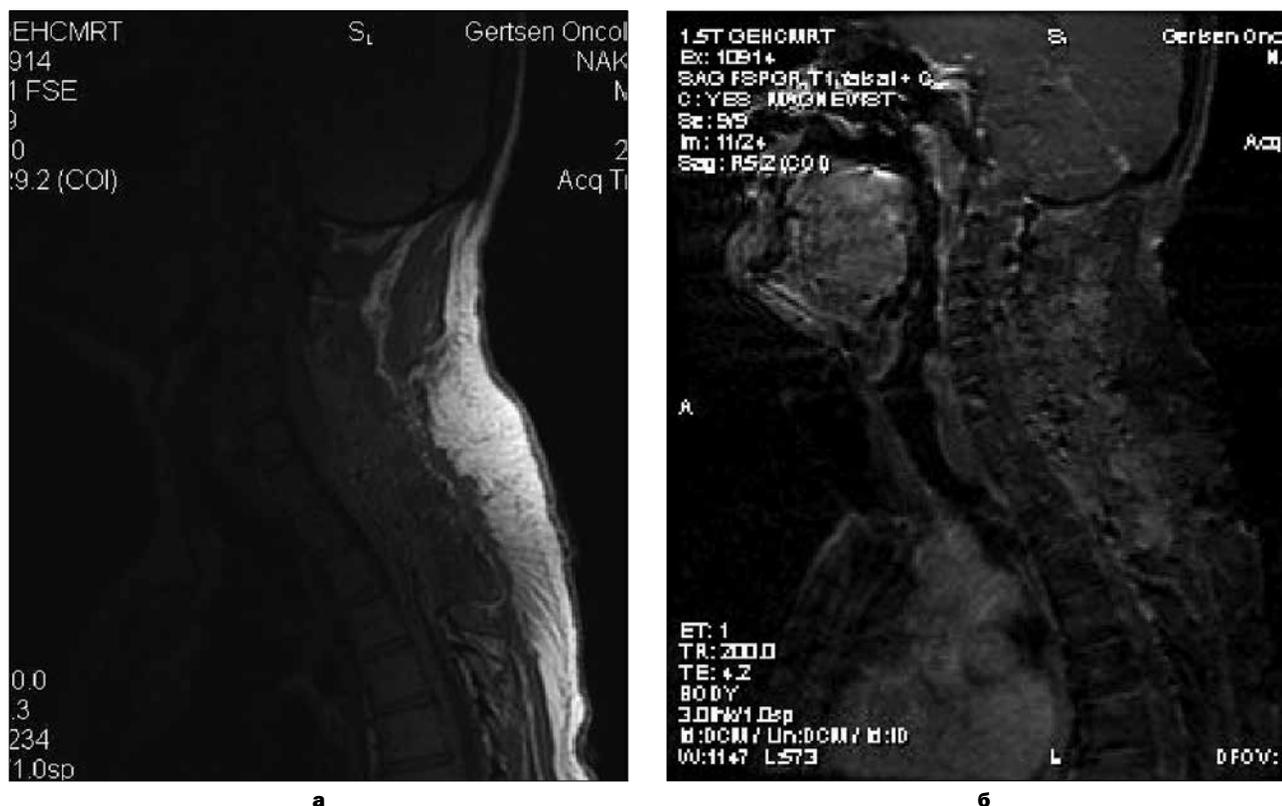


Рис. 5. Контрольная МРТ шейного и верхне-грудного отделов спинного мозга с контрастным усилением, выполненная в течение 24 ч после операции: а – без контрастного усиления; б – с контрастным усилением

Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует оправданность и эффективность интраоперационной флуоресцентной диагностики при хирургическом

лечении эпендимомы спинного мозга, так как позволяет добиться радикального удаления опухоли и не приводит к развитию стойкого неврологического дефицита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никифоров А.С., Коновалов А.Н., Гусев Е.И. / Клиническая неврология. – М.: Медицина, 2004. – Т. III, ч. 2. – С. 81–90.
2. Greenberg M.S. / Handbook of neurosurgery. – Thieme, 2006. – P. 470–511.
3. Tonn J.C., Westphal M., Rutka J.T., Grossman S.A. / Neuro-Oncology of CNS tumors. – Springer, 2006. – Ch. 53. – P. 620–630.
4. Горяйнов С.А., Потапов А.А., Гольбин Д.А. и др. Флуоресцентная диагностика и лазерная биоспектроскопия как один из методов мультимодальной нейронавигации в нейрохирургии // Вопросы нейрохирургии. – 2012. – № 6. – С. 57–65.

INTRAOPERATIVE FLUORESCENCE DIAGNOSIS FOR REMOVAL OF CERVICAL AND THORACIC EPENDYMOMA

Zaytcev AM¹, Kurzhupov MI¹, Kushel' JuV², Filonenko EV¹, Ivanova-Radkevich VI³

¹ P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow

² N.N. Burdenko Research Institute of Neurosurgery, Moscow

³ Peoples Friendship University of Russia, Moscow

The case of successful intraoperative fluorescence diagnosis (IOFD) for removal of cervical and thoracic ependymoma performed in P.A. Herzen MCRI is reported. For FD we used the Alasens (Research Institute of Organic Semi-Finished Products and Dyes). The drug solution was given per os at a dose of 20 mg/kg body weight 2.5 h before surgery. IOFD was performed 3 h after intake of photosensitizer. For fluorescence diagnosis there was average in-tensity of fluorescence in tumor and no fluorescence in normal spinal tissues. The extent of surgery was determined according to results of IOFD. The control MRI of cervical and superior thoracic spine with contrast enhancement and follow-up confirmed definitive removal of tumor and showed no postoperative complications.

Keywords: ependymoma, alasens, intraoperative fluorescence diagnosis.

Контакты: М.И. Куржупов, E-mail: mkurzhupov@nsi.ru

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ УСПЕШНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНОГО С ЭРИТРОПЛАЗИЕЙ КЕЙРА

Е.В. Филоненко, А.Д. Каприн, Б.Я. Алексеев, А.Н. Урлова

ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена»
МЗ РФ, г. Москва

Резюме

В статье описано клиническое наблюдение успешной фотодинамической терапии больного с эритроплазией Кейра. Лечение проведено под спинальной анестезией, после местной аппликации препарата аласенс-гель. Экспозиция препарата составила 5 ч, плотность энергии лазерного облучения – 150 Дж/см². Лечение пациент перенес удовлетворительно. При контрольном осмотре через 3 мес. после лечения зарегистрирована полная регрессия опухоли. Больной наблюдается без рецидива 1,5 года. Таким образом, метод фотодинамической терапии является эффективным в органосохраняющем лечении больных раком полового члена.

Ключевые слова: эритроплазия Кейра, carcinoma in situ, фотодинамическая терапия, аласенс.

Рак полового члена является относительно редкой патологией. В 2010 г. в нашей стране было зарегистрировано всего 499 новых случаев рака полового члена [1]. Средний возраст пациентов составляет 62,3 года. Рак полового члена подразделяют на поверхностные формы (эритроплазия Кейра, болезнь Боуэна), которые исходят из плоского эпителия и ограничены им и не проникают в подлежащую дерму, и инвазивные опухоли (все категории Т). Инвазивные формы представлены плоскоклеточным раком, в том числе его высокодифференцированным вариантом – веррукозным, часто описываемым в литературе, как опухоль Бушке-Левенштейна. Необходимо отметить, что от 15 до 50% пациентов обращается за медицинской помощью через год и более от начала заболевания, когда выполнить органосохраняющее лечение невозможно. Причиной этого является страх пациента перед высокой вероятностью ампутации полового члена [2, 3].

Долгое время ведущим методом лечения рака полового члена был хирургический, в виде пенэктомии, которая является калечащей операцией и сильным психо-травмирующим фактором для многих пациентов, в ряде случаев приводящая к депрессии. Учитывая это стали изучаться варианты органосохраняющего лечения, позволяющие улучшить функциональные результаты, не снижая выживаемости. Выбор оптимального объема хирургического вмешательства по данным ряда авторов зависит от длины органа, расположения опухоли в органе и ее размеров, глубины инвазии и степени дифференцировки. Кроме хирургического лечения применяют криотерапию и местную химиотерапию. При поражении крайней плоти обычно выполняют обрезание, в случае локализации в области головки

полового члена и/или венечной борозды может быть выполнена криодеструкция жидким азотом. Также применяют аппликации с 5% 5-фторурациловой мазью, 30% проспидиновой мазью. При адекватном удалении первичного очага прогноз больше зависит от биологических характеристик опухоли (глубины инвазии, степени дифференцировки), чем от способа ее удаления [4].

