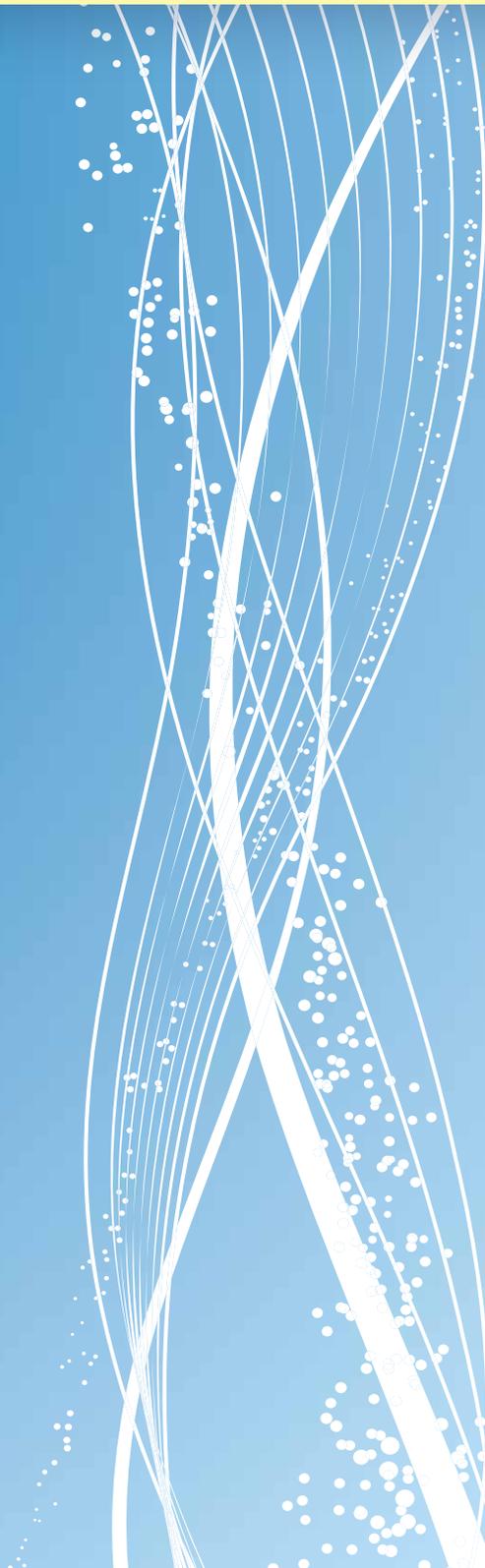


# ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ терапия

## И ФОТОДИАГНОСТИКА

№ 4/2014

### В НОМЕРЕ:

- Возможности мультиспектральной аутофлуоресцентной визуализации злокачественных опухолей
  - Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия рака кожи с препаратом аласенс
  - Системная фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотолон в лечении онкологических больных с регионарными и отдаленными метастазами
  - Юбилей профессора Р.И. Якубовской
- 

**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](http://www.PDT-journal.ru)  
E-mail: [PDT-journal@mail.ru](mailto: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)  
Брилли 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)  
Каприн А.Д., Чл.-корр. РАН, 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 RAS, 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)  
Kaprin A.D., Corresponding member of RAS, 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)  
Svzhikov A.M., doctor of medical science, professor (Moscow)  
Tuchin V.V., doctor of physics and mathematics, professor (Saratov)  
Chissov V.I., Academician of RAS, doctor of medical science, professor (Moscow)  
Choinzonov E.Ts., Academician of RAS, doctor of medical science, professor (Tomsk)

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

### Возможности мультиспектральной аутофлуоресцентной визуализации злокачественных опухолей

Г.В. Папаян, Н.Н. Петрищев, S.V. Kim,  
Н.Н. Kim, В.Б. Березин, Канг Ук

3

### Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия рака кожи с препаратом аласенс

С.В. Евстифеев, М.Т. Кулаев, А.З. Альмяшев,  
П.И. Скопин, И.В. Бегоулов, О.А. Рыбкина

13

### Системная фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотолон в лечении онкологических больных с регионарными и отдаленными метастазами

М.А. Каплан, А.М. Шубина, И.А. Замулаева,  
Е.И. Селиванова, Е.Г. Кузьмина, Н.П. Ткаченко,  
И.Г. Закурдяева, В.Н. Капинус, Е.В. Горанская

18

### Интраоперационная фотодинамическая терапия рака мочевого пузыря с препаратом аласенс (результаты многоцентрового клинического исследования)

Филоненко Е.В., Каприн А.Д., Алексеев Б.Я.,  
Аполихин О.И., Ворожцов Г.Н., Словоходов Е.К.,  
Иванова-Радкевич В.И., Лукьянец Е.А.

24

## КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

### Клиническое наблюдение успешной фотодинамической терапии пациентки с тяжелой дисплазией вульвы

Е.В. Филоненко, Л.Г. Серова

31

## ЮБИЛЕЙ

Профессору Раисе Ивановне  
Якубовской исполнится 70 лет

34

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Требования к оформлению статей

36

## ORIGINAL ARTICLES

### Applications of multispectral autofluorescence imaging of malignant tumors

Papayan GV, Petrishchev NN, Kim SV,  
Kim Hyung Ho, Berezin VB, Kang Uk

3

### Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of skin cancer with alasens

Evstifeev SV, Kulaev MT, Al'myashev AZ,  
Skopin PI, Begoulov IV, Rybkina OA

13

### Systemic photodynamic therapy with photosensitizer photolon in the treatment of cancer patients with regional and distant metastases

Kaplan MA, Shubina AM, Zamulaeva IA, Selivanova EI,  
Kuz'mina EG, Tkachenko NP, Zakurdyayeva IG,  
Kapinus V.N., Goranskaya EV

18

### Intraoperative photodynamic therapy of bladder cancer with alasens (results of multicenter trial)

Filonenko EV, Kaprin AD, Alekseev BYa,  
Apolikhun OI, Vorozhkov GN, Slovozhodov EK,  
Ivanova-Radkevich VI, Machinskaya EA

24

## CLINICAL CASE

### A case-report of successful photodynamic therapy of the patient with severe vulvar dysplasia

Filonenko EV, Serova LG

31

## ANNIVERSARY

Professor Raisa Ivanovna  
Yakubovskaya is 70 y.o.

34

## INFORMATION FOR AUTHORS

Requirements for submission

36

# ВОЗМОЖНОСТИ МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНОЙ АУТОФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Г.В. Папаян<sup>1,2</sup>, Н.Н. Петрищев<sup>1,2</sup>, S.V. Kim<sup>3</sup>, Н.Н. Kim<sup>3</sup>, В.Б. Березин<sup>4</sup>, Канг Ук<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Центр лазерной медицины Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (ПСПбГМУ), г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», г. Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Seoul National University Bundang Hospital (SNUH), Seoul, Korea

<sup>4</sup>Korea Electrotechnology Research Institute (KERI), Seoul, Korea

## Резюме

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* продемонстрированы возможности мультиспектральной аутофлуоресцентной визуализации злокачественных новообразований. На модели мышинной опухоли TC-1 показано, что по специфическим особенностям аутофлуоресцентной картины можно однозначно идентифицировать место формирования опухоли уже через двое суток после введения опухолевых клеток. Среди наблюдаемых эффектов новым является необычайно активный процесс ангиогенеза на ранней стадии формирования новообразования, сопровождающийся появлением атипических сосудов извилистой формы со скоростью роста до 3 мм/сут. Показано, что наряду с одноволновым возбуждением, которое традиционно проводится в сине-фиолетовой области спектра, перспективным при аутофлуоресцентной диагностике является двухволновое возбуждение, при котором используют одновременное лазерное возбуждение на длине волны 390 нм и 635 нм. Этот способ возбуждения флуоресценции позволяет детектировать повышенное содержание протопорфирина IX даже на начальной стадии канцерогенеза. Показано, что флуоресценция, обусловленная активным синтезом протопорфирина IX, коррелирует с плотностью расположения сосудов. Возрастание этой флуоресценции наблюдается также при асептическом воспалении, однако она носит диффузный характер, что позволяет отличать ее от локализованной картины флуоресценции в месте формирования опухоли. В эксперименте показана возможность успешного достижения высокого качества изображения при использовании мультиспектральной визуализации, а также оптимизации условий регистрации. На примере исследования операционного материала, полученного в клинических условиях, показаны возможности визуализации и количественной оценки аутофлуоресценции злокачественной ткани. Полученные результаты призваны помочь при разработке эндоскопических методов визуализации и аппаратуры для диагностики опухолей на ранней стадии роста.

**Ключевые слова:** флуоресцентная диагностика, аутофлуоресценция, мультиспектральная видеосистема, злокачественные опухоли.

## Введение

В онкологии все чаще применяются методы флуоресцентной диагностики (ФД), среди которых выделяют следующие: 1) аутофлуоресценция (АФ), обусловленная эндогенными флуорофорами – коллагеном, НАДН, флавинами и др.; 2) АЛК-индуцированная флуоресценция, вызванная увеличением синтеза эндогенного фотоактивного протопорфирина IX (ППИХ) за счет введения 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК); 3) экзогенная флуоресценция, вызванная введенными в организм агентами, в том числе, фотосенсибилизаторами [1]. Два последних типа ФД иначе называются фотодинамической диагностикой. Главным недостатком, тормозящим распространение данного вида диагностики, является необходимость проведения клинических исследований применяемых контрастирующих агентов, что требует большой затраты средств и может занять длительный период времени. В отличие от фотодинамической диагностики, проведение АФ диагностики не требует введения в организм лекарственных средств, что позволяет существенно упростить и удеше-

вить диагностическое исследование и делает его более доступным для клинического применения.

Становлению АФ диагностики злокачественных новообразований во многом способствовал метод локальной флуоресцентной спектроскопии при лазерном возбуждении (laser-induced fluorescence, LIF) [2, 3]. В качестве диагностических признаков при проведении данной процедуры используют сдвиг максимума спектра флуоресцентной эмиссии в сторону коротких длин волн и изменение его интенсивности, выражающееся снижением в сине-зеленой области спектра и повышением в красной области, что вызвано возрастанием уровня ППИХ. Для оптимальной регистрации концентрации ППИХ применяется возбуждение в его полосе поглощения с максимумом в районе 635 нм [4]. Ограничения метода локальной флуоресцентной спектроскопии обусловлены невозможностью оценки структурных изменений в очаге патологии и появлением нестабильных результатов вследствие неоднородности флуоресцентной картины.

Этих недостатков лишены методы, основанные на анализе снимков, полученных с помощью системы формирования изображений (imaging systems). Для этого могут использоваться либо флуоресцентные картины [5], либо их комбинация с изображениями, полученными в отраженном возбуждающем свете [6]. Применяют также совмещение методов локальной флуоресцентной спектроскопии и флуоресцентной визуализации [7].

Другой подход основан на использовании мультиспектральной регистрации, при которой изображения формируются одновременно в нескольких (чаще всего трех) полосах флуоресцентной эмиссии. При этом обеспечивается возможность цифровой обработки и количественного анализа изображений, а результаты отображаются на обычном цветном мониторе. Мультиспектральные изображения содержат в себе как спектральную, так и морфологическую информацию, что позволяет расширить возможности исследований [8–12].

Цель данной работы заключается в экспериментальной и клинической оценке возможностей метода мультиспектральной АФ диагностики, используемой для визуализации злокачественных опухолей на ранних стадиях роста.

## Материалы и методы

### Методика проведения исследования на опухолевой модели

Работа проводилась на мышах-самках линии С57BL/6G (12 животных), которым вводили полученную генно-инженерным способом тканевую опухолевую культуру TC-1 плоскоклеточной карциномы, содержащую онкопротеины E6 и E7 HPV-16 и ДНК последовательность онкогена c-Ha-ras. Опухолевая взвесь в количестве  $5 \times 10^5$  клеток вводилась под кожу спины животного за 1 пассаж. Перевивка опухолей осуществлялась по общепринятой методике. Через неделю в месте введения взвеси опухолевых клеток пальпировался узел размером 3–4 мм, который через 3–4 недели увеличивался до 7–8 мм. Перевиваемость опухоли составляет 95–100%. Продолжительность жизни мышей после перевивки опухоли составляет 2–3 мес. Контрольным животным под кожу вводили физиологический раствор.

Исследования флуоресценции в патологическом очаге выполнялись как с внешней стороны кожи после предварительной депиляции, так и изнутри – после иссечения лоскута размером  $15 \times 15$  мм с частичным сохранением кровоснабжения. На каждом из контрольных сроков (через 2, 4, 6, 8, 10, 34 сут. после перевивки) в исследовании участвовали две мыши. Манипуляцию проводили под общим наркозом путем внутрибрюшинного введения 30 мкл кетамина. После окончания съемки животные забивались, опухоль иссекалась и помещалась на предметное стекло для дальнейших исследований.

### Методика исследования операционного материала

В качестве операционного клинического материала использовали участок опухолевой ткани, полученный при выполнении лапароскопической проксимальной гастрэктомии по поводу умереннодифференцированной аденокарциномы кардиального отдела желудка. Материал исследовался через 3 ч после его извлечения. Транспортировка в лабораторию осуществлялась в термоконтейнере при температуре  $40^\circ\text{C}$ . Перед исследованием фрагменты опухоли промывались физиологическим раствором.

Исследование АФ проводилось на мультиспектральном флуоресцентном органоскопе «AnimaScore» [10]. Регистрация флуоресцентных изображений производилась при помощи высококачественной телевизионно-компьютерной системы с RGB-сенсором и разрешением  $1280 \times 1024$  пикселей при различном возбуждении. Размер поля зрения в плоскости объекта –  $25 \times 20$  мм. Источником излучения являлся комбинированный лампово-лазерный осветитель, в котором длина волны лампового излучения определялась переключаемыми фильтрами 360 нм, 390 нм, 430 нм; лазерного излучения – диодным лазером 635 нм. Регистрация результатов осуществлялась в виде мультиспектральных фото- и видеоизображений. Измерения сигналов r, g и b и их отношений r/b, r/g, b/g в спектральных каналах R, G и B мультиспектральной системы с максимумами спектральной чувствительности соответственно 620 нм, 540 нм и 480 нм проводилась в локальных участках и в целом кадре в реальном масштабе времени. Перед измерениями прибор калибровался по флуоресцентным стандартам.

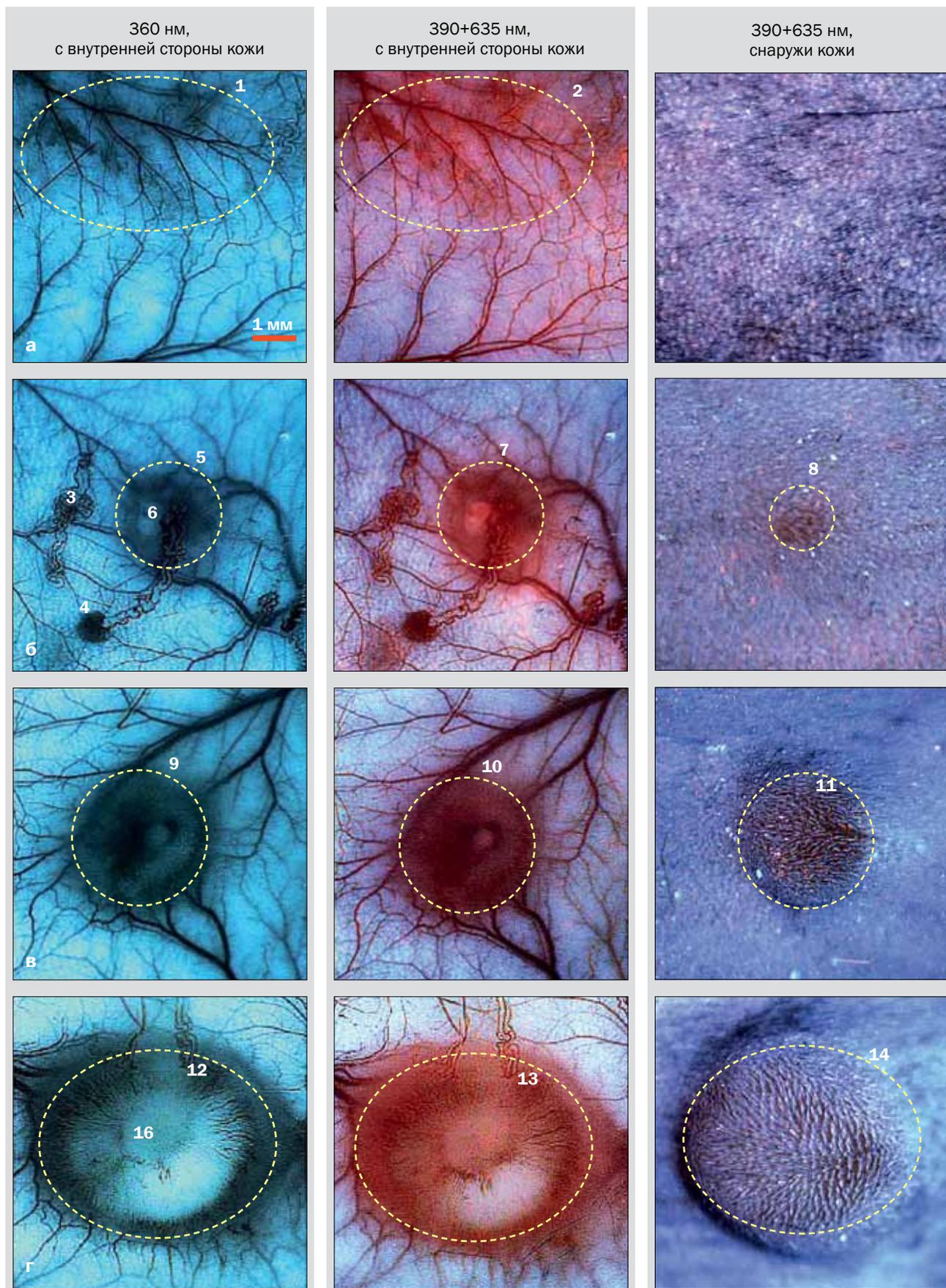
## Результаты

### Исследование опухолевого роста на мышинной модели

Ниже представлены репрезентативные результаты проведенных экспериментов в выбранные сроки роста мышинной опухоли для 3 из 12 животных.

На рис. 1 показаны фрагменты фотографий дермы мыши, полученных изнутри лоскута, а также с внешней поверхности кожного покрова до формирования лоскута в режимах регистрации 360 нм и  $390+635$  нм. Размеры представленных участков  $8,8 \times 8,8$  мм. Съемки производили на разные сроки роста опухоли (через 2, 6 и 10 сут. после инъекции под кожу культуры клеток TC-1), а также в контрольном эксперименте (через 2 сут. после инъекции под кожу физиологического раствора).

В контроле (рис. 1а) в режиме 360 нм в месте введения физиологического раствора с внутренней стороны кожи имеется небольшое воспаление (темные участки в зоне 1), а в режиме  $390+635$  нм в них наблюдается повышение красной флуоресценции (зона 2). При этом отчетливо видна неиз-



**Рис. 1.** Изменение мультиспектральной картины кожи в свете АФ изнутри и снаружи кожи в режимах 360 нм и 390+635 нм по мере роста опухоли, в разные сроки после перевивки клеток  
 а – контроль, через 2 сут. после инъекции физраствора; б – опыт, через 2 сут. после инъекции ТС-1;  
 в – опыт, через 6 сут. после инъекции ТС-1; г – опыт, через 10 сут. после инъекции ТС-1

мененная сосудистая сеть обычной древовидной формы. Снаружи кожи место инъекции в режиме 390+635 нм никак себя не проявляет.

Через 2 сут. после введения опухолевых клеток (рис. 1б) сосудистый рисунок существенно изменяется. Вблизи места инъекции наблюдаются сосуды аномально извилистой формы (зигзагообразные сосуды (3) или капиллярная сеть в виде клубочков и гнезд (4)); ткань выглядит более темной (зона 5), а там, где находится остаток введенной клеточной культуры ТС-1, наоборот – более светлой (зона 6)). В режиме 390+635 нм фокус опухоли обладает повышенной красной флуоресценцией (зона 7). Красная флуоресценция наблюдается даже через толщу кожи (зона 8). Судя по участку затемнения, рост опухоли через двое сут. после перевивки распространяется на площади диаметром около 3 мм.

