

УДК 616-006.484.615.381:616-073.524

*I. Yu. Kubasova, E. G. Vakulovskaya, K. V. Ermakova, Z. S. Smirnova*

## FLUORESCENT DETECTION AND PHOTODYNAMIC THERAPY IN TREATMENT OF BRAIN TUMORS

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

### ABSTRACT

The prognosis for patients with malignant brain tumors, especially glioblastoma multiforme is dismal. The experimental and clinical possibilities of fluorescent diagnostics and fluorescence guided resection of malignant glioma in increase of completeness of tumor removal and photodynamic therapy with first and second-generation photosensitizers in prolongation of patient's survival is analyzed in review.

**Key words:** photodynamic therapy, fluorescent diagnostics, glioblastoma multiforme, photosensitizer.

*И. Ю. Кубасова, Е. Г. Вакуловская, К. В. Ермакова, З. С. Смирнова*

## ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

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

### РЕЗЮМЕ

Прогноз больных злокачественными опухолями мозга, особенно мультиформными глиобластомами, остается крайне неблагоприятным. В обзоре проанализированы экспериментальные и клинические возможности использования флюоресцентной диагностики и флюоресцентного контроля резекции глиобластом для более полного удаления опухоли и фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизаторов 1-го и 2-го поколения с целью увеличения продолжительности жизни больных.

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, флюоресцентная диагностика, мультиформная глиобластома, фотосенсибилизатор.

### ВВЕДЕНИЕ

Первичные злокачественные опухоли головного мозга составляют около 2-3 % всех новообразований у человека, течение болезни имеет различный прогноз, определяемый, в первую очередь, морфологической формой опухоли [7]. Основным методом лечения опухолей мозга остается хирургический, при лечении глиобластом также используется комбинированное или комплексное лечение с включением в постоперационном периоде дистанционной лучевой терапии (РОД 1,8–2 Гр, СОД 52–64 Гр) и химиотерапии (ХТ) [99]. Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) у здорового человека препятствует поступлению в мозг большинства противоопухолевых препаратов. Рост опухоли сопровождается повреждением ГЭБ, приводящим к повышению его проницаемости [75; 76; 77], но тем не менее лекарственная терапия у больных сопряжена со значительными трудностями. Несмотря на совершен-

ствование микрохирургической техники и использование комплексной терапии, успехи в лечении злокачественных опухолей головного мозга остаются неутешительными.

Наименее благоприятным остается прогноз у больных глиобластомами относительно к 4-й степени злокачественности (классификация ВОЗ). Средняя продолжительность жизни больных глиобластомой по данным различных авторов не превышает 9–12 мес (мультиформная глиобластома, МГ), при этом медиана выживаемости при хирургическом лечении составляет 16–20 нед, при комплексном – 40–60 нед [9; 13; 21; 51; 67; 83]. Это обусловлено особенностями развития МГ: инфильтративным характером роста новообразования, сопровождающимся выраженным перифокальным отеком ткани мозга и дальнейшей диссеминацией опухоли, отсутствием капсулы. Визуально МГ не отличается от окружающей здоровой ткани мозга,

что затрудняет ее демаркацию и удаление [1; 17–19]. Использование современных методов интраоперационной навигации (нейронавигации, ультразвукового исследования, рентгеновской компьютерной и магниторезонансной томографии) незначительно изменило выживаемость больных [28; 29; 53; 96].

Операция у больных МГ не является радикальной и обычно носит циторедуктивный характер, что обусловлено не только сложностью определения границ опухоли, но и невозможностью в большинстве случаев провести широкое удаление образования из-за вероятного развития тяжелых неврологических расстройств, особенно при расположении опухоли вблизи или ее распространении на речевые и моторные зоны.

