

УДК 616-006.484.04-092.9:615.831:615.849.19

К.В. Ермакова<sup>1</sup>, И.Ю. Кубасова<sup>1</sup>, Л.М. Борисова<sup>1</sup>, М.П. Киселева<sup>1</sup>, З.С. Смирнова<sup>1</sup>, Г.А. Меерович<sup>3</sup>, Е.А. Коган<sup>4</sup>,  
Е.А. Лукьянец<sup>2</sup>, Г.Н. Ворожцов<sup>2</sup>

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ФОТОСЕНСОМ ГЛИОБЛАСТОМЫ 101/8 КРЫС**<sup>1</sup>РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва<sup>3</sup>ЦЕНИ ИОФ им. А.М. Прохорова РАН, Москва<sup>4</sup>ГОУ ВПО ММА им. И.М. Сеченова, Москва**Контактная информация:**

Ермакова Ксения Викторовна, научный сотрудник лаборатории синтетических противоопухолевых веществ НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; тел. +7(495)-324-02-00

e-mail: erm82@mail.ru

Статья поступила 24.09.2009, принята к печати 23.10.2009.

**Резюме**

Изучение возможности применения ФДТ с использованием отечественного фотосенсибилизатора фотосенса при опухолях головного мозга является актуальным. При изучении уровня накопления фотосенса в динамике показано, что препарат дозозависимо и селективно накапливается в ткани глиобластомы 101/8. Установлено, что ФДТ следует проводить через 24 ч после введения фотосенса на 7 день после перевивки глиобластомы 101/8. Эффективность ФДТ с фотосенсом на глиобластоме 101/8 показана по патоморфозу опухоли после проведения лечения. При оценке патоморфоза через 72 ч после ФДТ отмечено выраженное повреждение опухоли: некроз и апоптоз опухолевых клеток, тромбоз и разрушение сосудов с обширными кровоизлияниями. После проведения ФДТ митозы в ткани глиобластомы 101/8 практически не определяются. Таким образом, показана возможность ФДТ с фотосенсом при лечении опухолей головного мозга.

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, глиобластома 101/8, фотосенс, лазер.

*K.V. Ermakova<sup>1</sup>, I.Yu. Kubasova<sup>1</sup>, L.M. Borisova<sup>1</sup>, L.P. Kiseleva<sup>1</sup>, Z.S. Smirnova<sup>1</sup>, G.A. Meerovich<sup>3</sup>, E.A. Kogan<sup>4</sup>, E.A. Lukyanetz<sup>2</sup>, G.N. Vorozhtsov<sup>2</sup>*

**THE EFFICIENCY OF PDT WITH A PHOTOSENSE GLIOBLASTOMA 101/8**<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow<sup>2</sup>State Research Center «NIOPIK», Moscow<sup>3</sup>Natural Sciences Center of A.M. Prokhorov General Physics Institute RAS, Moscow<sup>4</sup>I.M. Setchenov Moscow Medical Academy**Abstract**

The possibility of PDT application with the use of Russian photosensitizers for the brain tumors treatment is an actual problem. In this study we have shown that the drug selectively and dose-dependently accumulates in the glioblastoma 101/8 tissue. It is established that PDT should be carried out in 24 hours after the injection of Photosense on 7-th day of glioblastoma transplantation. The efficiency of PDT with a Photosense for a glioblastoma 101/8 was proved by a tumor pathomorphism. Estimated the pathomorphism 72 hours after PDT, we found the apparent damage of the tumor: necrosis and apoptosis of the tumor cells, thrombosis and destruction of the vessels with massive hemorrhage. After the PDT treatment the mitosis in the glioblastoma tissue is not determined. Thus, the possibility of PDT with a Photosense in the treatment of brain tumors is presented.

**Key words:** photodynamic therapy, glioblastoma 101/8, Photosense, laser.

**Введение**

В структуре смертности от онкологических заболеваний опухоли головного мозга составляют около 2 %, а заболеваемость продолжает расти. Так, в 2002 году в России было зарегистрировано 5320 новых случаев злокачественных опухолей головного мозга, при этом пророст заболеваемости по сравнению с 1993 годом составил 36 %.

Лечение злокачественных глиом головного мозга является одной из самых сложных задач в нейроонкологии. В настоящее время при лечении опухолей головного мозга применяется комбинированный метод, т.к. монотерапия не приводит к существенному улучшению непосредственных и отдаленных результатов. Комбинированное лечение включает хирургическое удаление опухоли, ЛТ и ХТ, а также новые методы лечения, такие как иммунотерапию и ФДТ [10].