Одной из поверхностных форм рака полового члена является эритроплазия Кейра – carcinoma in situ, характеризующаяся появлением на головке или внутреннем листке крайней плоти медленно растущей блестящей ярко-красной бляшки с четкими границами [5]. Эритроплазия Кейра – это довольно редкое заболевание, которым страдают не только лица пожилого возраста, чаще встречается у мужчин с неудаленной крайней плотью полового члена. Эритроплазия Кейра имеет более выраженную тенденцию к развитию плоскоклеточного рака кожи, чем болезнь Боуэна. По данным авторов, в 20–40% случаев эритроплазия Кейра трансформируется в инвазивный плоскоклеточный рак с метастазами в регионарные лимфатические узлы [5]. Клинически эритроплазия Кейра это бессимптомная, мягкая, слегка инфильтрированная, четко очерченная, красная блестящая бляшка неправильной формы с бархатистой или блестящей поверхностью, встречающаяся на слизистых оболочках, особенно часто на головке полового члена, реже – в венечной борозде или внутреннем листке крайней плоти. Поверхность очага часто имеет лаковый вид. Позже на этом фоне могут возникать корки и эрозии.

Приводим клиническое наблюдение применения метода фотодинамической терапии у больного с carcinoma in situ головки полового члена.

Больной Г., 68 лет. 30.07.12 госпитализирован в Центр Лазерной и Фотодинамической диагностики и терапии опухолей МНИОИ им. П.А.Герцена (Центр ЛФДТО) с клиническим диагнозом: carcinoma in situ (эритроплазия Кейра) головки и крайней плоти полового члена. Из анамнеза известно, что пациент считает себя больным с января 2012 г. когда впервые отметил появление кровянистых выделений на коже головки полового члена. Далее стал отмечать наличие гиперемии на коже крайней плоти и головки полового члена, регулярные эпизоды появления кровянистых выделений. В апреле 2012 г. обратился к дерматологу, был поставлен диагноз грибкового поражения, назначен курс консервативного лечения мазями (цитологического исследования не проводилось). В июне 2012 г. в связи с неэффективностью проводимого лечения повторно обратился к дерматологу в Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, рекомендована консультация онколога. Самостоятельно обратился в МНИОИ им. П.А. Герцена, где после цитологического исследования поставлен диагноз эритроплазия Кейра. Пациент обсужден на консилиуме, рекомендовано проведение фотодинамической терапии, для проведения лечения госпитализирован в Центр ЛФДТО МНИОИ им. П.А.Герцена.

При поступлении общее состояние больного удовлетворительное. Жалобы на наличие участков гиперемии кожи головки и крайней плоти полового члена, эпизоды появления кровянистых выделений. Кожные покровы и видимые слизистые (за исключением участков поражения) физиологической окраски и влажности, тургор сохранен. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Гемодинамических и дыхательных нарушений нет. Живот мягкий, безболезненный. Физиологические отправления в норме. Проведена ПЦР диагностика папилломавирусной инфекции: ДНК ВПЧ

(6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59, 68 типы) не обнаружено.

Местный статус: кожа в области крайней плоти полового члена циркулярно гиперемирована, утолщена, ширина описанных изменений от 0,8 до 1,5 см. На головке полового члена аналогичное образование до 1,0 см в диаметре (рис. 1).

Больному проведена флуоресцентная диагностика с препаратом аласенс: зарегистрирована яркая красная флуоресценция опухолевых очагов, уточнены их границы, дополнительных очагов флуоресценции не выявлено. При УЗИ органов малого таза и регионарных зон данных за регионарное метастазирование не получено.

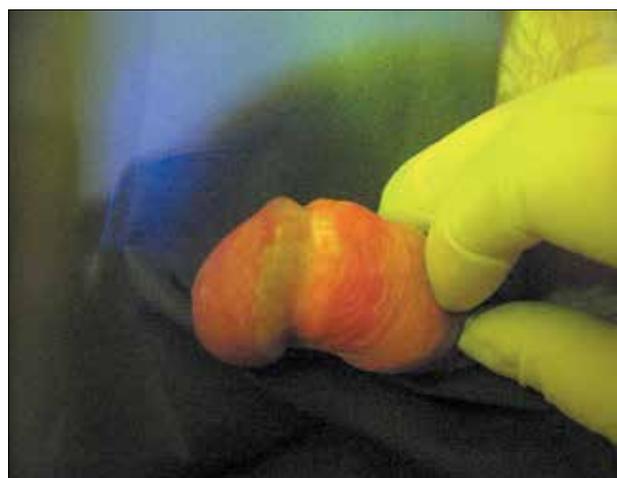
Курс фотодинамической терапии проведен 02.08.2012 г. После 5-ти часовой экспозиции геля аласенс на зону головки и крайней плоти, под спинальной анестезией проведена фотодинамическая терапия с использованием макролинзы. Учитывая конфигурацию опухолевого поражения применялась методика позиционного облучения, плотность энергии лазерного излучения для каждой позиции составляла 150 Дж/см². Сеанс лечения больной перенес удовлетворительно.

При контрольном осмотре через 3 мес. зарегистрирована полная регрессия опухоли. Кожа в области крайней плоти и головки полового члена гладкая, чистая без признаков опухолевой инфильтрации. Срок наблюдения составил 1,5 года, данных за рецидив или прогрессирование заболевания не получено (рис. 2).

Таким образом, фотодинамическая терапия является эффективным органосохраняющим методом лечения больных поверхностным раком полового члена, позволяющим достигать полного клинического эффекта даже в случае обширного по площади опухолевого поражения.



а



б

Рис. 1. Эритроплазия Кейра головки и крайней плоти полового члена: а – осмотр в белом свете; б – осмотр в режиме флуоресценции



а



б

Рис. 2. Полная регрессия опухоли: а - контрольный осмотр через 3 мес. после фотодинамической терапии; б - контрольный осмотр через 15 мес. после фотодинамической терапии

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В.Петровой. - М.:ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздравсоцразвития России. - 2012. - С. 99.
2. Micali G., Nasca M.R. Penile cancer// J Am Acad Derm. - 2006. - 54. - P. 369-391.
3. Замятин О.А., Каприн А.Д., Подшивалов А.В. и соавт. Опыт лечения рака полового члена // Андрология и генитальная хирургия. - 2001. - №1. - С. 96.
4. Emerson R.E. et al. Predicting cancer progression in patients with penile squamous cell carcinoma: the importance of depth of invasion and vascular invasion// Scand J Urol Neph. - 2001. - 205. P. 189-193.
5. Ламоткин И.А. Опухоли и опухолеподобные поражения кожи: Атлас / И.А.Ламоткин. - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. - 2006. - С.60-61.

THE CASE OF SUCCESSFUL PHOTODYNAMIC THERAPY IN PATIENT WITH ERYTHROPLASIA OF QUEYRAT

Filonenko EV, Kaprin AD, Alekseev BYa, Urlova AN
P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow

The case of successful photodynamic therapy in patient with erythroplasia of Queyrat is re-reported. The treatment was performed under spinal anesthesia after local application of alasens gel. The exposition of the drug was 5 h with light dose - 150 J/cm². There were no complications in the post-treatment period. The complete tumor regression was noticed 3 months after treatment. The follow-up period accounted for 1.5 years. Thus, photodynamic therapy is efficient in terms of organ-preserving treatment in patients with penile cancer.

Keywords: erythroplasia of Queyrat, carcinoma in situ, photodynamic therapy, alasens.

Контакты: Е.В. Филоненко, Elena.filonenko@list.ru

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА У БОЛЬНЫХ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.М. Зайцев, М.И. Куржупов, Е.В. Филоненко

ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» МЗ РФ, г. Москва

Резюме

Технология интраоперационной флюоресцентной диагностики с препаратом аласенс метастатического поражения головного мозга включает визуальную оценку флюоресценции аласенс-индуцированного протопорфирина IX и локальную флюоресцентную спектроскопию. Технология позволяет снизить число диагностических ошибок, достоверно оценить местную распространенность внутримозговых метастазов и повысить радикальность оперативного вмешательства. При применении данной технологии чувствительность флюоресцентной диагностики составляет 96,7%, специфичность 100%. Технология предназначена для врачей-нейрохирургов, занимающихся проблемами нейроонкологии.