Вопрос о влиянии объема циторедуктивной операции на прогноз жизни пациента остается спорным, часть исследователей демонстрируют преимущества максимально возможной циторедукции [101; 102], другие авторы это опровергают [97]. В большинстве этих исследований основным критерием оценки остается личное мнение хирурга, не всегда объективное [13; 67; 99]. Исследования послеоперационной МРТ головного мозга показали, что полного удаления опухоли удается достигнуть не более, чем в 20 % случаев [3; 7]. Недостаточная эффективность традиционного лечения привела к поиску новых методов. В последние годы опубликованы 2 исследования об использовании иммунотерапии у больных глиобластомами [16; 20]. Поскольку продолженный рост опухоли в подавляющем большинстве случаев происходит на границе зоны циторедукции, актуальными остаются вопросы совершенствования интраоперационной визуализации опухоли и более агрессивной местной терапии остаточной опухоли. В настоящее время все большее внимание исследователей привлекают фотодинамическая терапия (ФДТ) и флюоресцентная диагностика (ФД) злокачественных опухолей мозга.

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ

ФДТ – принципиально новый метод лечения злокачественных опухолей, основанный на способности фотосенсибилизаторов (ФС) селективно накапливаться в ткани опухоли и при локальном воздействии лазерного облучения определенной длины волны, совпадающего с пиком поглощения препарата, генерировать образование синглетного кислорода и других активных радикалов, оказывающих токсический эффект на опухолевые клетки. Достоинством ряда фотосенсибилизаторов является возможность флюоресцировать, что дает возможность проводить ФД, один из наиболее перспективных методов ранней диагностики опухолей.

ФДТ индуцирует как некроз, так и апоптоз опухолевых клеток [97]. Факторами, влияющими на развитие апоптоза или некроза, являются тип клеток, фотосенсибилизатор, его внутриклеточная локализация и световая доза. Более низкие световые дозы способст-

вуют развитию апоптоза, более высокие – некроза. Чаще всего апоптоз развивается при поражении митохондрий, которое приводит к быстрому освобождению митохондриального цитохрома С в цитозоль с последующей активацией апоптосомы и прокаспазы-3. В последние годы активный интерес исследователей вызывает также так называемый «bystander effect», когда при фотодинамическом воздействии гибнут не только клетки, получившие летальное прямое фототоксическое повреждение, но и группы мало пострадавших клеток, расположенных поблизости. Кроме того, важной при проведении ФДТ является достаточная для возникновения синглетного кислорода оксигенация тканей [24]. Возникающее при ФДТ повреждение сосудистого русла в зоне облучения приводит к гипоксии и, в свою очередь, снижает эффективность фотодинамической реакции [25; 60; 61].

Кроме прямого цитотоксического воздействия, при ФДТ важную роль в деструкции играют также нарушение кровоснабжения опухоли за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов опухолевой ткани; цитокиновые реакции, обусловленные стимуляцией продукции фактора некроза опухоли, активацией макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов. В настоящее время считается, что непрямая клеточная гибель, вызываемая вторичными механизмами, чрезвычайно важна [24]. Высокая избирательность поражения опухоли при ФДТ позволяет минимально травмировать окружающие здоровые ткани, что обуславливает высокий функциональный результат лечения. Метод ФДТ выгодно отличается от традиционной терапии отсутствием тяжелых местных и системных осложнений.

Эффективность фотодинамического повреждения биологической ткани определяется главным образом уровнем накопления сенсибилизатора, его локализацией в клетке, фотохимической активностью (квантовым выходом генерации синглетного кислорода или свободных радикалов). Время жизни синглетного кислорода невелико, его диффузионный путь не превышает, как правило, 1 мкм, поэтому эффективность повреждения клетки в значительной мере зависит от локализации ФС в наиболее уязвимых с точки зрения клеточного метаболизма структурах клетки: мембранах митохондрий, аппарате Гольджи и других [12; 14]. Известно, что фотодинамическое воздействие носит пороговый характер. Для существенного повреждения клетки концентрация цитотоксического агента в ней должна обеспечить такую скорость нанесения повреждений, которая оказалась бы выше, чем скорость внутриклеточных репараций. Следовательно, необходим высокий уровень накопления ФС в клетке.

