

РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 4 Том 7 2008 г.

УДК 616-085.2/3

Учредители

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Главный редактор

А.Ю. Барышников, д-р мед. наук, проф.

Заместители главного редактора

А.В. Караулов, чл.-корр. РАМН, Н.А. Оборотова, д-р фарм. наук, проф.

Редколлегия

М.А. Барышникова (отв. секретарь), Н.А. Батурина, О.А. Бочарова, д-р биол. наук, проф. (Москва),
А.К. Голенков, д-р мед. наук, проф. (Москва), Л.В. Демидов, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.В. Евсегнеева, д-р мед. наук, проф. (Москва), П.К. Иванов, д-р мед. наук (Москва),
З.Г. Кадагидзе, д-р мед. наук, проф. (Москва), И.Ю. Кубасова, канд. мед. наук (Москва),
В.М. Моисеенко, д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), В.В. Новиков, д-р биол. наук, проф. (Нижний Новгород),
Н.С. Сергеева, д-р мед. наук, проф. (Москва), Е.В. Степанова, канд. мед. наук (Москва),
Н.Н. Тупицын, д-р мед. наук, проф. (Москва), Е.Г. Турнянская, канд. мед. наук (Москва),
С.А. Тюлядин, д-р мед. наук, проф. (Москва), Ю.В. Шишкин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.Ж. Шубина, канд. биол. наук (Москва), Р.И. Якубовская, д-р мед. наук, проф. (Москва)

Редакционный совет

А.П. Арзамасцев, академик РАМН, д-р фарм. наук, проф. (Москва),
Н.П. Бочков, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва), А.М. Гарин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
Г.П. Георгиев, академик РАН, д-р биол. наук, проф. (Москва),
М.Л. Гершанович, д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург),
М.И. Давыдов, академик РАН и РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва),
М.Р. Личиницер, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (Москва),
В.А. Тутьян, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва),
В.И. Чиссов, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва)

«Российский биотерапевтический журнал» является рецензируемым изданием

Подписной индекс 81679

Зарегистрировано в Государственном Комитете Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций

Регистрационный номер:

ПИ №77-11695 от 21.01.2002 г.

Почтовый адрес:

115478 Москва, Каширское ш., 24
НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей
ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН
Тел.: 323 57 00, 324 10 65; факс: 324 22 74;
E-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
Интернет-версия: www.rosoncweb.ru/rbj/
ISSN электронной версии 1726-9792

Издательская группа РОНЦ:
115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24.
Тел. (495) 324 24 70; publisher1@cancercenter.ru

Объем 8 усл. печ. листов,
подписано в печать 06.11.2008
Тираж 1000 экз

СОДЕРЖАНИЕ

Первый опыт проведения фотодинамической терапии в условиях регионального онкологического диспансера <i>С.А. Аминов, И.П. Аминова, Э.Н. Рябова, В.В. Соловьев.....</i>	4
Фотодинамическая терапия базально-клеточного рака кожи с фотосенсибилизатором фотодитазином <i>Е.Ф. Странадоко, В.Н. Волгин, И.А. Ламоткин, М.В. Рябов, М.В. Садовская.....</i>	7
Интраоперационная ФДТ в комбинированном лечении первичных и вторичных поражений плевры <i>А.И. Арсеньев, М.Л. Гельфонд, В.Н. Клименко, Е.В. Левченко, О.В. Чайка.....</i>	12
Фотодинамическая терапия в лечении огнестрельных ран мягких тканей <i>Ф.Е. Шин, П.И. Толстых, И.Ю. Кулешов, Е.Ф. Шин, Т.В. Морозова.....</i>	16
Теоретические и практические аспекты лазерной фотохимии для лечения гнойных ран <i>П.И. Толстых, В.А. Дербенев, И.Ю. Кулешов, А.М. Азимшоев, В.И. Елисеенко, А.Б. Соловьева, А.В. Иванов, Н.С. Мелик-Нубаров, С.Н. Макоев, Е.Ф. Шин.....</i>	20
ОКТ-мониторинг фотодинамической терапии <i>И.А. Январева, Ю.А. Стрельцова, Р.Р. Калугина, С.В. Гамаюнов, В.В. Слугарев, А.Н. Денисенко, И.А. Кузнецова, Н.М. Шахова.....</i>	25
Мониторинг накопления фотосенсибилизаторов в опухоли методом диффузионной флюоресцентной томографии <i>Е.В. Загайнова, М.В. Ширманова, М.А. Сироткина, Л.Б. Снопина, И.В. Балалаева, М.С. Клешинин, А.Г. Орлова, И.В. Турчин, Л.А. Седакова, В.И. Романенко, Е.М. Трещалина.....</i>	30
Эффективность фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи начальных стадий с локальным введением фотосенсибилизатора фотодитазин <i>Е.В. Ярославцева-Исаева, М.А. Каплан.....</i>	36
Возможности фотодинамической терапии с фотодитазином в комплексном лечении пролежней у больных травматической болезнью спинного мозга <i>А.С. Брюховецкий, А.В. Комфорт.....</i>	42

Применение фотодитазина при лечении воспалительных заболеваний пародонта, вызванных зубными протезами <i>А.П. Бобров, А.Н. Бадмаева, А.В. Кузнецов</i>	44
Возможности фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора фотодитазин в лечении гинекологических заболеваний <i>О.Б. Отдельнова, А.З. Хашукоева, М.И. Ибрагимова</i>	47
Лечение меланом сосудистой оболочки глаза большого размера методом фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин (клинический случай) <i>Ю.А. Белый, А.В. Терещенко, П.Л. Володин, М.А. Каплан</i>	53
Лечение меланом сосудистой оболочки глаза среднего размера методом фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин <i>Ю.А. Белый, А.В. Терещенко, П.Л. Володин, М.А. Каплан</i>	57
Лечение меланом сосудистой оболочки глаза малого размера методом фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин <i>Ю.А. Белый, А.В. Терещенко, П.Л. Володин, М.А. Каплан</i>	61
Фотодинамическая терапия в ветеринарной практике <i>С.А. Ягников, О.А. Кулешова, Я.А. Кулешова, Е.А. Корнюшенков</i>	67
Новые подходы к использованию термочувствительных липосом и локальной гипертермии <i>Е.В. Тазина, Н.А. Оборотова</i>	71
Липосомы в направленной доставке противоопухолевых препаратов <i>О.И. Саквина, А.Ю. Барышников</i>	80
Возможности иммунотерапии в онкологической практике <i>Л.В. Платинский, В.В. Брюзгин, Ю.И. Подистов, В.Д. Соколова, И.С. Алексеева, Ж.А. Завольская, А.А. Маркович, З.П. Рахманкулова</i>	86

УДК 615.831:616-006-08-039.57

S.A. Aminodov, I.P. Aminodova, E.M. Ryabova, V.V. Solovev

USE PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE REGIONAL ONCOLOGY CENTER

Regional oncology center of Ivanovo

ABSTRACT

The purpose of this study was apply the photodynamic therapy with russian second generation sensitizer Fotoditazine in regional oncology center. 18 patients with lung cancer, cervical intraepithelial neoplasia, skin metastases and other tumors were treated. The pronounced efficacy of photodynamic therapy in the regional oncology center was shown.

Key words: photodynamic therapy, Fotoditazine, regional oncology center.

С.А. Аминодов, И.П. Аминодова, Э.Н. Рябова, В.В. Соловьев

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В УСЛОВИЯ РЕГИОНАЛЬНОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ДИСПАНСЕРА

ГУЗ «Ивановский областной онкологический диспансер»

РЕЗЮМЕ

В работе приведены результаты первого опыта проведения фотодинамической терапии отечественным препаратом фотодитазин в условиях регионального онкологического диспансера. Пролечены 18 больных раком легкого, дисплазией шейки матки, метастазами рака в кожу и др. Показана высокая эффективность метода в условиях регионального онкологического учреждения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотодитазин, региональный онкологический диспансер.

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные новообразования являются одной из значимых медико-социальных проблем. Ивановская область занимает одно из первых мест по уровню онкологической заболеваемости в России [2]. В 2007 г. заболеваемость злокачественными новообразованиями в Ивановской области составила 411,5 ‰. Рост заболеваемости по региону за последние 5 лет составил 9,8 %. Учитывая, что увеличение числа случаев онкологической патологии происходит на фоне уменьшения численности населения области (за 5 лет на 80 тыс. человек), можно говорить об истинном росте числа злокачественных новообразований. При этом более половины случаев выявляются на поздних стадиях. Показатели смертности и одногодичной летальности от злокачественных опухолей в Ивановской области имеют тенденцию к росту и составили в 2007 г. 231,4 ‰ и 38,5 % соответственно. Это доказывает, что эффективность применяемых методов лечения достигла предела своих возможностей, что обуславливает необходимость внедрения новых, высокотехнологичных методов лечения. Одним из них является фотодинамическая терапия (ФДТ), которая до

недавнего времени применялась только в ведущих онкологических учреждениях. Внедрение ФДТ и комбинация ее с лучевой и химиотерапией расширяют возможности лечения, существенно улучшают качество жизни и отдаленные результаты терапии при онкологических заболеваниях [1; 4].

Практическое применение ФДТ в условиях региональных онкологических диспансеров стало возможным после появления фотосенсибилизаторов 2-го поколения, которые обладают рядом преимуществ по сравнению с предшественниками и могут более широко использоваться в клинической работе [5]. Нами для проведения ФДТ использовался фотосенсибилизатор 2-го поколения — фотодитазин, обладающий оптимальными характеристиками для применения в региональном онкологическом диспансере. Удобство применения этого препарата связано с низкой фототоксичностью, высоким градиентом «опухоль — нормальная ткань», быстрым достижением оптимальных концентраций, незначительным количеством побочных реакций, быстрым выведением из организма и высокой терапевтической активностью [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ФДТ с применением фотосенсибилизатора фотодитазин проведена 18 больным в возрасте от 56 до 78 лет, прошедшим лечение в условиях Ивановского онкологического диспансера, в том числе 8 пациентам с центральным раком легкого: у 6 из них ФДТ проводилась по поводу эндобронхиального рецидива плоскоклеточного рака, у 2 — при IIIA стадии мелкоклеточного рака легкого. Также ФДТ проведена 4 пациенткам с дисплазией шейки матки 2 – 3 степени (CIN II – III), 1 больной с опухолевым стенозом пищеводно-кишечного анастомоза, 1 пациентке с метастазами рака прямой кишки в кожу промежности, 2 пациенткам с раком шейки матки 2 стадии, имеющим противопоказания к стандартным методам лечения; в 2 случаях ФДТ проводилась интраоперационно (удаление рецидивной опухоли средостения и рецидивной опухоли промежности).

Фотосенсибилизатор применяли в дозе 0,8 – 1,0 мг/кг массы пациента. Рассчитанную дозу растворяли в 100 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия, вводили внутривенно капельно в течение 30 мин. С начала процедуры и в последующие сутки больные носили солнцезащитные очки.

Пациентам с дисплазией шейки матки в 2 случаях применялся фотодитазин-гель.

Через 2 ч после введения препарата проводили лазерное облучение опухоли аппаратом «АТКУС-2» (λ 662 нм, выходная мощность лазерного излучения до 2 Вт). Использовали световоды: с плоским торцом без оптических насадок, с гинекологической насадкой и специальный световод с насадкой, дающий квадратное поле. Плотность мощности лазерного излучения зависела от размеров новообразования и диаметра поля свечения световода. Число полей облучения определялось размерами опухоли и плотностью мощности. Время облучения рассчитывали таким образом, чтобы доза излучения на злокачественные опухоли составляла не менее 300 Дж/см², на зону дисплазии шейки матки — 200 Дж/см², при интраоперационном применении — 100 Дж/см² (табл. 1).

У пациентов с раком легкого для ФДТ использовали эндобронхиальное облучение, осуществлявшееся в ходе бронхоскопии. Эффективность лечения оценивали по динамике клинических симптомов, по данным рентгенологического исследования и фибробронхоскопии с видеосъемкой, через 7 дней, 1 и 2 мес после ФДТ.

Таблица 1

Параметры ФДТ в зависимости от нозологической формы

Нозологическая форма и параметры ФДТ	Мощность, Вт	Плотность энергии, Дж/см ²	Плотность мощности, Вт/см ²
Рак легкого	1,2	300	0,38
Опухолевый стеноз пищеводно-кишечного анастомоза	1,2	300	0,38
Метастазы рака прямой кишки в кожу промежности	2	300	0,64
Дисплазия шейки матки 2 – 3 степени	2	200	0,4
Интраоперационное применение	2	100	0,64
Рак шейки матки	2	300	0,64

РЕЗУЛЬТАТЫ

Осложнений во время и после ФДТ не было. Результаты лечения оценивались по индивидуальным особенностям течения заболевания.

Так из 8 больных центральным раком легкого у 6 эндобронхиальный компонент опухоли через 2 мес после лечения

не определялся (рис. 1 и 2), у 1 пациента отмечен частичный эффект и у 1 эффекта не выявлено.

Кроме того, у 7 пациентов за счет восстановления проходимости бронхов улучшилась вентиляция пораженного легкого, уменьшилась одышка, улучшилось качество жизни (рис. 3 и 4).

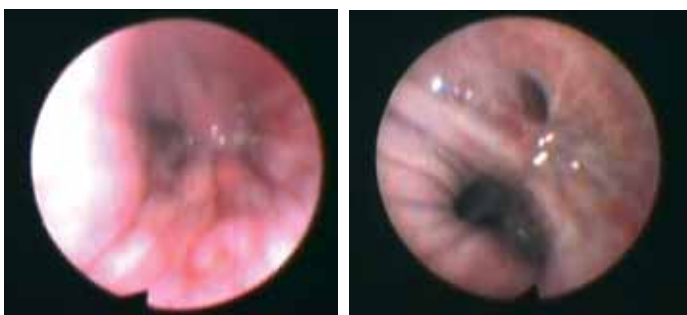


Рис. 1. Больной Л., 56 лет. Опухоль левого верхнего и нижнего долевых бронхов до ФДТ
Рис. 2. Больной Л., 56 лет. Через 2 мес. после ФДТ. Рубцовая ткань на месте опухоли

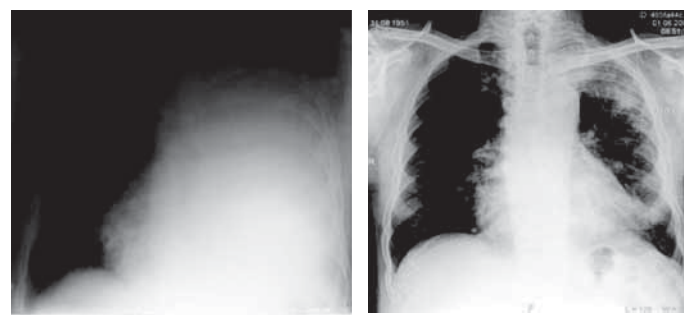


Рис. 3. Больной Л., 56 лет. Ателектаз левого легкого до ФДТ
Рис. 4. Больной Л., 56 лет. Восстановление пневматизации левого легкого через 2 мес после ФДТ

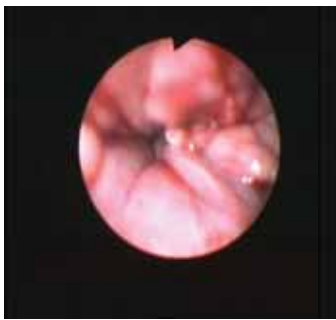


Рис. 5. Больная Ф., 62 года. Опухолевый стеноз пищевода до ФДТ



Рис. 6. Больная Ф., 62 года. Частичный эффект после ФДТ (уменьшение экзофитного компонента опухоли)

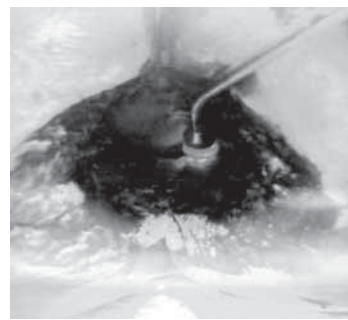


Рис. 7. Интраоперационная ФДТ



Рис. 8. Через 2 сут после интраоперационной ФДТ

У больных с CIN II – III через 1 мес после ФДТ при кольпоскопии не выявлено атипических зон, а при цитологическом исследовании атипических клеток. При этом различий в эффекте при применении геля или раствора фотодитазина не выявлено.

У пациентки со стенозом пищевода-кишечного анастомоза после ФДТ уменьшились опухолевый компонент и дисфагия (рис. 5 и 6). Эффективность ФДТ при лечении метастазов рака прямой кишки в кожу промежности проявилась в полном регрессе опухолевой ткани и уменьшении болевого синдрома.

Случай интраоперационного применения ФДТ у больной 39 лет с диагнозом рак прямой кишки на 5 см, T₂N₀M₀. Состояние после брюшно-анальной резекции прямой кишки и лучевой терапии в 2003 г. Экстирпация прямой кишки и 6 курсов ПХТ по поводу рецидива в 02.2007. Иссечение рецидива и интраоперационная ФДТ по поводу повторного рецидива в 07.2007; интра- и послеоперационных осложнений не было. Рана зажила вторичным натяжением. В течение 9 мес повторного рецидива не выявлено (рис. 7 и 8).

При интраоперационной ФДТ у пациентки с рецидивом лейомиосаркомы средостения осложнений не было. Послеоперационный период без особенностей.

Характеристика эффективности ФДТ приведена в табл. 2.

Таблица 2

Эффективность фотодинамической терапии

Нозологическая форма и эффект ФДТ	Полный	Частичный	Отсутствует
Рак легкого	6	1	1
Опухолевый стеноз пищевода-кишечного анастомоза	—	1	—
Метастазы рака прямой кишки в кожу промежности	—	1	—
Дисплазия шейки матки 2 – 3 степени	4	—	—
Интраоперационное применение	В течение 9 мес без рецидива		
Рак шейки матки	1	1	—

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фотодинамическая терапия в условиях регионального онкологического диспансера является безопасным, высокоэффективным и перспективным методом лечения, так как, дополняя существующие методы, повышает эффективность противоопухолевой терапии и улучшает качество жизни больных; может использоваться у пациентов, имеющих противопоказания к стандартным схемам лечения; позволяет провести менее травматичное лечение с лучшими результатами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гельфонд М.Л. Возможности фотодинамической терапии в онкологической практике // Физическая медицина. – 2005 – Т. 15, № 2. – С. 33–38.
2. Трапезников М.Н., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2005 году. – М., 2006.
3. Bonett R. Photosensitizers of the porphyrins and phtalocyanine series for photodynamic therapy // Chem. Soc. Rev. – 1995. – 24. – P. 19–33.
4. Stranadko E.F., Skobelkin O.K., Vorozhtsov G.N. et al. Photodynamic therapy of cancer: five year clinical experience // Proc. Soc. Photo-opt. Instrum.eng. – 1997. – 3191. – P. 253–262.
5. Stranadko E.F., Ponomarev G.V., Mechkov V.M. et al. The first experience of Photoditazine clinical application for photodynamic therapy of malignant tumours // Proc. SPIE. – 2000. – 3909. – P. 138–145.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616.5-006.6-085.831

E.F. Stranadko¹, V.N. Volgin², I.A. Lamotkin², M.V. Ryabov¹, M.V. Sadovskaya²

THE BASAL CELL CANCER OF SKIN PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTODITAZIN

*¹Laser Medicine State Research Center, Moscow**²N.N. Burdenko Military Hospital, Moscow*

ABSTRACT

Some physical and medical characteristics of second generation photosensitizer have been obtained. 127 patients with basal cell cancer of skin were enrolled in the study. The total regression of tumor has been achieved in 92,9 % cases, the partial response was observed in 7,1 % cases, we have also shown that the use of photoditazin in cosmetics were more effective in patients with basal cancer of skin than the traditional methods in use (surgical, irradiation, cryoscopy).

Key words: basal cell cancer of skin, photoditazin, photosensitizer, photodynamic therapy.

Е.Ф. Странадко¹, В.Н. Волгин², И.А. Ламоткин², М.В. Рябов¹, М.В. Садовская²

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОДИТАЗИНОМ

*¹ГНЦ лазерной медицины МЗ РФ, Москва**²ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва*

РЕЗЮМЕ

Разработаны и апробированы физико-химические параметры фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором 2-го поколения фотодитазином при лечении 127 больных базально-клеточным раком кожи. Полная резорбция опухолей наступила у 92,9 % из них, частичная — у 7,1 %. Косметические результаты ФДТ с фотодитазином превосходят таковые при традиционных методах лечения базально-клеточного рака кожи (хирургическом, лучевом, криодеструкции).

Ключевые слова: базально-клеточный рак кожи, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы, фотодитазин.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения базально-клеточного рака кожи (БКРК) актуальна для населения страны в целом. Это обусловлено уровнем заболеваемости, рецидивирующим характером течения, частой локализацией на открытых участках кожного покрова, особенно на лице, недостаточной эффективностью существующих методов терапии, значимыми косметическими дефектами.

Базально-клеточный рак кожи (БКРК, базалиома, базально-клеточная карцинома кожи, базально-целлюлярная эпителиома) — злокачественная эпителиальная опухоль кожи, возникающая из эпидермиса или волосяных фолликулов с местноинвазивным и деструктирующим ростом и чрезвычайно редким метастазированием [14; 33; 34]. Метастазирование БКРК отмечается в 0,0028 – 0,1 % случаев [3; 6]. По частоте БКРК в России занимает 2-е место среди всех злокачественных новообразований после рака легких, а в структуре злокачественных эпителиальных новообразований кожи его доля составляет от 75 до 97 % и продолжает неуклонно увеличиваться [5; 14; 26; 27; 30]. Ежегодный прирост регистрации

базалиом в разных странах мира с 1980 по 1999 гг. составил от 40 до 65 % [5; 8; 26; 27; 30].

Особенности течения базалиом определяются рядом факторов: возрастом больных, различными экзо- и эндогенными факторами, состоянием иммунной и эндокринной систем, локализацией опухоли и др. Как правило, первоначально на коже появляется безболезненное уплотнение, затем кожа над ним изъязвляется и покрывается корочкой. Размер язвы всегда меньше инфильтрата, и гноя обычно не бывает. Постепенно язва и уплотнение вокруг нее увеличиваются в размере. Процесс длится месяцами, и часто пациенты обращаются к врачу достаточно поздно.

Традиционными методами лечения БКРК являются хирургический и лучевой. Хирургический метод в большинстве случаев радикален. Однако его существенным недостатком является выраженный косметический дефект, что существенно при локализации опухоли на открытых участках кожного покрова. Хирургическому методу по радикализму несколько уступает близкофокусная лучевая терапия. В ряде клиник в настоящее время применяется криогенный

метод лечения. Однако при БКРК ушных раковин, носа и век глубокое промораживание не всегда приводит к полной резорбции опухоли и излечению. Криодеструкция сопровождается также выраженным косметическим дефектом, требующим пластической коррекции или протезирования [2]. Считается, что криогенный метод не показан при новообразованиях с эндофитной формой роста. В этом случае технически трудно достичь нужной глубины промораживания опухоли и пограничных тканей. По данным ряда авторов рецидивы при этом методе лечения составляют 22 % [13]. Вышеизложенное объясняет необходимость разработки новых медицинских технологий, обладающих высокой терапевтической эффективностью в сочетании с минимальными косметическими повреждениями тканей.

В последние 2 десятилетия в практику лечения злокачественных новообразований все шире внедряются органосохраняющие методы. Среди них особое место занимают лазерная вапоризация и фотодинамическая терапия (ФДТ) [7; 17; 20; 21]. ФДТ основана на способности фотосенсибилизаторов селективно накапливаться в опухолевой ткани. В присутствии кислорода под действием лазерного света с длиной волны, соответствующей пику поглощения фотосенсибилизатора, развивается фотохимическая реакция, приводящая к образованию синглетного кислорода и других активных форм кислорода с последующей избирательной гибелью опухолевых клеток и резорбцией опухоли. Заживление дефекта тканей после расплавления опухоли приводит к замещению ее соединительной тканью с образованием нежного рубца. Поскольку максимум светопропускания биотканей находится в области длин волн 600–900 нм, то красный свет сравнительно хорошо проникает через кожу. Он практически полностью поглощается на глубине 1,0–1,5 см, поэтому методом ФДТ с использованием красного света могут быть разрушены опухоли толщиной не более 1 см. Энергия красного света на данной глубине достаточна для возбуждения фотохимической реакции. При более массивных опухолях используется интерстициальное (внутриканевое) подведение световой энергии. Развивающееся в процессе лечения фотодинамическое повреждение вызывает резорбцию опухоли, максимально сохраняя окружающие здоровые ткани [15; 18; 24]. По данным большинства исследователей [22; 31; 36] градиент накопления фотосенсибилизатора между здоровой и патологической тканями может составлять от 1:2 до 1:15 в зависимости от типа фотосенсибилизатора и гистологической структуры опухоли.

Рядом авторов проведены морфологические исследования изменений в тканях под влиянием ФДТ [19; 29; 35; 37]. Уникальной особенностью фотодинамического повреждения тканей является разрушение клеточных элементов с сохранением коллагеновых структур. Последние служат основным каркасом для репаративных процессов, что обеспечивает хорошие косметические результаты. Сохранение каркаса коллагена при разрушении опухолевых клеток — благоприятный фон для последующей репарации и формирования рубца, сохраняющего конфигурацию поврежденной части тела. Отмечен отличный косметический и функциональный результат при лечении опухолей головы и шеи [11; 12; 16–18; 32], что особенно актуально при локализации БКРК на лице. Многие авторы при исследовании морфологических изменений в опухоли под влиянием ФДТ отмечают

не только развитие некроза опухолевых клеток, но и явления апоптоза [19; 28]. Развитие апоптоза в опухолевых клетках ведет к экономному избирательному разрушению ткани и минимальному дефекту кожи. При лечении опухолей малых размеров резорбция может происходить без нарушения целостности кожных покровов и практически не оставляет рубцов.

ФДТ БКРК возможно в труднодоступных областях (ушная раковина, наружный слуховой проход, нос, угол глаза) [7; 13]. Следует отметить, что лечение рака этих локализаций имеет свои особенности и характеризуется хорошими косметическими результатами по сравнению с другими видами лечения. Эффективность ФДТ БКРК различных локализаций по данным большинства авторов составляет 90–100 % [1; 12; 13; 16].

Целью настоящего исследования явилась разработка оптимальных режимов ФДТ БКРК с использованием отечественного фотосенсибилизатора фотодитазина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В Государственном научном центре лазерной медицины МЗ РФ и Главном военном клиническом госпитале имени Н.Н. Бурденко лечение методом ФДТ с фотогемом проведено 127 больным БКРК.

Возраст больных колебался от 20 до 93 лет, составляя в среднем 66,2 года. Мужчин было 98 (77,2 %), женщин — 29 (22,8 %).

В табл. 1 приведена частота встречаемости в выборке первичного и рецидивного БКРК с учетом возраста и давности заболевания.

Таблица 1

Распределение больных БКРК с учетом возраста и длительности течения патологического процесса

Показатели	Первичный КРК	Рецидивный БКРК	Всего
Количество больных, абс./%	85/66,9	42/33,1	127/100
Число очагов	178	136	314
Средний возраст больных, годы	65,7±13,9	67,3±14,4	66,2±14,0

Больные первичным БКРК встречались чаще (66,9 %), чем рецидивным (33,1 %). Рецидивы, как правило, наблюдались после криодеструкции и лучевой терапии, реже регистрировались после хирургического удаления. Возраст больных при рецидивном БКРК был несколько выше, что статистически значимого значения не имело ($p > 0,05$).

В своей многолетней практике мы использовали лазерные установки Металаз, Аткус-2, Кералаз, Кристалл. Выходная мощность лазера составляла 0,1–3,0 Вт. Плотность мощности излучения 0,1–1,50 Вт/см². Физико-технические условия лазерного воздействия при использовании ФДТ приведены в табл. 2.

В настоящее время фотодитазин зарегистрирован в России и разрешен для широкой клинической практики (регистрационный номер № ЛС-001246 от 10.02.2006 г.

Фотодитазин является фотосенсибилизатором 2-го поколения, предназначенным для флюоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии злокачественных опухолей. Препарат избирательно накапливается в злокаче-

ственных новообразованиях. При последующем облучении монохроматическим светом с длиной волны 661 – 662 нм опухолевого очага возникает фотосенсибилизирующий эффект, заключающийся в генерации в опухолевой ткани активных форм кислорода (синглетного кислорода) и других свободных радикалов, приводящих к развитию биохимических и структурно-функциональных изменений в клетках опухоли и их гибели. Высокая фототоксичность фотодитазина характерна для различных видов опухолевых клеток, она является высокоэффективным диагностическим средством при спектрофлюоресцентных методах исследования.

Таблица 2

Физико-технические условия лазерного воздействия при использовании ФДТ

Показатели	Минимальная	Максимальная	Средняя
Выходная мощность, Вт	0,1	3,0	0,8
Плотность мощности, Вт/см ²	0,1	1,5	0,3
Плотность энергии, Дж/см ²	50	800	200

Важная особенность фотодитазина — практическое отсутствие темновой цитотоксичности, быстрое (в течение 24 – 28 ч) выведение из организма, прежде всего из кожи и слизистых оболочек, высокая тропность (т.е. отношение концентраций препарата в опухоли и нормальной ткани). Указанные особенности препарата практически исключают повреждающее действие при проведении ФДТ здоровых органов и тканей [4; 9; 12].

После внутривенного введения фотодитазина максимальная концентрация в опухоли достигается через 1,5 – 2,5 ч с момента введения (в зависимости от нозологического типа опухоли), после чего концентрация фотодитазина в опухоли постепенно уменьшается. Период полувыведения препарата — 12 ч. Через 28 ч после внутривенного введения в крови обнаруживаются следовые количества препарата. Максимальный коэффициент контрастности накопления препарата (опухоль / нормальная ткань) зависит от нозологического типа опухоли и может варьироваться от 3 до 15. Препарат активно метаболизируется в печени (свыше 95 %). Связь с белками плазмы составляет 92 – 96 %.

Длительность облучения зависела от размера опухолей и составляла от 2 – 3 мин до 20 – 30 мин. В случае возникновения локальной болезненности в пределах светового воздействия делался перерыв на 2 – 3 мин, т.е. облучение проводили фракционно. Для облучения поверхностных опухолей кожи использовался световод с микролинзой на конце, при локализации опухолей в наружном слуховом проходе и в носовых ходах — световод с цилиндрическим диффузором.

ФДТ (введение фотосенсибилизатора, сеансы светового воздействия), а также динамическое наблюдение за больными в большинстве случаев проводились амбулаторно. Только соматически ослабленных больных госпитализировали на 2 – 3 нед. Среднее количество амбулаторных визитов больного к врачу в течение 2 мес, начиная с первичного осмотра и до полной эпителизации дефекта кожи, составляло в среднем 7 раз.

Эффективность ФДТ оценивалась по следующим критериям:

- полная резорбция (ПР) опухоли — отсутствие визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста;
- частичная резорбция (ЧР) — уменьшение размеров опухоли не менее, чем на 50 %;
- без эффекта (БЭ) — уменьшение размера опухоли менее, чем на 50%.

При этом следует учитывать, что ЧР оценивается как положительный терапевтический эффект, так как у многих больных благодаря сосудистому механизму действия ФДТ наблюдалась длительная стабилизация процесса. Непосредственные результаты ФДТ оценивались через 2 мес, так как этот срок в большинстве случаев был достаточным для резорбции опухолей и эпителизации дефектов кожи. Если заживление не наступало в течение этого периода, то проводилась повторная биопсия с гистологическим и цитологическим исследованием материала. При выявлении опухолевых клеток даже при минимальном размере очага результат расценивался как ЧР опухоли.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ряд отечественных авторов [10; 11; 12; 23] отмечают хорошие результаты при применении фотодитазина. Наши результаты лечения БКРК методом ФДТ с использованием фотодитазина отражены в табл. 3.

Таблица 3

Эффективность ФДТ БКРК с фотодитазинном

Характер заболевания	Количество больных	Результаты ФДТ			
		ПР		ЧР	
		Абс.	%	Абс.	%
Первичный БКРК	85	80	94,1	5	5,9
Рецидивный БКРК	42	38	90,5	4	9,5
Всего больных	127	118	92,9	9	7,1

В целом по выборке полная резорбция опухолей наступила у 118 (92,9 %) больных, частичная — у 9 (7,1 %). Оба результата принято оценивать как положительный терапевтический эффект. Абсолютной резистентности опухолей к ФДТ не обнаружено. Непосредственная терапевтическая эффективность метода на этой группе больных оказалась практически одинаковой при первичном и рецидивном БКРК

Нами проанализированы отдаленные результаты лечения БКРК методом ФДТ с использованием фотодитазина. Срок диспансерного наблюдения за больными составил от 4 мес до 88 мес. Анализ отдаленных результатов лечения БКРК после полной резорбции отражен в табл. 4.

Таблица 4

Отдаленные результаты ФДТ БКРК с фотодитазинном

Характер заболевания	Количество больных	Отдаленные результаты ФДТ			
		Без рецидива		Рецидив	
		Абс.	%	Абс.	%
Первичный БКРК	80	75	93,7	5	6,3
Рецидивный БКРК	38	32	84,2	6	15,8
Всего больных с полной резорбцией БКРК	118	107	89,7	11	10,3

Из данных таблицы видно, что после полной резорбции опухолей у 118 больных рецидивы в дальнейшем возникли у 11 (10,3 % случаев). Частота рецидивов при ФДТ первичного БКРК значимо ниже, чем при рецидивном ($p < 0,05$). Диспансерное наблюдение удалось осуществить практически за всеми больными (прослеженность 86,9 %). Только 4 пациента переехали в другие города и были потеряны для наблюдения отдаленных результатов.

Результаты лечения пациентов с БКРК отражены на рис. 1 – 3.



Рис. 1. Больная Л. с базально-клеточным раком кожи внутреннего угла правого глаза с переходом на щеку (рецидив после лучевой терапии):

а – до лечения; *б* – через 3 дня после лечения;
в – через 3 мес после лечения



Рис. 2. Больная С. с базально-клеточным раком кожи правой ушной раковины:

а – до лечения; *б* – через 2 мес после лечения.



Рис. 3. Больная Е. с базально-клеточным раком кожи левой щеки:

а – до лечения; *б* – через 3 дня после лечения;
в – через 2 мес после лечения.

В процессе исследования отработана доза световой энергии при использовании фотодитазина. Оценена эффективность доз световой энергии от 50 до 600 Дж/см². Наиболее оптимальной дозой для поверхностных очагов оказалась 100–200 Дж/см², солидных образований — 200–300 Дж/см², а язвенных и экзофитных форм опухолей с глубоким инфильтративным ростом — 300–500 Дж/см².

Короткий срок кожной фототоксичности фотодитазина в отличие от фотосенсибилизаторов 1-го поколения (длительность 1,5–2 мес и более) является одним из наиболее существенных преимуществ препарата, так как позволяет сократить сроки соблюдения светового режима до 3–5 дней. Осложнения и нежелательные побочные явления после ФДТ среди наших больных составили 5,5 %. Основным побочным эффектом метода была гиперемия кожи при попадании солнечных лучей на открытые участки тела в результате по-

вышенной светочувствительности (2 больных или 1,6 %). Присоединение вторичной инфекции, затягивающей сроки заживления дефекта, наблюдались у 4 больных (3,9 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог проведенному исследованию, можно заключить, что ФДТ с фотосенсибилизатором 2-го поколения фотодитазин существенно расширяет арсенал средств лечения как первичного, так и рецидивного БКРК. Метод незаменим при неудобных локализациях опухолей (ушная раковина, угол глаза, веки, нос и др.). Применение ФДТ показано при опухолях, резистентных к ранее проводимым методам традиционной терапии. Косметические результаты после лечения расценены как отличные и хорошие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вакуловская Е.Г., Шенталь В.В., Абдуллин Н.А. и др. Фотодинамическая терапия опухолей кожи и нижней губы // Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований. – Второй Всероссийский симпозиум с международным участием. – М., 1997. – С. 30–35.
2. Вержбицкий Г.В. Клинико-косметическая оценка результатов криогенного лечения при новообразованиях ЛОР-органов. – В книге: Симановский — основоположник отечественной оториноларингологии: Материалы всерос. научно-практ. конф. – СПб., 2004. – С. 253–254.
3. Дубенский В.В., Гармонов А.А. Современные аспекты эпидемиологии, патогенеза, клиники и лечения базально-клеточного рака кожи // Вестн. дерматол. и венерол. – 2004. – № 6. – С. 7–12.
4. Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В. и др. Действие фотодинамической терапии с Фотодитазином на рост и функциональную морфологию саркомы М-1 // Лазерная медицина. – 2005. – 9(4). – С. 41–47.
5. Курдина М.И., Денисов Л.Е., Грецова В.И., Заева Н.Н. Заболеваемость раком кожи среди постоянного контингента населения // Вопр. Онкологии. – 1992. – 6. – С. 727–732.
6. Молочков В.А., Снарская Е.С. К вопросу о метастазировании базально-клеточного и метатипического рака кожи // Рос. журн. кож. и вен. болезней. – 2003. – № 1. – С. 9–12.
7. Наседкин А.Н., Зенгер В.Г. Лазеры в оториноларингологии. – М.: ТОО «Фирма «Техника», 2000. – 140 с.
8. Пискалова Т.П., Ильин И.И. К вопросу об эффективности лечения базалиомы кожи // Вест. дермат. венер. – 1990. – № 6. – С. 66–67.
9. Пономарев Г.В., Решетников А.В., Иванов А.В., Странадко Е.Ф. Оценка биологической активности нового фотосенсибилизатора для клинического использования – комплекса хлорина е6 («фотодитазина») // Фотодинамическая терапия. Материалы III Всероссийского симпозиума 11-12 октября 1999 года, М. – С. 133–141.
10. Романко Ю.С., Каплан М.А., Попучиев В.В. и др. Базально-клеточный рак кожи: проблемы лечения и современные аспекты фотодинамической терапии //

- Рос. журн. кож. и вен. болезней. – 2004. – № 6. – С. 6–10.
11. *Рябов М.В., Странадко Е.Ф.* Опыт фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи размерами, соответствующими T2 // Фотодинамическая терапия. Материалы III Всероссийского симпозиума 11-12 октября 1999 года, М. – С. 56–65
 12. *Рябов М.В., Странадко Е.Ф., Волкова Н.Н.* Фотодинамическая терапия местнораспространенного базально-клеточного рака кожи // Лазерная медицина. – 2004. – Т. 6., Вып. 1. – С. 18–24.
 13. *Савельева А.Е., Ковалев Ю.Н.* Сравнительный анализ эффективности различных методов лечения базально-клеточного рака кожи лица с учетом топографо-анатомических локализаций // Рос. журн. кож. и вен. болезней. – 2003. – № 1. – С. 9–12.
 14. *Сергеев Ю.В., Борисова С.В., Шубина С.И.* Актуальные проблемы практической дерматоонкологии: рост заболеваемости, совершенствование диспансеризации и профилактика базально-клеточного рака кожи // Рос. журн. кож. и вен. бол. – 1999. – С. 1.
 15. *Странадко Е.Ф.* Фотодинамическая терапия. – В кн.: Применение низкоинтенсивных лазеров в клинической практике / Под ред. акад. О.К. Скобелкина. – М., 1997. – С. 173–184.
 16. *Странадко Е.Ф.* Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей и неопухолевых заболеваний // Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований. – Второй Всероссийский симпозиум с международным участием. – М., 1997. – С. 30–35.
 17. *Странадко Е.Ф.* Фотодинамическая терапия рака (пятiletний рубеж) // Лаз. мед. – 1997. – 1(1). – С. 13–17.
 18. *Странадко Е.Ф., Астраханкина Т.А.* Фотодинамическая терапия рака кожи. – М., 1996. – 11 с.
 19. *Странадко Е.Ф., Байбеков И.М., Азимова Т.В.* Ультраструктура ядер опухолевых клеток при фотодинамической терапии // Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований. – Второй Всероссийский симпозиум с международным участием. – М., 1997. – С. 74–82.
 20. *Странадко Е.Ф., Маркичев Н.А., Рябов М.В.* Фотодинамическая терапия в лечении злокачественных новообразований различных локализаций: Пособие для врачей. – М., 2002. – 22 с.
 21. *Странадко Е.Ф., Маркичев Н.А., Рябов М.В.* Фотодинамическая терапия множественных рецидивных злокачественных опухолей кожи в амбулаторных условиях // Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований. – Второй Всероссийский симпозиум с международным участием. – М., 1997. – С. 47–51.
 22. *Странадко Е.Ф., Мешков В.М., Рябов М.В., Маркичев Н.А.* Использование фотобиологических свойств порфиринов в клинической онкологии // Материалы II Всероссийского Съезда Фотобиологов. – Пущино, 1998. – С. 402–405.
 23. *Странадко Е.Ф., Рябов М.В., Маркичев Н.А., Волкова Н.Н.* Результаты первых этапов клинического применения фотодинамической терапии для лечения злокачественных новообразований // Фотодинамическая терапия. – Материалы III Всероссийского симпозиума 11–12 октября 1999 года, М. – С. 68–73.
 24. *Странадко Е.Ф., Скобелкин О.К., Ворожцов Г.Н. и др.* Пятилетний опыт клинического применения фотодинамической терапии // Российский онкологический журнал. – 1998. – № 4. – С. 13–18.
 25. *Стратонников А.А., Лоценов В.Б., Дуплик А.Ю.* Изменение степени оксигенации гемоглобина крови во время фотодинамической терапии // Фотодинамическая терапия. Материалы III Всероссийского симпозиума 11–12 октября 1999 года, М. – С. 199–208.
 26. *Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В.* Злокачественные новообразования в России в 2003 году (заболеваемость и смертность). – М., 2005. – 256 с.
 27. *Шумай Н.И.* Эпидемиология опухолей кожи // Вест. дермат. венер. – 1993. – № 2. – С. 26–31.
 28. *Agarwal R, Korman NJ, Mohan RR et al.* Apoptosis is an early event during phthalocyanine therapy-induced ablation of chemically induced squamous papillomas in mouse skin // Photochem Photobiol. – 1996. – 63(4). – P. 547–552.
 29. *Barr H., Tralau CJ, MacRobert AJ et al.* Photodynamic therapy in the normal rat colon with phthalocyanine sensitization // Brit. J. Cancer. – 1987. – 56. – P. 111–118.
 30. Cancer statistics. – CA, 1989. – Vol. 39. – P. 3–20.
 31. *Dougherty T.J.* Photoradiation therapy for cutaneous and subcutaneous malignancies // J Invest Dermatol. – 1981. – 77. – P. 122–124.
 32. *Grant WE, Speight PM, Hopper C et al.* Photodynamic therapy: an affective, but nonselective treatment of superficial cancers of the oral cavity // Int. J. Cancer. – 1997. – 71. – P. 937–942.
 33. *Lever WF, Shaumburg-Lever G.* Histopathology of the skin, 7-th eds, Lippincott, Philadelphia, 1990.
 34. *Miller S.J.* Biology of basalcell carcinoma (Part 1,2) // J. Am. Acad. Dermat. – 1991. – 24. – P. 1–13.
 35. *Pope I.J., Bown S.G.* The morphological and functional changes in the rat bladder following photodynamic therapy with phthalocyanine photosensitisation // J. Urol. – 1991. – 145. – P. 1064–1070.
 36. *Sitnik T.M., Henderson B.W.* The effect of fluence rate on tumor and normal tissue responses to photodynamic therapy // Photochem Photobiol. – 1998. – 67(4). – 462–466.
 37. *Smith S.G.T., Bedwell J., MacRobert A.J. et al.* Experimental studies to assess the potential of photodynamic therapy for the treatment of bronchial carcinomas // Thorax. – 1993. – 48. – P. 474–480.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616.25-006.32-08-059:615.831

A.I. Arsenyev, M.L. Gelfond, V.N. Klimenko, E.V. Levchenko, O.V. Chaika

INTRASURGICAL PHOTODYNAMIC THERAPY IN COMBINED TREATMENT OF PRIMARY AND SECONDARY DAMAGED PLEURA

N.N. Petrov Institute of Cancer, St. Petersburg

ABSTRACT

The treatment of pleurodesis combined with photodynamic therapy was shown to be the highly effective method of treatment metastatic pleurisy resulted in improving patients' life quality and in some cases in increasing survival of patients. Based on the preliminary experience of combined treatment of mesothelioma with intrasurgical photodynamic therapy we conclude that such approach is promising and requires further study.

Key words: mesothelioma, metastatic pleurisy, combined pleurodesis, photodynamic therapy.

A.I. Арсеньев, М.Л. Гельфонд, В.Н. Клименко, Е.В. Левченко, О.В. Чайка

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФДТ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПЛЕВРЫ

ФГУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Росздравтехнологий, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

Комбинированный плевродез с использованием ФДТ является высокоэффективным методом лечения метастатических плевритов, существенно улучшающим качество жизни, а в ряде случаев и увеличивающим продолжительность жизни больных. Первый опыт комбинированного лечения мезотелиом плевры с интраоперационной ФДТ свидетельствует о перспективности этого метода и необходимости дальнейших клинических исследований.

Ключевые слова: мезотелиома, метастатический плеврит, комбинированный плевродез, ФДТ.

ВВЕДЕНИЕ

В структуре смертности населения России злокачественные новообразования занимают 3-е место и составляют 13%. В России от злокачественных новообразований ежегодно умирают более 300 тыс. больных, из них 70% нуждаются в паллиативном лечении и оказании паллиативной помощи. Такая помощь больным распространенными формами злокачественных новообразований становится одной из актуальных проблем онкологических служб большинства развитых стран мира [2; 3; 5; 11; 13; 15; 16].

В последние годы в медицине произошло осознание того факта, что качество жизни является важнейшим фактором оценки эффективности лечебных методик и прогнозирования исхода заболевания. Этот термин, недавно родившийся в западной философии, уже прочно занял значимое место в социологии и медицине [2; 5; 9; 11; 15].

Тяжесть состояния части неоперабельных онкологических больных и соответственно низкое качество жизни часто обусловлены наличием у них экссудативного плеврита. Перед клиницистом встает вопрос о необходимости его устранения для увеличения дыхательной поверхности легочной ткани, ликвидации компрессии легкого и органов средостения, купирования явлений обтурационной пневмо-

нии и, кроме этого, для создания условий и возможности специфического противоопухолевого лечения, зачастую для получения возможности продолжения специального противоопухолевого лечения.

Одной из основных причин злокачественных экссудативных плевритов является рак легкого. По разным данным основная масса больных (более 75%) поступают в специализированные лечебные учреждения в III – IV стадиях заболевания, и более, чем у 50% этих пациентов, заболевание сопровождается дыхательной недостаточностью, обусловленной наличием экссудативного плеврита [3; 8; 16; 19; 20; 21]. Помимо РЛ вторичный карциноматозный экссудативный плеврит может встречаться при распространенных раках молочной железы (45 – 50%), желудка (30 – 65%), щитовидной железы (25 – 45%) и некоторых других злокачественных новообразованиях. Около 2% общего числа специфических плевральных выпотов приходится на диффузные злокачественные мезотелиомы плевры, имеющие крайне неблагоприятный прогноз. Медиана выживаемости этой категории больных в случае проведения симптоматической терапии составляет не более 7 мес [7; 22].

Несмотря на то, что за последние 2 десятилетия достигнуты определенные успехи в лечении мезотелиомы, прогресс

в решении этой проблемы только наметился. Так, хирургическое лечение в объеме плеврэктомии или плевропневмонэктомии проводится редко, лишь 7 – 10 % больных. После плевропневмонэктомий ранняя послеоперационная смертность достигает 14 – 15 %, значительно превышая минимальную летальность после плеврэктомий. Сравнительные показатели продолжительности жизни после этих операций практически не отличаются: медиана выживаемости соответствует 9 – 21 мес; 2-летняя выживаемость составляет 11 – 45 % [21–26]. Улучшение отдаленных результатов хирургического лечения (прежде всего, плевропневмонэктомий) связывают с проведением адъювантной химиотерапии [21].

Разработка более совершенных технологий облучения, в частности, широкое распространение конформной лучевой терапии, хотя и приводит к уменьшению болевого синдрома, однако не увеличивает продолжительности жизни больных. Оправданность повышения дозы (СОД более 50 Гр), комбинация лучевой и химиотерапии также вызывают дискуссии исследователей, так как не повышают медианы выживаемости пациентов с мезотелиомой плевры.

Несмотря на улучшение качества сопроводительной терапии, обеспечивающее улучшение переносимости химиопрепаратов, эффективность современных схем полихимиотерапии при мезотелиоме плевры редко превышает 20 %. Так, частота ответа была сравнительно выше среди больных, получавших цисплатин, циклоплатам, митоминин, ралтитрексид (томудекс), этопозид, карбоплатин, ифосфамид, винорельбин, гемцитабин (гемзар), пеметрексед (алимта).

Этиопатогенетически гидроторакс возникает вследствие повышения проницаемости капилляров в результате опухолевой инфильтрации плевры, воспаления, облучения и т.д. Опухолевую природу выпота подтверждают цитологически в 80 % случаев. Характерными клиническими признаками плеврального выпота являются уменьшение экскурсий грудной клетки и объема дыхания, выраженные одышка и болевой синдром. Для предотвращения экссудации традиционно используются такие методы, как хирургическая (открытая и эндоскопическая) плеврэктомия, химический плевродез (внутриплевральное введение акрихина, талька, тетрациклина, делагила), физический плевродез (электрокоагуляционный, аргоноплазменный, лазерный, криодеструкционный) [1; 6; 7; 13].

Широко распространено внутриплевральное введение химиотерапевтических препаратов, таких, как циклофосфан, блеомицитин и др. Однако результаты применения этих методов нельзя признать удовлетворительными. Физический и химический плевродез обычно позволяют добиться только частичного эффекта вследствие частичной облитерации плевральной полости, а также труднодоступности многих ее отделов для проведения манипуляций.

Химиорезистентность плевральных выпотов к внутриполостному введению препаратов (в 43 – 82 % случаев) также является частой причиной рецидива гидроторакса. В целом по данным литературы применение вышеописанных методик позволяет добиться полного прекращения накопления выпота в плевральной полости не чаще, чем в 70 – 80 % [1; 9; 23]. Нельзя не учитывать и большого числа побочных эффектов и осложнений при реализации этих методик, таких, как аллергические реакции, респираторный дистресс-синдром, а также возможность развития системной и

полиорганной недостаточности [17; 18; 22].

В этих условиях становятся очевидными преимущества дальнейшего повышения эффективности местного контроля над опухолевым процессом путем внедрения комбинированных методов устранения гидроторакса, позволяющих нивелировать указанные недостатки путем взаимного дополнения эффектов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В клинике торакальной онкологии ФГУ «НИИ онкологии имени Н.Н. Петрова» разработан способ комбинированного лечения злокачественных опухолевых поражений плевры, сопровождающихся экссудативным плевритом, включающий аргоноплазменную электрокоагуляцию плевры (АПКП) с последующей интраоперационной фотодинамической терапией (ФДТ) во время видеоторакоскопии (ВТС).

Для аргоноплазменной коагуляции метастатических поражений плевры нами использовался функциональный комплекс (ERBOTOM ICC-300; APC-300), состоящий из блока контроля и управления аргонопитанием, высокочастотного генератора и зондов-электродов. Аргоноплазменная коагуляция — метод монополярной высокочастотной электрохирургии, в котором энергия тока высокой частоты передается на ткань бесконтактным способом посредством ионизированного аргона. Аргоноплазменная дуга образуется между электродом и участком ткани, имеющим наименьшее сопротивление. Возникающее обезвоживание (десикация) коагулированной ткани увеличивает ее сопротивление, что приводит к перемещению аргоновой дуги на участок ткани с меньшим сопротивлением, обеспечивая гомогенность зоны коагуляции и контролируемость глубины воздействия. Глубина коагуляции в зависимости от мощности и продолжительности аппликации электрода не превышает 3 мм, снижая риск повреждения магистральных сосудов и органов грудной полости. Коагуляция проводится при мощности 60 – 90 Вт, при расходе аргона 2,0 – 2,4 л/мин. Одним из преимуществ метода является коагуляция в бескислородной среде, позволяющая воздействовать на ткань без существенного ее обугливания (карбонизации) и задымления плевральной полости.

Для фотодинамической терапии в качестве фотосенсибилизатора (ФС) использовался фотодитазин (глюкаминная соль хлорина Е6). Доза препарата составляла от 0,8 до 1,5 мг/кг веса. Облучение проводилось через 2 ч после инфузии ФС полупроводниковым лазером «Аткус-2» или «Латус-2» с плотностью мощности 120 – 140 мВт/см² и суммарной дозой облучения 300 Дж.

ВТС при лечении химиорезистентных форм экссудативных плевритов использована у 102 больных с метастатическим поражением плевры при раке: легкого (51), молочной железы (17), яичников (6), щитовидной железы (3), гортани (2), меланоме кожи (2), тела матки (1), толстой кишки (2), поджелудочной железы (1), и у 17 больных со злокачественной мезотелиомой плевры.

Всем больным был выполнен тальковый (20), аргоноплазменный (42), комбинированный — аргоноплазменный + ФДТ (40) плевродез.

В 3 случаях при лечении мезотелиомы плевры произведена панплевропневмонэктомия с интраоперационной ФДТ и гипертермической хемоперфузией (мелфолоном).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 99 % больных, которым был проведен плевродез, отмечено быстрое уменьшение, а затем и стойкое прекращение экссудации в полость плевры, улучшение функции внешнего дыхания, показателей газового состава крови, повышение индекса Карновского с 60 до 70 % в течение 6 мес. Необходимости в повторных хирургических вмешательствах и плевральных пункциях не возникало.

У всех больных отмечалось полное купирование болевого синдрома и уменьшение опухолевой интоксикации. Облитерация плевральной полости после комбинированного плевродеза препятствовала коллабированию легкого или его долей. Улучшение состояния у ряда больных позволило продолжить химиолучевое лечение основного заболевания.

При сравнении эффективности различных методов плевродеза отмечено, что комбинированный метод с использованием аргоноплазменной коагуляции и ФДТ на 25 % эффективнее, чем тальковый плевродез.