Основной целью оперативного вмешательства является максимально полное удаление опухоли и гистологическая верификация диагноза. Удаление опухоли уменьшает количество неопластических клеток, что в ряде случаев трансформирует клеточную кинетику и обеспечивает повышение чувствительности клеток опухоли к химиотерапии. Кроме того, удаление опухоли приводит к снижению ВЧД, что влияет на качество жизни больного и выраженность неврологических проявлений болезни. Лучевая и химиотерапия применяются в основном в послеоперационном периоде.

Так, по данным See S.J. et al. [8] химиотерапевтическое лечение в сочетании с предварительным удалением опухоли и послеоперационной лучевой терапией позволяет повысить одно- и двухлетнюю выживаемость больных в основном с анапластическими астроцитомами.

В то же время мультиформные глиобластомы (МГ, глиомы IV степени злокачественности по МКБ ВОЗ) рецидивируют в 100 % случаев, чаще – в пределах 2 см от линии резекции [7], а продолжительность жизни таких больных не превышает 15 мес.

В последнее десятилетие широко исследуется новый метод лечения злокачественных опухолей головного мозга, основанный на селективном накоплении фотосенсибилизатора в опухолевых клетках и последующем облучении зоны поражения лазером с определенной длиной волны – ФДТ. Эффективность фотодинамического повреждения определяется уровнем и селективностью накопления сенсибилизатора в опухоли, его фотохимической активностью, а также плотностью мощности и световой дозой лазерного облучения. Кроме прямого цитотоксического действия ФДТ на опухолевые клетки, важную роль в деструкции злокачественного новообразования играют: нарушение кровоснабжения за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов опухолевой ткани, цитокиновые реакции, продукция фактора некроза опухоли и иммунологическая реакция, приводящая к активации макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов [9]. Показана эффективность ФДТ опухолей головного мозга с использованием как фотосенсибилизаторов фотолон, фотофрина, гематопорфирина, фоскана и некоторых других препаратов, в число которых входит Аласенс, являющийся предшественником эндогенного протопорфирина IX. При использовании интра- и послеоперационной ФДТ медиана выживаемости больных с МГ достигает 21 мес [11].

Цель работы – оценка возможности применения ФДТ с отечественным фотосенсибилизатором фотосенсом при лечении опухолей головного мозга, используя глиобластому 101/8 беспородных крыс.

### Материалы и методы

Работа выполнена на половозрелых беспородных крысах массой 200–220 грамм. Глиобластома 101/8 была получена в феврале 1967 года на 186-й день после имплантации пилюли ДМБА в правое полушарие мозжечка крысы-самки линии Wistar. Глиобластому 101/8 (1–2 млн. клеток) подсаживали троакарном через трепанационное отверстие на глубину 3–4 мм в дно правого бокового желудочка.

Фотосенс, представляющий собой смесь натриевых солей сульфированного фталоцианина алюминия (от ди- до тетразамещенного), и синтезированный в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» использовали в виде р-ра для инъекций – 0,2% 50,0 мл. Препарат вводили однократно по 2 мг/кг; 3,5 мг/кг; 5,6 мг/кг и 10 мг/кг.

Изучение динамики уровня накопления ФС в опухолевой и здоровой ткани головного мозга в течение суток проводили на 7-й день после введения препарата внутривенно в хвостовую вену. Уровень накопления ФС в ткани ГМ и глиобластоме 101/8 крыс осуществляли спектрально-флюоресцентным методом с использованием спектроанализатора «ЛЭСА-01-БИОСПЕК». Возбуждение флюоресценции осуществлялось He-Ne лазером с длиной волны 632,8 нм. Концентрация фотосенсибилизатора выражалась в условных единицах и оценивалась по интегральной интенсивности его флюоресценции путем сравнения ее с интенсивностью флюоресценции эталонного фталоцианин-содержащего полимерного образца с известной концентрацией фталоцианина, сопоставимой с терапевтической концентрацией, и оптически характеристиками рассеивания, близкими к свойствам человеческих тканей. Селективность накопления ФС рассчитывали как соотношение между значе-

ниями интенсивности флюоресценции препарата в опухоли и в здоровой ткани ГМ.

Для проведения ФДТ крысам с глиобластомой 101/8 фотосенс вводили на 6–10 сут в хвостовую вену в дозах 2 мг/кг; 3,5 мг/кг и 5,6 мг/кг. Для предупреждения отека ГМ через 2 ч после облучения животным вводили дексаметазон по 1 мг/кг и далее ежедневно п/к в течение 3 дней. ФДТ проводили 2 способами: поверхностно через твердую мозговую оболочку, либо интерстициально с помощью специального световода, вводимого в полость черепа на глубину 1 мм через трепанационное отверстие. При облучении использовали лазер ЛФТ-630/670-01-БИОСПЕК в типичных параметрах облучения для работы с ФС:  $\lambda$  – 675 нм; величина мощности облучения и время воздействия варьировали, в зависимости от условий эксперимента (мощность облучения 55–250 мВт, время облучения 3–15 мин). Дозы ФС и режимы лазерного облучения см. в табл.