По мере роста (6-ые сутки – рис. 1в, 10-ые сутки – рис. 1г) в режиме 390+635 нм наблюдается нарастание красной компоненты, в результате чего опухоль все более отчетливо обнаруживается не только с внутренней стороны кожи (участки 10, 13), но и снаружи ее (участки 11, 14). Что касается режима 360 нм, то выявляемые в данном режиме особенности в процессе опухолевого роста претерпевают некоторые изменения: сосуды извилистой формы на 6-ые и 10-ые сутки наблюдаются реже, а в участках затемнения (9, 12) все отчетливее просматриваются светлые зоны (15, 16).

На рис. 2 представлены изображения двух удаленных опухолей (мышы №9 и №10) через 10 сут. после введения клеток ТС-1 при длинах волн возбуждения 360 нм и 390+635 нм. Эти съемки подтверждают приведенные выше закономерности. Собственная флуоресценция на поверхности опухоли (№9) в синие-зеленой области имеет участки как повышенной яркости, так и сильно затемненные. Это особенно отчетливо видно при возбуждении 360 нм. В режиме 390+635 нм к этому излучению добавляется интенсивное крас-

ное свечение всей поверхности опухоли. В отличие от флуоресцентной картины со стороны поверхности, на срезе опухоли (№10) регистрируется только синие-зеленая компонента, а красная практически полностью отсутствует.

Описанные особенности АФ злокачественной опухоли, уменьшение яркости в синие-зеленой области и увеличение красной компоненты, служащие признаками перерождения ткани при АФ диагностике, выявлялись в данном случае только при исследовании ее поверхности. Если проводить исследование опухоли глубже, эти признаки пропадают и, наоборот, в ее глубине наблюдается высокая синие-зеленая флуоресценция и практически полностью отсутствует красная флуоресценция.

Интерес представляет ответ на вопрос – насколько картина, полученная в модельном эксперименте, может соответствовать реальным опухолям человека. В качестве примера приведем результат исследования операционного материала.

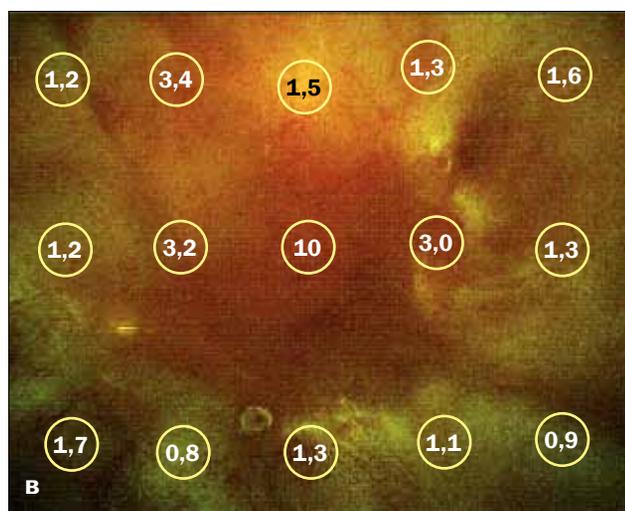
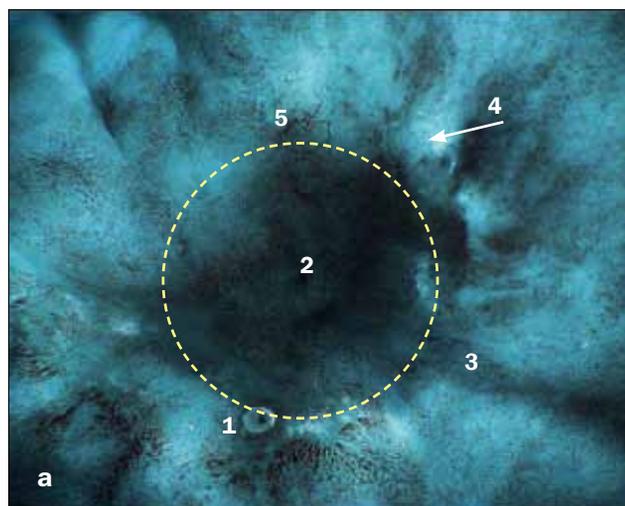
#### Пример исследования операционного материала

Аденокарцинома желудка: локализация опухоли – верхняя треть желудка, малая кривизна; гистологический тип – тубулярная аденокарцинома; гистологическая градация – мало дифференцированная; гистологический тип по Лоурену – кишечный; размер опухоли – 2,5x2,5x0,9 см; глубина инвазии – субсерозная оболочка (pT3 by AJCC 7thEd); края опухоли по Мингу – инфильтративные; стромальная реакция – десмоплазия.

На рис. 3 показаны фотографии операционного материала со стороны слизистой оболочки при различных условиях регистрации. Участок (1) – место взятия биопсии при эндоскопическом осмотре, на основании которой поставлен диагноз. Фокус новообразования (2), имеющий вид кратера размером около 1,5 см, обладает существенно более низкой флуоресценцией по сравнению с окружающей



Рис. 2. АФ изображения опухолей, удаленных у мышей №9 и №10 через 10 сут. после перевивки ТС-1 при длинах волн возбуждения 360 нм и 390+635 нм. Размер опухолей: № 9 – 4x6 мм, а № 10 – около 6 мм. Опухоль №10 показана целой и в разрезе



**Рис. 3.** АФ изображения операционного материала аденокарциномы желудка со стороны слизистой оболочки размером 25х20 мм при различных условиях регистрации. Кружками обозначены места количественной оценки флуоресценции. Внутри кружков указана величина  $r/b$   
 а – 360 нм;  
 б – 430 нм;  
 в – 390+635 нм

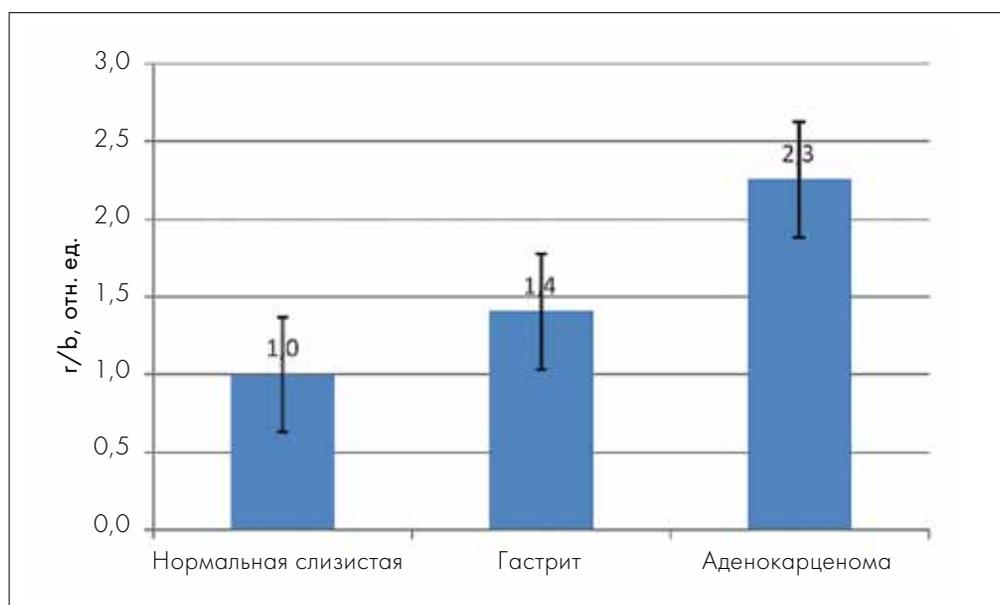
тканью. Затемнение наблюдается также в складках слизистой оболочки (3). Вокруг фокуса наблюдаются локальные просветления (4). В стороне от фокуса на расстоянии 2 см находится граница атипичной ткани. Тонкие морфологические отличия, позволяющие легче увидеть эту границу, получаются в режиме 430 нм (рис. 3б). Наибольший цветовой контраст, облегчающий обнаружение самой опухоли обеспечивает режим 390+635 нм (рис. 3в). Это можно делать как визуально, так и с использованием количественных характеристик. При мультиспектральной регистрации наиболее информативным параметром является отношение сигналов из различных каналов. Для режима 390+635 нм им служит отношение  $r/b$ : оно в максимальной степени отражает различия опухолевого участка от окружающей здоровой ткани, поскольку в процессе злокачественного роста в двухволновом режиме красная флуоресценция возрастает, а синяя падает.

Результаты измерений  $r/b$ , выполненные в трех различных зонах операционного материала (нормальная слизистая оболочки желудка, область гипертрофического гастрита, область опухоли), показаны на рис. 4. Схема измерений, обеспечивающая возможность получения данных в различных точках указанных зон, показана на рис. 3в. Видно, что величина  $r/b$  существенным образом зависит от места измерения: наибольшее ее значение в зоне опухоли получено в фокусе, а на ее периферии – приближается к нормальным значениям.

Таким образом, на примере исследования операционного материала в случае аденокарциномы желудка подтверждаются основные закономерности, полученные в эксперименте. Кроме явлений, связанных с модуляцией яркости флуоресценции в зоне опухолевого роста, со стороны слизистой оболочки в свете аутофлуоресценции обнаруживаются морфологические изменения, не видимые или слабо заметные при обычном наблюдении.

### Обсуждение

Необходимый контраст при АФ диагностике достигается за счет двух эффектов. Первый из них заключается в снижении флуоресценции в синезеленой области спектра (450–550 нм) при возбуждении коротковолновым излучением (350–450 нм). Второй – в повышении красной флуоресценции (650–750 нм), вызванной накоплением ППХ. Флуоресценция может возбуждаться в различных полосах поглощения порфиринов, из которых самая длинноволновая имеет максимум на длине волны 635 нм. Полезная для диагностики информация может также содержаться в измененной морфологической картине, которая в свете АФ заметно отличается от таковой в белом свете. Ниже рассматривается, как эти аспекты проявились в данном исследовании.



**Рис. 4.** Оценка спектральных различий в режиме 390+635 нм с помощью отношения сигналов r/b. Измерения проводились в различных зонах операционного материала по схеме, показанной на рис. 3в

#### Эффект повышения красной флуоресценции

Повышение красной АФ, связанной с увеличением содержания порфиринов в опухоли, было впервые описано Альбертом Поликарпом в 1924 г. [13]. С того времени эффект преимущественного накопления порфиринов в неопластической ткани описывали многие исследователи. Сейчас можно считать доказанным, что он вызван повышенным синтезом эндогенного ППХ в зоне злокачественного роста. Наиболее широко этот факт используется в клинике для визуализации глиальных опухолей при операциях на головном мозге [14] и в диагностике поверхностного рака мочевого пузыря [15]. При этом для усиления синтеза эндогенного ППХ используют метод 5-АЛК-индуцированной флуоресценции.

Существует также метод диагностики, который позволяет обойтись без ввода 5-АЛК («non-ALA method») [10, 11, 16]. Он предполагает одновременное возбуждение флуоресценции двумя различными длинами волн. Одна из них (красная) предназначена для преимущественного возбуждения порфиринов, а другая (фиолетовая) – для формирования обычной АФ картины. Их сочетание позволяет визуализировать слабую порфириновую флуоресценцию на фоне обычного АФ изображения, связать ее наличие с определенными морфологическими структурами и ввести информативную количественную характеристику – отношение спектральных сигналов r/b или r/g. В данном исследовании этот метод реализован в режиме 390+635 нм.

В контрольном эксперименте при введении под кожу физиологического раствора в режиме 390+635 нм наблюдался рост порфириновой флуоресценции. Диффузный характер ее распределения заметно

отличался от такового в месте перевивки опухоли, который имеет четкую локализацию. При этом повышение красной флуоресценции наблюдалось также и вокруг близлежащих к опухоли атипических сосудов. Таким образом, повышенный синтез порфирина имеет место как при активной тканевой пролиферации клеток опухоли в зоне асептического воспаления. Флуоресцентное покраснение снаружи наблюдается с некоторым запозданием относительно внутренней стороны, что объясняется ослаблением в коже возбуждающего излучения и потерями света флуоресценции. Тем не менее, несмотря на низкую прозрачность кожи, после депиляции красное возбуждающее излучение проникает через нее на глубину, достаточную для надежной визуализации места расположения подкожной опухоли на 4–6-е сутки после перевивки. С внутренней стороны кожи это можно сделать уже через двое суток. Таким образом, в эксперименте на мышинной модели канцерогенеза двухволновой режим способствовал обнаружению опухоли на ранней стадии ее роста. При перенесении полученных данных в клинику нужно иметь в виду, что интенсивность синтеза ППХ зависит от «агрессивности» и стадии развития злокачественной опухоли. Это наблюдение согласуется с результатами исследования опухолей головного мозга, в котором показано, что концентрация ППХ пропорциональна пролиферативному индексу Ki-67 [17].

#### Эффект снижения сине-зеленой аутофлуоресценции

Феномен снижения интенсивности собственного свечения малигнизированной ткани в сине-зеленой области спектра, по-видимому, впервые количе-

ственно описан в 1982 г. [18]. В указанной работе проводилось измерение АФ сигналов, обусловленных пиридиннуклеотидами (НАДН) и флавопротеидами (ФП) в опухолях желудка, прямой кишки, тела и шейки матки. Исследования показали, что сигналы от малигнизированной ткани значительно слабее, чем для здоровой ткани: для НАДН в 2–4,8 раза, а для ФП – в 1,7–4,6 раза. Наличие эффекта снижения яркости АФ было подтверждено в аналогичных исследованиях, выполненных методом локальной флуоресцентной спектроскопии [19, 20].

Позже для визуализации очага патологии на основании этого эффекта стали применять изображающие системы [21], что послужило основой для выпуска ряда аутофлуоресцентных эндоскопических систем. При этом для облегчения визуализации области потемнения используется ее искусственное окрашивание в красный цвет, что создает впечатление наличия порфириновой флуоресценции.

Причину падения интенсивности АФ в очаге патологии объясняют утолщением эпителиального слоя, уменьшающим глубину проникновения света [22]. Однако считается, что данный фактор не способен обеспечить наблюдаемую высокую контрастность в свете флуоресценции, поскольку «рассматривать ткань через поверхность слизистой оболочки – это на самом деле видеть строму сквозь прозрачный слой поверхностного эпителия» [23]. С нашей точки зрения явление потемнения скорее объясняется поглощением расположенных на поверхности опухоли в ее строме новообразованных сосудов с повышенным кровенаполнением, что приводит к экранированию флуоресцентного свечения за счет поглощения гемоглобина. Наиболее отчетливо это наблюдается на выделенной опухоли при сравнении картин, полученных с ее поверхности и с разреза (рис. 2). Сопоставление показывает, что высокая яркость наиболее светлых участков поверхности соответствует яркости паренхимы опухоли и наоборот, слабо флуоресцирующие участки поверхности оказываются расположенными в местах сосудистой сети.

Факт высокой яркости АФ в месте среза известен давно. В работе [24] было показано, что интенсивность АФ инфильтративных опухолей желудка значительно сильнее на срезе, чем со стороны слизистой оболочки в очаге патологии, причем она была в несколько раз меньше, даже по сравнению со здоровыми тканями. Этот факт, по-видимому, объясняется увеличением доли соединительной ткани в строме и ухудшением кровоснабжения в глубине опухоли. Следовательно, в наблюдаемых нами картинах в свете флуоресценции со стороны поверхности слизистой именно изменение кровоснабжения является основной причиной модуляции ее яркости. Причем в местах снижения флуоресценции в синезеленой области, наоборот, наблюдается повышение красной компоненты.

### Изменение морфологической картины

Прежде всего, среди морфологических изменений обращает на себя внимание процесс формирования новых кровеносных сосудов. Сосудистый рисунок лучше всего визуализируется в режиме 360 нм [12]. Интересно, что заметные изменения наблюдаются уже через двое суток после перевивки опухоли ТС-1. Все необычные по форме сосуды расположены в непосредственной близости от центра опухоли. Возможно, что стремительный рост извилистых сосудов, о которых здесь идет речь, вызван не появлением новых сосудов, а увеличением в диаметре существующих. Природу и закономерности данного феномена предстоит исследовать в дальнейшем.

К особенностям морфологической картины также следует отнести неоднородность яркости флуоресценции на поверхности опухоли, вызванной, предположительно, вариацией локальной плотности капиллярной сети. В результате на фоне темных участков наблюдаются яркие лакуны, которые также могут служить признаком наличия злокачественной опухоли.

### Операционный материал

Описанные выше закономерности – повышение красной компоненты и снижение синезеленой АФ в очаге патологии – отчетливо наблюдаются в двухволновом режиме и также при изучении операционного материала. При этом обращает на себя внимание гетерогенный характер распределения флуоресценции в пределах опухоли, где темный кратер в ее центре обрамлен яркими желто-зелеными пятнами на периферии. При этом из-за различного проявления эффектов покраснения и потемнения недалеко друг от друга могут находиться участки различного цвета, что объясняет сложности, с которыми метод локальной флуоресцентной спектроскопии сталкивается при клиническом применении.

Новым в наблюдаемой морфологической картине операционного материала в зоне опухолевого роста является смена хаотичного рисунка вблизи фокуса на регулярные структуры в области нормальной слизистой оболочки. Этот признак, наряду с особенностями сосудистого рисунка и наличием яркого венчика вокруг темного ядра опухоли, можно использовать для идентификации опухоли и определения границ ее распространения.

Количественный анализ (рис. 4) показывает, что красно-синее отношение, полученное в режиме смешанного освещения, может служить количественной характеристикой опухоли. Ее преимуществами являются высокая чувствительность к злокачественному процессу благодаря противоположной направленности красной и синезеленой компоненты, а также слабая зависимость от геометрии освещения и от расстояния до объекта. Учитывая гетерогенный характер картины, этим инструментом нужно пользоваться с осторожностью, используя при измерении оценку,

преимущественно вблизи центра опухоли, что при наличии мультиспектрального АФ изображения делать несложно.

## Выводы

Мультиспектральная АФ визуализация является методом диагностики, не требующим применения экзогенных агентов для оптического контрастирования. При этом для анализа предоставляется информация одновременно спектрального и морфологического характера.

Проведенные исследования роста мышинной опухоли ТС-1 показывают, что по специфическим особенностям АФ картины можно однозначно идентифицировать место формирования опухоли уже через двое суток после введения опухолевых клеток. Среди наблюдаемых эффектов новым является необычайно активный процесс ангиогенеза на ранней стадии формирования новообразования. Он сопровождается появлением атипических сосудов извилистой формы со скоростью роста до 3 мм/сут.

Показано, что наряду с одноволновым возбуждением, которое традиционно проводится в сине-фиолетовой области спектра, перспективным при АФ диагностике является двухволновое возбуждение, при котором, одновременно с возбуждением в указанной области, используется лазерное возбуждение с длиной волны 635 нм. Этот способ освещения позволяет привлечь для визуального и количественного анализа ППХ без использования препаратов, содержащих 5-АЛК. В этом случае на фоне характерной для собственной флуоресценции сине-зеленой картины,

хорошо просматривается красная компонента, обусловленная наличием ППХ даже на начальной стадии канцерогенеза. Ее присутствие особенно заметно благодаря наличию в зоне опухолевого роста затемненных участков.

Сравнительный анализ флуоресцентных картин с поверхности опухоли и в ее разрезе показывает, что известный эффект падения яркости АФ в очаге патологии объясняется не столько метаболическими особенностями опухолевых клеток, сколько усилением кровоснабжения опухоли за счет повышения плотности приповерхностной сосудистой сети.

С густотой расположения сосудов коррелирует также флуоресценция, обусловленная активным синтезом ППХ. Возрастание этой флуоресценции наблюдается также при асептическом воспалении, однако, она носит диффузный характер, что позволяет отличать ее от локализованной картины в месте формирования опухоли.

Для использования морфологической информации, содержащейся в изображении, важно его высокое качество. Добиться этого при регистрации АФ картины, учитывая дефицит света, непросто, однако, как показывает опыт, при использовании мультиспектральной визуализации, а также оптимизации условий регистрации эта задача успешно решается.