На рис. 1 и 2 представлено клиническое наблюдение больной К., которой по поводу химиорезистентного метастатического плеврита выполнен комбинированный плевродез. Достигнута полная и длительная облитерация плевральной полости в течение 6 мес.

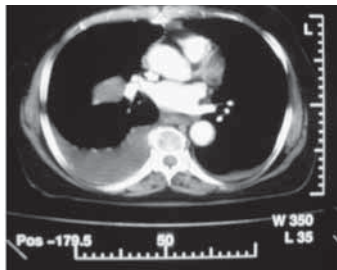


Рис. 1. Больная К. до плевродеза

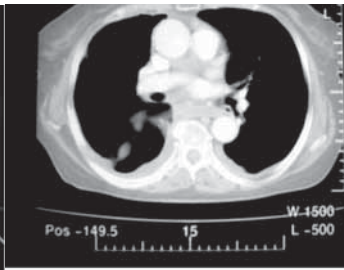


Рис. 2. Больная К. через 6 мес после плевродеза

Продолжительность жизни больных после комбинированного плевродеза по поводу химиорезистентного метастатического плеврита

Продолжительность жизни, г	Количество больных (%)
Менее 1	35 (33)
Более 1	52 (52)
2	15 (15)
	Всего 102 (100)

Полная клиническая ремиссия у этого, неблагоприятного в прогностическом отношении контингента больных, составила 11 мес (от 6 до 29 мес). Частичная клиническая ремиссия равнялась 5 мес (от 3 до 10 мес).

Длительность жизни больных после комбинированного плевродеза представлена в таблице.

Все трое больных, перенесших комбинированное лечение (панплевропневмонэктомия + ФДТ + гипертермическая хемоперфузия) по поводу мезотелиомы плевры, находятся под динамическим наблюдением. Минимальный срок наблюдения 3 мес. Максимальный срок безрецидивного периода у одного из больных достиг 2 лет.

Применение интраоперационной ФДТ явилось эффективным компонентом комбинированного лечения злокачественных новообразований. При лечении метастатических экссудативных плевритов, особенно их химиорезистентных форм, комбинированный плевродез способен существенно улучшить качество, а в ряде случаев и продолжительность жизни больных. Кроме того, у некоторых больных удается продолжить лечение основного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленный нами первый опыт свидетельствует о том, что предлагаемый способ лечения отличается достаточно высокой степенью воспроизводимости, несомненной эффективностью, безопасностью, экономической приемлемостью для большинства специализированных онкологических, хирургических и радиологических стационаров, что позволяет широко использовать данную медицинскую технологию в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопов А.А., Кондратьев В.Б. Внутриполостное применение блеомицетина при опухолевых плевритах // Материалы 3-й Российской онкологической конференции. – СПб, 1999. – С. 137–138.
2. Барчук А.С., Гельфонд М.Л., Арсеньев А.И. и др. Современные возможности паллиативного лечения рака легкого. – В сб.: Курс лекций по паллиативной помощи онкологическим больным / Под ред. проф. Г.А. Новикова, проф. В.И. Чиссова, 2000.
3. Барчук А.С. Стандарты лечения немелкоклеточного рака легкого // Вестник РОНЦ. – 2003. – № 1. – С. 3–7.
4. Брехов Е.И. Применение плазменных потоков в хирургии: практическое пособие. – М. – С. 29–33.
5. Давыдов М.И., Волков С.М., Полоцкий Б.Е. Совершенствование хирургического лечения больных немелкоклеточным раком легкого // Рос. онкол. журн. – 2001. – № 5. – С. 14–17.
6. Запорожан В.Н., Грубник В.В., Поддубный Б.К., Шитулин П.П. Лазеры в эндоскопии. – Одесса: Медицинский государственный университет, 1997. – 220 с.
7. Колесников И.С., Лыткин М.И. Хирургия легких и плевры. – Л.: Медицина, 1988. – 382 с.
8. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Санкт-Петербурге в 1996г. – СПб., 1999. – 219 с.
9. Моисеенко В.М. Современная химиотерапия диссеминированного рака молочной железы // Материалы 3-й Российской онкологической конференции. СПб, 1999. – С. 103–110.
10. Москалик В.А. Применение плазменного потока аргона в хирургической пульмонологии при заболеваниях и огнестрельных ранениях: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1992. – С. 12–17
11. Новиков Г.А., Осипова Н.А., Старинский В.В. и др. Перспективы развития и совершенствования паллиативной помощи онкологическим больным в России // Российский медицинский журнал. – 1995. – № 1. – С. 13–17.
12. Соколов В.В. Современные возможности и перспективы внутрисветовой эндоскопической и фотодинамической паллиативной терапии в онкологии //

- Паллиативная медицина и реабилитация. – 1999. – № 2. – С. 20.
13. Трахтенберг А.Х., Чиссов В.И. Клиническая онкопульмонология. – М.: «ГЭОТАР Медицина», 2000. – 599 с.
 14. Чиссов В.И., Соколов В.В., Филоненко Е.В. и др. Современные возможности и перспективы эндоскопической хирургии и фотодинамической терапии злокачественных опухолей // Рос. онкол. ж. – 1998. – № 4. – С. 4–12.
 15. Чиссов В.И., Новиков Г.А., Прохоров Б.М. Паллиативная помощь – одно из приоритетных направлений отечественной онкологии // III Конгресс «Паллиативная медицина и реабилитация в здравоохранении», Паллиативная медицина и реабилитация. – 2000. – № 1–2. – С. 6.
 16. Albain K.S., Crowley J.J., Le Blanc M. et al. Survival determinants in extensive stage non-small cell lung cancer. The Southwest Oncology Group experience // J. Clin. Oncol. – 1991. – 9. – P. 1618–1626.
 17. Campos J.R. Торакоскопический плевродез тальком: 15-й опыт // Chest. – 2001. – 119(3). – P. 801–806.
 18. Furedi A. Видеоторакоскопический плевродез в лечении злокачественных плевритов // Acta Chir Hung. – 1999. – 55(2). – P. 17–19.
 19. Landis S.H. Cancer Statistics, 1999 // CA Cancer J Clin. – 1999. – 49. – P. 8–31.
 20. Martini N. Incidence of local recurrence and second primary tumours in resected stage I lung cancer // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1995. – 109. – P. 120–129.
 21. McDuffie H.H. Female-Male differences in patients with primary lung cancer // Cancer. – 1987. – 59. – P. 1825–1830.
 22. Rice T.W., Adelstein D.J., Kirby T.J. et al. Aggressive multimodality therapy for malignant mesothelioma // Ann Thorac Surg. – 1994. – 58. – P. 24–29.
 23. Rusch V.W., Venkatraman E. The importance of surgical staging in the treatment of malignant pleural mesothelioma // J Thorac Cardiovasc Surg. – 1996. – 111. – P. 815–826.
 24. Rusch V.W., Piantidosi S., Holmes E.C. The role of extrapleural pneumonectomy in malignant pleural mesothelioma: A lung cancer study group trial // J Thorac Cardiovasc Surg. – 1991. – 102. – P. 1–9.
 25. Sugarbaker D.J., Garcia J.P., Richards W.G. et al. Extrapleural pneumonectomy in the multimodality therapy of malignant pleural mesothelioma. Results in 120 consecutive patients // Ann Surg. – 1996. – 224. – P. 288–296.
 26. Sugarbaker D.J., Garcia J.P. Multimodality therapy for malignant pleural mesothelioma // Chest. – 1997. – 112. – P. 272–275.
 27. Sugarbaker D.J., Heher E.C., Lee T.H. et al. Extrapleural pneumonectomy, chemotherapy and radiotherapy in the treatment of diffuse malignant pleural mesothelioma // J Thorac Cardiovasc Surg. – 1991. – 102. – P. 10–15.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616.74-001.45-085.831

F.E. Shin¹, P.I. Tolstykh², I.Yu. Kuleshov³, E.F. Shin¹, T.V. Morozova²

THE USE OF PHOTODYNAMIC THERAPY IN GUNSHOT SOFT TISSUE

¹*Institute of Military Medicine, Moscow*²*Laser medicine State Research Center, Moscow*³

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the effect of photodynamic therapy on the experimental gunshot soft tissue wounds complicated with suppuration. The data obtained demonstrates the benefits of photodynamic therapy as an adjuvant method of treatment of gunshot wounds in battlefield medicine.

Key words: photodynamic therapy, gunshot wound suppuration.

Ф.Е. Шин¹, П.И. Толстых², И.Ю. Кулешов³, Е.Ф. Шин¹, Т.В. Морозова²

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ

¹*ГНИИИ военной медицины МО РФ, Москва*²*ФГУ ГНЦ Лазерной медицины МЗ и СЦ РФ, Москва*³*Городская клиническая больница № 51, Москва*

РЕЗЮМЕ

Работа посвящена изучению возможности использования фотодинамической терапии в лечении огнестрельных ран мягких тканей, осложненных гнойной инфекцией. Результаты исследования свидетельствуют о целесообразности применения упомянутой методики в комплексной терапии раненых с боевой хирургической травмой в полевых военно-медицинских учреждениях.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия (ФДТ), огнестрельная рана, воспаление.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения пострадавших с огнестрельными ранами продолжает оставаться одной из основных в военно-полевой хирургии, поскольку современное огнестрельное оружие постоянно совершенствуется и вызывает все более тяжелые, множественные и сочетанные повреждения, требующие новых организационных решений, высоких медицинских знаний и значительных усилий, направленных на сохранение жизни и боеспособности военнослужащих [3; 4].

По этой причине большинство отечественных и зарубежных исследователей справедливо считают, что при нарастающей тяжести боевой травмы, как правило, осложняющейся гнойной инфекцией, принципиальное значение приобретают вопросы повышения качества хирургической помощи на этапах медицинской эвакуации [5; 7]. Одним из путей решения проблемы является использование в лечении пострадавших с огнестрельными поражениями методов и средств на основе новых технологий, в частности, фотодинамической терапии (ФДТ).

По данным литературы ФДТ выгодно отличается от

традиционных методов лечения гнойных ран избирательностью воздействия, отсутствием тяжелых местных осложнений и простотой использования [1; 2; 6], в связи с чем мы выполнили экспериментальное исследование, цель которого заключалась в изучении эффективности лечения огнестрельных ран мягких тканей сеансами фотодинамической терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на моделях огнестрельных ран у 40 беспородных крыс-самцов весом 220 ± 10 г, разделенных на 2 группы (по 20 животных в каждой). Мягкотканное стандартное огнестрельное ранение наносилось в область средней трети правого бедра крысы из пистолета Марголина (калибр 5,6 мм, начальная скорость полета пули 320 м/с) с расстояния 6 м.

Лечение животных начинали после частичной ПХО ран. Травматический дефект по ходу мышечных волокон рассекали в проксимальном направлении относительно оси конечности крысы на всю глубину раневого канала до выходного отверстия, промывали растворами антисептиков и рыхло

тампонировали перевязочным средством ДАЦ с исследуемым лечебным препаратом. Перевязки до полного очищения раневой поверхности от девитализированных тканей проводили ежедневно, в последующем — через сутки.

В лечении крыс контрольной группы использовали ДАЦ, смоченные 0,9%-ным раствором гипохлорида натрия и мазью Вишневского. Огнестрельные раны животных опытной группы лечили сеансами ФДТ. Для этой цели использовали салфетки ДАЦ, импрегнированное 0,1%-ным гелем фотодитазина. Через 24 ч аппликации салфетка удалялась, а раневая поверхность в течение 6 мин обрабатывалась низкоэнергетическим лазерным излучением (аппарат «Аткус-2» с плотностью энергии 50 Дж/см² и длиной волны света 662 нм). По окончании процедуры раневой дефект после санации растворами антисептиков вновь рыхло тампонировали салфеткой с 0,1%-ным гелем фотосенсибилизатора. Метод ФДТ с фотодитазином использовали в течение 3 сут.

Эффективность влияния ФДТ на заживление огнестрельных ран оценивали по данным клинических наблюдений за раневым процессом, а также результатам цитологических, микробиологических и морфологических исследований. Вышеперечисленные исследования осуществляли на 3-и, 5-е и 10-е сут с момента начала лечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты наших исследований показали, что к 3-м суткам лечения в контрольной группе животных огнестрельная рана характеризуется наличием большого количества гнойно-некротических масс и гнойного отделяемого с ихорозным запахом. Края ран выбухают, резко отечны и гиперемированы. В последующие сроки наблюдения воспалительные явления нарастали и сохранялись до 12 – 13 сут с момента начала лечения. Полное освобождение раневой поверхности от некротических тканей и появление очагов грануляционной ткани в большинстве случаев определялось лишь к исходу 10 – 11 сут исследования. Несмотря на проводимое лечение, заживление ран регистрировалось только на 31,3 ± 1,2-е сут. Динамика клинических проявлений заживления огнестрельных ран представлена в таблице.

Динамика клинических проявлений заживления огнестрельных ран

Группы животных	Средние сроки заживления, сут			
	Исчезновение признаков воспаления	Очищение ран от детрита	Появление грануляций	Полное заживление ран
Контрольная	12,5±1,2	10,9±0,6	10,4±0,5	31,3±1,2
Опытная	7,3±1,1*	6,5±0,1	6,1±0,4	25,2±1,5*
* <i>p</i> <0,05				

В данные сроки наблюдений у крыс опытной группы дно и стенки раневого дефекта также выстланы некротическими массами, отделяемое гнойное, а ткани вокруг раны отечны и гиперемированы. Однако признаки острого гнойного воспаления выражены несколько меньше по сравнению с животными, леченными традиционным методом. Из приведенных данных видно, что в случае использования ФДТ с фотодитазином в форме 0,1%-ного геля исчезновение явлений местной воспалительной реакции в виде отека и гиперемии тканей определялись к исходу 7-х – 6-х сут наблюдений, а очищение ран от некротических тканей и появление грануляционной ткани наступало не позже, чем на 5-е – 6-е сут лечения. При этом сроки полного заживления ран не превышали 25,2 ± 1,5 сут исследований, статистически достоверно отличаясь от показателя контрольной группы (*p*<0,05). Характерным было серо-зеленое окрашивание тканей раневой поверхности крыс, которое носило стойкий характер, не исчезало после обработки раневой поверхности растворами антисептиков и наблюдалось до 5 сут лечения.

О положительном влиянии на процессы воспаления сеансов ФДТ свидетельствовали результаты цитологического изучения мазков-отпечатков раневой поверхности. На 3-и сут после нанесения животным огнестрельной раны в контрольной группе крыс цитологически обнаруживалась картина острого гнойного воспаления. В мазках-отпечатках во всех полях зрения присутствовало большое количество возбудителей раневой инфекции, в частности, грамотрицательной палочки (++ и +++), обуславливавшей состояние незавершенного фагоцитоза в нейтрофильных лейкоцитах (4,9 – 7,1 %) и в макрофагах. В цитоплазме нейтрофилов насчитывалось до 70 – 80 упомянутых микроорганизмов, а фибробластов — от 10 до 12 микробных тел. В межклеточном пространстве палочковидная флора определялась в виде многочисленных колоний, характеризующихся наличием плотного центра с отходящими от него цепочками отдельных палочковидных бактерий. В то же время стафилококки как в межклеточном пространстве, так и внутриклеточно обнаруживались значительно реже (+ и ±), а у опытных животных проводимое лечение обуславливало снижение воспалительного процесса в ранах. Об этом свидетельствовало уменьшение количества нейтрофильных лейкоцитов в поле зрения микроскопа на 3-и сут наблюдений (до 21,2 ± 1,3 %). Одновременно с этим в раневом экссудате уменьшалось процентное содержание некротически измененных нейтрофильных лейкоцитов. В большинстве случаев их количество не превышало 27,0 ± 2,5 %. Характерным было, несмотря на ранние сроки лечения, наличие в мазках-отпечатках ран опытных животных сохранных нейтрофилов (26,7 ± 1,1 % при *p*<0,05).

Данные цитологических исследований раневого экссудата подтверждались результатами микробиологического изучения микробной обсемененности раневой поверхности. Через 48 ч после травмы и инфицирования модель огнестрельной раны в контрольной группе животных представляла собой очаг острого гнойного воспаления со степенью микробной обсемененности 1 × 10⁹⁻¹⁰ КОЕ/мл раневого отделяемого, а в опытной группе микробная обсемененность раневой поверхности была несколько меньше и колебалась в пределах 1 × 10⁷⁻⁸ КОЕ. К 3-м сут наблюдений тенденции к снижению числа микробных тел у крыс контрольной группы не наблюдалось (1 × 10¹⁰ КОЕ), тогда как у опытных животных определяется снижение уровня упомянутого показателя (до 1 × 10^{6.6} КОЕ). Дальнейшие наблюдения показали, что к 5-м сут лечения у животных, леченных ФДТ, в большинстве наблюдений микробная обсемененность снижается до критического уровня (1 × 10⁴⁻⁵ КОЕ).

Соответственно этому к 3-м сут исследований в гистологических препаратах раневого канала контрольной группы первичный раневой канал представлен полостью, внутри

которой определяются элементы фибрина с включениями нейтрофильных лейкоцитов, часть которых распадается, и многочисленными колониями микроорганизмов. Зона контузии, ограничивающая первичный раневой канал, представлена некротизированными мышечными волокнами, инфильтрированными полиморфноядерными лейкоцитами, большинство которых также подвержено распаду (рис. 1).

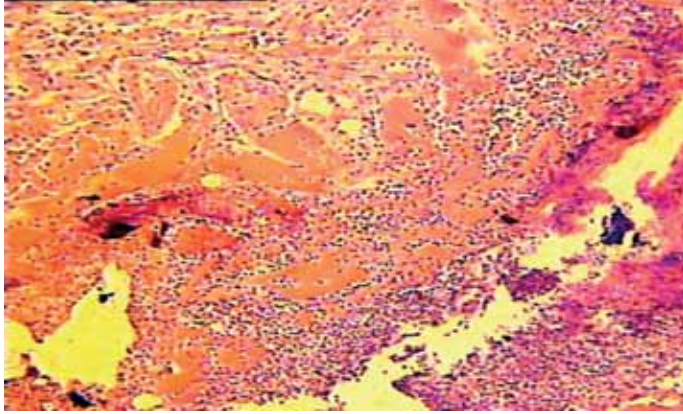


Рис. 1. Некроз мышечных волокон, выраженная нейтрофильная инфильтрация: Контрольная группа. 3-и сут лечения. Окрашивание гематоксилином и эозином. $\times 120$.

В зоне сотрясения на фоне резкого расстройств системы микроциркуляции в мышечных волокнах выявляются в значительной степени выраженные процессы дистрофических изменений. Наблюдается резкое расширение и полнокровие сосудов различного калибра, лимфостаз, повышение сосудистой проницаемости, следствием чего является выраженный отек ткани, диапедезные микрокровоизлияния, инфильтрация мышечной ткани многочисленными полиморфноядерными лейкоцитами. Просветы отдельных сосудов закрыты микротромбами, в основном смешанного характера.

К данному сроку исследования в опытной группе лизису подвергаются лишь незначительные участки некротизированной ткани, граничащей с зоной первичного раневого канала. Зона контузии определяется на значительно меньшей площади по сравнению с контрольными крысами. Зона сотрясения характеризуется дистрофическими и некротическими изменениями мышечной ткани, развивающимися на фоне выраженных микроциркуляторных расстройств. Однако в целом микроциркуляторные расстройства в опытной группе несколько ослабевают по сравнению с контрольной группой животных. В периферических участках зоны сотрясения в мышечных волокнах преобладают дистрофические изменения, тогда как процессы некроза в большей степени выявляются во внутренних участках этой зоны. Активизируется пролиферация фибробластов (рис. 2).

В наружных участках зоны сотрясения по сравнению с контрольной группой увеличивается содержание функционально активных макрофагов, отличающихся ШИК-положительной пенистой цитоплазмой, в которых определяется пиронинофилия цитоплазмы и ядрышек.

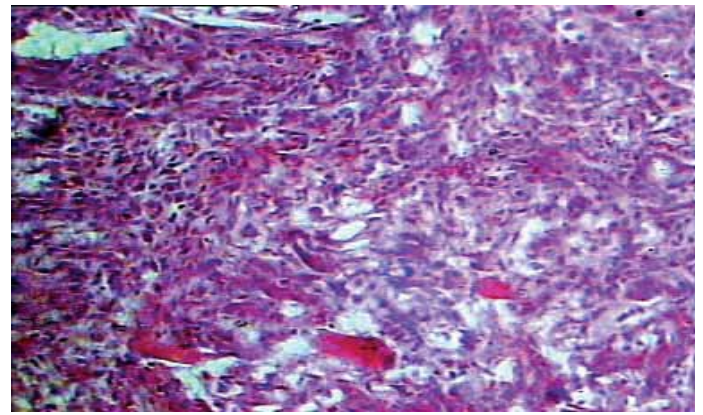


Рис. 2. Слой горизонтальных фибробластов, фрагменты некротизированных мышечных волокон, нерезко выраженная нейтрофильная инфильтрация: Опытная группа. 3-и сут лечения. Окрашивание гематоксилином и эозином. $\times 180$.

Встречаются митотически делящиеся фибробласты, наиболее часто вблизи вступающих в наружную часть зоны сотрясения капилляров и артериол. В новообразованных сосудах эндотелиоциты характеризуются пиронинофилией цитоплазмы и ядрышек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом по результатам экспериментально-морфологического изучения процессов воспаления и регенерации лечение огнестрельных ран использование ФДТ с 0,1%-ным гелем фотодитазина более эффективно по сравнению с традиционным методом.

Упомянутый метод лечения обеспечивает активизацию процессов очищения огнестрельной раны от некротизированных тканей, масс фибрина и колоний микроорганизмов, нормализует нарушенную микроциркуляцию и способствует уменьшению некротических процессов в зоне первичного раневого канала, что обеспечивает усиление репарации, в виде, образования и созревания грануляционной ткани. Применение ФДТ с фотодитазинем в форме 1%-ного геля в комплексном лечении огнестрельных ран позволяет практически в 2 раза быстрее по сравнению с контрольной группой животных добиться очищения раневой полости от некротических масс и дает на 6 сут раньше полное их заживление.

Можно предположить, что положительный эффект лечения огнестрельных ран мягких тканей обеспечивается выраженным антибактериальным действием ФДТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дуванский В.А., Елисеенко В.И. Фотохимическая терапия в комплексном лечении гнойных ран и трофических язв // Интенсивная терапия и профилактика хирургических инфекций: Тез. Докл. Всеармейская международная конференция. – М., 2004. –С. 124–125.
2. Магомедов М.А. Комплексное лечение огнестрельных ран мягких тканей перевязочными средствами на основе микрокапсулированной формы α -токоферола

- и фотодинамической терапии: Дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2006. – 128 с.
3. *Немытин Ю.В.* Оптимизация хирургической помощи раненым в условиях локального военного конфликта: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 1993. – 23с.
 4. *Никитин С.Р.* Патогенетическое обоснование местного применения иммобилизованной лизоамидазы и антиоксидантов для лечения огнестрельных ран: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М. – 22 с.
 5. Опыт медицинского обеспечения войск в Афганистане 1979–1989 гг. в 5 т. / Под ред. И.А. Ерюхина, В.И. Хрупкина. – М.: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2002.– Т.2. – 400 с.
 6. *Странадко Е.Ф.* Механизм действия фотодинамической терапии: Тр. III Всероссийского симпозиума «Фотодинамическая терапия». – М.: Изд-во ГНЦ Лазерной медицины МЗ РФ, 1999. – С. 3–15.
 7. *Чиж И.М.* Некоторые итоги и выводы из опыта медицинского обеспечения войск в вооруженных конфликтах // Воен.-мед.журн. – 2000. –321(6). – С. 4–15.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616-002.3-085.831:615.849.19

*P.I. Tolstych¹, V.A. Derbenyov¹, I.Y. Kuleshov¹, A.M. Azimshoev¹, V.I. Eliseenko¹,
A.B. Solovyova², A.V. Ivanov³, N.S. Melic-Nubarov⁴, S.N. Makoev¹, E.F. Shin¹*

THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS OF LASER PHOTOCHEMISTRY IN INFECTED WOUNDS MANAGEMENT

¹*Laser medicine State Research Center, Moscow*

²*N.N. Semenov Institute of Chemical Physics RAS, Moscow*

³*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow*

⁴*M. Lomonosov Moscow State University*

ABSTRACT

A brief characteristics of modern photosensitizers for treatment of some surgical and cancer diseases have been proposed. We have observed that the use of immobilized photoditazine on amphiphilic polymers allows to increase considerably procedure's efficiency. We have confirmed this by treatment of 130 patients with infected wounds of various genesis. We conclude that photodynamic therapy is highly effective and pathogenetically proved method in management of infected wounds.

Key words: photosensitizers, photoditazine, photodynamic therapy.

*П.И. Толстых¹, В.А. Дербенев¹, И.Ю. Кулешов¹, А.М. Азимшоев¹, В.И. Елисеенко¹,
А.Б. Соловьева², А.В. Иванов³, Н.С. Мелик-Нубаров⁴, С.Н. Макоев¹, Е.Ф. Шин¹*

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛАЗЕРНОЙ ФОТОХИМИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ РАН

¹*ФГУ ГНЦ лазерной медицины Росздрава, Москва*

²*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва*

³*ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

⁴*МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

РЕЗЮМЕ

В статье дана краткая характеристика современных фотосенсибилизаторов для лечения ряда онкологических и хирургических заболеваний. Отмечено, что использование иммобилизованного фотодитазина на амфифильных полимерах позволяет на порядок увеличить эффективность процедур ФДТ гнойных ран. Эффективность ФДТ гнойных ран подтверждена экспериментально и на опыте лечения 130 больных гнойными ранами различного генеза. Метод ФДТ патогенетически обоснован и высокоэффективен.

Ключевые слова: фотосенсибилизаторы, фотодитазин, фотодинамическая терапия.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важных составляющих лазерной фотохимии является фотодинамическая терапия (ФДТ). В настоящее время методы ФДТ нашли достаточно широкое применение при лечении ряда онкологических и хирургических заболеваний. Принцип ФДТ основан на использовании фундаментальных свойств порфириновых фотосенсибилизаторов (ПФС) — способности избирательно накапливаться в опухолевых и патологически измененных тканях, а также в клетках бактерий и вирусов и под воздействием освещения генерировать активные формы кислорода [3; 7]. Активный кислород (главным образом в синглетном ¹O₂ состоянии) запускает каскад окислительных процессов, приводящих к гибели клеток.

Начиная с 70-х годов XX века, американскими учеными в медицинскую практику был внедрен фотосенсибилизатор фотофрин на основе производных гематопорфиринов. На той же основе в разные годы были созданы препараты фотосан (Германия), фотогем (Россия). Были получены удовлетворительные показатели эффективности ФДТ при некоторых заболеваниях, таких, как стенозирующий рак пищевода, рак пищевода Баррета, опухоли мочевого пузыря. Однако фотосенсибилизаторы на основе гематопорфиринов имеют целый ряд серьезных недостатков:

- относительно низкую избирательность накопления в опухолях (тумаротропность) по сравнению со здоровой тканью (превышение в 2 – 3 раза), что является причи-

ной возможного травмирования здоровых тканей при проведении ФДТ;

- относительно низкую эффективность преобразования энергии излучения в цитотоксические продукты (свободные радикалы, активные формы кислорода) при длительном времени выведения фотосенсибилизатора из организма (от 4 до 6 нед), что вынуждает пациента находиться в этот период в затемненном помещении для исключения ожогов кожи из-за ее фотосенсибилизации.

Поиски решения проблем, выявившихся при использовании фотосенсибилизаторов на основе гематопорфиринов, привели к формулированию требований к свойствам фотосенсибилизаторов 2-го поколения. Их можно сформулировать следующим образом:

- высокая тумаротропность по отношению к опухолевым клеткам при незначительном накоплении в здоровых тканях;
- низкая токсичность и быстрое выведение из организма;
- устойчивость при введении в организм, а также при хранении;
- наличие люминесценции для надежной диагностики опухоли;
- максимум фотопоглощения в области 660 – 900 нм при повышенном квантовом выходе синглетного кислорода как фактора, наиболее эффективно воздействующего на опухоли.

Перспективной основой для создания фотосенсибилизаторов 2-го поколения оказались хлорины и их производные, максимально удовлетворяющие приведенным требованиям. В настоящее время лучшим из известных фотосенсибилизаторов является фотодитазин — препарат отечественной разработки на основе хлорина E₆ (патенты № 2144538, № 2276976). Фотодитазин практически нетоксичен (LD₅₀ = 168 мг/кг при терапевтической дозе 0,7 – 1,4 мг/кг), имеет полосу поглощения 662 нм с достаточно высоким квантовым выходом синглетного кислорода, обладает высокой тумаротропностью. При этом фотосенсибилизация кожи настолько мала, что исключает ожоги от воздействия солнечного света. Время выведения препарата из организма составляет не более 26 ч. Приведенные показатели существенно отличаются фотодитазин от других фотосенсибилизаторов на основе гематопорфиринов, что является основой его высокой клинической эффективности. По данным литературы терапевтический эффект достигается в 62 – 83 % случаев в зависимости от вида и стадии заболевания [5].

При исследовании механизмов реакций *in vivo*, протекающих в организме в процессе процедуры ФДТ и после ее завершения, установлено, что в дополнение к прямому повреждению мембран и других клеточных структур свободными радикалами происходит выделение клетками воспалительных и иммунных медиаторов. Среди них идентифицированы цитокины ИЛ-6, ИЛ-2, фактор некроза опухолей, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, факторы роста и другие иммунорегуляторы, компоненты каскада комплемента, вазоактивные субстанции. Они, в свою очередь, запускают процессы, ответственные за дальнейшее развитие цитотоксического эффекта. Возрастающее число фактов указывает, что полное разрушение опухоли в результате ФДТ не обходится без участия иммунной системы [2;

4–6]. Воспалительный процесс при ФДТ может послужить инициатором формирования эффективного иммунитета, в том числе противоопухолевого или противовирусного.

Все же одной из серьезных проблем фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении новообразований остается повышение селективности накопления фотосенсибилизаторов (ФС) в пораженных тканях и органах и снижение терапевтической дозы вводимых препаратов. При внутривенном способе введения большинства ФС накопление достаточной концентрации препарата в очаге поражения обычно сопровождается его высоким содержанием во всем организме, что является причиной длительного токсического эффекта и опасности экспозиции больного на свету.

В этой связи перспективным способом применения ФДТ может оказаться использование фотосенсибилизатора в виде комплексов с низкотоксичными амфифильными полимерами [8]. Нами была предложена лекарственная форма препарата для ФДТ опухолей, предусматривающая локальное использование ФС, в том числе фотодитазина, иммобилизованных на амфифильном полимерном носителе (патент РФ № 2314806), что позволяет значительно снизить лекарственную дозу ПФС и улучшить лечебный эффект, повышая биологическую доступность препарата.

Исследования показали, что ряд амфифильных полимеров (на основе алифатических простых или сложных эфиров и спиртов) образуют комплексы с порфиринами в водной и органической фазе, в которых порфириновые фотосенсибилизаторы (ПФС) находятся в виде агрегатов размерами ~ 100 – 300 нм. Оказалось, что использование таких иммобилизованных систем позволяет на порядок увеличивать эффективность ФДТ и тем самым значительно снизить концентрации используемых ФС, что ведет к снижению терапевтической дозы препарата и побочных токсических осложнений.

Эксперименты *in vitro* на культурах опухолевых клеток человека (аденокарцинома молочной железы HBL-100, ЛАК-фаза 22 – 24 ч, и карцинома яичника Skov-3, ЛАК-фаза 26 – 30 ч), нормальных и раковых мышечных фибробластах NIH/3T3 и лабораторных животных показали, что использование комплексов ПФС-АП при воздействии на опухоли позволяет не только снизить концентрации используемых ФС, но и в ряде случаев уменьшить количество отдаленных метастазов у лабораторных животных. Было установлено, что терапевтическая эффективность комплексов при воздействии на опухоли разной природы определяется, в первую очередь, природой полимера. Исследовано 14 полимеров разной молекулярной массы и химической природы. Наиболее эффективными оказались сополимеры этиленоксидов и пропиленоксидов, полиспирты с мол. массами ~ 10 – 20 тыс. Да, а также их смеси.

Приведенные данные по использованию фотосенсибилизатора в онкологической практике позволяют рассматривать данный препарат как весьма эффективный для применения и в хирургической практике. Была исследована эффективность таких систем при лечении ран у крыс. Оказалось, что гель, содержащий один из сополимеров и фотодитазин (0,1 мг на 1 мл геля), вызывает заживление гнойных ран в 1,5 раза быстрее по сравнению с традиционным лечением антисептиком хлоргексидином и в 1,2 раза быстрее по сравнению с терапией коммерческим препаратом Фотодитазин-гель (1 мг на 1 мл геля).

В клинической практике гель на основе амфифильных полимеров и фотодитазина для лечения гнойных ран различного генеза по данным доступной литературы и патентной информации до настоящего времени не применялся. Нами была проведена оценка результатов лечения 130 больных гнойными ранами, сформировавшимися после некрэктомии, хирургической обработки абсцессов и т.д.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего лечились 130 больных, 70 (53,8 %) мужчин и 60 (46,2 %) женщин трудоспособного возраста. Все пациенты были в возрасте от 30 до 60 лет. Длительность заболевания от момента заболевания до момента госпитализации составила от 2 до 10 сут. До поступления в поликлиниках были прооперированы 10 человек (7,7 %). При госпитализации общее состояние 87 пациентов (66,9 %) было удовлетворительное, 31 (23,9 %) больного — средней тяжести, а в 12 (9,2 %) случаях расценено как тяжелое.

В качестве фотосенсибилизатора использовали фотодитазин (диглутаминовая соль хлорина Е6) в виде 1%-ного водного раствора или в составе геля. Раствор фотодитазина и Фотодитазин-гель, содержащий 1 % фотодитазина, представлены фирмой «Вета гранд».

Исследуемый комплекс фотодитазина с амфифильным полимером представлял собой 0,1%-ный раствор фотодитазина в плуронике F127 (плуроник производства фирмы «BASF»).

Облучение проводили лазером «Аткус-10» с длиной волны 660 нм.

Локализация очагов гнойно-некротических поражений мягких тканей была различной. В зависимости от расположения в мягких тканях гнойно-воспалительного процесса послеоперационные раны были разделены на поверхностные и глубокие. Поверхностные раны составляли 60 % (78 наблюдений), глубокие — 40 % (52). Наиболее часто гнойные раны мягких тканей в обеих группах располагались на нижних конечностях — у 64 (49,3 %) пациентов. На верхних конечностях раны располагались у 31 (23,8 %), на туловище у 20 (15,4 %) больных, в области головы и шеи — у 15 (11,5 %). По нозологическим формам у больных преобладали флегмоны и абсцессы различной локализации — 94 (72,3 %).

После постановки диагноза и показаний к оперативному лечению производили хирургическое вмешательство в следующие сроки: в день поступления 81 (62,3 %), на следующие сутки — 21 (16,6 %). Через сутки после ФДТ уровень микробной обсемененности в ранах снижался на 3 – 4 порядка, в 50 % случаев из раны исчезали грамположительные бактерии — стафилококки, грамотрицательные бактерии сохранялись дольше.

Все больные в зависимости от примененного местного метода лечения ран были распределены на 4 группы (табл. 1).

В 1-й контрольной группе (лечение хлоргексидином) обследованы 35 пациентов, во 2-й группе (20 пациентов) в лечении применяли 1%-ный раствор фотодитазина. Марлевую салфетку, смоченную 1%-ным раствором фотодитазина, накладывали на рану на 90 – 120 мин, затем раневую поверхность облучали светом лазерного аппарата «АТКУС 2» (длина волны 660 нм) при постоянной мощности 1 Вт/см² с плотностью энергии 25 – 30 Дж/см², время воздействия за-

висело от площади раневой поверхности. При лечении 30 пациентов 3-й группы использовали коммерческий препарат 1%-ный Фотодитазин-гель, который накладывали на рану на 90 – 120 мин, а затем освещали рану аналогично методике в предыдущей группе. В 4-й группе из 45 пациентов для ФДТ использовали 0,1%-ный наноразмерный комплекс ФД-АП (плуроник F127), параметры экспозиции и воздействия лазерным светом были аналогичны предыдущим группам.

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от метода местного лечения ран

Группы больных	Методы лечения	Количество больных	
		Абс. число	%
1-я	Традиционное (контрольная группа)	35	26,9
2-я	ФДТ с использованием 1%-ного раствора фотодитазина в димексиде	20	15,4
3-я	ФДТ с использованием 1%-ного фотодитазина в коммерческом геле	30	23,1
4-я	Комплекс фотодитазин-АП	45	34,6
Всего		130	100

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки результатов лечения изучена динамика раневого процесса в зависимости от метода проведенного местного лечения (табл. 2). Для больных, которым выполняли ФДТ, была характерна более быстрая санация гнойных ран по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Динамика раневого процесса в зависимости от варианта лечения

Метод лечения	Средние сроки (сут)		
	Очищения	Появления грануляций	Краевой эпителизации
Традиционный	6,5 ± 0,7	7,8 ± 0,6	7,8 ± 1,2
ФДТ с использованием 1%-ного раствора фотодитазина в 25%-ном растворе димексида	4,1 ± 0,5*	4,7 ± 0,4*	6,1 ± 0,4*
ФДТ с использованием 1%-ного фотодитазина в геле	3,6 ± 0,3**	3,6 ± 0,3**	5,1 ± 0,5**
Комплекс плуроник-фотодитазин, содержание фотодитазина — 0,1%	2,3 ± 0,5***	2,4 ± 0,5***	4,0 ± 0,7***

**p* < 0,05 — по сравнению с традиционным методом;
 ***p* < 0,05 — по сравнению с использованием 1%-ного раствора фотодитазина;
 ****p* < 0,05 — по сравнению с использованием 1%-ного фотодитазина в геле

Как показано в табл. 2, сроки очищения гнойных ран, появления грануляций и начала краевой эпителизации при ис-

пользовании геля с комплексом ФД-АП (содержащего 0,1 % фотодитазина) в среднем в 1,5 – 2,3 раза лучше, чем в контрольной группе и достоверно меньше сроков при использовании коммерческого препарата Фотодитазин-гель. Быстрый переход раневого процесса в регенераторно-репаративную фазу способствует сокращению сроков заживления гнойных ран в 1,5 – 2 раза по сравнению с традиционным методом. Данные клинического исследования были подтверждены результатами цитологических и гистохимических исследований.

Гистологические и гистохимическое изучение биоптатов ран до начала лечения показали, что морфологическая картина характеризуется наличием гнойно-некротического экссудата, богатого микрофлорой с выраженным микроциркуляторными нарушениями (внутрисосудистый стаз и сладж эритроцитов, микротромбы, лейкостазы, эндо- и периваскулиты, деструкция и десквамация эндотелия, повышенная проницаемость стенок и др.), а также отеком, обильной нейтрофильной инфильтрацией, геморрагиями, дистрофическими и некротическими изменениями клеток (фиibroбластов, моноцитов, эпидермиса). Фагоцитарная активность нейтрофилов резко снижена, макрофагальная реакция и пролиферация фибробластов угнетены, грануляционная ткань отсутствовала или обнаруживалась в виде небольших очагов и имела незрелый характер.

Цитологическое исследование раневого экссудата на 3-и, 7-е и 10-е сут после начала традиционного лечения показало замедленное очищение ран от бактериальной инфекции и некротического детрита, торможение перехода от незавершенного фагоцитоза к завершеному, от преобладания дистрофических и некротических форм нейтрофилов к неизменным формам. Это свидетельствует о торможении перехода некротически воспалительной фазы раневого процесса в воспалительную и репаративную, что проявляется в образовании небольшого количества макрофагов с активной фагоцитарной функцией и фибробластов, а также задержка процессов эпителизации ран.

По данным гистологических исследований при традиционном лечении через 7 сут после операции имело место недостаточное очищение раневой поверхности от гнойно-некротического экссудата, сохранялись микроциркуляторные изменения, отек, нейтрофильная инфильтрация, лимфостаз

и васкулит. Угнетение макрофагальной реакции в ранах задерживает очищение раны от продуктов распада и микрофлоры, а также выработку цитокининов, стимулирующих пролиферацию фибробластов и синтез коллагена. Это тормозит формирование и созревание грануляционной ткани, развитие краевой эпителизации раневой поверхности, которая отмечалась в биоптатах только к 14 сут. Регенерирующий эпителий на 14-е сут имеет незрелый характер, плохо связан с подлежащей тканью и легко отторгается.

Под воздействием фотодинамической терапии происходит интенсификация раневого процесса. Это проявляется на 5-е – 7-е сут значительным снижением воспалительных проявлений: уменьшением отека, нормализацией проницаемости стенок микрососудов, разрешением сладжа эритроцитов и агрегации тромбоцитов, усилением фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов к бактериям, активацией макрофагальной реакции, пролиферации фибробластов и новообразованных капилляров. На 7-е – 10-е сут выявлено фиброзирование слоя горизонтальных фибробластов с превращением последних в малоактивные фиброциты, значительное уменьшение числа клеток воспалительной реакции — нейтрофилов и макрофагов, нормализация системы микроциркуляторного русла, активная эпителизация раневой поверхности с формированием зрелого эпителиального пласта.

Микробиологические исследования показали, что до начала лечения все больные имели высокий уровень обсемененности раневой поверхности ($7,4 \pm 0,2$ LgKOE/cm²), микробная флора отличалась разнообразием штаммов: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*. На 3-и сут после фотодинамической терапии выявлено значительное снижение микробной обсемененности гнойных ран до $2,0 \pm 0,3$ LgKOE/cm².

Для иллюстрации эффективности воздействия ФДТ с использованием комплексов ФД-АП, содержащих 0,1 % фотодитазина, на раневую процесс приводим следующий пример.

Больной М. 35 лет поступил с диагнозом карбункул лопаточной области, сахарный диабет 2-го типа, декомпенсация. На рис. 1 изображена гнойно-некротическая рана после некроэктомии на 2-е сут; рис. 2 — на 5-е сут после ФДТ с гелем, содержащим 1%-ный наноразмерный



Рис. 1. Исходное состояние после некроэктомии

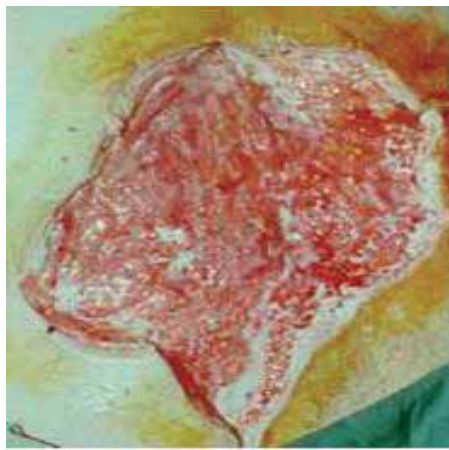


Рис. 1. Исходное состояние после некроэктомии



Рис. 3. Отдаленные результаты лечения

комплекс ФД-АП, рана очистилась от раневого детрита, гранулировалась. На рис. 3 изображена рана после аутодермопластики и эпителизации на 30-е сут от начала лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты лечения гнойных ран различного генеза с использованием препаратов на основе фотодитазина доказали, что разработанный метод ФДТ с использованием геля на основе наноразмерных комплексов амфифильных полимеров и фотодитазина по данным клинических, морфологических, микробиологических методов исследований патогенетически вполне обоснован, высокоэффективен и по лечебной эффективности превосходит традиционные методы, позволяет сократить сроки заживления и эпителизации в 1,5 – 2 раза с хорошим функциональным и косметическим эффектом.

Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант 02-07-00066).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гельфонд М.Л. Возможности фотодинамической терапии в онкологической практике // Физическая медицина. – 2005. – 7(1). – С. 8–11.
2. Гельфонд М.Л. Предварительные результаты применения фотомодификации крови, сенсibilизированной

фотодитазинном, в лечении распространенных форм злокачественных новообразований // Физическая медицина. – 2005. – 7(1). – С. 12–16.

3. Странадко Е.Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии // Российский онкологический журнал. – 2000. – 4. – С. 52–56.
4. Abe K., Kurakin A., Mohseni-Maybodi M. et al. The complexity of TNF related apoptosis-inducing ligand // Ann N Y Acad Sci. – 2000. – 926. – P. 52–63.
5. Agarwal R., Athar M. Bickers D.R., Mukhtar H. Evidence for the involvement of singlet oxygen in the photodestruction by chloroaluminum phthalocyanine tetrasulfonate // Biochem Biophys Res Commun. – 1990. – 173. – P. 34–41.
6. Boyle R.W., Dolphin D. Structure and biodistribution relationships of photodynamic sensitizers // Photochem Photobiol. – 1996. – 64. – P. 469–485.
7. Dougherty T.J. An update on photodynamic therapy applications // J Clin Laser Med Surg. – 2002. – 20. – P. 3–7.
8. Fabris C., Valduga G., Miotto G. et al. Photosensitization with zinc (II) phthalocyanine as a switch in the decision between apoptosis and necrosis // Cancer Res. – 2001. – 61. – P. 749–750.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616-073.756.8:615.831

*I.A. Yanvareva¹, Y.A. Streltsova¹, R.R. Kalugina¹, S.V. Gamayunov¹,
V.V. Slugarev^{2,4}, A.N. Denisenko^{2,4}, I.A. Kuznetsova^{3,4}, N.M. Shakhova^{1,4}*

OCT-MONITORING OF PDT

¹*Nizhny Novgorod State Medical Academy*

²*Nizhny Novgorod Regional Oncologic Dispensary*

³*Regional Clinical hospital named after N.A. Semashko, Nizhny Novgorod*

⁴*Institute of Applied Physics of Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod*

ABSTRACT

The goal of the research was the elaboration of noninvasive OCT monitoring with photodynamic therapy. The examples of skin cancer and cervical neoplasia were used in this study. Photodynamic therapy has been conducted by standard schemes with photoditazine. For *in vivo* OCT control of tissue alterations under treatment conditions the OCT device (IAP RAS, N. Novgorod, Russia) has been used. The OCT capability to detect tumor structure alteration in real time under photodynamic therapy has been demonstrated. We conclude that the data obtained could be applied in clinical practice and experimental medicine.

Key words: optical coherent tomography, photodynamic therapy, photoditazine.

*И.А. Январева¹, Ю.А. Стрельцова¹, Р.Р. Калугина¹, С.В. Гамаюнов¹,
В.В. Слугарев^{2,4}, А.Н. Денисенко^{2,4}, И.А. Кузнецова^{3,4}, Н.М. Шахова^{1,4}*

ОКТ-МОНИТОРИНГ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

¹*Нижегородская государственная медицинская академия*

²*ГУЗ Областной онкологический диспансер, Нижний Новгород*

³*ГУЗ Нижегородская областная клиническая больница им.Н.А.Семашко,*

⁴*Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород*

РЕЗЮМЕ

Цель данного исследования — разработка метода неинвазивного мониторинга фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием оптической когерентной томографии (ОКТ). Работа выполнена на примерах рака кожи и неоплазии шейки матки. ФДТ проводилась по стандартным схемам: фотосенсибилизатор — фотодитазин. Для прижизненного динамического ОКТ контроля изменений, происходящих на фоне лечения, использован прибор, созданный в ИПФ РАН (Нижний Новгород). В результате показана возможность ОКТ регистрировать в реальном времени изменения структуры опухоли и окружающих тканей, происходящие при ФДТ. Полученная информация может быть использована в клинической практике (применение ОКТ в качестве метода контроля проводимого лечения), а также в экспериментальной медицине (оценка эффективности вновь разрабатываемых схем ФДТ).

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, фотодинамическая терапия, фотодитазин.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных тенденций современной медицины является развитие органосохраняющих методов лечения, что обусловлено ростом числа онкологических заболеваний среди лиц молодого возраста [7]. Одним из таких методов является фотодинамическая терапия, эффективное использование которой позволяет надеяться на максимальный органосохраняющий и функциональный результат при адекватной онкологической эффективности [9; 15; 16]. Как успехи, так и ограничения в развитии ФДТ связаны прежде всего с внедрением новых фотосенсибилизаторов [8]. Для изучения эффективности метода очень важно иметь технологии, которые позволят проводить динамические наблюдения за процессами в живой системе, не оказывая на

нее дополнительного влияния. К таким методам относится бурно развиваемая в последние десятилетия оптическая когерентная томография (ОКТ). В настоящее время показана возможность с помощью ОКТ изучать изменения оптических свойств тканей, вызванные влиянием различных по природе патологических процессов, описаны ОКТ-критерии тканей человеческого организма в норме и патологии, сформулированы показания к использованию этого метода в ряде клинических дисциплин [4; 12].

ОКТ основана на интерферометрическом детектировании обратного рассеянного света ближнего инфракрасного (ИК) диапазона. Принцип ОКТ подобен В-скану ультразвука, но в отличие от ультразвуковой диагностики данные формируются благодаря различию оптических свойств (ко-

эффицент обратного рассеяния) внутритканевых слоев или структур. ОКТ позволяет получать информацию о внутренней структуре биотканей с разрешением на уровне тканевых слоев, что приближает эту технологию к реализации идеи неинвазивной оптической биопсии и делает перспективной для использования в ранней диагностике патологических процессов, сопровождаемых нарушением морфологии [1; 10]. Благодаря высокой разрешающей способности в сочетании с неинвазивностью, быстродействием и реальным временем получения информации ОКТ привлекательна и в качестве метода контроля различных видов лечения [3; 6].

Проведенные клинические исследования показывают высокую диагностическую эффективность ОКТ относительно распознавания состояния неоплазии [5]. В то же время в литературе рассматриваются вопросы необходимости совершенствования технологии. Одним из направлений ее дальнейшего развития является разработка поляризационно чувствительной ОКТ (ПЧ ОКТ), которая позволяет получать информацию не только о структуре ткани, но и о ее способности к деполяризации, что имеет большое диагностическое значение [13]. Одним из вариантов ПЧ ОКТ является кросс-поляризационная ОКТ (КП ОКТ), которая позволяет одновременно получать изображения объекта в прямой (стандартная и ОКТ) и ортогональной поляризации (с учетом поляризационной чувствительности) [2; 11].

Целью работы явилось создание метода неинвазивного мониторинга фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием оптической когерентной томографии (ОКТ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приводятся результаты лечения методом ФДТ под контролем ОКТ 14 пациентов с неоплазией и фоновыми заболеваниями различных локализаций: базалиома и плоскоклеточный рак кожи, рак нижней губы, вирусный цервицит (CIN I), предрак (CIN II) и ранние формы рака (CIN III, cancer *in situ*) шейки матки. Критериями отбора для проведения ФДТ являлись «трудные» локализации, первично множественные опухоли и рецидивные состояния (при неэффективности других методов лечения). Исследование выполнялось с добровольного информированного согласия пациентов.

ФДТ проводилась с использованием лазерного излучателя Аткус-2 («Полупроводниковые приборы», Санкт-Петербург). Технические параметры: длина волны — 661 нм, доза от 150 до 300 Дж/см², плотность мощности до 0,5 Вт/см² в зависимости от размера опухоли, локализации, клинической ситуации (первичный или рецидивный рак).

В качестве фотосенсибилизатора применялся фотодитазин («Вета-Гранд», Москва) при системном введении (внутривенно 50 – 100 мг из расчета 0,75 – 1,5 мг на кг веса в 100 мл физиологического раствора, инфузия в течение 30 мин за 1 – 2 ч до процедуры ФДТ) или локальной аппликации (1 мл геля на 3 – 5 см² обрабатываемой поверхности за 15 – 30 мин до светового воздействия).

Для прижизненного динамического контроля изменений опухоли и окружающих тканей, происходящих на фоне лечения, использованы стандартная и кросс-поляризационная ОКТ-установки, разработанные в ИПФ РАН (Н. Новгород) (рис. 1). Основные технические параметры установок: длина волны зондирующего излучения 1300 нм, мощность на



Рис. 1. Общий вид ОКТ-установки

объекте около 1 мВт, глубина сканирования до 2 мм, разрешение по глубине 15 мкм, латеральное — 30 мкм, время получения изображения — 1 – 2 с, управление установкой, запись и демонстрация изображений производятся с помощью персонального компьютера в портативном варианте. Для получения изображений используется универсальный гибкий микроскоп (внешний диаметр 2,7 мм), состоящий из волоконно-оптического и электрического кабеля в гибкой трубке и сканера с системой линз на дистальном конце. Конструкция микроскопа позволяет проводить его стерилизацию традиционными методами.

Приборы портативны (размеры в данной конфигурации не превышают 15 × 40 × 40 см, вес около 10 кг, все оптические и электронные части расположены внутри корпуса). Показатели мощности зондирующего излучения на объекте отвечают требованиям Санитарных норм и правил устройства и эксплуатации лазеров № 5804 – 91 от 31.07.1991 г. Установка сертифицирована, номер государственной регистрации 29/13010104/624-04.

Для реализации ФДТ-мониторинга ОКТ-исследование проводилось до лечения, непосредственно через 1 – 2 ч и 12 – 24 ч после лазерного воздействия, неоднократно в течение месяца после лечения и к моменту клинического выздоровления. Оптические данные верифицированы клинически и цитологически, при наличии показаний производилось гистологическое исследование.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты демонстрируют возможность ОКТ детектировать изменения, происходящие в опухоли и в окружающих тканях на фоне ФДТ (рис. 2–4).