Накопленный опыт позволяет сформулировать следующие биологические (токсические и фармакокинетические) и химико-технологические требования, предъявляемые к идеальному фотосенсибилизатору:

- доступный способ получения или синтеза, однородный химический состав;
- устойчивость при хранении и введении в организм;

- низкая темновая и световая токсичность, включая нейротоксичность;
- высокая селективность накопления в тканях новообразований и быстрое выведение ФС из организма;
- слабое накопление в коже (для минимизации кожной фототоксичности);
- высокий квантовый выход триплетного состояния с энергией не менее 94 кДж/моль для эффективного образования синглетного кислорода;
- высокий квантовый выход флюоресценции;
- интенсивный максимум спектра поглощения в области 700–900 нм (красный и ближний инфракрасный свет), т.е. в спектральном диапазоне, где невелико собственное поглощение биологической ткани и вследствие чего имеется наибольшее пропускание света.

Однако до настоящего времени не существует ФС, отвечающего всем этим требованиям. Большинство используемых препаратов являются производными порфиринов или порфириноподобных соединений: фталоцианинов, хлоринов с различными боковыми заместителями и центральными катионами [44]. Клинические испытания препарата 1-го поколения фотофрин-2 были начаты в США в 1984 г. Незначительная глубина проникновения света, возбуждающего препарат в ткани, и соответственно возможность эффективной терапии только поверхностных образований сделало актуальным клиническое применение более эффективных препаратов 2-го поколения.

### ФДТ И ФД ОПУХОЛЕЙ МОЗГА

Экспериментальные исследования проводятся на монослойных клеточных культурах, сфероиды глиомы С6 и моделях опухолей мозга лабораторных животных [22; 23; 30; 31; 33; 44; 57]. Трехмерный многоклеточный сфероид является промежуточным состоянием между стандартным монослоем и опухолью *in vivo*. Размер сфероида примерно равен среднему размеру межсосудистого интервала в ткани мозга – 400 мкм, поэтому сфероид имитирует ткань глиомы и содержит гетерогенные клеточные субпопуляции, различающиеся, в первую очередь, степенью оксигенации. *In vivo* чаще всего используются модели опухолей мозга мелких лабораторных животных (мышей, крыс) [4]. Однако эти модели неадекватны глиобластомам человека по своей гистоархитектонике и часто имеют капсулу. Более близкие модели получают введением бестимусным животным клеток глиобластомы человека, имеющей инфильтративный рост [10; 35–37]. Кроме того, проведение ФДТ у мелких лабораторных животных приводит к развитию выраженного отека мозга, в большинстве случаев приводящего к их гибели, что не дает возможности изучать отсроченные эффекты ФДТ. Более удачно использование кроликов и собак [85; 94]. ФС экспериментальным животным чаще всего вводятся внутривенно или внутрибрюшинно. Описано также введение ФС непосредственно в ткань опухоли [30; 31], не имеющее перспектив, так

как при таком введении препарат распространяется достаточно быстро в нормальную ткань мозга, не связываясь со структурами опухолевой ткани.

Клинические работы довольно многочисленны, плотные исследования с фотофрином и позднее с mTHPC проведены были в конце 1980-х – 1990-е гг. на неоднородных небольших группах больных. Только в последние годы появились многоцентровые рандомизированные исследования, выполненные на высоком методическом уровне в соответствии с современными принципами доказательной медицины [51; 66; 84; 86–88].

### ФДТ С ФОТОФРИНОМ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА

Фотофрин – ФС 1-го поколения, смесевой препарат, содержащий около 80 % активных олигомеров и димеров порфирина и 20 % неактивных мономеров порфирина [14; 73]. В ранних работах использовались менее очищенные предшественники фотофрина – производные гематопорфирина. Основную роль в патоморфозе противоопухолевого действия фотофрина при ФДТ играет повреждение сосудов микроциркуляторного русла стромы опухоли, поскольку липофильный компонент субстанции гематопорфиринов обладает высокой тропностью к эндотелию быстрорастущих сосудов и их микроокружению. Таким образом, гибель клеток опухолевой паренхимы обусловлена, в основном, гипоксией вследствие девакуляризации опухоли [32; 38].