Ключевые слова: флюоресцентная диагностика, аласенс, протопорфирин IX.

Введение

В Российской Федерации нет четкой статистики по выявляемости внутримозговых метастазов у онкологических больных, но считается, что в среднем ежегодно выявляется 14–16 новых случаев на 100000 населения [1]. В США по данным разных авторов выявляется от 98000 до 170000 новых случаев метастатического поражения головного мозга в год [2, 3, 4]. Частота встречаемости метастазов в головном мозге, в зависимости от первичного очага, по данным авторов, различная, однако во всех работах на первом месте стоит рак лёгкого, далее по убывающей – рак молочной железы, меланома, рак почки, колоректальный рак и опухоли другой локализации [5, 6]. В мужской популяции на первом месте стоят метастазы рака легкого, а в женской – рака молочной железы [7]. По данным ряда авторов, частота встречаемости одиночных и множественных метастазов колеблется в пределах 49–53 и 47–51%, соответственно [1, 8, 9]. У больных с меланомой отмечается тенденция к образованию множественных внутримозговых метастазов [10], а у больных раком почки – одиночных [11, 12]. Новые данные показывают, что заболеваемость внутримозговыми метастазами увеличивается в результате более длительного выживания больных раком по причине повышения качества лечения, лучшей осведомленности о заболевании и более точной диагностики [13].

По данным аутопсий большинство метастазов имеют сферическую форму, хорошо отграничены от окружающей мозговой ткани, однако на микроскопическом уровне инфильтрируют мозговое вещество [14]. По гистологической структуре внутримозговые метастазы соответствуют первичному очагу. Метастазы наиболее часто локализуются на границе между белым и серым веществом мозга, где опухолевый

эмбол оседает в церебральных сосудах. От 80 до 85% внутримозговых метастазов локализуются в больших полушариях, 10–15% – в мозжечке и 3–5% – в стволе мозга [7, 8, 15].

До 2/3 всех метастатических поражений головного мозга проявляются при жизни онкологических больных. При этом у 89–93% из них выявленные интракраниальные образования являются внутримозговыми метастазами [13].

Симптоматика в основном связана с развитием сдавления вещества головного мозга [4, 11].

В настоящее время медиана выживаемости у пациентов с внутримозговыми метастазами без лечения составляет в среднем 1 мес., при добавлении кортикостероидов – 2 мес., после облучения всего головного мозга (ОВГМ) – 2–7 мес., при использовании стереотаксической радиохирургии – 5–14 мес., при использовании хирургии или радиохирургии в сочетании с ОВГМ – 6–15 мес. [16].

Продолженный рост внутримозговых метастазов развивается у 46–70% больных, подвергнутых хирургическому удалению метастаза, у 69%, перенесших стереотаксическую радиохирургию (СРХ), у 52%, пролеченных ОВГМ, у 28–71%, получивших СРХ в сочетании с ОВГМ, у 20–58%, получивших хирургическое лечение в сочетании с ОВГМ [5, 16].

В настоящее время для диагностики внутримозговых метастазов применяют компьютерную томографию и магнитно-резонансную томографию головного мозга с внутривенным контрастным усилением, однако эти методы проводятся на дооперационном этапе и дают представление о наличии, локализации и количестве метастазов, но не дают четкой информации об истинных границах распространения метастатического поражения, что крайне важно для радикального оперативного вмешательства.

Первые публикации по использованию метода флуоресцентной диагностики у онкологических больных относятся ко второй половине прошлого столетия. Метод флуоресцентной диагностики основан на способности ряда лекарственных препаратов (фотосенсибилизаторов) избирательно накапливаться в опухолевой ткани и при взаимодействии с излучением света определенной длины волны инициировать флуоресценцию при испускании кванта света в результате перехода молекулы фотосенсибилизатора с одного на другой энергетический уровень. В настоящее время наиболее перспективным препаратом для флуоресцентной диагностики является 5-аминолевулиновая кислота (5-АЛК). В России препарат, синтезированный на основе 5-АЛК имеет торговое название аласенс. 5-АЛК является предшественником гема, который при избыточном поступлении в организм пациента вызывает синтез и накопление эндогенного флуорохрома – протопорфирина IX (ПPIX) в опухолевых клетках. Эффективность данного метода определяется высокой флуоресцентной контрастностью опухоль/норма, равной в среднем 12/1, что позволяет выявлять участки повышенного накопления ПPIX.

В последние годы в отечественной и зарубежной литературе появился ряд работ по флуоресцентной диагностике опухолей головного мозга [17, 18, 19].

В 2006 г. W. Stummer и соавт. [17] провели сравнительный анализ результатов хирургического лечения с использованием интраоперационной флуоресцентной навигации с 5-аминолевулиновой кислотой у 161 пациента и без использования флуоресцентной навигации у 161 пациента, возраст пациентов колебался от 23 до 73 лет. В послеоперационном периоде было отмечено увеличение степени радикальности удаления опухоли в группе с флуоресцентной навигацией, по сравнению с группой без флуоресцентной навигации, а также увеличение числа пациентов с безрецидивным 6-месячным периодом.

В 2008 г. был опубликован первый опыт НИИ нейрохирургии по применению у 17 больных флуоресцентной навигации с препаратом аласенс при хирургическом лечении опухолей головного мозга, в том числе у 4 больных были метастатические опухоли [18]. В работе было показано, что злокачественные опухоли накапливают эндогенный ПPIX и флуоресцируют, исключая метастазы пигментной меланомы. Всем пациентам препарат давали внутрь в дозе 1,5 г, что, по мнению авторов, соответствовало дозе 20 мг/кг.

В 2010 г. М.С. Малкаров и соавт. [19] сообщили о применении флуоресцентной диагностики с использованием аласенса в совокупности с интраоперационной ультразвуковой диагностикой внутримозговых опухолей головного мозга, в том числе метастатических, с хорошим эффектом флуоресценции злокачественных внутримозговых опухолей.

В МНИОИ им. П.А.Герцена разработана медицинская технология интраоперационной флуоресцент-

ной диагностики с препаратом аласенс опухолей головного мозга.

Показания к использованию новой медицинской технологии

Интраоперационная диагностика местной распространенности опухолевого поражения головного мозга

Противопоказания к использованию новой медицинской технологии

1. Индивидуальная непереносимость препарата аласенс.
2. Тяжелые соматические заболевания, не поддающиеся коррекции.

Материально-техническое обеспечение

1. Аласенс® (аминолевулиновая кислота), ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» (Россия), порошок лиофилизированный, рег. № ЛП – 001848 от 21.09.2012 г.
2. Оборудование эндоскопическое с флуоресцентным блоком и принадлежностями, например, «Karl Storz GmbH & Co. KG» (ФРГ), рег. № 2006/1364.
3. Инструменты эндоскопические с принадлежностями, например, «Karl Storz GmbH & Co. KG» (ФРГ), рег. № 2006/1142.
4. Микроскоп операционный с флуоресцентным блоком, например «Carl Zeiss Surgical GmbH» (ФРГ), рег. № 2003/509.
5. Установка лазерная электронно-спектральная для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии ЛЭСА-01-«БИОСПЕК», производства ЗАО «БИОСПЕК» (Россия), регистрационное удостоверение ФСР 2008/03784 от 12.12.2008.
6. Видеофлуоресцентный комплекс для операционных микроскопов, включающий установку лазерную ЛФТ-630/675-01-«БИОСПЕК», производства ЗАО «БИОСПЕК» (Россия), регистрационное удостоверение ФСР 2009/04649 от 26.03.2009 и устройство светодиодное видеофлуоресцентное УФФ-630/675-01-«БИОСПЕК», производства ЗАО «БИОСПЕК» (Россия), регистрационное удостоверение ФСР 2009/04648 от 26.03.2009.

Описание медицинской технологии

Для флуоресцентной диагностики используют препарат аласенс. Аласенс разработан на основе синтезированной по оригинальной технологии субстанции 5-аминолевулиновой кислоты. Избыточное введение аласенса приводит к повышенному накоплению в опухоли протопорфирина IX – эндогенного фотосенсибилизатора.