На рис. 2, б показано ОКТ-изображение фокуса опухоли, на котором прослеживаются оптические неоднородности, связанные с наличием некроза, формированием в опухоли микрополостей, заполненных экссудатом (трансудатом). Рис. 2, в демонстрирует переход от опухоли к неизменной слизистой: типичное для злокачественной опухоли бесструктурное изображение (слева) и выраженное упорядоченное чередование слоев (эпителий-стромы) с четкой границей справа. Рис. 2, г практически однороден, лишь на периферии изображения справа удается получить

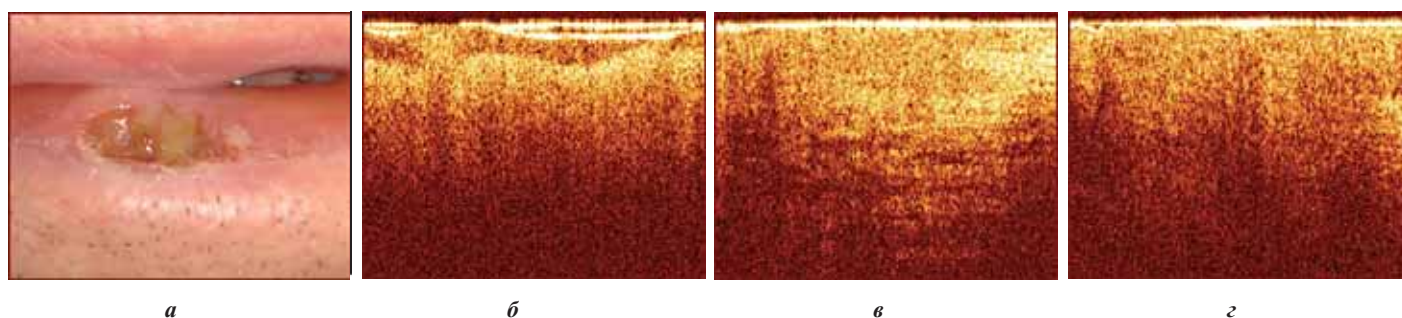


Рис. 2. Фото и ОКТ-изображения опухоли (плоскоклеточный рак нижней губы) до ФДТ: *a* — фото; *б* — ОКТ-изображение фокуса опухоли; *в* — ОКТ-изображение границы опухоли со слизистой оболочкой; *г* — ОКТ-изображение границы опухоли с кожей. Размеры ОКТ-изображений 1,5 × 1,2 мм.

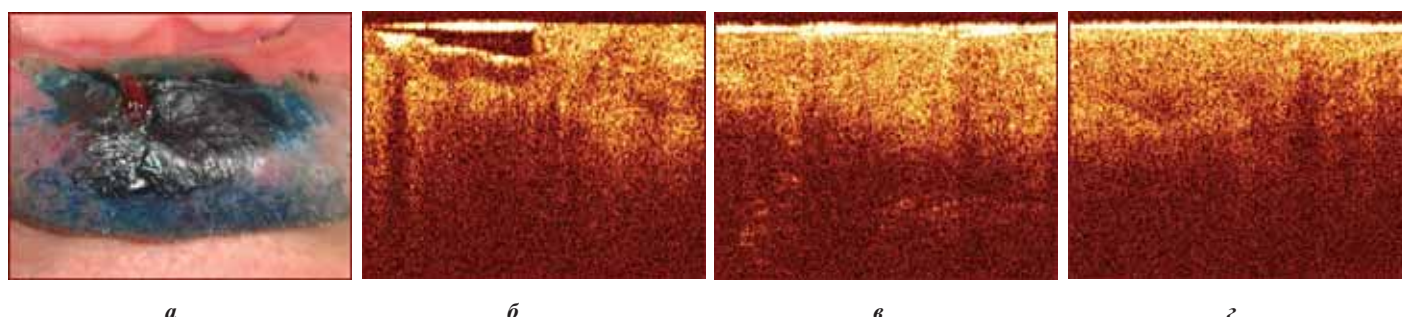


Рис. 3. Фото и ОКТ-изображения опухоли (плоскоклеточный рак нижней губы) через 24 ч после ФДТ: *a* — фото; *б* — ОКТ-изображение фокуса опухоли; *в* — ОКТ-изображение границы опухоли со слизистой оболочкой; *г* — ОКТ-изображение границы опухоли с кожей. Размеры ОКТ-изображений 1,5 × 1,2 мм.

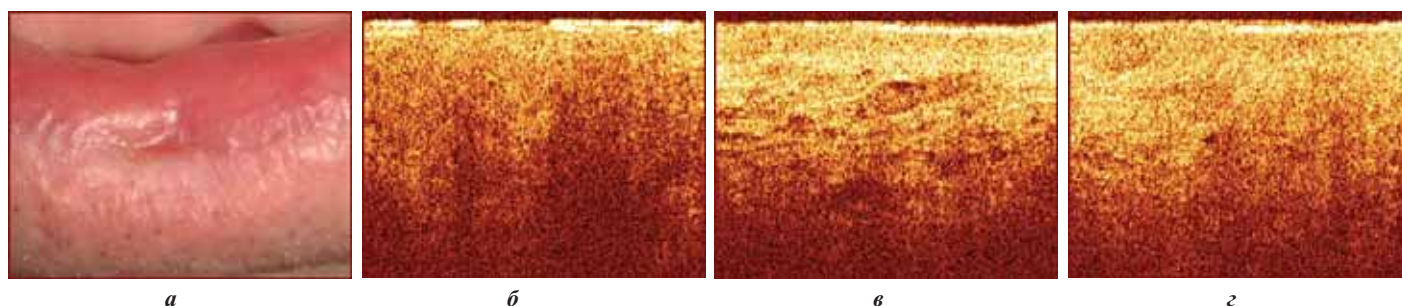


Рис. 4. Фото и ОКТ-изображения опухоли (плоскоклеточный рак нижней губы) через месяц после ФДТ: *a* — фото; *б* — ОКТ-изображение области фокуса опухоли; *в* — ОКТ-изображение области границы опухоли со слизистой оболочкой; *г* — ОКТ-изображение области границы опухоли с кожей. Размеры ОКТ-изображений 1,5 × 1,2 мм.

«слоистое» изображение, что соответствует границе опухоли с кожей.

Известно, что первой реакцией тканей на ФДТ является реактивное экссудативное воспаление. Полученные нами данные согласуются с этой информацией. Уже через сутки после процедуры ФДТ (введение фотосенсибилизатора фотодитазин в/в по стандартной схеме и проведение лазерного воздействия) отмечаются выраженные изменения как в фокусе опухоли, так и на ее периферии (рис. 3). В фокусе опухоли согласно оптическим данным (рис. 3, б) нарастают процессы экссудации, что выражается локальным снижением интенсивности ОКТ-сигнала (появление более темных участков), что является проявлением скопления жидкости.

В периферических отделах опухоли (рис. 3, в, г) также прослеживаются признаки, характерные для отека тканей: появление «темных» зон, стертость границы с неизменными тканями.

Следующий этап ОКТ мониторинга проведен через месяц в стадии клинического заживления (рис. 4, а), когда в зоне локализации опухоли произошли выраженные изменения: формирование рубца в области фокуса опухоли с вовлечением в процесс склерозирования прилежащих тканей.

Необходимо отметить, что представленные на рис. 4 ОКТ-изображения трудно интерпретировать. Полученные нами данные отчетливо демонстрируют «доброкачественное» изображение в зоне границы со слизистой оболочкой

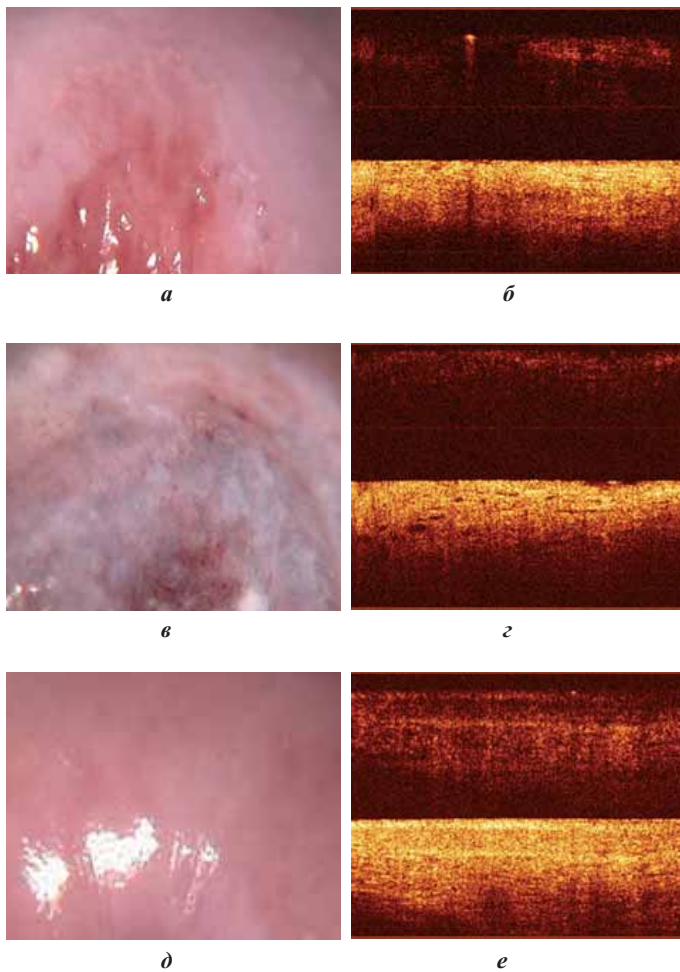


Рис. 5. Фото и ОКТ-изображения опухоли (тяжелая дисплазия) шейки матки:

а, б — до ФДТ; *в, з* — через 12 ч после ФДТ;

д, е — через месяц после ФДТ.

Размеры ОКТ-изображений $1,5 \times 1,2$ мм. Верхняя часть ОКТ-изображения — ортогональная поляризация, нижняя часть — прямая поляризация.

(рис. 4, в), но «сомнительные» данные в области, соответствующей фокусу опухоли и на границе с кожей (рис. 4, а, г). Это связано с тем, что процессы склерозирования значительно изменяют оптические свойства тканей, делая их сходными с неопластическими изменениями по признаку бесструктурности. В подобных ситуациях более информативной является КП ОКТ [2; 13], которую мы и применили в дальнейших исследованиях.

Нами применена методика мониторинга с использованием КП ОКТ фотодинамической терапии тяжелой дисплазии (CIN III) шейки матки (рис. 5). Кольпоскопические данные (рис. 5, а) демонстрируют наличие атипичической кольпоскопической картины, морфологически верифицирована тяжелая дисплазия. С помощью КП ОКТ (рис. 5, б) была точно определена граница патологической зоны: в верхней части изображения прослеживается практически отсутствие сигнала слева (темная зона) с появлением достаточно интенсивного сигнала (светлая зона) справа, что на нижней части изображения соответствует «бесструктурности» (слева) с переходом в горизонтально ориентированное

структурное изображение (справа). Полученные данные позволили точно спланировать зону лазерного воздействия с учетом истинной границы патологического участка. Через 12 ч после процедуры ФДТ кольпоскопически мы видим изменение цвета поверхности шейки матки: чередование участков гиперемии и цианоза, расширение поверхностно расположенных сосудов (рис. 5, в). ОКТ-данные (рис. 5, г) демонстрируют отсутствие сигнала в ортогональной поляризации (верхняя часть изображения) и появление темных включений с четкими контурами, соответствующих расширенным сосудам, в прямой поляризации (нижняя часть изображения). Подобные оптические данные характерны для острой фазы воспаления, которое является реактивным процессом в ответ на ФДТ. Через месяц стандартное кольпоскопическое исследование свидетельствует о завершении процесса заживления (рис. 5, д). Данные ОКТ подтверждают восстановление внутренней структуры шейки матки с появлением типичного для неизмененного экзоцервикса двухслойного изображения и в прямой, и в ортогональной поляризациях (рис. 5, е).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало, что ОКТ является информативным методом для проведения мониторинга ФДТ. Прежде всего, для органосохраняющего лечения в онкологии очень важно соблюдение правила адекватности удаления опухоли при минимальном повреждении окружающих тканей. Для этого на этапе планирования лечения необходимо знать точные границы опухоли. В настоящее время в клинической практике используется эндоскопия или микроскопия (кольпоскопия, дерматоскопия и т.д.), дающие информацию только о поверхности объекта. Известно, что такой подход позволяет точно установить границы опухоли лишь в 25 % случаев [14]. ОКТ может быть использована в качестве дополнительного метода к стандартной эндоскопии (микроскопии) как для оптимизации первичной диагностики, так и для планирования лечения, в том числе и ФДТ. В ходе лечения ОКТ позволяет неинвазивно следить за своевременностью и полноценностью патофизиологических и патоморфологических изменений, по показаниям провести их коррекцию. Наконец, в стадии заживления с использованием ОКТ можно оценивать эффективность проведенного лечения, а в отдаленном периоде проводить профилактические исследования с целью раннего выявления рецидивов.

Данный этап работы позволяет сделать лишь предварительные выводы, которые могут быть сформулированы следующим образом:

- ОКТ способна детектировать изменения, происходящие в опухоли и окружающих тканях на фоне ФДТ;
- кросс-поляризационная ОКТ более информативна по сравнению со стандартной для использования в качестве мониторинга воздействия;
- в дальнейшем ОКТ-мониторинг может быть применен как в клинической практике на всех этапах ФДТ, так и в экспериментальных исследованиях при разработке новых видов фотосенсибилизаторов как дополнительная, а в некоторых ситуациях и альтернативная морфологическим исследованиям технология;
- для реализации ОКТ-мониторинга ФДТ в клинической

практике необходимо продолжить исследования с целью набора статистически достоверного материала;

- для внедрения ОКТ-мониторинга ФДТ в экспериментальную медицину необходимы исследования с использованием различных фотосенсибилизаторов, вариациями доз и способов введения препаратов, а также режимов лазерного воздействия.

Авторы выражают благодарность ООО «Вета-Гранд» (Москва) и ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург) за сотрудничество и Федеральному агентству по науке и инновациям (госконтракт № 02.522.11.2002), РФФИ (грант 08-02-99049) и Программе Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» за финансовую поддержку.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гладкова Н.Д., Загайнов В.Е., Загайнова и др. Пат. № 2169525 Способ диагностики *in vivo* патологической зоны в слоистой системе биологического органа эпителий-подлежащая соединительная ткань. (РФ), 2001. — Бюл. № 18.
2. Куранов Р.В., Сапожникова В.В., Шахова Н.М. и др., Комплексное применение оптических методов для повышения информативности оптической когерентной томографии в диагностике неопластических процессов // Квантовая электроника. — 2002. — 32(11). — С. 993–998.
3. Петрова Г.А., Дерпалюк Е.Н., Гладкова Н.Д. и др.. Возможности оптической когерентной томографии в дифференциальной диагностике и мониторинге заболеваний кожи // Вестник дерматологии и венерологии. — 2002. — 2. — С. 4–11.
4. Руководство по оптической когерентной томографии / Под ред. Н.Д. Гладковой, Н.М. Шаховой, А.М. Сергеева. — М.: Физматлит. Медицинская книга, 2007. — 296 с.
5. Шахова Н.М. Клинико-экспериментальное обоснование применения оптической когерентной томографии в медицинской практике. Дис. ... докт. мед. наук. Н. Новгород, 2004. — 205 с.
6. Boppart S.A., Herrmann J.M., Pitris C. et al High-Resolution Optical Coherence Tomography-Guided Laser Ablation of Surgical Tissue // Journal of Surgical Research. — 1999. — 82(2). — P. 275–284.
7. Cancer management : a multidisciplinary approach, medical, surgical & radiation oncology. Pazdur R., Coia L.R., Hoskins W.J., Wagman L.D., editors. Melville, NY: PRR, 2002.
8. Dickson E.F.G., Goyan R.L., Pottier R.H. New directions in photodynamic therapy // Cellular and Molecular Biology. — 2003. — 48(8). — P. 939–954.
9. Dolmans D., Fukumura D., Jain R.K. Photodynamic therapy for cancer // Nature Reviews Cancer. — 2003. — 3(5). — P. 380–387.
10. Fujimoto J.G., Pitris C., Boppart S.A. et al. Optical Coherence Tomography, An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy // Neoplasia. — 2000. — 2. — P. 9–25.
11. Gelikonov V.M., Gelikonov G. V. New approach to cross-polarized optical coherence tomography based on orthogonal arbitrarily polarized modes // Laser Physics Letters. — 2006. — 3(9). — P. 445–451.
12. Handbook of Optical Coherence Tomography. G.J. Tearney, Editor — New York, Basel: Marcel Dekker, Inc., 2002. — P. 649–672.
13. Jacques S.L., Roman J.R., Lee K. Imaging superficial tissues with polarized light //Lasers Sur. Med. — 1999. — 26. — P. 119–129.
14. Shami V.M., Waxman I. Endoscopic treatment of early gastroesophageal malignancy // Curr Opin Gastroenterol. — 2002. — 18(5). — P. 587–594.
15. Vrouenraets M.B., Visser G.W.M., Snow G.B., van Dongen G.A.M.S. Basic principles, applications in oncology and improved selectivity of photodynamic therapy // Anticancer Research. — 2003. — 23. — P. 505–522.
16. Wilson B.C. Photodynamic therapy for cancer: Principles // Canadian Journal of Gastroenterology. — 2002. — 16(6). — P. 393–396.
17. Поступила 01.07.2008.

УДК 616-006-092.9:615.831:616-073.524

*E.V. Zagaynova¹, M.V. Shirmanova^{1,2}, M.A. Sirotkina¹,
L.B. Snopova¹, I.V. Balalaeva², M.S. Kleshnin³, A.G. Orlova³,
I.V. Turchin³, L.A. Sedakova⁴, V.I. Romanenko⁴, E.M. Treshalina⁴*

MONITORING PHOTSENSITIZER ACCUMULATION IN TUMOR BY DIFFUSE FLUORESCENCE TOMOGRAPHY

¹*Nizhny Novgorod State Medical Academy*
²*N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod*
³*Institute of Applied Physics RAS, Nizhny Novgorod*
⁴*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow*

ABSTRACT

The investigation is concerned with *in vivo* monitoring of photosensitizers accumulation in tumor and their biodistribution by fluorescence diffuse tomography (FDT). Two-dimensional fluorescence images have been acquired by a FDT device. Based on these images we could assess dynamics of accumulation of photosens, 5ALA induced by protoporphyrin IX and photoditazin in grafted mouse tumors. Selective photosensitizer accumulation and fluorescence in tumor increased FDT signal and provided good visualization of a growing part of tumor. The maximum accumulation of a drug in tumor was 3 – 4 hours after injection for 5ALA, 4 – 24 hours for photosens, and 3 – 4 hours for photoditazine. We have also shown the possibility to detect biodeistribution of photosensitizers in normal tissues (skin and abdominal cavity organs). The results were confirmed by a standard spectroscopic method.

Key words: fluorescence diffuse tomography, photosensitizers, tumor model, *in vivo*.

*Е.В. Загайнова¹, М.В. Ширманова^{1,2}, М.А. Сироткина¹,
Л.Б. Снопина¹, И.В. Балалаева², М.С. Клешинин³, А.Г. Орлова³,
И.В. Турчин³, Л.А. Седакова⁴, В.И. Романенко⁴, Е.М. Трещалина⁴*

МОНИТОРИНГ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В ОПУХОЛИ МЕТОДОМ ДИФФУЗИОННОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

¹*Нижегородская государственная медицинская академия*
²*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского*
³*Институт прикладной физики РАН, Москва*
⁴*ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

РЕЗЮМЕ

Исследование включало мониторинг накопления в опухоли и биораспределение фотосенсибилизаторов в условиях *in vivo* методом диффузионной флюоресцентной томографии (ДФТ). На установке для ДФТ получены двумерные изображения, которые позволили неинвазивно и прижизненно оценить динамику накопления фотосенса, 5-Ала-индуцированного ПпIX и фотодитазина в перевиваемых опухолях мышей. Показано, что избирательное накопление фотосенсибилизаторов опухолевой тканью и их флюоресценция приводят к возрастанию ДФТ-сигнала и отчетливой визуализации растущей части опухоли. Показано, что максимум накопления фотосенсибилизаторов в опухоли составляет для аласенса 3 – 4 ч, для фотосенса — до 24 ч, для фотодитазина — 2 – 3 ч. Продемонстрирована возможность оценки биораспределения фотосенсибилизаторов в нормальных тканях (коже, органах брюшной полости). Результаты подтверждены стандартными спектротрическими измерениями.

Ключевые слова: диффузионная флюоресцентная томография, фотосенсибилизаторы, перевивные опухоли, *in vivo*.

ВВЕДЕНИЕ

Флюоресцентная диагностика (ФД) и фотодинамическая терапия (ФДТ) с применением фотосенсибилизаторов разной химической природы находят все большее распространение в онкологии [1; 2; 8; 9]. При этом способность фотосенсибилизаторов флюоресцировать лежит в основе

диагностики опухолей и служит для контроля накопления и выведения из тканей, а инициированные ими свободно-радикальные реакции обеспечивают противоопухолевый эффект.

Ключевыми свойствами фотосенсибилизатора, определяющими эффективность ФД и ФДТ, являются высокая се-

лективность накопления в опухоли, быстрое выведение из нормальных тканей, интенсивное поглощение и флюоресценция в красной или ближней ИК области спектра [11]. Высокая селективность накопления фотосенсибилизатора в опухоли минимизирует вероятность повреждения здоровых тканей при проведении ФДТ. Интенсивное поглощение и флюоресценция фотосенсибилизатора в красном и ближнем ИК диапазоне, где биологические ткани наиболее прозрачны, открывает перспективу диагностики и лечения глубоко локализованных очагов опухоли.

В настоящее время для оценки диагностических свойств и исследования фармакокинетики фотосенсибилизаторов в доклинических испытаниях используются в основном спектрометрические методы. Так, конфокальная микроспектрометрия позволяет определять концентрации и локализацию флюоресцирующих соединений в единичных клетках и тканевых срезах [4], спектрофотометрия — регистрировать флюоресценцию гомогенизированных образцов органов и тканей [7; 17]. Для измерения флюоресцентного сигнала с поверхности изолированных органов, тканей и опухоли *in vivo* активно применяется метод локальной флюоресцентной спектроскопии [12; 15]. Однако наиболее актуальной остается задача разработки методов визуализации флюоресценции на уровне целого организма, которые позволяли бы получать информацию о биораспределении фотосенсибилизаторов прижизненно и неинвазивно и учитывать индивидуальные особенности при планировании фотодинамической терапии.

Перспективным методом визуализации является диффузионная флюоресцентная томография (ДФТ). Метод ДФТ основан на получении *in vivo* информации о флюоресцирующих объектах в биоткани на глубине до нескольких сантиметров с миллиметровым разрешением на основе обработки сигнала от прошедшего через ткань лазерного излучения [19].

Цель настоящей работы состояла в выявлении возможностей прижизненного мониторинга накопления в опухоли и исследовании биораспределения фотосенсибилизаторов в условиях *in vivo* методом ДФТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные, опухолевые модели

Исследование выполнено на 65 мышах массой 20 – 25 г. В качестве моделей опухолевого роста использовались 2 перевиваемые опухоли различного гистогенеза: эпидермоидная карцинома легкого Льюис (LLC) у мышей-гибридов *BDF1* и плоскоклеточный рак шейки матки (РШМ-5) у мышей *СВА*. Опухоли трансплантировали подкожно в область левой лопатки взвесью опухолевой ткани в стерильной питательной среде. Исследование начинали на 10 – 11-й день после трансплантации, когда объем опухоли составлял не менее 100 мм³.

Фотосенсибилизаторы

В работе исследована динамика накопления в опухоли и биораспределение 3 отечественных фотосенсибилизаторов 2-го поколения, которые в настоящее время применяются в клинике для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии рака: фотосенс, аласенс и фотодитазин. Все они имеют интенсивное поглощение и флюоресценцию в

красной области спектра, где биологические ткани обладают наибольшей прозрачностью, что открывает перспективу визуализации глубоко локализованных очагов опухоли. Фотосенсибилизаторы вводили в терапевтических дозах с учетом коэффициента пересчета доз для мышей.

Фотосенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК») — раствор смеси натриевых солей сульфированного фталоцианина алюминия в дистиллированной воде. Максимум поглощения 675 нм, максимум флюоресценции 685 нм [16]. Фотосенс вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг веса животного.

Аласенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК») — 5-аминолевулиновая кислота. Аласенс является предшественником фотоактивного соединения протопорфирина IX (ПпIX). Максимум поглощения ПпIX 633 нм, максимум флюоресценции 705 нм [8]. Аласенс вводили перорально в дозе 400 мг/кг.

Фотодитазин (ООО «Вета-Гранд») — глюкоаминовая соль хлорина Е6 [5]. Максимум поглощения 662 нм, максимум флюоресценции 675 нм. Фотодитазин вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг.

Диффузионный флюоресцентный томограф

Исследование выполнено на диффузионном флюоресцентном томографе ФДТ-2М, созданном в Институте прикладной физики Российской академии наук [19]. В ДФТ-установке источниками излучения являются лазеры красного и ближнего ИК-диапазона. Облучение объекта происходит на длине волны возбуждения флюоресцирующих веществ, а детектирование сигнала только в спектре флюоресценции. Регистрация флюоресцентного сигнала осуществляется с помощью охлаждаемого высокочувствительного фотоэлектронного умножителя (рис. 1). Для разделения спектров облучения и флюоресценции используется комбинация интерференционных и абсорбционных фильтров. Сканирование объекта обеспечивается синхронным пошаговым перемещением источника и детектора, расположенных в планарной конфигурации («на просвет»). Для процедуры сканирования животное после предварительной депиляции помещается между 2 стеклянными пластинами (расстояние между пластинами — 1,2 мм) с легким прижатием. Конструкция установки позволяет производить замену

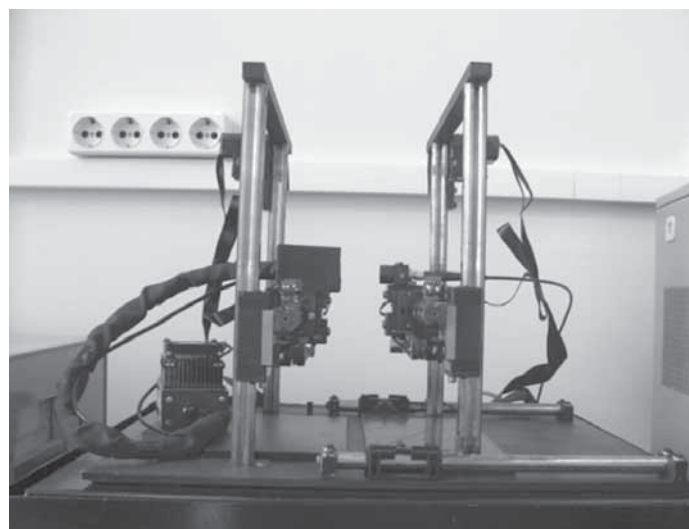


Рис. 1. Внешний вид сканирующей системы ДФТ-установки

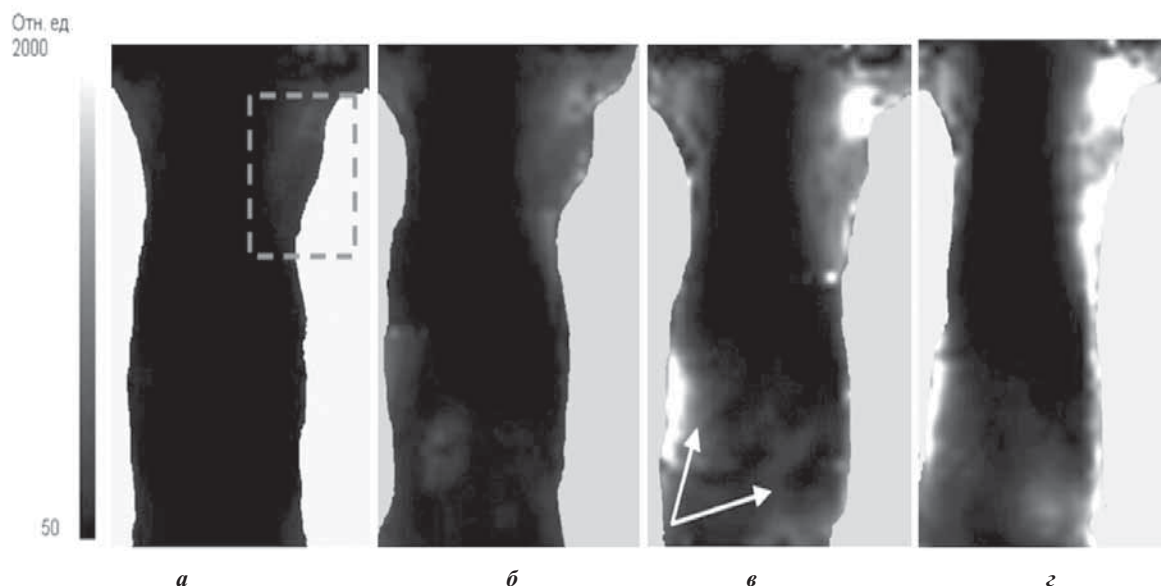


Рис. 2. ДФТ-мониторинг биораспределения ПпIX у мыши с РШМ-5: *а* — контроль до введения; *б* — 1 ч; *в* — 3 ч; *г* — 5 ч после перорального введения аласенса в дозе 400 мг/кг. Размер изображений 35 × 50 мм. Область опухоли выделена пунктиром. Флюоресценция в органах брюшной полости показана стрелками.

источников и фильтров в системе сканирования и подбирать оптимальные по своим оптическим характеристикам для конкретного флюорофора.

Источники и фильтры в сканирующей системе ДФТ-установки были подобраны в предварительном эксперименте с учетом спектральных характеристик фотосенсибилизаторов. Для возбуждения флюоресценции использован полупроводниковый лазер с длиной волны 635 нм, мощностью на объекте 20 – 30 мВт. Регистрация сигнала, прошедшего через объект, производилась в диапазоне 660 – 760 нм (фильтр HQ 710/50). Область сканирования составляла 35 × 50 мм, шаг сканирования — 1 мм, время получения одного изображения — порядка 10 мин.

ДФТ-изображения получали *in vivo* до введения фотосенсибилизатора (контроль) и затем каждые 30 мин по достижении максимума накопления фотосенсибилизаторов в опухоли. Максимум накопления оценивался визуально по интенсивности ДФТ-сигнала в области опухолевого очага. Известно, что эндогенная флюоресценция биологических тканей в красной области спектра крайне мала [10]. Поэтому регистрируемая флюоресценция в данной области может быть обусловлена только экзогенными маркерами, а получаемые ДФТ-изображения дают прямую информацию о накоплении фотосенсибилизаторов. Длительность наблюдения в зависимости от фотосенсибилизатора составляла 3 – 24 ч.

Для подтверждения результатов ДФТ использовали данные, полученные методом спектрометрии органов и тканей *ex vivo*. В точке максимума накопления фотосенсибилизатора в опухоли животных умерщвляли передозировкой эфирного наркоза. На волоконном спектрометре QE65000 анализировали флюоресценцию образцов опухоли, кожи и органов брюшной полости в диапазоне 660 – 760 нм при возбуждении лазером на 635 нм. Контролем служили ткани животных, которым фотосенсибилизаторы не вводили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На установке для ДФТ выполнен прижизненный мониторинг накопления в опухоли и биораспределения фотосенса, 5-АЛК-индуцированного ПпIX и фотодитазина. В ходе проведенного исследования были получены двумерные флюоресцентные изображения мышей с привитыми опухолями 2 типов через различное время после введения фотосенсибилизаторов. Контролем служили изображения тех же животных до введения препаратов.

На ДФТ-изображениях светлые тона соответствуют наибольшей интенсивности регистрируемого сигнала. Контрольные ДФТ-изображения всегда выглядят темными, имеют низкую интенсивность сигнала, хотя отдельные участки, например, натянута кожа подмышечных впадин, немного светлее. Это связано с попаданием на детектор возбуждающего лазерного излучения, проходящего сквозь тонкие участки тела.

В качестве примера *in vivo* мониторинга накопления в опухоли и биораспределения фотосенсибилизатора на рис. 2 представлены результаты эксперимента с введением аласенса мыши линии *СВА* с РШМ-5. Опухоль располагалась на левой лопатке и к началу наблюдения имела объем 290 мм³. Ввиду селективного накопления в опухолевых клетках ПпIX через 1 ч после введения аласенса область опухоли становится более светлой (рис. 2, б). Постепенно визуальный контраст опухоли увеличивается и достигает максимума к 4-5 ч наблюдения (рис. 2, г). На полученных изображениях отмечается слабая флюоресценция в коже, а также достаточно интенсивная флюоресценция в органах брюшной полости, поскольку фотосенсибилизатор накапливается как в опухолевых клетках, так и в неопухолевых тканях. При этом свечение начинается с 1 ч после введения аласенса и постепенно возрастает в течение последующих 3 – 5 ч.

Важно, что мониторинг накопления в опухоли и биора-

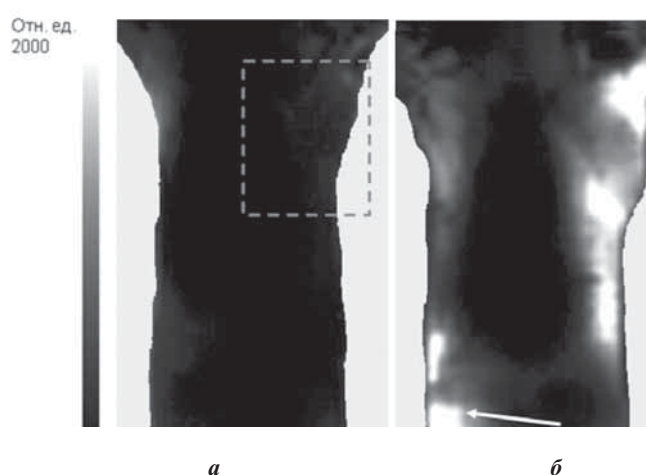
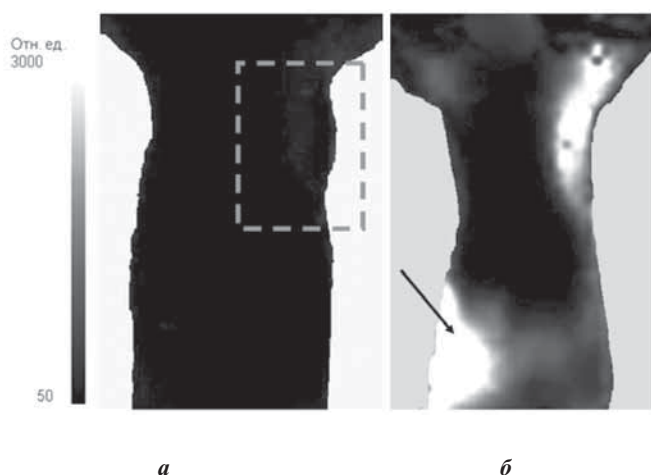


Рис. 3. ДФТ-изображение мышцы с РШМ-5: *a* — контроль; *б* — через 3 ч после внутривенного введения фотосенса в дозе 1 мг/кг. Размер изображений 35 × 50 мм. Область опухоли выделена пунктиром. Флюоресценция в органах брюшной полости показана стрелкой.

Рис. 4. ДФТ-изображение мышцы с РШМ-5: *a* — контроль; *б* — через 4 ч после внутривенного введения фотодитазина в дозе 25 мг/кг. Размер изображений 35 × 50 мм. Область опухоли выделена пунктиром. Флюоресценция в органах брюшной полости показана стрелкой.

спределения фотосенсибилизаторов методом ДФТ выполняются прижизненно на одном и том же животном.

Наиболее яркие изображения опухолей получены с применением фотосенса (рис. 3). При внутривенном введении фотосенс быстро поступает в кожу и органы брюшной полости и изменения на изображениях в виде увеличения интенсивности ДФТ-сигнала регистрируются уже через 30 мин после введения препарата. При этом даже очень малые количества фотосенсибилизатора в коже на фоне ее высокой прозрачности иногда приводят к очень яркой засветке, которая мешает дифференцировать опухоль. Это особенно характерно для первых 2 ч наблюдения. Время максимального накопления препарата в опухоли составляет 3 – 24 ч. В органах брюшной полости ДФТ-сигнал достигает наибольших значений к 3 ч наблюдения. При этом интенсивность его как в опухоли, так и в органах брюшной полости была значительно выше, чем в случае аласенса.

В случае фотодитазина флюоресценция в опухоли и органах брюшной полости отмечается через 30 мин после

введения. Характерно стабильное достижение максимума накопления фотодитазина в разных опухолевых моделях к 2 – 3 ч после введения. Наибольшая интенсивность сигнала в органах брюшной полости наблюдается к 2 – 4 ч (рис. 4). Значения ДФТ-сигнала ниже, чем при применении фотосенса. Тем не менее благодаря высокой избирательности накопления фотодитазина в опухоли по сравнению с окружающими тканями можно легко идентифицировать новообразование на изображениях. Флюоресценция кожи очень слабая.

Проведенное исследование позволило установить, что метод ДФТ может обеспечить прижизненное наблюдение динамики накопления фотосенсибилизаторов в опухоли, коже и органах брюшной полости животного.

Полученные результаты подтверждены спектрометрическим исследованием изолированных органов и тканей в максимуме накопления фотосенсибилизаторов. Полученные спектры опухолевой ткани с характерными пиками фотосенсибилизаторов представлены на рис. 5. Видно, что наи-

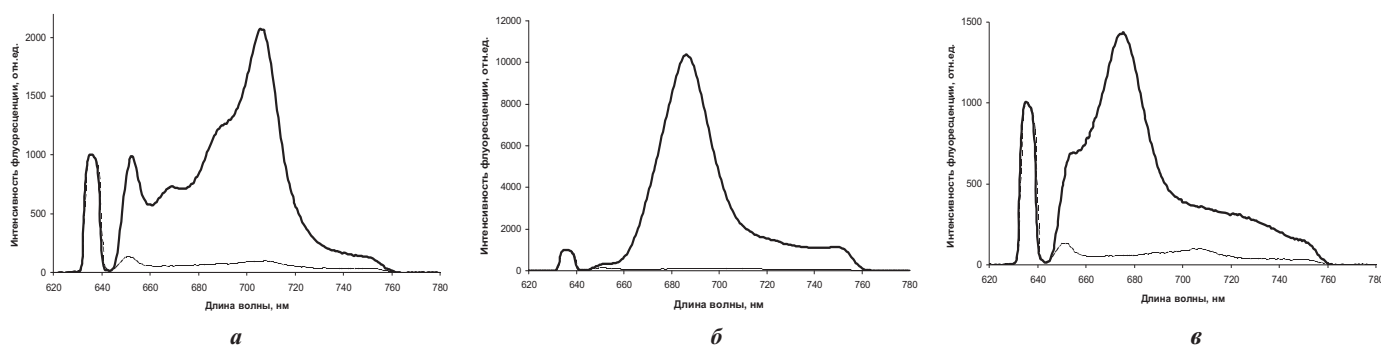


Рис. 5. Спектры флюоресценции опухолевой ткани *ex vivo* без введения (пунктирная линия) и в максимуме накопления фотосенсибилизаторов (сплошная линия): *a* — аласенса (400 мг/кг); *б* — фотосенса (1 мг/кг), *в* — фотодитазина (25 мг/кг). Спектры измерены при возбуждении 635 нм и нормированы на величину диффузно рассеянного в ткани сигнала возбуждающего лазерного излучения на 635 нм.

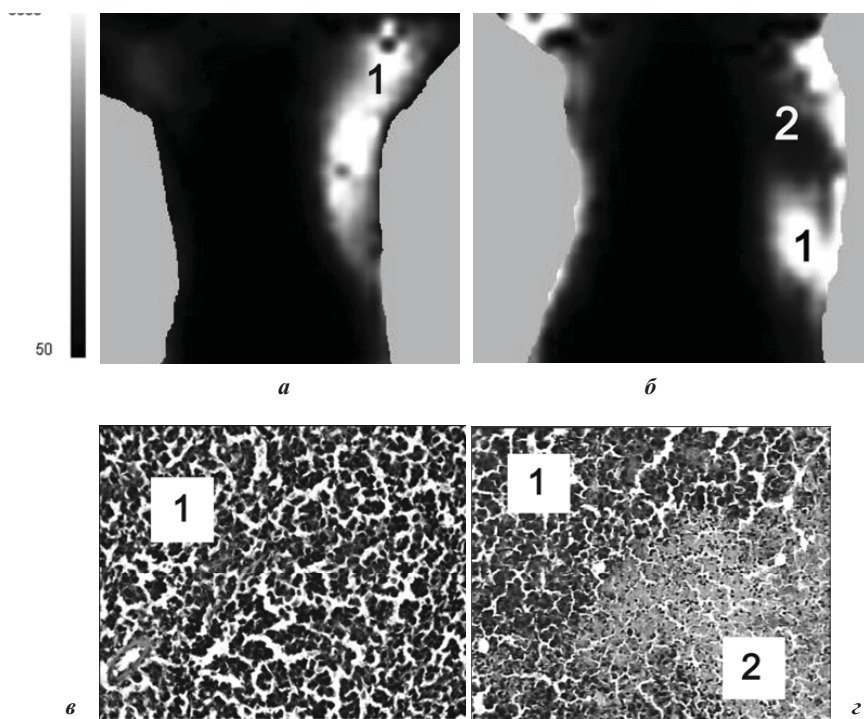


Рис. 6. Сравнение 2 опухолевых моделей на 11-й день после перевивки:

а, б — ДФТ-изображения через 2 ч после введения фотосенса в дозе 1 мг/кг;

в, г — гистологические образцы (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$).

а, в — РШМ-5; *б, г* — LLC.

1 — периферическая растущая зона опухоли; 2 — центральная зона некроза.

большая интенсивность флюоресценции с максимумом на 685 нм характерна для фотосенса. Для аласенса и фотодитазина значения интенсивности примерно одинаковы, а максимумы лежат на 705 и 675 нм соответственно. Уровень флюоресценции в контроле без фотосенсибилизатора не превышал 150 отн.ед.

Существенных различий в динамике накопления фотосенсибилизаторов в 2 опухолевых моделях LLC и РШМ-5 методом ДФТ выявлено не было. Однако имелись отличия в ДФТ-изображениях указанных опухолей, связанные с их гистологическими особенностями (рис. 6). Известно, что при подкожной трансплантации LLC растет относительно быстро и довольно рано некротизируется. Поэтому, как правило, на ДФТ-изображениях центральная часть данной опухоли, соответствующая зонам некроза, не накапливает фотосенсибилизатора и выглядит темной, тогда как периферическая активно растущая зона опухоли накапливает фотосенсибилизатор и выглядит светлой. Изображение РШМ-5 всегда относительно однородное и светлое. Типичные ДФТ-изображения 2 опухолей продемонстрированы на рис. 6

Гистологическое исследование образцов опухолевой ткани подтвердило наличие крупных некротических очагов в LLC и их отсутствие в РШМ-5 (рис. 6, б, в).

Результаты по динамике накопления 3 различных фотосенсибилизаторов в экспериментальных опухолях, полученные методом ДФТ, совпадают с литературными данными, полученными традиционными методами. Так, в работах с использованием 5-АЛК [18; 20] указывается, что максимальная интенсивность флюоресценции в опухоли в связи с накоплением ПпIX наблюдается в период 3 – 6 ч после введения препарата. В этот же период отмечается максимальное содержание в опухоли фотодитазина. Согласно данным [3; 14] фотосенс характеризуется более длительным временем накопления в опухолевой ткани. Несмотря на то, что высокая интенсивность флюоресценции фотосенса в опухоли отмечается уже через 1 ч после введения, накопление его в опухоли происходит в течение 24, а по некоторым сведени-

ям даже 48 ч и зависит от индивидуальных особенностей опухоленосителя.

На полученных ДФТ-изображениях видна флюоресценция в области брюшной полости. Это соответствует сведениям о том, что все фотосенсибилизаторы вызывают специфическую флюоресценцию в нормальных органах и тканях. По данным [18; 20] высокий уровень флюоресценции ПпIX регистрируется в кишечнике, печени и почках. Для фотосенса в фазе накопления в опухоли характерна флюоресценция в печени и селезенке [3; 7]. В случае фотодитазина наряду с опухолью отмечается флюоресценция преимущественно в кишечнике [6; 13]. Несмотря на то, что анатомические особенности животного не дают возможности идентифицировать органы по топологии ДФТ-сигнала на двумерных изображениях, ДФТ-исследование позволяет прижизненно оценить уровень флюоресценции и динамику накопления фотосенсибилизаторов в нормальных тканях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа демонстрирует возможность прижизненного мониторинга накопления в опухоли и нормальных тканях органических фотосенсибилизаторов разной химической природы методом ДФТ.

На установке для ДФТ нами получены двумерные флюоресцентные изображения, которые позволили неинвазивно и прижизненно оценить динамику накопления фотосенса, 5-Ала-индуцированного ПпIX и фотодитазина в перевиваемых опухолях мышей — эпидермоидной карциноме легкого Льюис и плоскоклеточном ороговевающем раке шейки матки РШМ-5. Избирательное накопление фотосенсибилизаторов опухолевой тканью и их флюоресценция привели к возрастанию ДФТ-сигнала и отчетливой визуализации растущей части опухоли. С помощью нового метода ДФТ установлено, что среди фотосенсибилизаторов фотосенс характеризуется самым длительным периодом накопления в опухоли — до 24 ч. ПпIX достигает максимума накопления в опухоли за 3 – 4 ч, а фотодитазин — за 2 – 3 ч. Быстрое и

стабильное достижение максимума накопления в опухоли, характерное для фотодитазина, имеет несомненное клиническое значение, поскольку позволяет спланировать наиболее эффективное терапевтическое воздействие. Динамика накопления фотосенсибилизаторов в 2 изученных опухолях практически не отличалась. Все фотосенсибилизаторы вызывали флюоресценцию в органах брюшной полости. При этом наибольшая интенсивность ДФТ-сигнала в опухоли, коже и органах брюшной полости была характерна для фотосенса, что связано с наиболее высоким квантовым выходом флюоресценции. Полученные результаты подтверждаются спектрометрическими измерениями и хорошо согласуются с литературными данными.

Метод ДФТ может стать незаменимым инструментом при доклиническом изучении новых фотосенсибилизаторов и позволит в более короткое время и на ограниченном числе животных получить высокоинформативные сведения об основных биологических характеристиках новых препаратов для ФД и ФДТ.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№№ 07-02-01262, 07-02-01146, 08-02-99049), Программы президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» и Федерального Агентства по Науке и Инновациям (проект № 2.522.11.2002).

Авторы выражают благодарность Шаховой Наталье Михайловне, Булгаковой Наталье Николаевне за помощь на различных этапах работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вакуловская Е.Г., Стратонников А.А., Таболиновская Т.Д., Кондратьева Т.Т. Фотодинамическая терапия у больных раком слизистой оболочки полости рта, ротоглотки и нижней губы // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – 14(2). – С. 13–17.
2. Гельфонд М.Л. Фотодинамическая терапия в онкологии // Практическая онкология. – 2007. – 8(4). – С. 204–210.
3. Морозова Н.Б., Якубовская Р.И., Деркачева В.М., Лукьянец Е.А. Биораспределение препарата фталосенса у интактных животных и животных с опухолями различного гистогенеза // Российский онкологический журнал. – 2007. – 1. – С. 37–43.
4. Назарова А.И., Феофанов А.В., Кармакова Т.А. и др. Влияние заместителей на фотохимические и биологические свойства 13,15-N-циклоимидных производных хлорина р6 // Биоорганическая химия. – 2005. – 31(5). – С. 1–14.
5. Патент РФ 2276976 Фотосенсибилизатор и способ его получения / Пономарев Г.В., Тавровский Л.Д., Зарецкий А.М. и др. — Оpubл. 27.05.2006.
6. Решетников А.В., Иванов А.В., Абакумова О.Ю. и др. Оценка биологических свойств новых фотосенсибилизаторов хлоринового ряда // Использование лазеров для диагностики и лечения заболеваний. Научно-информационный сборник (приложение к бюллетеню “Лазер-информ”). – 2001. – 3. – С. 34–40.
7. Смирнова З.С., Оборотова Н.А., Макарова О.А. и др. Эффективность и фармакокинетика липосомальной лекарственной формы фотосенсибилизатора «Фотосенс» на основе сульфоталлоцианина алюминия // Химико-фармацевтический журнал. – 2005 – 39(7). – С. 3–6.
8. Соколов В.В., Чиссов В.И., Филоненко Е.В. и др. Флюоресцентная диагностика раннего центрального рака легкого // Пульмонология. – 2005. – 1. – С. 107–116.
9. Цыб А.Ф., Каплан М.А. Возможности и перспективы применения фотодинамической терапии // Российские Медицинские Вести. – 2002. – 2. – С. 19–24.
10. Чиссов В.И., Соколов В.В., Булгакова Н.Н., Филоненко Е.В. Флюоресцентная эндоскопия, дермаскопия и спектрофотометрия в диагностике злокачественных опухолей основных локализаций // РБЖ. – 2003. – 2(4). – С. 45–56.
11. Якубовская Р.И., Казачкина Н.И. Кармакова Т.А. и др. Скрининг и медико-биологическое изучение отечественных фотосенсибилизаторов // Росс. Хим. Журн. – 1998. – 5, XLII. – С. 17–23.
12. Bulgakova N.N., Kazachkina N.I., Sokolov V.V., Smirnov V.V. Local fluorescence spectroscopy and detection of malignancies using laser excitation at various wavelengths // Laser Physics. – 2006. – 16(5). – P. 889–895.
13. Corner C.J., Ferrarolo A. Tissue Distribution and photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorin e6 in a mouse tumor model // Cancer Research. – 1990. – 50. – P. 3985–3990.
14. Kazachkina N.I., Zharkova N.N., Fomina G. et al. Pharmacokinetical study of Al- and Zn-sulphonated phthalocyanines // Proc. SPIE. – 1996. – 2924. – P. 233–242.
15. Loschenov V.B., Konov V.I., Prokhorov A.M. Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics // Laser Physics. – 2000. – 10(6). – P. 1188–1207.
16. Lukyanets E.A. Phthalocyanines as photosensitizers in the photodynamic therapy of cancer // J. Porphyrins Phthalocyanines. – 1999. – 3. – P. 424–432.
17. Schneckenburger H., Lang M., Kollner T. et al. Fluorescence spectra and microscopic imaging of porphyrins in single cells and tissues // Lasers in Medical Science. – 1989. – 4(159). – P. 159–166.
18. Sroka R., Beyer W., Gossner L. et al. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic-acid-induced porphyrins in tumour-bearing mice // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 1996. – 34. – P. 13–19.
19. Turchin I.V., Balalaeva I.V., Vasil'ev R.B. et al. Imaging of QDs-labeled tumors in small animals by fluorescence diffuse tomography // Laser Phys. Lett. – 2006. – 3(4). – P. 208–211.
20. Venosa G.D., Batlle A., Fukuda H. et al. Distribution of 5-aminolevulinic acid derivatives and induced porphyrin kinetics in mice tissues // Cancer Chemother Pharmacol. – 2006. – 58. – P. 478–486.
21. Поступила 01.07.2008.

УДК 616.5-006.6-085.831

E.V. Yaroslavtseva-Isaeva, M.A. Caplan

THE EFFICACY OF PHOTODYNAMIC THERAPY FOR EARLY STAGE OF BASAL CELL CANCER OF SKIN WHEN INJECTED LOCALLY

ABSTRACT

This work was performed to study the efficacy of intertissular injection of photoditazin at the early stage of basal cell cancer of skin. We also discuss the applicative method of drug management.

Key words: photodynamic therapy, basal cell cancer of skin, photoditazin(intersurgical injection, application).

E.V. Ярославцева-Исаева, М.А. Каплан

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ НАЧАЛЬНЫХ СТАДИЙ С ЛОКАЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН

Отдел лазерной и фотодинамической терапии ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

РЕЗЮМЕ

Работа посвящена методикам фотодинамической терапии (ФДТ) базально-клеточного рака кожи (БКРК) начальных стадий с внутритканевым, аппликационным способом введения фотосенсибилизатора фотодитазин.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, базально-клеточный рак кожи, фотодитазин (внутритканевое введение, аппликация).

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные новообразования кожи, морфологически отличные от меланомы, занимают 2-е место в общей структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России. Распределение больных злокачественными новообразованиями кожи по стадиям опухолевого процесса свидетельствует о преобладании (93,9 %) I – II стадии заболевания. Среди злокачественных новообразований кожи наиболее часто встречается базально-клеточный рак кожи (БКРК), который составляет 70 – 90 %. С 1992 г. в России для лечения опухолей кожи применяется метод фотодинамической терапии (ФДТ) [1; 3; 5]. Он основан на способности определенных химических веществ (фотосенсибилизаторов) накапливаться в опухолевой ткани и под воздействием кванта света определенной длины волны вызывать фотохимические реакции, приводящие к гибели раковых клеток [6; 8; 11; 12]. Эффективность ФДТ рака кожи зависит от стадии опухолевого процесса, химической структуры и дозы фотосенсибилизатора (ФС), параметров лазерного облучения.

Обычно ФС вводят в организм внутривенно. ФС накапливается преимущественно в опухоли, а также в коже, слизистых, органах ретикулоэндотелиальной системы [2; 9; 10].

Накопления ФС в коже даже в минимальных концентрациях достаточно для запуска фотохимических реакций после воздействия дневного света. При несоблюдении профилактических мер после внутривенного введения ФС возможны гиперемия, отек, ожоги кожи лица и открытых участков тела с последующей пигментацией, конъюнктивиты и дерматиты различной степени выраженности. Для профилактики побочных реакций, связанных с длительным периодом кожной фототоксичности, необходимо соблюдать световой режим. Длительность его зависит от вида ФС. При использовании ФС 1-го поколения (производные гематопорфирина, отечественный ФС фотогем) этот срок может быть продолжительностью до 1 мес, при использовании ФС 2-го поколения фталоцианинов (отечественный ФС фотосенс) — 6 – 8 нед, хлоринов — до нескольких дней.

Введение ФС в дозах, достаточных для высокого накопления в опухолевых клетках, приводит к высокой концентрации ФС в органах ретикулоэндотелиальной системы и может нарушать их функциональную способность. Поэтому обязательным условием, особенно у пожилых пациентов, является оценка состояния внутренних органов. Это требует дополнительного времени или даже госпитализации.

В литературе мы встретили ряд исследований о возможности внутритканевого и аппликационного введения раствора ФС производных гематопорфирина, фталоцианинов [4; 13], аминоклевулиновой кислоты в форме крема [7; 14; 15; 16], однако не встретили публикаций о возможности локального введения ФС производных хлорина. Нет информации о расчете дозы ФС, вводимого внутритканевым способом в опухоль, об оптимальных (соотношение дозы ФС и плотности энергии лазерного излучения) параметрах проведения сеанса ФДТ, эффективности ФДТ с локальным введением ФС в зависимости от клинической формы БКРК.