Для оценки эффективности использовали два критерия: увеличение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными; патоморфоз опухоли после ФДТ.

УПЖ рассчитывали по формуле:

$$УПЖ(\%) = \frac{СПЖ_о - СПЖ_к}{СПЖ_к} \times 100, \text{ где}$$

СПЖ<sub>к</sub> – средняя продолжительность жизни крыс в контрольной группе, а СПЖ<sub>о</sub> – в опытной группе.

При патоморфологическом исследовании крыс забивали путем декапитации через 72 ч и/или через 7 дней после лазерного облучения. Макроскопически оценивали размеры видимой опухоли. Затем делали срезы толщиной 6–8 микрон по общепринятой методике. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Фишера-Стьюдента с помощью пакета статистических программ «Statistica». Разницу считали достоверной при  $p < 0,05$ .

Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартного отклонения.

### Результаты и обсуждение

На первом этапе мы исследовали динамику уровня и селективности накопления ФС в опухолевой ткани на 7-й день опыта с целью оценки времени начала проведения ФДТ. Изучение динамики уровня накопления проводили после в/в инфузии ФС по 10 мг/кг; 5,6 мг/кг и 3,5 мг/кг через 1; 3; 6; 12 и 24 ч.

При введении ФС по 10 мг/кг и 5,6 мг/кг мы наблюдали постоянный рост флюоресценции во времени с достижением максимального значения через 24 ч после введения препарата (7,22 усл. ед. и 4,88 усл. ед. соответственно). В здоровой же ткани головного мозга крыс уровень накопления ФС практически не изменялся в течение суток и составлял в среднем 0,3 усл. ед. и 0,2 усл. ед. соответственно. При введении препарата по 3,5 мг/кг максимальная интенсивность флюоресценции наблюдалась уже через 4 ч после введения препарата и составляла 3,93 усл. ед. Через 6 ч она несколько снижалась и оставалась на одном уровне (3,21–3,35 усл. ед.), тогда как в нормальной ткани ГМ уровень накопления ФС медленно снижался с 0,25 усл. ед. до 0,11 усл. ед. (рис. 1).

Исходя из полученных данных, можно сделать заключение, что ФС селективно накапливается в опухолевой ткани, и уровень накопления в дозе 3,5 мг/кг практически не отличается от такового в дозе 5,6 мг/кг через 3–4 ч после его введения.

Таблица

Фотодинамическая терапия глиобластомы 101/8 крыс

Опыт	Группа	ФС, мг/кг	Облучение			Животные	
			Плотность мощности*	t, мин	Способ	n **	День гибели
I	ФС+ облучение	5,6	250	15	Поверхн.	3/6	4 ч; 4 ч; 10 д
		5,6	250	5	Интерстиц.	2/6	4 ч; 10 д
II	ФС+ облучение	5,6	125	15	Поверхн.	3/6	4 ч; 4 ч; 4 ч
		5,6	125	5	Интерстиц.	2/6	4 ч; 12 д
III	ФС+ облучение	3,5	125	5	Интерстиц.	3/6	6; 7; 8 д
		—	125	5	Интерстиц.	2/6	4; 10 д
IV	ФС+ облучение	3,5	125	3	Интерстиц.	2/6	2; 2 д; 9 д
		3,5	55	6		2/6	
V	ФС+ облучение	3,5	100	5	Интерстиц.	2/7	2; 2 д; 9 д
		3,5	55	5		1/6	
VI	ФС+ облучение контроль	2	100	5	Интерстиц.	7/15*** 10/10	4 ч; 1; 2; 5; 8; 9 д
Без опухоли	ФС+ облучение	3,5	85	5	Поверхн.	1/2	4 ч
		3,5	55	5		0/3	

\*При поверхностном излучении мВт/5мм<sup>2</sup>, при интерстициальном – мВт

\*\*в числителе – павшие крысы, в знаменателе – общее число крыс в группе

\*\*\*в числителе – крысы, павшие на 19-й день эксперимента, в знаменателе – общее число крыс в группе

При патоморфологическом исследовании крыс забивали путем декапитации через 72 ч и/или через 7 дней после лазерного облучения. Макроскопически оценивали размеры видимой опухоли. Затем делали срезы толщиной 6–8 микрон по общепринятой методике. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Фишера-Стьюдента с помощью пакета статистических программ «Statistica». Разницу считали достоверной при  $p < 0,05$ .

Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартного отклонения.