Препарат аласенс в дозе 20 мг/кг массы тела больного, растворенный непосредственно перед применением в 100 мл негазированной питьевой воды,

принимают внутрь за 2–2,5 ч до начала эндотрахеального наркоза.

В течение 2–2,5 ч после введения аласенса пациент находится в затемненной палате под наблюдением медицинского персонала. Далее больной подается в операционную, в которой также соблюдается светоохранительный режим (отсутствие солнечного света).

Через 2–2,5 ч после приема внутрь аласенса проводится эндотрахеальный наркоз. Под наркозом производят трепанацию костей черепа и формируют доступ к опухоли мозга.

Интраоперационную флуоресцентную диагностику проводят с помощью эндоскопической техники фирмы «Карл Шторц», или операционного микроскопа фирмы «Карл Цейсс», или видеофлуоресцентного комплекса ЗАО «БИОСПЕК» которые включают ламповый или лазерный источник возбуждения флуоресценции. Осветительная система оснащена специальным фильтром, позволяющим пропускать либо синий диапазон спектра света (380–460 нм) при использовании техники фирмы «Карл Шторц» или «Карл Цейсс», либо красный (620–640 нм) при работе с видеофлуоресцентным комплексом ЗАО «БИОСПЕК». Данные диапазоны соответствуют пикам возбуждения флуоресценции протопорфирина IX. Система фильтров позволяет наблюдать изображение как в белом свете, так и регистрировать флуоресценцию аласенс-индуцированного протопорфирина IX во флуоресцентном режиме. При этом, при использовании техники фирмы «Карл Шторц» или «Карл Цейсс» данные два режима работают последовательно, видеофлуоресцентный комплекс ЗАО «БИОСПЕК» позволяет регистрировать изображение в белом свете и во флуоресцентном режиме одновременно.

Вначале выполняют осмотр в белом свете с регистрацией и измерением видимых опухолевых очагов,

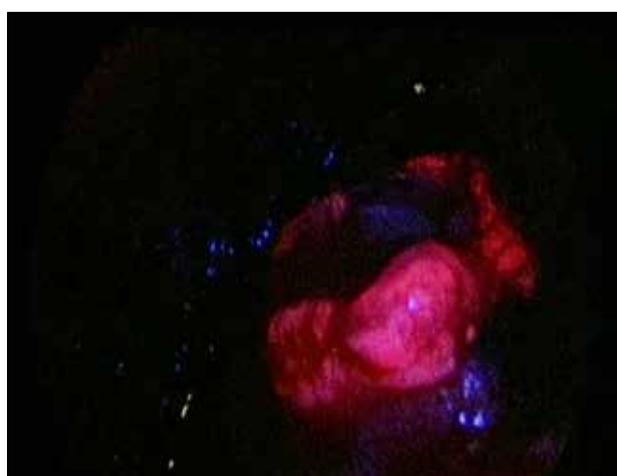
в случае если они дифференцируются от нормальной ткани мозга. Затем в режиме флуоресценции оценивают наличие или отсутствие флуоресценции опухолевой и нормальной ткани головного мозга (рис. 1). К моменту проведения данного этапа флуоресцентной диагностики экспозиция препарата аласенс составляет 3,0–3,5 ч.

После этого производят удаление опухоли в белом свете до визуально неизменного вещества мозга и гемостаз биполярной коагуляцией. Затем проводят осмотр ложа удаленной опухоли во флуоресцентном режиме. При выявлении очагов флуоресценции на стенках послеоперационной полости (рис. 2.) их удаляют.

При необходимости выполняют локальную флуоресцентную спектроскопию, которая позволяет проводить доморфологическую дифференциальную диагностику между остаточной тканью опухоли и ложноположительной флуоресценцией очагов перифокального воспаления. При осуществлении визуального контроля за флуоресцентным изображением с использованием техники фирмы «Карл Шторц», или фирмы «Карл Цейсс», для проведения локальной флуоресцентной спектроскопии необходимо наличие дополнительного оборудования – установки лазерной электронно-спектральной для регистрации спектров флуоресценции и количественной оценки уровня накопления фотосенсибилизатора в тканях. При этом регистрацию спектров флуоресценции осуществляют при мягком контакте рабочей части диагностического катетера с исследуемой тканью, устанавливая катетер перпендикулярно по отношению к исследуемой поверхности. Видеофлуоресцентный комплекс ЗАО «БИОСПЕК» позволяет регистрировать одновременно и флуоресцентное изображение и спектральные характеристики, демонстрирующие уровень накопления фотосенсибилизатора в различных тканях. В связи с этим, применение дополнитель-

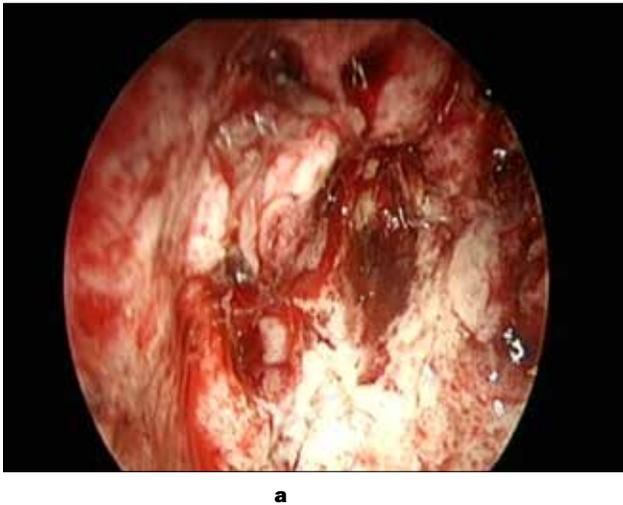


а

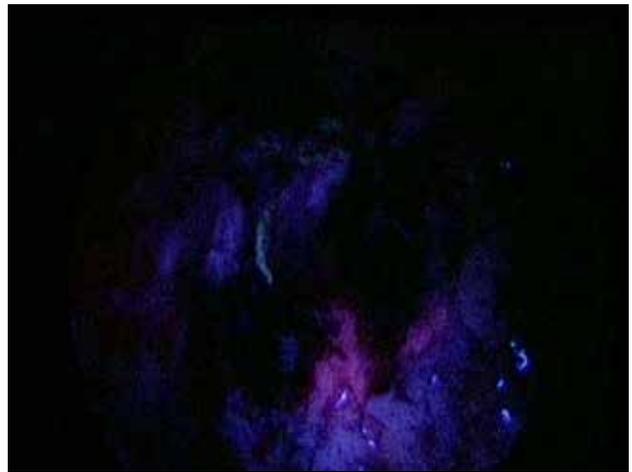


б

Рис. 1. Метастатическая опухоль головного мозга: а – головной мозг и опухоль при осмотре в белом свете; б – флуоресценция опухоли, осмотр в режиме флуоресценции (красный цвет – опухоль, темно-синий – мозговая ткань)



а



б

Рис. 2. Ложе после удаления опухоли головного мозга: а – осмотр в белом свете; б – флуоресценция остатков опухоли на стенках послеоперационной полости, осмотр в режиме флуоресценции (красный цвет – опухоль; темно-синий – мозговая ткань)

ного спектроскопического оборудования при использовании системы ЗАО «БИОСПЕК» не требуется.

Затем проводят тщательный гемостаз с использованием биполярной коагуляции и гемостатической марли. Твердую мозговую оболочку ушивают герметично, костный лоскут устанавливают на место, послойно ушивают мягкие ткани.

Разработанная нами технология представлена в виде алгоритма интраоперационной флуоресцентной диагностики на рис. 3.