Цель исследования — оценить эффективность ФДТ с локальным введением ФС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован фотосенсибилизатор 2-го поколения — производное хлорина Е6 — 0,5%-ный раствор фотодитазин (препарат синтезирован в Институте биомедицинской химии РАМН, г. Москва) и гель с фотодитазином.

Источниками светового излучения служили полупроводниковые лазерные аппараты: «Ламеда» с максимальной мощностью рабочего излучения на выходе оптического разьема аппарата 1,5 Вт, длина волны 661 ± 6 нм (производитель ООО «Электромагнитные медицинские инструменты», Москва) и лазерный аппарат «Аткус-2» (ЗАО «Полупроводниковые приборы», Санкт-Петербург), мощность — 2 Вт, длина волны 661 ± 1 нм. Для доставки световой энергии к опухоли использовали гибкие кварцевые моноволоконные торцевые световоды и световоды с линзой.

В период с 2001 по 2003 гг. в отделе лазерной и фотодинамической терапии проведены клинические исследования 60 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом базально-клеточный рак кожи $T_{1-2}N_0M_0$. Средний возраст составил 61,5 год, пациентов старше 60 лет — 80 %. Распределение больных по локализации процесса показало, что в 87,1 % случаев БКРК локализовался в области головы и шеи. Большинство образований достигал в диаметре 1 – 2 см, максимальный диаметр соответствовал 3 см. Пациенты имели различные клинические формы БКРК и были распределены на 2 группы в зависимости от способа локального введения ФС (табл. 1). К опухолевидной форме БКРК относили одиночный перламутрово-розовый блестящий узел с крупными телеангиоэктазиями или красный узел с бугри-

стой поверхностью, изъязвлением, контактно кровоточащий. К язвенно-узелковой форме относили язву, окруженную полупрозрачным валиком с телеангиоэктазиями, или кратерообразное изъязвление на массивном основании, спаянное с подлежащими тканями, к склеродермоподобной — белесый склерозированный участок с перламутровыми папулами по периферии. К поверхностному БКРК относили шелушащееся пятно (начинающаяся базалиома) или плоскую бляшку красновато-коричневого, розового цвета, округлой, овальной или неправильной формы, четко отграниченное от окружающей кожи приподнятыми валикообразными краями.

1-ю группу составил 21 пациент, которым провели 1 сеанс ФДТ после внутритканевого введения 0,5%-ного раствора ФС фотодитазин. После предварительных экспериментальных исследований выявлено оптимальное соотношение дозы ФС и плотности энергии лазерного облучения, время между введением ФС и облучением. Поэтому раствор ФС вводили в объеме, соответствующем половине объема опухоли. Объем опухоли рассчитывали по формуле:

$$\frac{1}{6}\pi \cdot \left(\frac{d_1 + d_2}{2}\right)^3,$$

где d_1, d_2 — 2 взаимно перпендикулярных поперечных сечения опухоли.

Инъекцию раствора ФС проводили с 1 – 3 точек, в зависимости от размеров и клинической формы опухоли, медленно, перпендикулярно опухоли, с продвижением иглы к ее основанию. Использовали плотность энергии лазерного излучения 300 – 600 Дж/см², доза ФС соответствовала 2,5 мг/см³ опухоли (0,3 – 3мл 0,5%-ного раствора фотодитазина в зависимости от размеров очага), плотность мощности — 0,31 – 0,47 Вт/см², интервал между введением ФС и лазерным облучением — 5 – 10 мин.

2-я группа включала 39 пациентов, которым провели 1 – 2 сеанса ФДТ после аппликации геля с ФС. Аппликацию проводили после обработки очага 70%-ным этиловым спиртом под компрессионную бумагу. Корочку, если она была, снимали. Через 3 ч очаг БКРК облучали при плотности энергии лазерного излучения 300 – 600 Дж/см². Плотность мощности составила от 0,17 до 0,47 Вт/см².

С целью контроля пациентам проводили до и после сеанса ФДТ флюоресцентный анализ. Лечение всех пациентов проходило в амбулаторных условиях.

Таблица 1

Клинические формы базально-клеточного рака кожи и способ локального введения фотосенсибилизатора

Клиническая форма базально-клеточного рака кожи	Внутритканевое введение ФС (количество пациентов/опухолевых очагов)		Итого
	1 группа	2 группа	
Поверхностная	2	21/40	23/42
Язвенно-узелковая	8/10	18	26/28
Опухолевидная	9	–	9
Склеродермоподобная	2	–	2
Всего	21/23	39/58	60/81

Результаты ФДТ базально-клеточного рака кожи с внутритканевым введением раствора фотодитазин

Таблица 2

Клиническая форма	Количество пациентов	Полная регрессия	Частичная регрессия	Без эффекта
Поверхностная	2	2	-	-
Язвенно-узелковая	8	5	3	-
Опухолевая	9	9	-	-
Склеродермоподобная	2	-	2	-
Всего (в скобках – %)	21 (100)	16 (76,2)	5 (23,8)	(0)

Непосредственные результаты ФДТ больных БКРК оценивали через 1 – 2 мес после лечения по общепринятым стандартам:

- полная регрессия (ПР) — полное исчезновение опухоли;
- частичная регрессия (ЧР) — опухоль сократилась более, чем на 50 %;
- без эффекта (БЭ) — уменьшение размеров опухоли меньше, чем на 50 %, или отсутствие изменения размеров опухоли.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ Непосредственные результаты ФДТ БКРК с внутритканевым введением раствора фотодитазин

Во время введения раствора ФС и в процессе ФДТ у пациентов отмечали болевой синдром, который купировали ненаркотическими анальгетиками. Непосредственно после сеанса ФДТ у всех пациентов отмечали реакции со стороны опухоли: изменение окраски опухоли, стаз крови, гиперемию окружающих тканей. Область лечения после ФДТ обрабатывали антибактериальным кремом. После сеанса ФДТ в опухоли развивались явления геморрагического некроза, сопровождающиеся нарушением целостности кожи с после-

дующим формированием струпа. Как правило, струп формировался через неделю после сеанса ФДТ. Во всех случаях струп имел плотную структуру, был спаян с подлежащими тканями и самостоятельно отторгался через 1 – 2 мес после лечения с формированием рубца. Непосредственные результаты лечения представлены в табл.2. Из нее видно, что у 16 (76,2 %) пациентов отмечена полная регрессия образования, а частичная отмечена у 5 (23,8 %). Отсутствие же эффекта не наблюдали ни в одном случае. При этом у пациентов с опухолевидной и поверхностной формами БКРК отмечена полная регрессия образования во всех случаях, а у пациентов с язвенно-узелковой формой БКРК полная регрессия отмечена только у 5 из 8 пациентов. Достигнута частичная регрессия у пациентов со склеродермоподобной формой БКРК.

Непосредственные результаты ФДТ с аппликационным введением ФС

Во время ФДТ пациенты испытывали жжение в зоне лечения (незначительное или умеренное), в некоторых случаях применяли ненаркотические анальгетики. После ФДТ в зоне лечения отмечали стаз крови, экссудацию, гиперемию окружающих тканей. Область лечения после ФДТ обрабатывали 5%-ным $KMnO_4$. Через неделю формировалась тонкая корочка, которая самостоятельно отторгалась на 20-е – 30-е сут. После отторжения корочки наблюдали гладкую ровную белесоватую поверхность с углублением в центре или незначительную гиперпигментацию. Результаты лечения представлены в табл. 3.

Полная регрессия 42 образований отмечена у 23 (59 %) пациентов. В зоне лечения у 7 пациентов наблюдали гладкую ровную белесоватую поверхность с углублением в центре, у 14 — незначительную гиперпигментацию. Из 18 пациентов с язвенно-узелковой формой БКРК до 1,5 см только у 2 пациентов отмечена полная регрессия с формированием нежного белесоватого рубца. У 25,6 % пациентов отмечена частичная регрессия, у 15,4 % размеры опухоли не изменились.

Таблица 3

Результаты ФДТ с аппликационным введением ФС

Клиническая форма	Количество пациентов/ число опухолей	Полная регрессия	Частичная регрессия	Без эффекта
Поверхностная	21/40	21/40	0	0
Язвенно-узелковая	18	2	10	6
Всего (в скобках – %)	39 (100)	23 (59,0)	10 (25,6)	6 (15,4)

Таблица 4

Эффективность фотодинамической терапии с локальным введением ФС*

Методика введения ФС	Полная регрессия	Частичная регрессия	Без эффекта	Количество опухолей
Внутритканевая	16 (76,2)	5 (23,8)	0	21 (100)
Аппликационная	23 (59,0)	10 (25,6)	6 (15,4)	39 (100)
Всего	39 (65)	15 (25)	6 (10)	60 (100)
*В скобках – %				

Таблица 5
Эффективность ФДТ поверхностной формы БКР
T₁N₀M₀ кожи
с локальным введением ФС*

Методика введения ФС	Полная регрессия	Частичная регрессия	Количество пациентов
Внутриканевая	2 (100)	0	2
Аппликационная	21 (100)	0	21
Всего	23	0	23
*В скобках – %			

получен эффект у 15,4 % пациентов. Таким образом, методика ФДТ после аппликацией геля с ФС сопровождается меньшей эффективностью по сравнению с методикой ФДТ с внутритканевым введением раствора ФС ($\chi^2 = 3,59, p < 0,05$).

Сравнительный анализ эффективности методик при различных клинических формах БКРК

У пациентов с поверхностной формой (табл. 5) БКРК получена полная регрессия всех опухолевых очагов после ФДТ как с внутритканевым, так и с аппликационным введением ФС. Таким образом, ФДТ БКРК поверхностной формы T₁₋₂N₀M₀ с аппликационным введением геля с фотодитазинном так же эффективна, как и с внутритканевым введением раствора фотодитазин.

При сравнении результатов ФДТ больных язвенно-узелковой формой БКРК с применением различных способов локального введения ФС (табл. 6) выявлено значимое различие по количеству случаев полной регрессии опухоли ($\chi^2=7,43, p < 0,01$), что позволяет говорить о меньшей эффективности ФДТ язвенно-узелковой формы БКРК T₁₋₂N₀M₀ с применением аппликационного способа введения геля с фотодитазинном по сравнению с методикой ФДТ с внутритканевым введением раствора фотодитазин.

ФДТ опухолевидной формы БКРК T₁₋₂N₀M₀ с внутритканевым введением раствора фотодитазин эффективна, так как у всех пациентов получена полная регрессия.

Динамическое наблюдение за больными и отдаленные результаты лечения

После лечения пациентов наблюдали первые 2 дня ежедневно, затем через 1 нед, 1 – 2 – 3 мес, затем через каждые 6 мес. Срок наблюдения за пациентами составил 4 – 5 лет (рис. 1 и 2). В наших исследованиях ни в одном случае не выявлено побочных реакций или осложнений, и пациенты не нуждались в соблюдении светового режима.

За период наблюдения за пациентами с полной регрессией образований (n=35) у 3 отмечен рецидив на сроке наблю-

Таблица 6
Эффективность ФДТ язвенно-узелковой формы БКРК
T₁₋₂N₀M₀ кожи
с локальным введением ФС*

Методика введения ФС	Полная регрессия	Частичная регрессия	Без эффекта	Количество пациентов
Внутриканевая	5 (62,5)	3(37,5)	0	2
Аппликационная	2 (11,1)	10(50,6)	6(33,3)	21
Всего	7	13	6	23
*В скобках – %				

Из вышепредставленных сведений следует, что клиническая эффективность (сумма полных и частичных регрессий) ФДТ с внутритканевым введением раствора фотодитазин составила 100 %, а клиническая эффективность ФДТ с аппликационным введением геля с ФС составила 84,6 %, не



Рис. 1. Результаты ФДТ базально-клеточного рака кожи с внутритканевым введением ФС:
 а, б — язвенно-узелковая форма; в, г, д, е — опухолевидная форма.
 а, в — до ФДТ; б, г — через 5 лет после ФДТ; д — после введения ФС; е — через 4 года после ФДТ.



Продолжение рис. 1. Результаты ФДТ базально-клеточного рака кожи с внутритканевым введением ФС:
a, б — язвенно-узелковая форма; *в, г, д, е* — опухолевидная форма.
a, в — до ФДТ; *б, г* — через 5 лет после ФДТ; *д* — после введения ФС; *е* — через 4 года после ФДТ.

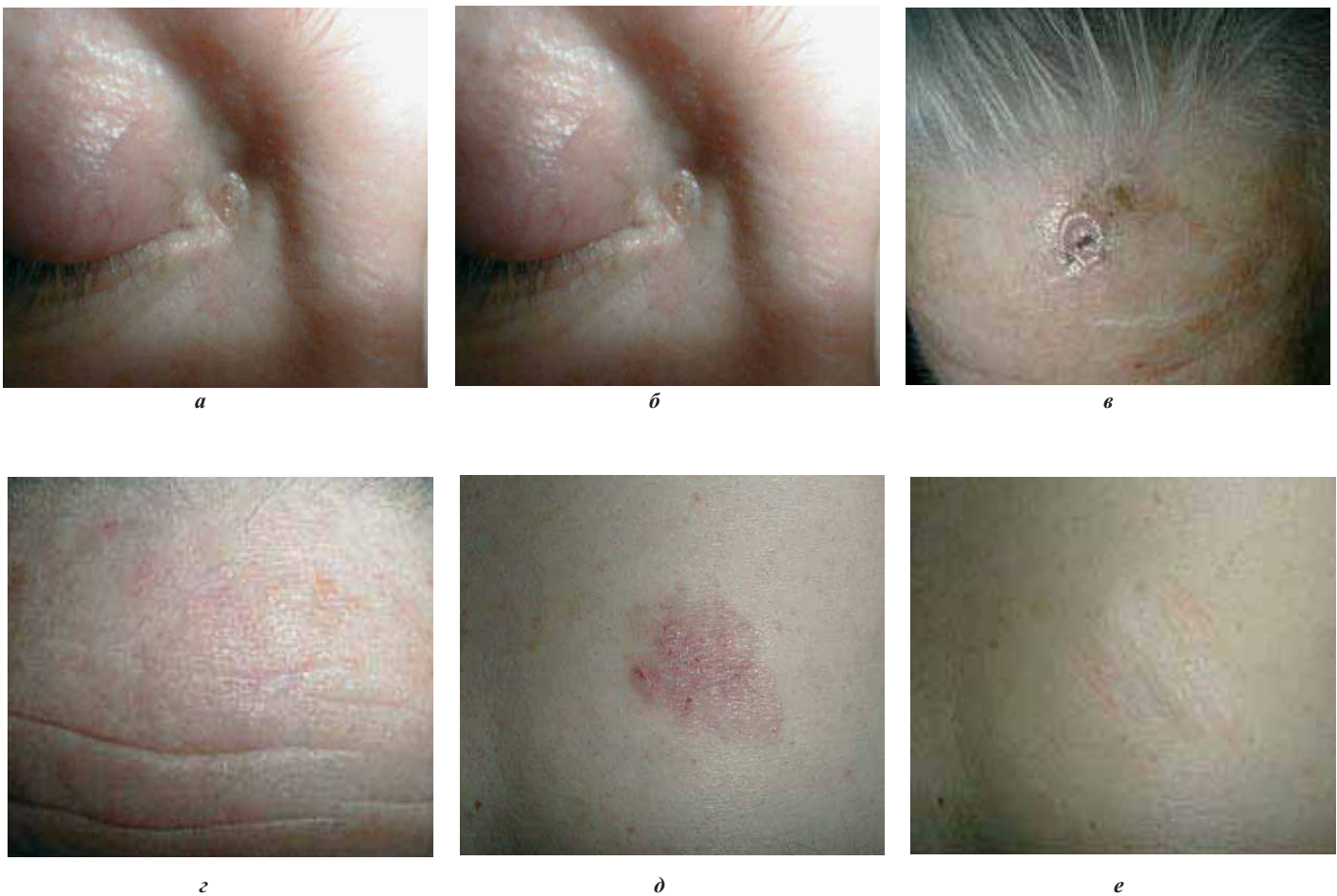


Рис. 2. Результаты ФДТ поверхностной формы базально-клеточного рака кожи с аппликационным введением ФС:
a, в, д — до ФДТ; *б* — через 5 лет после ФДТ; *г, е* — через 4 года после ФДТ.

дения 6 мес – 1 год. Это пациенты, которым проводили ФДТ после аппликацией геля с ФС. Из них у 2 был очаг БКРК язвенно-узелковой формы и у 1 — поверхностной формы 3 см в диаметре.

Всем пациентам ($n = 15$) с частичной регрессией и продолженным ростом ($n = 6$) проведена лазерная деструкция остаточного образования на CO_2 лазерном аппарате «Ланцет» и достигнута полная регрессия. На сроке наблю-

дения 1 – 2 г. у 2 пациентов отмечен рецидив, им проведена ФДТ с внутривенным введением ФС, достигнута полная регрессия, наблюдаются без рецидива 3 г.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность методики ФДТ базально-клеточного рака кожи T_{1-2} с внутритканевым введением раствора фотодитазин составляет 100 %, при этом полная регрессия достигнута у 76,2 % (16 пациентов), частичная регрессия у 23,8 % (5 пациентов). У всех 9 пациентов с опухолевидной формой достигнута полная регрессия образований. Все пациенты с полной регрессией наблюдаются без рецидива 4 – 5 лет.
2. Эффективность ФДТ базально-клеточного рака кожи начальных стадий после аппликацией геля с фотодитазином составляет 84,6 %, при этом полная регрессия достигнута у 59,0 % (23 пациента), частичная – у 26,6 % (10 пациентов). У всех пациентов (21) с поверхностной формой достигнута полная регрессия образований, на сроке наблюдения 6 мес – 1 г. отмечен рецидив у 1 (5 %), остальные наблюдаются без рецидива 4 – 5 лет.
3. ФДТ базально-клеточного рака кожи T_{1-2} с локальным введением ФС фотодитазин не имеет побочных реакций и осложнений, не требует соблюдения светового режима, поэтому может применяться у пожилых пациентов с сопутствующей соматической патологией и отягощенным аллергологическим анамнезом.
4. Методики ФДТ с локальным введением ФС являются органосохраняющими, не вызывают функциональных и косметических нарушений, имеют более низкую стоимость по сравнению с ФДТ с внутривенным введением ФС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вакуловская Е.Г., Шенталь В.В. Фотодинамическая терапия опухолей головы и шеи с использованием Фотосенса // Фотодинамическая терапия: Материалы Всеросс. симп., 3 – М., 1999. – С. 26–32.
2. Иванов А.В. Фотодинамическая терапия опухолей: Пути повышения эффективности // Мед. физика. – 1996. – 3. – С. 55–60.
3. Рябов М.В., Странадко Е.Ф. Опыт фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи размерами, соответствующими символу T_2 // Фотодинамическая терапия: Материалы Всеросс. симп., 3. – М., 1999. – С. 56–65.
4. Странадко Е.Ф., Маркичев Н.А., Рябов М.В. Фотодинамическая терапия в лечении злокачественных новообразований различных локализаций: Пособие для врачей. – Тверь: ООО «Губернская медицина», 2002. – 22 с.

5. Сухова Т.Е. Особенности клиники и течения базалиомы в Московской области и разработка метода фотодинамической терапии базалиомы на основе отечественного фотосенсибилизатора Фотосенса: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2001. – 25 с.
6. Якубовская Р.И., Кармакова Т.А., Морозова Н.Б. Возможности управления эффектами ФДТ // РБЖ. – 2004. – 3(2). – С. 60.
7. Kennedy J.C., Pettiier R.H., Pross D.C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX basic principles and present clinical experience // J. Photochem. Photobiol. – 1990 – 6. – P. 143–148
8. Mironov A.F. Second generation photosensitizers based on natural chlorines and bacteriochlorins // SPIE Proceedings, CIS Selected Papers « Laser Use in Oncology». – 1996 – 2728 – P. 150–164.
9. Johnson S., Johnson F.N. Photodynamic Therapy: Reviews in Contemporary // Pharmacotherapy – Marius Press, Special Issue, 1999. – 72 p.
10. Jori G. Photodynamic therapy: basic and preclinical aspects // CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology. – CRC press, Boca Raton, New York. – 1995. – P. 1379–1383
11. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours // J. Photochem. Photobiol. B. – 1997. – 39. – P.1–18.
12. Pass H.I. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use // J. Nat. Cancer Inst. – 1993. – 85(6). – P. 443–456.
13. Wilson B.D., Mang T.S., Stoll H. et al. Photodynamic therapy for treatment of basal cell carcinoma // Arch. Dermatol. – 1992. – 128. – P. 1597–1601.
14. Wolf P., Rieger E., Kerl H. Topical photodynamic therapy with endogenous porphyrins after application of 5-aminolevulinic acid: an alternative treatment modality for solar keratoses superficial squamous cell carcinomas and basal cell carcinomas? // J.Amer. Acad. Dermatol. – 1993. – 28(1). – P. 17–21.
15. Gupta A.K., Ryder J.E. Photodynamic therapy and topical aminolevulinic acid: an overview // Am. J. Clin. Dermatol. – 2003. – 4(10) – P. 699–708.
16. Horn M., Wolf P., Wulf H.C. et al. Topical methyl aminolaevulinate photodynamic therapy in patients with basal cell carcinoma prone to complications and poor cosmetic outcome with conventional treatment // Br. J. Dermatol. – 2003. – 149(6) – P. 1242–1249.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616.832-001:616.5-002.46:615.831

A.S. Brukhovetsky^{1,2}, A.V. Comfort^{1,2}

THE EFFICACY OF PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTODITAZIN AS COMBINED THERAPY OF DECUBITUS IN PATIENTS WITH SPINAL CORD WOUND DYSTROPHY

¹Department of cellular replacement therapy, Russian State Medical University, Moscow²«NeuroVita», Clinic of interventional neurology and therapy, Moscow

ABSTRACT

We have studied the effect of Russian photosens photoditazin on decubitus in patients with spinal cord wound dystrophy.

The preliminary results indicate that photodynamic therapy with photoditazin is safely and highly effective method of treatment and could be used both for conservative therapy and in preparation for surgical treatment of decubitus in patients with spinal cord wound dystrophy.

Key words: photodynamic therapy, photoditazin, decubitus, spinal cord wound dystrophy, stem cell.

A.C. Брюховецкий^{1,2}, А.В. Комфорт^{1,2}

ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОДИТАЗИНОМ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПРОЛЕЖНЕЙ У БОЛЬНЫХ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СПИННОГО МОЗГА

¹РГМУ ФУВ, Кафедра клеточной восстановительной терапии,²Клиника интервенционной неврологии и терапии «НейроВита», Москва

РЕЗЮМЕ

В представленном исследовании была показана возможность ФДТ пролежней у больных травматической болезнью спинного мозга с использованием отечественного препарата фотодитазин.

Предварительные результаты позволяют сделать вывод, что ФДТ с препаратом фотодитазин — перспективный метод в комплексном лечении пролежней у данной категории больных. Показано, что метод безопасен и эффективен и может быть использован не только при консервативном лечении, но и в качестве подготовки к хирургическому лечению пролежней у больных травматической болезнью спинного мозга.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия (ФДТ), фотодитазин, пролежни, травматическая болезнь спинного мозга, стволовые клетки.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее частых и тяжелых осложнений, развивающихся при повреждении спинного мозга, являются пролежни мягких тканей [2].

Пролежень — это участок ишемии и некроза тканей, возникающий в области постоянного давления на ткани (обычно над костными выступами) [6]. По данным отечественных и зарубежных авторов, частота возникновения пролежней у больных травматической болезнью спинного мозга составляет от 40 до 90 %, при этом риск возникновения генерализованных форм хирургической инфекции увеличивается в 4 – 5 раз, которые в 20 % случаев заканчиваются летальным исходом [1; 3]. Пролежни затрудняют проведение ранних

реабилитационных мероприятий, часто из-за них откладываются оперативные вмешательства на спинном мозге и позвоночнике.

Выбор наиболее оптимальной тактики лечения зависит от общего состояния больного, локализации и оценки состояния пролежня.

Основными показаниями к оперативному лечению являются пролежни IV степени, длительно не заживающие или частично рецидивирующие пролежни II и III степени, наличие остеомиелита подлежащей кости, хронических свищей с полостями в мягких тканях [2].

Консервативное лечение включает рациональную антибактериальную, дезинтоксикационную терапию, мероприя-

тия по нормализации водно-электролитного и белкового баланса организма больного. Целью наружного лечения является санация пролежня от нежизнеспособных тканей, предотвращение вторичного инфицирования раны и формирование хорошо васкуляризованных грануляций по всей поверхности пролежня, включая подлежащие кости [4; 5].

В последнее время изучаются и внедряются в клиническую практику методы локальной цитотрансфузии стволовых клеток в перифокальную область пролежней для увеличения регенераторного потенциала раневого процесса.

Благодаря изучению механизмов развития нейродистрофического процесса в тканях и органах с повреждением ЦНС стало возможным привлечение новых методов локального воздействия на раневую процесс у этой категории больных, одним из которых является ФДТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 5 пациентов обоих полов в возрасте от 25 до 45 лет с травматической болезнью спинного мозга в позднем периоде. У всех пациентов отмечались трофические нарушения в виде пролежней, локализованных в области крестца, больших вертелов бедренных костей и затылка. Степень поражения мягких тканей соответствовала 3 и 4 стадиям (по классификации Agency for Health Care Policy and Research, 1992). У всех пациентов из отделяемого пролежней выявлен рост патогенной флоры, полирезистентной к большинству традиционных антибиотиков.

Фотодинамическая терапия пролежней проводилась после достижения регенераторно-воспалительной стадии течения процесса. В качестве фотосенсибилизатора использовали гель-пенетратор фотодитазин, который наносили тонким слоем на всю поверхность пролежня после предварительной его обработки водным раствором антисептика. Экспозиция — 2 ч. По окончании лекарственно-временного интервала проводили облучение пораженной области лазером (длина волны 662 нм, доза светового облучения 100 Дж/см²). Затем проводили тщательный туалет раневой поверхности водным раствором антисептика и продолжали наружное лечение пролежня по общепринятым стандартам. Количество сеансов ФДТ — 4, интервал между процедурами — 1 день.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех пациентов после завершения ФДТ с фотодитазинном при контрольных посевах раневого отделяемого отмечалось прекращение роста патогенной микрофлоры.

На 7-е – 10-е сут у большинства пациентов отмечалось появление активных грануляций в ране, к 10-м – 14-м сут являлась краевая эпителизация пролежня. 1 пациенту после

завершения курса ФДТ проведено оперативное вмешательство: пластика пролежня перемещенным кожным лоскутом. Заживление послеоперационной раны первичное. 2 пациентам после завершения курса ФДТ проведена локальная цитотрансфузия мобилизованных аутологичных гематопозитических стволовых клеток в перифокальную область пролежня.

Общее время лечения пациентов с начала проведения ФДТ до полной эпителизации раневой поверхности составило от 5 до 9 нед.

Осложнений, связанных с проведением ФДТ, не отмечалось ни у одного из пациентов.

ВЫВОДЫ

ФДТ с фотодитазинном является безопасным и эффективным способом лечения пролежней у пациентов с травматической болезнью спинного мозга, позволяя сократить сроки лечения за счет санации раневой поверхности от патогенной флоры и повышения регенераторного потенциала пораженных тканей. ФДТ с фотодитазинном может использоваться для подготовки пациентов к хирургическому лечению пролежней или проведению тканевой инженерии области повреждения.

Необходимо дальнейшее совершенствование доз и режимов облучения при проведении ФДТ данной категории больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексеева Г.В., Радаев С.М., Лосев В.В.* Результаты реабилитации больного с тяжелой патологией мозга и выраженными гнойно-воспалительными нарушениями // Клиническая анестезиология и реаниматология. – 4(3). – С. 26–33.
2. *Басков А.В.* Хирургическое лечение пролежней у больных со спинномозговой травмой // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 2000. – С. 7–10.
3. *Белова А.Н.* Нейрореабилитация: Руководство для врачей. – М.: Практика, 2000. – 140 с.
4. *Гаркави А.В.* Комплексное лечение пролежней у спинальных больных: Дис. ...канд. мед. наук. – М., 1991
5. *Мусалатов Х.А., Елизаров М.Н., Насриддинов М.А.* Лечение пролежней области крестца у больных с повреждением позвоночника и спинного мозга // Медицинская помощь. – 2002. – 3. – С. 17–21.
6. *Раны и раневая инфекция под ред. М.И. Кузина и Б.М. Костюченко.* – М.: Медицина, 1990. – 591 с.

Поступила 01.07.2008.

УДК 616.314.18-002.4:615.831

A.P. Bobrov, A.A. Badmayeva, A.V. Kuznetsov

PHOTODITAZIN IN THE TREATMENT OF PROSTHETIC GINGIVITIS AND PERIODONTITIS

I.P. Pavlov State Medical University of St-Petersburg

ABSTRACT

In dentistry photodynamic therapy is also known as antimicrobial photodynamic therapy.

The method involves the use of a photosensitizer activating by exposure to monochromatic therapeutic diode laser in the presence of oxygen: this results in the formation of toxic oxygen species which destroy pathologic bacterial cells.

The aim of the study was to evaluate efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in treatment of prosthetic gingivitis and periodontitis.

20 patients with prosthetic gingivitis and periodontitis with various rate of severity were enrolled in the study. All of patients were treated with Photoditazin, subgingival scaling and root planing was carried out before photodynamic therapy.

Most of the patients felt better after the first session.

The efficacy of method was evaluated according to reduction of inflammatory process.

Key words: antimicrobial photodynamic therapy, photosensitizer, Photoditazin, prosthetic gingivitis, prosthetic periodontitis, denture.

A.П. Бобров, А.Н. Бадмаева, А.В. Кузнецов

ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОДИТАЗИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА, ВЫЗВАННЫХ ЗУБНЫМИ ПРОТЕЗАМИ

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова

РЕЗЮМЕ

В стоматологии под термином фотодинамическая терапия (ФДТ) принято понимать антибактериальную фотодинамическую терапию (АФТ).

Суть метода состоит в уничтожении клеток патогенной микрофлоры под воздействием активных форм кислорода, образующихся после окрашивания их клеточных мембран специально разработанным фотосенсибилизатором (ФС) с последующим освещением монохроматическим терапевтическим диодным лазером.

В данной работе была предпринята попытка определить эффективность АФТ с применением в качестве ФС препарата фотодитазин при лечении воспалительных заболеваний пародонта, вызванных зубными протезами.

Были обследованы 20 пациентов с диагнозом гингивита и пародонтита различной степени тяжести. Всем им была проведена АФТ с применением 1%-ного геля фотодитазина с предшествующим проведением профессиональной гигиены.

После первой же процедуры большинство пациентов отмечали улучшение самочувствия. Клинически выявлена эффективность проводимого лечения с уменьшением воспалительного процесса.

Ключевые слова: антибактериальная фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, фотодитазин, воспалительные заболевания пародонта, зубные протезы.

ВВЕДЕНИЕ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) разрабатывалась как метод лечения злокачественных новообразований. Метод основан на 2 компонентах:

Фотосенсибилизатор (ФС) — это фармакологический препарат, способный избирательно накапливаться в тканях. Все ФС отличаются друг от друга физико-химическим составом, фармакодинамикой и фармакокинетикой.

Лазерное излучение — это индуцированное излучение, генерируемое в результате перехода атомов с нестабильного верхнего энергетического уровня на стабильный нижний.

Именно под действием света определенной длины волны ФС способен превращать обычный кислород, находящийся в тканях, в активные формы кислорода, которые разрушают патологические клетки. Это происходит в результате того, что молекула ФС, поглотив квант света, переходит в возбуж-

денное триплетное состояние и вступает в 2 фотохимические реакции [1].

В стоматологии под термином ФДТ принято понимать антибактериальную фотодинамическую терапию (АФТ), так как целью ее применения является борьба с патогенной бактериальной инфекцией в полости рта.

Бактерии, их субстанции и продукты жизнедеятельности рассматриваются в патогенезе пародонтита как его главная причина. Наличие бактериальной инфекции всегда обуславливает применение группы антибиотиков в сочетании с инструментальными методами обработки при лечении тканей пародонта. Однако этот метод связан с определенными недостатками, например, такими, как резистентность патогенной микрофлоры к определенным группам антибиотиков и соответственно с различными побочными действиями на организм самих антибиотиков [3].

АФТ — сравнительно новый терапевтический метод выбора лечения таких заболеваний, как пародонтит, периимплантит, стоматит, гингивит, хейлит. С помощью АФТ также возможно купирование воспалительных явлений при ортопедическом лечении зубов, фотоактивируемая дезинфекция корневых каналов при эндодонтическом лечении.

Суть метода состоит в уничтожении клеток патогенной микрофлоры после окрашивания их клеточных мембран специально разработанным ФС с последующим освещением монохроматическим терапевтическим диодным лазером.

По данным различных авторов наблюдается снижение числа патогенных бактерий более, чем на 92 %, без применения антибиотиков и возникновения побочных явлений [2].

Патогенные бактерии, участвующие в развитии пародонтита:

- Actinobacillus actinomycetemcomitans;
- Bacteroides forsythus;
- Porphyromonas gingivalis;
- Prevotella intermedia;
- Prevotella gingivalis;
- Treponema denticola.
-

Механизм действия АФТ оказывает выраженный эффект в отношении патогенной бактериальной флоры полости рта и не затрагивает нормальной микрофлоры. Вследствие этого происходит восстановление физиологического равновесия между аэробной и анаэробной микрофлорой полости рта в соотношении 75 % : 25 % [2].

Применение АФТ носит практический характер при ортопедическом лечении зубов. Не секрет, что пациенты нередко предъявляют жалобы на воспалительные явления в области ортопедических конструкций, чаще всего мы наблюдаем воспалительные процессы в области зубодесневого кармана, где край искусственной коронки соприкасается со слизистой оболочкой. В чем причина данного воспаления, однозначно ответить нельзя. Множество факторов, такие, как плохая гигиена, некачественно выполненный протез, функциональная перегрузка, токсико-аллергические явления способствуют этому.

Целью нашей работы является определение эффективности АФТ с применением в качестве ФС препарата фотодитазин (1%-ный гель) при лечении воспалительных заболеваний пародонта, вызванных зубными протезами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На данный момент нами обследованы около 20 пациентов с диагнозом гингивита и пародонтита различной степени тяжести. Всем им была проведена АФТ с применением 1%-ного геля фотодитазина с предшествующим проведением профессиональной гигиены.

Фотодитазин — ФС нового поколения, у которого наблюдаются несколько полос поглощения с максимумами на длинах волн 400 нм, 504 нм, 534 нм, 608 нм, 662 нм. Максимум при 662 нм имеет большее значение, так как расположен в той части спектра, которому соответствует большая проникающая способность излучения в ткани человека. В данной работе использовался аппарат АЛОД-01 «Гранат» — диодный терапевтический лазер с длиной волны 662 нм [1].

Клиническая последовательность метода:

- гель фотодитазина вводился в зубодесневой карман по всему периметру, на всю глубину кармана, время экспозиции составляло 8 – 10 мин;
- затем препарат смывался водой;
- проводилась обработка зубодесневого кармана лазерным излучением в непрерывном режиме при помощи точечного световода (аппарат АЛОД-01 «Гранат») мощностью 0,2 Вт, длительность 1 – 2 мин (сообщаемая энергия — 12 – 24 Дж).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После первой же процедуры большинство пациентов отмечали улучшение самочувствия. Клинически выявлялось уменьшение воспалительного процесса, слизистая оболочка приобретала бледно-розовый цвет. У каждого пациента до начала лечения и через 1 – 2 дня после АФТ забирался материал на ПЦР. При гингивите и пародонтите средней и тяжелой степени тяжести процедуру АФТ повторяли до 3 раз.

Клинический случай: мужчина 32 лет, металлокерамические конструкции на 13; 12; 11; 21; 22; 23 зубах, двусторонний концевой дефект компенсирован частичным съемным дуговым протезом на замковых креплениях. Наблюдаются явления локализованного пародонтита средней степени тяжести в области 13; 12; 11 зубов.



Рис. 1. До АФТ



Рис. 2. После АФТ

Жалобы на дискомфорт в области щек 13; 12; 11 зубов, кровоточивость при чистке. Объективно: десна отечна, гиперемизирована, при зондировании кровоточит, карманы глубиной 3 мм (рис. 1). В качестве лечения была проведена профессиональная гигиена с последующим применением АФТ однократно (2 мин на 1 зуб, 0,2 Вт, непрерывный режим излучения).

После однократного проведения АФТ дискомфорт и кровоточивость прекратились (со слов пациента). Объективно: слизистая десны бледно-розового цвета, отсутствие кровоточивости при зондировании (рис. 2).

ВЫВОДЫ

Выявлена эффективность проводимого лечения у пациентов, пользующихся несъемными конструкциями зубных протезов и имеющих воспалительную реакцию пародонта.

Определена зависимость более успешного результата лечения АФТ у пациентов с цельнолитыми металлокерамическими конструкциями, чем у пациентов со штампованными коронками, и пациентов, которым установлены металлопласт-массовые и пластмассовые конструкции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михайлова И.А., Папаян Г.В., Золотова Н.Б. Основные принципы применения лазерных систем в медицине. / Под ред. Петрищева Н.Н. – СПб, 2007 – С. 44
2. Снектр С. Применение метода антибактериальной фотодинамической терапии при лечении различных форм хронического пародонтита с использованием терапевтической лазерной системы «Helbo Photodynamic Systems» (Австрия) // DentalMarket. – 2005. – № 5.
3. Wainwright M., Phoenix D.A., Marland J. et al. Фотодинамическая терапия в лечении заболеваний пародонта.

Поступила 01.07.2008.

УДК 618.1-085.831

O.B. Otdelnova, A.Z. Khashukoeva, M.I. Ibragimova

PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTODYTAZIN IN TREATMENT OF GYNECOLOGIC DISEASES

Russian State Medical University, Moscow

ABSTRACT

The efficacy of gynecologic diseases treatment with photodynamic therapy was estimated in this work. Photodynamic therapy is based on a technique when tissue is irradiated with light after the use of a photosensitizing drug resulting in the production of singlet oxygen, known as a cytotoxic agent. 60 women with hyperplasia of endometrial, 72 women with pathology of cervix of the uterus and 6 women of some vulvar epithelial diseases were enrolled in the study. We have used photoditazin as a photosensitizer. Red light with the 662 nanometers wavelength was applied for 15 – 40 minutes, with calculated energy intake 80 – 300 J/cm² after 1,5 – 2 hours perfusion with photosensitizer. The results of the study show that PDT has a high cure activity, minimum number of complications and side effects and can be considered to be a method of choice.

Key words: photodynamic therapy, hyperplasia of endometrial, vulvar epithelial disease, pathology of cervix of the uterus.

O.B. Отдельнова, А.З. Хашукоева, М.И. Ибрагимова

ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН В ЛЕЧЕНИИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Российский государственный медицинский университет, Москва

РЕЗЮМЕ

В работе была проведена оценка эффективности лечения гинекологических заболеваний с использованием фотодинамической терапии (ФДТ). ФДТ — это метод, основанный на воздействии на патологическую ткань светом после предварительного введения в организм фотосенсибилизатора, продуцирующего синглетный кислород, оказывающий цитотоксический эффект. В исследование было включено 60 женщин с гиперплазией эндометрия, 72 пациентки с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки и 6 пациенток с дистрофическими заболеваниями вульвы. В качестве фотосенсибилизатора был использован препарат фотодитазин. Лазерное воздействие с длиной волны 662 нм осуществляли через 1,5 – 2 ч после введения фотосенсибилизатора в организм. Длительность светового воздействия варьировала от 15 до 40 мин в зависимости от характера патологического процесса, доза составила от 80 до 300 Дж/см². Результаты исследования показали его высокую лечебную активность, минимальное количество осложнений и побочных эффектов.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, гиперплазия эндометрия, дистрофические заболевания вульвы, доброкачественные заболевания шейки матки.

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых высокотехнологичных методов лечения в гинекологии обусловлен неудовлетворительными результатами лечения существующими методами; увеличением в структуре заболеваемости удельной доли пациенток с тяжелой экстрагенитальной патологией, ограничивающей использование того или иного метода лечения, применение анестезиологического пособия или длительного приема лекарственных препаратов определенных групп; созданием новых минимально инвазивных органосохраняющих мето-

дов лечения, а кроме того, возможностям их амбулаторного использования.

Одним из таких перспективных и высокотехнологичных методов является фотодинамическая терапия (ФДТ), основанная на селективной деструкции пролиферирующих клеток в результате фотохимического воздействия при взаимодействии накапливающегося в них фотосенсибилизатора (ФС) и активирующего его света определенной длины волны [9; 14].

На протяжении более, чем 40-летней истории существо-

вания метода ФДТ, его развитие шло как по пути поиска «идеального» фотосенсибилизатора (с высокой афинностью и селективностью накопления в патологической ткани, стремительной фармакодинамикой и низкой кожной фототоксичностью), так и по пути создания мощных источников света и совершенствованию световолоконной оптики для доставки излучения к патологическим тканям [4].

Суммируя итоги многолетнего использования ФДТ в медицине, можно констатировать, что вначале ФДТ либо была предназначена для лечения ранних форм злокачественных новообразований, либо служила компонентом комбинированной паллиативной терапии рака различных локализаций [8; 11]. Однако в настоящее время ФДТ признана не только стандартным методом терапии злокачественных опухолей. Значительно расширился спектр заболеваний неопухоловой природы, для лечения которых также с успехом применяется ФДТ [6; 10].

Применение ФДТ в гинекологии началось с использования ее для лечения злокачественных поражений шейки матки и вульвы [1; 5; 7; 12].

Однако оценка роли и места ФДТ, а также ее эффективность при лечении таких нозологических форм, как фоновые и предраковые заболевания шейки матки и эндометрия, склеротический лишай и плоскоклеточная гиперплазия вульвы изучены недостаточно.

Анализ современного состояния проблемы позволяет признать, что применение ФДТ в гинекологии является одним из перспективных направлений. Это обуславливает необходимость дальнейших клинических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эффективность фотодинамической терапии изучалась при таких нозологических формах гинекологических заболеваний, как неопухоловые заболевания шейки матки, гиперплазия эндометрия и дистрофические процессы слизистой вульвы.

1-ю группу больных составили 72 женщины с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки в возрасте от 19 до 67 лет (средний возраст $43,2 \pm 0,3$ года). По нозологическим формам все больные распределились следующим образом: у 37 (51,38 %) пациенток диагностирована эктопия шейки матки, у 14 (19,4 %) — лейкоплакия, у 7 (9,72 %) — эндометриоз, у 9 (12,5 %) — дисплазия шейки матки (CIS I–II) и у 5 (6,9 %) пациенток эктропион на фоне незначительной рубцовой деформацией шейки матки. Группу сравнения составили 30 женщин в возрасте от 28 до 67 лет (средний возраст $45,2 \pm 0,2$ года), из них 13 (43,3 %) пациенток с эктопией, причем у 6 она сочеталась с гипертрофией шейки матки; 6 (20 %) пациенток с лейкоплакией, у 5 она сочеталась с гипертрофией шейки матки, у 11 (36,6 %) больных зарегистрирован эктропион на фоне рубцовой деформации шейки матки. Исходя из требований доказательной медицины и для получения истинного представления о характере патологического процесса в шейке матки, нами было проведено комплексное клиническое обследование, включающее микробиологические, кольпоскопические, цитологические и гистологические методы.

В качестве предоперационной подготовки всем женщинам с обнаруженной инфекцией половых путей проводилась этиотропная и иммуномодулирующая терапия с последую-

щим назначением эубиотиков для нормализации микробиоценоза влагалища.

Лазерное воздействие на шейку матки осуществлялось в 1-ю фазу менструального цикла через 2 ч после местной аппликации на экзоцервикс ФС фотодитазин («Вета-Гранд», Россия) в виде 0,5%-ного геля или внутривенного введения ФС фотодитазин в дозе 0,5 мг/кг веса. Облучение шейки матки осуществлялось с помощью диодного лазерного аппарата «Аткус-2» («Полупроводниковые приборы», Россия). Длина волны излучения — 662 нм, плотность энергии 80 – 250 Дж/см², время воздействия — от 8 до 20 мин.

В качестве метода сравнения у пациенток с заболеваниями шейки матки применялось рутинное диатермохирургическое (ДХ) лечение (диатермокоагуляция и диатермоконизация) с помощью аппарата «ЭС 500 М» (Россия) с использованием шарикового и петлевого электродов, под кратковременной внутривенной анестезией.

2-ю группу больных составили 92 пациентки с морфологически верифицированным диагнозом гиперпластического процесса эндометрия (ГПЭ), из них фотодинамическая деструкция эндометрия была выполнена 60 больным, находящимся в пери- и постменопаузальном периоде, в возрасте 41 – 68 лет (средний возраст $50,8 \pm 1,5$ года). По характеру выявленной патологии эндометрия в группе ФДТ больные распределились следующим образом: 2 пациентки с атипичической гиперплазией эндометрия, 10 — с железистой и 24 — с железисто-кистозной гиперплазией эндометрия, у 24 выявлены полипы эндометрия. Все пациентки этой группы имели сопутствующую экстрагенитальную патологию различной степени выраженности, послужившую основанием для выбора в качестве метода лечения ФДТ, причем в 85 % случаев отмечалось сочетание различных нозологических форм. Так, более чем у половины больных (56,5 %) преобладало нарушение жирового обмена, гипертоническая болезнь у 55 %, варикозная болезнь вен нижних конечностей у 51,6 %, ишемическая болезнь сердца у 10 %, хронический бронхит, желчекаменная болезнь, хронический панкреатит встречались у 8,3 % пациенток, хронический тонзиллит и нейроциркуляторная астенция — у 7 % больных; жировой гепатоз, мочекаменная болезнь — у 5 %, хронический гастрит, узловой зоб, сахарный диабет 2-го типа и хронический пиелонефрит — у 3,3 %.

В контрольную группу были включены 32 женщины в возрасте 46 – 53 лет (средний возраст $52 \pm 1,4$ года), получившие гормональную терапию. У пациенток этой группы не было выявлено тяжелой сопутствующей патологии. Так, наиболее часто у них встречались нарушение жирового обмена — у 5 (15,6 %) женщин и нейроциркуляторная астенция у 4 (21,5 %).

Предоперационное обследование пациенток с ГПЭ было стандартным и включало ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопию с тотальным кюретажем эндометрия и последующим гистологическим исследованием полученного материала, а также обследование шейки матки.

С целью выбора наиболее оптимальных временных параметров начала облучения, соответствующего максимуму накопления ФС в эндометрии *in vivo* использован метод локальной флюоресцентной спектроскопии с помощью спектрально-флюоресцентной диагностической установки «Спектр-

Кластер» («Кластер», ИОФРАН, Россия). Для флуоресцентного детектирования эндометрия применяли лазерное излучение с длиной волны 632,8 нм, что позволило селективно возбуждать флуоресценцию ФС без генерации флуоресценции эндогенных флуорохромов тканей. Измерения проводились до введения ФС (оценка эндогенной аутофлуоресценции) и через 30; 60; 90; 120 и 160 мин после внутривенного введения ФС (экзогенная возбужденная флуоресценция тканей).

В ходе спектрально-флуоресцентных исследований было определено, что если до введения ФС эндогенная флуоресценция эндометрия ничтожно мала, то после введения ФС во всех точках измерения экзогенная флуоресценция эндометрия достоверно выше, а регистрируемый спектр фактически представлял собой спектр флуоресценции введенного препарата фотодитазин в диапазоне 650 – 750 нм. Мощность лазерного излучения на торце волоконно-оптического катетера (световода) составляла 5 мВт, время экспозиции — 60 мс. Максимальные значения флуоресценции, а следовательно, и накопления фотодитазина регистрировались в эндометрии через 1,5 – 2 ч после внутривенного введения. Именно эти исследования и явились определяющими в оптимизации времени начала лазерного облучения полости матки.

Согласно методике сеанс облучения слизистой матки осуществлялся на аппарате «Аткус-2» (длина волны 662 нм, мощность на выходе 1,85 – 2,0 Вт) через 1,5 – 2 ч после внутриматочного и/или внутривенного введения ФС фотодитазин в дозе 1 – 1,5 мг/кг без анестезиологического пособия. Нами использован световод с оригинальным оптическим внутриматочным баллонным диффузором («Полироник», Россия). Расширения цервикального канала не требовалось, что было обусловлено небольшим диаметром (3 мм) баллонного световода, проводимого через цервикальный канал. После введения в полость матки баллон заполняли стерильным раствором дистиллированной воды в количестве 3,5 мл для принятия им треугольной формы, соответствующей анатомической форме полости матки и с целью равномерного распределения лазерного излучения. Световое воздействие проводили в непрерывном или фракционном режиме, длительность облучения составила 15 – 40 мин при плотности энергии 150 – 300 Дж/см².

17 пациенткам контрольной группы применялись агонисты гонадотропин-релизинг гормона, гестагены использованы у 13 больных, антиэстрогены получали 2 пациентки. Длительность гормонотерапии составляла 3 – 6 мес.

3-ю группу больных составили пациентки с дистрофическими заболеваниями вульвы. Эффективность ФДТ была изучена при лечении 6 пациенток с доброкачественными заболеваниями вульвы, из них у 4 больных со склеротическим лишаем вульвы и у 2 — с плоскоклеточной гиперплазией вульвы. Для уточнения характера выявленной патологии производилось онкоцитологическое исследование соскоба с вульвы, вульвоскопия, ПЦР-диагностика для выявления вируса папилломы человека различных типов, а на заключительном этапе диагностики была проведена биопсия патологических участков.

ФДТ была проведена с использованием ФС фотодитазин в комбинации внутривенного введения в дозе 1 мг/кг и местной аппликации на патологический очаг вульвы 1 мл 0,5%-ного геля-пенетратора фотодитазин. Время экспозиции лазерного

облучения полупроводниковым лазером «Аткус-2» под местной анестезией 2%-ного раствора лидокаина составило 10 – 30 мин при плотности световой дозы 100 – 200 Дж/см².

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой группе больных при наблюдении за репаративными процессами шейки матки после ФДТ было отмечено формирование тонкого струпа в зоне облучения через 24 ч после процедуры. Начало краевой эпителизации наблюдалось на 5-е – 8-е сут при отсутствии лейкоцитарной инфильтрации (рис. 1 и 2). Полная эпителизация выявлена при этом через 4 – 8 нед (31,5 ± 0,7 день) (рис. 3), тогда как в группе ДХ лечения средний срок завершения эпителизации составил



Рис. 1. Эктопия шейки матки до лечения



Рис. 2. Отхождение струпа на 5-й день после ФДТ и начало краевой эпителизации



Рис. 3. Полная эпителизация шейки матки через 5 нед после ФДТ

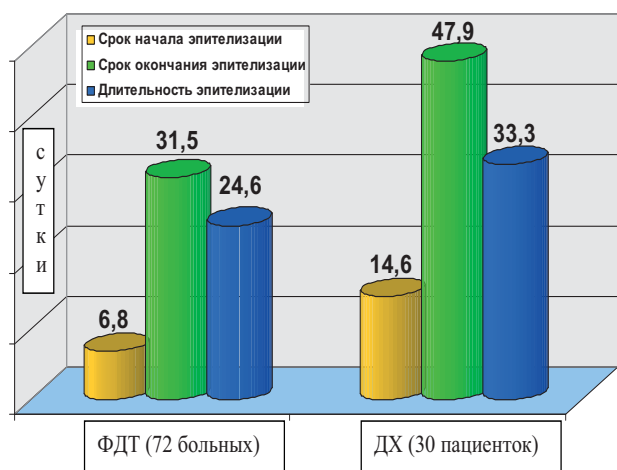


Рис. 4. Динамика течения процессов эпителизации шейки матки при различных вариантах лечения

47,9 ± 0,9 дней ($p < 0,001$) (рис. 4). Побочные эффекты при применении ФДТ наблюдались у 8 (11,1 %) больных и заключались лишь в неполной эпителизации шейки матки. И, напротив, у больных, подвергшихся ДХ воздействию, отмечалась достоверно более высокая частота и разнообразие послеоперационных осложнений. Так, 76,6 % пациенток беспокоили боли в нижних отделах живота, у 6,7 % отмечены кровотечения в послеоперационном периоде, у 6,7 % — обострение хронического сальпингоофорита, у 30 % — кольпит, у 20 % — неполная эпителизация шейки матки. Изучение отдаленных результатов после ДХ лечения (через 6 – 9 мес) выявило, что болевой синдром беспокоил 13,3 % пациенток, рубцовая деформация и «синдром коагулированной шейки» выявлен у 43,3 %, «наботовы» кисты у 33,3 % и эндометриоидные гетеротопии у 13,3 % больных. Эти данные сопоставимы с литературными, в которых осложнения после ДХ-метода лечения отмечены в 6,2 – 40 % случаев [2].

ФДТ при лечении фоновых и предраковых заболеваний шейки матки считалась эффективной при наступлении полной клинической ремиссии. По данным кольпоскопии и цитологического исследования частота полной клинической ремиссии после ФДТ у больных 1-й группы составила по нашим наблюдениям 88,9 %.

У больных 2-й группы с ГПЭ эффективность ФДТ проводилась на основании данных ультразвукового исследования срединных маточных структур на 7-е, 30-е сут после процедуры, а также спустя 3; 6 и 12 мес после операции. Анализ полученных данных показал, что у всех пациенток на 7-й день после сеанса ФДТ отмечалось незначительное расширение полости матки (М-эхо варьировало от 4 до 7 мм), что связано со скоплением там незначительного количества жидкости. Однако на 30-е сут во всех наблюдениях отмечено линейное М-эхо. Через 6 мес в 88,7 % случаев оно составило от 2 до 4 мм. У 2 пациенток имел место рецидив ГПЭ в сроки от 2 до 6 мес, что потребовало процедуры ФДТ.

У 20 пациенток прослежены отдаленные результаты лечения в сроки до 12 мес. У всех наблюдалась стойкая аменорея на фоне линейного М-эхо по данным ультразвукового

исследования срединных маточных структур. Однако у 1 пациентки сохранилась менструальная функция при отсутствии патологии эндометрия по данным морфологического исследования соскоба из полости матки.