На примере исследования полученного в клинических условиях операционного материала показаны возможности визуализации и количественной оценки АФ злокачественной ткани. Полученные результаты могут служить основой при разработке эндоскопических методик и аппаратуры для АФ диагностики.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Pierce M.C., Javier D.J., Richards-Kortum R. Optical contrast agents and imaging systems for detection and diagnosis of cancer // *Int. J. Cancer*. – 2008. – №1. – 123(9). – P. 1979–1990.
2. Дадвани С.А., Харнас С.С., Чилингарида К.Е., Лощенов В.Б., Ветшев С.П. Лазерная аутофлуоресцентная спектроскопия – новый метод экспресс-диагностики в хирургии (Обзор) // *Хирургия*. – 1999. – №10. – С. 75–79.
3. Richards-Kortum R., Sevick-Muraca E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis // *Annual Review of Physical Chemistry*. – 1996. – 47 (1). – P. 555–606.
4. Лощенов В.Б., Стратонников А.А., Волкова А.И., Прохоров А.М. Портативная спектроскопическая система для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля за фотодинамической терапией // *Российский химический журнал*. – 1998. – №2. – XLII. – С. 50.
5. Palcic, B., Lam S., Hung J., MacAulay C. Detection and localization of early lung cancer by imaging techniques // *Chest*. – 1991. – 99 (3). – P. 742–743.
6. Папаян Г.В., Канг Ук. флуоресцентная эндоскопическая видеосистема // *Оптический журнал*. – 2006. – №10. – С. 94–99.
7. В.В. Соколов, Е.В. Филоненко, Л.В. Телегина, Н.Н. Булгакова, В.В. Смирнов. Комбинация флуоресцентного изображения и локальной спектрофотометрии при флуоресцентной диагно-

## REFERENCES

1. Pierce M.C., Javier D.J., Richards-Kortum R. Optical contrast agents and imaging systems for detection and diagnosis of cancer, *Int. J. Cancer*, 2008, № 123 (9), pp. 1979-90.
2. Dadvani S.A., Kharnas S.S., Chilingaridi K.E., Loshchenov V.B., Vetshev S.P. Lazernaya autofluorescentnaya spektroskopiya – novyi metod ekspress-diagnostiki v khirurgii (obzor) (Laser autofluorescence spectroscopy – a new method of instant diagnosis in surgery (Review)), *Khirurgiya*, 1999, № 10, pp. 75–79.
3. Richards-Kortum R., Sevick-Muraca E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis, *Annual Review of Physical Chemistry*, 1996, № 47(1), pp. 555–606.
4. Loshchenov V.B., Stratonnikov A.A., Volkova A.I., Prokhorov A.M. Portativnaya spektroskopicheskaya sistema dlya flyuorescentnoi diagnostiki opukholei i kontrolya za fotodinamicheskoi terapii (Hand-carried spectroscopic system for fluorescence diagnosis of tumors and monitoring the photodynamic therapy), *Rossiiskii khimicheskii zhurnal*, 1998, № 2, XLII, p. 50.
5. Palcic, B., Lam S., Hung J., MacAulay C. Detection and localization of early lung cancer by imaging techniques, *Chest*, 1991, № 99 (3), pp. 742–3.
6. Papayan G.V., Kang Uk. Flyuorescentnaya endoskopicheskaya videosistema (Fluorescence endoscopic video system), *Opticheskii zhurnal*, 2006, №. 10, pp. 94–9.
7. Sokolov V.V., Filonenko E.V., Telegina L.V., Bulgakova N.N., Smirnov V.V. Kombinatsiya flyuorescentnogo izobrazheniya i lokal'noi

- стике раннего рака гортани и бронхов // Квант. Электроника. – 2002. – 32 (11). – С. 963–969.
8. Benavides, J. M., Chang S., Park S. et al. Multispectral digital colposcope for in vivo detection of cervical cancer // *Optics Express*. – 2003. – 11. – P. 1223–36.
  9. Канг Ук, Папаян Г.В., Бэ С.Д. и др. Флуоресцентный видеодерматоскоп // *Оптический журнал*. – 2008. – №1. – С. 32–38.
  10. Канг Ук, Папаян Г.В., Березин В.Б., Бае Соо-Жин, Ким С.В., Петрищев Н.Н. Мультиспектральный флуоресцентный органоскоп – прибор для прижизненных исследований лабораторных животных и их органов // *Оптический журнал*. – 2011. – №9. – С. 82–90.
  11. Папаян Г.В., Петрищев Н.Н., Панченко А.В., Канг Ук, Ким С.В., Березин В. Б. Мультиспектральная аутофлуоресцентная диагностика рака шейки матки на экспериментальных моделях // Сборник научных трудов под ред. Н.Н.Петрищева. – СПб.: Лань, 2011. – С. 273–281.
  12. Петрищев Н.Н., Ким С.В., Березин В. Б., Папаян Г.В. Аутофлуоресцентная визуализация сосудов микроциркуляторного русла // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2010. – №4. – С.75–77.
  13. Policard. A. Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Woods C. R. // *Soc. BioL.* – 1924. – 91. – P. 1423–1425.
  14. Горяйнов С.А., Потапов А.А., Лощенов В.Б., Савельева Т.А. Флуоресцентная навигация и лазерная спектроскопия в хирургии глиом головного мозга. – М.: МедиаСфера, 2014. – 152 с.
  15. Соколов В.В., Русаков И.Г., Булгакова Н.Н., Ульянов Р.В., Теплов А.А. Флуоресцентные методы в диагностике поверхностного рака мочевого пузыря // *Сибирский онкологический журнал*. – 2007. – №4 (24). – С. 117–126.
  16. Kang Uk, Papayan G.V. Apparatus for photodynamic therapy and photodetection. Патент US8382812.
  17. Valde's P.A., Kim A., Brantsch M. et al.  $\delta$ -aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX concentration correlates with histopathologic markers of malignancy in human gliomas: the need for quantitative fluorescence-guided resection to identify regions of increasing malignancy // *Neuro-Oncology*. – 2011. – 13(8). – P. 846–856.
  18. Папаян Г.В., Барский И.Я., Титов В.В., Сафиулина С.С., Шедрунов В.В., Лебедев О.Е., Грухие Ю.А., Гуш В.В. Микрофлуориметр для медицинских исследований // *Опико-механическая промышленность*. – 1982. – №7. – С. 34–37.
  19. Alfano, R. R., D. B. Tata, J. Cordero, P. et al. Laser induced fluorescence spectroscopy from native cancerous and normal tissue // *IEEE J. Quant. Electron.* – 1984. – 20. – P. 1507–1511.
  20. Anderson-Angels S., Ankerts J., Brun A. et al. Tissue diagnostics using laser-induced fluorescence // *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* – 1989. – №93. – P. 335–342.
  21. Andersson-Engels S., Klintederg C., Svanberg K., Svanberg S. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics // *Phys. Med. Biol.* – 1997. – Vol.42. – P. 815–824.
  22. Leonhard M. New Incoherent Autofluorescence/Fluorescence System for Early Detection of Lung Cancer // *Diagnostic and Therapeutic Endoscopy*. – 1999. – Vol. 5. – 3. 71–75.
  23. Маршетта Ж., Декамп Ф. Кольпоскопия. Метод и диагностика // пер. с франц. – М.: МЕДпресс-информ, 2014. – 200 с.
  24. Лисовский В.А., Шедрунов В.В., Барский И.Я., Папаян Г.В., Самойлов В.О., Гуш В.В., Грухин Ю.А., Шуленин А.Н., Соловьев В.Н. Люминесцентный анализ в гастроэнтерологии. – Л.: Наука, 1984. – 234 с.
  - спектрофотометрии при флуоресцентной диагностике раннего рака гортани и бронхов (Combination of fluorescent image with local spectrophotometry for fluorescence diagnosis of early laryngeal and bronchial cancer), *Kvant. Elektronika*, 2002, № 32 (11), pp. 963–9.
  8. Benavides, J. M., Chang S., Park S. et al. Multispectral digital colposcope for in vivo detection of cervical cancer, *Optics Express*, 2003, No. 11, pp. 1223–36.
  9. Kang Uk, Papayan G.V., Be S.D. et al. Flyuorestsentnyi videodermatoskop (Fluorescence video dermatoscope), *Opticheskii zhurnal*, 2008, No. 1, pp. 32–8.
  10. Kang Uk, Papayan G.V., Berezin B.B., Bae Soo-Jin, Kim S.V., Petrishchev N.N. Multispektral'nyi flyuorestsentnyi organoskop – pribor dlya przhiznennykh issledovaniy laboratornykh zhivotnykh i ikh organov (Multispectral fluorescent organoscope – the device for in vivo study of laboratory animals and its organs), *Opticheskii zhurnal*, 2011, № 9, pp. 82–90.
  11. Papayan G.V., Petrishchev N.N., Panchenko A.V., Kang Uk, Kim S.V., Berezin V.B. Multispektral'naya avtoflyuorestsentnaya diagnostika raka sheiki matki na eksperimental'nykh modelyakh (Multispectral autofluorescence diagnosis of cervical cancer on experimental models), *Sbornik nauchnykh trudov pod red. N.N. Petrishcheva*, SPb.: Lan', 2011, pp. 273–81.
  12. Petrishchev N.N., Kim S.V., Berezin V. B., Papayan G.V. Avtoflyuorestsentnaya vizualizatsiya sudov mikrotsirkulyatornogo rusla (Autofluorescence imaging of microvasculature), *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*, 2010, № 4, pp. 75–7.
  13. Policard. A. Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Woods C. R., *Soc. BioL.*, 1924, № 91, pp. 1423–5.
  14. Goryainov S.A., Potapov A.A, Loshchenov V.B., Savel'eva T.A. Flyuorestsentnaya navigatsiya i lazernaya spektroskopiya v khirurgii gliom golovnogo mozga (Fluorescence guidance and laser spectroscopy in surgery of brain gliomas), M.: MediaSfera, 2014, pp. 1–152.
  15. Sokolov V.V., Rusakov I.G, Bulgakova N.N., Ul'yanov R.V., Teplov A.A. Flyuorestsentnye metody v diagnostike poverkhnostnogo raka mochevogo puzrya (Fluorescent methods in diagnosis of superficial bladder cancer), *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*, 2007, № 4 (24), pp. 117–26.
  16. Kang Uk, Papayan G.V. Apparatus for photodynamic therapy and photodetection. Patent US8382812.
  17. Valde's P.A., Kim A., Brantsch M. et al.  $\delta$ -aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX concentration correlates with histopathologic markers of malignancy in human gliomas: the need for quantitative fluorescence-guided resection to identify regions of increasing malignancy, *Neuro-Oncology*, 2011, № 13 (8), pp. 846–56.
  18. Papayan G.V., Barskii I.Ya., Titov V.V., Safiulina S.S., Shchedrunov V.V., Lebedev O.E., Grukhiye Yu.A., Gushch V.V. Mikroflyuorimetr dlya meditsinskikh issledovaniy (Microfluorimeter for medical studies), *Optiko-mekhanicheskaya promyshlennost'*, 1982, No. 7, pp. 34–7.
  19. Alfano, R. R., D. B. Tata, J. Cordero, P. et al. Laser induced fluorescence spectroscopy from native cancerous and normal tissue, *IEEE J. Quant. Electron.*, 1984, № 20, pp. 1507–11.
  20. Anderson-Angels S., Ankerts J., Brun A. et al. Tissue diagnostics using laser-induced fluorescence, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 1989, № 93, pp. 335–42.
  21. Andersson-Engels S., Klintederg C., Svanberg K., Svanberg S. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics, *Phys. Med. Biol.*, 1997, Vol. 42, pp. 815–24.
  22. Leonhard M. New Incoherent Autofluorescence/Fluorescence System for Early Detection of Lung Cancer, *Diagnostic and Therapeutic Endoscopy*, 1999, Vol. 5, pp. 71–5.
  23. Marshetta Zh., Dekamp F. Kol'poskopiya. Metod i diagnostika, per. s frants., (Method and diagnosis. Translated from French), M.: MEDpress-inform, 2014, pp. 1–200.
  24. Lisovskii V.A., Shchedrunov V.V., Barskii I.Ya., Papayan G.V., Samoilov V.O., Gushch V.V., Grukhin Yu.A., Shulenin A.N., Solov'ev V.N. Lyuminestsentnyi analiz v gastroenterologii (Luminescence analysis in gastroenterology), L.: Nauka, 1984, pp. 1–234.

## APPLICATIONS OF MULTISPECTRAL AUTOFLUORESCENCE IMAGING OF MALIGNANT TUMORS

Papayan GV<sup>1,2</sup>, Petrishchev NN<sup>1,2</sup>, Kim SV<sup>3</sup>, Kim Hyung Ho<sup>3</sup>, Berezin VB<sup>4</sup>, Kang Uk<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Center of Laser Medicine, First I.P. Pavlov Federal Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg

<sup>2</sup>Federal Almazov Medical Research Centre, St. Petersburg

<sup>3</sup>Seoul National University Bundang Hospital (SNUH), Seoul, Korea

<sup>4</sup>Korea Electrotechnology Research Institute (KERI), Seoul, Korea

The applications of multispectral autofluorescence imaging of malignant tumor was shown in in vitro and in vivo experiments. Using TC-1 mouse tumor model it was demonstrated that the location of tumor formation can be clearly identified as early as 2 days after injection of tumor cells. Among observed effects the new one is an unusually active angiogenesis at early stage of tumor formation accompanied by atypical tortuous vessels with growth rate up to 3 mm/day. Two-wave excitation simultaneous laser with excitation on wavelength of 390 nm and 635 nm is shown to be promising for autofluorescence diagnosis along with single-wave excitation which is conventionally performed in the violet-blue region of the spectrum. This mode of excitation allows detecting the increased level of protoporphyrin IX even at early stage of carcinogenesis. The fluorescence due to active synthesis of protoporphyrin IX was shown to correlate with density of vessels. Increase of this fluorescence is observed also for aseptic inflammation but it has diffuse pattern which allows differentiating it from local fluorescence image at the site of tumor formation. The possibility of successful achievement of high-quality image using multispectral imaging and also optimization of registration settings were demonstrated in the experiment. The study of surgical specimen showed capabilities of imaging and measurement of autofluorescence in tumor tissue. The obtained results are intended to help in the development of endoscopic methods of imaging and devices for diagnosis of early tumors.

**Keywords:** fluorescence diagnosis, autofluorescence, multispectral video system, malignant tumor.

**Контакты:** Папаян Г.В. E-mail: [pgarry@mail.ru](mailto:pgarry@mail.ru)

# ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА КОЖИ С ПРЕПАРАТОМ АЛАСЕНС

С.В. Евстифеев, М.Т. Кулаев, А.З. Альмяшев, П.И. Скопин, И.В. Бегоулов, О.А. Рыбкина  
ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарёва», г. Саранск

## Резюме

В статье приведены результаты лечения больных раком кожи методом фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом аласенс. В исследование включены 25 пациентов с I стадией опухолевого процесса, в том числе 23 пациента с ранее не леченной опухолью и 2 – с рецидивом заболевания. У 17 пациентов была диагностирована поверхностная форма опухоли, у 8 – узловая.

Аласенс применяли местно, в виде аппликации 20%-ой мази, на поражённый участок кожи с экспозицией в течение 6 ч. Сеанс ФДТ проводили однократно сразу после завершения экспозиции (плотность мощности лазерного излучения 50–100 мВт/см<sup>2</sup>, плотность энергии – 150–200 Дж/см<sup>2</sup>). Всем пациентам проводилась флюоресцентная диагностика (ФД) до аппликации мази и перед проведением ФДТ.

Результаты ФД показали, что интенсивность флюоресценции порфиринов в опухоли до введения аласенса практически не отличается от флюоресценции порфиринов в здоровой коже (12,5±0,7 и 10,0±0,7 отн. ед., соответственно). Через 6 ч после начала аппликации мази с аласенсом интенсивность флюоресценции протопорфирина IX в опухоли возрастает почти в 5 раз (59,7±5,3 отн. ед.), интенсивность флюоресценции в здоровой коже остается практически на уровне исходных значений в течение всего периода наблюдения (максимально 11,6±1,0 отн. ед.).

Через 2 мес. после проведения ФДТ полная регрессия опухоли была подтверждена у 21, частичная – у 3 и стабилизация – у 1 пациента. При этом у больных с поверхностной формой заболевания в 94,1% случаев была зарегистрирована полная регрессия опухоли и в 5,9% – частичная регрессия, в то время как у больных с узловой формой – в 62,5% и в 25% соответственно; стабилизация – в 12,5%.

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, флюоресцентная диагностика, аласенс, рак кожи, интенсивность флюоресценции.

## Введение

Среди причин смертности населения трудоспособного возраста злокачественные новообразования занимают третью позицию вслед за заболеваниями сердечно-сосудистой системы и травмами. В связи с этим, задачей государственной важности является совершенствование существующих и разработка новых методов лечения онкологических заболеваний. По данным РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН злокачественные заболевания кожи по частоте встречаемости занимают второе место у женщин и третье место у мужчин, составляя 14,4% и 10,1%, соответственно.

Наиболее распространенной злокачественной эпителиальной опухолью кожи является базальноклеточный рак кожи, доля которого в общей структуре злокачественных новообразований кожи составляет около 75% и продолжает постоянно увеличиваться. На долю плоскоклеточного рака кожи приходится до 20% всех злокачественных новообразований кожи [1–3].

Стандартные методы лечения рака кожи представлены лучевой терапией, хирургическим удалением, криодеструкцией, лазерной абляцией, химиотерапией, а также комбинацией этих методов [2, 4]. К осложнениям указанных методов относятся высокая токсичность химиотерапии, послеоперационные рубцы при хирургическом лечении, а также достаточно высокая частота рецидивирования опухоли [5–11].

В последние годы в зарубежной и отечественной литературе появились многочисленные публикации, в которых приводятся результаты успешного использования фотодинамической терапии (ФДТ) для лечения рака кожи с производными фталоцианинов, гематопорфирина и хлорина е<sub>6</sub> [12–20]. Перспективность применения метода ФДТ связана с высокой избирательностью воздействия на опухолевые ткани, что объясняется селективностью накопления фотосенсибилизатора в опухоли и направленностью лазерного облучения, а также возможностью многократного применения, отсутствию токсических и иммунодепрессивных реакций [16, 21–23].

Одним из путей создания эффективных концентраций фотосенсибилизатора в опухолевой ткани является стимуляция организма к продукции эндогенных фотоактивных соединений – порфиринов и, в частности, протопорфирина IX (ППИХ). 5-аминолевулиновая кислота (5-АЛК) – соединение, эффективно индуцирующее синтез эндогенного ППИХ. Известно, что опухолевые клетки способны к повышенному накоплению фотоактивного ППИХ в присутствии экзогенной 5-АЛК, обусловленному повышенной активностью в опухолевых клетках ферментов начального этапа синтеза гема, а также дефицитом в них феррохелатазы – фермента, превращающего ППИХ в гем [21, 22, 24].

Накопление ППХ в клетках опухоли происходит в течение нескольких часов и высокий уровень его удерживается в течение 1 сут., в то время как в нормальных клетках ППХ быстро утилизируется путем превращения его в фотонеактивный гем. Результатом этого является высокий флюоресцентный контраст между опухолью и окружающей тканью, достигающий 10–15-кратной величины для различных опухолей, что является важным фактором для визуализации границ новообразования при проведении флюоресцентной диагностики (ФД) [21, 22].

### **Материалы и методы**

Целью работы была оценка эффективности ФД и ФДТ у больных раком кожи с использованием препарата аласенс.

Работа была выполнена в лаборатории биоспектроскопии, лазерной и фотодинамической терапии кафедры онкологии Мордовского государственного университета имени Н.П. Огарёва на базе Мордовского республиканского клинического онкологического диспансера. Для проведения ФД и ФДТ использовали комплекс ДТК-3М (ЦЕНИ ИОФ имени А.М. Прохорова РАН, Москва).

В исследование включены 25 пациентов с диагнозом рак кожи, из них 10 мужчин и 15 женщин в возрасте от 37 до 72 (в среднем 58) лет. Плоскоклеточный рак кожи был диагностирован у 1 больного, базальноклеточный рак кожи – у 24 пациентов. У всех пациентов была установлена I стадия заболевания. У большинства больных (17 пациентов) преобладала поверхностная форма заболевания, узловая форма была диагностирована у 8 больных.

Локализация опухолевого процесса у обследованных больных была различна: в 10 наблюдениях было поражение кожи щеки, в 7 – кожи носа, в 2 – кожи лба, в 2 – кожи нижнего века, в 2 – кожи верхней губы, в 1 – кожи передней грудной стенки и в 1 случае наблюдалась мультицентрическая форма базальноклеточного рака кожи.

У 23 пациентов диагноз был поставлен впервые, у 2 – диагностирован рецидив рака кожи после предшествующего лечения (близкофокусной рентгенотерапии).

Перед началом лечения и после окончания ФДТ больным проводилось комплексное обследование, включающее консультацию терапевта, ЭКГ, клинический и биохимический анализы крови и общий анализ мочи.