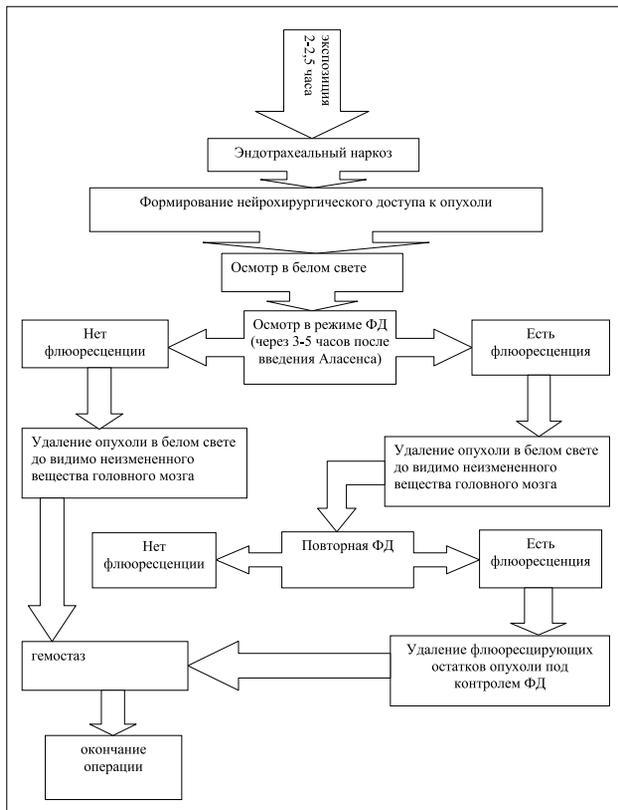


Рис. 3. Алгоритм проведения интраоперационной флуоресцентной диагностики у нейроонкологических больных

Клинический пример

Больная С., 36 лет.

В декабре 2007 г. по поводу рака левой молочной железы в ГКБ №62 выполнена мастэктомия по Пэйти (результат морфологического исследования: инфильтративный протоковый рак, HER-2/neu статус 3+) и проведено 8 курсов химиотерапии. В октябре 2009 г. появились слабость, головная боль, головокружение, рвота. Госпитализирована в ГКБ №31, где при магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга с контрастным усилением (15.10.2009 г.) выявлен метастаз в правой гемисфере мозжечка кистозно-солидной структуры 46x39x36 мм, с выраженным перифокальным отеком, масс-эффектом, компрессией 4-го желудочка, охватывающей цистерны, ствола головного мозга (рис. 4).

27.10.2009 г. поступила в МНИОИ им. П.А.Герцена для дообследования и лечения. При комплексном обследовании выявлены метастазы в левом легком, лимфатических узлах средостения и правой надключичной области.

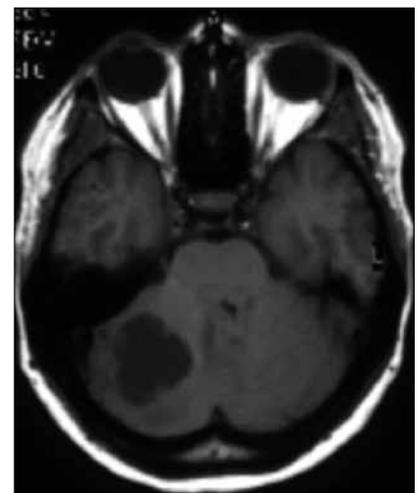


Рис. 4. Магнитно-резонансная томограмма головного мозга в T1 режиме с контрастным усилением до операции

10 ноября 2009 г. проведена операция – удаление метастатической опухоли правой половины задней черепной ямки с интраоперационной флуоресцентной диагностикой (рис. 5).

Контрольная МРТ головного мозга с контрастным усилением (11.11.09 г.): опухоль в правой гемисфере мозжечка удалена, данных за ишемические и геморрагические осложнения нет, выявлены два новых округлых образования без выраженного перифокального отека, интенсивно накапливающих контрастное вещество, – в левом полушарии мозжечка диаметром 4 мм, в правой височно-затылочной области диаметром 9 мм (рис. 6).

Послеоперационный период протекал гладко, послеоперационная рана зажила первичным натяжением. Гистологическое исследование: метастаз инвазивного протокового рака с обширными очагами некроза. 18.11.2009 больная была выписана в удовлетворительном состоянии, направлена в отделение радиологии НИИ нейрохирургии, где

01.12.2009 проведено радиохирургическое лечение внутримозговых метастазов.

Далее пациентка лечилась у онколога по месту жительства, наблюдалась амбулаторно в отделении радиологии НИИ нейрохирургии и в МНИОИ им. П.А.Герцена. В январе – феврале 2010 г. получила два курса ХТ (ластет+СНУ); в феврале – июне 2010 г. – 6 курсов ХТ (паклитаксел + кселода).

В сентябре 2010 г. при МРТ головного мозга с контрастным усилением (07.09.2010) отмечено прогрессирование заболевания – продолженный рост множественных метастазов в головном мозге, подвергнутых лучевой терапии; в зоне хирургического лечения с интраоперационной ФД рецидива нет (рис. 7).

В октябре – ноябре 2010 г. больной проводили монокимиотерпию темодалом (два курса, в дозе 200 мг/м², 5/28 дней).

При комплексном обследовании больной в конце ноября 2010 г. – выявлено прогрессирование забо-



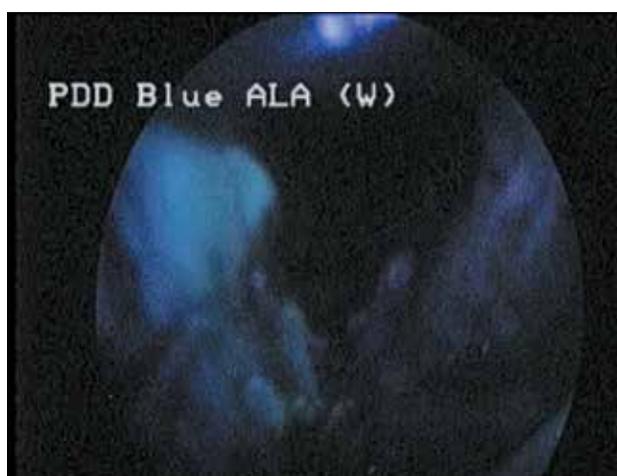
а



б



в



г

Рис. 5. Интраоперационная флуоресцентная диагностика: а – ложе удаленной опухоли до проведения ФД, б – осмотр ложа удаленной опухоли во флуоресцентном режиме (красным флуоресцируют остатки опухолевой ткани), в – ложе удаленной опухоли после удаления флуоресцирующей ткани, осмотр в белом свете, г – повторный осмотр в режиме ФД, очагов красной флуоресценции не выявлено

Интраоперационная флюоресцентная диагностика у больных с метастатическим поражением головного мозга

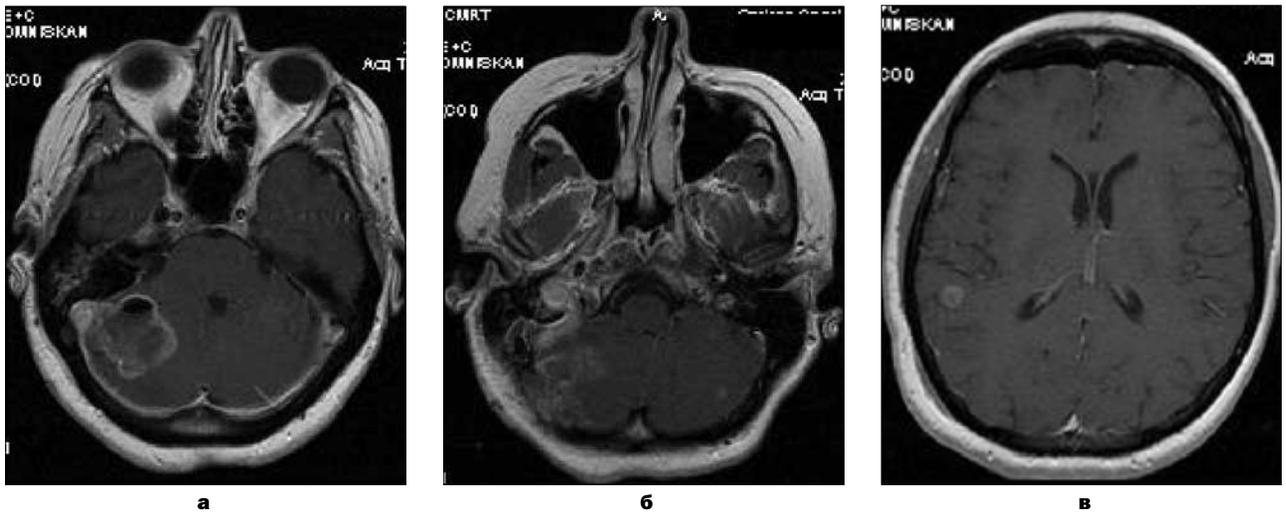


Рис. 6. Магнитно-резонансные томограммы головного мозга в T1 режиме с контрастным усилением после операции: а – после удаления метастаза в правой гемисфере мозжечка, б – новый метастаз в левой гемисфере мозжечка, в – новый метастаз в правой височно-затылочной области