Диагностическая гистероскопия выполнялась через 12 мес после процедуры у всех пациенток с атипической гиперплазией эндометрия и у 18 с ГПЭ, получавших лечение методом ФДТ. Гистероскопическая картина была представлена атрофией эндометрия на фоне отсутствия облитерации полости матки.

Побочные эффекты были отмечены в 15 наблюдениях и заключались в слабо и умеренно выраженном болевом синдроме во время и непосредственно после сеанса ФДТ, что быстро купировалось назначением ненаркотических анальгетиков в течение 12 ч после операции. В 3 случаях имело место повышение температуры до субфебрильных цифр на 2-е сут после операции, что потребовало назначения профилактической антибактериальной терапии. В 1 случае на 10-й день после ФДТ у пациентки с варикозной болезнью был диагностирован тромбоз в бассейне большой подкожной вены бедра. Больная была прооперирована в плановом порядке.

Оценка эффективности гормональной терапии проводилась через 6 мес и основывалась на данных аспирационной биопсии эндометрия. Клиническая ремиссия отмечена в 84,4 %. При этом у 5 больных (15 %) с сочетанной и соматической патологией возник рецидив ГПЭ в сроки от 6 до 24 мес после окончания лечения. Среди побочных эффектов преобладали прибавка массы тела и мастодиния, при этом максимальное количество побочных реакций отмечалось в группе пациенток, получающих агонисты гонадотропин-релизинг гормона.

У больных 3-й группы лечебный эффект оценивался визуально и на основании указаний на наличие или отсутствие зуда в области вульвы. Так, исчезновение зуда в области вульвы отмечено у 3 из 4 больных склеротическим лишаем вульвы. У всех больных плоскоклеточной гиперплазией было проведено цитологическое исследование соскоба с вульвы и вульвоскопия, на основании которых было достоверно диагностировано клиническое излечение. При наблюдении через 3 мес лечебный эффект сохранялся. 1 больной склеротическим лишаем вульвы потребовался повторный сеанс ФДТ ввиду сохраняющихся клинических симптомов заболевания, после чего был достигнут положительный лечебный эффект. Больная прослежена в течение 3 мес после процедуры. Побочные реакции были отмечены во всех случаях и заключались в слабо, умеренно и сильно выраженном болевом синдроме во время ФДТ, что ограничивало подведение адекватной терапевтической дозы световой энергии и потребовало досрочного завершения сеанса облучения у 1 пациентки.

Анализ результатов проведения ФДТ с использованием в качестве ФС фотодитазина при лечении фоновых и предопухолевых заболеваний шейки матки показал, что время наступления и скорость репаративных процессов в слизистой шейки матки в группе женщин, подвергшихся ФДТ, существенно отличалось от аналогичных показателей у пациенток, которым проведено ДХ-лечение. Сроки полной эпителизации экзоцервикса у больных 1-й группы был в 1,5 раза короче, чем в группе сравнения. При этом число осложнений оказалось в 7 раз меньше, чем при использовании



Рис. 5. Плоскоклеточная гиперплазия вульвы до лечения



Рис.6. Плоскоклеточная гиперплазия вульвы через 2 мес после ФДТ

диатермокоагуляции. Таким образом сравнительная характеристика результатов лечения ДХ-методом и ФДТ указывают на ряд преимуществ последней: более короткие сроки эпителизации шейки матки и меньшая частота осложнений в послеоперационном периоде. Кроме этого, ФДТ позволяет селективно воздействовать на патологический очаг за счет избирательного накопления ФС в патологической ткани и локального подведения света. Нельзя не отметить также того факта, что метод фотодеструкции ввиду своей деликатности позволяет сохранить анатомическую и функциональную целостность шейки матки, что трудно переоценить при лечении нерожавших пациенток репродуктивного возраста.

Мониторинг отдаленных результатов в группе пациенток с гиперплазией эндометрия показал, что ФДТ была эффективна в 87 % случаев, а в случаях рецидива было возможно повторное проведение сеанса ФДТ с достижением полной клинической ремиссии. В отличие от пациенток, получавших гормональную терапию в течение 6 мес, у этих больных не отмечено сколько-нибудь серьезных осложнений и побочных эффектов. В то же время в группе сравнения наиболее часто наблюдались такие нежелательные побочные эффекты, как увеличение веса у 29 больных и мастодиния у 13, причем эти проявления носили стойкий характер. В 15 % случаев имел место рецидив заболевания, тогда как у женщин после ФДТ рецидив, купированный повторным сеансом фотодеструкции, отмечен только у 2 пациенток (3 %).

Таким образом, фотодинамическая деструкция эндометрия обладает рядом преимуществ в сравнении с гормональной терапией, в частности, позволяет высокоселективно удалять функциональный и базальный слой слизистой оболочки матки, не приводя впоследствии к облитерации полости матки. Кроме этого, методика проведения процедуры не требует применения анестезиологического пособия, что делает возможным ее использование в амбулаторных условиях,

что особенно важно для пациенток,отягощенных различной экстрагенитальной патологией, являющейся противопоказанием к гормональному или хирургическому лечению.

Не менее удовлетворительные результаты получены при использовании ФДТ при лечении дистрофических изменений вульвы. Полная клиническая ремиссия отмечена у 5 из 6 больных (рис. 5 и 6). 1 пациентке со склеротическим лишаем вульвы потребовался повторный сеанс ФДТ, после чего было диагностировано клиническое излечение. Во всех случаях был зафиксирован хороший косметический эффект, что является особенно актуальным у молодых пациенток репродуктивного возраста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты клинической апробации метода фотодинамической терапии с использованием ФС Фотодитазин при лечении женщин с патологией шейки матки, эндометрия и вульвы неопухолевого генеза показали его высокую лечебную активность, минимальное количество осложнений и побочных эффектов. Метод отличается избирательностью, а также деликатным характером воздействия на патологические ткани. Кроме того, простота выполнения процедуры ФДТ, а также отсутствие необходимости в анестезиологическом пособии делает возможным использование его в амбулаторных условиях, что обуславливает необходимость внедрения его в широкую клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дадвани С.А., Зуев В.М., Харнас С.С. и др. Фотодинамическая терапия в гинекологии // Лазерная медицина. – 2000. – 4(4). – С. 72–79.
2. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы: Клинические лекции / Под ред. Проф. В.Н. Прилепской. – М.: МЕДпресс, 2000. – 432 с.
3. Зангиева Ф.А. Лазерная флюоресцентная диагности-

- ка и фотодинамическая терапия рака вульвы: Дисс. ... канд. мед. наук. – 2005.
4. *Странадко Е.Ф.* Исторический очерк развития фотодинамической терапии // *Лазерная Медицина.* – 2002. – 6(6). – С. 4–8.
 5. *Чулкова О.В., Новикова Е.Г., Соколов В.В., Чулкова Е.А.* Диагностика и лечение фоновых и предраковых заболеваний вульвы // *Практическая онкология.* – 2006. – 7(4). – С. 197–204.
 6. *Akaza E., Mori R., Yuzawa M.* Long-term results of photodynamic therapy of polypoidal choroidal vasculopathy // *Retina.* – 2008. – 28(5). – P. 717–722.
 7. *Ascencio M., Collinet P., Cosson M. et al.* The place of photodynamic therapy in gynecology // *Gynecol Obstet Fertil.* – 2007. – 35(11). – P. 1155–1165.
 8. *Juarranz A., Jaén P., Sanz-Rodríguez F. et al.* Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications // *Clin Transl Oncol.* – 2008. – 10(3). – P. 148–154.
 9. *McCaughan J.S. Jr.* Photodynamic therapy: a review // *Drugs Aging.* – 1999. – 15(1). – P. 49–68.
 10. *MacCormack M.A.* Photodynamic therapy in dermatology: an update on applications and outcomes // *Semin Cutan Med Surg.* – 2008. – 27(1). – P. 52–62.
 11. *Sibata C.H., Colussi V.C., Oleinick N.L., Kinsella T.J.* Photodynamic therapy in oncology // *Expert Opin Pharmacother.* – 2001. – 2(6). – P. 917–927.
 12. *Yamaguchi S., Tsuda H., Takemori M. et al.* Photodynamic therapy for cervical intraepithelial neoplasia // *Oncology.* – 2005. – 69(2). – P. 110–116.
 13. *Waksman R., Leitch I.M., Roessler J. et al.* Intracoronary photodynamic therapy reduces neointimal growth without suppressing re-endothelialisation in a porcine model // *Heart.* – 2006. – 92(8). – P. 1138–1144.
 14. *Wilson B.C., Patterson M.S.* The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy // *Phys Med Biol.* – 2008. – 53(9). – P. 61–109. 9

Поступила 01.07.2008.

УДК 617.723-006.81:615.831

Yu.A. Belyy¹, A.V. Tereschenko¹, P.L. Volodin¹, M.A. Kaplan²

PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTODYTAZIN IN THE TREATMENT OF THE LARGE CHOROIDAL MELANOMAS (CLINICAL CASE)

¹*Kaluga branch of S.N. Fyodorov «Eye Microsurgery» Federal State Institute*
²*Medical radiological scientific centre of Russian Academy of Medical Sciences, Obninsk*

ABSTRACT

The first clinical experience of multistage transpupillary photodynamic therapy (PDT) with Photodytazin for large choroidal melanoma is presented.

In this study was entered one patient, 59 years old, with choroidal melanoma OD (T_{1b}N₀M₀). Visual acuity at baseline was 0,01, tumor thickness — 7,5 mm, tumor base sizes — 12,8 × 10,8 mm.

PDT technique consisted of 3 sessions with an interval of 3 weeks between the sessions. Intermittent introduction of Photodytazin during each session was the distinctive features of the technique.

Treatment results were estimated by fundus photography, fluorescent angiography, ultrasonic B-scanning and dopplerography. Tumor thickness was reduced up to 1,5 mm delay 9 months after treatment. Ophthalmoscopy showed planar chorioretinal scar with heterogeneous pigmentation. Dopplerography in CDC regimen showed an absence of tumor blood flow, and residual avascular focus in irradiated tumor place.

Our data suggest that multistage PDT with Photodytazin might be the effective technique for the treatment of the large choroidal melanoma. Further investigations with clinical group and long follow-up analysis are necessarily.

Key words: photodynamic therapy, Photodytazin, choroidal melanoma.

Ю.А. Белый¹, А.В. Терещенко¹, П.Л. Володин¹, М.А. Каплан²

ЛЕЧЕНИЕ МЕЛАНОМ СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА БОЛЬШОГО РАЗМЕРА МЕТОДОМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

¹*Калужский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий»*
²*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск*

РЕЗЮМЕ

Представлен 1-й клинический опыт лечения хориоидальной меланомы большого размера методом многоэтапной транспупиллярной фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием фотосенсибилизатора хлоринового ряда — препарата фотодитазин.

Пациент И., 59 лет. Диагноз: меланома хориоидеи (МХ) OD (T_{1b}N₀M₀). Размеры опухоли по данным ультразвукового исследования в режиме серошкальной визуализации: диаметр основания — 12,8 × 10,8 мм, высота — 7,2 мм.

Методика лечения состояла в проведении 3 сеансов ФДТ с интервалом в 3 нед между ними. Отличительными особенностями являлось фракционирование дозы фотосенсибилизатора (ФС) в ходе каждого сеанса.

Результаты лечения оценивали методами цифровой фоторегистрации изображений глазного дна, флуоресцентной ангиографии, ультразвукового В-сканирования и доплерографии в режимах ЦДК и ЭД. В срок наблюдения 6 мес офтальмоскопически на месте новообразования определялся практически плоский с неоднородной пигментацией хориоретинальный очаг с остаточной проминенцией до 1,6 мм. По данным ЦДК наблюдалось отсутствие внутриопухолевого кровотока.

Получен 1-й клинический опыт эффективного применения многоэтапной ФДТ с фотодитазином как самостоятельного метода лечения у пациента с меланомой хориоидеи. Необходимы дальнейшие исследования для объективной оценки эффективности ФДТ хориоидальных меланом на большем клиническом материале и в отдаленные сроки наблюдения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотодитазин, меланома хориоидеи.

В данном материале представлен первый клинический опыт лечения хориоидальной меланомы большого размера методом многоэтапной транспупиллярной фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора хлоринового ряда — препарата фотодитазин.

Пациент И., 59 лет. Поступил в Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза» в октябре 2005 г. с жалобами на снижение зрения, появление темной «завесы» перед правым глазом. В результате комплексного обследования было диагностировано внутриглазное новообразование правого глаза: меланома хориоидеи (МХ) OD ($T_{3b}N_0M_0$). При поступлении острота зрения на OD составляла 0,01.

Офтальмоскопически на глазном дне в центральной области определялся обширный проминирующий в стекловидное тело очаг серо-желтого цвета с резко выраженной неравномерной пигментацией (рис. 1). Размеры опухоли по данным ультразвукового исследования в режиме серошкальной визуализации (В-режим) составили: диаметр основания — 12,8 × 10,8 мм, высота — 7,2 мм.

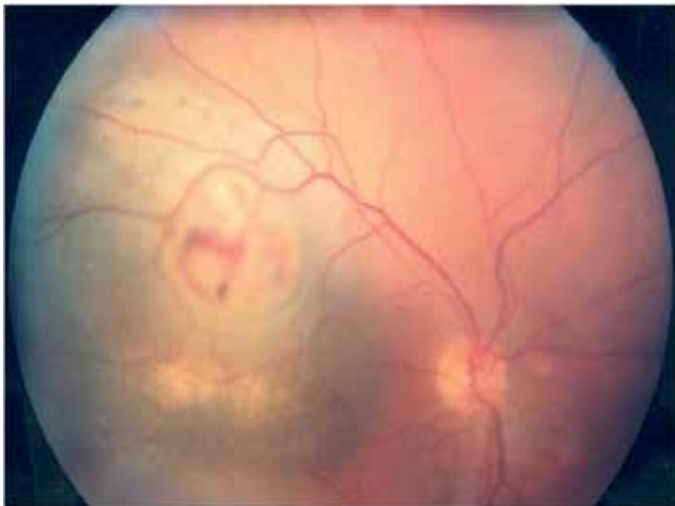


Рис. 1. Глазное дно правого глаза пациента И. с меланомой хориоидеи до ФДТ

На флюоресцентных ангиограммах глазного дна соответственно локализации новообразования наблюдалась характерная неоднородная («пятнистая») флюоресценция, что подтверждало поставленный диагноз (МХ).

По данным ультразвуковой доплерографии сосудистой системы опухоли в режимах энергетического и цветового доплеровского картирования (ЭДК и ЦДК) в проекции новообразования определялась выраженная степень васкуляризации с преимущественно артериальным типом кровотока (4–5 функционирующих сосудов), что свидетельствовало о гипervasкулярном типе строения опухоли (рис. 2).

В связи с категоричным отказом пациента от энуклеации по поводу меланомы хориоидеи большого размера правого глаза ему было предложено органосохранное лечение (фотодинамическая терапия) получено информированное добровольное согласие.

Фотосенсибилизатор. Препарат фотодитазин относится к ФС хлоринового ряда (бис-N-метилглюкаминная соль хлорина Е6) (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия) (регистрационное удостоверение № ЛС – 001246 от 10.02.2006).

Аппаратура. Для проведения транспупиллярной фо-

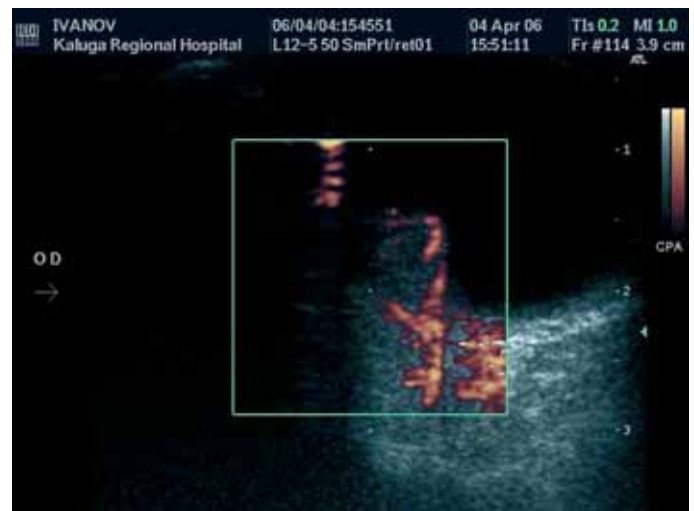


Рис. 2. Энергетическое картирование (ЭДК) сосудов меланомы хориоидеи до ФДТ

тодинамической терапии использовался диодный лазерный аппарат «АЛОД-01» – «Алком» (длина волны – 662 ± 2), оснащенный приставкой для транспупиллярного лазерного облучения (ПФК – «АЛОД-02» – «Алком»), адаптированной на модифицированную щелевую лампу «Takagi SM-2N» (Япония) (регистрационное удостоверение № 29/10020299/0707-00 от 20.06.2000).

Методика многоэтапной ФДТ. Методика включала в себя 3 сеанса ФДТ с интервалом в 3 нед между ними. Отличительными особенностями данной методики также являлось фракционирование дозы ФС (дробное введение препарата) в ходе каждого сеанса.

Фотодитазин вводился внутривенно капельно после предварительного разведения в физиологическом растворе в общей дозе 0,8 мг/кг веса. Рассчитанную дозу препарата вводили дробно: за 2 ч (70 % дозы ФС) и за 15 мин (30 % дозы) до проведения ФДТ. Продолжительность каждой инфузии составляла 15 мин.

Сразу после окончания введения 2-й дозы фотосенсибилизатора проводили транспупиллярную ФДТ. Лазерное облучение (длина волны — 662 ± 2 нм) МХ осуществляли последовательно, полями диаметром 3 мм, концентрично от периферии к центру, с перекрытием соседних полей на 5–10 % площади. При этом сначала проводили облучение периферии опухоли с захватом здоровых тканей не менее 1,5 мм от ангиографической границы опухоли (с расчетной плотностью энергии 50 Дж/см² на 1 поле). Затем проводилось облучение поверхности опухоли с плотностью энергии 100 Дж/см². Общее количество полей облучения — 16.

Результаты лечения оценивали методами цифровой фоторегистрации изображений глазного дна, флюоресцентной ангиографии, ультразвукового В-сканирования и доплерографии в режимах ЦДК и ЭК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После 1-го сеанса ФДТ непосредственно после лазерного воздействия отмечалось незначительное увеличение субретинального отека с выраженным «побелением» (ишемизацией) сетчатки над зоной локализации МХ. Указанные изменения достигали максимума на 2-й – 3-й день после лечения, в дальнейшем наблюдалась постепенная резорбция

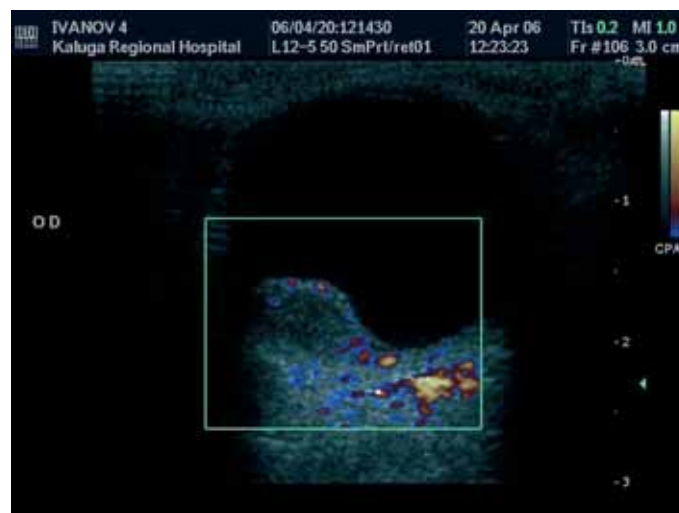
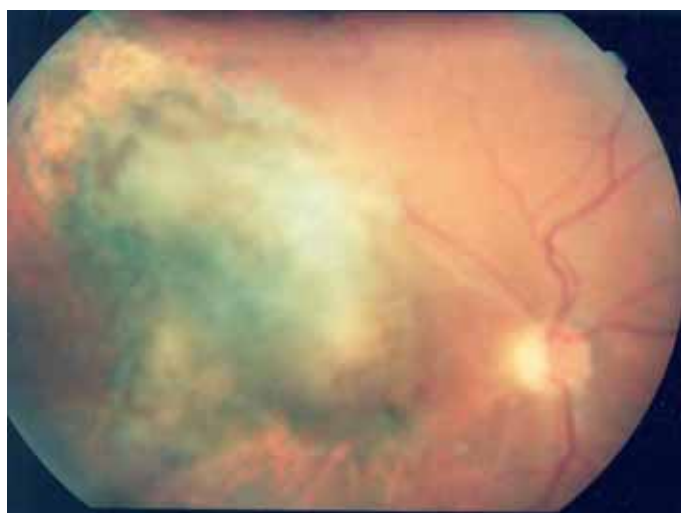


Рис. 3. Глазное дно правого глаза пациента И. с меланомой хориоидеи после 2-го этапа ФДТ

Рис. 4. ЭДК сосудов меланомы хориоидеи после 1-го этапа ФДТ

отека с видимым уменьшением величины выстояния МХ и формированием перифокальной зоны хориоретинальной атрофии с диффузной диспигментацией к 2 нед (рис. 3).

строения остаточной опухоли (рис. 6).

Через 3 нед после 1-го сеанса ФДТ по данным В-сканирования отмечалось уменьшение высоты проминенции опухоли до 4,4 мм. По данным ЭДК в центре новообразования определялась аваскулярная зона с сохранением функционирующих сосудов в краевой части МХ (рис. 4).

Арсенал применяемых в настоящее время методов органосохраняющего лечения МХ достаточно широк — это фото- и лазеркоагуляция, брахитерапия, хирургическое удаление опухоли (блокэксцизия), криодеструкция и др. [2–10]. Выбор конкретного метода в значительной мере зависит от размеров опухоли.

В дальнейшем в сроки наблюдения до 6 мес наблюдалась постепенная регрессия опухоли. Так, после 2-го сеанса ФДТ (1,5 мес) высота проминенции опухоли уменьшилась до 3,2 мм, после 3-го (3 мес) составила 2,2 мм (рис. 5).

Клинический опыт показал, что метод ФДТ может эффективно применяться и при внутриглазных новообразованиях (МХ) большого размера. В таких случаях для получения необходимого лечебного эффекта был применен принцип многоэтапного проведения ФДТ, включающий транспупиллярное лазерное облучение с дробным введением фотосенсибилизатора.

В те же сроки (3 мес) по данным ЦДК остаточное новообразование имело гиповаскулярный тип строения.

Это позволило добиться сначала стабилизации, а затем практически полного регресса внутриглазного новообразования при отсутствии рецидивов и метастазирования в сроки наблюдения до 15 мес.

В отдаленном периоде наблюдения (6 мес) острота зрения сохранилась на прежнем уровне — 0,01. Офтальмоскопически на месте новообразования определялся практически плоский с неоднородной пигментацией хориоретинальный очаг с остаточной проминенцией до 1,6 мм. По данным ЭДК в проекции очага отсутствовал внутриопухольный кровоток, что соответствует аваскулярному типу

Обоснованием избранного комплексного подхода в данном клиническом случае (МХ большого размера) послужило следующее.

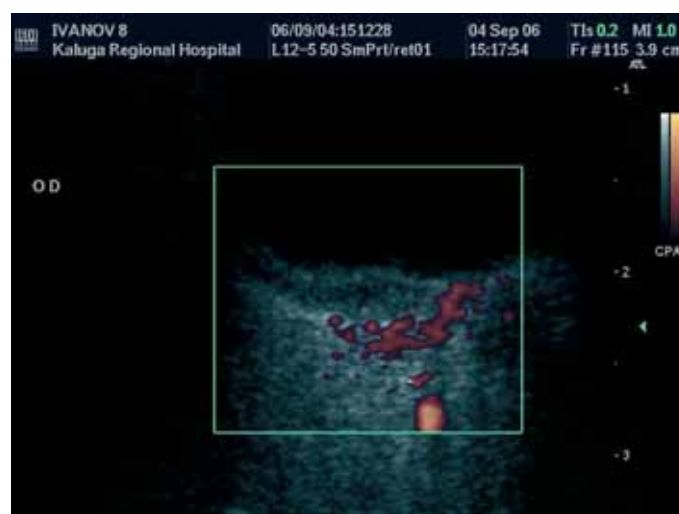
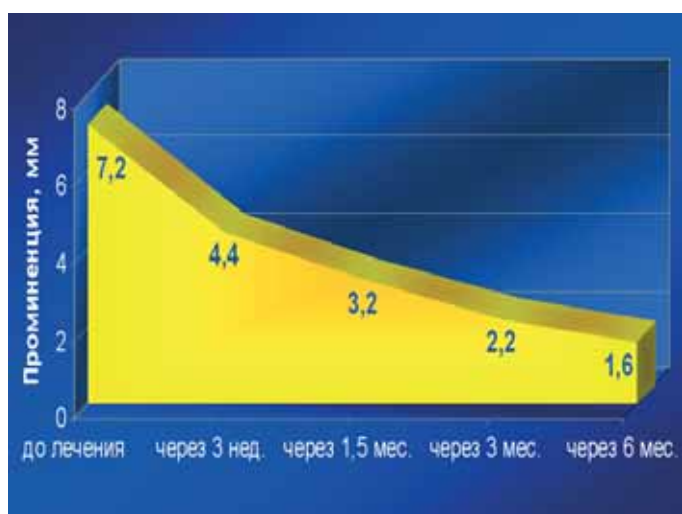


Рис. 5. Изменение размеров меланомы в различные сроки после ФДТ

Рис. 6. ЭДК меланомы хориоидеи через 6 мес после ФДТ

Дробное введение фотосенсибилизатора обеспечивает максимальное накопление препарата как в строме, так и в сосудистой системе опухоли, тем самым повышая эффективность ФДТ [1]. Поэтапное проведение повторных сеансов позволило добиться практически полного регресса хориоидальной меланомы большого размера (уменьшение проминенции опухоли с исходной 7,2 мм до 1,6 мм).

Важным диагностическим критерием в комплексной оценке эффективности лечения МХ после ФДТ явился метод ультразвуковой доплерографии (в режиме ЦДК). Отсутствие внутриопухолевого кровотока (наличие остаточного аваскулярного очага в зоне локализации облученной опухоли) объективно свидетельствует о положительной динамике патологического процесса после ФДТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, получен первый клинический опыт эффективного применения многоэтапной ФДТ с фотосенсибилизатором фотодитазин как самостоятельного метода лечения пациента с меланомой хориоидеи.

Многоэтапная ФДТ может значительно повысить эффективность и расширить возможности органосохранного и функционально сберегающего лечения хориоидальных меланом большого размера.

Необходимы дальнейшие исследования для объективной оценки эффективности ФДТ хориоидальных меланом на большем клиническом материале и в отдаленные сроки наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каплан М.А., Кудрявцева Г.Т., Закурдяева И.Г. и др. // Физическая медицина. – 2005. – 15(1). – С. 39–40.
2. Либман Е.С., Бровкина А.Ф., Безруков А.В. // Офтальмол. журн. – 1989. – 6. – С. 336–338.
3. Линник Л.Ф., Семикова Т.С., Тимофеев Л.В., Яровой А.А. // Офтальмохирургия. – 1998. – 4. – С. 25–32.
4. Линник Л.Ф. Система органосохранного лечения при новообразованиях сосудистого тракта // VII Съезд офтальмологов России: Тезисы докладов. – М., 2000. – Ч. 2. – С. 113–114.
5. Линник Л.Ф., Магарамов Д.А., Яровой А.А. и др. // Офтальмохирургия. – 2003. – № 4. – С. 17–24.
6. Яровой А.А., Линник Л.Ф., Семикова Т.С., Булгакова Е.С. // Новое в офтальмологии. – 2004. – 2. – С. 28–37.
7. Barbazetto I.A., Lee T.C., Rollins I.S. et al. Treatment of choroidal melanoma using photodynamic therapy // Am J Ophthalmol. – 2003. – 135(6). – P. 898–899.
8. Kim R., Hu L., Foster B. et al. Photodynamic therapy of pigmented choroidal melanomas of greater than 3-mm thickness // Ophthalmology. – 1996. – 103(1). – P. 2029–2036.
9. Shields C.L., Shields J.A. Transpupillary thermotherapy for choroidal melanoma // Curr. Opin. Ophthalmol. – 1999. – 10(3). – P. 197–203.
10. Schmidt-Erfurth U., Bauman W., Gragoudas E., et al. PDT of experimental choroidal melanoma using lipoprotein-delivered benzoporphyrin // Ophthalmology. – 1994. – 101(1). – P. 89–99.

Поступила 01.07.2008.

УДК 617.723-006.81:615.831

Yu.A. Belyy¹, A.V. Tereschenko¹, P.L. Volodin¹, M.A. Kaplan²

PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTODYTAZIN IN THE TREATMENT OF THE MIDDLE CHOROIDAL MELANOMAS

*¹Kaluga branch of S.N. Fyodorov «Eye Microsurgery» Federal State Institute**²Medical radiological scientific centre of Russian Academy of Medical Sciences, Obninsk*

ABSTRACT

The first clinical experience of transpupillary photodynamic therapy (PDT) with chlorine photosensitizer (PS) Photodytazin for middle choroidal melanoma is presented.

PS, 0,8 mg/kg, was infused intravenously fractionally: 2 hours (70 % dose during 20 minutes) and 15 minutes (30 % dose during 10 minutes) before PDT. PDT was controlled by fluorescent diagnosis with Photodytazin. Transpupillary laser irradiation was performed delay 2 hours after the first PS infusion. Laser irradiation was carried out by spots 4,5 mm in diameter, concentrically, from periphery to the center of the tumor. Next spots recovered each other by 10 – 15 %. Laser fluence in one spot was 50 J/cm² when the tumor periphery was irradiating, and 100 J/cm² — on the tumor apex. Total number of the spots was 8.

Almost complete tumor regression with residual prominence of fibrous scar in the irradiated tumor site was found delay 6 months after PDT. B-scan showed decrease of the tumor basis and prominence from 8,5 × 6,6 mm to 7,2 × 5,0 and from 3,4 to 1,0 mm, accordingly. Color doppler imaging showed an absence of the tumor blood flow. Final visual acuity was 0,4.

We suggest that transpupillary PDT might be the effective and functional-saving technique for the treatment of patients with the small and middle choroidal melanoma.

Key words: photodynamic therapy, Photodytazin, choroidal melanoma.

Ю.А. Белый¹, А.В. Терещенко¹, П.Л. Володин¹, М.А. Каплан²

ЛЕЧЕНИЕ МЕЛАНОМ СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА СРЕДНЕГО РАЗМЕРА МЕТОДОМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН

*¹Калужский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий»**²ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск*

РЕЗЮМЕ

Представлен первый клинический опыт лечения хориоидальной меланомы среднего размера методом транспупиллярной фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием фотосенсибилизатора (ФС) хлоринового ряда — препарата фотодитазин.

ФС вводился внутривенно капельно в общей дозе 0,8 мг/кг веса, дробно: за 2 ч (70 % дозы ФС с продолжительностью инфузии 20 мин) и за 15 мин (30 % дозы с продолжительностью инфузии 10 мин) до ФДТ. ФДТ проводилась под контролем флюоресцентной диагностики с препаратом фотодитазин. Через 2 ч после начала введения 1-й дозы ФС проводили транспупиллярное лазерное облучение. Опухоль облучали последовательно, полями диаметром 4,5 мм, концентрично, по направлению от периферии к центру новообразования, с перекрытием соседних полей на 10 – 15 % площади. Расчетная плотность энергии лазерного излучения при облучении периферии МХ составляла 50 Дж/см² на 1 поле и 100 Дж/см² при облучении поверхности опухоли. Количество полей облучения — 8.

Через 6 мес после ФДТ отмечалась практически полная резорбция МХ с формированием на месте облученной опухоли слегка проминирующего фиброзного очага с незначительной неравномерной пигментацией. По данным серошкального В-сканирования отмечено значительное уменьшение размеров основания (с 8,5 × 6,6 мм до 7,2 × 5,0) и высоты опухоли с 3,4 до 1,0 мм. По данным ЦДК отмечалось отсутствие внутриопухолевого кровотока. Острота зрения составила 0,4.

Транспупиллярная ФДТ может значительно повысить эффективность и расширить возможности органосохранного и функционально сберегающего лечения МХ малого и среднего размера.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотодитазин, меланома хориоидеи.

На сегодняшний день в офтальмоонкологии актуальной проблемой остается разработка методов лечения, обеспечивающих максимальную радикальность разрушения опухоли и обладающих высоким функционально сберегающим потенциалом [1–3; 6–9].

Ведущее место в лечении хориоидальных меланом (МХ) принадлежит брахитерапии, транспупиллярной инфракрасной лазерной термотерапии, а также сочетанию указанных методов [3; 5; 6; 9; 13].

Вместе с тем в последние годы появился ряд публикаций, свидетельствующих об эффективном применении фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении амеланотических хориоидальных меланом, а также МХ, резистентных к общепринятым методам [7; 10; 12; 15; 16].

В данном материале представлен первый клинический опыт лечения хориоидальной меланомы среднего размера методом транспупиллярной ФДТ с использованием фотосенсибилизатора (ФС) хлоринового ряда — препарата фотодитазин.

Пациент П., 58 лет. Диагноз: артификация обоих глаз. Меланома хориоидеи левого глаза ($T_2N_0M_0$). Острота зрения на пораженный глаз при поступлении составляла 0,5. Офтальмоскопически парамакулярно книзу и в височную сторону определялось слабопигментированное серовато-желтого цвета проминирующее образование без четких границ. По данным В-сканирования размеры основания составили $8,5 \times 6,6$ мм, высота проминенции — 3,4 мм, что соответствует средним размерам МХ (рис. 1).

Флюоресцентная ангиография глазного дна (ФАГ) подтвердила предполагаемый диагноз МХ. На ангиограммах соответственно локализации проминирующего образования определялась характерная «пятнистая» гиперфлюоресценция.

При исследовании в режиме цветового доплеровского картирования (ЦДК) до лечения выявлялась смешанная васкуляризация как на периферии, так и в центральных отделах опухоли, преимущественно с артериальным типом кровотока (3 – 4 артериальных сосуда) (линейная скорость кровотока (ЛСК) — 20 – 25 см/с). Указанные изменения соответствовали гиперваскулярному типу кровоснабжения МХ (рис. 2).

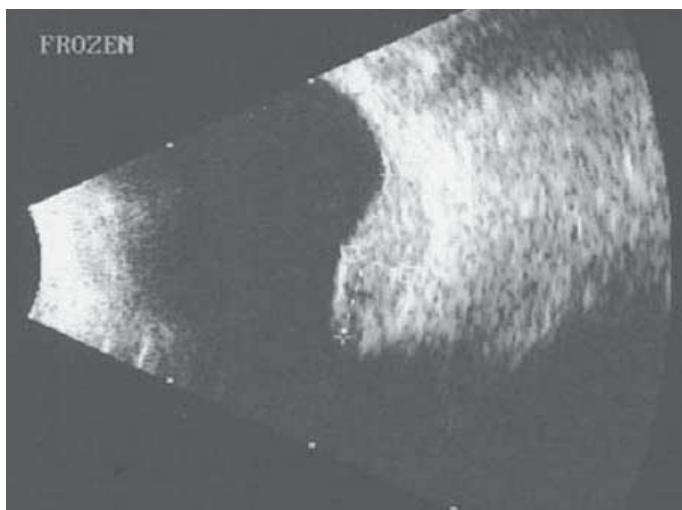


Рис. 1. Размеры меланомы хориоидеи в сероватом режиме до лечения

Пациенту предложено органосохранное лечение — ФДТ с препаратом фотодитазин. Получено добровольное информированное согласие.

Фотосенсибилизатор. Препарат фотодитазин относится к ФС хлоринового ряда (бис-N-метилглюкаминавая соль хлорина Е6) (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия) (регистрационное удостоверение № ЛС – 001246 от 10.02.2006).

Методика ФДТ. ФС вводился внутривенно капельно после предварительного разведения в физиологическом растворе в общей дозе 0,8 мг/кг веса. Рассчитанную дозу фотодитазина вводили дробно: за 2 ч (70 % дозы ФС с продолжительностью инфузии 20 мин) и за 15 мин (30 % дозы) до проведения сеанса ФДТ [2]. Продолжительность 2-й инфузии составляла 10 минут.

ФДТ проводилась под контролем флюоресцентной диагностики (ФД) с препаратом фотодитазин в режиме реального времени [2] на офтальмологическом лазерном комплексе «АЛЮД-01» – «Алком-Медика» (С-Пб) (длина волны непрерывного излучения 660 ± 2 нм), оснащенный приставкой для транспупиллярного лазерного облучения ПФК – «АЛЮД-02» – «Алком», адаптированной на модифицированную щелевую лампу «Takagi SM-2N» (Япония), а также дополнительным видеоканалом для ФД. Система ФД включала призмный оптический делитель, высокочувствительную черно-белую видеокамеру с системой интерференционных светофильтров, персональный компьютер с программным обеспечением для регистрации и обработки флюоресцентных изображений глазного дна.

Лазерное облучение в диагностическом режиме (в ходе ФД) осуществляли в различные временные интервалы после введения 1-й дозы ФС расфокусированным пучком с плотностью мощности излучения 20 мВт/см².

Время начала «терапевтического» облучения определялось по данным ФД в режиме реального времени по достижении пика накопления ФС (максимального градиента контрастности, равного 2,4:1) в опухоли по отношению к окружающим интактным тканям, что соответствовало 2 ч от начала введения 1-й дозы препарата.

Транспупиллярное лазерное облучение МХ осуществлялось с использованием контактной роговичной линзы «Mainster Wide Field-120» («Ocular instruments», США).

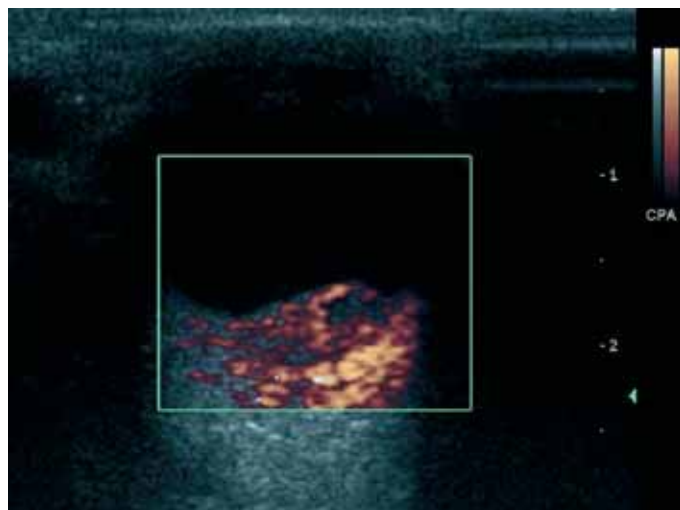


Рис. 2. ЭДК меланомы хориоидеи до ФДТ (гиперваскулярный тип кровоснабжения опухоли)

Опухоль облучали последовательно, полями диаметром 4,5 мм, концентрично, по направлению от периферии к центру новообразования, с перекрытием соседних полей на 10 – 15 % площади. Сначала проводили облучение периферии опухоли с захватом здоровых тканей не менее 1,5 мм от ангиографической границы опухоли, а затем поверхности опухоли. Время окончания облучения определяли по достижению полного угасания флюоресценции («выцветания») препарата соответственно облучаемому участку опухоли.

Расчетная плотность энергии лазерного излучения при облучении периферии МХ составляла 50 Дж/см² на 1 поле и 100 Дж/см² при облучении поверхности опухоли. Количество полей облучения — 8.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сразу после лазерного воздействия отмечалось незначительное увеличение субретинального отека с выраженным «побелением» (ишемизацией) сетчатки над зоной локализации МХ. Указанные изменения достигали максимума на 2-й – 3-й день после лечения. В дальнейшем наблюдалась постепенная резорбция отека с видимым уменьшением величины выстояния МХ и формированием перифокальной зоны хориоретинальной атрофии с диффузной диспигментацией к 2 нед.

Через 6 мес отмечалась практически полная резорбция МХ с формированием на месте облученной опухоли слегка проминирующего фиброзного очага (хориоретинального рубца) с незначительной неравномерной пигментацией.

По данным серошкального В-сканирования к 6 мес после ФДТ отмечено значительное уменьшение размеров основания (с 8,5 × 6,6 мм до 7,2 × 5,0) и высоты опухоли с 3,4 до 1 мм (рис. 3).

На ФАГ через 3 мес определялась обширная гипофлюоресцентная зона с незначительной неоднородной флюоресценцией, обусловленной фиброзными изменениями на месте облученной опухоли.

По данным энергетического доплеровского картирования в центре новообразования определялась аваскулярная зона с сохранением функционирующих сосудов в краевой части МХ (через 1 мес). Степень васкуляризации новообра-



Рис. 3. Размеры меланомы хориоидеи в серошкальном режиме через 6 мес после ФДТ

зования под данным ЦДК в те же сроки расценивалась как гиповаскуляризация (ЛСК — 7,4 см/с). Через 6 мес после лечения отмечалось отсутствие внутриопухолевого кровотока. Соответственно локализации облученной меланомы определялся аваскулярный очаг, что свидетельствовало о разрушении собственной сосудистой системы опухоли (рис. 4).

Следует отметить сохранение относительно высокого центрального зрения (0,4) после лечения, несмотря на окклюзию нижневисочной ветви ЦАС.

Результаты прослежены в течение 18 мес, признаков рецидива новообразования не отмечено.

В настоящее время определяющей концепцией лечения МХ считается использование органосохранных методов лечения, основным требованием к которым остается принцип максимальной радикальности по отношению к новообразованию при минимальном повреждающем воздействии на окружающие здоровые ткани [3; 5; 6; 9; 13].

Выбор метода органосохранного лечения МХ в значительной мере зависит от размеров опухоли. Лазеркоагуляция как самостоятельный метод лечения МХ может применяться при толщине опухоли не более 1,5 мм и диаметре не более 12 мм. Вследствие этого область применения ЛК при МХ строго ограничена [9].

Трансклеральная брахитерапия широко применяется при опухолях средних размеров (до 5 мм) экваториальной и постэкваториальной локализации. Метод заключается в контактном облучении опухоли с помощью офтальмоаппликаторов с различными радиоактивными источниками (¹²⁵I, ¹⁰⁶Ru, ⁶⁰Co и др.). Однако брахитерапия практически не применима при опухолях центральной и перипапиллярной локализации вследствие высокого риска лучевых осложнений, негативно влияющих на зрительные функции [7; 10].

Более предпочтительным в данных случаях считается использование транспупиллярной термотерапии (ТТТ) как менее инвазивного и более дозированного метода лечения МХ. В основе механизма действия ТТТ лежит локальная гипертермия (45 – 55 °С) опухоли, вызываемая инфракрасным излучением диодного лазера (810 нм), приводящая к локальному (в зоне воздействия) некрозу опухоли глубиной до 3,9 мм.

В клиническую практику офтальмологии метод ТТТ вошел сравнительно недавно (с середины 90-х гг.). В нашей

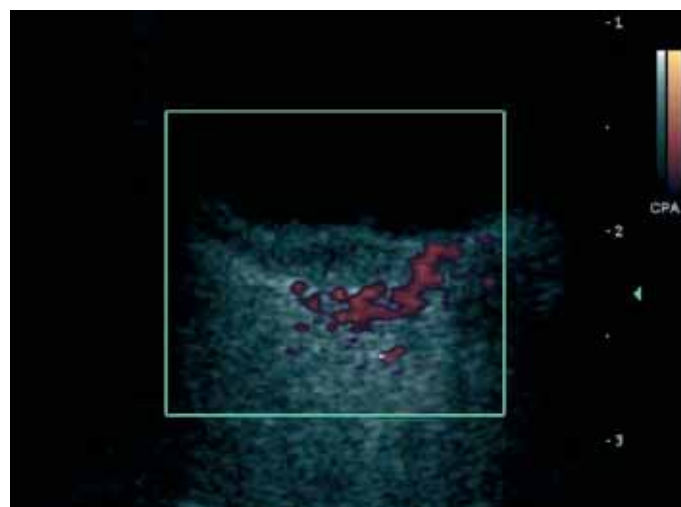


Рис. 4. ЭДК меланомы хориоидеи через 6 мес после ФДТ (остаточный аваскулярный очаг)

стране работы по изучению эффективности данной методики проводятся в ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза» под руководством проф. Л.Ф. Линника, начиная с 1999 г. [5–6; 9]. И на сегодняшний день ТТТ может рассматриваться как метод выбора в лечении МХ малого размера центральной и парацентральной локализаций.

Вместе с тем отмечено, что эффективность ТТТ в значительной мере зависит от характера васкуляризации опухоли. Так, в случаях гиперваскулярных МХ эффект ТТТ снижается, что объясняется значительным теплоотведением вследствие интенсивного кровотока в сосудах, питающих опухоль [6].

В этой связи одним из перспективных методов лечения гиперваскулярных МХ может рассматриваться ФДТ, первичной «мишенью» которой является сосудистая система новообразования. Метод ФДТ основан на избирательном накоплении вводимых системно ФС в сосудах и строме опухоли, который при последующем лазерном облучении с длиной волны, соответствующей пику поглощения данного ФС, приводит к фототоксическому повреждению опухолевых клеток и облитерации сосудов МХ [4; 11].

Экспериментальные исследования, проведенные U. Schmidt-Erfurth et al. (1994), подтвердили гистоморфологически возможность фотодинамического разрушения пигментных хориоидальных меланом толщиной до 4,8 мм [14].

Клинический опыт показал, что метод ФДТ может эффективно применяться и при внутриглазных новообразованиях (МХ) среднего размера. Транспупиллярное лазерное облучение с дробным введением ФС (фотодитазин) позволило добиться практически полного регресса МХ среднего размера в ходе одного сеанса при отсутствии рецидивов в сроки наблюдения до 18 мес.

Высокая эффективность разработанной методики ФДТ с препаратом фотодитазин, по нашему мнению, объясняется следующими факторами: четкими критериями отбора (гиперваскулярный тип опухоли), а также особенностями методики выполнения ФДТ (дробное введение ФС). Последнее обеспечивает максимальное накопление препарата как в строме, так и в сосудистой системе опухоли, тем самым повышая эффективность ФДТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, получен первый клинический опыт эффективного применения ФДТ с фотодитазином как самостоятельного метода лечения у пациента с меланомой хориоидеи.

Транспупиллярная ФДТ может значительно повысить эффективность и расширить возможности органосохранного и функционально-сберегающего лечения МХ малого и среднего размера.

Необходимы дальнейшие исследования для объективной оценки эффективности ФДТ МХ на большем клиническом материале и в отдаленные сроки наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бельый Ю.А., Терещенко А.В., Володин П.Л., Каплан М.А. Фотодинамическая терапия с производными хлорина Е6 в лечении малых хориоидальных меланом // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2007. – 7(3). – С. 33–40.

2. Бельый Ю.А., Терещенко А.В., Володин П.Л. и др. Способ фотодинамической терапии внутриглазных новообразований / Патент РФ № 2290150 // Бюллетень «Изобретения и полезные модели». – 2006. – № 36.
3. Бровкина А.Ф., Амирян А.Г., Лелюк В.Г. Роль дуплексного сканирования в комплексной оценке эффективности брахитерапии увеальной меланомы // Современные методы лучевой диагностики в офтальмологии: сборн. науч. ст. – М., 2004. – С. 187–188.
4. Каплан М.А., Капинус В.Н., Романко Ю.С. и др. Фотодитазин — эффективный фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии // РБЖ. – 2004. – 3(2). – С. 51.
5. Линник Л.Ф. Система органосохранного лечения при новообразованиях сосудистого тракта // VII Съезд офтальмологов России: тез. докл. Ч. 2. – М., 2000. – С. 113–114.
6. Линник Л.Ф., Магарамов Д.А., Яровой А.А. и др. Трехлетний опыт использования транспупиллярной диод-лазерной термотерапии как самостоятельного метода лечения увеальных меланом // Офтальмохирургия. – 2003. – 4. – С. 17–24.
7. Лихванцева В.Г., Будзинская М.В., Шевчик С.А. и др. Первый клинический опыт применения фотодинамической терапии с применением отечественного фотосенсибилизатора фотосенс в офтальмоонкологии // РБЖ. – 2005. – 2(4). – С. 39–40.
8. Тахчиди Х.П., Бельый Ю.А., Терещенко А.В. и др. Фотодинамическая терапия в офтальмологии (обзор) // Офтальмохирургия. – 2005. – 1. – С. 45–51.
9. Яровой А.А., Линник Л.Ф., Семикова Т.С., Булгакова Е.С. Малые меланомы хориоидеи: особенности клиники и выбора метода лечения // Новое в офтальмологии. – 2004. – 2. – С. 28–37.
10. Barbazetto I.A., Lee T.C., Rollins I.S. et al. Treatment of choroidal melanoma using photodynamic therapy // Am J Ophthalmol. – 2003. – 135(6). – P. 898–899.
11. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W. et al. Photodynamic therapy // J. Natl. Cancer Inst. – 1998. – 90. – P. 889–905.
12. Kim R., Hu L., Foster B. et al. Photodynamic therapy of pigmented choroidal melanomas of greater than 3-mm thickness // Ophthalmology. – 1996. – 103(1). – P. 2029–2036.
13. Shields C.L., Shields J.A. Transpupillary thermotherapy for choroidal melanoma // Curr. Opin. Ophthalmol. – 1999. – 10(3). – P. 197–203.
14. Schmidt-Erfurth U., Bauman W., Gragoudas E. et al. PDT of experimental choroidal melanoma using lipoprotein-delivered benzoporphyrin // Ophthalmology. – 1994. – 101(1). – P. 89–99.
15. Soucek P., Chicelkova I. Photodynamic therapy with verteporfin in subfoveal amelanotic choroidal melanoma (A controlled case) // Neuro-Endocrinol. Lett. – 2006. – 25(1–2). – P. 145–148.
16. Donaldson M.J., Lim L., Harper C.A. Primary treatment of choroidal amelanotic melanoma with photodynamic therapy // Clin. Exp. Ophthalmol. – 2005. – 33(5). – P. 548–549.

Поступила 01.07.2008.

УДК 617.723-006.81:615.831

Yu.A. Belyy¹, A.V. Tereschenko¹, P.L. Volodin¹, M.A. Kaplan²

PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTODYTAZIN FOR THE TREATMENT OF THE SMALL CHOROIDAL MELANOMAS

*¹Kaluga branch of S.N. Fyodorov «Eye Microsurgery» Federal State Institute**²Medical radiological scientific centre of Russian Academy of Medical Sciences, Obninsk*

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the efficacy of photodynamic therapy (PDT) with chlorine E6 photosensitizer Photodytazin in the treatment the patients with small choroidal melanomas.

7 patients (7 eyes) with choroidal melanomas were entered in this study. Mean age was 67 year (range 55 – 79 years). Visual acuity at baseline was 0,5 – 1,0, tumor thickness — up to 3,5 mm, tumor base sizes — up to 10 × 8 mm.

Laser complex «ALOD-01» – «Alkom» (St.-Petersburg, Russia) was used for PDT. Photodytazin, 0,8 mg/kg, was infused intravenously for 2 hours (70 % dose) and 15 minutes (30 % dose) before PDT. 5 minutes after second infusion transpupillary laser irradiation was performed with wave length 662 nm. Laser fluence in one spot was 50 J/cm² when the tumor periphery was irradiating, and 100 J/cm² — on the tumor apex.

Follow-up analysys was performed from 12 to 36 months.

Results were estimated by fundus photography, fluorescent angiography, ultrasonic B-scanning and dopplerography. Tumor regression with residual prominence from 0,6 up to 1,2 mm was found in all of 7 eyes 6 months of the treatment. Dopplerography in energy doppler regimen showed an absence of the tumor blood flow, and residual avascular focus in the tumor site.

Based on the data obtained we conclude that PDT as monotherapy might be the effective technique for the treatment of patients with choroidal melanoma. Further investigations with clinical group and long follow-up analysis are necessarily for objective assessment of the PDT method.

Key words: photodynamic therapy, Photodytazin, choroidal melanoma.

Ю.А. Белый¹, А.В. Терещенко¹, П.Л. Володин¹, М.А. Каплан²

ЛЕЧЕНИЕ МЕЛАНОМ СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА МАЛОГО РАЗМЕРА МЕТОДОМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН

*¹ Калужский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологий»**² ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск*

РЕЗЮМЕ

Цель исследования — оценка эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом фотодитазин в лечении меланом хориоидеи малого размера.

Под наблюдением находились 7 пациентов (7 глаз) с меланомами хориоидеи (МХ) в возрасте от 55 до 79 лет. Острота зрения до лечения варьировала от 0,5 до 1,0. Размеры опухолей по данным ультразвукового исследования в режиме серошкальной визуализации не превышали следующих значений: диаметр основания — 10 × 8 мм, высота до 3,5 мм.

ФДТ проводилась на отечественной лазерной установке «АЛОД-01» – «Алком» (СПб, Россия). Фотодитазин вводился в общей дозе 0,8 мг/кг веса внутривенно капельно дробно: за 2 ч (70 % дозы ФС) и за 15 мин (30 % дозы) до сеанса ФДТ. Через 5 мин после окончания введения 2-й дозы ФС проводили транспупиллярное лазерное облучение МХ с длиной волны 662 нм. Расчетная плотность энергии на 1 поле составляла 50 Дж/см² при облучении периферии опухоли и 100 Дж/см² на верхушке. Сроки наблюдения составили от 12 до 36 мес.

Результаты ФДТ оценивали методами цифровой фоторегистрации изображений глазного дна, флюоресцентной ангиографии и ультразвукового триплексного сканирования. Во всех 7 случаях к 6 мес наблюдался полный или практически полный регресс новообразований с остаточной проминенцией от 0,6 до 1,2 мм. По данным энергетического доплеровского картирования через 6 мес после лечения отмечалось отсутствие внутриопухолевого кровотока. Соответственно локализации облученной меланомы определялся аваскулярный очаг.