ФДТ с фотофрином сопряжена со значительными ограничениями, обусловленными характеристикой его электронных спектров поглощения, имеющих максимумы поглощения при 405 нм (полоса Core); 505; 580 и 630 нм. Только минимальный 4-й пик поглощения находится в красной области спектра, что обуславливает низкую проникающую способность возбуждающего лазерного излучения в ткани (от 2 до 4 мм). Поэтому высокая эффективность ФДТ с использованием препаратов 1-го поколения возможна при лечении солидных опухолей размером менее 5 мм, эффективное проникновение света в опухоль мозга составляет 3 мм, эффективное фотодинамическое воздействие 7,5–9,0 мм. Кроме того, препараты 1-го поколения обладают выраженным и длительным кожным фототоксическим действием из-за фиксации ФС в здоровой коже (6–12 нед) и имеют высокую стоимость. ФДТ с фотофрином проводится через 12 [63], 48 ч [61] после внутривенного введения препарата в дозе 2,0–2,5 мг/кг веса тела больного, используются световые дозы в диапазоне 50–150 Дж/см<sup>2</sup> [61; 63–65]. Для проведения ФДТ применяются лазерные (чаще всего аргоновые лазеры) и нелазерные источники света, а в последние годы светодиоды.

S. Granelli продемонстрировал цитотоксичность ФДТ на экспериментальной глиоме *in vitro* и *in vivo* [26]. J. Voggan et al. показали, что ФДТ вызывает некроз у крыс с глиомой 9L [8]. R. E. Wharen et al. описали распределение гематопорфирина в глиомах человека [93]. A. M. Cohen et al. в эксперименте показали,

что опухоли мозга человека чувствительны к ФДТ [11]. После внутривенного введения порфирины локализуются преимущественно в опухоли и инфильтративных опухолевых клетках. J. Y. Ji et al. показали, что при ФДТ с использованием ППП и частичном удалении опухоли увеличение выживаемости наблюдалось лишь у крыс после черепной декомпрессии, крысы же без черепной декомпрессии погибали в течение нескольких дней от развившегося отека мозга [38]. F. Jiang et al. на клеточных культурах доказали, что ФДТ с использованием фотофрина в качестве фотосенсибилизатора значительно снижает миграцию клеток, что может способствовать предотвращению инвазии опухоли *in vivo* [39]. Результаты 1-го клинического исследования были опубликованы S. Perria в 1981 г. [74]. В середине 1980-х гг. появились работы, выполненные в различных клиниках Канады, США и Европы [42–44; 47; 52; 61; 64; 98].

ФДТ проводилась после максимального хирургического удаления опухоли на остаточную опухоль и полость резекции чаще всего как поверхностное облучение с использованием торцевых катетеров, диффузоров или баллонов для более равномерного облучения. Следует отметить, что дозиметрия при облучении полостей неправильной формы представляет сложную задачу вследствие сочетания отражения, вторичного рассеивания и поглощения света [29; 60]. В дальнейшем было предложено и реализовано также интерстициальное облучение с внедрением световодов в ткань мозга и опухоли. Большая часть авторов использовали интраоперационное облучение, но P. J. Muller et al. внедряли световоды во время операции, а облучение проводили в послеоперационном периоде с фракционированием полей облучения, но не световой дозы. Стереотаксическое введение катетеров для ФДТ хирургически недоступных глиом впервые было проведено E. R. Laws et al. [52]. Основным побочным эффектом ФДТ остается отек головного мозга, достигающий максимума между 24 и 72 ч после лечения и корректируемый введением кортикостероидов.

Результаты первых исследований продемонстрировали увеличение средней продолжительности жизни пациентов (до 118 нед) и длительности безрецидивного периода (до 44 нед) [34; 47; 73; 89; 91; 92]. Первое рандомизированное исследование больных МГ тем не менее было завершено только в 2005 г. [66]. 77 пациентов, участвующих в исследовании, были разделены на 2 группы двойным слепым методом. Пациентам 1-й группы проводилась микрохирургическая резекция с послеоперационной дистанционной лучевой терапией и ХТ. Во 2-й группе резекция выполнялась под флюоресцентным контролем и на полость резекции проводилась ФДТ после предварительного введения за 12–36 ч до операции фотофрина в дозе 2 мг/кг веса тела больного при дозе облучения 110–130 Дж/см<sup>2</sup>. Медианы выживаемости составили 8 и 11 мес соответственно, однако различия оказались статистически недостоверными.