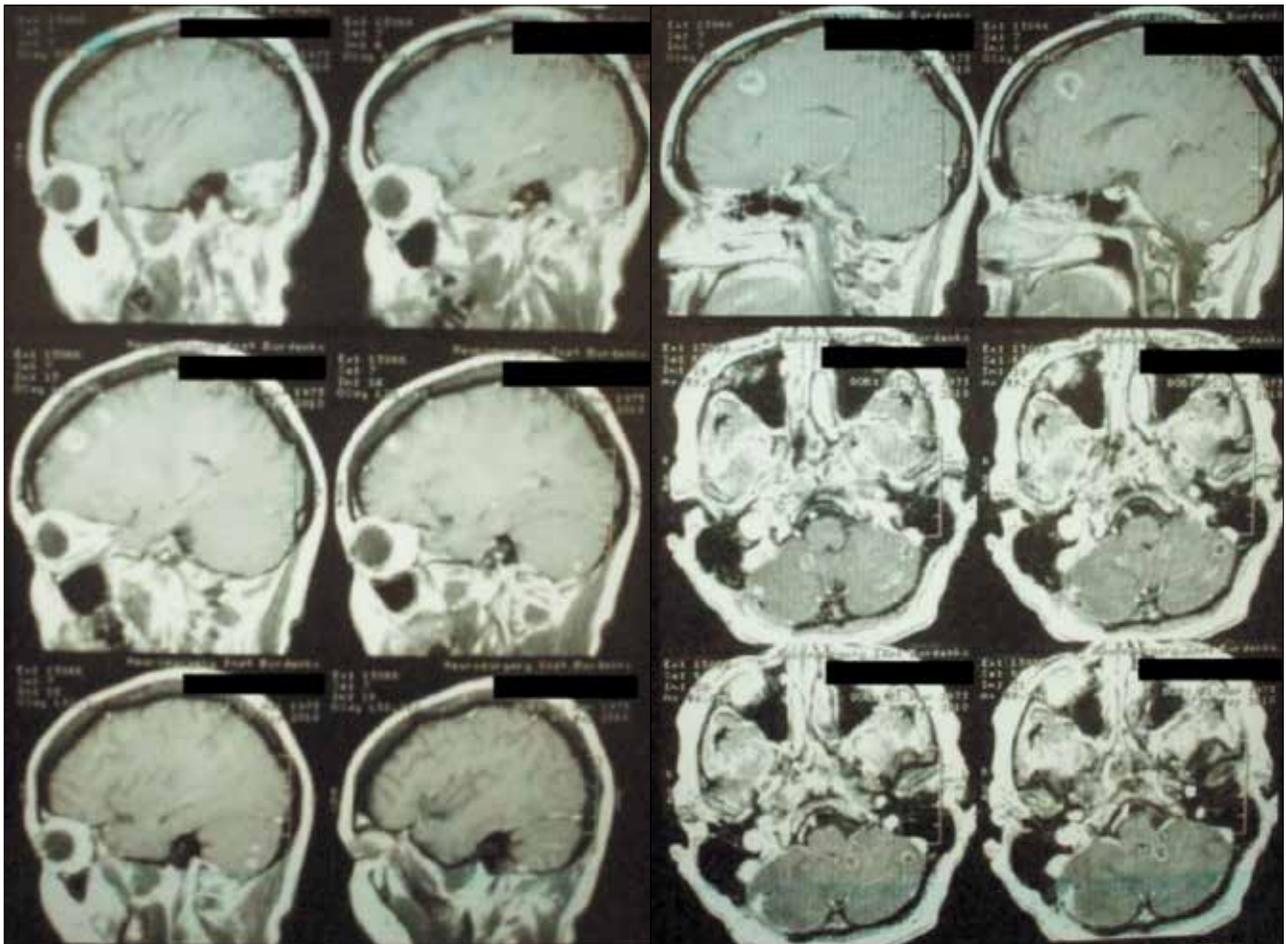


Рис. 7. Магнитно-резонансные томограммы головного мозга в T1 режим с контрастным усилением

левания: метастазы в костях, легких, лимфатических узлах, экссудативный плеврит. При МРТ головного мозга с контрастным усилением (27.11.2010) выявлены новые метастатические очаги, продолженный

рост ранее облученных метастазов и без рецидива в зоне операции (рис. 8).

Больной рекомендовано продолжение монохимиотерапии темодалом в прежнем режиме.

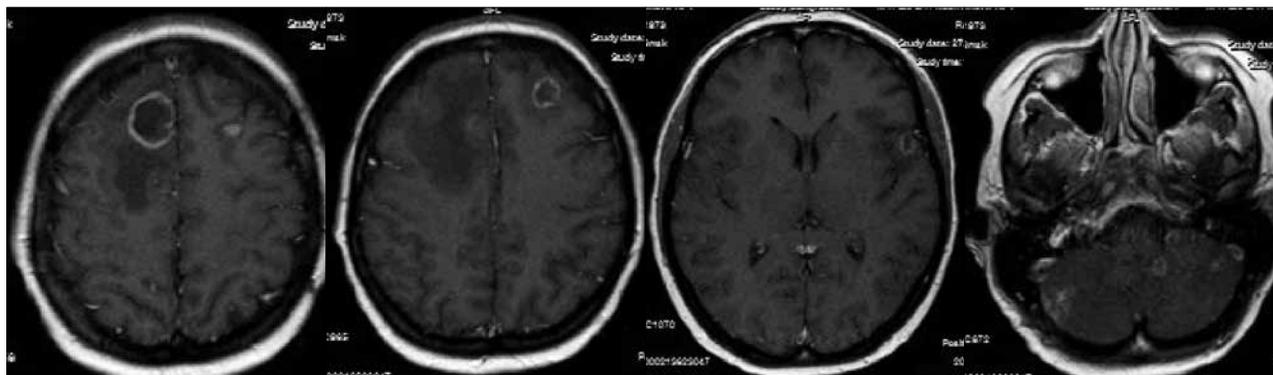


Рис. 8. МР-томограммы головного мозга в T1 режиме с контрастным усилением

В марте 2011 г. больная умерла от прогрессирующего онкологического заболевания.

Данный клинический пример показывает эффективность хирургического удаления внутримозговых метастазов с включением интраоперационной флуоресцентной диагностики. Больная прожила 17 мес. с момента выявления метастатического поражения головного мозга и в течение 16 мес. после операции не отмечено рецидива в зоне удаленного метастаза. Смерть наступила от прогрессирования основного заболевания, а не от продолженного роста внутримозгового метастаза, подвергнутого хирургическому удалению с интраоперационной флуоресцентной диагностикой.

Возможные осложнения и способы их устранения

1. Эритема кожи, возникающая в течение 24 ч после приема аласенса при несоблюдении светозащитного режима. Проходит самостоятельно, специального лечения не требуется.
2. Послеоперационный отек вокруг ложа удаленной опухоли. Осуществляют противоотечную терапию.

Эффективность использования новой медицинской технологии

В МНИОИ им. П.А. Герцена с 2007 по 2010 гг оперированы 74 больных с метастатическим поражением головного мозга. Перед хирургическим вмешательством проводили комплексное обследование больных, включающее клиническое, рентгенологическое, КТ и МРТ исследования, на основе которого диагностировали метастатическое поражение головного мозга, устанавливали первичный очаг и наличие экстракраниальных метастазов.

Всем больным выполнена МРТ головного мозга с контрастным усилением и у всех диагностировано метастатическое поражение головного мозга.

У 34 больных (основная группа) было проведено хирургическое удаление метастазов с интраоперационной флуоресцентной диагностикой с препаратом аласенс, у 40 больных (контрольная группа) без интраоперационной флуоресцентной диагностики.

В основной группе было 15 (44,1%) мужчин и 19 (55,9%) женщин, возраст больных варьировал от 36 до 68 лет, средний возраст составил – 53 года. В контрольной группе было 24 (60%) мужчин и 16 (40%) женщин, возраст больных варьировал от 24 до 79 лет. Средний возраст составил – 56,7 года. Для оценки сопоставимости групп по полу был использован точный критерий Фишера, где выявлено $p=0,28$ (группы сопоставимы); по возрасту группы были сопоставлены методом Манн-Уитни, где выявлено $p=0,07$.