Полученный клинический опыт применения ФДТ как самостоятельного метода лечения хориоидальных меланом обнадеживает. Необходимы дальнейшие исследования для объективной оценки возможностей метода ФДТ в лечении малых меланом хориоидеи на большем клиническом материале и в более отдаленные сроки наблюдения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотодитазин, меланома хориоидеи.

ВВЕДЕНИЕ

Меланома хориоидеи (МХ) относится к числу новообразований, обладающих высоким злокачественным потенциалом, что определяет крайне неблагоприятный прогноз в отношении как зрительных функций, так и жизни больного при отсутствии своевременного адекватного лечения [1; 4–8; 10; 12–14].

Общепринятым подходом в лечении хориоидальных меланом являются органосохраняющие методы (брахитерапия, транспупиллярная лазерная термотерапия), обеспечивающие радикальное разрушение новообразования и обладающие одновременно функционально сберегающим эффектом [1–9; 10; 11; 13–16].

Одним из перспективных методов лечения малых хориоидальных меланом на сегодняшний день считается фотодинамическая терапия (ФДТ), предварительная эффективность которой с использованием различных препаратов показана в ряде пилотных клинических исследований [3; 9; 11; 13; 15; 16].

Цель настоящего исследования — оценка эффективности метода фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин в лечении меланом хориоидеи малого размера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 7 пациентов (7 глаз) с меланомами хориоидеи (МХ) в возрасте от 55 до 79 лет.

Всем пациентам в динамике проводилось комплексное офтальмологическое обследование, включающее, помимо общепринятых методов, цифровую фоторегистрацию и флюоресцентную ангиографию глазного дна, оптическую когерентную томографию сетчатки и ультразвуковое триплексное сканирование сосудистой системы глаза и собственных сосудов МХ (в режимах серошкального В-сканирования, цветового доплеровского картирования (ЦДК) и энергетического доплеровского картирования (ЭДК)).

Высокочастотное триплексное сканирование (10 – 14 МГц) с цветовым доплеровским картированием проводили на ультразвуковом аппарате HDI-5000 Sono CT (Германия) с использованием линейного датчика с частотой 12 МГц. В режиме ЦДК оценивали распределение цветовых карто-

грамм потоков в опухолевой ткани и ее равномерность. В импульсно-волновом режиме определяли скоростные показатели внутриопухолевого кровотока.

Пациенты для транспупиллярной ФДТ отбирались в строгом соответствии с предварительно разработанными критериями.

Критерии отбора:

- По размерам: МХ малого размера (максимальный диаметр основания не более 10 мм, высота элевации до 3,5 мм);
- По локализации: меланомы хориоидеи, расположенные постэкваториально (юстапапиллярно, центрально и парацентрально).
- По степени пигментации: беспигментные, слабо- и умеренно пигментированные МХ.
- По характеру и степени васкуляризации: гипervasкулярные МХ.

Во всех случаях по данным ЦДК и ЭДК в проекции новообразования определялась выраженная степень васкуляризации с наличием сосудов как в центре, так и у основания и на периферии опухоли, что свидетельствовало о гипervasкулярном типе кровоснабжения МХ. При этом скоростные показатели внутриопухолевого кровотока (пиковая систолическая скорость (V_{ps}) в собственных сосудах опухоли во всех случаях превышала 13 см/с (13 – 19 см/с)).

Кроме того, всем пациентам до лечения проводилось общеклиническое исследование с обязательным выполнением рентгенографии грудной клетки, ультразвукового сканирования печени и консультации онколога для исключения возможного метастатического процесса.

Острота зрения до лечения варьировала от 0,5 до 1,0.

Размеры опухолей по данным ультразвукового исследования в режиме серошкальной визуализации не превышали следующих значений: диаметр основания — 10 × 8 мм, высота до 3,5 мм, что соответствовало малым меланомам по классификации J. Shields (1983) ($T_{1b}N_0M_0$).

В 3 случаях опухоль локализовалась постэкваториально, в 2 — юстапапиллярно и в 2 — парацентрально.

Данные обследования пациентов с МХ до лечения представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты клинико-функционального обследования пациентов с меланомами хориоидеи до лечения

Локализация	Проминенция (В-скан), мм	Острота зрения	Тип кровоснабжения (по данным ЦДК)	Степень пигментации
Постэкваториальная	2,8	0,8	Умеренно васкулярный	Слабо пигментированная
Постэкваториальная	3,0	1,0	Гипervasкулярный	Беспигментная
Юстапапиллярная	3,0	0,4	Гипervasкулярный	Слабо пигментированная
Парацентральная	3,3	0,5	Гипervasкулярный	Умеренно пигментированная
Юстапапиллярная	3,2	0,63	Гипervasкулярный	Слабо пигментированная
Постэкваториальная	2,9	0,8	Умеренно васкулярный	Слабо пигментированная
Парацентральная	3,4	0,5	Гипervasкулярный	Слабо пигментированная

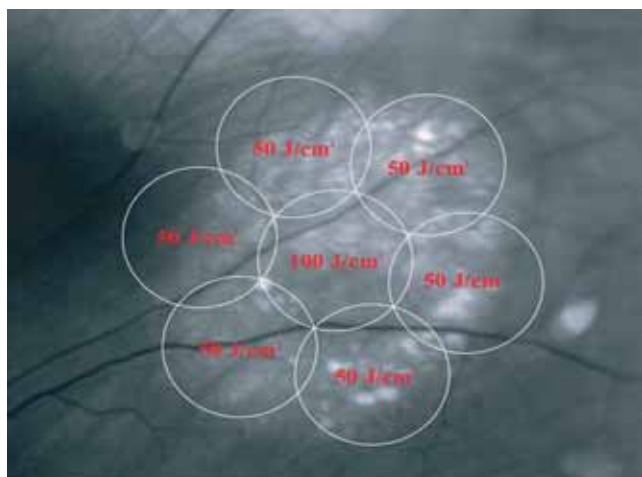


Рис. 1. Схема транспупиллярного лазерного облучения МХ в ходе ФДТ

Фотосенсибилизатор. Препарат фотодитазин относится к фотосенсибилизаторам (ФС) хлоринового ряда (бис-N-метилглюкаминная соль хлорина Е6) (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия) (регистрационное удостоверение № ЛС – 001246 от 10.02.2006).

Аппаратура. ФДТ проводилась на отечественной лазерной установке «АЛОД-01» – «Алком» (длина волны – 662 ± 2 нм в непрерывном режиме), оснащенной приставкой для транспупиллярной ФДТ (ПФК – «АЛОД-02» – «Алком») (Алком-Медика, СПб), адаптированной на модифицированную щелевую лампу «Takagi SM-2N» (Япония).

Методика ФДТ. Фотодитазин вводился внутривенно капельно после предварительного разведения в физиологическом растворе в общей дозе 0,8 мг/кг веса.

Рассчитанную дозу Фотодитазина во всех случаях вводили дробно: за 2 ч (70 % дозы ФС) с продолжительностью инфузии 20 мин и за 15 мин (30 % дозы) до сеанса ФДТ. Продолжительность 2-й инфузии составляла 10 мин.

Через 5 мин после окончания введения 2-й дозы ФС проводили транспупиллярное лазерное облучение МХ с длиной волны 662 нм, соответствующей максимальному пику поглощения производных хлорина Е6.

Опухоль облучали последовательно, полями (диаметром от 3 до 4,5 мм), концентрично по направлению от перифе-

рии к центру новообразования, с перекрытием соседних полей на 15 – 20 % площади. Границы общего поля облучения формировались с захватом здоровых тканей на 1,5 – 2 мм от ангиографически определяемой границы опухоли. Расчетная плотность энергии на 1 поле составляла 50 Дж/см² при облучении периферии опухоли и 100 Дж/см² на верхушке. Общее количество полей облучения — от 6 до 10 в зависимости от размеров новообразования. Схема транспупиллярного лазерного облучения МХ представлена на рис. 1. Всем пациентам был проведен 1 сеанс ФДТ по вышеописанной методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ФДТ оценивали методами цифровой фоторегистрации изображений глазного дна, флюоресцентной ангиографии и ультразвукового триплексного сканирования. Сроки наблюдения составили от 12 до 36 мес.

В результате проведенного лечения во всех 7 случаях к 6 мес наблюдался полный или практически полный регресс новообразований с остаточной проминенцией от 0,6 до 1,2 мм.

Характер клинических изменений после ФДТ в значительной мере зависел от локализации и исходной проминенции опухоли.

Так, при периферической локализации МХ на глазном дне соответственно области лазерного облучения, как правило, определялась зона хориоретинальной атрофии с умеренно выраженной краевой пигментацией, несколько превышающая по площади исходные размеры новообразования. На флюоресцентных ангиограммах выявлялась практически гомогенная афлюоресцентная зона, экстравазальная флюоресценция отсутствовала.

Центральные зрительные функции оставались стабильными в течение всего срока наблюдения.

При центральной и юкстапапиллярной локализации постепенный регресс опухоли завершался формированием офтальмоскопически плоского или слегка проминирующего хориоретинального рубца с умеренно выраженной неоднородной пигментацией и перифокальной хориоретинальной атрофией. Динамика офтальмоскопической картины до и через 6 мес после ФДТ представлена на рис. 2 и 3. Ангиографически в таких случаях, как правило, определялась обширная афлюоресцентная зона с незначительной не-



Рис 2. Глазное дно левого глаза пациента П. до лечения

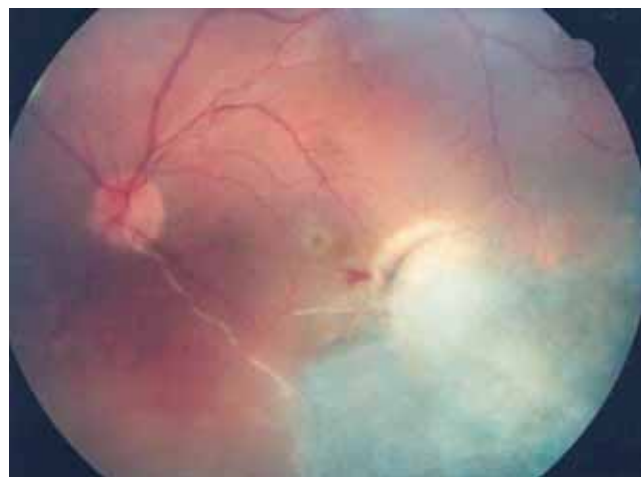


Рис 3. Глазное дно левого глаза пациента П. через 6 мес после ФДТ



Рис. 4. Флюоресцентная ангиограмма глазного дна до лечения

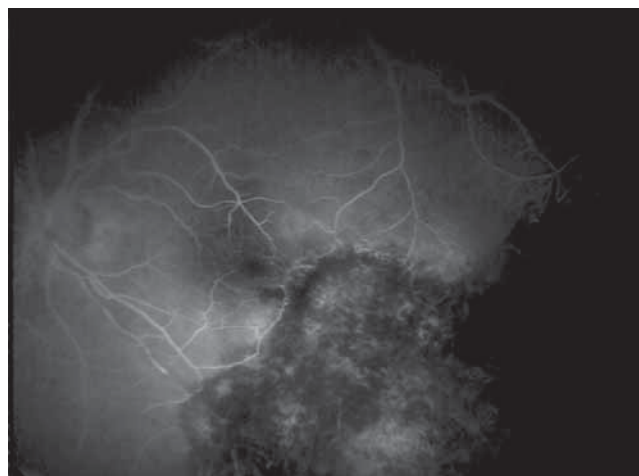


Рис. 5. Флюоресцентная ангиограмма глазного дна через 6 мес после ФДТ

однородной флюоресценцией, обусловленной фиброзными изменениями на месте облученной опухоли (рис. 4 и 5).

По данным серошкального В-сканирования размеры и степень выстояния опухоли уменьшались постепенно, начиная с 2 – 3 нед до 3 – 4 мес после ФДТ, с последующей стабилизацией к 6 мес.

В динамике к 2 – 3 мес после лечения наблюдалось прогрессирующее обеднение сосудистого рисунка опухоли с уменьшением скоростных характеристик в собственных сосудах опухоли (менее 7 – 8 см/с). По данным ЭДК через 6 мес после лечения во всех случаях отмечалось отсутствие внутриопухолевого кровотока. Соответственно локализации облученной меланомы определялся аваскулярный очаг, что свидетельствовало о разрушении собственной сосудистой системы опухоли.

Из осложнений в раннем послеоперационном периоде в 1-м случае при юкстапапиллярном расположении МХ наблюдалось непрогнозируемое снижение зрительных функций, обусловленное развитием тромбоза ветви ЦВС и оптической нейропатии. В остальных случаях острота зрения практически не изменилась.

Динамика центральных зрительных функций, а также ультразвуковых показателей после ФДТ представлена в табл. 2.

В течение периода наблюдения клинических признаков продолженного роста либо рецидива новообразования ни в одном случае не отмечалось.

В последние годы отмечается тенденция более раннего выявления меланом хориоидеи, в особенности МХ малых размеров (до 3,5 мм по высоте), частота которых достигает по данным различных авторов от 15 до 21 % [10; 14].

Адекватное органосохранное лечение в начальных стадиях малых меланом, с одной стороны, существенно улучшает витальный прогноз; с другой стороны, требует наиболее эффективного и в то же время минимально инвазивного метода воздействия для сохранения исходно высоких зрительных функций.

На сегодняшний день применительно к лечению хориоидальных меланом малых размеров одним из методов выбора является использование транспупиллярной инфракрасной диод-лазерной термотерапии (ТТТ).

Чувствительность опухоли к локальной гипертермии в значительной степени зависит как от пигментации, так и от характера васкуляризации опухоли. Установлено, что интенсивный внутриопухолевый кровоток и связанное с этим повышенное теплоотведение в ходе терапии в сочетании со слабой пигментацией хориоидальной меланомы существенно снижает эффективность ТТТ [8].

Таблица 2

Результаты фотодинамической терапии меланом хориоидеи (через 6 мес)

Исходная локализация	Проминенция до ФДТ, мм	Проминенция после ФДТ, мм	Vis до ФДТ	Vis после ФДТ	Тип кровоснабжения до ФДТ	Тип кровоснабжения после ФДТ	Срок наблюдения, мес
Постэкваториальная	2,8	0,6	0,8	0,8	Умеренно васкулярный	Аваскулярный	36
Постэкваториальная	3,0	0,7	1,0	1,0	Гиперваскулярный	Аваскулярный	24
Юкстапапиллярная	3,0	0,8	0,4	0,1	Гиперваскулярный	Аваскулярный	18
Парацентральная	3,3	0,8	0,5	0,63	Гиперваскулярный	Аваскулярный	15
Юкстапапиллярная	3,2	1,2	0,63	0,63	Гиперваскулярный	Аваскулярный	14
Постэкваториальная	2,9	0,6	0,8	1,0	Умеренно васкулярный	Аваскулярный	12
Парацентральная	3,4	1,0	0,5	0,4	Гиперваскулярный	Аваскулярный	12

Современные методы ультразвуковых исследований — триплексное сканирование с ЦДК и ЭДК — позволяют детально изучить ангиоархитектуру МХ и провести качественную и количественную оценку внутриопухолевой гемодинамики [2; 8].

Особенности строения и интенсивность кровотока в неоваскулярной сети хориоидальной меланомы имеют определяющее прогностическое значение, что обусловлено, в первую очередь, исключительно гематогенным метастазированием данной опухоли.

В этой связи перспективным методом лечения гиперваскулярных МХ, в том числе резистентных к брахитерапии и ГТТ, может рассматриваться ФДТ, первичной «мишенью» которой является сосудистая система новообразования.

Метод ФДТ основан на избирательном накоплении вводимых системно ФС в сосудах и строме опухоли, которые при последующем лазерном облучении с длиной волны, соответствующей пику поглощения данного ФС, приводят к фототоксическому повреждению опухолевых клеток и облитерации сосудов МХ [12; 16].

В настоящее время ФДТ успешно используется в лечении различных злокачественных новообразований кожи, слизистых, а также ряда полых органов.

В офтальмоонкологии клиническому применению ФДТ посвящены лишь единичные работы. Следует упомянуть, что первые попытки использования ФДТ при внутриглазных новообразованиях предпринимались еще в 80-е гг. Однако невысокая селективность и целый ряд побочных эффектов, обусловленных применением ФС 1-го поколения (производные гематопорфирина), не позволили данному методу войти в широкую практику офтальмоонкологии (D. Tse, 1984, J. Davidorf, 1992).

Разработка ФС 2-го поколения с более оптимальными для использования в офтальмологии свойствами позволила вернуться к идее использования ФДТ при внутриглазных новообразованиях. Так, в эксперименте U. Schmidt-Erfurth et al. (1994–96) получены гистоморфологические данные фотодинамического разрушения пигментных хориоидальных меланом толщиной до 4,8 мм методом ФДТ с препаратом вертепорфин (Визудин) [16].

Однако первые результаты использования Визудина в клинике в лечении МХ, резистентных к ГТТ и лучевой терапии, оказались неоднозначными [11]. Недостаточная эффективность ФДТ, по нашему мнению, была связана с отсутствием критериев отбора пациентов МХ к данному методу лечения.

Исходя из основного механизма действия, ведущими факторами при определении показаний для ФДТ как самостоятельному методу лечения хориоидальных меланом являются гемодинамические показатели в собственной сосудистой системе новообразования. Активный внутриопухолевый кровоток с относительно равномерным распределением сосудов в объеме опухоли (гиперваскулярный тип МХ) обеспечивает накопление ФС, достаточное для реализации фотодинамического эффекта и достижения необходимого клинического результата (разрушения опухоли).

Полученные нами первые клинические результаты, показавшие высокую эффективность транспупиллярной ФДТ с препаратами хлоринового ряда в лечении малых меланом хориоидеи, объясняются несколькими факторами.

Во-первых, отработкой четких критериев отбора для проведения ФДТ, основанными на данных ультразвуковых методов исследования для определения степени васкуляризации опухоли. Данный фактор особенно важен, так как установлено, что опухоли с более интенсивным кровотоком обладают более высоким риском метастазирования. Учитывая, что первичной мишенью ФДТ является собственная сосудистая система опухоли, а также исключительно гематогенный путь метастазирования меланом хориоидеи, можно предположить, что ФДТ может существенно снизить риск диссеминации и метастазирования.

Во-вторых, оптимизацией методики ФДТ: дробное введение ФС способствовало максимальному накоплению препарата как в строме, так и в сосудистой системе опухоли, тем самым повышая эффективность ФДТ. Лазерное облучение опухоли полями с захватом прилежащих здоровых тканей в пределах 1,5 – 2 мм от ангиографической границы опухоли способствовало повышению радикальности лечения и уменьшению риска краевого продолженного роста.

Преимуществами транспупиллярной ФДТ в лечении МХ являются: минимальная инвазивность, четкий визуальный контроль в ходе лечения, высокая дозированность воздействия на ткани, отсутствие операционной травмы, сравнительно короткие сроки реабилитации, отсутствие выраженного дистантного повреждающего воздействия на интактные глазные структуры.

Данный метод является функционально сберегающим, в особенности в стадии начальных малых меланом хориоидеи, а также при неблагоприятных в отношении зрительных функций центральной и юкстапупиллярной локализации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученный первый клинический опыт применения ФДТ как самостоятельного метода лечения хориоидальных меланом обнадеживает.

ФДТ расширяет возможности органосохранного лечения МХ и может рассматриваться методом выбора в случаях гиперваскулярных, а также слабопигментированных и беспигментных меланом, являющихся относительно резистентными к транспупиллярной диод-лазерной термотерапии.

Необходимы дальнейшие исследования для объективной оценки возможностей метода ФДТ в лечении малых меланом хориоидеи на большем клиническом материале и в более отдаленные сроки наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология. – М., Медицина, 2002. – С. 268–293.
2. Бровкина А.Ф., Амирян А.Г., Лелюк В.Г. Роль дуплексного сканирования в комплексной оценке эффективности брахитерапии увеальной меланомы. – Современные методы лучевой диагностики в офтальмологии: сборн научн.ст. – М., 2004. – С. 187–188.
3. Белый Ю.А., Терещенко А.В., Володин П.Л., Каплан М.А. Сочетание фотодинамической терапии и транспупиллярной термотерапии в лечении внутриглазных новообразований. – Современные технологии лечения витрео-ретиальной патологии: сборн. науч.ст. – М., 2007. – С. 70–74.

4. Либман Е.С., Бровкина А.Ф., Безруков А.В. Отдаленные результаты лечения увеальных меланом. Сравнительная оценка энуклеации и органосохраняющих методов лечения // Офтальмол. журн. – 1989. – 6. – С. 336–338.
5. Линник Л.Ф. Система органосохранного лечения при новообразованиях сосудистого тракта // VII Съезд офтальмологов России: тез. докл. Ч. 2. – М., 2000. – С. 113–114.
6. Линник Л.Ф., Семикова Т.С., Тимофеев Л.В., Яровой А.А. Отдаленные результаты лечения меланом хориоидеи с использованием офтальмоаппликаторов Ru-106 и Rh-106 // Офтальмохирургия. – 1998. – 4. – С. 25–32.
7. Линник Л.Ф., Магарамов Д.А., Яровой А.А. и др. Трехлетний опыт использования транспупиллярной диод-лазерной термотерапии как самостоятельного метода лечения увеальных меланом // Офтальмохирургия. – 2003. – 4. – С. 17–24.
8. Линник Л.Ф., Яровой А.А., Магарамов Д.А. и др. О влиянии скорости внутриопухолевого кровотока на чувствительность меланомы хориоидеи к лазерной транспупиллярной термотерапии. – Современные методы лучевой диагностики в офтальмологии: Сб. научн. ст. – М., 2004. – С. 216–217.
9. Лихванцева В.Г., Будзинская М.В., Шевчик С.А. и др. Первый клинический опыт применения фотодинамической терапии с применением отечественного фотосенсибилизатора Фотосенс в офтальмоонкологии // РБЖ. – 2005. – 2(4). – С. 39–40.
10. Яровой А.А., Линник Л.Ф., Семикова Т.С., Булгакова Е.С. Малые меланомы хориоидеи: особенности клиники и выбора метода лечения // Новое в офтальмологии. – 2004. – 2. – С. 28–37.
11. Barbazetto I.A., Lee T.C., Rollins I.S. et al. Treatment of choroidal melanoma using photodynamic therapy // Am J Ophthalmol. – 2003. – 135(6). – P. 898–899.
12. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W. et al. Photodynamic therapy // J. Natl. Cancer Inst. – 1998. – 90. – P. 889–905.
13. Kim R., Hu L., Foster B. et al. Photodynamic therapy of pigmented choroidal melanomas of greater than 3-mm thickness // Ophthalmology. – 1996. – 103(1). – P. 2029–2036.
14. Shields C.L., Shields J.A. Transpupillary thermotherapy for choroidal melanoma // Curr. Opin. Ophthalmol. – 1999. – 10(3). – P. 197–203.
15. Soucek P., Chichelkova I. Photodynamic therapy with verteporfin in subfoveal amelanotic choroidal melanoma (A controlled case) // Neuro-Endocrinol. Lett. – 2006. – 25(1–2). – P. 145–148.
16. Schmidt-Erfurth U., Bauman W., Gragoudas E., et al. PDT of experimental choroidal melanoma using lipoprotein-delivered benzoporphyrin // Ophthalmology. – 1994. – 101(1). – P. 89–99.

Поступила 01.07.2008.

УДК 615.831:619.639

S.A. Yagnikov, O.A. Kuleshova, Ya.A. Kuleshova, E.A. Kornushenkov

THE USE OF PHOTODYNAMIC THERAPY IN VETERINARY

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

ABSTRACT

In this study we have examine the efficacy of photodynamic therapy (PDT) in domestic animals' mouth tumors. Animals with eosinophilic granuloma, epulis, malignization of granulation tissue, papillary granulomatosis inflammation, epidermoid carcinoma were treated with Photoditozine. Complete response was not achieved in any of the cases, partial response was detected after two sessions of treatment. The histological analysis indicated on inflammation and necrosis.

Key words: photodynamic therapy, Photoditazin, cat, dog.

С.А. Ягников, О.А. Кулешова, Я.А. Кулешова, Е.А. Корнюшенков

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ
В ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКЕ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты экспериментального исследования эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) для лечения новообразований ротовой полости у мелких домашних животных. Воздействию подвергались животные с диагнозом эозинофильная гранулема, эпюлисы, грануляционная ткань, организуемая ткань, папиллярный гранулематоз, воспаление, плоскоклеточный рак. После 2 курсов ФДТ отмечается частичная регрессия опухоли. Гистологическая картина после ФДТ указывает на воспаление, некроз, организуемую ткань.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия (ФДТ), фотодитазин, собака, кошка.

ВВЕДЕНИЕ

Спонтанные опухоли у животных и новые современные методы воздействия на опухолевую ткань могут служить моделью для внедрения новых методов в гуманную медицину. Ветеринарная медицина также нуждается в новых радикальных, малоинвазивных методах воздействия на опухолевую ткань. Лечебный эффект ФДТ основан на использовании фотодинамического повреждения опухолевых клеток в ходе фотохимической реакции. ФДТ — двухкомпонентный метод лечения, одним компонентом является фотосенсибилизатор, накапливающийся в опухоли и задерживающийся в ней дольше, чем в нормальных тканях, другим компонентом ФДТ является световое воздействие [1; 2]. При локальном облучении опухоли светом определенной длины волны, соответствующей пику поглощения фотосенсибилизатора, в опухоли начинается фотохимическая реакция с образованием синглетного кислорода и кислородных свободных радикалов, оказывающих токсическое действие на опухолевые клетки [2]. Опухоль некротизируется и постепенно замещается соединительной тканью [1].

Цель исследования — изучить клиническую эффективность ФДТ у собак и кошек со спонтанными опухолями слизистой ротовой полости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе Клиники экспериментальной терапии РОНЦ РАМН им. Н.Н. Блохина и «ООО Биоконтроль» была проведена фотодинамическая терапия 11 животным, из которых 1 собака и 10 кошек разных пород, пола, массы тела в возрасте от 2 до 12 лет с новообразованиями ротовой полости, поступивших в клинику за период 2007 – 2008 гг.



Рис. 1. Оборудование для проведения фотодинамической терапии:

А — аппарат «Гранат»; Б — препарат фотодитазин.



Рис. 2. Внутривенное введение фотодитазина в затемнённом помещении

Для ФДТ в качестве фотосенсибилизатора использовали фотодитазин, а в качестве источника лазерного излучения – аппарат «Гранат» с длиной волны излучения 661 ± 1 нм (рис. 1).

Животным вводили фотодитазин в дозах 1; 1,4 и 2 мг/кг массы тела путем внутривенной инфузии шприцевым насосом в течение 20 мин (рис. 2).

После этого их оставляли в темноте на час (рис. 3). По истечении этого времени животным выполняли премедикацию. Основными препаратами премедикации являлись платифилин (0,1 мг/кг), сульфокамфокаин (50 – 200 мг/на животное), супрастин (2% — 10 – 40 мг/на животное). В качестве вводного и базового наркоза использовали пропофол. Перед ФДТ выполняли трепанбиопсию новообразования для гистологического исследования.



Рис. 3. Животное находится в темноте в течение часа после внутривенной инфузии фотодитазина

За 15 – 20 мин перед воздействием лазера 4 кошкам была выполнена местная инфильтрация новообразования раствором фотодитазина (0,1 мл фотодитазина разводили в 2 мл физиологического раствора). Аппликация места дефекта гелем фотодитазина была проведена 1 кошке с экспозицией

15 мин (рис. 4). 5 кошкам одновременно выполнена местная инфильтрация и аппликация гелем. Собаке проведена только внутривенная инфузия фотодитазина без местного нанесения фотосенсибилизатора.

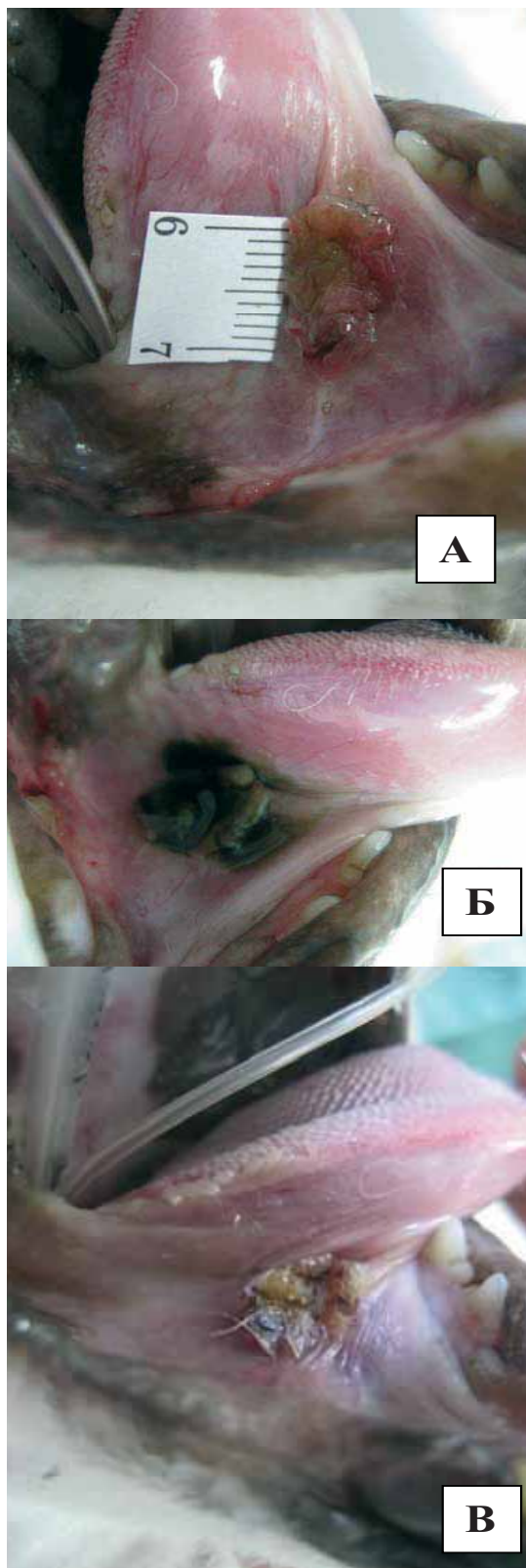


Рис. 4. Новообразование в подъязычной области:

А — до ФДТ; Б — нанесение геля фотодитазина на место дефекта; В — вид дефекта после проведения фотодинамической терапии.

Эффективная доза световой энергии находилась в диапазоне от 100 до 800 Дж/см², плотность мощности излучения — 0,85 до 2 Вт/см², диаметр пучка в пределах 0,5 – 1 см. Диаметр пучка 0,5 см использовался при единичных новообразованиях размером до 1 см.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После ФДТ ткань, подвергшаяся воздействию луча лазера, гиперемирована, отечна, воспалена. Отек в ближайшие сутки после сеанса ФДТ как проявление фотохимической реакции в тканях вследствие внутритканевого рассеивания света в той или иной степени отмечался почти у всех животных. Данное осложнение не требовало специального лечения, и отек тканей проходил самостоятельно через 4 – 7 дней после сеанса облучения. Данные гистологического исследования новообразования до ФДТ указывали на эозинофильную гранулему (1 из 11), папиллярный гранулематоз (1 из 11), организующую ткань (1 из 11), грануляционную ткань (2 из 11), эпюлисы (2 из 11), плоскоклеточный рак (1 из 11), воспаление (2 из 11). После 1-го курса ФДТ гистологическая картина новообразования на 11-й – 20-й день соответствовала хроническому воспалению, некрозу и организующейся ткани.

Результаты ФДТ оценивались по следующим критериям:

1. Полная регрессия новообразования при отсутствии видимого и пальпируемого очага (с подтверждением отрицательного результата гистологического исследования).
2. Частичная регрессия при уменьшении максимального размера опухолевого узла не менее, чем на 50 %, и при видимом отсутствии опухоли, но при обнаружении опухолевых клеток в цитологическом или гистологическом материале.
3. Стабилизация опухолевого процесса при уменьшении размеров новообразования более, чем на 25 %.
4. Рецидив опухолевого роста.
5. Генерализация опухолевого процесса при определении отдаленных метастазов в лимфатических узлах и жизненно важных органах.

У собаки через 1,5 мес после 3-го курса ФДТ была отмечена полная регрессия опухолевого процесса, подтвержденная гистологически. Суммарная доза фотосенсибилизатора составила 138,7 мг, суммарная эффективная доза световой энергии — 3300 Дж/см² (рис. 5). Период ремиссии составил 6 мес.

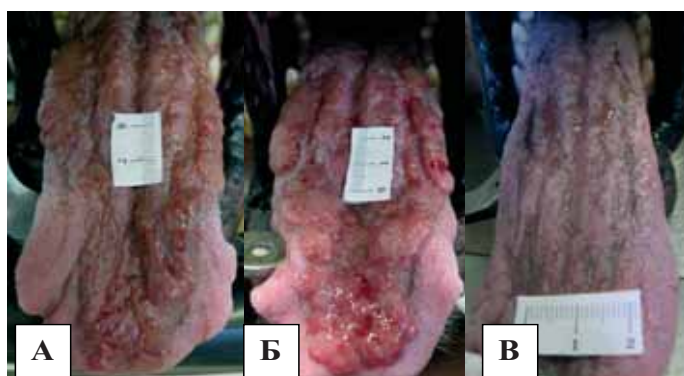


Рис. 5. Рабдомиосаркома языка у собаки: А — до ФДТ; Б — после 1-го курса ФДТ на 7-й день; В — полная регрессия опухоли через 1,5 мес после 3-го курса ФДТ.

У 4 кошек из 10 после 1-го курса ФДТ была отмечена стабилизация опухолевого процесса, у 5 кошек из 10 после 1-го – 2-го курсов ФДТ наблюдалась частичная регрессия опухолевого процесса (рис. 6, 7).

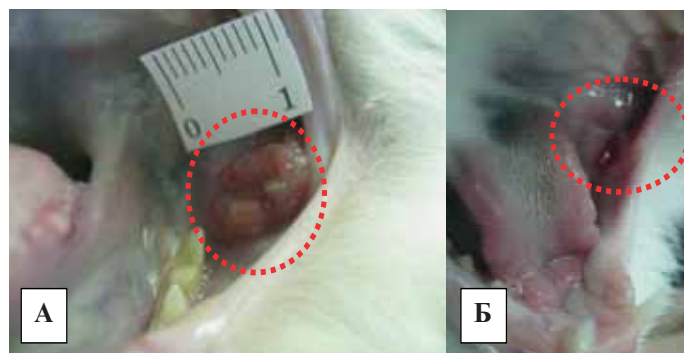


Рис. 6. Новообразование слизистой щеки у кошки: А — до фотодинамической терапии; Б — частичная регрессия новообразования после первого курса ФДТ на 20-й день.

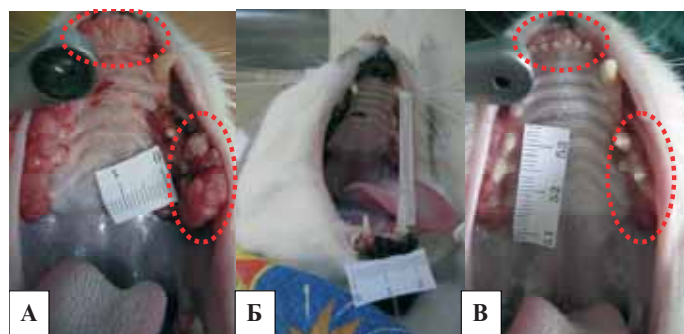


Рис. 7. Множественные новообразования слизистой десен у кошки: А — до фотодинамической терапии; Б — нанесение геля фотодитазина перед процедурой; В — состояние после 2-го курса фотодинамической терапии с применением геля фотодитазина. Частичная регрессия фиброзных эпюлисов на 20-й день после 1-го курса ФДТ.

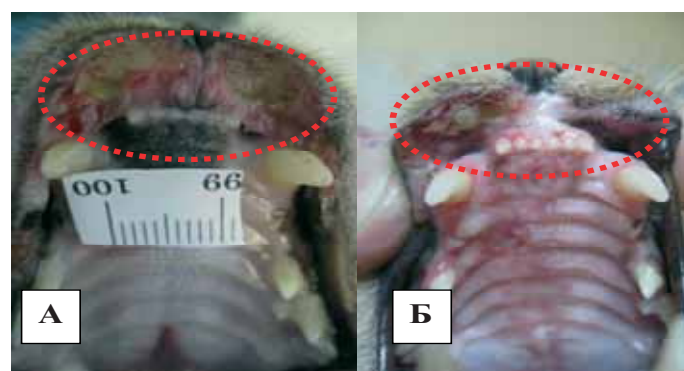


Рис. 8. Эозинофильная гранулёма верхней губы у кошки: А — до ФДТ; Б — частичная регрессия опухоли после 2 курсов ФДТ.

Получены положительные результаты лечения эозинофильной гранулемы кошек после 2 курсов ФДТ (рис. 8).

У 1 кошки из 10 после 3 курсов ФДТ наблюдалась полная регрессия опухоли (рис. 9). Также было замечено, что



Рис. 9. Единичное новообразование слизистой десны у кошки: А — до ФДТ; Б — полная регрессия опухоли слизистой десны после 3-го курса ФДТ

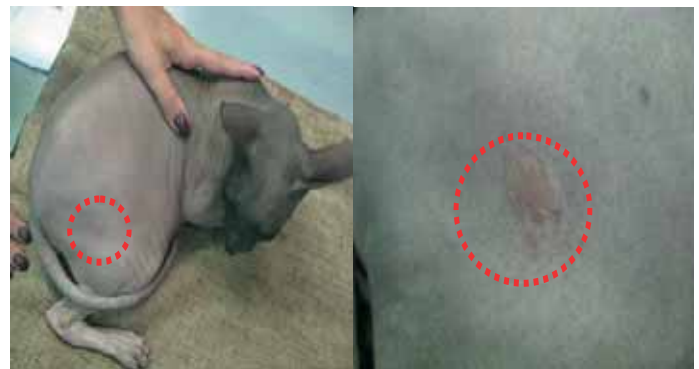


Рис. 10. Возникновение кожного дефекта вследствие повышенной кожной фоточувствительности после проведения курса ФДТ

местная инфильтрация и аппликация гелем дефекта усиливают лечебный эффект.

Побочных эффектов после ФДТ у животных не наблюдалось, только у 1 кошки из 10 при контрольном осмотре был обнаружен небольшой участок кожного поражения, возникший вследствие фототоксичности (рис. 10).

На данный момент все животные после ФДТ находятся под наблюдением и в дальнейшем будут представлены окончательные результаты.

В основном ФДТ в нашей клинической практике проводилась у кошек в среднем возрастном диапазоне от 2 до 5 лет. Проанализировав данные, можно указать на некоторую породную предрасположенность. В большинстве случаев спонтанным новообразованиям ротовой полости подвержены такие породы кошек, как сфинкс, европейская короткошерстная, персидская.

Среди пациентов семейства кошачьих 70 % составляли кастрированные коты и 30 % кошки, из которых 20 % — самки и 10 % — стерилизованные животные.

Основными местами локализаций спонтанных новообразований ротовой полости являются язык и подъязычное пространство, тотальные образования слизистой оболочки челюстей и единичные образования, в основном в проекции моляров и области щек.

При оценке полученных результатов можно полагать, что после 1-го курса ФДТ наблюдается стабилизация опухолевого процесса, а для полной регрессии новообразования мы считаем необходимым провести животному 3 – 4 курса ФДТ с эффективной дозой световой энергии не ниже 400 Дж/см².

По полученным данным на сегодняшний день можно сказать, что доза 1 – 1,4 мг/кг фотодитазина для кошек является нетоксичной для накопления фотосенсибилизатора в

ткани новообразования. В нашей практической деятельности доза 2 мг/кг фотодитазина вызвала у кошки отек мягкого неба, что спровоцировало дыхательную недостаточность. Для стабилизации состояния животному была выполнена трахеостомия.

Побочных эффектов после ФДТ у животных не наблюдалось. Только у кошки без шерстного покрова возникло кожное поражение вследствие фототоксичности введенного фотодитазина. Это можно объяснить тем, что в минимальных концентрациях препарат задерживается в коже, что определяет его основной побочный эффект: повышенную кожную фоточувствительность к любому яркому свету и, в первую очередь, к солнечному. Отсюда вытекает необходимость защиты кожи от яркого света в течение 5 дней. У животных, покрытых шерстью, такого побочного эффекта не отмечалось.

ВЫВОДЫ

Фотодинамическая терапия — рациональный метод лечения спонтанных новообразований слизистой ротовой полости у собак и кошек с неудобной локализацией для хирургического иссечения и хорошим косметическим эффектом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Ю., Гладких С., Иванова И. и др. Материалы 2-го Всеросс. симпозиума «Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований». — М., 1997. — С. 142–144;
2. Васильев Н.Е. // Лазерная медицина. — 1999. — 3(3–4). — С. 16–20.

Поступила 01.07.2008.

УДК 577.31:577.352.2:612.57

E.V. Tazina, N.A. Oborotova

NEW APPROACHES TO THE USE OF THERMOSENSITIVE LIPOSOMES IN COMBINATION WITH LOCAL HYPERTHERMIA

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

ABSTRACT

Thermosensitive liposomes are capable to capture drug and release it at a specific formulation-dependent gel to liquid-crystalline phase-transition temperature. New approaches to increase the circulation time of thermosensitive liposomes, potential modifying of liposomes by thermosensitive polymers and also potential use of thermosensitive liposomes combined with MR thermometry for controlled local drug release and increase of therapeutic efficiency of anticancer agents are considered in the review.

Key words: thermosensitive liposomes, hyperthermia, phase transition temperature, MR thermometry, gadolinium, thermosensitive polymers.

E.V. Тазина, Н.А. Оборотова

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЛИПОСОМ И ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

РЕЗЮМЕ

Термочувствительные липосомы способны захватывать лекарственный препарат и высвобождать его при температуре фазового перехода липидов из геля в жидкокристаллическое состояние. В обзоре рассматриваются новые подходы к увеличению времени циркуляции термочувствительных липосом, возможности модификации липосом термочувствительными полимерами, а также возможности сочетанного использования термочувствительных липосом и магнитно-резонансной термометрии для контролируемого локального высвобождения препарата и повышения эффективности противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: термолипосомы, гипертермия, температура фазового перехода, магнитно-резонансная термометрия, гадолиний, термочувствительные полимеры.

ВВЕДЕНИЕ

Универсальные свойства липосомальной лекарственной формы объясняют широкие возможности ее применения, особенно в химиотерапии рака. Однако включение в липосомы по-разному влияет на эффективность и безопасность лекарств. Липосомальные препараты, в настоящее время используемые в клинике [6; 74], обладают главным образом меньшими побочными эффектами по сравнению с традиционными препаратами [3]. В некоторых случаях причиной недостаточно высокой терапевтической активности является низкое высвобождение действующих веществ из липосом в опухоль [10]. Использование липосомальных препаратов в комбинации с различными эндогенными воздействиями (пониженное значение pH [22; 88; 89], наличие специфиче-

ских ферментов [80]) и экзогенными стимулами (свет [72], ультразвук [78], нагрев [62; 63]) позволяют увеличить селективность доставки и достичь высокой концентрации биологически активных соединений в опухоли.

Среди различных механизмов триггерного воздействия использование нагрева или гипертермии для высвобождения липосомального содержимого активно исследуется по нескольким причинам. Во-первых, гипертермия может увеличивать кровоток и проницаемость капилляров в опухоли. Кроме того, показано, что гипертермия увеличивает выход липосом из сосудов в ткани и их накопление в прогреваемой опухоли [27; 42; 43]. Таким образом, гипертермия может увеличивать доставку липосом в опухоль и усиливать экспозицию опухолевых клеток к препарату, высвобождаемому

из липосом. Во-вторых, гипертермия используется как адъювантная терапия к хирургическому лечению, лучевой терапии и химиотерапии. Показано, что гипертермия обладает прямым цитотоксическим действием по отношению к опухолевым клеткам [21; 41]. В-третьих, можно достичь супрааддитивного цитотоксического эффекта, если использовать гипертермию в комбинации с несколькими химиотерапевтическими агентами, инкапсулированными в липосомы [29; 31; 86]. Термочувствительные липосомы высвобождают свое содержимое при температуре фазового перехода липидов из геля в жидкокристаллическое состояние (T_m). При этой температуре проницаемость мембраны липосом увеличивается в несколько раз [44].

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ЛИПОСОМЫ С ПРОЛОНГИРОВАННЫМ ВРЕМЕНЕМ ЦИРКУЛЯЦИИ

В традиционных исследованиях термолипосом инициированный температурой выход препарата происходил при 43 – 45 °C [27]. Только в нескольких работах были описаны составы термолипосом для температур ниже 43 °C (например, 39 – 40 °C) [62]. Так как во время лечения физиологически оправдана внутриопухольная температура не выше 42 °C, необходимость в термолипосомах, высвобождающих содержимое при умеренной гипертермии (40 – 42 °C), очевидна [8; 32; 55; 85].

Для увеличения времени циркуляции липосом в кровотоке в липидную мембрану часто вводят полиэтиленгликоль (ПЭГ) [64]. Пэгиллированный липосомальный доксорубин (Доксил, Келикс) эффективен при лечении СПИД-ассоциированной саркомы Капоши, рака яичников и молочной железы. Однако, несмотря на устранение кардиотоксичности при применении этой лекарственной формы — был описан новый побочный эффект, подобный шелушению кожных складок (пальмарно-плантарная или ладонно-подошвенная эритродизестезия) [57; 58]. Ладонно-подошвенная эритродизестезия, а также сообщения об острых реакциях гиперчувствительности после введения пэгиллированных липосом [3] и о снижении времени их циркуляции после повторных инъекций [52; 53] — причины поиска новых моделей липосомальных форм.

Разработка термочувствительных длительно циркулирующих липосом для умеренной гипертермии (41 – 42 °C) явилась целью работы Lindner et al. (Klinikum Grosshadern Medical Center (KGMC), Ludwig-Maximilians-University, Мюнхен, Германия) [56]. Ранее было высказано предположение, что адсорбция белков сыворотки на поверхности липосом является ключевым моментом для их фагоцитоза в печени и селезенке. Поэтому подавление опсонизации липосом — важный фактор увеличения времени их циркуляции. Гидратированные группы на поверхности пэгиллированных липосом стерически ингибируют электростатические и гидрофобные взаимодействия с белками сыворотки [51]. Для создания термолипосом Lindner et al. предложили использовать новый синтетический липид 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфоглицеролипид (DPPGOG), близкий к природному 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфоглицерину (DPPG).

Свободные гидроксильные группы DPPGOG обладают большей гидрофильностью, чем ПЭГ. За счет присоединения глицерина к фосфатидилглицерину через эфирную связь время циркуляции липосом значительно увеличивается.

Включение 10 моль% DPPGOG в состав термолипосом диаметром 50 нм, содержащих 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (DPPC) и холестерин в соотношении 5 : 4, приводило к увеличению периода полувыведения везикул у крыс до $t_{1/2} = 17,6$ ч [71]. В исследовании Lindner et al. DPPGOG облегчал инициированное температурой высвобождение карбоксифлюоресцеина из термолипосом диаметром 175 нм и приводил к увеличению периода полувыведения карбоксифлюоресцеина до $t_{1/2} = 9,6$ ч у хомячков и $t_{1/2} = 5,0$ ч у крыс.

Липосомы, содержащие отрицательно заряженные липиды, кроме фосфатидилинозитола [35], обычно быстро выводятся из кровотока, возможно, вследствие взаимодействия с определенными белками плазмы [40]. Текучесть липосомальной мембраны также играет важную роль в захвате липосом ретикулоэндотелиальной системой (РЭС). За счет повышения температуры фазового перехода липидов или включения в мембрану холестерина захват липосом РЭС снижается. Этот эффект максимален, когда липиды с высокими температурами фазового перехода, такие, как DPPC или 1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (DSPC), смешиваются в эквимолярных соотношениях с холестерином. Маленькие одноламеллярные везикулы (МОВ) диаметром ~ 80 нм, состоявшие только из DSPC, показывали у мышей $t_{1/2} = 0,47$ ч, а при добавлении пэгиллированного дистеароилфосфатидилэтаноламина DSPE-PEG (9:1) период полувыведения увеличивался до $t_{1/2} = 8,4$ ч [15]. Большие одноламеллярные везикулы (БОВ) диаметром ~ 180 нм, состоявшие из DPPC/DSPC (9:1) и содержавшие доксорубин, выводились из крови мышей <10 % от введенной дозы за 60 мин [77]. Добавление к этим липосомам 6 моль% монозиалоганглиозида или 3 моль% DSPE-PEG-1000-5000 увеличивало период их полувыведения только до ~ 3 ч [59].

Lindner et al. получали липосомы из DPPC ($T_m = 41,5$ °C), DSPC ($T_m = 56,0$ °C) и DPPGOG ($T_m = 39,7$ °C). Было показано, что DSPC с более высокой T_m действует как мембранный стабилизатор, причем с повышением содержания DSPC мембранная стабильность увеличивается. DSPC также может служить регулятором температуры высвобождения, которая меняется в пределах 40 – 43 °C при изменении содержания DSPC в липосомальной форме от 0 до 30 моль%. DPPGOG с более низкой T_m действует как мембранный дестабилизатор. С увеличением количества DPPGOG увеличивалось высвобождение карбоксифлюоресцеина, но термолипосомы с содержанием DPPGOG >50 моль% обладали низкой стабильностью при 38 – 40 °C. По сравнению с традиционными термочувствительными липосомами с высвобождением 40 % доксорубина спустя 30 мин при 42 °C [27] система, содержащая DPPGOG, с высвобождением 80 % карбоксифлюоресцеина в течение 3 мин при 42 °C гораздо эффективнее. Ожидается, что новая DPPGOG-липосомальная система будет клинически полезной для доставки широкого диапазона химиотерапевтических агентов в солидные опухоли.

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ЛИПОСОМЫ И МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТЕРМОМЕТРИЯ

Перспективным подходом в лечении глубоко расположенных злокачественных опухолей является гипертермия в комбинации с радио- и/или химиотерапией [23]. Нагревание участка опухоли до 40 – 44 °С предположительно оказывает следующее действие: прямой цитотоксический эффект, вызванный температурой [12]; увеличение кровоснабжения прогреваемого участка опухоли [79] и индукция белков теплового шока [25]. Уровень прогревания и распределение прогревания в опухоли – ключевые моменты в гипертермическом воздействии. Поэтому для контролируемого эффективного гипертермического лечения необходимо измерение температуры в прогреваемом участке опухоли [20; 36; 54; 68]. Знание распределения температуры дает информацию о локализациях в опухоли, в которых достигнута терапевтическая температура, и позволяет определять места нежелательного теплового повреждения в здоровых тканях за пределами опухоли («горячие точки»).

Магнитно-резонансная визуализация, основанная на термозависимых параметрах и показывающая изменения в тканях, является неинвазивным трехмерным методом, предоставляющим возможность вести наблюдения за нагреванием во время гипертермии. Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) — явление резонансного поглощения радиочастотной электромагнитной энергии веществом с ненулевыми магнитными моментами ядер, находящимися во внешнем постоянном магнитном поле. Ненулевым ядерным магнитным моментом обладают ядра ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P и др. Поглощенную энергию система перераспределяет внутри себя (так называемая спин-спиновая, или поперечная релаксация; характеристическое время T_2) и отдает в окружающую среду (спин-решеточная, или продольная релаксация, время релаксации T_1). Времена T_1 и T_2 несут информацию о межъядерных расстояниях и временах корреляции различных молекулярных движений [2].

Как температурные изменения, так и изменения в тканях очень важны для качественной оценки гипертермического лечения. Для магнитно-резонансной термометрии исследованы и предложены различные термозависимые магнитно-резонансные параметры. К этим параметрам относятся коэффициент диффузии [20; 54], время продольной релаксации (T_1) [14; 65] и химический сдвиг протонной резонансной частоты [33]. Время продольной релаксации T_1 зависит не только от температуры, но и от изменений, происходящих в тканях. Изменения в тканях коррелируют с дозой тепла – функцией температуры и времени [69; 70]. Причинами значительных изменений в тканях, которые нежелательны при гипертермическом воздействии, являются лечение в течение длительного времени и температура >44 °С.

Для магнитно-резонансной термометрии и локального высвобождения препарата предложено использовать термочувствительные липосомы с инкапсулированным гадолинием или ионами марганца. Это связано с тем, что парамагнитный гадолиний или ионы марганца высвобождаются при температуре фазового перехода липидов из геля в жидкокристаллическое состояние и действуют как со-

кращающие T_1 -контрастирующие агенты [24; 81]. Недавно была разработана новая форма длительно циркулирующих термочувствительных липосом с инкапсулированным гадолиамидом. Температура фазового перехода полученных термолипосом составляет 42 °С, что совместимо с температурой, необходимой для лечения опухолей при комбинированном применении химиотерапии и гипертермии [56]. В своей работе Wang et al. (University Hospital Grosshadern, Ludwig-Maximilians-University, Мюнхен, Германия) [83] изучали температурную зависимость времени релаксации T_1 новых термолипосом с инкапсулированным гадолиамидом в интервале температур 30 – 50 °С. Термолипосомы получали из DPPC/DSPC/DPPGOG в молярном соотношении 5 : 2 : 3. При нагревании от 30 °С до 37 °С инкапсулированный гадолиамид не высвобождался из термолипосом, и наблюдалась типичная линейная температурная зависимость T_1 . Постепенное высвобождение гадолиаида из термолипосом происходило в пределах 37 – 50 °С, поскольку температура фазового перехода липидов составляет около 42 °С, и приводило к значительному уменьшению T_1 . В процессе охлаждения от 50 °С до 30 °С снова наблюдалась линейная зависимость T_1 от температуры, так как к этому моменту гадолиамид полностью вышел из термолипосом. Таким образом, показано, что температура фазового перехода около 42 °С важна для выхода препарата и проявления им цитостатического действия.