### ФДТ И ФДС ХЛОРИНОВЫМИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ

Фоскан (mTHPC) (BioLytec, Германия) – метатetra(гидроксифенил)хлорин – ФС 2-го поколения, синтетический хлорин с пиком поглощения 652 нм. Предклинические исследования были опубликованы M. C. Berenbaum в 1991 г. [90], а для пилотных исследований в нейроонкологии препарат использовался с 1995 г. Контраст между опухолью и окружающими тканями возникает через 96 ч после введения ФС, но препарат вызывает длительную кожную фототоксичность. В то же время к преимуществам Фоскана относятся: низкая доза препарата – 0,15 мг/кг и света – 20 Дж/см<sup>2</sup>, необходимые для проведения ФДТ. Ранние пилотные исследования показали эффективность ФДТ и отсутствие серьезных осложнений у больных первичными и метастатическими опухолями мозга [47; 48]. H. Kostron [49] и A. Zimmermann et al. [100] опубликовали данные I фазы исследования больных рецидивами МГ (47 пациентов), 24 из которых проводилось оперативное лечение под флюоресцентным контролем и ФДТ, 23 больным контрольной группы – традиционное микрохирургическое удаление рецидивной опухоли с применением метатetraгидроксифенилхлорин (mTHPC) для флюоресцентной диагностики. При последующем морфологическом изучении 172 биопсий чувствительность ФД составила 87,9 %, специфичность – 95,7 %, точность – 90,7 %. Ранняя послеоперационная МРТ не выявила усиления контрастирования и наличия остаточной опухоли у 15 больных в группе с ФДТ и у 10 больных в группе традиционного лечения, медиана выживаемости составила 9 мес и 3,5 мес соответственно. Для достоверной оценки необходим дальнейший набор клинического материала.

В последние годы появились экспериментальные и клинические исследования с другими фотосенсибилизаторами, относящимися к группе хлоринов (фотодитазин, радахлорин, РФ), моноаспартил-хлорин (Япония). В зависимости от природы заместителей различные производные хлорина имеют спектры поглощения с максимумом в красной области (640–700 нм). К преимуществам ФС на основе хлорина еб относятся их быстрое выведение из организма и кратковременная кожная фототоксичность. Г. С. Тиглиев и соавт. опубликовали статью об интраоперационной ФДТ с фотодитазинем небольшой неоднородной группе пациентов. Работа выполнена на низком методическом уровне, с неадекватным лазерным облучением и недостаточной прослеженностью пациентов [2]. Изучалась ФДТ с радахлорином также на нейронах [90].

### ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ КОНТРОЛЬ РЕЗЕКЦИИ И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Попытки использовать флюоресцирующие соединения для интраоперационной демаркации глиом не

новы. Первая работа G. E. Moore et al. по применению флюоресцеина натрия, вводимого внутривенно в дозе 8-20 мг/кг за 20 мин до начала удаления опухоли, относится к 1948 г. [62]. Позднее метод был усовершенствован при использовании фильтров, вмонтированных в операционный микроскоп, глиома визуализировалась как область, окрашенная в желтовато-зеленый цвет [40; 50]. Флюоресцеин недостаточно селективен, у пациентов отмечалось окрашивание кожи, слизистых оболочек, мочи в ярко-желтый цвет на 24 ч, поэтому метод не получил широкого распространения [69; 79].