### Результаты и обсуждение

На первом этапе мы исследовали динамику уровня и селективности накопления фотосенса в опухолевой ткани на 7-й день опыта с целью оценки времени начала проведения ФДТ. Изучение динамики уровня накопления проводили после внутривенного введения препарата в дозах 10 мг/кг; 5,6 мг/кг и 3,5 мг/кг через 1; 3; 6; 12 и 24 ч.

При введении фотосенса в дозах 10 мг/кг и 5,6 мг/кг мы наблюдали постоянный рост флюоресценции во времени с достижением максимального значения через 24 ч после введения препарата (7,22 усл. ед. и 4,88 усл. ед. соответственно). В здоровой же ткани головного мозга крыс уровень накопления ФС практически не изменялся в течение суток и составлял в среднем 0,3 усл. ед. и 0,2 усл. ед. соответственно (рис. 1). При введении препарата в дозе 3,5 мг/кг максимальная интенсивность флюоресценции наблюдалась уже через 4 ч после введения препарата и составляла 3,93 усл. ед. Через 6 ч она несколько снижалась и оставалась на одном уровне (3,21–3,35 усл. ед.), тогда так в нормальной ткани головного мозга уровень накопления фотосенса медленно снижался с 0,25 усл. ед. до 0,11 усл. ед. (рис. 1).

Исходя из полученных данных, можно сделать заключение, что ФС селективно накапливается в опухолевой ткани, и уровень накопления препарата в дозе 3,5 мг/кг практически не отличается от такового в дозе 5,6 мг/кг через 3–4 ч после его введения.

При оценке селективности накопления фотосенса в опухолевой ткани показано, что индекс се-

лективности растет в течение суток. При введении препарата в дозах 10 мг/кг и 5,6 мг/кг это происходит главным образом вследствие повышения уровня накопления ФС в ткани глиобластомы 101/8, тогда как при введении ФС в дозе 3,5 мг/кг в основном за счет выведения препарата из нормальной ткани ГМ (рис. 2). Максимальный индекс селективности наблюдался при введении препарата в дозах 10 мг/кг и 5,6 мг/кг через 12 ч после введения фотосенса и составлял 12,7 и 12,4 соответственно, а в дозе 3,5 мг/кг на этот же срок наблюдения – 7,61, а через 24 ч – 7,8. Учитывая литературные данные о средней величине индекса селективности (7–8), и наши данные (7,8), по-видимому, ФДТ целесообразно проводить с использованием меньших доз фотосенса, когда наблюдается выведение фотосенсибилизатора из нормальной ткани ГМ, а индекс селективности остается высоким.

Таким образом, учитывая высокий уровень накопления фотосенса в глиобластоме 101/8 и снижение его в нормальной ткани мозга, лазерное облучение опухоли следует проводить через 24 ч после введения фотосенсибилизатора.

С целью определения срока начала проведения ФДТ, мы изучали динамику уровня накопления ФС в процессе роста глиобластомы 101/8 с 6 по 10 сутки после перевивки опухоли (рис. 3). ФС вводили в дозе 2 мг/кг. На рис. 3 видно, что уровень накопления фотосенса в опухолевой ткани ГМ через 24 ч после в/в введения препарата в дозе 2 мг/кг уже на 6-й день опыта составлял 1,7 усл. ед., а на 7-й день – 1,95 усл. ед. Далее уровень накопления ФС оставался на высоком уровне и к 9–10 дню опыта достигал 2,65–2,7 усл. ед., что, по-видимому, связано с ростом опухоли. Учитывая достаточный уровень накопления ФС, ФДТ можно проводить на 7-й день после перевивки опухоли.

При проведении ФДТ с ФС были изучены разные режимы лазерного облучения. Данные, представленные в табл. 1, показывают, что изученные режимы лазерного облучения опухолей при дозах ФС 3,5 мг/кг и 5,6 мг/кг вызывали гибель большинства леченных крыс от отека ГМ в первые часы после ФДТ или раньше контрольных животных, по-видимому, в связи с проявлением темновой токсичности.

Однако следует отметить, что при использовании фотосенса в дозе 3,5 мг/кг и интерстициальном лазерном облучении с мощностью 55 мВт в течение 5 мин погибло всего одно животное от развившегося отека ГМ.

При снижении дозы ФС до 2 мг/кг и изменении режима лазерного облучения (мощность 100 мВт, время облучения 5 мин) все же удалось выявить эффективность терапии по выживаемости (см. таблицу). На 19-й день эксперимента 7 из 15 крыс были живы после проведения ФДТ. В то же время в контроле к этому сроку наблюдения из-за развития опухолевого процесса выявлена 100% гибель животных.