Для индуцирования синтеза эндогенного ППХ применяли препарат аласенс, который использовали местно в виде аппликации 20%-ой мази на поражённый участок кожи с экспозицией 6 ч. После окончания экспозиции проводили сеанс ФДТ. Плотность мощности лазерного излучения составляла 50–100 мВт/см<sup>2</sup>. Световая доза одного сеанса облучения – 150–200 Дж/см<sup>2</sup>. Продолжительность сеанса ФДТ составляла в среднем 30 мин.

ФД у больных проводилась до аппликации мази и через 6 ч после начала экспозиции. В качестве источника излучения, возбуждающего флюоресценцию ППХ

в биологических тканях, использовали излучение He-Ne лазера (385–440 нм). Средняя мощность лазерного излучения составляла 2 мВт, плотность энергии локального лазерного облучения на поверхности тканей в процессе одного обследования – 1 Дж/см<sup>2</sup>.

### **Результаты и обсуждение**

Проведённое исследование показало, что диагностический параметр (ДП) до аппликации мази с аласенсом в области здоровой кожи у обследованных больных в среднем составил 10,0 отн. ед., над центром опухолевого очага – 12,5 отн. ед., а на границе опухоль/здоровая кожа – 11,2 отн. ед.

Через 6 ч после начала экспозиции мази средние значения ДП в центре опухоли возросли до 59,7 отн. ед., на границе опухоль/здоровая кожа – до 38,6 отн. ед. Через 12 и 24 ч от начала экспозиции ДП в здоровой коже составил в среднем 11,4 и 11,6 отн. ед. (табл. 1).

Данные по динамике коэффициента флюоресцентной контрастности (КФК), показывающего отношение ДП в опухолевом очаге к ДП в здоровом участке кожи, представлены в табл. 2.

После 6 ч экспозиции мази с аласенсом КФК между центром опухоли и здоровой кожей возрос до 5,4. КФК между границей опухоли и здоровой кожей составил при этом 3,4.

Полученные данные свидетельствуют о слабом различии естественной интенсивности флюоресценции в опухолевых очагах по сравнению со здоровой кожей. Градиент накопления эндогенного ППХ опухоль/здоровая кожа до применения препарата аласенс был невысоким. Отмечено, что через 6 ч после аппликации аласенса наблюдалась селективность накопления ППХ в опухоли, наиболее выраженная в центре опухолевых очагов, где интенсивность флюоресценции в 5 раз превышала таковую в здоровой коже.

Во время проведения сеансов ФДТ у 20 (80%) больных отмечалось незначительное жжение в зоне облучения, у 5 (20%) пациентов наблюдались умеренно выраженные болевые реакции, не требовавшие введения обезболивающих средств.

У всех больных после завершения сеансов ФДТ отмечалась умеренно выраженная гиперемия кожи в зоне облучения, у большей части из них (14 больных) сопровождавшаяся невыраженным отёком. Указанные явления носили нестойкий характер и обычно проходили на следующий день после лечения.

Аллергических реакций непосредственно на применение препарата аласенс не отмечено. При анализе клинико-лабораторных и биохимических показателей сыворотки крови больных в процессе флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии изменений не выявлено.

Полученные данные указывают на хорошую переносимость фотодинамической терапии с препаратом аласенс у больных раком кожи. Проявлений общей фототоксичности у пациентов не наблюдалось.

**Таблица 1.**  
 Интенсивность флюоресценции у больных раком кожи при местном применении аласенса

Временной интервал	Диагностический параметр		
	Здоровая кожа	Центр опухолевого очага	Граница опухоль/здоровая кожа
До аппликации мази аласенс	10,0±0,7	12,5±0,7 (p<0,05)	11,2±0,7 (p>0,05) (p1>0,05)
Через 6 ч после начала экспозиции мази аласенс	11,3±1,0	59,7±5,3 (p<0,01)	38,6±1,1 (p<0,01) (p1 <0,01)
Через 12 ч после начала экспозиции мази аласенс	11,4±0,9	-	-
Через 24 ч после начала экспозиции мази аласенс	11,6±1,0	-	-

\* p – критерий достоверности различия между ДП в здоровой коже и опухолевом очаге, p1 – между ДП в центре опухолевого очага и границе опухоль/здоровая кожа.

**Таблица 2.**  
 Динамика коэффициента флюоресцентной контрастности у обследованных больных

КДК	Временной интервал	
	До аппликации мази аласенс	Через 6 ч после начала экспозиции мази аласенс
центр опухоли / здоровая кожа	1,2±0,1	5,4±0,8 (p<0,01)
граница опухоли / здоровая кожа	1,1±0,1	3,4±0,3 (p<0,01)

\* p – критерий достоверности различия между коэффициентом флюоресцентной контрастности до аппликации мази аласенс и после её экспозиции.

Оценка эффективности проведённого лечения у больных раком кожи проводилась через 1 и 2 мес. на основании данных динамики изменения размеров опухоли (визуально и по данным цитологического исследования).

Через 1 мес. после проведения лечения у 22 больных раком кожи был зарегистрирован полный эффект, выражающийся в полном исчезновении всех проявлений болезни, у 2 пациентов – частичный эффект в виде уменьшения размеров опухолевого очага более чем на 50%; у 1 больного эффект лечения оценен как стабилизация, выражающаяся в уменьшении опухоли менее чем на 50%.

Через 2 мес. после проведения фотодинамической терапии полный эффект был подтверждён у 21 больного, частичный – у 3 больных и стабилизация – у 1 пациента.

При оценке результатов лечения в зависимости от клинической формы рака кожи было отмечено, что у 16 больных с поверхностной формой заболевания был зарегистрирован полный эффект и лишь у одного – частичный, в то время как у больных с узло-

вой формой рака кожи полный эффект был отмечен у 5 пациентов, частичный – у 2 и у 1 – зафиксирована стабилизация процесса (табл. 3).

## Заключение

Полученные результаты показали высокую эффективность локальной флюоресцентной спектроскопии в планировании сеансов ФДТ рака кожи с препаратом аласенс. Интенсивность флюоресценции в центре опухолевых очагов через 6 ч после аппликации аласенса в 5 раз превышала таковую в здоровой коже.

Результаты фотодинамической терапии (полный эффект отмечен у 84% больных, частичный – у 12%, стабилизация – у 4%) свидетельствует о высокой эффективности фотодинамического метода с препаратом аласенс у больных раком кожи.

При оценке результатов лечения в зависимости от клинической формы рака кожи было отмечено, что лучший эффект ФДТ с аласенсом зарегистрирован при поверхностной форме заболевания.

**Таблица 3.**  
 Результат ФДТ рака кожи

Клиническая форма рака кожи	Количество пациентов	Эффект через 2 мес. после ФДТ		
		ПР	ЧР	СТ
Поверхностная	17	16 (94,1%)	1 (5,9 %)	–
Узловая	8	5 (62,5%)	2 (25%)	1 (12,5%)
<b>ВСЕГО:</b>	<b>25</b>	<b>21</b>	<b>3</b>	<b>1</b>

ПР – полная регрессия; ЧР – частичная регрессия; СТ – стабилизация.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов А.М. Опухоли кожи // Российский медицинский журнал. – 2001. – Т. 9, № 3–4. – С. 1–8.
2. Акимов В.А. Пroliferативные заболевания кожи. – М., 1998. – С. 30–33.
3. Christenson L.J. et al. Incidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years // JAMA. – 2005. – Vol. 294, №6. – P. 681–690.
4. Шенталь В. В., Пустынский И. Н., Малаев С. Г. Рак кожи // Мед. помощь. – 2000. – № 4. – С. 6–10.
5. Ежова М.Н. Современные методы терапии различных форм базальноклеточного рака кожи // Рос. журн. кож. и вен. болезней. – 1998. – № 2. – С. 8–12.
6. Овчинников Д.В. и др. Хирургическое и комбинированное лечение больных с местно-распространенными первичными и рецидивными злокачественными опухолями кожи и мягких тканей головы // Российский онкологический журнал. – 2002. – № 2. – С. 14–17.
7. Lane J.E., Kent D.E. Surgical margins in the treatment of nonmelanoma skin cancer and mohs micrographic surgery // Curr. Surg. – 2005. – Vol. 62, № 5. – P. 518–526.
8. Minton T.J. Contemporary Mohs surgery applications // Curr. Opin. Otolaryngol Head Neck Surg. – 2008. – No 4. – P. 376–380.
9. Дарьялова С.Л., Чиссов В.И. Диагностика и лечение злокачественных опухолей. – М.: Медицина, 1993. – 255 с.
10. Veness M., Richards S. Role of modern radiotherapy in treating skin cancer // Australas. J. Dermatol. – 2003. – № 44. – P. 159–166.
11. Скоропад Ю. Д. Частота рецидивов рака кожи после лучевой терапии // Мед. радиология. – 1980. – № 8. – С. 75–78.
12. Langmack K., Mehta R., Twyman P., Norris P. Topical photodynamic therapy at low fluence rates-theory and practice // Photochem Photobiol B. – 2001. – № 60 (1). – P. 37–43.
13. Wang I., Bendsoe N., Klinteberg C.A., Enejder A.M. et al. Photodynamic therapy vs. cryosurgery of basal cell carcinomas: results of a phase III clinical trial // Br. J. Dermatol. – 2001. – № 144 (4). – P. 832–840.
14. Allan E., Pye D.A., Levine E.L., Moore J.V. Non-invasive pulsed ultrasound quantification of the resolution of basal cell carcinomas after photodynamic therapy // Lasers Med Sci. – 2002. – № 17 (4). – P. 230–237.
15. Филоненко Е.В., Соколов В.В. Роль флюоресцентного исследования в выявлении рецидива рака кожи (клиническое наблюдение) // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – № 4. – С. 24–25.
16. Чиссов В. И., Соколов В.В., Филоненко Е.Ф. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей. Краткий очерк развития и клинического применения в России // Рос. хим. журн. – 1998. – № 5 (XLII). – С. 5.
17. Волгин В.Н., Странадко Е.Ф., Соколова Т.В. и соавт. Оптимизация режимов фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи с фотосенсом // Лазерная медицина. – 2007. – Т. 11, №1. – С. 50–54.
18. Ярославцева-Исаева Е.В., Каплан М.А., Капинус В.Н., Спиченкова И.С., Шубина А.М., Горанская Е.В. Фотодинамическая терапия в самостоятельном и комбинированном лечении местнораспро-

## REFERENCES

1. Vavilov A.M. Opukholi kozh (Skin tumors), *Rossiiskii meditsinskii zhurnal*, 2001, T. 9, № 3–4, pp. 1–8.
2. Akimov V.A. Proliferativnye zabolevaniya kozhi (Proliferative skin diseases), M., 1998, pp. 30-3.
3. Christenson L.J. et al. Incidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years, *JAMA*, 2005, Vol. 294, № 6, pp. 681–90.
4. Shental' V.V., Pustynskii I. N., Malaev S. G. Rak kozhi (Skin cancer), *Med. pomoshch'*, 2000, № 4, pp. 6–10.
5. Ezhova M.N. Sovremennyye metody terapii razlichnykh form bazal'nokletochnogo raka kozhi (Current methods of treating different types of basal-cell skin cancer), *Ros. zhurn. kozh. i ven. Boleznei*, 1998, № 2, pp. 8–12.
6. Ovchinnikov D.V et al. Khirurgicheskoe i kombinirovannoe lechenie bol'nykh s mestno-rasprostranennymi pervichnymi i retsidivnymi zlokachestvennymi opukholyami kozhi i myagkikh tkanei golovy (Surgical and combined modality treatment of patients with locally advanced primary and recurrent malignant skin and soft tissue tumors of head), *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*, 2002, № 2, pp. 14–7.
7. Lane J.E., Kent D.E. Surgical margins in the treatment of nonmelanoma skin cancer and mohs micrographic surgery, *Curr. Surg.*, 2005, Vol. 62, № 5, pp. 518–26.
8. Minton T.J. Contemporary Mohs surgery applications, *Curr. Opin. Otolaryngol Head Neck Surg.*, 2008, № 4, pp. 376–80.
9. Dar'yalova S.L., Chissov V.I. Diagnostika i lechenie zlokachestvennykh opukholei (Diagnosis and treatment of malignant tumors), M.: Meditsina, 1993, pp. 1–255.
10. Veness M., Richards S. Role of modern radiotherapy in treating skin cancer, *Australas. J. Dermatol.*, 2003, No. 44, pp. 159–66.
11. Skoropad Yu. D. Chastota retsidivov raka kozhi posle luchevoi terapii (Recurrent rates of skin cancer after radiotherapy), *Med. Radiologiya*, 1980, No. 8, pp. 75–8.
12. Langmack K., Mehta R., Twyman P., Norris P. Topical photodynamic therapy at low fluence rates-theory and practice, *Photochem Photobiol B*, 2001, No. 60(1), pp. 37–43.
13. Wang I., Bendsoe N., Klinteberg C.A., Enejder A.M. et al. Photodynamic therapy vs. cryosurgery of basal cell carcinomas: results of a phase III clinical trial, *Br. J. Dermatol.*, 2001, № 144 (4), pp. 832–40.
14. Allan E., Pye D.A., Levine E.L., Moore J.V. Non-invasive pulsed ultrasound quantification of the resolution of basal cell carcinomas after photodynamic therapy, *Lasers Med Sci.*, 2002, № 17 (4), pp. 230–37.
15. Filonenko E.V., Sokolov V.V. Rol' fluoorestsentnogo issledovaniya v vyavlenii retsidiva raka kozhi (Klinicheskoe nablyudenie) (Role of fluorescence study in diagnosis of recurrent skin cancer (case report)), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, № 4, pp. 24–5.
16. Chissov V.I., Sokolov V.V., Filonenko E.F. Fotodinamicheskaya terapiya zlokachestvennykh opukholei. Kratkii ocherk razvitiya i klinicheskogo primeneniya v Rossii (Photodynamic therapy of malignant tumors. A brief history of development and clinical application in Russia), *Ros. khim. zhurn.*, 1998, № 5 (XLII), p. 5.

- страненного базальноклеточного рака кожи // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2012. – № 1. – С. 6–11.
19. Странадко Е.Ф., Волгин В.Н., Рябов М.В. Фотодинамическая терапия базальноклеточного рака кожи с применением фотогема // Клинич. дерматология и венерология. – 2008. – № 6. – С. 28–33.
  20. В.Н. Капинус, М.А. Каплан, И.С. Спиченкова, А.М. Шубина, Е.В. Ярославцева-Исаева Фотодинамическая терапия эпителиальных злокачественных новообразований кожи // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2014. – № 3. – С. 9–14.
  21. Лукьянец Е.А. Поиск новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – № 3. – С. 3–16.
  22. Вакуловская Е.Г., Любаев В.Л., Поддубный Б.К., Кувшинов Ю.П., Таболинская Т.Д., Летыгин В.П., Кондратьева Т.Т., Унгиадзе Г.В., Погодина Е.М., Кудашев Б.В., Губин А.Н., Кузнецов В.В., Грицай А.Н. Современные возможности флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии // Вестник Московского онкологического общества. – 2007. – № 4. – С. 3–4.
  23. Мачинская Е.А., Иванова-Радкевич В.И. Обзор механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов различной химической структуры в опухолевой ткани // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – № 4. – С. 19–23.
  24. Foley P. Clinical efficacy of methyl aminolevulinate (Metvix (R) photodynamic therapy // J. Dermatology Treat. – 2003. – Vol. 14, Suppl. 3. – P. 15–22.
  17. Volgin V.N., Stranadko E.F., Sokolova T.V. i soavt. Optimizatsiya rezhimov fotodinamicheskoi terapii bazal'nokletochnogo raka kozhi s fotosensom (Optimization of photodynamic therapy regimes applied for treating basal-cell skin cancer with Photosense), *Lazernaya meditsina*, 2007, T. 11, № 1, pp. 50–4.
  18. Yaroslavtseva-Isaeva E.V., Kaplan M.A., Kapinus V.N., Spichenkova I.S., Shubina A.M., Goranskaya E.V. Fotodinamicheskaya terapiya v samostoyatel'nom i kombinirovannom lechenii mestnorasprostranennogo bazal'nokletochnogo raka kozhi (Photodynamic therapy in treatment of locally advanced forms of basic cell skin carcinoma), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2012, № 1, pp. 6–11.
  19. Stranadko E.F., Volgin V.N., Ryabov M.V. Fotodinamicheskaya terapiya bazal'nokletochnogo raka kozhi s primeneniem fotogema (Photodynamic therapy with photogem for basal-cell carcinoma of the skin), *Klinich. dermatologiya i venerologiya*, 2008, № 6, pp. 28–33.
  20. Kapinus V.N., Kaplan M.A., Spichenkova I.S., Shubina A.M., Yaroslavtseva-Isaeva E.V. Fotodinamicheskaya terapiya epiteliial'nykh zlokachestvennykh novoobrazovaniy kozhi (Photodynamic therapy for epithelial malignant neoplasms of skin), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2014, № 3, pp. 9–14.
  21. Luk'yanets E.A. Poisk novykh fotosensibilizatorov dlya fotodinamicheskoi terapii (Search for photosensitizers in photodynamic therapy), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, № 3, pp. 3–16.
  22. Vakulovskaya E.G., Lyubaev V.L., Poddubnyi B.K., Kuvshinov Yu.P., Tabolinovskaya T.D., Letyagin V.P., Kondrat'eva T.T., Ungiadze G.V., Pogodina E.M., Kudashov B.V., Gubin A.N., Kuznetsov V.V., Gritsai A.N. Sovremennye vozmozhnosti flyuorestsentnoi diagnostiki i fotodinamicheskoi terapii (Current capabilities of fluorescence diagnosis and photodynamic therapy), *Vestnik Moskovskogo onkologicheskogo obshchestva*, 2007, № 4, pp. 3–4.
  23. Machinskaya E.A., Ivanova-Radkevich V.I. Obzor mekhanizmov selektivnogo nakopleniya fotosensibilizatorov razlichnoi khimicheskoi struktury v opukholevoi tkani (Review of selective accumulation of photosensitizers with different chemical structure in tumor tissue), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, № 4, pp. 19–23.
  24. Foley P. Clinical efficacy of methyl aminolevulinate (Metvix (R) photodynamic therapy, J. Dermatology Treat., 2003, Vol. 14, S. 3, pp. 15–22.

## FLUORESCENCE DIAGNOSIS AND PHOTODYNAMIC THERAPY OF SKIN CANCER WITH ALASENS

Evstifeev SV, Kulaev MT, Al'myashev AZ, Skopin PI, Begoulov IV, Rybkina OA  
N.P. Ogarev Medical State University, Saransk

The results of treatment in patients with skin cancer using the method of photodynamic therapy (PDT) with alasens are represented in the article. The study enrolled 25 patients with stage 1 tumor including 23 patients with previously untreated tumors and 2 – with recurrent disease. Superficial tumor was diagnosed in 17 patients and 8 patients had nodal tumor.

Alasens was used locally as application of 20% ointment on involved skin area with 6h exposure. The PDT session was performed on a single occasion immediately after the end of exposure (power density of laser irradiation of 50–100 mW/cm<sup>2</sup>, light dose – 150–200 J/cm<sup>2</sup>). All patients had fluorescence diagnosis (FD) prior to application of the ointment and before PDT.

The results of FD showed that intensity of porphyrin fluorescence in tumor prior to administration of alasens had near no difference from intensity of porphyrin fluorescence in normal skin (12.5±0.7 and 10.0±0.7 r.u., respectively). Six hours after application of the ointment with alasens the fluorescence intensity of protoporphyrin IX increased almost 5-fold (59.7±5.3 r.u.), the fluorescence intensity in normal skin remained near baseline level during the follow-up period (maximally 11.6±1.0 r.u.).

Two months after PDT the complete tumor regression was confirmed in 21 patients, partial – in 3 and stabilization of tumor growth in 1 patient. In addition, patients with superficial disease had complete regression in 94.1% of cases and partial regression in 5.9% while for patients with nodal tumor – 62.5% and 25%, respectively, stabilization – in 12.5%.