В основной группе в больших полушариях головного мозга метастазы выявлены у 26 (76%) больных, в мозжечке – у 8 (24%); в контрольной группе – у 27 (70%) и 13 (30%) соответственно

В основной группе размер метастаза не превышал 30 мм у 10 (29,4%) больных, был более 30 мм – у 24 (70,6%); в контрольной группе – у 9 (22,5%) и 31 (77,5%) соответственно, $p=0,22$ (группы сопоставимы).

По данным послеоперационного гистологического исследования в основной группе метастазы немелкоклеточного рака легкого выявлены у 14 больных, рака молочной железы – у 7, почечноклеточного светлоклеточного рака – у 5, колоректального рака, аденокарциномы яичника и меланомы – по 2 больных, метастазы других опухолей экстракраниальной локализации – у 2. В контрольной группе метастазы немелкоклеточного рака легкого выявлены у 12 больных, рака молочной железы – у 12, метастазы меланомы – у 7, колоректального рака – у 3, метастазы без выявленного первичного очага – у 2, аденокарциномы яичника – у 1, почечноклеточного светлоклеточного рака – у 1, метастазы других опухолей экстракраниальной локализации – у 2.

В среднем интенсивность флуоресценции в опухоли составила: при немелкоклеточном раке легкого – 17.4 ± 7.4 усл. ед., при раке молочной железы – 11.2 ± 3.9 усл. ед., при нейроэндокринном раке – 9.7 ± 4.1 , при раке яичников – 14.1 ± 3.0 , при почечно-клеточном светлоклеточном раке – 21.1 ± 4.9 , при пигментной меланоме – 0,04.

Флуоресцентная контрастность опухоль/нормальная ткань мозга в среднем составила: при НМКРЛ – 27,9, при раке молочной железы – 33,9, при нейро-

эндокринном раке – 7,5, при раке яичников – 58,8, при почечно-клеточном светлоклеточном раке – 13,5.

Интенсивная флуоресценция всех опухолей зарегистрирована вне зависимости от морфологической структуры внутримозговых метастазов, исключая метастаз пигментной меланомы, при котором флуоресценция ППІХ в опухоли визуально не определялась.

С учетом данных флуоресцентной диагностики и планового гистологического исследования чувстви-

тельность флуоресцентной диагностики внутримозговых метастазов с препаратом аласенс составила 96,7%, специфичность – 100%.

По данным послеоперационной диагностики (МРТ/КТ головного мозга с контрастным усилением) радикального удаления внутримозговых метастазов удалось достичь в 100% случаев в группе, где была применена флуоресцентная диагностика, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 79,55%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лошаков В.А. // Клиническая неврология / Под ред. А.Н. Коновалова. – М., 2005. – Т. 3, ч. 1. – С. 402–408.
2. Larson D., Rubenstein J., McDermott M. // Cancer Principles and Practice of Oncology /Eds V. T. Jr. De Vita et al. – Philadelphia, 2004. – P. 2323–2398.
3. Pollock B.E., Brown P.D., Foote R.L. et al. // J. Neurooncol. – 2003. – Vol.61 – P. 73–80.
4. Posner J.B. // Rev. Neurol. (Paris). – 1992. – Vol. 148. – P. 477–487.
5. Lang F.F., Sawaya R. Metastatic Brain Tumors; Neuro-oncology. – 2-nd Ed. – 2008. – P. 367–369.
6. Lang FF, Sawaya R. // Neurosurg. Clin. N. Am. – 1996. – Vol. 7. – P. 459–484.
7. Hojo S., Hirano A. // Metastatic Tumors of the Nervous System / Eds K. takura et. al. – Tokyo, 1982. – P. 5–111.
8. Delattre J.Y., Krol G., Thaler H.T., Posner J.B. // Arch. Neurol. – 1988. – Vol. 45. – P. 741–744.
9. Nussbaum E.S., Djallilian H.R., Cho K.H., Hall W.A. // Cancer. – 1996. – Vol. 78. – P. 1781–1788.
10. Sawaya R., Bindal R.K. Metastatic brain tumors. // Brain Tumors: An Encyclopedic Approach / Eds A.H. Kaye, E.R. Laws. – Edinburgh, 1995. – P. 923–946.
11. Decker D.A., Decker V.L., Herskovic A., Cummings G.D. // J. Clin. Oncol. – 1984. – Vol.2. – P. 169–173.
12. Gay P.C., Litchy W.J., Cascino T.L. // J. Neurooncol. – 1987. – Vol. 5. – P. 51–56.
13. Posner J.B., Chernik N.L. // Adv. Neurol. – 1978. – Vol. 19. – P. 579–592.
14. Henson R.A., Urich H. Cancer and the Nervous System. – London, 1982.
15. Haar F., Patterson R.H.J. // Cancer. – 1972. – Vol. 30. – P. 1241–1245.
16. Mechta M., Khuntia D. // J. Neurosurg. – 2005. – Vol.57, N 5. – P. 4–35.
17. Stummer W. et al. // Lancet. Oncol. – 2006. – Vol. 7. – P. 392–401.
18. Potapov A.A., Usachev D.J., Loshakov V.A. et al. // Med. Laser Appl. – 28 July 2008. – P. 1-7.
19. Малкаров М.С., Древаль О.Н., Борзунов А.Н. и соавт. // Ж. Вопросы нейрохирургии. – 2010. – Т. 3. – С. 20–24.

INTRAOPERATIVE FLUORESCENCE DIAGNOSIS IN PATIENTS WITH BRAIN METASTASES (MEDICAL TECHNOLOGY)

Zaytsev AM, Kurzhpov MI, Filonenko EV

P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow

The technique of intraoperative fluorescence diagnosis with alasens for brain metastases includes visual assessment of alasens-induced protoporphyrin IX fluorescence and local spectroscopy. The technique allows to reduce the rate of misdiagnosis, to assess accurate local extent of brain metastases and to improve surgical radicality. When applying this technique the sensitivity of fluorescence diagnosis is 96.7%, the specificity is 100%. The technique is designed for neurosurgeons specialized on neurooncology.

Keywords: fluorescence diagnosis, alasens, protoporphyrin IX.

Контакты: M.I. Kurzhpov, E-mail: mkurzhpov@nsi.ru

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ

Настоящие правила разработаны в соответствии с «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», которые разработаны Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

Каждая статья должна сопровождаться официальным направлением учреждения, в котором выполнена работа.

Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не допускается направление в редакцию работ, которые уже напечатаны в других изданиях или посланы для публикации в другие редакции.

Рукопись представляется в редакцию в распечатанном виде в 2-х экземплярах (статья должна быть напечатана на одной стороне листа и подписана всеми авторами) и в электронном виде на носителе типа CD-R (RW), DVD-R (RW), USB-flash или по e-mail (в последнем случае к материалам, подаваемым в редакцию, должна быть приложена распечатка отправленного письма). Представляемая в редакцию распечатка статьи, включая иллюстративный материал, должна быть полностью идентичной электронному варианту. Носители автору не возвращаются.

Текст статьи набирается в текстовом редакторе (тип файла формата MS Word 97/2003/XP/2007) с расширением «.doc» кеглем 12 пунктов через 1,5 интервала, желательным шрифтом Times New Roman Cyr, перенос слов не делается. Размеры полей: верхнее и нижнее – 20 мм, левое – 30 мм, правое – 20 мм. Рекомендуемый объем статьи, включая таблицы и литературу – в пределах 12 страниц формата А4. Все страницы должны быть пронумерованы (нумерация страниц начинается с титульной).

Оригинальные статьи согласно общепринятым международным правилам должны содержать следующие разделы: титульная страница, вступление, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, литература.

Титульная страница должна содержать: название статьи; фамилию и инициалы каждого автора с указанием должности, ученой степени и звания, названия организации, а также отделения, кафедры или лаборатории, города и страны; контактную информацию для общения читателей с автором для публикации в свободном доступе (почтовый адрес, телефон, e-mail); аннотацию объемом до 150 слов; ключевые слова на русском языке. На английском языке необходимо продублировать: фамилию и инициалы автора(ов), название статьи, аннотацию, ключевые слова.

Дополнительно следует указать фамилию, имя и отчество автора, ответственного за контакты с редакцией, его телефон и адрес электронной почты.

В тексте следует использовать только общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не следует применять сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, следует расшифровывать при первом упоминании его в тексте (не требуют расшифровки стандартные единицы измерения и символы).