Учитывая высокий процент гибели животных после облучения из-за развития отека ГМ, более надежным критерием оценки эффективности фотосенса при проведении ФДТ глиобластомы 101/8 следует считать патоморфологический критерий.

Нами установлено, что в опытной группе площадь некроза выше (до 70–90 %), чем в контрольной (10–15 %). Отмечалось резкое снижение количества митозов и повышалась выраженность апоптоза в опухолевой ткани после облучения, возрастало количество разрушенных сосудов с кровоизлияниями, а также их тромбоз в результате деструктивного васкулита. Кроме того, в опытной группе выявлены более выраженные повреждения прилежащей к опухоли ткани мозга, в связи с инфильтрацией ее опухолевыми клетками.

На рис. 4 представлены микрофотографии опухоли крысы из контрольной группы на 13-й день эксперимента. Опухоль растет в глубине мозговой ткани, построена из низкокодифференцированных атипичных клеток веретеновидной формы с гиперхромными ядрами, большим количеством митозов, многочисленными тонкостенными сосудами капиллярного типа с пролиферацией эндотелия и перicyтов. Встречались множественные очаги спонтанного коагуляционного некроза, окруженные валом радиально расположенных опухолевых клеток, а также отдельные апоптотические тельца, расположенные преимущественно по периферии очагов некроза. Наблюдалась инвазия в прилежащую ткань мозга, где отмечались выраженные явления отека.

На рис. 5 представлены микрофотографии опухоли крысы опытной группы через 72 ч после ФДТ с параметрами облучения: плотность мощности 50 мВт/5 мм<sup>2</sup> в течение 5 мин. Опухоль построена из низкокодифференцированных атипичных клеток веретеновидной формы с гиперхромными ядрами, митозы практически не определялись, но содержала многочисленные тонкостенные сосуды капиллярного типа с разрушенной базальной мембраной, сладжированием эритроцитов, тромбозом и диапедезом эритроцитов и формированием более крупных кровоизлияний. Встречались множественные очаги спонтанного коагуляционного некроза, и относительная площадь некроза в среднем составляла 70 % площади опухоли. Вокруг очагов некроза располагались в большом количестве апоптотические тельца. В зоне инвазии опухоли в прилежащую ткань мозга наблюдались отдельные поля некроза и кровоизлияний, а также выраженные явления отека окружающей опухоль ткани мозга.

В настоящее время излечение больных со злокачественными глиомами практически невозможно, несмотря на применение традиционных методов лечения. Хирургическое вмешательство помогает удалить основную массу опухолевой ткани, установить окончательный гистологический диагноз, а также снизить повышенное внутричерепное давление. ЛТ и ХТ не оказывают существенного влияния на продол-

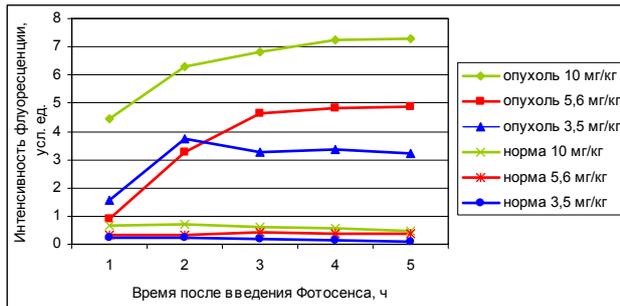
жительность жизни пациентов. Поисками и внедрением в практическую медицину новых методов лечения опухолей ГМ занимается большое количество исследователей – как в эксперименте, так и в клинике [3].

Целью настоящего исследования являлось оценить возможность применения ФДТ с использованием отечественного фотосенсибилизатора II поколения – ФС.

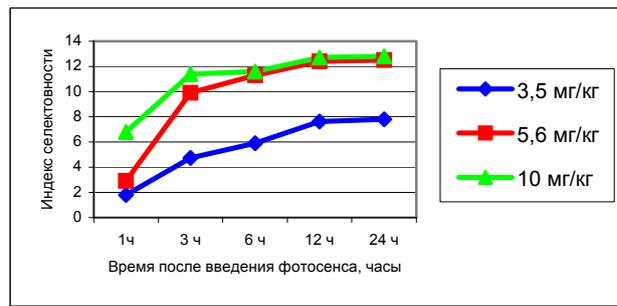
Для исследования противоопухолевой активности ФДТ с использованием ФС нами выбрана глиобластома 101/8, которая близка по гистологическому строению мультиформной глиобластоме человека. Эта опухоль обладает высокой степенью прививаемости (90–100 %) и высокой инфильтративной способностью.