Термочувствительные липосомы с инкапсулированными ионами марганца (II) в комбинации с гипертермией можно использовать для неинвазивной термометрии, активной загрузки доксорубицином, а также для прямого нацеливания препарата на опухоль. Hossann et al. (University Hospital Grosshadern, Ludwig-Maximilians-University, Мюнхен, Германия) [34] получали термолипосомы из DPPC/DSPC/DPPGOG в молярном соотношении 5 : 2 : 3 и загружали их либо хлоридом натрия, либо сульфатом марганца (II), либо гадолиний-диэтилентриаминпентауксусной кислотой (GdДТПУК). Инкапсулирование доксорубицина проводили по методу pH-градиента. Ионы марганца высвобождались при температуре фазового перехода липидов (42 °С). Во время снятия характеристик термолипосом с помощью ЯМР наблюдалось сигмоидное уменьшение времени релаксации T_1 при нагревании и характерное запаздывание кривой при охлаждении. Сигмоидное увеличение T_1 во время охлаждения указывало на реинкапсулирование марганца. Данное явление не наблюдалось при инкапсулировании в термолипосомы контрастирующего агента гадолиаида. Термолипосомы с инкапсулированным марганцем (II) имели тенденцию к образованию осадка в отличие от термолипосом с хлоридом натрия. В экспериментах по загрузке термолипосом доксорубицином формировались агрегаты. При увеличении концентрации DPPGOG линейно увеличивалась концентрация марганца. Hossann et al. предположили, что возможная причина этих явлений — образование комплекса между ионами марганца (II) и отрицательно заряженной головной группой липида DPPGOG.

Сфокусированный ультразвук (ФУЗ) под управлением магнитно-резонансной термометрии делает возможным контролируемое местное нагревание тканей. В работе Zwart et al. (CNRS/Victor Segalen University, Nycomed

Imaging AS, Осло, Норвегия) [92] было показано локальное высвобождение гадолиния из термочувствительных липосом при использовании ФУЗ-магнитно-резонансной визуализации. Гадолиний-диэтиленetriаминпентауксусная кислота-бис(метиламид) (GdДТПУК-БМА) инкапсулировали в липосомы, состоявшие из DPPC и DPPG. После 1-го ФУЗ-нагревания (максимальная температура 32 °С) не наблюдалось каких-либо изменений сигнала, указывавших на высвобождение гадолиния в области фокуса УЗ, т.е. липосомы не разрушались ультразвуковыми волнами. Нагревание до 42 °С вызывало локальное высвобождение гадолиния в области фокуса УЗ. При этом здесь отмечалось существенное увеличение сигнала, означавшее местное уменьшение времени релаксации T_1 вследствие выхода гадолиния из липосом. Проведенные опыты предполагают, что ФУЗ-нагревание выше температуры тела дает возможность контролировать местное высвобождение препарата из термочувствительных липосом.

Salomir et al. (RMSB-University Bordeaux, Bergonie Institute, Франция) [67] продемонстрировали возможность местного высвобождения контрастирующего агента (GdДТПУК-БМА) из термочувствительных липосом при воздействии управляемой магнитным резонансом гипертермии *in vivo* на почечной модели кроликов. В отсутствие термочувствительных липосом не происходило непосредственных изменений сигнала в почке, вызванных температурой, тогда как при введении термолипосом с гадолинием, полученных из DSPC и 1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-фосфоглицерина (DSPG) в весовом соотношении 95 : 5, в почке четко наблюдалось увеличение сигнала.

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРЫ И ТЕРМОЛИПОСОМЫ

Существуют несколько физических методов изменения целостности липосомальной мембраны для достижения локального триггерного высвобождения препаратов. Эти методы включают:

- фотолиз липидных компонентов [7; 28; 66; 75];
- фотоиндуцированную полимеризацию [13];
- ферментативное расщепление мембранных липидов [37; 87];
- рН-лабильность [19; 60; 61; 73; 89; 91];
- термозависимый фазовый переход липосомального бислоя [11; 76; 90];
- термочувствительные магнитоллипосомы [82].

Главной проблемой методов стимуляции выхода липосомального содержимого, включающих фазовый переход из геля в жидкое состояние, является значительное высвобождение инкапсулированных соединений при физиологической температуре и низкая эффективность высвобождения этих соединений в пределах 39 – 42 °С — оптимального терапевтического температурного интервала [26].

Anyarambhatla и Needham (Duke University, США) [9] предложили состав термочувствительных липосом, содержащих 1-пальмитоил-2-гидрокси-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (MPPC), DPPC и DSPE-PEG-2000. При нагревании термолипосом до 41 °С в течение 30 мин больше 80 % включенного в них карбоксифлюоресцеина высвобождалось в присутствии 50 % бычьей сыворотки. Основное количе-

ство красителя высвобождалось в течение первых 5 мин нагревания. Такой тип липосом можно использовать для быстрого высвобождения препарата в опухоли [41].

Kono et al. (Osaka Prefecture University, Япония) [45; 47] и Kono [48] изучали липосомы, содержавшие многочисленные сополимеры N-изопропилакриламида (NIPAM) как одного, так и совместно с акрилоилпирролидином, имеющим характерную нижнюю критическую температуру смешения (НКТС) около 38 °С. Фазовое расслоение в растворах таких полимеров при повышении температуры обусловлено переходом макромолекул из конформации набухшей глобулы в конформацию компактного клубка. Этот переход сопровождается резким уменьшением размеров макромолекулы, а применительно к сшитым полимерным системам — резким уменьшением их объема [1]. Молекулы NIPAM смешивали с необразующими бислою фосфатидилэтаноламинами (PE). Если температура поднималась выше температуры фазового перехода сополимера, расслаивание полимеров и липида инициировало вытекание липосомального содержимого. Добавление 550 Da PEG-PE препятствовало высвобождению содержимого ниже, но не выше НКТС. Высвобождение почти 100 % кальцеина происходило при 42 °С. Сыворотка значительно снижала эффективность высвобождения.

Недавно было показано, что модификация поверхности липосом с помощью сополимеров эфира (2-этокси)этоксиэтилвинила и эфира октадецилвинила придает им такие свойства, как термозависимое высвобождение содержимого и гидрофобность-гидрофильность поверхности [46]. Kono et al. исследовали возможность использования сополимер-модифицированных липосом в качестве системы доставки антинеопластического препарата адриамицина в опухоль. Фазовый переход сополимера со средней молекулярной массой 15000 в присутствии фосфатидилхолина яичного желтка (EPC) происходил при 40 °С. Сополимер-модифицированные EPC-липосомы высвобождали небольшое количество адриамицина при температуре ниже 40 °С, тогда как основное количество препарата высвобождалось выше этой температуры, указывая на то, что дегидратированные цепи сополимера дестабилизировали липосомальную мембрану. Аналогичным образом модификация поверхности липосом, содержащих ПЭГ, сополимером придавала им способность к термозависимому высвобождению препарата. Сополимер-модифицированные липосомы высвобождали адриамицин в присутствии сыворотки или даже в клетках, если они захватывались ими. Также изучалась доставка адриамицина в опухоль у мышей. Загруженные адриамицином липосомы, модифицированные сополимером и ПЭГ, вводили мышам в хвостовую вену. Через 12 ч после этого опухоль прогревали в течение 10 мин при 45 °С. Рост опухоли заметно снижался при воздействии адриамицин-загруженных термочувствительных липосом и нагревания. Если опухоль не нагревалась после введения адриамицин-загруженных термолипосом, заметного подавления ее роста не наблюдалось. Таким образом, липосомы, модифицированные сополимером и ПЭГ, могут использоваться в качестве системы доставки лекарственных препаратов в опухоль.

Kim et al. (Korea Advanced Institute of Science and Technology, Южная Корея) [38] сообщали о синтезе поли-NIPAM сополимеров с разным содержанием акриловой кис-

лоты. Фазовый переход сополимера происходил при 30 °С, 33 °С, 37 °С и 43 °С. Большие количества акриловой кислоты увеличивали температуру фазового перехода сополимеров. Обнаружили, что они стимулируют высвобождение красителей из липосом при НКТС. Высвобождение красителей также происходило ниже НКТС, что, вероятно, являлось следствием фазового перехода липидов димиристоилфосфатидилхолина (DMPC) и DPPC.

Kim J.C. и Kim J.D. (Korea Advanced Institute of Science and Technology, Южная Корея) [39] получали мультиламеллярные везикулы из EPC методами обращения фаз или гидратации липидной пленки, а липосомы — из диолеилфосфатидилэтанолamina (DOPE) методом удаления детергента. Зависимое от температуры высвобождение кальцеина из липосом изучали в присутствии сополимера N-изопропилакриламида и октадециламина (поли(NIPAM-co-ODA)) или сополимера N-изопропилакриламида, акриловой кислоты и октадециламина (поли(NIPAM-co-AA-co-ODA)). При нагревании от 17 °С до 40 °С везикул, полученных методом обращения фаз, высвобождение кальцеина увеличивалось до тех пор, пока соотношение полимера и липида не достигло значения 0,1 (степень высвобождения при этом составила 55 %). Характер высвобождения как у везикул, полученных методом гидратации липидной пленки, так и у везикул, полученных методом обращения фаз, был одинаковым, но степень высвобождения в 1-м случае была гораздо меньше, чем во 2-м. Из DOPE-липосом в тех же условиях высвобождалось >80 % препарата, вероятно, потому что DOPE-липосомы дезинтегрировались в недвухслойную структуру. С другой стороны, из везикул, полученных методом обращения фаз и методом гидратации липидной пленки, содержащих поли(NIPAM-co-ODA) или поли(NIPAM-co-AA-co-ODA), температура фазового перехода которых составляет соответственно ~ 29 °С и 37 °С, существенный выход препарата наблюдался вблизи температуры фазового перехода каждого из полимеров. Однако в случае DOPE-липосом заметное количество кальцеина высвобождалось ниже температуры фазового перехода. Поэтому везикулы, полученные методом обращения фаз и методом гидратации липидной пленки, предпочтительнее, чем DOPE-липосомы.

Han et al. (Korea Research Institute of Chemical Technology, Южная Корея) [30] изучали термочувствительные липосомы, содержащие поли(N-изопропилакриламид-со-акриламид) (PNIPAM-AAM) и ПЭГ (PNIPAM-AAM-ПЭГ-ТЛ). Из PNIPAM-AAM-ПЭГ-ТЛ в сыворотке *in vitro* высвобождалось больше доксорубина по сравнению с ПЭГ-липосомами или PNIPAM-AAM-модифицированными липосомами. Включение в состав PNIPAM-AAM-ПЭГ-ТЛ как PNIPAM-AAM, так и ПЭГ повышало стабильность липосом в сыворотке за счет угнетения адсорбции белков. Терапевтическую эффективность PNIPAM-AAM-ПЭГ-ТЛ с инкапсулированным доксорубином в комбинации с гипертермией оценивали *in vivo* на меланоме B16F10 мышей. PNIPAM-AAM-ПЭГ-ТЛ угнетали опухолевый рост в гораздо большей степени, чем ПЭГ-липосомы или PNIPAM-AAM-модифицированные термоллипосомы. Кроме того, противоопухолевая активность PNIPAM-AAM-ПЭГ-ТЛ заметно увеличивалась в комбинации с гипертермией.

Полоксамеры — полиэтилен оксид-полипропилен оксид-полиэтилен оксид (EO-PO-EO) блок-сополимерные

поверхностно-активные вещества. Термозависимый характер критической концентрации мицеллообразования (ККМ) полоксамеров был всесторонне изучен Alexandridis et al. (Massachusetts Institute of Technology, США) [4; 5]. У полоксамера F127 ККМ уменьшается в 4 раза с увеличением температуры от 31 °С до 35,5 °С. Предполагается, что это происходит в результате дегидратации PO-блока сополимеров при более высоких температурах. Причина инкапсулирования полоксамеров в липосомы — удерживание молекул, неактивных при физиологической температуре и способных разрушать липосомальную мембрану при нагревании. При повышении температуры ККМ полоксамеров значительно снижается, способствуя их взаимодействию с бислоем изнутри липосом [16; 17; 49; 50]. Когда полоксамеры встраиваются в бислой, мембрана липосом разрушается, и захваченные внутрь молекулы веществ выходят наружу.

Chandaryou et al. (Roswell Park Cancer Institute, США) [18] использовали термочувствительные свойства полоксамера F127 для термоиндуцированного высвобождения липосомального содержимого. Полоксамер F127 инкапсулировали в липосомы вместе с карбоксифлюоресцеином или с меченым FITC альбумином бычьей сыворотки (BSA-FITC, 66 кДа). Липосомы получали из диолеилфосфатидилхолина (DOPC) и холестерина в соотношении 1 : 1. При концентрации F127 0,04 % карбоксифлюоресцеин начинал выходить из липосом при температуре выше 30 °С, плато с высвобождением красителя около 90 % появлялось при 38 °С. При концентрации F127 0,08 % высвобождение из липосом BSA-FITC составляло 20 % при 38 °С и достигало 90 % при 42 °С. Липосомы, включавшие 3 % PE-PEG-2000, показывали тот же температурный профиль высвобождения, что и липосомы без ПЭГ-липидов.

Wells et al. (Roswell Park Cancer Institute, США) [84] изучали термочувствительные липосомы, содержавшие полоксамер F127, на культивируемых клетках Colon-26 (СТ-26) и опухоли СТ-26 у мышей. Липосомы получали из 67 моль% DOPC, 32 моль% холестерина и 1 моль% 1-пальмитоил-2-олеил-фосфатидилэтанолamina (POPE), конъюгированного с PEG-5000. В качестве флюоресцентного маркера применялся йодоацетамид желтый. Он высвобождался из моноламеллярных липосом при температуре около 33 °С и достигал плато с высвобождением 90 % вещества при температуре выше 42 °С. Липосомы, подвергнутые воздействию температуры, добавляли к клеткам СТ-26, чтобы оценить связывание вышедшего йодоацетамида с клеточной поверхностью. Температурная зависимость клеточного связывания йодоацетамида соответствовала кривой высвобождения. Опухоль СТ-26 прививали мышам Balb/c в обе задние лапы, термочувствительные и обычные липосомы вводили мышам в хвостовую вену. У каждой мыши одну из лап с опухолью выдерживали при 31,5 °С, а другую нагревали до 42 °С во время инъекции и в течение 30 мин после инъекции. Высвобождение в опухоли йодоацетамида определяли по интенсивности флюоресценции. В опухолях у мышей, которым вводили термочувствительные липосомы с последующим нагреванием, флюоресценция была в 2,5 раза выше, чем в опухолях у остальных групп мышей. Таким образом, полоксамер-содержащие термочувствительные липосомы можно использовать в качестве системы доставки препаратов *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целенаправленное концентрирование химиотерапевтических агентов в опухоли с помощью липосомальных лекарственных форм увеличивает терапевтическую эффективность и ограничивает их токсическое действие на нормальные ткани. Для стимуляции высвобождения препаратов из липосомального контейнера используют ряд физических методов, изменяющих целостность липидной мембраны, в частности, гипертермию.

Во избежание захвата липосомальных препаратов РЭС разрабатываются длительно циркулирующие в кровотоке носители. С этой целью в липидную мембрану включают ПЭГ. Гидратированные группы на поверхности пэгиллированных липосом ингибируют электростатические и гидрофобные взаимодействия с белками сыворотки. Кроме ПЭГ-производных изучаются композиции с синтетическими липидами, позволяющими как обеспечить термочувствительность мембраны, так и значительно увеличить период полувыведения включенных лекарств.

Уровень прогревания опухоли является ключевым моментом в сочетании применении гипертермии с термочувствительными липосомальными препаратами. Контролировать терапевтическую температуру в опухолевой ткани можно неинвазивным методом, например, магнитно-резонансной визуализацией. Сфокусированный ультразвук (ФУЗ) под управлением магнитно-резонансной термометрии делает возможным контролируемое местное нагревание тканей.

Целостность липосомальной мембраны может изменяться за счет термочувствительных липидов, которые при воздействии локальной гипертермии переходят из геля в жидкокристаллическое состояние, образуя поры, позволяющие вытекать включенному лекарству. Кроме того, разрабатываются составы, содержащие сополимеры, например, N-изопропилакриламида и акрилоилпирролидина с нижней критической температурой смещения около 38 °С. При прогревании опухоли выше этой температуры (42 °С) происходит расслаивание полимера и липидов мембраны, инициирующее вытекание липосомального содержимого. Используя термочувствительность полоксамеров, их включают внутрь водной фазы липосом. В случае нагрева молекулы этих поверхностно-активных соединений разрушают липосомальную мембрану, высвобождая внутреннее содержимое.

В настоящее время одна из композиций липидов выбрана для получения термолипосомальной лекарственной формы доxorубина в виде препарата «ThermoDox» (Duke University, Celsion, США), который проходит 1-ю стадию клинических испытаний при лечении рака печени и местнораспространенного рака молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Тагер А.А.* Физикохимия полимеров. – М.: Химия, 1978. – 544 с.
2. Химическая энциклопедия под ред. Н.С. Зефирова. – Т. 5. – М.: Большая Российская энцикл., 1999. – С. 516–517.
3. *Alberts D.S., Garcia D.J.* Safety aspects of pegylated liposomal doxorubicin in patients with cancer // *Drugs.* – 1997. – 54. – P. 30–35.
4. *Alexandridis P., Holzwarth J.F., Hatton T.A.* A correlation for the estimation of critical micellization concentrations and temperatures of polyols in aqueous solutions // *J. Am. Oil Chem. Soc.* – 1995. – 72. – P. 823–826.
5. *Alexandridis P., Holzwarth J.F., Hatton T.A.* Micellization of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock co-polymers in aqueous solutions – thermodynamics of copolymer association // *Macromolecules.* – 1994. – 27. – P. 2414–2425.
6. *Allen T.M., Cullis P.R.* Drug delivery systems: entering the mainstream // *Science.* – 2004. – 303. – P. 1818–1822.
7. *Anderson V.C., Thompson D.H.* Triggered release of hydrophilic agents from plasmalogen liposomes using visible light or acid // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1992. – 1109(1). – P. 33–42.
8. *Anscher M.S., Samulski T.V., Dodge R. et al.* Combined external beam irradiation and external regional hyperthermia for locally advanced adenocarcinoma of the prostate // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1997. – 37. – P. 1059–1065.
9. *Anyarambhatla G.R., Needham D.* Enhancement of the phase transition permeability of DPPC liposomes by incorporation of MPPC, a new temperature-sensitive liposome for use with mild hyperthermia // *J. Liposome Res.* – 1999. – 9. – P. 491–506.
10. *Bandak S., Goren D., Horowitz A. et al.* Pharmacological studies of cisplatin encapsulated in long-circulating liposomes in mouse tumor models // *Anticancer Drugs.* – 1999. – 10. – P. 911–920.
11. *Bassett J.B., Anderson R.U., Tacker J.R.* Use of temperature-sensitive liposomes in the selective delivery of methotrexate and cis-platinum analogues to murine bladder tumor // *J. Urol.* – 1986. – 135. – P. 612–615.
12. *Bauer K., Henle K.* Arrhenius analysis of heat survival curves from normal and thermotolerant CHO cells // *Radiat. Res.* – 1979. – 78(2). – P. 251–263.
13. *Bisby R.H., Mead C., Morgan C.G.* Photosensitive liposomes as “cages” for laser-triggered solute delivery, the effect of bilayer cholesterol on kinetics of solute release // *FEBS Lett.* – 1999. – 463. – P. 165–168.
14. *Bloembergen N., Purcell E.M., Pound R.V.* Relaxation effects in nuclear magnetic resonance absorption // *Phys. Rev.* – 1948. – 73. – P. 679–721.
15. *Blume G., Cevc G.* Liposomes for the sustained drug release in vivo // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1990. – 1029. – P. 91–97.
16. *Castile J.D., Taylor K.M.G., Buckton G.* A high sensitivity differential scanning calorimetry study of the interaction between poloxamers and dimyristoylphosphatidylcholine and dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes // *Int. J. Pharm.* – 1999. – 182. – P. 101–110.
17. *Castile J.D., Taylor K.M.G., Buckton G.* The influence of incubation temperature and surfactant concentration on the interaction between dimyristoylphosphatidylcholine liposomes and poloxamer surfactants // *Int. J. Pharm.* – 2001. – 221. – P. 197–209.
18. *Chandaroy P., Sen A., Hui S.W.* Temperature-controlled content release from liposomes encapsulating Pluronic F127 // *J. Control. Release.* – 2001. – 76. – P. 27–37.
19. *Connor J., Huang L.* Efficient cytoplasmic delivery of a fluorescent dye by pH-sensitive immunoliposomes // *J. Cell Biol.* – 1985. – 101. – P. 582–589.

20. *Delannoy J., Chen C., Turner R. et al.* Noninvasive temperature imaging using diffusion MRI // *Magn. Reson. Med.* – 1991. – 19(2). – P. 333–339.
21. *Dewhirst M.W., Prosnitz L., Thrall D. et al.* Hyperthermic treatment of malignant diseases: current status and a view toward the future // *Semin. Oncol.* – 1997. – 24. – P. 616–625.
22. *Drummond D.C., Zignani M., Leroux J.* Current status of pH-sensitive liposomes in drug delivery // *Prog. Lipid Res.* – 2000. – 39. – P. 409–460.
23. *Falk M., Issels R.* Hyperthermia in oncology // *Int. J. Hyperthermia.* – 2001. – 17(1). – P. 1–18.
24. *Fossheim S.L., Il'yasov K.A., Hennig J., Bjornerud A.* Thermosensitive paramagnetic liposomes for temperature control during MR imaging-guided hyperthermia: in vitro feasibility studies // *Acad. Radiol.* – 2000. – 7. – P. 1107–1115.
25. *Fuller K., Issels R., Slosman D. et al.* Cancer and the heat shock response // *Eur. J. Cancer.* – 1994. – 30A(12). – P. 1884–1891.
26. *Gaber M.H., Hong K., Huang S.K., Papahadjopoulos D.* Thermosensitive sterically stabilized liposomes: formulation and in vitro studies on mechanism of doxorubicin release by bovine serum and human plasma // *Pharm. Res.* – 1995. – 12. – P. 1407–1416.
27. *Gaber M.H., Wu N.Z., Hong K. et al.* Thermosensitive liposomes: extravasation and release of contents in tumor microvascular networks // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1996. – 36. – P. 1177–1187.
28. *Grossweiner L.I., Patel A.S., Grossweiner J.B.* Type I and type II mechanisms in the photosensitized lysis of phosphatidylcholine liposomes by hematoporphyrin // *Photochem. Photobiol.* – 1982. – 36. – P. 159–167.
29. *Hahn G.M., Braun J., Har-Kedar I.* Thermochemotherapy: synergism between hyperthermia (42–43 degrees) and adriamycin (of bleomycin) in mammalian cell inactivation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1975. – 72. – P. 937–940.
30. *Han H.D., Choi M.S., Hwang T. et al.* Hyperthermia-induced antitumor activity of thermosensitive polymer modified temperature-sensitive liposomes // *J. Pharm. Sci.* – 2006. – 95(9). – P. 1909–1917.
31. *Herman T.S.* Temperature dependence of adriamycin, cis-diamminedichloroplatinum, bleomycin, and 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea cytotoxicity in vitro // *Cancer Res.* – 1983. – 43. – P. 517–520.
32. *Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O. et al.* The cellular and molecular basis of hyperthermia // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2002. – 43. – P. 33–56.
33. *Hindman J.C.* Proton resonance shift of water in the gas and liquid states // *J. Chem. Phys.* – 1966. – 44. – P. 4582–4592.
34. *Hossann M., Reinl H.M., Wang T.* Complex formation of Mn(II) and DPPGOG in Longcirculating Thermosensitive Liposomes for Noninvasive Thermometry // 23rd Annual Meeting of the European Society for Hyperthermic Oncology, Berlin. – 2006. – P. 26–27.
35. *Kao Y.J., Loo T.L.* Pharmacological disposition of negatively charged phospholipid vesicles in rats // *J. Pharm. Sci.* – 1980. – 69. – P. 1338–1340.
36. *Kato H., Koyama T., Nikawa Y., Saito M.* Research and development of hyperthermia machines for present and future clinical needs // *Int. J. Hyperthermia.* – 1998. – 14(1). – P. 1–11.
37. *Kibat P.G., Igari Y., Wheatley M.A. et al.* Enzymatically activated microencapsulated liposomes can provide pulsatile drug release // *FASEB J.* – 1990. – 4. – P. 2533–2539.
38. *Kim J.-C., Bae S.K., Kim J.-D.* Temperature sensitivity of liposomal lipid bilayers mixed with poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) // *J. Biochem.* – 1997. – 121. – P. 15–19.
39. *Kim J.-C., Kim J.-D.* Release property of temperature-sensitive liposome containing poly(N-isopropylacrylamide) // *Colloids surf., B. Biointerfaces.* – 2002. – 24(1). – P. 45–52.
40. *Kirby C., Clarke J., Gregoriadis G.* Cholesterol content of small unilamellar liposomes controls phospholipid loss to high density lipoproteins in the presence of serum // *FEBS Lett.* – 1980. – 111. – P. 324–328.
41. *Kong G., Anyarambhatla G., Petros W.P. et al.* Efficacy of liposomes and hyperthermia in a human tumor xenograft model: importance of triggered drug release // *Cancer Res.* – 2000. – 60. – P. 6950–6957.
42. *Kong G., Braun R.D., Dewhirst M.W.* Characterization of the effect of hyperthermia on nanoparticle extravasation from tumor vasculature // *Cancer Res.* – 2001. – 61. – P. 3027–3032.
43. *Kong G., Braun R.D., Dewhirst M.W.* Hyperthermia enables tumorspecific nanoparticle delivery: effect of particle size // *Cancer Res.* – 2000. – 60. – P. 4440–4445.
44. *Kong G., Dewhirst M.W.* Hyperthermia and liposomes // *Int. J. Hypertherm.* – 1999. – 15. – P. 345–370.
45. *Kono K.* Thermosensitive polymer-modified liposomes // *Adv. Drug Del. Rev.* – 2001. – 53. – P. 301–319.
46. *Kono K., Hayashi H., Takagishi T.* Temperature-sensitive liposomes: liposomes bearing poly-N-isopropylacrylamide // *J. Control. Release.* – 1994. – 30. – P. 69–75.
47. *Kono K., Murakami T., Yoshida T. et al.* Temperature Sensitization of Liposomes by Use of Thermosensitive Block Copolymers Synthesized by Living Cationic Polymerization: Effect of Copolymer Chain Length // *Bioconjugate Chem.* – 2005. – 16(6). – P. 1367–1374.
48. *Kono K., Nakai R., Morimoto K., Takagishi T.* Thermosensitive polymer-modified liposomes that release contents around physiological temperature // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – 1416. – P. 239–250.
49. *Kostarelos K., Luckham P.P., Tadros T.F.* Addition of (tri-) block copolymers to phospholipid vesicles: a study of the molecular morphology and structure using hydrophobic dye molecules as bilayer probes // *J. Colloid. Interface Sci.* – 1997. – 191. – P. 341–348.
50. *Kostarelos K., Luckham P.P., Tadros T.F.* Addition of block copolymers to liposomes prepared using soybean lecithin, effects on formation, stability and the specific localization of the incorporated surfactants investigated // *J. Liposome Res.* – 1995. – 5. – P. 117–130.
51. *Lasic D.D., Martin F.J., Gabizon A. et al.* Sterically stabilized liposomes: a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation times // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1991. – 1070. – P. 187–192.

52. Laverman P., Boerman O.C., Oyen W.J.G. et al. In vivo applications of PEG liposomes: unexpected observations // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* – 2001. – 18. – P. 551–566.
53. Laverman P., Carstens M.G., Boerman O.C. et al. Factors affecting the accelerated blood clearance of polyethylene glycol-liposomes upon repeated injection // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – 298. – P. 607–612.
54. Le Bihan D., Delannoy J., Levin R. Temperature mapping with MR imaging of molecular diffusion: application to hyperthermia // *Radiology.* – 1989. – 171(3). – P. 853–857.
55. Leopold K.A., Oleson J.R., Clarke-Pearson D. et al. Intraperitoneal cisplatin and regional hyperthermia for ovarian carcinoma // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1993. – 27. – P. 1245–1251.
56. Lindner L.H., Eichhorn M.E., Eibl H. et al. Novel Temperature-Sensitive Liposomes with Prolonged Circulation Time // *Clinical Cancer Research.* – 2004. – 10. – P. 2168–2178.
57. Lopez A.M., Wallace L., Dorr R.T. et al. Topical DMSO treatment for pegylated liposomal doxorubicin-induced palmar-plantar erythrodysesthesia // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 1999. – 44. – P. 303–306.
58. Lyass O., Uziely B., Ben-Yosef R. et al. Correlation of toxicity with pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin (Doxil) in metastatic breast carcinoma // *Cancer.* – 2000. – 89. – P. 1037–1047.
59. Maruyama K., Unezaki S., Takahashi N., Iwatsuru M. Enhanced delivery of doxorubicin to tumor by long-circulating thermosensitive liposomes and local hyperthermia // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1993. – 1149. – P. 209–216.
60. Meyer O., Papahadjopoulos D., Leroux J.C. Copolymers of N-isopropylacrylamide can trigger pH sensitivity to stable liposomes // *FEBS Lett.* – 1998. – 421. – P. 61–64.
61. Mills J.K., Eichenbaum G., Needham D. Effect of bilayer cholesterol and surface grafted poly(ethylene glycol) on pH-induced release of contents from liposomes by poly(2-ethylacrylic acid) // *J. Liposome Res.* – 1999. – 9. – P. 275–290.
62. Needham D., Anyarambhatla G., Kong G., Dewhirst M.W. A new temperature-sensitive liposome for use with mild hyperthermia: characterization and testing in a human tumor xenograft model // *Cancer Res.* – 2000. – 60. – P. 1197–1201.
63. Needham D., Dewhirst M.W. The development and testing of a new temperature-sensitive drug delivery system for the treatment of solid tumors // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – 53. – P. 285–305.
64. Needham D., McIntosh T.J., Lasic D.D. Repulsive interactions and mechanical stability of polymer-grafted lipid membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1992. – 1108. – P. 40–48.
65. Parker D., Smith V., Sheldon P. et al. Temperature distribution measurements in two-dimensional NMR imaging // *Med. Phys.* – 1983. – 10(3). – P. 321–325.
66. Pidgeon C., Hunt C.A. Light sensitive liposomes // *Photochem. Photobiol.* – 1983. – 37. – P. 491–494.
67. Salomir R., Palussiére J., Fossheim S. et al. In vivo Feasibility of Local Drug Delivery using Thermosensitive Liposomes and MR-Guided Local Hyperthermia // *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* – 2003. – 11. – P. 82.
68. Samulski T., MacFall J., Zhang Y. et al. Non-invasive thermometry using magnetic resonance diffusion imaging: potential for application in hyperthermic oncology // *Int. J. Hyperthermia.* – 1992. – 8(6). – P. 819–829.
69. Sapareto S., Dewey W. Thermal dose determination in cancer therapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1984. – 10(6). – P. 787–800.
70. Sapozink M., Gibbs F., Sandhu T. Practical thermal dosimetry // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1985. – 11(3). – P. 555–560.
71. Schagon O. Liposomen als potentielle Arzneistoffträger: Variation der biopharmazeutischen Eigenschaften durch 1,2-Dipalmitoyl-snglycero-3-phospho-oligo-glycerine. Braunschweig: Technische Universität; 1996.
72. Shum P., Kim J.M., Thompson D.H. Phototriggering of liposomal drug delivery systems // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – 53. – P. 273–284.
73. Straubinger R.M., Duzgunes N., Papahadjopoulos D. pH-sensitive liposomes mediate cytoplasmic delivery of encapsulated macromolecules // *FEBS Lett.* – 1985. – 179. – P. 148–154.
74. Tardi P.G., Ickenstein L.M., Bally M.B., Mayer L.D. The development of liposomes for enhanced delivery of chemotherapeutics to tumors. In: M. Page (Ed.), *Cancer Drug Discovery and Development: Tumor Targeting in Cancer Therapy.* – Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2002. – P. 119–135.
75. Thompson D.H., Gerasimov O.V., Wheeler J.J. et al. Triggerable plasmalogen liposomes, improvement of system efficiency // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1996. – 1279. – P. 25–34.
76. Tomita T., Watanabe M., Takahashi T. et al. Temperature-sensitive release of adriamycin, an amphiphilic antitumor agent, from dipalmitoylphosphatidylcholine-cholesterol liposomes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1989. – 978. – P. 185–190.
77. Unezaki S., Maruyama K., Takahashi N. et al. Enhanced delivery and antitumor activity of doxorubicin using long-circulating thermosensitive liposomes containing amphipathic polyethylene glycol in combination with local hyperthermia // *Pharm. Res.* – 1994. – 11. – P. 1180–1185.
78. Unger E.C., McCreery T.P., Sweitzer R.H. et al. Acoustically active lipospheres containing paclitaxel: a new therapeutic ultrasound contrast agent // *Invest. Radiol.* – 1998. – 33. – P. 886–892.
79. Vaupel P. Biological Basis of Oncologic Thermo-therapy. In: Gautherie M, ed., *Pathophysiological mechanisms of hyperthermia in cancer therapy.* – Berlin: Springer, 1990. – P. 74–134.
80. Vermehren C., Kiebler T., Hylander I. et al. Increase in phospholipase A₂ activity towards lipopolymer-containing liposomes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – 1373. – P. 27–36.
81. Viglianti B.L., Abraham S.A., Michelich C.R. et al. In vivo monitoring of tissue pharmacokinetics of liposome / drug

- using MRI: illustration of targeted delivery // *Magn. Reson. Med.* – 2004. – 51. – P. 1153–1162.
82. *Viroonchatapan E., Sato H., Ueno M. et al.* Microdialysis assessment of 5-fluorouracil release from thermosensitive magnetoliposomes induced by an electric field in tumor-bearing mice // *J. Drug Target.* – 1998. – 5. – P. 379–390.
83. *Wang T., Hossann M., Reinl H.M. et al.* Temperature Dependence of T_1 Relaxation Time of New Long-Circulating Thermosensitive Liposomes with Encapsulated Gadodiamide // 23rd Annual Meeting of the European Society for Hyperthermic Oncology, Berlin. – 2006. – P. 10–11.
84. *Wells J., Sen A., Wen Hui S.* Localized delivery to CT-26 tumors in mice using thermosensitive liposomes // *International Journal of Pharmaceutics.* – 2003. – 261. – P. 105–114.
85. *Wendtner C.M., Abdel-Rahman S., Krych M. et al.* Response to neoadjuvant chemotherapy combined with regional hyperthermia predicts long-term survival for adult patients with retroperitoneal and visceral high-risk soft tissue sarcomas // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – 20. – P. 3156–3164.
86. *Wiedemann G.J., Robins H.I., Katschinski D.M. et al.* Systemic hyperthermia and ICE chemotherapy for sarcoma patients: rationale and clinical status // *Anticancer Res.* – 1997. – 17. – P. 2899–2902.
87. *Wymer N.J., Gerasimov O.V., Thompson D.H.* Cascade liposomal triggering: light induced Ca^{2+} release from dipalmitoylcholine liposomes triggers PLA2-catalyzed hydrolysis and contents leakage from DPPC liposomes // *Bioconj. Chem.* – 1998. – 9. – P. 305–308.
88. *Yatvin M.B., Kreutz W., Horwitz B., Shinitzky M.* Induced drug release from lipid vesicles in serum by pH-change // *Biophys. Struct. Mech.* – 1980. – 6. – P. 233–234.
89. *Yatvin M.B., Kreutz W., Horwitz B.A., Shinitzky M.* pH sensitive liposomes: possible clinical implications // *Science.* – 1980. – 210. – P. 1253–1255.
90. *Yatvin M.B., Weinstein J.N., Dennis W.H., Blumenthal R.* Design of liposomes for enhanced local release of drugs by hyperthermia // *Science.* – 1978. – 202. – P. 1290–1293.
91. *Zignani M., Drummond D.C., Meyer O. et al.* In vitro characterization of a novel polymeric-based pH-sensitive liposome system // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – 1463. – P. 383–394.
92. *Zwart J.A., Salomir R., Vimeux F. et al.* On The Feasibility Of Local Drug Delivery Using Thermo-Sensitive Liposomes and MR-Guided Focused Ultrasound // *Proc. Intl. Sot. Mag. Reson. Med.* – 2000. – 8. – P. 43.

Поступила 19.09.2008.

УДК 577.352.2:615.277.3.015.44

O.I. Sakvina, A.Yu. Baryshnikov

THE POTENTIAL OF DRUG-CARRYING IMMUNOLIPOSOMES AS ANTICANCER AGENTS

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

ABSTRACT

In this review we attempt to show how to optimize delivery of chemotherapeutic agents to solid tumor. It is widely accepted that the accumulation of liposomes in tumors is a result of «leaky» microvascularization. Recent data suggest the window for optimal drug delivery should be 70 — 180 nm. The drug delivery increases about 6-fold when liposomes are conjugated with monoclonal antibody in compare to sterically stabilized liposomes. These immunoliposomes were shown to be endocytosed by tumor cells. The data accumulate that immunoliposomes prepared by conjugation with single strand antibody are highly specific and less immunogenic toward antigen producing tumor cells.

Key words: liposome, immunoliposome, targeted anticancer drug delivery.

O.I. Sakvina, A.Yu. Baryshnikov

ЛИПОСОМЫ В НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

РЕЗЮМЕ

Обзор современного состояния проблемы направленной доставки лекарственных препаратов в опухоль. Особенности неоваскуляризации опухолевой ткани позволяют селективно накапливаться в ней наночастицам размером 70 — 180 нм. Моноклональные антитела в 6 раз увеличивают проникновение иммунолипосом в опухолевые клетки по сравнению с обычными стерически стабилизированными липосомами. Терапевтический эффект достигается не за счет преимущественного попадания иммунолипосом в опухоль, а за счет эндоцитоза липосом, конъюгированных с моноклональными антителами. Перспективы разработки иммунолипосом заключаются в использовании одноцепочечных антител, которые не иммуногенны для организма человека.

Ключевые слова: липосомы, иммунолипосомы, направленная доставка, антитела.

ВВЕДЕНИЕ

Низкая избирательность противоопухолевого действия цитотоксических препаратов приводит к дозозависимому эффекту, ограничивающему их применение в клинике. Чем больше доза препарата, тем выше терапевтический эффект и тем больше токсических проявлений [4]. Противоопухолевые препараты отличаются от других лекарств высокой агрессивностью, химической нестабильностью во внешней среде и сильным местнораздражающим действием. В связи с этим большинство препаратов выпускаются в виде жидких или лиофилизированных растворов и применяются в виде внутривенных инфузий. Эти свойства могут меняться с изменением лекарственной формы препарата и путей его введения. Терапевтические подходы к совершенствованию химиотерапии рака сфокусированы на разработке новых систем доставки лекарств непосредственно к злокачественной клетке без повреждения нормальной ткани.

ЛИПОСОМЫ

Более 30 лет изучаются липосомы как средство доставки противоопухолевых препаратов [3; 4; 8]. Липосомы представляют собой шарообразную фосфолипидную мембрану, содержащую внутри воду. Они делятся на 3 основных типа на основе их размера и количества слоев. Многослойные везикулы содержат несколько липидных слоев, отделенных друг от друга водным пространством, и отличаются гетерогенностью в размере, который часто колеблется от нескольких сотен до тысяч нанометров в диаметре. С другой стороны, как малые, так и большие однослойные липосомы содержат 1 липидный слой, окружающий водную фазу. Малые однослойные липосомы имеют размер менее 100 нм, а большие — больше 100 нм в диаметре. Гидрофильное лекарство можно включить в водную фазу, а гидрофобное — в липидный слой [4; 11].

Включение лекарства в липосомы может изменить фар-

макокинетику и биораспределение препарата, приводящее к повышению эффективности противоопухолевой терапии и снижению токсичности [4; 51; 73]. Кроме того, липосомы преодолевают множественную лекарственную устойчивость (MDR) [66].

Введенный внутривенно свободный лекарственный препарат быстро разводится в большом объеме крови, его содержание в плазме снижается, и с опухолевыми клетками контактирует лекарство на низком уровне. Напротив, липосомы способны доставить в опухоль большое количество лекарства, достаточное для эффективного противоопухолевого действия.

Первым липосомальным препаратом, хорошо исследованным в эксперименте, стал доксорубин. Рядом авторов проведено исследование токсичности доксорубина, введенного в свободной и липосомальных формах, изучено его накопление в сыворотке крови, печени, сердечной мышце, костном мозге, костях, почках. Была обнаружена более благоприятная фармакокинетика липосомального доксорубина по сравнению со свободным доксорубином. Показано, что содержание липосомальной формы доксорубина в крови спустя 5 ч после его введения превышает содержание свободного в 1,5 – 2 раза. Площадь под кривой после введения 50 мг/м² доксорубина, инкапсулированного в липосомы, была в 100 раз больше, чем свободного доксорубина. Клиренс препарата был снижен в 50 раз [21].

Первым липосомальным препаратом, нашедшим применение в клинике, также является липосомальный доксорубин, который в различных странах, включая Россию, применяется при саркоме Капоши, раке молочной железы, яичников, эндометрия [21; 26; 45; 56; 65; 66; 81].

Введенные в кровоток липосомы быстро захватываются фагоцитирующими клетками ретикулоэндотелиальной системы. В печени они попадают в клетки Купфера, в селезенке фагоцитируются макрофагами. Для преодоления быстрого захвата фагоцитами липосом был предложен метод пегилирования, т.е. присоединения к поверхности липосом полиэтиленгликоля, который создает повышенное осмотическое давление и тем самым препятствует контакту липосом с фагоцитирующими клетками. Период полувыведения таких липосом у грызунов увеличился с 15 ч до 24 ч и больше 45 ч у человека.

НЕОАНГИОГЕНЕЗ КАК ОСНОВА ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОЙ ДОСТАВКИ В ОПУХОЛЬ НАНОПРЕПАРАТОВ

Накопление липосом в опухолевой ткани зависит от проницаемости ее кровеносных сосудов [9; 52; 66]. Неангиогенез в опухоли имеет ряд особенностей [2; 7; 33]. Эндотелиальные клетки опухолевых сосудов пролиферируют в 30 – 40 раз быстрее, чем эндотелиальные клетки сосудов нормальных тканей. Из-за высоких потребностей в кислороде, питательных веществах, газовом обмене и удалении продуктов метаболизма растущие опухоли создают хаотически расположенные капилляры с очень высокой проницаемостью. Для капилляров солидных опухолей характерны большие поры между эндотелиальными клетками (380 – 780 нм, до 1,2 мкм в зависимости от типа опухоли), что приводит к повышенной проницаемости опухолевых капилляров по сравнению с капиллярами в нормальных

тканях (последние обнаруживают функциональную проницаемость наночастиц размером около 7 нм). Эта очевидная разница в проницаемости кровеносных сосудов нормальных тканей и опухолей является положительным фактором, создающим возможность нацеливания на опухоли липосом, которые не проникают через эндотелиальный барьер в здоровых тканях, но эффективно проникают в опухоль. Разные участки одной и той же опухоли могут отличаться по скорости и степени проникновения липосом, что создает барьер для эффективной химиотерапии. Хаотично расположенные опухолевые капилляры в областях низкого кровоснабжения создают другой барьер на пути однородной доставки лекарственных препаратов в опухолевые клетки.

Периферия опухоли — самая васкуляризованная область, тогда как центр опухоли обычно плохо васкуляризован и потому некротизирован. Опухолевые клетки выживают на расстоянии примерно 110 мкм от кровеносного сосуда. Для того, чтобы все опухолевые клетки получили достаточное количество препарата, молекулы препарата или нагруженные препаратом липосомы должны пройти через интерстициальное пространство опухоли к отдаленным клеткам. Другими словами, липосомы способны преодолевать вышеуказанные барьеры и избирательно накапливаться в опухоли. Обычный препарат одинаково попадает в нормальную и опухолевую ткани, и нет избирательного накопления лекарства в опухоли. Следует учесть, что противоопухолевые препараты — яды, они разрушают как опухолевые, так и нормальные ткани. Уровень накопления липосом в опухоли зависит от их размера: частицы диаметром более 300 нм в опухоль не попадают [1].

МИШЕНИ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ПРЕПАРАТОВ

Поры в сосудах обеспечивают пассивную доставку препарата в опухоль. Активную доставку в опухолевую клетку обеспечивают прикрепленные к ним моноклональные антитела или лиганды, которые связываются с опухолевыми клетками и не взаимодействуют с нормальными [5; 38; 51].

Новым этапом в развитии липосомальной технологии стал метод присоединения специфических лигандов к концу ПЭГ. Благодаря этому методу стало возможным селективно доставлять препарат непосредственно к опухолевой клетке, т.е. сделать любой препарат таргетным [51]. В качестве лигандов используют моноклональные антитела, одноцепочные антитела, пенетрирующие в клетку пептиды [12; 13; 30; 34; 43; 69]. Стерически стабилизированные иммунолипосомы оказывали большее цитотоксическое действие на специфические клетки-мишени, чем обычные липосомы [10; 11; 51; 76]. Иммунолипосомы несут больше молекул лекарства, чем моноклональные антитела, конъюгированные с препаратом. Так, например, к одной молекуле антитела можно присоединить 10 молекул лекарства, тогда как в иммунолипосомы можно включить несколько сотен таких молекул [10; 18; 22; 46]. Это повышает терапевтическую эффективность, снижает побочные эффекты, ассоциированные с антителами, и уменьшает стоимость лечения.

Мишенью действия иммунолипосом могут быть различные поверхностные мембранные антигены, хорошо представленные на опухолевых клетках вновь образующихся сосудов в опухоли и отсутствующие на нормальных

клетках. В настоящее время в мире в клинических протоколах испытываются около 150 моноклональных антител против различных опухолеассоциированных антигенов [61]. Некоторые иммуноконъюгаты моноклональных антител, ковалентно связанных с молекулами лекарства, токсинов или радиоизотопов, уже являются коммерческими препаратами и используются в клинике [35; 71; 80]. Это — Zevalin (ibritumomab), Веххар (^{131}I -tositumomab, Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin). Разрабатываемые иммунолипосомы направлены против антигенов Her2/neu, CD5, CD19, CD20, CD25, CD33, CD105, HLA-DR, Muc-1, VGFR, EGFR, VCAM и др. [6; 14; 24; 28; 47; 62; 72].

Кроме вышеперечисленных антигенов, мишенью для иммунолипосом может быть матриксная металлопротеаза матриксного 1 типа, которая является важным белком, имеющим отношение к опухолевому росту и образованию новых сосудов [14]. Эта матриксная протеаза относится к семейству цинк-зависимых матриксных протеаз. Они требуются для деградации экстрацеллюлярного матрикса, инвазии и миграции эндотелия, образования капиллярных трубочек и рекруции поддерживающих клеток. Экспрессия этой металлопротеазы коррелировала с повышенной злокачественностью различных опухолей, включая рак легкого, желудка, толстой кишки, молочной железы, шейки матки и меланому. Она играет большую роль в ангиогенезе и метастазировании опухолей [25; 68]. Эта металлопротеаза интернализуется в опухолевых клетках, что делает ее предпочтительной мишенью для направленной доставки противоопухолевых препаратов.

Многообещающей мишенью для таргетной терапии опухолей является фолатный рецептор, который сверхэкспрессирован на опухолевых клетках и способен связывать и интернализировать конъюгированную фолиевую кислоту [27; 79]. Среди 3 изоформ рецептора бета рецептор экспрессирован на бластных клетках больных острым миелобластным лейкозом и отсутствует на гранулоцитах. Конъюгированные с фолатом липосомы, несущие доxorubicin, эффективно убивают рецептор-положительные линии клеток KG1 и L1210JF, но не оказывают действия на рецептор-отрицательные клетки KG1a и L1210.

Эффект действия липосом повышается, если они направлены против 2 мишеней [59; 74]. Это может быть достигнуто при использовании или одновременно 2 моноклональных антител, или антитела, которое реагирует с опухолевыми и эндотелиальными клетками. Эндотелиальные клетки вновь образованных сосудов в опухоли являются хорошей мишенью для действия иммунолипосом. Исследованиями последних лет установлено, что вновь образованные сосуды имеют антигены, которые отсутствуют или присутствуют на неопределяемом уровне в нормальных сосудах [29]. К ним относятся альфа интегрины, рецепторы для ангиогенных факторов роста, аминокептидаза N (CD13) и A [31; 48; 58]. Матриксная металлопротеиназа 1 типа является одним из представителей этих мишеней. Моноклональные антитела против матриксной металлопротеиназы 1 типа реагировали с опухолевыми клетками и эндотелием вновь образующихся сосудов. Иммунолипосомы, основанные на этих антителах, показали хорошие результаты в экспериментах *in vitro* [14].

Другой подход к усилению терапевтического действия иммунолипосом заключается в использовании смеси из 2 типов иммунолипосом, направленных против опухолеассо-

циированных антигенов и антигенов кровеносных сосудов [59]. Иммунолипосомы, направленные против дисаialogликозидного рецептора GD_2 и нагруженные доxorubicinom, вводили голым мышам с ксенотрансплантатом человеческой нейробластомы в сочетании с липосомами, связанными с NGR-пептидом (опухоль-специфическая изоформа антигена CD13), который является маркером аминокептидазы N на ангиогенных эндотелиальных клетках. Авторы получили хороший терапевтический эффект, проявившийся в регрессии опухоли, деструкции опухолевых сосудов и увеличении продолжительности жизни мышей с ортотопическими трансплантатами человеческой нейробластомы.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

На 1-м этапе разработки иммунолипосом использовали мышинные цельные моноклональные антитела. Однако позже было установлено, что цельные моноклональные антитела мышинной природы вызывают индукцию иммунного ответа, который приводит к нейтрализации введенных антител [16]. Он индуцируется Fc-фрагментом антител [40]. Кроме того, в организме происходит более интенсивное удаление липосом путем захвата клетками ретикулоэндотелиальной системы через Fc-рецептор на макрофагах [40]. Частично эта проблема снимается использованием F(sab')²- и Fab'-фрагментов, так как Fc-фрагмент можно протеолитически отщепить. Кроме того, появилась методическая возможность получать рекомбинантные формы антител, содержащие только F(sab')²- и Fab'-фрагменты или даже одноцепочные Fv'-фрагменты [41, 50]. Удаление Fc-фрагмента угнетает иммуногенность и улучшает терапевтическую эффективность иммунолипосом [67]. Fab'-фрагменты (мол. масса 55 кДа) и одноцепочные Fv'-антитела (мол.масса 35 кД) вообще не иммуногенны [29].

Кардинальным образом проблема решается использованием гуманизированных моноклональных или человеческих антител. Прогресс в инженерной технологии привел к появлению различных методов получения человеческих антител. Эти подходы позволили изолировать молекулы человеческих антител с угнетенной иммуногенностью или полным ее отсутствием [37]. Технологией фагового дисплея может быть получено большое количество антител против различных антигенов, пригодных для таргетной терапии [20; 24; 32; 37; 50; 55; 63]. Как правило, эти антитела являются одноцепочными Fv (scFv) фрагментами. Этот формат представляет собой наименьшую часть антитела с полной антиген-связывающей способностью и поэтому достаточен для генерации таргетных препаратов. В связи с этим одноцепочные антитела подходят для генерации иммунолипосом [17; 24; 32; 41; 50; 54; 63].

Для создания иммунолипосом требуется модификация молекулы антител. Модифицировать моноклональные антитела довольно трудно. Одноцепочные антитела позволяют легко включать новые аминокислотные последовательности. Наиболее часто включают 2 – 3 цистеиновых остатка в C-терминальный конец, который позволяет конъюгировать с сульфгидрильными реагентами [42; 49; 53; 57; 70; 77].

Малые молекулы попадают в клетки по специфическим транспортным механизмам или в процессе пассивной диффузии. В противоположность этому макромолекулы попадают в клетки, вовлекая в процесс опосредованный ре-

цептором эндоцитоз или пиноцитоз [15; 60]. Этот процесс вовлекает взаимодействие между лигандом и рецептором [64; 78]. Преимущество имеют те антитела, которые индуцируют пиноцитоз комплекса антиген-иммунолипосомы. Идеальным условием для создания иммунолипосом является способность к пиноцитозу комплекса антиген-антитело, так как не все антигены способны попадать вовнутрь клетки после контакта с антителом. Во многих исследованиях показано, что связывание иммунолипосом, несущих препарат, с эпитопом, способным к интернализации, приводит к эффективному попаданию лекарства в клетку и обеспечивает хороший терапевтический эффект [19; 23; 36; 39; 44]. Более того, в исследованиях, проведенных Kirpotin D.B. et al. [38], было показано, что накопление иммунолипосом в опухоли не отличается от накопления обычных липосом, поскольку они накапливаются в строме. Однако интернализация иммунолипосом была в 6 раз выше, чем обычных липосом или иммунолипосом, направленных к отсутствующим на опухоли антигенам.