**Keywords:** photodynamic therapy, fluorescence diagnosis, alasens, skin cancer, intensity of fluorescence.

**Контакты:** Евстифеев С.В. E-mail: evst-sv@mail.ru

# СИСТЕМНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН В ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С РЕГИОНАРНЫМИ И ОТДАЛЕННЫМИ МЕТАСТАЗАМИ

М.А. Каплан, А.М. Шубина, И.А. Замулаева, Е.И. Селиванова, Е.Г. Кузьмина,  
Н.П. Ткаченко, И.Г. Закурдяева, В.Н. Капинус, Е.В. Горанская  
ФГБУ Медицинский радиологический научный центр МЗ РФ, г. Обнинск

## Резюме

Приведены результаты применения фотодинамической терапии (ФДТ) у 76 пациентов с опухолями различной локализации и наличием регионарных или отдаленных метастазов. Шестьдесят три пациента находились в процессе комбинированного или комплексного лечения, 13 пациентам системная ФДТ проводилась как монотерапия. Методика проведения ФДТ заключалась в следующем: внутривенно вводили раствор фотосенсибилизатора фотолон в дозе 0,8–1,4 мг/кг массы тела. Одновременно проводили лазерное облучение крови больного (длина волны 662 нм, мощность лазера на выходе 20 мВт, время облучения 50 мин). Стабилизация процесса в виде отсутствия новых очагов опухоли наблюдалась у 55% пролеченных пациентов: в том числе у 47% больных с диссеминированной меланомой в течение 6–10 мес. после лечения, у 65% больных раком молочной железы – в течение 3–6 лет после лечения, а также у 100% больных с онкологической патологией другой локализации (рак прямой и ободочной кишки, поджелудочной железы, шейки матки, яичников, легкого и желудка, нейробластома забрюшинного пространства) – в течение 10–12 мес. после лечения. По данным УЗИ, отмечено уменьшение размеров большей части метастатических очагов вплоть до их полного исчезновения. Авторы считают, что реализация эффектов системной ФДТ происходит за счет уменьшения циркулирующих в крови опухолевых клеток, а также вследствие положительного влияния данного вида лечения на иммунный статус онкологических больных. Показано, что применение внутривенной ФДТ позволяет улучшить результаты лечения и качество жизни больных с метастазами злокачественных новообразований. Апробированная методика представляет значительный интерес, что требует дальнейшего изучения ее эффективности, в том числе, в сочетании с методами комбинированного и комплексного лечения.

**Ключевые слова:** системная фотодинамическая терапия, отдаленные метастазы, регионарные метастазы, фотолон.

## Введение

Проблема заболеваемости и смертности от злокачественных заболеваний – одна из наиболее актуальных в современной медицине. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно в мире от рака умирает более 4 миллионов человек. Рак входит в число трех основных причин смерти во всех возрастных группах населения, как в экономически развитых, так и в развивающихся странах. Мировой опыт свидетельствует, что в случаях выявления и своевременного лечения онкологических заболеваний I–II стадии показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составляет 80–90%, а III стадии не превышает 30–40%. Исходя из данных онкологической статистики, более половины больных с локальными формами солидных опухолей умирает от метастатического процесса. Эти показатели остаются неизменными в течение последних 50 лет [1–4]. Причина этого, с одной стороны, недостаточная эффективность традиционных методов лечения, с другой – большой процент выявления заболевания на поздних стадиях. Так, например, в 2008 г. удельный вес больных меланомой III–IV стадий составил 29,2% от общего числа пациентов с впервые выявленным диагнозом [5].

Лечение больных с наличием метастазов опухолей различной локализации предусматривает использование хирургического, лучевого и лекарственного методов или их комбинации, однако ожидаемые результаты лечения остаются неудовлетворительными. Все это заставляет искать новые пути лечения онкологических заболеваний. Одним из перспективных методов, применяемых в онкологии, является фотодинамическая терапия. Суть метода состоит в использовании фотосенсибилизаторов – веществ, обладающих свойством накапливаться в опухолевой ткани в значительно большем количестве чем в здоровых тканях и органах. При облучении светом, спектральный состав которого соответствует спектру поглощения фотосенсибилизатора, в опухолевых клетках развивается фотохимическая реакция, результатом которой является разрушение клетки. ФДТ – сложное воздействие, важной частью которого является влияние на клетки иммунной системы. Уникальность действия ФДТ обусловлена индукцией повреждений биологических структур под действием природных регуляторов клеточной пролиферации, метаболизма и апоптоза [6]. В настоящее время рассматривается три основных механизма противоопухолевого действия ФДТ:

прямое повреждение опухолевых клеток, нарушение сосудистой стромы опухолей [7], элиминация под действием иммунных клеток [8]. Данные механизмы описаны при использовании стандартной фотодинамической терапии, при которой лазерный свет подводится непосредственно к опухоли.

Фотодинамическая терапия применяется в основном для радикального удаления опухолей или паллиативного лечения ряда заболеваний. Эффективность применения ФДТ в качестве воздействия на диссеминированные опухоли требует дальнейшей разработки.

Цель работы – изучение эффективности системной ФДТ у больных с наличием отдаленных метастазов опухолей различной локализации.

## Материалы и методы

В исследовании участвовали 76 пациентов в возрасте от 22 до 73 лет (29 мужчин, 47 женщин) с опухолями различной локализации и регионарными или отдаленными метастазами. У 34 больных была диагностирована диссеминированная меланома, у 20 – рак молочной железы, у 4 – рак толстого кишечника, у 3 – рак поджелудочной железы, у 3 – рак шейки матки, у 9 – рак яичников, у 1 – рак легкого, у 1 – рак желудка, у 1 пациента – нейробластома забрюшинного пространства. Диагноз был поставлен на основании данных клинического, рентгенологического и ультразвукового исследований и во всех случаях подтвержден морфологически. Метастазы у пациентов локализовались в регионарных лимфатических узлах, в коже, мягких тканях, костях и паренхиматозных органах. Шестьдесят три пациента находились в процессе комбинированного или комплексного лечения, 13 пациентам системная ФДТ проводилась как монотерапия.

Системная ФДТ проводилась всем пациентам по следующей методике: внутривенно капельно в кубитальную вену пациенту вводили раствор фотосенсибилизатора хлоринового ряда – фотолон в дозе 0,8–1,4 мг/кг массы тела. Одновременно проводилось лазерное облучение крови больного на аппаратах «Аткус 0,4» или «Латус 0,4» (длина волны лазерного излучения 662 нм) с использованием световода с насадкой для ВЛОК, вводимой в кубитальную вену второй руки. Параметры облучения: мощность 20 мВт, время облучения 50 мин. В течение 3 сут. после введения фотосенсибилизатора пациенты соблюдали световой режим.

Шестнадцать больным было проведено два курса системной ФДТ с интервалом 7 дней. Остальным пациентам проведено от 3 до 8 повторных курсов.

У 24 пациентов дополнительно исследовали состояние иммунного статуса до и через 7 дней после проведения системной ФДТ.

Кровь 16 пациентов исследовали для определения количества циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК). Образцы крови больных окрашивали с помощью

моноклональных антител к CD44, CD45 и EpCam. Для исключения дебриса использовали Хехст33342. Окрашенные образцы анализировали на проточном цитофлюориметре FACS Vantage (BDIS, USA), оснащенном лазерами, длина волны излучения которых составляла 488 и 364 нм. Среди ядросодержащих клеток крови больных до лечения, через 6 ч и 7 сут. после проведения ФДТ определяли относительное количество (частоту) CD44+CD45-EpCam+Хехст33342+ циркулирующих опухолевых клеток.

## Результаты

По данным лабораторного исследования, после проведения ФДТ наблюдалось уменьшение частоты циркулирующих опухолевых клеток в крови пациентов. Медиана этого показателя у больных до лечения составляла  $4,5 \cdot 10^{-4}$ , через 6 ч после ФДТ –  $3,5 \cdot 10^{-4}$ , через 7 суток –  $2,2 \cdot 10^{-4}$ . Соответствующие границы нижнего и верхнего квартилей:  $(1,5-9,7) \cdot 10^{-4}$ ,  $(1,1-4,9) \cdot 10^{-4}$  и  $(0,5-6,3) \cdot 10^{-4}$ . На индивидуальном уровне уменьшение частоты ЦОК после ФДТ отмечено у 10 из 16 обследованных. Таким образом, системная ФДТ привела к быстрому уменьшению относительного числа ЦОК, этот эффект сохраняется и даже усиливается к 7-м суткам после проведенного лечения.

Оценка иммунного статуса до и после ФДТ показала, что на 5–7-е сутки после проведения лечения происходит изменение показателей клеточного и гуморального иммунитета, при этом направленность изменений зависит от состояния иммунитета пациента до его проведения. Так, общее число лимфоцитов повысилось в группе пациентов с относительно низким исходным уровнем клеточного иммунитета; не изменилось в группе пациентов со средним исходным уровнем, близким к норме; снизилось в группе с высоким исходным уровнем.

Наблюдаемая динамика изменения общего числа лимфоцитов была обусловлена аналогичными изменениями в реакции Т-общих (CD3) и активированных Т (CD3HLADR) клеток, а также похожими изменениями числа Т-хелперов (CD4+) и Т киллеров (CD3+). Кроме того, в результате системной ФДТ изменилось число и функциональная активность В клеток (CD19+) и НК лимфоцитов (CD16+, спонтанная цитотоксичность), увеличилась поглотительная функция фагоцитов. Из этого можно сделать вывод, что системная ФДТ обладает иммуномодулирующим действием.

Клинически эффективность системной ФДТ оценивали по изменению качества жизни больных, данным клинического осмотра, данным рентгенологического и УЗИ-исследований, изменению размеров метастатических очагов, а также по появлению или отсутствию новых очагов в пределах наблюдаемого периода. У 26 (22%) больных в течение 1–2 сут. непосредственно после сеанса ФДТ наблюдали повышение температуры тела до субфебрильных и фебрильных значений. Повышение качества жизни

(уменьшение болевого синдрома и общей слабости, улучшение аппетита) отметили 44 (38%) пациента, получивших системную ФДТ.

У 16 из 34 больных с диссеминированной меланомой, с поражением лимфатических узлов и паренхиматозных органов наблюдали стабилизацию процесса: в течение 6–10 мес. после лечения не появлялись новые очаги. В результате лечения 12 пациентов с метастазами меланомы в регионарные лимфатические узлы объективный ответ (полная регрессия + частичная регрессия) составил 41%. Через 2–3 недели после проведения системной ФДТ пораженные узлы уменьшились в размерах, при этом конгломераты разделялись на отдельные участки. УЗИ показало, что структура лимфоузлов становилась из гипоехогенной изоэхогенной. Медиана времени до прогрессирования заболевания у этих пациентов составила  $6,9 \pm 2,4$  мес. У 5 пациентов через 2–3 недели после проведения системной ФДТ внутрикожные метастазы меланомы перестали определяться как пальпаторно, так и при ультразвуковом исследовании. Из 13 больных меланомой кожи и метастатическим поражением легких у 10 (77%) наблюдали стабилизацию процесса в виде отсутствия новых очагов в течение 6–10 мес. после лечения. Объективный ответ составил 10%, медиана времени до прогрессирования метастазов в лёгкие –  $6,0 \pm 2,1$  мес. Сравнение результатов комбинированного лечения диссеминированной меланомы кожи с применением системной ФДТ и данными лечения контрольной группы показало, что результаты улучшились на 20–30%.

Среди 20 больных раком молочной железы прогрессирование заболевания отмечено в 7 случаях, скончались 5 (25%) пациенток, из которых трое больных с заболеванием в IV стадии умерли в течение 1 года после ФДТ и 2 пациентки с III стадией – в течение 2 лет после ФДТ ( у больных диагностировано метастатическое поражение легких). У остальных 13 (65%) пациенток в течение 3–6 лет после проведенного лечения отмечена стабилизация процесса.

У 13 больных с опухолями другой локализации наблюдали стабилизацию процесса в течение 10–12 мес. после лечения. У 4 больных с метастатическим поражением печени, по данным ультразвукового исследования и СКТ, зарегистрировано уменьшение метастатических очагов.

## Обсуждение

### Возможные механизмы воздействия ФДТ на метастатические очаги

1. *Воздействие ФДТ на опухолевые клетки, ответственные за метастазирование опухоли*

В крови больных со злокачественными новообразованиями циркулирует определенное число опухолевых клеток, ответственных за гематогенное метастазирование опухоли. При метастазировании происходит целый ряд генетических и эпигенети-

ческих изменений молекул межклеточной адгезии; интегринов, обеспечивающих продвижение клетки; протеаз, которые обеспечивают деградацию внеклеточного матрикса; рецепторов роста и миграции [9]. Достаточно большое число измененных клеток обнаруживается в периферической крови больных даже на ранних стадиях развития заболевания [4]. При внутривенном введении фотосенсибилизатора циркулирующие в крови опухолевые клетки активно поглощают препарат. Этот процесс осуществляется за счет

- высокой скорости пролиферации, при которой наблюдается высокий уровень экспрессии LDL-рецепторов: опухолевые клетки захватывают многие препараты, в том числе гидрофобные фотосенсибилизаторы, которые переносятся по кровотоку липопротеидами низкой плотности (LDL);
- более низкого pH (увеличивается захват клеткой различных веществ с невысокой рКа);
- повышенного содержания в опухолевых клетках липидных телец и большей гидрофобности мембран по сравнению с мембранами нормальных клеток [10].

Флюоресцентная микроскопия показала, что фотосенсибилизатор первично адсорбируется на внешней мембране клетки, затем часть его проходит через мембрану внутрь клетки, где локализуется на мембранах органелл [11].

При внутривенном лазерном облучении крови в условиях внутривенного введения фотосенсибилизатора происходит фотохимическая реакция в циркулирующих опухолевых клетках. Молекула фотосенсибилизатора, поглотив квант света, переходит в возбужденное триплетное состояние, энергия которого переходит на внутриклеточные диссоциированные молекулы воды, образуя молекулярный синглетный кислород. Являясь мощным окислителем в клетке или околклеточном пространстве, синглетный кислород вступает в химические реакции с биологическими структурами, в частности запускает реакцию перекисного окисления липидов. В свою очередь, все мембранные структуры клетки представляют собой липопротеиновые образования. Таким образом, фотосенсибилизатор, накопившийся в патологической клетке и под воздействием световой энергии приведший к фотохимической реакции, является универсальным поражающим агентом как внутри клетки, так и вне ее. Поэтому одним из возможных механизмов воздействия системной ФДТ на метастатические очаги является уменьшение числа циркулирующих в крови опухолевых клеток, что важно для предотвращения отдаленного метастазирования и улучшения прогноза заболевания.

2. *Деструкция циркулирующих в крови раковых клеток приводит к цепной реакции образования свободных радикалов*

Фотодинамические реакции могут генерировать свободные радикалы кислорода. В общем случае

они являются продуктами одно- и двухэлектронного спонтанного или ферментативного восстановления кислорода в присутствии ионов переходных металлов (меди и железа). При одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода образуется супероксиданион  $O_2^{\cdot-}$ . Концентрация  $O_2^{\cdot-}$  низка вследствие его спонтанной или ферментативной дисмутации с образованием перекиси водорода  $H_2O_2$ . В клетках накапливается в основном  $H_2O_2$ . При взаимодействии  $O_2^{\cdot-}$  с  $H_2O_2$  (реакция Фентона) образуется высокореактивный свободный радикал гидроксиланион  $HO\cdot$ , при взаимодействии  $O_2^{\cdot-}$  с  $NO$  – пероксинитрит  $\cdot ONOO$ .  $O_2^{\cdot-}$  оказывает избирательное повреждающее воздействие, он окисляет F-S кластеры в белках (активные центры ферментов), но не способен акцептировать водород и инициировать окисление липидов [12]. Время жизни синглетного кислорода в водных растворах, и особенно в биологических системах, очень короткое и определяется содержанием аминокислот и белков в среде. Из-за короткого времени жизни в клетках длина пробега молекулы  $O_2^{\cdot-}$  меньше или сопоставима с толщиной мембраны, то есть разрушительное действие  $O_2^{\cdot-}$  проявляется только в месте его генерации [13].  $O_2^{\cdot-}$  быстро распадается, действуя непосредственно в месте своего образования, то есть там, где присутствуют ионы железа. В липидном матриксе с ненасыщенными жирными кислотами (ЖК) взаимодействует  $HO\cdot$ , который акцептирует водород. Последующее окисление радикала  $L\cdot$  кислородом завершается образованием липоперексидов  $LOOH$  [14]. Липоперексиды относительно устойчивы, они мигрируют по организму, достигая мест, где содержатся ионы железа. Достигая опухолевого очага, липоперексиды подвергаются одноэлектронному восстановлению и последующей окисдации с образованием пероксильных радикалов  $OLOO\cdot$ , которые инициируют цепную реакцию своего собственного образования. Пероксинитриты могут взаимодействовать с окисью углерода, оказывая повреждающее действие на белки (образование нитротирозина) и окисляя липиды. Синглетный кислород,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO\cdot$ ,  $\cdot ONOO$  объединяют в группу под общим названием «активные формы кислорода» (АФК).

Для активных радикалов характерны цепные реакции. Стабилизируясь путем отрыва атома от молекулы, радикал порождает образование нового активного радикала из молекулы, с которой он столкнулся. Все повторяется до тех пор, пока цепь не оборвется за счет сдваивания одноименных или разноименных радикалов. Активный радикал быстро гибнет, но активных радикалов в цепной разветвленной реакции великое множество. Короткоживущие активные радикалы, особенно синглетный кислород, проявляют высокую цитотоксичность.

Общая схема окислительных реакций  $O_2^{\cdot-}$  с биологическими субстратами выглядит так:

- образование органических перекисей;
- распад перекисей с образованием  $RO$ -радикалов;
- цепные окислительные радикальные реакции.

### 3. Воздействие системной фотодинамической терапии на иммунную систему пациентов

При оценке воздействия на кровь низкоинтенсивного лазерного излучения была сформирована фотодинамическая гипотеза, основанная на наличии в крови эндогенных фотосенсибилизаторов (порфиринов) [15–17]. Логично предположить, что в случае введения извне дополнительных доз фотосенсибилизатора системные эффекты лазерного излучения значительно усиливаются.

Описание механизмов воздействия фотодинамической терапии на иммунную систему пациента при применении локальной ФДТ встречается в литературе [18–20]. Фотоокислительные нарушения, происходящие в опухолевой клетке при подведении лазерного света непосредственно к опухолевому очагу, индуцируют выделение медиаторов, провоцирующих местную воспалительную реакцию. Следствием этих процессов является окклюзия сосудов опухоли и индуцированная цитотоксическая активность клеток иммунной системы в отношении опухолевых клеток. Разрушение клеток и сосудов опухоли запускает специфические иммунные реакции. Рекрутируемые в область опухоли макрофаги и дендритные клетки захватывают и презентуют опухолевые антигены, обеспечивая узнавание эпитопов Т-лимфоцитами и их последующую активацию.

Существуют экспериментальные данные об активации звеньев иммунитета в ответ на фотодинамическое воздействие у животных-опухоленосителей [18, 20]. Показано, что в процессе ФДТ происходит выделение вазоактивных пептидов, влияющих на противоопухолевую систему организма-опухоленосителя и стимулирующих процессы некроза опухолей [19]. Данный белок обладает цитотоксическим действием, иммуномодулирующим и провоспалительным эффектом, участвует в противовирусном, противоопухолевом и трансплантационном иммунитете, стимулирует макрофаги.

Исходя из этих данных, можно предположить, что при разрушении циркулирующих в крови опухолевых клеток будут также выделяться биологически активные вещества, воздействующие на иммунные механизмы по типу воздействия специфической противоопухолевой вакцины, причем эти воздействия будут не локальными, а системными. Несмотря на то, что на иммунные механизмы противоопухолевого действия ФДТ приходится чуть больше 10%, их роль в повреждении опухолевых клеток признается все более значимой [6]. Хотя специфическая иммунная реакция может быть менее значимой, чем прямые повреждающие эффекты ФДТ, она важна для долгосрочного контроля роста и метастазирования злокачественной опухоли.