ФДТ является локальным методом лечения и эффект ее зависит от высокого уровня накопления и селективности фотосенсибилизатора в опухоли. При высокой селективности можно ожидать значительного поражения опухолевой ткани без или с минимальным повреждением нормальной ткани мозга, окружающей первичный очаг. На модели 9L-глиосаркомы крыс, леченных фотофрином-2, селективностью составила 8:1 [4]. Исследования с производными бензопорфирина выявили селективность, равную 7:1 при интракраниальных опухолях с максимумом накопления фотосенсибилизаторов в глиоме между 3 и 5 ч [5]. Как и при использовании в качестве сенсibilизаторов гематопорфирина и фотофрина, нами выявлена высокая селективность накопления ФС в опухолевой ткани. При оценке селективности накопления фотосенса в глиобластоме показано, что индекс селективности растет в течение суток и достигает 12,7; 12,4 и 7,8 при использовании препарата в дозах 10; 5,6 и 3,5 мг/кг соответственно.

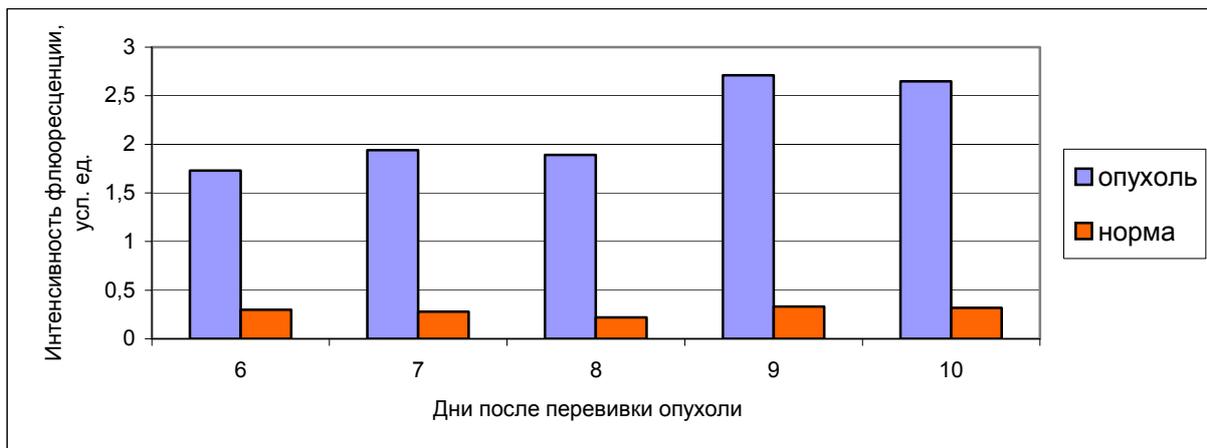
Опухоли головного мозга отличаются от новообразований другого происхождения рядом специфических черт. Особенностью опухолей головного мозга является их рост в закрытом пространстве черепной коробки, поэтому небольшой массы опухоли достаточно для появления тяжелых неврологических симптомов. Поэтому большинство лечебных воздействий, в том числе и оперативное вмешательство, вызывают развитие отека мозга, который нередко приводит к декомпенсации неврологических расстройств и летальному исходу. Еще одной особенностью является отсутствие в мозге лимфатической системы. Накапливающаяся в опухоли и окружающей ее ткани мозга жидкость не может быть удалена иначе, как при помощи диффузии к ликворноспинным пространствам, что в значительной степени усиливает выраженность отека. Кроме того, развитию отека способствует повышение давления в капиллярном русле опухоли, вследствие недостаточной микроциркуляции и тромбоза сосудов. Послеоперационный отек ГМ описывается во многих экспериментальных и клинических исследованиях. Многие исследователи считают, что отек головного мозга можно легко контролировать при помощи глюкокортикоидной терапии, тогда как другие исследователи отмечают, что кортикостероиды не влияют на степень развития отека ГМ. При комбинированном лечении с включением интра- и послеоперационной ФДТ, явления отека мозга могут прогрессировать. Рядом ученых [6] установлено, что у больных после удаления опухоли и последующей ФДТ внутричерепное давление в первые 24–36 ч после операции было в 2 раза выше, чем у пациентов только после резекции опухоли. В клиническом исследовании Eljamel M.S. [2] показано, что после внутриполостной ФДТ опухоли без декомпрессии отек ГМ развивался у всех пациентов и достигал максимума между 24 и 72 ч после ФДТ.