При представлении результатов статистического анализа данных обязательным является указание использованного программного пакета и его версии, названий использованных статистических методов, приведение описательной статистики и точных уровней значимости при проверке статистических гипотез. Для основных результатов исследования рекомендуется рассчитывать доверительные интервалы.

Единицы измерения физических величин, гематологические, биохимические и другие показатели величин, применяемые в медицине, должны представляться в единицах метрической системы (Международной системы единиц – СИ). При названии различных соединений необходимо использовать терминологию ИЮПАК.

Таблицы, рисунки и текст должны дополнять друг друга, а не дублировать.

Иллюстративный материал (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) представляются в 2-х экземплярах, каждый – на отдельном листе. Приемлемыми для верстки журнала являются форматы – TIFF,

EPS, CDR или JPEG с коэффициентом сжатия не менее 8 с разрешением 300 dpi при размере не менее 6 x 9 см. Если рисунки подготовлены в CorelDraw, шрифты необходимо перевести в кривые. Единой считается версия CorelDraw 9.0 со шрифтами в кривых. Фотографии должны быть контрастными, рисунки – четкими. На микрофотографиях необходимо указать метод окраски, увеличение. На оборотной стороне каждого рисунка ставится его номер, фамилия первого автора статьи и название статьи. Подписи к рисункам приводятся на отдельном листе (также 2 экземпляра) с указанием названия статьи и фамилии автора.

Таблицы нумеруются в соответствии с порядком их цитирования в тексте. Каждая таблица должна иметь краткое название и иметь ссылки в тексте. Заголовки граф должны точно соответствовать их содержанию. Используемые в таблице сокращения подлежат расшифровке в конце таблицы.

Библиография должна быть приведена в конце статьи и оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5-2008, в самом же тексте следует указывать только номер ссылки в квадратных скобках цифрами. Ссылки нумеруются в порядке цитирования. В список литературы не включают неопубликованные работы. Не допускаются ссылки на диссертации, тезисы, сборники конференций и авторефераты диссертаций.

За точность библиографии несет ответственность автор. Не рекомендуется указывать более 30 источников.

Пример оформления списка литературы:

1. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия – новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Сороковский образовательный журнал. – 1996. – № 8. – С. 32–40.
2. Кармакова Т.А., Филоненко Е.В., Феофанов А.В. и соавт. Динамика накопления и распределение АЛК-индуцированного протопорфирина IX в ткани базальноклеточного рака // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 26.
3. Фут К. Свободные радикалы в биологии // пер. с англ. – М.: Мир, 1979. – Т. 2. – С. 96-150.
4. Castano A.P. et al. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2004. – Vol. 1. – P. 279-293.
5. Redmond R.W. and Kocheva I.E. Symposium-in-print: singlet oxygen invited review spatially resolved cellular responses to singlet oxygen // Photochemistry and photobiology. – 2006. – 82. – P. 1178–1186.

Все статьи, поступающие в редакцию, проходят многоступенчатое рецензирование, замечания рецензентов направляются автору без указания имен рецензентов. После получения рецензий и ответов автора редколлегия принимает решение о публикации (или отклонении) статьи.

Редакция оставляет за собой право отклонить статью с направлением автору мотивированного отказа в письменной форме. Отклоненные рукописи авторам не возвращаются. Очередность публикации статей устанавливается в соответствии с редакционным планом издания журнала.

Редакция журнала оставляет за собой право сокращать и редактировать материалы статьи. Небольшие исправления стилистического, номенклатурного или формального характера вносятся в статью без согласования с автором. Если статья перерабатывалась автором в процессе подготовки к публикации, датой поступления считается день поступления окончательного текста.

Публикация статей в журнале бесплатная.

Обращаем внимание авторов: аннотации и ключевые слова публикуются в переводе на английский язык и распространяются в российских и международных информационных базах.

Статьи следует направлять по адресу:

pdt-journal@mail.ru

Примечание. Представление статьи для публикации в журнале подразумевает согласие автора(ов) с опубликованными правилами.

АЛАСЕНС® ALASENS®



Российский просенсибилизатор для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики, включен в стандарты специализированной медицинской помощи при онкологических заболеваниях

- **Области применения:** урология, пульмонология, гинекология, гастроэнтерология, лор-онкология, нейрохирургия.
- **Разрешено применение** для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии опухолей мочевого пузыря, гортани, трахеи, бронхов, пищеварительного тракта, эндометрия, шейки матки.
- **Разрешено применение** для интраоперационной флуоресцентной диагностики, в том числе при нейрохирургических операциях.

Обеспечивает высокую точность при определении границ поражения, высокую чувствительность и специфичность диагностики.

Препарат имеет низкую кожную фототоксичность.

ФОТОСЕНС® PHOTOSENS®



Российский фотосенсибилизатор второго поколения для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики, препарат включен в стандарты специализированной медицинской помощи при онкологических заболеваниях

- **Области применения:** дерматология, лор-онкология, пульмонология, гинекология, гастроэнтерология.
- **Разрешено применение** для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики опухолей головы и шеи, желудка и пищевода, вульвы, плевры, кожи, метастазов рака молочной железы и меланомы.

Обладает высокой фотодинамической активностью и возможностью терапии с относительно глубоким проникновением лазерного излучения в пораженные ткани.

Обеспечивает возможность одновременного проведения диагностики и терапии, возможность уточнения границ поражения и выявления скрытых очагов.

Применяется для радикальной и паллиативной терапии.

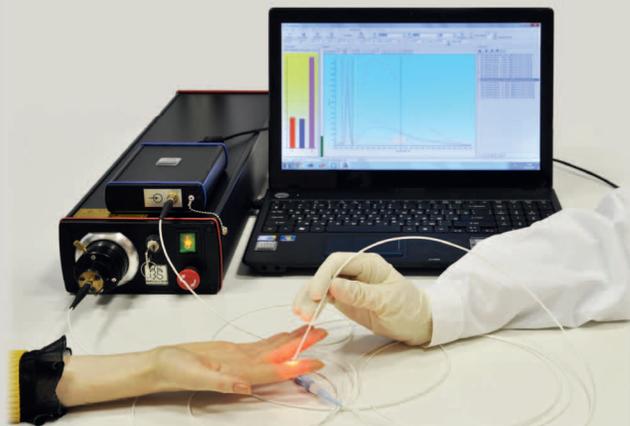
Кабинет для проведения фотодинамической терапии*

ЛЭСА-01-"БИОСПЕК"

Установка для локальной спектроскопии

Установка лазерная электронно-спектральная для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии

- Позволяет локально определять степень накопления фотосенсибилизатора в любых органах пациента, доступных для волоконно-оптического зонда
- Диаметр стандартного зонда 1.8 мм, подходит для эндоскопического и лапароскопического оборудования



Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03784 от 12.12.2008

Сертификат соответствия РОСС RU.ИМ32.Н00344 от 24.12.2012

ЛФТ-630/675-01-"БИОСПЕК"

Лазерная терапевтическая установка для фотодинамической терапии

Установка лазерная фото динамической терапии

- Длина волны 635, 662, или 675 нм оптимизирована для проведения терапии с использованием применяемых в РФ фотосенсибилизаторов.
- Установка комплектуется набором световодов для различных локализаций.



Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/04649 от 26.03.2009

Сертификат соответствия РОСС RU.ИМ32.Н00345 от 24.12.2012

Видеоэндоскопические комплексы

Расширяем функциональность ваших видеоэндоскопических систем (эндоскопов, лапароскопов) с помощью адаптации к ним одной или нескольких сертифицированных установок собственного производства для наблюдения и анализа цифрового флуоресцентного изображения. Предлагаем аналогичные варианты дооснащения операционных микроскопов, кольпоскопов, щелевых ламп.

* - Соответствует Стандарту оснащения диагностических отделений онкологического диспансера (онкологической больницы) по Приложению № 12 к Порядку оказания медицинской помощи населению по профилю «онкология», утвержденному приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 915н от 15 ноября 2012 г. (оснащение других медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь больным с онкологическими заболеваниями, осуществляется с учетом данного стандарта).

ЗАО "БИОСПЕК"
Россия, 119991, Москва,
ул. Вавилова, д. 38, корп. 5



Тел./факс: 8-499-135-1489
E-mail: biospec@nsc.gpi.ru
<http://www.biospec.ru>



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 флуоресцентной 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