## Заключение

Полученные результаты лабораторных исследований позволяют сделать вывод о том, что реализация эффектов системной ФДТ возможна за счет уменьшения циркулирующих в крови опухолевых клеток, а также влияния на иммунный статус онкологических больных. Применение внутривенной ФДТ позволит улучшить результаты лечения и качество жизни

больных со злокачественными новообразованиями, в том числе в III–IV стадиях. Данный метод с успехом применяется в лечении больных с регионарными и отдаленными метастазами, но необходимо дальнейшее изучение его эффективности, в том числе, в сочетании с методами комбинированного и комплексного лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Грех И.Ф. Важнейшие факторы возникновения и развития рецидивов и метастазов злокачественных опухолей. Метастазирование злокачественных опухолей. – Л.: Медицина, 1971. – С. 7–90.
2. Evens A.M., Bitran J.D. Adjuvant chemotherapy // The Chemotherapy source book. 3d ed. / Edit. by M.Perry. Lippincott Williams & Wilkins, 2001. – P. 48–69.
3. Klein C.A., Holzel D. Systemic cancer progression and tumor dormancy // *Cell Cycle*. – 2006. – Vol. 5, №16. – P. 1788–1798.
4. Pantel K., Cote R.J., Fodstad O. Detection and clinical importance of micrometastatic disease // *J. Nat.Cancer Inst.* – 1999. – Vol. 91. – P. 1113–1124.
5. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2008 г. – М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена», 2009. – 192 с.
6. Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д. Иммунологические аспекты фотодинамической терапии // *Медицинская иммунология*. – 2003. – Т. 5. – № 5–6. – С. 507–518.
7. Evans S., Matthews W., Perry R. et al. Effect of photodynamic therapy on tumor necrosis factor production by murine macrophages // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1990 – Vol. 82 – P. 34–39.
8. Henderson B.W., Donovan J.M. Cellular prostaglandin E release after photodynamic therapy // *Lasers Med.Sci.* – 1988. – Vol. 3. – P. 103.
9. Hart I.R. Metastasis. Oxford textbook of oncology. 2nd ed. Edit. By R.Souhami, I.Tannock, P.Hohenberger / J. C. Horiot. Oxford University Press, 2002. – P. 102–113.
10. Luksiene Z. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment // *J. Medicina*. – 2003. – Vol.39. – №12. – P. 1137–1147.
11. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90. – P. 889–905.
12. Flint D.H., Tuminello J.E., Emptage M.H. The inactivation of Fe-S cluster containing hydro-lyases by superoxide // *J.Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268. – P. 22369–22376.
13. Красновский А.А. Фотосенсибилизированная фосфоресценция синглетного молекулярного кислорода: методы измерения и применение к анализу фотодеструктивных процессов в клетках // *Успехи биологической химии*. – 1999. – Т. 39. – С. 255–288.
14. Girotti A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems // *J. Lip. Res.* – 1998. – Vol. 39 (8) – P. 1529–1542.
15. Клебанов Г.И., Страшкевич И.В., Чичук Т.В., Модестова Т.М., Владимиров Ю.А. Влияние эндогенных фотосенсибилизаторов на лазер-индуцированный прайминг лейкоцитов крови // *Биол. мембраны*. – 1998. – Т. 15. – №3. – С. 273–285.
16. Клебанов Г.И., Ю.А. Владимиров. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов // *Успехи современной биологии*. – 1999. – Т.119. – №5. – С. 462–475.
17. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Башкуева Т.Ю., Модестова Т.М., Стеклова Л.С., Владимиров Ю.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на функциональный

## REFERENCES

1. Grekh I.F. Vazhneishie faktory vozniknoveniya i razvitiya retsidivov i metastazov zlokachestvennykh opukholei. Metastazirovanie zlokachestvennykh opukholei (Crucial factors of relapses and metastasis of malignant tumors), L.: Meditsina, 1971, pp. 7–90.
2. Evens A.M., Bitran J.D. Adjuvant chemotherapy, The Chemotherapy source book, 3d ed., edit. by M. Perry, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp. 48–69.
3. Klein C.A., Holzel D. Systemic cancer progression and tumor dormancy, *Cell Cycle*, 2006, Vol. 5, № 16, pp. 1788–98.
4. Pantel K., Cote R.J., Fodstad O. Detection and clinical importance of micrometastatic disease, *J. Nat.Cancer Inst.*, 1999, Vol. 91, pp. 1113–24.
5. Chissov V.I., Starinskii V.V., Petrova G.V. Sostoyanie onkologicheskoi pomoshchi naseleniyu Rossii v 2008 g. (Status of cancer care for Russian population), M.: FGU «MNIОI im. P.A. Gertsena», 2009, pp. 1–192.
6. Vasil'ev N.E., Sysoeva G.M., Danilenko E.D. Immunologicheskie aspekty fotodinamicheskoi terapii (Immunological aspects of photodynamic therapy), *Meditsinskaya immunologiya*, 2003, T. 5, № 5–6, pp. 507–18.
7. Evans S., Matthews W., Perry R. et al. Effect of photodynamic therapy on tumor necrosis factor production by murine macrophages, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, Vol. 82, pp. 34–9.
8. Henderson B.W., Donovan J.M. Cellular prostaglandin E release after photodynamic therapy, *Lasers Med. Sci.*, 1988, Vol. 3, p. 103.
9. Hart I.R. Metastasis. Oxford textbook of oncology. 2nd ed. Edit. By R. Souhami, I. Tannock, P. Hohenberger, J.C. Horiot. Oxford University Press, 2002, pp. 102–113.
10. Luksiene Z. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment, *J. Medicina*, 2003, Vol. 39, No. 12, pp. 1137–47.
11. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1998, Vol. 90, pp. 889–905.
12. Flint D.H., Tuminello J.E., Emptage M.H. The inactivation of Fe-S cluster containing hydro-lyases by superoxide, *J. Biol. Chem.*, 1993, Vol. 268, pp. 22369–76.
13. Krasnovskij A.A. Fotosensibilizirovannaja fosforescencija singletnogo molekulyarnogo kisloroda: metody izmerenija i primenenie k analizu fotodestruktyvnykh processov v kletkah (Photosensitized singlet molecular oxygen phosphorescence: methods of measurement and use for analysis of photodestructive processes in cells), *Uspehi biologicheskoy himii*, 1999, T. 39, pp. 255–88.
14. Girotti A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems, *J. Lip. Res.*, 1998, Vol. 39 (8), pp. 1529–42.
15. Klebanov G.I., Strashkevich I.V., Chichuk T.V., Modestova T.M., Vladimirov Yu.A. Vliyanie endogennykh fotosensibilizatorov na lazer-indutsirovannyi praiming leukotsitov krovi (Impact of endogenous photosensitizers on laser-induced priming of blood leukocytes), *Biol. Membrany*, 1998, T. 15, № 3, pp. 273–85.
16. Klebanov G.I., Vladimirov Yu.A. Kletochnye mekhanizmy praiminga i aktivatsii fagotsitov (Cellular mechanisms of priming and activation of phagocytes), *Uspekhi sovremennoi biologii*, 1999, T. 119, № 5, pp. 462–75.

- потенциал лейкоцитов // Бюлл. Эксп. Биол. мед. – 1997. – Т. 123. – №4. – С. 395–398.
18. Лаптев В.П., Киселевский М.И., Овчинников А.Е. и др. Влияние ФДТ с использованием препарата Хлорина-е6 на жизнеспособность и функциональную активность лимфоцитов периферической крови // Физическая медицина. – 2005. – Т. 15. – № 2. – С. 46–47.
19. Пасс Х.И. Фотодинамическая терапия в онкологии: механизмы и клиническое применение // Физическая медицина. – 1993. – Т. 3. – № 3–4. – С. 5–22.
20. Гельфонд М.Л. Барчук А.С. Предварительные результаты химиосенсибилизированной фотомодификации крови с препаратом «Фотодитазин» при распространенных злокачественных новообразованиях различной локализации // Российский биотерапевтический журнал. – 2005. – №1. – Т. 4. – С. 33–34.
21. Fingar V. Vascular effect of photodynamic therapy // J. Clin Laser Med Surg. – 1996. – Vol. 14. – P. 323–328.
17. Klebanov G.I., Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Bashkueva T.Yu., Modestova T.M., Steklova L.S., Vladimirov Yu.A. Vliyaniye nizkointensivnogo lazernogo izlucheniya na funktsional'nyi potentsial leukotsitov (Impact of low-intensity laser irradiation on functional capacity of leucocytes), *Byull. Eksp. Biol. med.*, 1997, T. 123, № 4, pp. 395–8.
18. Laptev V.P., Kiselevskii M.I., Ovchinnikov A.E. i dr. Vliyaniye FDT s ispol'zovaniem preparata Khlorina-e6 na zhiznesposobnost' i funktsional'nuyu aktivnost' limfotsitov perifericheskoi krovi (Impact of PDT with Chlorine-e6 on viability and functional activity of peripheral blood lymphocytes), *Fizicheskaya meditsina*, 2005, T. 15, № 2, pp. 46–7.
19. Pass Kh.I. Fotodinamicheskaya terapiya v onkologii: mekhanizmy i klinicheskoe primeneniye (Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use), *Fizicheskaya meditsina*, 1993, T. 3, № 3–4, pp. 5–22.
20. Gel'fond M.L. Barchuk A.S. Predvaritel'nye rezul'taty khimiosensibilizirovannoi fotomodifikatsii krovi s preparatom «Fotoditazin» pri rasprostranennykh zlokachestvennykh novoobrazovaniyakh razlichnoi lokalizatsii (Preliminary results of chemosensitized photomodification of blood with Fotoditazin for advanced malignant neoplasms of different sites), *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*, 2005, T. 4, № 1, pp. 33–4.
21. Fingar V. Vascular effect of photodynamic therapy, *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 1996, Vol. 14, pp. 323–8.

## SYSTEMIC PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTOSENSITIZER PHOTOLON IN THE TREATMENT OF CANCER PATIENTS WITH REGIONAL AND DISTANT METASTASES

Kaplan MA, Shubina AM, Zamulaeva IA, Selivanova EI, Kuz'mina EG, Tkachenko NP, Zakurdyayeva IG, Kapinus V.N., Goranskaya EV  
Medical radiological research center, Obninsk

The results of photodynamic therapy (PDT) in 76 patients with tumors of different sites and with regional or distant metastases are represented. Sixty three patients were under combined or multimodal therapy, 13 patients had systemic PDT as monotherapy. The technique of PDT was as follows: the solution of photosensitizer photolon was administered intravenously at dose of 0.8–1.4 mg/kg body weight. Laser blood irradiation was performed simultaneously (wavelength of 662 nm, output power of 20 mW, irradiation time of 50 min). Stabilization of the disease defined as the absence of new tumor foci was observed in 55% of treated patients: among them in 47% of patients with disseminated melanoma during 6–10 months after treatment, in 65% patients with breast cancer – for 3–6 years after treatment, and also in 100% of patients with cancer of other sites (colorectal, pancreatic, cervical, ovarian, lung and stomach cancer, retroperitoneal neuroblastoma) – for 10–12 months after treatment. According to ultrasound data the shrinkage of most of metastases up to its complete disappearance was observed. The authors consider that effects of systemic PDT are due to decrease of circulating tumor cells in blood and also due to beneficial impact of this modal of treatment on immune status of cancer patient. Intravenous PDT was shown to improve treatment results and quality of life in patients with metastases of malignant tumors. The approved technique is of considerable interest and requires further investigation of its efficiency including its combination with methods of combined and multimodal treatment.

**Keywords:** systemic photodynamic therapy, distant metastases, regional metastases, photolon.

**Контакты:** Каплан М.А. E-mail: kaplan@mrrc.obninsk.ru

# ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ С ПРЕПАРАТОМ АЛАСЕНС (РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЦЕТРОВОГО КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

Филоненко Е.В.<sup>1</sup>, Каприн А.Д.<sup>1</sup>, Алексеев Б.Я.<sup>1</sup>, Аполихин О.И.<sup>5</sup>, Ворожцов Г.Н.<sup>2</sup>, Словоходов Е.К.<sup>3</sup>, Иванова-Радкевич В.И.<sup>2,4</sup>, Лукьянец Е.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена», г. Москва

<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», г. Москва

<sup>3</sup>ГУЗ «Городская клиническая больница №40», г. Москва

<sup>4</sup>ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва

<sup>5</sup>ФГУ «Научно-исследовательский институт урологии», г. Москва

## Резюме

В статье представлены результаты многоцентрового проспективного клинического исследования эффективности комбинированного лечения: трансуретральной резекции (ТУР) + фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом аласенс рака мочевого пузыря. Исследования организованы ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» и проведены в соответствии с клиническим протоколом, одобренным Минздравом России, на базе ведущих российских онкологических клинических центров. В исследовании приняли участие 45 пациентов-добровольцев с верифицированным диагнозом немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Пациентам выполняли ТУР мочевого пузыря с одновременным проведением ФДТ в качестве противорецидивной терапии. Препарат аласенс вводили пациентам в виде 3%-го раствора однократной внутрипузырной инстилляцией в объеме 50 мл с продолжительностью экспозиции 1,5–2,0 часа (до проведения ТУР). После окончания инстилляций проводили ТУР. Сеанс ФДТ проводили однократно сразу после окончания ТУР путем сочетанного локального облучения ложа удаленной опухоли и диффузного облучения всей слизистой мочевого пузыря (плотность энергии локального облучения – 100 Дж/см<sup>2</sup>, диффузного облучения – 20 Дж/см<sup>2</sup>). Отмечена хорошая переносимость лечения, осложнений не зарегистрировано. Из 45 пациентов, включенных в исследование, 35 (78%) завершили 12-месячный протокольный срок наблюдения без рецидива. В 10 (22%) случаях был зарегистрирован рецидив опухоли мочевого пузыря через 6–12 месяцев после проведения ТУР+ФДТ, в том числе у 3 пациентов рецидив опухоли был зарегистрирован через 6 месяцев после проведения лечения, у 3 – через 9 месяцев и у 4 – через 12 месяцев. Этим пациентам была выполнена повторная ТУР, после чего наблюдение за ними в рамках клинического исследования было завершено.

Таким образом, проведение интраоперационной ФДТ с препаратом аласенс после ТУР позволило снизить частоту рецидивирования немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря в течение 1-го года после проведения лечения до 22% по сравнению с 40–80% при применении ТУР в режиме монотерапии по данным литературы. Полученные результаты оказались сопоставимы по эффективности с ТУР в сочетании со стандартными методами адьювантной терапии опухолей мочевого пузыря (частота рецидива в течение 1 года наблюдения после ТУР+химиотерапии – 36–44%, после ТУР+БЦЖ – 20–59%).

**Ключевые слова:** клиническое исследование, фотодинамическая терапия, рак мочевого пузыря, трансуретральная резекция, фотосенсибилизатор, аласенс.

## Введение

Рак мочевого пузыря составляет от 2 до 5% в структуре онкологической заболеваемости населения России, занимая второе место среди урологических заболеваний и третье – в структуре причин смертности от них [1, 2]. В странах Европы и Северной Америки примерно у 80% пациентов рак мочевого пузыря диагностируют на стадии поверхностного заболевания. Это обусловлено яркой манифестацией процесса (у 75% больных наблюдается макрогематурия, у 20% – симптомы цистита), образованностью общества, грамотностью врачей общей практики. К сожалению, в России данный показатель существенно ниже и составляет всего 20–30%. При этом высока

частота ошибок врачей при определении стадии заболевания, которая равняется 73% [3].

В настоящее время для лечения немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (НМИ РМП) используют различные эндоскопические органосохранные методики. «Золотым» стандартом лечения НМИ РМП во всем мире признана трансуретральная резекция мочевого пузыря. Основными целями, преследуемыми при выполнении указанного вмешательства, является проведение окончательной диагностики (уточнение гистологической структуры, степени инвазии опухолевого процесса) и первого этапа лечения НМИ РМП. Более чем в 90% случаев поверхностная

опухоль мочевого пузыря представлена переходноклеточным раком различной степени дифференцировки [2, 4]. Используя ТУР в монорежиме при лечении НМИ РМП, можно решить только одну задачу – максимально радикально удалить все видимые поверхностные опухоли в пределах здоровых тканей до мышечного слоя. Однако, это не позволяет снизить процент рецидивов заболевания, который в первый год после проведения ТУР в среднем составляет 40–50% [5, 6], а по данным некоторых исследователей достигает 80–85% [7, 8].

По мнению ряда авторов, причинами высокого рецидивирования рака мочевого пузыря являются наличие резидуальных опухолей и плоских поражений уротелия, а также имплантация опухолевых клеток во время проведения ТУР [9, 10]. По этим причинам, а также для максимальной эррадикации опухолевого процесса в мочевом пузыре, большей части больных показано проведение лечения, направленного на максимальное увеличение безрецидивного периода, предотвращение рецидива и прогрессирования заболевания. Наиболее изученными являются внутривезикулярное иммуно- и химиотерапевтическое воздействие.

По данным EORTC и MRC, проанализировавшим эффективность профилактической внутривезикулярной химиотерапии (ХТ) более чем у 2 тысяч больных, было показано, что за период наблюдения 2–3 года в лечебной группе (ТУР+ХТ) процент рецидивов был на 14% меньше по сравнению с контролем (ТУР мочевого пузыря в монорежиме). При более длительном наблюдении разница составила 7%. Рецидивы рака мочевого пузыря в течение первого года после проведения ТУР+ХТ по данным разных авторов в среднем составляют 36–44% [11, 12].

При использовании БЦЖ как внутривезикулярного агента с целью профилактики рецидивов после ТУР также выявлено снижение частоты рецидивирования до 20–59% [12–14].

Следует, однако, отметить, что после сочетанного лечения пациентов в виде ТУР+БЦЖ и ТУР+ХТ в ряде случаев требуется проведение дополнительной интенсивной терапии по поводу возникших осложнений, связанных с токсичностью химиопрепаратов, или выраженных воспалительных процессов, вызванных применением БЦЖ [8, 15, 16].

В настоящее время уделяется большое внимание лечению онкологических заболеваний с применением различных возможностей биомедицинской физики. Кроме стандартных подходов онкологии: хирургия, химиотерапия, лучевая терапия – часто используются лазерное, гипертермическое, ультразвуковое и крио-воздействия. Указанные физические методы не только исследуются на уровне эксперимента (доклинические исследования на опухолевых клетках и животных, клинические исследования), но и широко используются в повседневной клинической практике. Одним из указанных методов,

позволяющих избирательно воздействовать на опухолевую ткань, является фотодинамическая терапия (ФДТ) [17, 18].

На современном этапе развития медицины ФДТ широко используется для лечения различных опухолевых и неопухолевых заболеваний. В онкологии постоянно ведется клиничко-экспериментальная работа по оценке эффективности и безопасности новых фотосенсибилизаторов, разрабатываются наиболее оптимальные пути их введения в организм, отрабатываются эффективные режимы светового воздействия на опухолевую ткань. Данный метод применяется для лечения больных злокачественными новообразованиями различной природы и локализации как в России, так и за рубежом. Фотодинамическому воздействию могут быть подвергнуты опухоли кожи, молочной железы, опухоли орофарингеальной зоны, бронхов, легкого, гортани, желудочно-кишечного (пищевод, желудок, прямая кишка) и мочеполового (мочевой пузырь, уретра, простата) трактов, первичные и метастатические опухоли головного мозга, опухолевые диссемины брюшной и плевральных полостей, шейки матки, цервикального канала, влагалища, эндометрия и др. ФДТ в онкологической практике применяется как самостоятельный вариант лечения, так и в комбинации с традиционным хирургическим, лучевым или лекарственным воздействием на опухоль [18–21].

На сегодняшний день ФДТ НМИ РМП в клиниках мира активно изучается как вторая линия терапии при неэффективности введения различных стандартных внутривезикулярных агентов, таких как БЦЖ. Большинство клинических исследований проводят с фотосенсибилизаторами фотофрин, гематопорфирин дериватом [19, 20] и производными 5-аминолевулиновой кислоты [24, 25].

Так, Uchibayashi T. и соавторы проводили ФДТ с гематопорфирин дериватом у 34 больным с рефрактерной carcinoma in situ слизистой мочевого пузыря. У 25 пациентов (73,5%) была достигнута полная регрессия опухоли через 3 мес. после лечения. Через 2 года более чем у 50% развился рецидив. В большинстве случаев рецидив был представлен высокодифференцированной папиллярной опухолью, находящейся в пределах слизистого слоя, что позволяло ограничиться в лечении только ТУР мочевого пузыря. У 10 из 34 больных средний срок безрецидивной выживаемости составил 64 мес. [23]. По данным Berger A.P. и соавторов, при использовании ФДТ с 5-аминолевулиновой кислотой в качестве адьювантной терапии у каждого второго пациента удается достичь безрецидивной выживаемости при максимальном сроке наблюдения более 2 лет [25].

В своем обзоре по лечению и профилактике рецидивов НМИ РМП Schenkman E. и Lamm D.L. называют ФДТ перспективным методом лечения поверхностного рака мочевого пузыря, однако для проведения сравнительного анализа его эффективности с тради-

ционными методами лечения необходимо большее количество клинических исследований [26].

Целью данного клинического исследования являлось изучение возможности повышения эффективности лечения больных НМИ РМП при применении интраоперационной ФДТ в сочетании с ТУР.