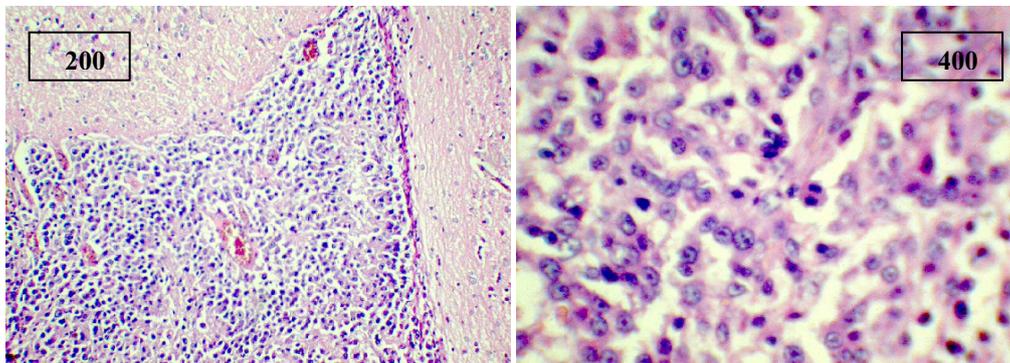
**Рис. 1.** Динамика интенсивности флюоресценции фотосенса в ткани глиобластомы 101/8 и нормальной ткани мозга крыс в течение суток после введения препарата в дозах 10 мг/кг; 5,6 мг/кг; 3,5 мг/кг.



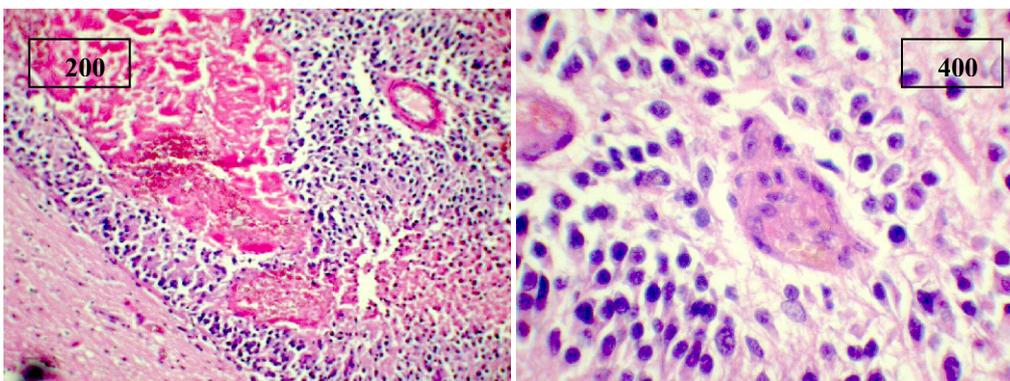
**Рис. 2.** Индекс селективности накопления фотосенса в ткани глиобластомы 101/8 в разных дозах в течение суток после введения препарата.



**Рис. 3.** Динамика интенсивности флюоресценции фотосенса в ткани глиобластомы 101/8 и нормальной ткани мозга крыс через 24 ч после введения препарата в дозе 2 мг/кг.



**Рис. 4.** Глиобластома 101/8. 13-й день опыта. Контрольная крыса. Окраска гематоксилин-эозином.



**Рис. 5.** Глиобластома 101/8. 13-й день опыта. Через 72 ч после ФДТ (50 мВт/5 мм<sup>2</sup>×5 мин). Окраска гематоксилин-эозином.

В нашем исследовании на крысах с глиобластомой 101/8 большинство животных после ФДТ с использованием высоких доз (3,5–5,6 мг/кг) фотосенса погибали в течение первых 3 дней после лазерного облучения от выраженного отека мозга.

На более поздних сроках (в течение недели) основными причинами гибели животных были внутримозговая гипертензия и кровоизлияния в области опухоли. При гистологическом исследовании мозга этих крыс был обнаружен некроз опухоли с многочисленными кровоизлияниями, а также отек окружающей ткани.

В то же время, нам все же удалось уменьшить побочные эффекты путем снижения дозы фотосенса (2 мг/кг), определенного режима лазерного облучения (100 мВт в течение 5 мин), а также введения глюкокортикоидов мы получили терапевтический эффект применения ФДТ и смогли оценить ее эффективность по критерию УПЖ (на 19-й день эксперимента 54 % опытных крыс были живы при 100% гибели контрольных животных).

Однако эти результаты УПЖ были статистически незначимы, поэтому более надежным критерием оценки эффективности ФДТ с использованием ФС считаем патоморфологический.

Наши результаты показывают четкую зависимость между дозой облучения и/или фотосенсибилизатора и объемом некроза в опухоли. Berenbaum M.C. et al. [1] обнаружили, что значительную роль в действии ФДТ играет накопление фотосенсибилизатора в эндотелиальных клетках.

Поэтому облучение сенсibilизированных эндотелиальных клеток приводит к поражению капилляров, обширным кровоизлияниям и таким образом к некрозу опухолевой ткани.

Кроме того, ФДТ сопровождается отеком ГМ, что приводит к снижению кровоснабжения опухоли и последующему некрозу.