Высвобождение лекарства из наноносителей является центральной проблемой химиотерапии рака [3; 51]. Оказалось, что далеко не все наночастицы способны освободить препарат при попадании в опухолевую ткань. Наиболее подходящи для этой цели липосомы и полимерные носители, но последние имеют низкую степень включения препарата [4; 51]. Липосомы способны доставить большое количество лекарственного вещества в опухоль, однако только небольшая фракция освобожденного вещества может проникнуть внутрь опухолевой клетки. Это зависит от времени освобождения лекарства в опухоли и скорости диффузии освобожденного вещества через поверхностную мембрану клетки. Использование иммунолипосом, направленных против интернализирующихся антигенов, решает эту проблему [26; 75]. Однако не все антигены интернализируются после связывания с антителом и не всегда можно создать иммунолипосому. Другим оригинальным подходом для быстрого освобождения препарата из липосомы в опухолевую ткань является разработка Ph-зависимых и термозависимых липосом [18]. Последние стабильны при 37 °С, но разрушаются при 42,5 °С [4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имунолипосомы активно изучаются в течение последних 10 лет. Однако до сих пор эти работы ограничивались интенсивными доклиническими исследованиями, и ни один иммунолипосомальный препарат не включался в клинические испытания. Это можно объяснить боязнью получить осложнения при использовании мышиных моноклональных антител как векторов доставки. В последние годы ситуация резко изменилась. Неиммуногенные одноцепочечные антитела стали доступным инструментом в руках исследователей. Кроме того, их легко модифицировать и присоединять к липосомам. Можно ожидать бурного прорыва в этой области и появления нового поколения иммунолипосомальных препаратов в практике онкологических клиник.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуревич Д.Г., Меерович И.Г., Меерович Г.А. и др. Влияние размеров липосом на уровень и селективность накопления тиосенса в опухоли // РБЖ. – 2007. – 6(2). – С. 45–49.
2. Степанова Е.В., Барышников А.Ю., Личиницер М.Р. Оценка ангиогенеза опухолей человека // Успехи современной биологии. – 2000. – 120(6). – С. 599–604.
3. Оборотова Н.А. Противоопухолевые субстанции и их лекарственные формы, созданные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – В кн.: Экспериментальная онкология на рубеже веков / Под ред. М.И. Давыдова и А.Ю. Барышникова. – М.: Издательская группа РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2003. – С. 5–58.
4. Оборотова Н.А. Липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов (обзор) // Хим.-фарм. журнал. – 2001 – 35(4). – С. 32–38.
5. Толчева Е.В., Оборотова Н.А. Липосомы как транспортное средство для доставки биологически активных молекул // РБЖ. – 2006. – 5(1). – С. 54–61.
6. Толчева Е.В., Барышников А.Ю., Оборотова Н.А. и др. Анти-CD5-иммунолипосомы как транспортная система для направленной доставки лекарственных препаратов к CD5-положительным клеткам // РБЖ. – 2005. – 4(4). С. 38–43.
7. Черноглазова Е.В., Дбар Ж.Н., Степанова Е.В. Молекулярные механизмы опухолевого неангиогенеза // Успехи современной биологии. – 2004. – 124(5). – С. 480–488.
8. Шалимов С.А., Литвиненко А.С., Дудниченко А.С., Литвиненко А.А. Использование липосомальной формы антибиотиков антрациклинового ряда в лечении экспериментальных форм опухолевых процессов // Украинский химиотерапевтический журнал. – 2004. – 1. – С. 65–68.
9. Adams M.L., Lavasanifar A., Kwon G.S. Amphiphilic block copolymers for drug delivery // J. Pharm. Sci. – 2003. – 92. – P. 1343–1355.
10. Allen T.M. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – 2. – P. 750–763
11. Allen T.M., Cullis P.R. Drug delivery systems: entering the mainstream // Science. – 2004. – 303. – P. 1818–1822
12. Allen T.M., Sapra P., Moase E. Use of the post-insertion method for the formation of ligand-coupled liposomes // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2002. – 7. – P. 889–894.
13. Allen T.M. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – 2. – P.750–763.
14. Atohe K., Ishida T., Ishida E. et al. In Vitro Efficacy of a Sterically Stabilized Immunoliposomes Targeted to Membrane Type 1 Matrix Metalloprotease (MT1-MMP) // Biol. Pharm. Bull. – 2007. – 30. – P. 972–978.
15. Bao G., Bao X.R. Shedding light on the dynamics of endocytosis and viral budding // Proc Natl Acad Sci USA. – 2005. – 102. – P. 9997–9998.
16. Bendas G., Rothe U., Scherphof G.L., Kamps J.A.A.M. The influence of repeated injections on pharmacokinetics and biodistribution of different types of sterically stabilized immunoliposomes // Biochim. Biophys. Acta. – 2003. – 1609. – P. 63–70.
17. Demirovic R.A., Marty C., Console M.S. et al. Targeting human cancer with VEGF receptor-2-directed liposomes // Oncol. Rep. – 2005. – 13. – P. 319–324.

18. *Drummond D.C., Hong H., Park J.B. et al.* Liposome targeting to tumors using vitamin and growth factor receptors // *Vitam. Horm.* – 2000. – 60. – P. 285–332.
19. *Drummond D.C., Zignani M., Leroux J.* Current status of pH-sensitive liposomes in drug delivery // *Prog. Lipid Res.* – 2000. – 39. – P. 409–460.
20. *Backmann N., Zahnd C., Huber F. et al.* A label-free immunosensor array using single-chain antibody fragments // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – 102. – P. 14587–14592.
21. *Gabizon A., Shmeeda H., Barenholz Y.* Pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin – review of animal and human studies // *Clin. Pharmacokinetics.* – 2003. – 42. – P. 419–436.
22. *Carter P.* Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies // *Nat. Rev. Cancer.* – 2001. – 1. – P. 18–129.
23. *Gao H., Shi W., Freund L.B.* Mechanics of receptor-mediated endocytosis // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – 102.
24. *Cheng W.W.K., Das D., Suresh M., Allen T.M.* Expression and purification of two anti-CD19 single chain Fv fragments for targeting of liposomes to CD19-expressing cells // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – 1768. – P. 21–29.
25. *Genis L., Galvez B.G., Gonzalo P., Arooyo A.G.* // *Cancer Metastasis Rev.* – 2005. – 25. – P. 77–86.
26. *Gordon A.N., Granai C.O., Rose P.G. et al.* // *J. Clin. Oncol.* – 2000. – 18. – P. 3093–3100.
27. *Goren D., Horwitz A.T., Tzemach D. et al.* Nuclear delivery of doxorubicin via folate-targeted liposomes with bypass of multidrug-resistance efflux pump // *Clin. Cancer Res.* – 2000. – 6. – P. 1949–1957.
28. *Gosk S., Gottstein C., Bendas G.* Targeting of immunoliposomes to endothelial cells expressing VCAM: a future strategy in cancer therapy // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* – 2005. – 43. – P. 581–582.
29. *Hicklin D.J., Ellis L.M.* Role of the vascular endothelial u growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis // *J Clin Onco.* – 2005. – 23. – P. 1011–1027.
30. *Hollinger P., Hudson P.J.* Engineered antibody fragments and the rise of single domains // *Nat Biotechnol.* – 2005. – 23. – P. 1126–1136.
31. *Hood J.D., Bednarski M., Frausto R. et al.* Tumor V regression by targeted gene delivery to the neovasculature // *Science.* – 2002. – 296. – P. 2404–2407.
32. *Hu H., Chen D., Liu Y., Deng Y. et al.* Target ability and therapy efficacy of immunoliposomes using a humanized antihepatoma disulfide-stabilized Fv fragment on tumor cells // *J. Pharm. Sci.* – 2006. – 95. – P. 192–199.
33. *Jain R.K.* Delivery of molecular medicine to solid tumors: lessons from in vivo imaging of gene expression and function // *Control Release.* – 2001. – 74. – P. 7–25.
34. *Jarver P., Langel U.* Cell-penetrating peptides – A brief introduction // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2006. – 1758. – P. 260–263.
35. *Kaminski M.S., Zelenetz A.D., Press O.W. et al.* Pivotal study of iodine 1131 tositumomab for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – 19. – P. 3908–3911.
36. *Karanes C., Theobald M., Bennett J.M. et al.* Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – 19. – P. 3244–3254.
37. *Kim S.J., Park Y., Hong H.J.* Antibody engineering for the development of therapeutic antibodies // *Mol. Cells.* – 2005. – 20. – P. 17–29.
38. *Kirpotin D.B., Drummond D.C., Shao Y.I. et al.* Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models // *Cancer Res.* – 2006. – 66. – P. 6732–6740.
39. *Kobayashi T., Ishida T., Okada Y. et al.* // *Int.J. Pharm.* – 2007. – 329. – P. 94–102.
40. *Koning G.A., Morselt H.W.M., Gorter A. et al.* Interaction of differently designed immunoliposomes with colon cancer cells and Kupffer cells. An in vitro comparison // *Pharm. Res.* – 2003. – 20. – P. 1249–1257.
41. *Kontermann R.E.* Immunoliposomes for cancer therapy // *Curr. Opin. Mol. Ther.* – 2006. – 8. – P. 39–45.
42. *Krimmer E.M., Hepp J., Hoffmann P. et al.* A highly stable polyenthy-ylene glycol-conjugated human single-chain antibody neutralizing granulocyte-macrophage colony stimulating factor at low nano-molar concentration // *Protein Eng. Des. Set.* – 2006. – 19. – P. 461–470.
43. *Laakkonen P., Porkka K., Jason A. et al.* A tumor-homing peptide with a targeting specificity related to lymphatic vessels // *Nature Medicine.* – 2002. – 8. – P. 751–755.
44. *Lopes de Menezes D.E., Pilarski L.M., Belch A.R., Allen T.M.* Selective targeting of immunoliposomal doxorubicin against human multiple myeloma in vitro and *ex vivo* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – 1466. – P. 205–220.
45. *Lyass O., Uziely B., Ben-Yosef R. et al.* // *Cancer.* – 2000. – 89. – P. 1037–1047.
46. *Maeda H.J., Wu T., Sawa Y. et al.* Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review // *J. Controlled Release.* – 2000. – 2000. – P. 271–284.
47. *Mamot C., Drummond D.C., Greiser U. et al.* Epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted immunoliposomes mediate specific and efficient drug delivery to EGFR- and EGFRvIII-overexpressing tumor cells // *Cancer Res.* – 2003. – 63. – P. 3154–3161.
48. *Marchio S., Lahdenranta J., Schlingemann R.O. et al.* Aminopeptidase A is a functional target in angiogenic blood vessels // *Cancer Cell.* – 2004. – 5. – P. 151–162.
49. *Marty C., Scheidegger P., Ballmer-Hofer K. et al.* Production of functionalized single-chain Fv antibody fragments to the ED-B domain of the B-isoform of fibronectin in *Pichia pastoris* // *Protein Expression Purif.* – 2001. – 21. – P. 156–164.
50. *Messerschmidt S.K., Kolbe A., Muller D. et al.* Novel single-chain Fv' formats for the generation of immunoliposomes by site-directed coupling // *Bioconjugate Chem.* – 2008. – 19. – P. 362–369.
51. *Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C.* Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice // *Pharmacol. Rev.* – 2001. – 53. – P. 283–318.

52. *Morgan M.T., Carnahan M.A., Immoos C.E. et al.* Dendritic molecular capsules for hydrophobic compounds. // *Am. Chem. Soc.* – 2003. – 125. – P. 15485–15489.
53. *Nataranja A., Xiong C.-Y., Albrecht H. et al.* Characterization of site-specific scFv PEGylation for tumor-targeting Pharmaceuticals // *Bioconjugate Chem.* – 2005. – 16. – P. 113–121.
54. *Nellis A.* Preclinical manufacture of an anti-HER2 scFv-G-DSPE liposome-inserting conjugate. 1. Gram-scale production and purification // *Biotechnol. Prog.* – 2005. – 21. – P. 205–220.
55. *Nielsen U.B., Kirpotin D.B., Pickering E.M. et al.* Therapeutic efficacy of anti-ErbB2 immunoliposomes targeted by a phage antibody selected for cellular endocytosis // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – 1591. – P. 109–108.
56. *O'Brien M.F., Wigler N., Inbar M. et al.* // *Ann. Oncol.* – 2004. – 15. – P. 440–449.
57. *Park J.W., Kirpotin D.B., Hong K. et al.* Tumor targeting using anti-HER2 immunoliposomes // *J. Controlled Release.* – 2001. – 74. – P. 95–113.
58. *Pasqualini R., Koivunen E., Kain R. et al.* Aminopeptidase N is a receptor for tumor-homing peptides and a target for inhibiting angiogenesis // *Cancer Res.* – 2000. – 60. – P. 722–727.
59. *Pastorino F., Brignole C., Di Paolo O. et al.* Targeting liposomal chemotherapy via both tumor cell-specific and tumor vasculature-specific ligands potentiates therapeutic efficacy // *Cancer Res.* – 2006. – 66. – P. 10073–10082.
60. *Ramakrishanan B., Boeggeman E., Qasba P.K.* Applications of glycosyltransferase in the site-specific conjugation of biomolecules and development of a targeted drug delivery system and contrast agents for MRI // *Expert Opin Drug Deliv.* – 2008. – 5(2). – P. 149–153.
61. *Reichert M., Rosensweig C.J., Faden L.B., Dewitz M.C.* Monoclonal antibody successes in the clinic // *Nat. Biotechnol.* – 2005. – 23. – P. 1073–1078.
62. *Rubio Demirovic A., Marty C., Console S. et al.* Targeting human cancer cells with VEGF receptor-2-directed liposomes // *Oncol. Rep.* – 2005. – 13. – P. 319–324.
63. *Ruger R., Muller D., Fahr A., Kontermann R.E.* Generation of immunoliposomes using recombinant single-chain Fv fragment bound to Ni-NTA-liposomes // *J. Drug Target.* – 2005. – 15. – P. 399–406.
64. *Russell-Jones G.J.* The potential use of receptor-mediated endocytosis for oral drug delivery // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2001. – 46. – P. 59–73.
65. *Safra T., Muggia F., Jeffers S. et al.* Pegylated liposomal doxorubicin (Doxil): reduced clinical cardio-toxicity in patients reaching or exceeding cumulative doses of 500 mg/m² // *Ann Oncol.* – 2000. – 11. – P. 1029–1033.
66. *Sahoo S.K., Labhasetwar V.* Nanotech approaches to drug delivery and imaging // *Drug Discov. Today S.* – 2003. – P. 1112–1120.
67. *Sapra P., Moase E.H., Ma J., Allen T.M.* Improved therapeutic responses in a xenograft model of human B lymphoma (Namalwa) for liposomal vincristine versus liposomal doxorubicin targeted via anti-CD 19 IgG2a or Fab' fragments // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – 10. – P. 1100–1111.
68. *Sato H., Takino T., Miyamori H.* // *Cancer Sci.* – 2005. – 96. – P. 209–217.
69. *Schrama D., Reisfeld R.A., Becker J.C.* Antibody targeted drugs as cancer therapeutics // *Nature Reviews Drug Discovery.* – 2006. – 5. – P. 147–159.
70. *Shen Z., Stryker G.A., Mernaugh R.L. et al.* Single-chain fragment variable antibody piezoimmunosenors // *Anal. Chem.* – 2005. – 77. – P. 797–805.
71. *Sievers E.L., Larson R.A., Stadtmauer E.A. et al.* // *Cancer Res.* – 2006. – 66. – P. 6732–6740.
72. *Sievers E.L., Larson R.A., Stadtmauer E.A. et al.* Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – 19. – P. 3244–3254.
73. *Sofou S., Thomas J.L., Hung-yin Lin et al.* Engineered liposomes for potential a-particle therapy of metastatic cancer // *J. Nucl. Med.* – 2004. – 45. – P. 253–260.
74. *Straubinger R.M., Arnold R.D., Zhou R. et al.* // *Anticancer Res.* – 2006. – 24. – P. 397–404.
75. *Sudimack J., Lee R.J.* Targeted drug delivery via the folate receptor // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2000. – 41. – P. 147–162.
76. *Torchillin V.P., Lukyanov A.N., Gao Z.G. et al.* B. Immunomicelles: targeted pharmaceutical carriers for poorly soluble drugs // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2003. – 100. – P. 6039–6044.
77. *Volkel T., Holig P., Merdan T. et al.* Targeting of immunoliposomes to endothelial cells using a single-chain Fv fragment directed against human endoglin (CD105) // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – 1663. – P. 158–166.
78. *Vyas S.P., Singh A., Sihorkar V.* Ligand-receptor-mediated drug delivery: an emerging paradigm in cellular drug targeting // *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* – 2001. – 18. – P. 1–76.
79. *Wang H., Zheng X., Behm F.G., Ratnam M.* Differentiation-independent retinoid induction of folate receptor type p, a potential tumor target in myeloid leukemia // *Blood.* – 2000. – 96. – P. 3529–3536.
80. *Witzig T.E., Gordon L.I., Cabanillas F. et al.* Randomized controlled trial of yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – 20. – P. 2453–2463.
81. *Yana I., Seiki M.* // *Clin. Exp. Metastasis.* – 2002. – 19. – P. 209–215.

Поступила 05.09.2008.

УДК 616–006–085.37

*L.V. Platinskiy, V.V. Bryuzgin, Yu.I. Podistov, V.D. Sokolova,
I.S. Alekseeva, Zh.A. Zavolskaya, A.A. Markovich, Z.P. Rakhmankulova*

THE OPPORTUNITY OF IMMUNOTHERAPY IN CANCER

*Department of outpatient methods of diagnosis and treatment
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow*

ABSTRACT

Experience accumulated on the clinical application of new drug Ingarone, the analog of Interferon- γ , by the staff of Department of outpatient methods of diagnosis and treatment of Russian Cancer Research Center. The authors discuss the effect of Ingarone in combination with different chemotherapy regimens of stomach, head and neck, breast cancer, cervical and uterine carcinoma patients' treatment.

Key words: Interferon- γ , immunotherapy, cytokines.

*Л.В. Платинский, В.В. Брюзгин, Ю.И. Подистов, В.Д. Соколова,
И.С. Алексеева, Ж.А. Завольская, А.А. Маркович, З.П. Рахманкулова*

ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ В ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Отделение амбулаторных методов диагностики и лечения ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

РЕЗЮМЕ

Коллективом врачей отделения амбулаторных методов диагностики и лечения ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН накоплен опыт клинического применения нового препарата на основе интерферона-гамма Ингарона®. В статье представлен анализ применения данного лекарственного препарата в сочетании с различными химиотерапевтическими режимами при следующих онкопатологиях: рак желудка, опухоли головы и шеи, рак молочной железы, рак шейки и тела матки.

Ключевые слова: интерферон-гамма, иммунотерапия, цитокины.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы все большее внимание начинают привлекать к себе методы иммунотерапевтического воздействия на опухолевые заболевания [2; 5; 14]. Налицо появление нового направления в лечении новообразований — иммунотерапии (иммунокоррекции) злокачественных опухолей [7; 8; 9; 10]. В настоящее время иммунотерапия представляет апробированный метод лечения злокачественных новообразований. Поэтому нет необходимости обосновывать актуальность и доказывать значение лечения больных препаратами, обладающими иммунокорректирующим действием. Более важно четко представлять современные возможности и потенциал этого метода и его место в комплексном лечении рака. Распространению и внедрению методов иммунотерапии способствует физиологичность их воздействия на опухолевые заболевания. Если в основу химиотерапии изначально заложено токсическое воздействие на здоровые и больные клетки, то иммунотерапия осуществляет эффект посредством активации собственных механизмов защиты организма [14].

Сочетание химиотерапии с иммунотропными веществами может значительно снижать токсический и иммуносупрессивный эффект противоопухолевых препаратов [22; 23;

24]. К настоящему времени накоплен достаточно большой опыт клинического применения таких классических иммунокорректирующих лекарств, как альфа-2-интерферон, имунофан, полиоксидоний, неовир [11; 13; 25; 26].

Значительно менее известен клиницистам отечественный препарат Ингарон® представляющий собой интерферон-гамма [6; 17]. По своим свойствам он является уникальным природным цитокином, обеспечивающим формирование и стимуляцию клеточного иммунитета [18]. Многочисленные исследования подтвердили высокую противовирусную эффективность препарата, включая такие опасные заболевания, как оспа и «птичий грипп» [3]. В сферу лечебного действия препарата Ингарон входят острые и хронические инфекции, вирусные гепатиты, болезни костно-мышечной и соединительной ткани [6]. Ингарон обладает рядом свойств, ставящих его в ряд важных противоопухолевых агентов. Уже в первых клинических исследованиях интерферон-гамма продемонстрировал эффективность при далеко зашедших стадиях онкологических заболеваний [6]. Еще недавно Ингарон исследовался и назначался лишь при раке шейки матки и раке молочной железы [16]. Однако в настоящее время спектр злокачественных новообразований, при которых используется этот препарат и показания к его применению стреми-

тельно расширяются. Последние исследования подтвердили целесообразность использования гамма-интерферона в сочетании с химиотерапией при ряде злокачественных опухолей [1; 15; 16]. Установлена противоопухолевая активность препарата при меланоме, раке шейки матки, молочной железы, почки, яичников и саркоме Капоши [17; 18; 19; 21; 22; 27]. При этом Ингарон не влияет на показатели иммунитета, находящиеся в пределах нормальных значений, не нарушает естественных механизмов торможения иммунных процессов.

В настоящем исследовании, проведенном в отделении амбулаторной диагностики и лечения РОНЦ, была поставлена задача изучить влияние Ингарона на эффективность химиотерапии и продолжительность ремиссии, оценке роли препарата в снижении побочных явлений, в частности, лейкопении, тромбоцитопении, астенического синдрома и гепатотоксичности. Кроме того, предстояло изучить динамику некоторых иммунологических показателей в процессе лечения и оценить возможности препарата в предотвращении сопутствующих заболеваний (гриппа, респираторных инфекций, герпеса и др.).

Химиотерапия в сочетании с Ингароном (X + И) проведена 160 больным различными злокачественными опухолями — основная группа (табл. 1). В контрольную группу вошли 150 пациентов, в прошлом получавшие аналогичные курсы химиотерапии без Ингарона. Он назначался по 500 000 ЕД внутримышечно ежедневно (48 больных) или через день (112 больных). Курс лечения состоял из 5 (107 больных) или 10 инъекций (53 больных).

9 больным Ингарон назначался до начала химиотерапии. 147 пациентов получали препарат через 1–3 дня после окончания химиотерапии. У 4 пациентов лечение начиналось до и продолжалось во время химиотерапии. При прогрессировании заболевания последующая 2-я линия химиотерапии осуществлялась без Ингарона. Число курсов — от 1 до 9, в среднем 2,4 курса. Всего больные получили 384 курса. Краткая информация о пациентах представлена в табл. 1.

Таблица 1

Общие сведения о больных

Метод лечения	X + И*	X**
Возраст больных (годы)	29 – 83	32 – 81
Возраст больных (в среднем)	51,6	54
Общее состояние по критериям ВОЗ в среднем	1,9	1,7
Диагноз		
Злокачественные опухоли головы и шеи	37 больных	31 больной
Рак молочной железы	36	29
Рак желудка	44	32
Рак шейки матки	28	24
Рак тела матки	15	34
Всего	160	150

*Химиотерапия в сочетании с Ингароном;

**Химиотерапия; данное сокращение далее в табл. 2 – 10, 12, 13.

Использовались различные комбинации противоопу-

холевых препаратов. Главным компонентом всех комбинаций являлся паклитаксел (таксол, митотакс, абитаксел). Больным с диагнозом злокачественные опухоли головы и шеи, рак желудка, рак шейки и тела матки назначалась активно используемая в поликлинике РОНЦ с 1998 г. комбинация препаратов РСФ, включающая паклитаксел, цисплатин и фторурацил и хорошо зарекомендовавшая себя при различных злокачественных опухолях. При создании комбинации РСФ учитывались экспериментальные и клинические данные, указывающие на потенцирование лечебного действия цисплатина и фторурацила. У больных раком тела матки в указанной схеме вместо фторурацила использовался доксорубин. Больным раком молочной железы паклитаксел добавлялся к стандартной схеме САФ. При саркомах мягких тканей и матки применялась комбинация препаратов, включающая паклитаксел и гемцитабин.

Химиотерапия проводилась по схеме: паклитаксел 125 – 140 мг/м² в 1-й день лечения, цисплатин по 60 – 70 мг/м² во 2-й, фторурацил 300 – 400 мг/м² ежедневно с 1-го по 5-й дни лечения. Доксорубин при химиотерапии рака тела матки использовался в дозе 50 мг/м² в 1-й день лечения.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГАРОНА® ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Злокачественные опухоли головы и шеи (ОГШ) всегда являлись объектом особого внимания в отделении амбулаторной диагностики и химиотерапии. Изучались десятки различных комбинаций противоопухолевых препаратов. Химиотерапию злокачественных опухолей головы и шеи (ОГШ) отличают специфические особенности, связанные с возможностью возникновения кровотечения, опасностью появления рвотных реакций, трудностью приема лекарственных препаратов через рот и недостаточностью питания у многих пациентов [12]. Для лечения этого контингента больных Ингарон включен в наиболее эффективную и наименее токсичную схему лечения. У больных, включенных в исследование, рацион питания составлял не менее 2000 ккал/сут, а предполагаемая продолжительность жизни — не менее 2 мес.

Возраст в группе больных (31 мужчина и 6 женщин), получавших Ингарон, — от 40 до 69 лет. 7 больных в прошлом перенесли операции. В группе больных, получавших только химиотерапию первичная опухоль удалена у 6 пациентов. Средний возраст больных в группе X + И 54 года, в группе X — 58 лет. Среднее общее состояние по критериям ВОЗ в группе X + И — 2,1, в группе X — 1,9, ранее получали лучевую терапию соответственно 14 и 9. Общее состояние по критериям ВОЗ в среднем 1,9. На эффективность химиотерапии ОГШ влияет локализация первичной опухоли, степень дифференцировки новообразования и предшествующая лучевая терапия [12].

Анализ наблюдений показывает, что применение Ингарона повышает эффективность химиотерапии при ОГШ на 7,4 % (статистически не достоверно). Наиболее значительная разница в эффективности отмечалась при раке гортани и ротоглотки (табл. 2). Установлена зависимость эффективности химиотерапии ОГШ от общего состояния больных. Эффективность при неудовлетворительном состоянии больных (общее состояние по ВОЗ более 2) при

Таблица 2

Результаты лечения злокачественных опухолей головы и шеи

Заболевание	Число больных		Полный эффект		Полный + частичный эффект	
	X + И	X	X + И	X	X + И	X
Рак гортани	5	8	–	–	4 (80 %)	5 (63 %)
Рак глотки	21	14	2	1	17 (82 %)	10 (71 %)
Рак языка и полости рта	11	9	1	1	8 (73 %)	7 (78 %)
Всего	37	31	3	2	29 (78,3 %)	22 (70,9 %)

применении Ингарона почти в 1,5 раза выше. Длительность ремиссий при использовании иммунокоррекции составляет в среднем на 6 нед больше.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГАРОНА® ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Химиотерапия рака желудка, несмотря на активное изучение большого числа новых комбинаций, включающих современные противоопухолевые препараты, остается актуальной и трудной проблемой. При неоперабельных формах рака желудка применение химиотерапии позволяет добиться существенной регрессии опухоли у 20 – 45 % больных. Следует сказать, что последнее десятилетие характеризуется применением при раке желудка большого числа комбинаций, включающих новые препараты: паклитаксел, доцетаксел, гемцитабин, капецитабин. Продолжительность жизни успешно леченных пациентов составляет 10 – 12 мес. Поэтому используемая нами схема лечения PCF представляет несомненный интерес. Оценивались эффективность и токсичность у пациентов, ранее не получавших химиотерапию. Ингарон включался в схему PCF у 44 больных (X + И) (табл. 3). В группе, получающей Ингарон, 17 больных получили 1 курс химиотерапии, 10 больных — 2 курса, 7 больных — 3 курса, 5 больных — 4 курса, 5 больных получили 6 и более курсов химиотерапии. В среднем 2,3 курса. Общее число курсов — 102. В контрольной группе 32 пациента получали только химиотерапию (X).

Таблица 3

Характеристика больных раком желудка

Метод лечения	X + И	X
Число больных	44	32
Средний возраст	52	55
Среднее общее состояние	1,8	1,5
Мужчины	29	20
Женщины	15	12
Морфологический диагноз:		
Аденокарцинома	25	17
Перстневидноклеточный рак	10	7
Без уточнения строения	9	8
Неоперабельная опухоль	8	6
Первичная опухоль с метастазами	25	16
Метастазы в печень	21	15
Метастазы в лимфатические узлы	19	13
Метастазы в яичники	18	14
Метастазы в легкие	10	11

Общее состояние по ВОЗ в группе X + И от 1,0 до 1,9 — у 24 больных, а 2,0 и больше — у 20 пациентов, в среднем 1,8. В группе, получающей лечение без Ингарона (X), от 0 до 1,9 — 6 больных, а 2,0 и больше — 5 больных, в среднем 1,5.

Число наблюдений превышает число больных в связи с тем, что у 25 пациентов отмечалось одновременное поражение нескольких органов. Наибольшая эффективность отмечена при метастазах в периферические лимфатические узлы в 14 из 19 случаев (73,7 %), метастазах в яичники у 13 из 18 больных (72,2 %). При метастазах в печень объективный эффект наблюдался у 11 больных из 21 (52,3 %). В меньшей степени подвержена воздействию химиотерапии в сочетании с иммунотерапией первичная опухоль — у 15 из 33 больных (45,5 %). Продолжительность эффекта составила от 2 до 9 мес (табл. 4).

Таблица 4

Сравнительная оценка эффективности химиотерапии и химиотерапии в сочетании с Ингароном у больных раком желудка

Схема химиотерапии	Метод лечения	Число больных	Частичный эффект		Продолжительность ремиссии, в нед
			число больных	%	
PCF	X + И	44	30	68	15
PCF	X	32	20	63	12

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГАРОНА® ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Рак шейки матки (РШМ) является одним из самых распространенных злокачественных новообразований женских половых органов [20]. Неуклонный рост запущенных случаев, а также увеличение заболеваемости РШМ среди лиц молодого возраста диктуют необходимость разработки новых, более совершенных методов комбинированного и комплексного лечения этой патологии. В настоящее время отмечаются негативные тенденции, касающиеся роста случаев первично регистрируемой запущенности процесса: у 40 – 46 % больных заболевание диагностируется в III – IV стадии [5]. Особую сложность представляют пациенты с распространенными формами заболевания, имеющие неблагоприятный прогноз. К этой категории относятся пациентки, имеющие отдаленные метастазы, а также больные с рецидивами и/или отдаленными метастазами после проведенного ранее радикального лечения. Основной вид лечения для них — системная химиотерапия. Возможности химиотерапии в лечении РШМ в последние 20 – 30 лет изучались достаточно интенсивно, но до последнего

времени успехи лекарственного воздействия по сравнению с хирургическими и лучевыми методами оставались весьма скромными. Взгляды большинства специалистов на химиотерапию рака шейки матки претерпели существенные изменения: от выраженного скептицизма до оптимистических сообщений после внедрения в клиническую практику таксанов. Химиотерапия и лучевая терапия могут применяться в лечении больных как последовательно, так и одновременно. Основываясь на ряде исследований, в настоящее время принято лечение начинать с лучевой терапии. Однако следует отметить, что в большинстве исследований, касающихся последовательности химиолучевой терапии, применялись цитостатики «старого» поколения. В настоящее время надежды возлагаются на комбинации препаратов, в которых основным компонентом является цисплатин [9; 42; 43; 46]. Согласно наблюдениям разных авторов, первичный ответ на химиотерапию колебался от 38 до 78 % [15]. Несмотря на то, что цисплатин с фторурацилом являются достаточно активной комбинацией при раке шейки матки, результаты лечения при рецидивах и далеко зашедших стадиях заболевания разочаровывают. При использовании комбинаций, включающих современные препараты, результат получается иной. Zanetta et al. использовали для терапии диссеминированного или рецидивного РШМ комбинацию ТР (таксол, ифосфамид и цисплатин). Эффект наблюдали в 79 % случаев у больных, не получавших ранее облучения, и в 62 % случаев у больных, подвергнутых в анамнезе лучевой терапии.

28 больным раком шейки матки проведено 75 курсов химиотерапии по схеме РСF + Ингарон (табл. 5). В группе пациенток, не получавших Ингарон, вошли 24 человека. Курсы повторялись каждые 3–4 нед. Возраст больных от 34 до 58 лет (при лечении по схеме РСF + Ингарон) и от 29 до 64 (в среднем 45) лет при лечении по схеме РСF. Общее состояние от 0 до 3, в среднем 1,8 (X + И) и от 0 до 2, в среднем 1,4 (X).

Частичное объективное улучшение зарегистрировано у 21 – 75 % пациенток, леченных по схеме X + И. При этом в 3 (10,7 %) случаях получен полный эффект (табл. 6).

Таблица 5

Характеристика больных раком шейки матки

Метод лечения	X+И	X
Число больных	28	24
Средний возраст	49	45
Среднее общее состояние	1,8	1,4
Морфологический диагноз:		
Плоскоклеточный рак	22	18
Аденокарцинома	3	2
Без уточнения строения	3	6
Ранее оперированы	7	11
Лучевая терапия	12	18
Первичная опухоль с метастазами	6	5
Метастазы в печень	7	4
Метастазы в лимфатические узлы	19	20
Метастазы в органы малого таза	18	12
Проращение во влагалище	9	5
Метастазы в легкие	10	6

При лечении по схеме X объективный эффект отмечался у 14 (58,3 %) больных. Полный эффект получен у 2 больных (8,3 %). Введение Ингарона привело к увеличению продолжительности ремиссии на 30 %. Таким образом, применение Ингарона существенно улучшает как непосредственные результаты химиотерапии рака шейки матки, так и продолжительность ремиссии. Интересно отметить влияние предшествующей лучевой терапии на эффективность химиотерапии. Сроки проведения лучевой терапии составили от 2 мес до 4 лет до начала химиотерапии. В группе леченных по схеме X + И из 16 больных, ранее не получавших лучевую терапию объективное улучшение отмечено у 13 (81,3 %) пациенток, а из 6 больных, леченных по схеме X, эффект наблюдался у 5 (83,3 %) больных. Среди больных, ранее получавших лучевую терапию, эффект зарегистрирован у 7 (58,3 %) из 12 больных в группе леченных по схеме X+И и у 9 (50 %) из 18 пациенток, леченных по схеме X.

**ПРИМЕНЕНИЕ ИНГАРОНА®
ПРИ РАКЕ ТЕЛА МАТКИ**

Рак тела матки — самая распространенная злокачественная опухоль органов малого таза у женщин. Результаты лечения больных раком тела матки зависят от ряда причин, в числе которых, помимо основных клинкоморфологических признаков, имеют значение степень дифференцировки опухоли и содержание рецепторов стероидных гормонов в опухоли. Результаты химиотерапии рака эндометрия, представленные в литературе, весьма противоречивы. Наиболее эффективными являются схемы полихимиотерапии, включающие доксорубицин, цисплатин, циклофосфан, вызывающие эффект у 55 – 60 % больных. С нашей точки зрения, потенциальный резерв химио- и гормонотерапии в лечении рака тела матки далеко не исчерпан. Все больше появляется работ, указывающих на возможное использование паклитаксела при распространенном раке эндометрия, его рецидивах и метастазах как в режиме монохимиотерапии, так и в сочетании с другими препаратами. Так, комбинация таксола (175 мг/м²), цисплатина (50 мг/м²) и эпирубицина (70 мг/м²) привела к увеличению эффективности до 64 % [20].

В поликлинике РОНЦ с 2002 г. у больных с рецидивом или метастазами рака тела матки изучались различные комбинации противоопухолевых препаратов, в том числе включающие паклитаксел. 34 пациентки (группа X), ранее не получавшие химиотерапии, лечились по схеме РСА: паклитакселом по 175 мг/м² и доксорубицином по 45 мг/м² в 1-й день лечения. Во 2-й день лечения больные получали цисплатин по 70 мг/м². 12 больным к указанной комбинации противоопухолевых препаратов добавлялся Ингарон (группа X + И) (табл. 7). В группе X у 30 отмечалась аденокарцинома, 2 недифференцированных рака, 1 муцинозный и 1 светлоклеточный рак. Во 2-й группе аденокарцинома установлена у 10 пациенток, недифференцированный и муцинозный рак по 1 случаю. Метастазы в забрюшинные и паховые лимфатические узлы выявлены у 24 больной (X) и 6 (X + И); метастазы в печень 11 (X) и 3 (X + И) соответственно; метастазы в легкие у 10 (X) и 3 (X + И); одновременное метастатическое поражение нескольких органов наблюдалось у 14 (X) и 3 (X + И) пациенток. Больные, ле-

Таблица 6

Сравнительная оценка эффективности химиотерапии и химиотерапии в сочетании с Ингароном у больных раком шейки матки

Метод лечения	Число больных	Полный эффект	Полный + частичный эффект	Стабилизация	Прогрессирование	Продолжительность ремиссии, нед
Х + И	28	3 (11 %)	21 (75 %)	1 (3,6 %)	6 (21 %)	16
Х	24	2 (8 %)	14 (58 %)	2 (8,3 %)	8 (33 %)	12
Всего	52	5 (10 %)	35 (67 %)	3 (5,8 %)	14 (27 %)	средняя 13

Таблица 7

Характеристика больных раком тела матки

Метод лечения	Х + И	Х
Число больных	12	34
Средний возраст	55	62
Среднее общее состояние	1,7	1,8
Морфологический диагноз:		
Аденокарцинома		30
Недифференцированных рак	10	2
Муцинозный рак	1	1
Светлоклеточный рак	1	1
Ранее оперированы	7	24
Лучевая терапия	9	28
Первичная опухоль с метастазами	6	15
Рецидив	4	18
Метастазы в печень	7	4
Метастазы в лимфатические узлы	19	20
Метастазы в органы малого таза	1	5
Метастазы во влагалище	4	11
Метастазы во влагалище и органы малого таза	3	8
Метастазы в легкие	3	6
Метастазы в печень	2	6

ченные только химиотерапией, получили 94 курса химиотерапии, а в сочетании с Ингароном — 34 курса.

Число наблюдений превышает число больных в связи с тем, что у части пациентов отмечалось одновременное поражение нескольких органов. В группе, получающей Ингарон 3 больных получили 1 курс химиотерапии, 3 больных — по 2 курса, 3 больных — по 3 курса, 4 больных — по 4 курса. Общее число курсов — 34.

Частичное объективное улучшение получено у 11

(73,3 %) пациенток, леченных по схеме Х + И (табл. 8). 2 полных и 24 частичных эффекта (76,4 %) зарегистрированы у больных, получавших химиотерапию без Ингарона. Продолжительность ремиссии составила 20 нед в группе больных, получавших химиотерапию в сочетании с Ингароном, и 17 нед у больных, леченных только химиотерапией. По нашим данным применение Ингарона не вызывает повышения эффективности у больных раком тела матки, но несколько увеличивает продолжительность ремиссии.

Таблица 8

Сравнительная оценка эффективности химиотерапии и химиотерапии в сочетании с Ингароном у больных раком тела матки

Метод лечения	Число больных	Полный эффект	Полный + частичный эффект	Стабилизация	Прогрессирование	Продолжительность ремиссии, нед
Х+ И	15		11 (73 %)	2 (13,3 %)	2 (13,3 %)	20
Х	34	2 (5,8 %)	25 (74 %)	3 (8,8 %)	6 (18 %)	17
Всего	46	2 (4,3 %)	34 (74 %)	4 (8,7 %)	8 (17 %)	средняя 18

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГАРОНА® ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Рак молочной железы — актуальная проблема современной онкологии. В последнее время наблюдается неуклонный рост заболеваемости РМЖ, что является одной из основных причин смерти среди женского населения в России и в мире.

В лечении больных раком молочной железы использовалась стандартная комбинация FАС в несколько сниженном дозовом режиме, к которой на 3-й день лечения добавлялся паклитаксел (фторурацил по 500 мг/м², циклофосфан 450 мг/м², доксорубицин 40 мг/м², паклитаксел 175 мг/м²). Контингент больных был достаточно тяжелым (табл. 9). У

Таблица 9

Характеристика больных раком молочной железы

Метод лечения	X + И	X	Всего
Общее число больных	36	29	65
Возраст			
До 45 лет	10	6	16
45 -65 лет	17	18	35
66 лет и старше	9	5	11
Общее состояние по ВОЗ в среднем	2,0	1,8	1,9
Локализация процесса:			
Первичная опухоль	24	18	42
Метастазы в кожу	47	30	77
Метастазы в лимфатические узлы	25	28	53
Метастазы в легкие	25	18	43
Метастазы в печень	17	11	28
Метастазы в кости	12	9	21
Метастазы в головной мозг	3	2	5

большинства пациенток с раком молочной железы определялась далеко зашедшая стадия заболевания с обширной, зачастую изъязвляющейся опухолью и множественными метастазами в различные органы.

Число наблюдений превышает число больных в связи с тем, что у многих пациентов метастазы выявлялись в нескольких органах. Больные получили от 1 до 7 курсов химиотерапии, в среднем 3,4 курса.

Относительно невысокая результативность комбинации объясняется достаточно тяжелым контингентом больных. У пациентов в удовлетворительном состоянии (до 1,8 по ВОЗ), общая эффективность составила 81,8 % при X + И и 80 % при X. Прослеживается влияние Ингарона на эффективность лечения у больных, находящихся в тяжелом состоянии (более 2,5 по ВОЗ): 58,8 % при X + И и 46,2 % при X. Следует подчеркнуть влияние Ингарона на увеличение продолжительности ремиссии (табл. 10).

Таблица 10

Результаты лечения больных раком молочной железы

Метод лечения	Число больных	Полный эффект	Полный + частичный эффект	Средняя продолжительность ремиссии, нед
X + И	36	4 (11 %)	25 (69,4 %)	29
X	29	3 (9 %)	16 (55,2 %)	23

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ИНГАРОНА®

Располагая определенным опытом применения различных иммунопрепаратов, мы остановили выбор на Ингароне, так как в собственной клинической практике получили подтверждение его антипролиферативной и иммуномодулирующей активности, что в конечном итоге влияет на повышение эффективности химиотерапии (табл. 11).

Использование Ингарона у 160 больных показало, что в большинстве локализаций опухолевого процесса в группе больных, получавших Ингарон, отмечается некоторая тенденция к улучшению непосредственных результатов (в среднем на 7,9 %) по сравнению с больными, лечеными только противоопухолевыми препаратами (табл. 12). Наибольшая разница в эффективности отмечалась при раке молочной железы и раке шейки матки. Выявлено влияние Ингарона на эффективность у больных с различным общим состоянием (менее и более 2,0 по критериям ВОЗ). По сводным данным средняя разница в эффективности составила 4,5 % при общем состоянии менее 2,0 и 12 % при общем состоянии более 2,0 по критериям ВОЗ, т.е. у ослабленных больных, и пациентов с ограничением активности Ингарон способствовал определенному улучшению результатов лечения.

При химиотерапии опухолей различных локализаций Ингарон снижает частоту возникновения тромбоцитопении I – II степени на 4 – 30 % (в среднем на 22 %). Влияния препарата на лейкопению не отмечено.

23 больным проводилось элементарное иммунологическое исследование. В его задачу входило изучение динамики иммунологических показателей в процессе химиотерапии в зависимости от применения Ингарона.

Исходные иммунологические данные, в частности, содержание антигенположительных клеток, существенно отличались в зависимости от локализации первичной опухоли. Разница в процентном содержании CD3, CD4, CD16 — лимфоцитов, цитотоксической активности NK-клеток составляла 9 – 22 %. Результаты применения Ингарона показали, что препарат у 11 (48 %) больных восстанавливал или улучшал процентное содержание антигенположительных клеток. При этом нормализация иммунорегуляторного индекса отмечалась у 10 – 43 % пациентов.

В течение 2-летнего исследования многие пациенты болели вирусными инфекциями: гриппом, острыми респираторными заболеваниями и герпесом. Проанализированы только те случаи, у которых данное заболевание послужило причиной прекращения или отсрочки курса химиотерапии (табл. 13). Полученные данные указывают, что сопутствующие вирусные заболевания при использовании Ингарона возникают в 1,5 – 2 раза реже.

ТОКСИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Побочные эффекты схемы PCF обуславливались токсичностью входящих в комбинацию препаратов. В амбулаторных условиях побочные явления химиотерапии приобретают особое значение. Возникновение тяжелых осложнений во внебольничных условиях может иметь роковой исход. Поэтому профилактика и лечение осложнений при амбулаторной химиотерапии занимает ведущее место. Те или иные побочные эффекты отмечались у 85 (92,4 %) больных, причем нередко с каждым последующим курсом

Таблица 11

Сводные данные об эффективности Ингарона в зависимости от числа введений препарата

Нозологическая форма	5 введений Ингарона на курс			10 введений Ингарона на курс		
	Число больных	Эффект	Средняя продолжительность ремиссии, недели	Число больных	Эффект	Средняя продолжительность ремиссии, нед
Опухоли головы и шеи	27	21(77,7 %)	16	10	8 (80 %)	18
Рак молочной железы	22	15 (69 %)	28	14	10 (71 %)	30
Рак желудка	31	21 (68 %)	14	13	9 (69 %)	16
Рак шейки матки	16	12 (75 %)	15	12	9 (75 %)	17
Рак эндометрия	11	7 (64 %)	19	4	3 (75 %)	15
Всего	107	76 (71 %)		53	39 (73,6 %)	

Таблица 12

Сводные данные об эффективности Ингарона в зависимости от продолжительности ремиссии

Нозологическая форма	X + И			Химиотерапия		
	Число больных	Эффект	Средняя продолжительность ремиссии, недели	Число больных	Эффект	Средняя продолжительность ремиссии, нед
Опухоли головы и шеи	37	29(78 %)	19	31	22 (70,9 %)	13
Рак молочной железы	36	25 (69 %)	29	29	16 (55,2 %)	23
Рак желудка	44	30 (68 %)	14	32	20 (63 %)	12
Рак шейки матки	28	21 (75 %)	15	24	14 (58 %)	12
Рак эндометрия	15	11 (73 %)	20	34	25 (74 %)	17
Всего	160	116 (72,5 %)		150	97 (64,6 %)	

Таблица 13

Сведения о заболевших вирусными инфекциями

Диагноз	Метод лечения	Число больных	
		абс.	%
Грипп	X	17	14
	X + И	8	8
Острые респираторные заболевания	X	66	57
	X + И	31	27
<i>Herpes zoster</i>	X	6	5
	X + И	2	3

степень токсичности нарастала. Однако следует отметить, что у большинства пациентов побочные явления проявлялись в умеренной степени и лишь у 10 человек токсичность послужила причиной досрочного прекращения лечения. Сведения о токсичности химиотерапии III – IV степени представлены в табл. 14.

Как видно из таблицы, применение Ингарона на частоту возникновения токсических реакций практически не влияет. Однако следует подчеркнуть, что тромбоцитопении III – IV степени при использовании Ингарона возникают вдвое, а тромбоцитопении I – II степени в 3 раза реже, чем без

интерферона-гамма. Кроме того, отмечено положительное влияние Ингарона на развитие астенического синдрома

Побочные явления непосредственно Ингарона выявлены у 12,4 % больных (табл. 15).

Все указанные токсические реакции, связанные с приемом Ингарона, характеризовались умеренной выраженностью и продолжались после отмены препарата не более 1 нед. Из существенных побочных явлений следует отметить выраженные аллергические реакции у 4 больных в виде затрудненного дыхания. Беспокойство, возбуждение наблюдались в 7 случаях.

Таблица 14

Токсичность комбинации препаратов РСФ (150 больных, 314 курсов) и РСФ в сочетании с Ингароном (160 больных, 384 курса)

Вид токсичности	Токсичность III – IV степени у пациентов, получавших химиотерапию, % (исторический контроль)		Токсичность III – IV степени у пациентов, получавших химиотерапию + Ингарон, %	
	От числа курсов (314)	От числа больных (150)	От числа курсов (384)	От числа больных (160)
Лейкопения	27	47	30	52
Тромбоцитопения	8	11	4	5
Анемия	10	15	15	14
Алоpecia	91	100	88	100
Рвота*	19	24	20	22
Стоматит	13	22	11	24
Диарея	12	17	14	25
Нефротоксичность	5	12	8	16
Гепатотоксичность	8	10	10	9
Нейротоксичность	11	21	12	20
Кардиотоксичность	0,5	1	–	–
Артралгия	15	15	13	17
Астенический синдром	12	28	6	16

*Могла быть вызвана проведенной химиотерапией.

Таблица 15

Побочные явления Ингарона

Токсические реакции	Число больных, %	
	5 инъекций	10 инъекций
Повышение температуры	65	75
Артралгии*	30	20
Миалгия	7	9
Головная боль	28	25
Озноб	9	15
Сыпь	5	5
Диарея*	4	6
Рвота	5	8
Тошнота*	16	20
Слабость*	8	12
Боль и эритема в области инъекции	5	5

*Могли быть вызваны проведенной химиотерапией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование Ингарона в сочетании с химиотерапией позволяет усилить действие противоопухолевых препаратов, по-видимому, за счет его антипролиферативной и иммуномодулирующей активности, а также прямого активирующего влияния на клетки и функции иммунной системы. Применение Ингарона у больных различными злокачественными опухолями привело к увеличению числа пациентов, леченных с эффектом на 5 – 14 %. Однако преимущество в эффективности как при режимах, включающих Ингарон, так и при схемах лечения, использующих лишь химиотерапию, лишено статистической достоверно-

сти. Тем не менее, применяя Ингарон у пациентов с различными злокачественными опухолями, удалось достичь более длительных ремиссий, чем при использовании только химиотерапии. При этом большинство пациентов, получающих Ингарон, отмечали улучшение самочувствия. Иммунотерапия (иммунокоррекция) еще не готова кардинально решить все проблемы, связанные с онкологическими заболеваниями. Иммунотерапевтическое воздействие на злокачественные опухоли прошло путь от БЦЖ до препаратов, влияющих на конкретные звенья иммунных реакций. В настоящее время в онкоиммунотерапии идет интенсивное накопление экспериментальных и клинических данных.

Дальнейший прогресс этого направления, возможно, будет связан с разработкой методов оптимального выбора препаратов и схем их применения для каждого конкретного пациента.

Результаты настоящего исследования показывают, что Ингарон безусловно должен занять свое место в комплексном лечении злокачественных опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абрамов М.Е., Кадагидзе З.Г., Славина Е.Г. и др.* Ингарон (интерферон-гамма) в сочетании с химиотерапией в лечении онкологических больных // Фарматека. – 2006. – 11(126). – С. 38–42.
2. *Дейл М.М., Формен Дж.К.* Руководство по иммунофармакологии. – М.: Медицина, 1998. – С. 464.
3. *Ершов Ф.И., Киселев О.И.* Интерфероны и их индукторы. – М.: Изд. «Геотар», 2005. – 356 с.
4. *Кадагидзе З.Г., Кутин В.И., Орел Н.Ф.* Роль и значение показателей иммунологического статуса в онкологической клинике. – Иммунология опухолей. – Рига, 1992. – С. 125–130.
5. *Каданер В.Я.* О списках новых путей лечения опухолей. – М.: Медицина, 1997. – С. 429.
6. *Киселев О.И., Ершов Ф.И., Деева Э.Г.* Интерферон-гамма: новый цитокин в клинической практике «Ингарон», 2007. – С. 344.
7. *Киселевский М.В.* Иммуноterapia злокачественных опухолей // Вместе против рака. – 2005. – 3.
8. *Козлов В.А., Черных Е.Р.* Современные проблемы иммунотерапии в онкологии // Бюллетень СО РАМН. – 2004. – 112(2). – С. 113–119.
9. *Макаров О.В., Сидорович И.Г., Новиков В.И. и др.* Иммуноterapia злокачественных новообразований яичников аутологичными препаратами в послеоперационном периоде // Гинекология. Журнал для практических врачей. – 1999. – 1(2). – С. 12–18.
10. *Новиков В.И., Карандашов В.И., Сидорович И.Г.* Иммуноterapia при злокачественных новообразованиях. – М.: Медицина, 1999. – 135 с.
11. *Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М.* Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения // Цитокины и воспаление. – 2004. – 3(3). – С. 41–47.
12. *Платинский Л.В., Брюзгин В.В., Соколова В.Д.* Возможности химиотерапии злокачественных опухолей головы и шеи в амбулаторных условиях / В кн.: Актуальные вопросы лекарственной терапии злокачественных опухолей в амбулаторных условиях, 2003. – С. 11–42.
13. *Платинский Л.В., Подистов Ю.И.* Применение иммунофана в химиотерапии злокачественных опухолей // Лечащий врач. – 2001. – 3. – С. 22–26.
14. *Столярова И.Д.* Иммунодиагностика и иммунокоррекция в клинической практике. – СПб., 1999. – С. 176.
15. *Fulda S., Debatin K.M.* // Oncogene. – 2002. – 21. – P. 2295–2308.
16. *Harry J.L.* Management of cervical cancer: review of the literature // Journal of clinical oncology. 2007. – 25(20).
17. *Interferon-gamma — new cytokine in clinical usage: Monograph.* – Pharmacloone Ltd Publishers, 2006. – P. 120.
18. *Jonasch E., Haluska F.G.* Inerferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical application, and toxicities // The Oncologist. – 2001. – 6. – P. 34–55.
19. *Koga S., Nishikido M., Matsuya F. et al.* Subcutaneous administration of interferon alpha and gamma in patients with metastatic renal cell carcinoma // Anticancer Res. – 1999. – 19. – P. 5547–5550.
20. *Lissoni A., Gabriele A., Gorga G. et al.* Cisplatin - epirubicin - and paclitaxel - containing chemotherapy in uterine adenocarcinoma // Ann. Oncol. – 1997. – 8. – P. 969–972.
21. *Nemunaitis J., Fong T., Robbins J.M. et al.* Phase I trial of interferon-gamma retroviral vector administered intratumorally to patients with metastatic melanoma // Cancer Gene Ther. – 1999. – 6. – P. 322–330.
22. *Pavlidis N., Nicolades C., Athanassidis A.* Phase II study of 5-fluorouracil and interferon-gamma in patients with metastatic colorectal cancer. A Hellenic Cooperation Group // Oncology. – 1996. – 53 (2). – P. 159–162.
23. *Rosenberg S.A.* Principles and applications of biologic therapy in Cancer: principle and practice of Oncology / edit. V. T. De Vitta et al., 1993, Ch. 17, P. 293–324.
24. *Salvati F., Rasi G., Portalone L.* Combined treatment thymosin-alpha-i and low-dose interferon-alpha after isofamide in non-small cell lung cancer: phase II Trial // Anticancer Res. – 1996. – 16(2). – P. 1001–1004.
25. *Silva R.R., Bascioni R., Rossini S.* A phase II study mitomycin C, vindesine and cisplatin combined with alpha-interferon in advanced non-small cell lung cancer // Tumori. – 1996. – 82 (1).
26. *Stuart K., Tessitore J., Huberman M.* 5-Fluorouracil and alpha-interferon in hepatocellular carcinoma // Am J. Clin. Oncol. – 1996. – 19(2). – P. 136–139.
27. *Windbisher G.H., Hausmaninger H., Stummvoll W. et al.* Inerferon-gamma in the first-line therapy of ovarian cancer: a randomized phase III trial // Br. J. Cancer. – 2000. – 82(6). – P. 1138–1144.

Поступила 01.10.08.