## Материалы и методы

В статье представлены результаты клинического исследования препарата аласенс по протоколу № 10/1-(ФДТ-ААА)-2007 «Перспективное открытое исследование эффективности фотодинамической терапии с препаратом аласенс рака мочевого пузыря». Исследование было организовано ФГУП "ГНЦ "НИОПИК" и проводилось на базе ряда исследовательских центров. В статье приведены результаты исследований, выполненных на базе Государственного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 40», Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт урологии» Минздрава РФ и ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» МЗ РФ.

Исследование выполнено в рамках научно-технической Программы Правительства Москвы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний» на 2007–2009, 2010–2012 гг. Материалы клинического исследования были одобрены Комитетом по этике. На проведение клинического исследования было получено разрешение Росздравнадзора № 296 от 24.06.2008 сроком действия до 31.06.2012 г.

Выбор пациентов для участия в клиническом исследовании осуществлялся на добровольной основе. Пациенты были подробно проинформированы о препарате аласенс, целях и продолжительности клинического исследования, методике проведения, мерах профилактики по предотвращению побочных реакций, действиях по регистрации эффективности и переносимости лечения. У всех больных до начала исследования получено информированное согласие. Информация для пациента содержала все сведения о проводимом клиническом исследовании.

Исследование проведено с соблюдением этических принципов, заложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» (1964 г., с последующими дополнениями) и отраженных в Национальном стандарте РФ «Надлежащая клиническая практика» ГОСТ Р 52379-2005, утвержденном Приказом Ростехрегулирования от 27.09.2005 N 232-ст., правилах ICH GCP и действующих нормативных требованиях. Материалы кли-

нического исследования одобрены Комитетом по этике до начала исследования.

Все участники исследования были застрахованы в ОСАО "Ингосстрах" (Полис страхования №431-029094/07 и Договор страхования № 431-051901/10).

В исследовании приняли участие 45 пациентов, из них 31 мужчина и 14 женщин. Возраст пациентов составил от 43 до 75 лет ( $64 \pm 7$  лет).

У 25 пациентов диагноз рак мочевого пузыря был поставлен впервые, у 20 пациентов был диагностирован рецидив заболевания после предшествующего лечения (у 17 пациентов после ТУР, у 3 пациентов – после ТУР в сочетании с внутривезикулярной химиотерапией). Стадия заболевания по классификации TNM у 4 пациентов соответствовала  $T_1N_0M_0$ , у 41 пациента –  $T_1N_0M_0$ . По уровню дифференцировки опухоль у 19 пациентов была высокодифференцированная (G-1), у 23 пациентов – умереннодифференцированная (G-2), у 3 пациентов – низкодифференцированная (G-3).

Перед началом проведения терапии, по данным обследования, функциональное состояние печени, почек и артериальное давление у всех больных соответствовало протокольным критериям включения. Неподдающиеся лечению сопутствующие заболевания отсутствовали. У 37 из 45 пациентов до проведения лечения была выявлена различной степени выраженности сопутствующая патология, в том числе ишемическая болезнь сердца – у 29 пациентов, гипертоническая болезнь – у 19 пациентов, стенокардия напряжения – у 11 пациентов, хронический гастрит – у 3 пациентов, хронический бронхит – у 2 пациентов, варикозная болезнь вен нижних конечностей – у 1 пациента.

У всех пациентов был соблюден рекомендуемый режим проведения интраоперационной ФДТ с препаратом аласенс. За время проведения исследования выбывших пациентов не было.

Методика проведения ФДТ заключалась в следующем. Препарат аласенс вводили пациентам в виде 3%-го раствора однократной внутривезикулярной инстилляцией в объеме 50 мл, с продолжительностью экспозиции 1,5–2,0 часа (до проведения ТУР). Аласенс – синтетический фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики злокачественных опухолей производства ФГУП "ГНЦ "НИОПИК" (Россия), регистрационный номер № ЛП-001848 от 21.09.2012. Действующее вещество – гидрохлорид 5-аминолевулиновой кислоты. Лекарственная форма: порошок для приготовления раствора для приема внутрь и инстилляций, 1,5 г.

После окончания инстилляций проводили ТУР. Сеанс ФДТ проводили однократно сразу после окончания ТУР путем сочетанного локального облучения ложа опухоли и диффузного облучения всей слизистой мочевого пузыря. В качестве источника оптического излучения для проведения ФДТ использовали

сертифицированный терапевтический источник света ЛФТ-630/675-01 БИОСПЕК (ООО «БИОСПЕК», Россия). Длина волны излучения – 630 нм. Плотность энергии одного сеанса лечения – 20 Дж/см<sup>2</sup> при диффузном облучении всех стенок мочевого пузыря и 100 Дж/см<sup>2</sup> при облучении ложа резецированной опухоли. Облучение ложа опухоли проводили с помощью микролинзы или цилиндрического диффузора. Облучение всей слизистой мочевого пузыря проводили с помощью устройства доставки лазерного излучения для ФДТ мочевого пузыря.

Эффективность лечения оценивалась на основании клинических, по данным цистоскопии и УЗИ, и морфологических исследований через 3, 6, 9, 12 мес. после окончания курса лечения.

## Результаты и обсуждение

При контрольной цистоскопии, выполненной через 3 мес. после лечения, во всех наблюдениях зарегистрирована полная регрессия опухолей. При последующем наблюдении, 35 (78%) из 45 пациентов завершили 12-месячный протокольный срок наблюдения без рецидива заболевания. У 10 (22%) больных был зарегистрирован рецидив опухоли мочевого пузыря через 6–12 месяцев после проведения ТУР+ФДТ. При этом, у 3 пациентов рецидив опухоли был зарегистрирован через 6 месяцев после проведения лечения, у 3 – через 9 месяцев и у 4 – через 12 месяцев. Этим пациентам была выполнена повторная ТУР, после

чего наблюдение за ними в рамках клинического исследования было завершено.

Из 19 человек со степенью дифференцировки опухоли G-1 рецидив рака мочевого пузыря развился у 3 (16%) пациентов. Рецидив диагностирован у 1 пациента на 9-ом месяце наблюдения и у 2 – на 12-ом месяце (табл. 1, 2).

Из 23 пациентов со степенью дифференцировки опухоли G-2 рецидив заболевания был зарегистрирован у 5 (22%) больных. Из них у 2 пациентов рецидив опухоли был диагностирован через 6 месяцев после проведения лечения, у 1 – через 9 месяцев и у 2 – через 12 месяцев.

Из 3 пациентов со степенью дифференцировки опухоли G-3 рецидив был получен у 2 (67%). Из них у 1 пациента рецидив был зарегистрирован на 6-ом месяце наблюдения, у 1 – на 9-ом месяце.

Критериями оценки переносимости препарата аласенс и проведения противорецидивной ФДТ с его использованием являлись как субъективные критерии – жалобы больных, так и объективные – результаты лабораторного и клинического обследования больных, включающие оценку частоты и степени выраженности общих и местных токсических реакций, динамику морфологических и биохимических показателей крови.

При клиническом наблюдении за пациентами в процессе и после проведения фотодинамической терапии не было отмечено изменения их общего

**Таблица 1.**

Результат ТУР+ФДТ в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Дифференцировка опухоли	Число больных	Результат ТУР+ФДТ при сроке наблюдения 12 мес.	
		Без рецидива	Рецидив
G-1	19 (100%)	16 (84%)	3 (16%)
G-2	23 (100%)	18 (78%)	5 (22%)
G-3	3 (100%)	1 (33%)	2 (67%)
ВСЕГО	45 (100%)	35 (78%)	10 (22%)

**Таблица 2.**

Распределение больных в зависимости от срока возникновения рецидива опухоли после ТУР+ФДТ и дифференцировки опухоли мочевого пузыря

Дифференцировка опухоли	Число больных с рецидивом	Рецидив рака мочевого пузыря после ТУР+ФДТ в срок:		
		6 мес	9 мес	12 мес
G-1	3 (100%)	-	1 (33,3%)	2 (66,7%)
G-2	5 (100%)	2 (40%)	1 (20%)	2 (40%)
G-3	2 (100%)	1 (50%)	1 (50%)	-
ВСЕГО	10 (100%)	3 (30%)	3 (30%)	4 (40%)

самочувствия и основных показателей: артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений и температуры тела. Не наблюдалось развития аллергических реакций, местных и общих токсических реакций, обострения сопутствующих заболеваний. Динамическое наблюдение за показателями крови и мочи показало отсутствие гемато-, нефро- и гепатотоксичности препарата аласенс и ФДТ с его использованием.

Также следует отметить, что ни у одного пациента не наблюдалось фототоксических реакций кожи, что связано со способом применения препарата аласенс (внутрипузырная инстилляция).

### Заключение

В рамках клинического исследования по протоколу № 10/1-(ФДТ-ААА)-2007 в трех медицинских центрах пролечены 45 пациентов с НМИ РМП, которым была проведена интраоперационная ФДТ в качестве противорецидивной терапии после выполнения ТУР.

Проведение ФДТ в качестве интраоперационного варианта лечения после ТУР позволило сни-

зить частоту рецидивирования поверхностного рака мочевого пузыря в течение 1-го года наблюдения до 22% по сравнению с 40–80% (согласно литературным данным) при применении ТУР в режиме монотерапии. Полученные результаты сопоставимы по эффективности со стандартными методами адьювантной терапии опухолей мочевого пузыря (согласно литературным данным: частота рецидивов в течение 1 года наблюдения после ТУР+ХТ – 36–44%, после ТУР+БЦЖ – 20–59%).

Кроме того, в отличие от стандартных методов противорецидивной терапии методами ТУР+ХТ и ТУР+БЦЖ, при проведении ФДТ в сочетании с ТУР отмечена хорошая переносимость лечения пациентами. В процессе и после лечения не было выявлено каких-либо нежелательных реакций на введение препарата аласенс и проведение фотодинамической терапии.

Предложенная методика ФДТ с аласенсом может быть рекомендована для практического применения у пациентов с немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2011 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И.Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2013. – 288 с.
2. Григорьев Е.Г., Фролова И.Г., Усынин Е.А., Величко С.А., Окунев В.В. Рак мочевого пузыря: возможности лучевых методов диагностики (обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – №3 (57). – С. 75–81.
3. Аполихин О.И., Сивков А.В., Бешлиев Д.А. Анализ уронефрологической заболеваемости в РФ по данным официальной статистики // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – №1. – С. 4–11.
4. Воробьев А.В. Классификация и диагностика рака мочевого пузыря, вопросы дифференциальной диагностики // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, № 4. – С. 196–203.
5. Аль-Шукри С.К., Ткачук В.Н. Опухоли мочеполовых органов: руководство для врачей. – СПб.: Питер, 2000. – 320 с.
6. Матвеев Б.П. Рак мочевого пузыря. – М.: Вердана, 2003. – 406 с.
7. Переверзев А.С., Петров С.Б. Опухоли мочевого пузыря. – Харьков: Факт, 2002. – 303 с.
8. Русаков И.Г., Быстров А.А. Хирургическое лечение, химио- и иммунотерапия больших поверхностным раком мочевого пузыря // Практик. онкол. – 2003. – № 4. – С. 214–24.
9. Hall R.R. The role of transurethral surgery alone and with combined modality therapy. In: N.J. Vogelzang, P.T. Scardino, W.U. Shipley et al. Comprehensive textbook of genitourinary oncology. – Baltimore: William & Wilkins, 1996. – P. 509–513.
10. Зубков А.Ю., Нуриев И.Р., Ситдыков Э.Н. Роль адьювантной внутрипузырной химиотерапии в комбинированном органосохраняющем лечении немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря // Онкоурология. – 2014. – № 2. – С. 26–28.
11. Ali-el-dein B. et al. Intravesical epirubicin versus doxorubicin for superficial bladder tumors (stages pTa and pT1): a randomized prospective study / J. Urol. – 1997. – Vol. 158 (1). – P. 68–74.
12. Buffioux C. et al. Intravesical adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: results of two

### REFERENCES

1. Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2011 godu (zabolevaemost' i smertnost') (Malignant neoplasms in Russia in 2011 (incidence and mortality)), pod red. V.I.Chissova, V.V. Starinskogo, G.V. Petrovoi, M.: FGBU «MNIОI im. P.A. Gertsena» Minzdrava Rossii, 2013, pp. 1–288.
2. Grigor'ev E.G., Frolova I.G., Usynin E.A., Velichko S.A., Okunev V.V. Rak mochevogo puzyrya: vozmozhnosti luchevykh metodov diagnostiki (obzor literatury) (Bladder cancer: role of diagnostic imaging techniques (literature review)), *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*, 2013, № 3 (57), pp. 75–81.
3. Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Beshliev D.A. Analiz uronefrologicheskoi zabolevaemosti v RF po dannym ofitsial'noi statistiki (Analysis of urological morbidity in the Russian Federation according to official statistics), *Ekspierimental'naya i klinicheskaya urologiya*, 2010, № 1, pp. 4–11.
4. Vorob'ev A.V. Klassifikatsiya i diagnostika raka mochevogo puzyrya, voprosy differentsial'noi diagnostiki (Classification and diagnosis of bladder cancer, issues of differential diagnosis), *Prakticheskaya onkologiya*, 2003, T. 4, № 4, pp. 196–203.
5. Al-Shukri S.K., Tkachuk V.N. Opukholi mochevolovykh organov: rukovodstvo dlya vrachei (Urogenital tumors: manual for physicians), SPb.: Piter, 2000, pp. 1–320.
6. Matveev B.P. Rak mochevogo puzyrya (Bladder cancer), M.: Verdana, 2003, pp. 1–406.
7. Pereverzev A.S., Petrov S.B. Opukholi mochevogo puzyrya (Bladder tumors), Khar'kov: Fakt, 2002, pp. 1–303.
8. Rusakov I.G., Bystrov A.A. Khirurgicheskoe lechenie, khimio- i immunoterapiya bol'nykh poverkhnostnym rakom mochevogo puzyrya (Surgical treatment chemo- and immunotherapy of patients with bladder cancer), *Prakticheskaya onkologiya*, 2003, № 4, pp. 214–24.
9. Hall R.R. The role of transurethral surgery alone and with combined modality therapy. In: N.J. Vogelzang, P.T. Scardino, W.U. Shipley et al. Comprehensive textbook of genitourinary oncology, Baltimore: William & Wilkins, 1996, pp. 509–13.

- European Organization for Research and Treatment of Cancer randomized trials with mitomycin C and doxorubicin comparing early versus delayed instillations and short term versus long term treatment. European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group // *J. Urol.* – 1995. – Vol.153. – P. 934–941.
13. Krege S. et al. A randomized multicenter trial of adjuvant therapy in superficial bladder cancer: transurethral resection only versus transurethral resection plus mitomycin C versus transurethral resection plus bacillus Calmette-Guerin. Participating Clinics [see comments] // *J. Urol.* – 1996. – Vol.156. – P. 962-966.
  14. Melekos M.D. et al. Intravesical instillations of 4-epidoxorubicin (epirubicin) in the prophylactic treatment of superficial bladder cancer: results of controlled prospective study // *J. Urol.* – 1992. – Vol.147. – P. 371–375.
  15. Zein T.A. et al. Bone marrow suppression after intravesical mitomycin C treatment // *J. Urol.* – 1986. – Vol.136. – P. 459–460.
  16. Wittes R. et al. Severe bacillus Calmette-Guerin cystitis responds to systemic steroids when and tuberculous drugs and local steroids fail // *J. Urol.* – 1999. – Vol.161. – P. 1568–1569.
  17. Мачинская Е.А., Иванова-Радкевич В.И. Обзор механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов различной химической структуры в опухолевой ткани // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №4. – С. 19–23.
  18. Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2014. – №1 – С. 3–7.
  19. Перетрухин А.А., Голов Х.Я.К.П.А., Золотых М.А., Абрамов И.И., Кудряшов Г.Ю. Фотодинамическая терапия в лечении поверхностного рака мочевого пузыря // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2014. – №1 – С. 37–38.
  20. Странадко Е.Ф. Исторический очерк развития фотодинамической терапии: Обзор // Лазерная медицина. – 2002. – Т. 6., № 1. – С. 4–8.
  21. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия рака – новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Соровский образовательный журнал. – 1996. – № 8. – С. 32–40.
  22. Nseyo U.O., DeHaven J., Dougherty T.J., Potter W.R., Merrill D.L., Lundahl S.L., Lamm D.L. Photodynamic therapy (PDT) in the treatment of patients with resistant superficial bladder cancer: a long-term experience // *J Clin Laser Med Surg.* – 1998. – Vol.16(1). – P. 61–8.
  23. Uchibayashi T., Koshida K., Kunimi K., Hisazumi H. Whole bladder wall photodynamic therapy for refractory carcinoma in situ of the bladder // *Br J Cancer.* – 1995. – Vol. 71(3). – P. 625–8.
  24. Stenzi A., Eder I., Kostron H., Klocker H., Bartsch G. Electromotive diffusion (EMD) and photodynamic therapy with delta-aminolaevulinic acid (delta-ALA) for superficial bladder cancer // *J Photochem Photobiol B.* – 1996. – Vol. 36 (2). – P. 233–6.
  25. Berger A.P. et al. Photodynamic therapy with intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid for patients with recurrent superficial bladder cancer: a single-center study // *Urology.* – 2003. – Vol. 61 (2). – P. 338–41.
  26. Schenkman E., Lamm D.L. Superficial bladder cancer therapy // *ScientificWorldJournal.* – 2004. – Vol 28, No 4, Suppl. 1. – P. 387–99.
  27. Лощенов В.Б., Линьков К.Г., Савельева Т.А., Лощенов М.В., Модель С.С., Бородин А.В. Аппаратурное и инструментальное обеспечение флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №3. – С. 17–23.
  10. Zubkov A.Yu., Nuriev I.R., Sitydkov E.N. Rol' ad'yuvantnoivnutripuzyrnoi khimioterapii v kombinirovannom organosokhranyayushchem lechenii nemyshechno-invazivnogo raka mochevogo puzryra (Role of adjuvant intravesical chemotherapy in the combined organ-sparing treatment of non-muscle-invasive bladder cancer), *Onkourologiya*, 2014, № 2, pp. 26–8.
  11. Ali-el-dein B. et al. Intravesical epirubicin versus doxorubicin for superficial bladder tumors (stages pTa and pT1): a randomized prospective study, *J. Urol.*, 1997, Vol. 158 (1), pp. 68–74.
  12. Buffioux C. et al. Intravesical adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: results of two European Organization for Research and Treatment of Cancer randomized trials with mitomycin C and doxorubicin comparing early versus delayed instillations and short term versus long term treatment. European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group, *J Urol*, 1995, Vol. 153, pp. 934–41.
  13. Krege S. et al. A randomized multicenter trial of adjuvant therapy in superficial bladder cancer: transurethral resection only versus transurethral resection plus mitomycin C versus transurethral resection plus bacillus Calmette-Guerin. Participating Clinic, *J. Urol.*, 1996, Vol. 156. pp. 962–966.
  14. Melekos M.D. et al. Intravesical instillations of 4-epidoxorubicin (epirubicin) in the prophylactic treatment of superficial bladder cancer: results of controlled prospective study, *J. Urol.*, 1992, Vol. 147, P. 371–75.
  15. Zein T.A. et al. Bone marrow suppression after intravesical mitomycin C treatment, *J. Urol.*, 1986, Vol.136, pp. 459–60.
  16. Wittes R. et al. Severe bacillus Calmette-Guerin cystitis responds to systemic steroids when and tuberculous drugs and local steroids fail, *J. Urol.*, 1999, Vol. 161, pp. 1568–9.
  17. Machinskaya E.A., Ivanova-Radkevich V.I. Obzor mekhanizmov selektivnogo nakopleniya fotosensibilizatorov razlichnoi khimicheskoi struktury v opukholevoi tkani (Review of selective accumulation of photosensitizers with different chemical structure in tumor tissue), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, № 4, pp. 19–23.
  18. Filonenko E.V. Flyuorestsennaya diagnostika i fotodinamicheskaya terapiya – obosnovanie primeneniya i vozmozhnosti v onkologii (Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy: justification of applications and opportunities in oncology), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2014, № 1, pp. 3–7.
  19. Peretruchin A.A., Gyulov Kh.Ya.K.P.A., Zolotykh M.A., Abramov I.I., Kudryashov G.Yu. Fotodinamicheskaya terapiya v lechenii poverkhnostnogo raka mochevogo puzryra (Photodynamic therapy in the treatment of superficial bladder cancer), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2014, № 1, pp. 37–38.
  20. Stranadko E.F. Istoricheskii ocherk razvitiya fotodinamicheskoi terapii: obzor (Historical sketch of development of photodynamic therapy: review), *Lazernaya meditsina*, 2002, T. 6, № 1, pp. 4–8.
  21. Mironov A.F. Fotodinamicheskaya terapiya raka – novyi effektivnyi metod diagnostiki i lecheniya zlokachestvennykh opukholei (Photodynamic therapy of cancer – a new effective method of diagnosis and treatment of malignant tumors), *Sorovskii obrazovatel'nyi zhurnal*, 1996, № 8, pp. 32–40.
  22. Nseyo U.O., DeHaven J., Dougherty T.J., Potter W.R., Merrill D.L., Lundahl S.L., Lamm D.L. Photodynamic therapy (PDT) in the treatment of patients with resistant superficial bladder cancer: a long-term experience, *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 1998, Vol. 16 (1), pp. 61–8.
  23. Uchibayashi T., Koshida K., Kunimi K., Hisazumi H. Whole bladder wall photodynamic therapy for refractory carcinoma in situ of the bladder, *Br. J. Cancer*, 1995, Vol. 71 (3), pp. 625–8.
  24. Stenzi A., Eder I., Kostron H., Klocker H., Bartsch G. Electromotive diffusion (EMD) and photodynamic therapy with delta-aminolaevulinic acid (delta-ALA) for superficial bladder cancer, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 1996, Vol. 36 (2), pp. 233–6.
  25. Berger A.P. et al. Photodynamic therapy with intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid for patients with recurrent superficial bladder cancer: a single-center study, *Urology*, 2003, Vol. 61 (2), pp. 338–41.