### Литература

1. *Berenbaum M.C., Hall G.W., Hoyes A.D.* Cerebral photosensitisation by haematoporphyrin derivative. Evidence for an endothelial site of action // *Br J Cancer.* – 1986. – Vol. 53(1). – P. 81–9.
2. *Eljamel M.S.* Brain photodignosis (PD), fluorescence guided resection (FGR) and photodynamic therapy (PDT): past, present and future // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2008. – Vol. 5(1). – P. 29–35.
3. *Gaullier J.M., Berg K., Peng Q. et al.* Use of 5-aminolevulinic acid esters to improve photodynamic therapy on cells in culture // *Cancer Res.* – 1997. – Vol. 57(8). – P. 1481–6.
4. *Gupta S., Dwarakanath B.S., Muralidhar K., Jain V.* Cellular uptake, localization and photodynamic effects of haematoporphyrin derivative in human glioma and squamous carcinoma cell lines // *J Photochem Photobiol B.* – 2003. – Vol. 69(2). – P. 107–20.
5. *Hebeda K.M., Kamphorst W., Sterenborg H.J., Wolbers J.G.* Damage to tumour and brain by interstitial photodynamic therapy in the 9L rat tumour model comparing intravenous and intratumoral administration of the photosensitizer // *Acta Neurochir (Wien).* – 1998. – Vol. 140(5). – P. 495–501.
6. *Hebeda K.M., Saarnak A.E., Olivo M. et al.* 5-Aminolevulinic acid induced endogenous porphyrin fluorescence in 9L and C6 brain tumours and in the normal rat brain // *Acta Neurochir (Wien).* – 1998. – Vol. 140(5). – P. 503–12.
7. *Muller P.J., Wilson B.C.* Photodynamic therapy of brain tumors--a work in progress // *Lasers Surg Med.* – 2006. – Vol. 38(5). – P. 384–9.
8. *See S.J., Gilbert M.R.* Chemotherapy in adults with gliomas // *Ann Acad Med Singapore.* – 2007. – Vol. 36(5). – P. 364–6.
9. *Stylli S.S., Kaye A.H.* Photodynamic therapy of cerebral glioma--a review Part I--a biological basis // *J. Clin. Neurosci.* – 2006. – Vol. 3(6). – P. 615–25. Epub 2006 Mar 22.
10. *Yang L., Ng K.Y., Lillehei K.O.* Cell-mediated immunotherapy: a new approach to the treatment of malignant glioma // *Cancer Control.* – 2003. – Vol. 10(2). – P. 138–47.
11. *Zimmermann A., Ritsch-Marte M., Kostron H.* mTHPC-mediated photodynamic diagnosis of malignant brain tumors // *Photochem. Photobiol.* – 2001. – Vol. 74(4). – P. 611–6.

*Работа выполнена при поддержке правительства г. Москвы на основании научно-технической программы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний».*

### Выводы

Полученные данные свидетельствуют, что фотосенс селективно и дозозависимо накапливается в опухолевой ткани. Индекс селективности растет в течение суток. Максимальный индекс селективности наблюдается при введении препарата по 10 мг/кг и 5,6 мг/кг через 12 ч после введения ФС и составляет 12,7 и 12,4 соответственно, а в дозе 3,5 мг/кг на этот же срок наблюдения – 7,61; через 24 часа – 7,8. Учитывая достаточно высокий уровень накопления ФС в ткани глиобластомы 101/8, ФДТ следует проводить на 7-й день опыта и через 24 ч после введения фотосенсибилизатора, когда наблюдается выведение фотосенсибилизатора из нормальной ткани ГМ, а индекс селективности остается высоким. Выявлена эффективность ФДТ с ФС по критерию увеличения продолжительности жизни только при введении ФС в дозе 2 мг/кг и щадящем режиме лазерного облучения (100 мВт в течение 5 мин). На 19-й день эксперимента в опытной группе 7 из 15 крыс остаются живы, тогда как в контроле наблюдается 100% гибели животных. Основным критерием эффективности ФДТ+ФС – патоморфологический. При оценке патоморфоза через 72 ч после ФДТ отмечено выраженное повреждение опухоли: некроз и апоптоз неопластических клеток, тромбоз и разрушение сосудов с обширными кровоизлияниями. Таким образом, в результате проведенного нами исследования показана эффективность ФДТ с ФС по патоморфозу глиобластомы 101/8 в процессе лечения и, следовательно, возможность испытания отечественного фотосенсибилизатора II поколения при лечении опухолей ГМ в клинике. Для уменьшения побочных явлений (отек ГМ) необходимо продолжить исследование с целью подбора терапевтической дозы ФС и световой дозы лазерного облучения, чтобы минимизировать побочные эффекты ФДТ.