26. Schenkman E., Lamm D.L. Superficial bladder cancer therapy, Scientific World Journal, 2004, Vol. 28, № 4, Suppl. 1, pp. 387–99.

27. Loshchenov V.B., Lin'kov K.G., Savel'eva T.A., Loshchenov M.V., Model' S.S., Borodkin A.V. Apparaturnoe i instrumental'noe obespechenie flyuorestsentnoi diagnostiki i fotodinamicheskoi terapii (Hardware and tool equipment for fluorescence diagnostics and photodynamic therapy), *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, № 3, pp. 17–23.

## INTRAOPERATIVE PHOTODYNAMIC THERAPY OF BLADDER CANCER WITH ALASENS (RESULTS OF MULTICENTER TRIAL)

Filonenko EV<sup>1</sup>, Kaprin AD<sup>1</sup>, Alekseev BYa<sup>1</sup>, Apolikhun OI<sup>5</sup>, Vorozhzhov GN<sup>2</sup>, Slovkhodov EK<sup>3</sup>, Ivanova-Radkevich VI<sup>2,4</sup>, Machinskaya EA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow

<sup>2</sup>Research Institute of Organic Intermediates and Dyes, Moscow

<sup>3</sup>City clinical hospital #40, Moscow

<sup>4</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

<sup>5</sup>Research Institute of Urology, Moscow

The results of multicenter prospective trial for efficacy of combined modality treatment: transurethral resection (TUR) + photodynamic therapy (PDT) with alasens for bladder cancer are represented in the article. Trials were organized by Research Institute of Organic Intermediates and Dyes and conducted according to clinical protocol approved by Ministry of Health of Russia, at the sites of leading Russian cancer clinical centers. The trial included 45 subjects with verified diagnosis of non-muscle-invasive bladder cancer. Patients underwent TUR of bladder with simultaneous PDT as anti-relapse treatment. Alasens was administered to patients as intravesicular instillation of 3% solution in volume of 50 ml with 1.5–2h exposure (prior to TUR). TUR was performed after instillation. PDT session was conducted immediately after the completion of TUR on a single occasion by means of combined local irradiation on tumor bed with diffuse irradiation on whole urinary bladder mucosa (light dose of local irradiation – 100 J/cm<sup>2</sup>, diffuse irradiation – 20 J/cm<sup>2</sup>). Good tolerance of the treatment was noticed, there were no complications. Among 45 patients included in the trial, 35 (78%) completed 12 month protocol follow-up without relapse. The recurrence of bladder tumor was registered in 10 (22%) cases 6–12 months after TUR+PDT including 3 patients with recurrence 6 months after treatment, 3–9 months and 4–12 months. These patients underwent repeated TUR, whereafter their follow-up in the settings of the clinical trial was disposed.

Thus, PDT with alasens after TUR allowed to decrease the recurrence rate of non-muscle-invasive bladder cancer for 1st year after treatment to 22% versus 40–80% for TUR as monotherapy according to literature data. The obtained results were comparable by efficiency with TUR combined with methods of adjuvant treatment for bladder tumors (the recurrence rates for 1-year follow-up after TUR+chemotherapy – 36–44%, after TUR+BCG – 20–59%).

**Keywords:** clinical trial, photodynamic therapy, bladder cancer, transurethral resection, photosensitizer, alasens.

**Контакты:** Филоненко Е.В.; E-mail: derkul23@yandex.ru

# КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ УСПЕШНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТКИ С ТЯЖЕЛОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ ВУЛЬВЫ

Е.В. Филоненко, Л.Г. Серова

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

## Резюме

Описан клинический случай успешного применения фотодинамической терапии (ФДТ) для лечения больной с дисплазией III ст. вульвы. Проведен 1 курс лечения с препаратом фотолон. Фотосенсибилизатор вводили внутривенно посредством 30-минутной инфузии в дозе 1,0 мг/кг массы тела. Сеанс ФДТ проводили через 3 ч после введения фотолона, плотность энергии лазерного облучения – 350 Дж/см<sup>2</sup>. Лечение пациентка перенесла удовлетворительно. В результате ФДТ получена полная регрессия опухоли. После лечения больная находилась под строгим динамическим наблюдением, в течение 8 месяцев с момента проведения ФДТ – без рецидива заболевания.

**Ключевые слова:** рак вульвы, дисплазия вульвы, фотодинамическая терапия, фотолон.

## Введение

Рак вульвы составляет от 2,5 до 5% злокачественных онкогинекологических заболеваний, занимая 4-е место после рака шейки матки, эндометрия и яичников [1]. Профилактика и лечение рака вульвы – актуальная проблема современной клинической онкогинекологии. Раку вульвы чаще всего предшествуют фоновые и предопухолевые заболевания. Примерно в 30% случаев рак вульвы развивается на фоне нейродистрофических изменений, а их длительное лечение без гистологической верификации диагноза приводит к запоздалой диагностике рака. Вульварная интраэпителиальная неоплазия (VIN) ранее считалась патологией женщин старше 40 лет, однако в последнее время отмечается тенденция к омоложению данной категории больных, включая женщин молодого репродуктивного возраста (25–40 лет) [2, 4].

Несмотря на широкий спектр применяемых методов консервативного лечения предраковых заболеваний вульвы эффективность их остается относительно невысокой. Лечение предраковых заболеваний вульвы должно быть достаточно радикальным, но в то же время с сохранением анатомо-функциональных особенностей вульвы, что в значительной степени определяет качество жизни пациентки и состояние репродуктивной системы и мочевыводящих путей. Возможности современной онкологии значительно расширились с появлением метода фотодинамической терапии (ФДТ) [3, 5].

Приводим клиническое наблюдение применения фотодинамической терапии у больной с дисплазией вульвы.

Больная Д., 56 лет. 08.04.14 г. госпитализирована в Центр Лазерной и Фотодинамической диагностики и терапии опухолей МНИОИ им П.А.Герцена с клиническим диагнозом: дисплазия вульвы III степени. Из анамнеза известно, что пациентка считает себя

больной в течение 4 лет, когда впервые появились жалобы на зуд, жжение в области наружных половых органов. Обращалась неоднократно к гинекологу по месту жительства, был поставлен диагноз крауроз вульвы и рекомендовано проведение местного лечения мазями (цитологическое исследование не проводилось). В декабре 2013 г. самостоятельно обратилась к онкогинекологу в КБ №119 и была направлена в МНИОИ им П.А.Герцена, где в январе 2014 г. выполнена биопсия вульвы. По данным морфологического исследования № Ц 36524-26: в биоптате из средней трети и нижней трети левой и правой больших половых губ – гиперкератоз, акантоз, койлоцитоз, дисплазия III ст. Проведена ПЦР диагностика папилломавирусной и герпесвирусной инфекции: ДНК ВПЧ и ВПГ не обнаружено. Пациентка обсуждена на консилиуме, рекомендовано проведение фотодинамической терапии. Для проведения лечения госпитализирована в Центр Лазерной и Фотодинамической диагностики и терапии опухолей МНИОИ им. П.А. Герцена.

При поступлении общее состояние больной удовлетворительное, жалобы на зуд, жжение в области вульвы. Локальный статус: Кожа в области нижней трети больших половых губ с переходом на заднюю спайку утолщена, гиперемирована с очагами белесоватого цвета (рис. 1).

Курс фотодинамической терапии проведен 11.04.2014 г. После 3 часовой экспозиции препарата фотолон посредством 30-минутной инфузии в дозе 1,0 мг/кг проведена фотодинамическая терапия с использованием макролинзы. Применялась методика полипозиционного облучения (6 полей облучения), плотность энергии лазерного облучения составила 350 Дж/см<sup>2</sup>. Сеанс больная перенесла удовлетворительно.

При контрольном осмотре через 14 дней после проведения лечения отмечено формирование некротического струпа с образованием фибриновых пленок. Через 1 мес. после ФДТ отмечено постепенное очищение зоны светового воздействия от некроза с четко визуализируемой границей между неизменным и облученным эпителием. Через 2 месяца после лечения – практически полное завершение процессов эпителизации (рис. 2). При контрольном осмотре через 6 и 8 месяцев зарегистрировано полное излечение. При осмотре: кожа в области нижней трети

больших половых губ с распространением на заднюю спайку гладкая, бледно-розовая (рис. 3 а, б). После проведенного лечения жалоб на зуд, жжение в области наружных половых органов пациентка не предъявляет.

### Заключение.

Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует эффективность применения органосохраняющего метода фотодинамической терапии в лечении больных предраком вульвы с большой площадью поражения.



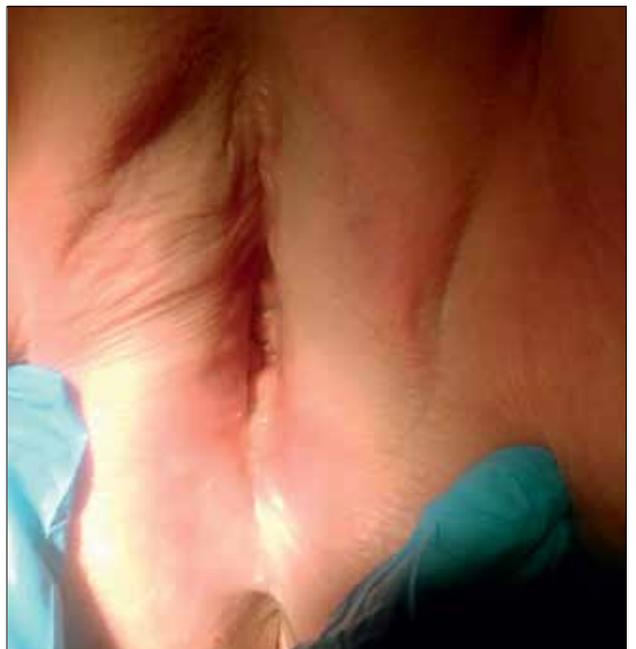
Рис. 1. Дисплазия вульвы III ст. до лечения



Рис. 2. Через 2 месяца после ФДТ



а



б

Рис. 3. Результат ФДТ: а – через 6 месяцев после лечения; б – через 8 месяцев после лечения

## ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 г. (заболеваемость и смертность). М. – 2014 г.
2. Ашрафян. Л.А., Костава М.М., Харченко Н.В «Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы», М.2003 г, с. 346–366.
3. Сдвижков А.М., Филинов В.Л., Соколов В.В. «ФДТ в лечении предраковых заболеваний и раннего рака вульвы» Пособие для врачей. М. 2008 г.
4. Чулкова О.В., Новикова Е.Г., Чулкова Е.А., Соколов В.В «Диагностика и лечение фоновых и предраковых заболеваний вульвы»// Журнал практическая онкология, Т.7, №4 – 2006, с. 197–204.
5. Olejek A., Rembielak-Stawecka B «Photodynamic diagnosis and therapy in gynecology» // *Gynecol Pol.* 2004 Mar; 75 (3): 228–43.

## REFERENCES

1. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2012 godu (zabolevaemost' i smertnost') (Malignant neoplasms in Russia in 2012 (incidence and mortality)). М. – 2014.
2. Ashrafyan L.A., Kostava M.M., Kharchenko N.V. Zabolevaniya sheiki matki, vlagalishcha i vulvy (Diseases of cervix, vagina and vulva), М. 2003, pp. 346–366.
3. Sdvizhkov A.M. Filinov V.L., Sokolov V.V. FDT v lechenii predrakovykh zabolevaniy i rannego raka vulvy. Posobie dlya vrachei (PDT in treating pre-cancer and early cancer of vulva. Textbook for physicians). М. 2008.
4. Chulkova O.V., Novikova E.G., Chulkova E.A., Sokolov V.V. Diagnostika i lechenie fonovykh i predrakovykh zabolevaniy vulvy (Diagnosis and treating background and pre-cancer diseases of vulva) // *Prakticheskaya onkologiya*, Т.7, № 4–2006, pp. 197–204.
5. Olejek A., Rembielak-Stawecka B «Photodynamic diagnosis and therapy in gynecology» // *Gynecol Pol.* 2004 Mar; 75 (3): 228–43.

# A CASE-REPORT OF SUCCESSFUL PHOTODYNAMIC THERAPY OF THE PATIENT WITH SEVERE VULVAR DYSPLASIA

Filonenko EV, Serova LG

P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow

**A case of successful photodynamic therapy (PDT) of the patient with grade 3 vulvar dysplasia. One course of treatment with photolon was performed. The photosensitizer was administered intravenously as 30 min infusion in dose of 1.0 mg/kg body weight. The PDT session was performed 3h after infusion of photolon, the light dose was 350 J/cm<sup>2</sup>. The treatment was well tolerated. Due to PDT a complete tumor regression was achieved. The patient received a strict follow-up schedule, for 8 months after PDT no recurrence was observed.**

**Keywords:** vulvar cancer, vulvar dysplasia, photodynamic therapy, photolon.

**Контакты:** Филоненко Е.В.; E-mail: derkul23@yandex.ru

## ИЗВЕСТНОМУ УЧЕНОМУ В ОБЛАСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ, ПРОФЕССОРУ РАИСЕ ИВАНОВНЕ ЯКУБОВСКОЙ ИСПОЛНИТСЯ 70 ЛЕТ



27 января 2015 года исполнится 70 лет известному ученому в области экспериментальной онкологии, руководителю отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена, профессору Раисе Ивановне Якубовской.

Раиса Ивановна прошла долгий и интересный путь от химика до выдающегося онколога-экспериментатора, основателя школ экспериментальной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии, а также экспериментальной генной терапии.

В 1968 г. Раиса Ивановна закончила Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедру ферментативной кинетики и иммунохимии, и несколько лет работала на этой кафедре в должности младшего научного сотрудника.

В 1972–1981 г.г. она работала в институте биологической и медицинской химии АМН СССР и в 1977 г. защитила кандидатскую диссертацию, посвященную изучению свойств и механизма действия ингибитора трипсина и химотрипсина.

Дальнейшие 35 лет научной работы Раиса Ивановна посвятила экспериментальной онкологии в стенах МНИОИ им. П.А. Герцена. В 1992 г. Р.И. Якубовская защитила докторскую диссертацию на тему «Антигены молочной железы человека и возможности их использования в диагностике и терапии опухолей».

В течение последних 25 лет она успешно и творчески руководит отделением модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии, в котором развиваются новые методы диагностики и лечения злокачественных новообразований, разрабатываются методические подходы для изучения новых классов лекарственных средств, проводится их скрининг и доклиническое изучение.

Активно развивающимся направлением в исследованиях Якубовской является изучение особенностей опухолевой клетки и характеристика систем естественной резистентности организма-хозяина в условиях опухолевой прогрессии.

Изучение функционирования окислительно-антиокислительных и иммунологических систем у онкологических больных позволило получить новую информацию о корреляции между нарушениями в этих системах и распространенностью опухолевого процесса, сформулировать новые представления о вкладе окислительного стресса в развитие вторичных иммунодефицитов и токсикозов у больных на этапах консервативного и хирургического лечения и, с учетом этого, предложить различные схемы корригирующей терапии с включением активных белковых антиоксидантов. На основе лактоферрина человека разработан и внедрен в клиническую практику уникальный препарат Лапрот.

Под руководством Р.И. Якубовской интенсивно исследуются окислительные процессы как основа новых методов диагностики и лечения злокачественных новообразований. Раиса Ивановна, один из основателей экспериментальной флюоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ) в нашей стране, предложила оригинальные методические подходы к изучению фотосенсибилизаторов для ФД и ФДТ рака, позволяющие адекватно сравнивать красители по их специфической активности и оценивать их перспективность для клинического использования. В отделении исследовано более 200 соединений – потенциальных фотосенсибилизаторов различных классов.

На основе наиболее активных из них созданы оригинальные отечественные препараты для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии.

Под руководством Р.И. Якубовской изучены в эксперименте новые варианты применения фотодинамической терапии: интраоперационная ФДТ, сочетанное использование ФДТ с химиотерапией и лазерной гипертермией.

Р.И. Якубовская является одним из основоположников нового метода терапии рака – бинарной каталитической терапии (БКТ), основанного на генерации цитотоксических свободных радикалов. Под ее руководством разработаны и изучены препараты-катализаторы для БКТ и модификаторы химио-, лучевой терапии и гипертермии.

В настоящее время под руководством Р.И. Якубовской активно развиваются исследования в области генной терапии онкологических и инфекционных заболеваний.

Все исследования, руководимые профессором Р.И. Якубовской, выполнены на высоком методическом уровне и имеют большое научное значение,

а их результаты внедрены в практическое здравоохранение.

Р.И. Якубовская является дважды лауреатом Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники: в 1997 г. ей в составе коллектива авторов присуждена премия за работу «Радиомодификаторы как главный способ повышения эффективности лучевой терапии злокачественных опухолей (клинико-экспериментальные исследования)», в 2011 г. – за разработку и внедрение медицинских технологий флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии в онкологическую практику.

Р.И. Якубовской опубликовано более 250 научных работ, получено около 30 патентов на изобретения.

Профессор Р.И. Якубовская проводит активную педагогическую работу. Ею создана школа высококвалифицированных научных и профессиональных кадров. Под ее руководством выполнено 15 диссертационных работ. Материалы научных исследований включены в программы преподавания ряда ВУЗов России медицинского и химического профиля.

Р.И. Якубовская является членом Ученого Совета ФМИЦ им. П.А. Герцена; членом диссертационного совета при МНИОИ им. П.А. Герцена; экспертом РФФИ; членом редакционных коллегий журналов «Онкология. Журнал им. П.А. Герцена», «Российский биотерапевтический журнал» и «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика».

Научные разработки Р.И. Якубовской широко известны как в России, так и за рубежом.

**Редакция журнала, друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Раису Ивановну с юбилеем, желают долгих лет плодотворной творческой жизни на фоне крепкого здоровья и радости от новых успехов в науке и медицинской практике.**

## ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ

**Н**астоящие 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. Сур, 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. Исполствованные 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 порфирина 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.

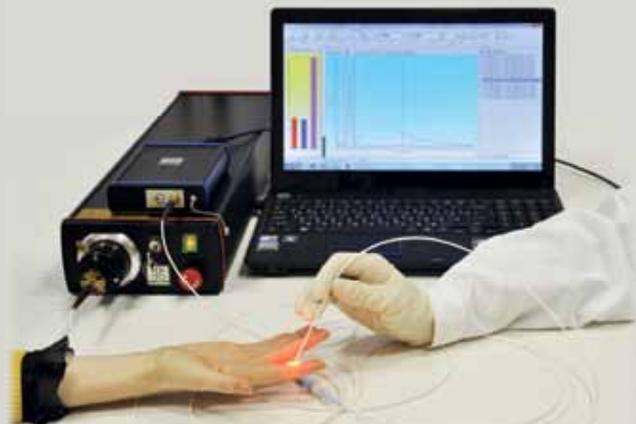
# Кабинет для проведения фотодинамической терапии\*

## 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](http://www.fotoditazin.com)  
[www.фотодитазин.рф](http://www.фотодитазин.рф)