Несмотря на активное использование флюоресцентных методов в экспериментальных работах, до недавнего времени в странах Европы и Америки в клинических исследованиях ФД практически не применялась. Это существенно ограничивало возможности исследователей разрабатывать более гибкие режимы ФДТ, контролировать неинвазивными методами накопление в опухоли ФС, определять границы зон облучения. Интерес к флюоресцентным методам диагностики повысился в последние 10 лет в связи с появлением нового соединения для ФД и ФДТ – 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК). Большое количество доклинических экспериментальных исследований с использованием 5-АЛК проводилось в мире с 1987 г., когда исследованиями J. Kennedy и R. Pottier et al. [45] и Z. Malik et al. [60] был открыт переход 5-АЛК в фотоактивный протопорфирин IX (ПП-9) и его накопление в опухоли. 5-АЛК участвует в биосинтезе гема и является предшественником ПП-9, пики поглощения которого совпадают с пиками поглощения остальных порфиринов. 5-АЛК обладает интенсивной флюоресценцией на длинах волн 635 и 700 нм и фотодинамической активностью. Определяющей реакцией биосинтеза гема является реакция образования 5-АЛК, катализируемая 5-АЛК-синтетазой. Синтез 5-АЛК регулируется количеством внутриклеточного гема через систему отрицательной обратной связи [93; 95].

Трансформация ПП-9 в гем – относительно медленный процесс, поэтому системное или местное введение избыточного количества 5-АЛК обходит эту отрицательную обратную связь и ведет к временному увеличению синтеза ПП-9 в митохондриях. Многочисленные исследования показали, что опухолевые клетки способны к повышенному накоплению ПП-9 в присутствии экзогенной 5-АЛК, что связывают с большей активностью в опухолевых клетках ферментов начального этапа синтеза гема, а также со снижением активности в них из-за ограниченной доступности железа, феррохелатазы – фермента, превращающего ПП-9 в гем. Важную роль также могут играть изменение активности и появление несвойственных мест внутриклеточной локализации порфобилиноген деаминазы – фермента, регулирующего синтез порфирина, изменение pH опухоли, особенности липидного обмена биомембран опухоли. ПП-9 в опухоли накапливается в течение нескольких часов, высокий уровень его удерживается до 1–2 сут, в то время, как в

нормальных клетках ПП-9 быстро превращается в фотонеактивный гем [45; 60]. Результатом этого является флюоресцентный контраст опухоли относительно окружающей ткани [70–72].

Фотовыгорание с образованием фотопродуктов, проявляющееся снижением как поглощения, так и флюоресценции ФС, выражено у ПП-9 [33]. Фотохимическое обесцвечивание зависит от длины волны света, оно сильнее в тех частях спектра света, при котором возбуждаются сильное поглощение и сильная флюоресценция [21]. После возбуждения светом с длиной волны 400–410 нм время полураспада в этой химической реакции достигает 15–20 мин [5; 33; 41; 54].

5-АЛК быстро выводится из тканей при системном введении, поэтому кожная фототоксичность длится не более 24 ч [15; 89]. Существенным достоинством 5-АЛК является возможность использования различных лекарственных форм и путей введения [73]. У экспериментальных животных максимальные уровни накопления ПП-9 в тканях наблюдаются через 2–4 ч [73]. Чувствительность ФД с 5-АЛК при различной локализации опухолей составляет более 90 %, а селективность накопления выше, чем у многих других ФС. Сегодня у больных раком кожи, пищевода Барретта, ранним раком пищевода, толстой кишки, полости рта, желудка, легких успешно применяется ФД и ФДТ с 5-АЛК. Побочными эффектами при приеме 5-АЛК внутрь являются тошнота и рвота, зависящие от дозы вводимого препарата. В ряде исследований показано кратковременное повышение уровня трансаминаз и билирубина в плазме при приеме высоких доз 5-АЛК [27; 55; 78].

В результате проведенных исследований в конце 1990-х гг. были разработаны серийные эндобронхоскопы D-light/AF System (Karl Storz GmbH, Wolf, Германия), а в последние годы – операционные микроскопы с флюоресцентными приставками (Zeiss, Германия), позволившие активнее использовать ФД с производными 5-АЛК. В 2003 г. начаты исследования с эфирами 5-АЛК. Основные преимущества применения эфиров – уменьшение количества вводимого препарата и сокращение сроков инстиляции или аппликации, что не имеет значения у нейроонкологических больных [23; 46]. Однако при применении эфиров 5-АЛК отмечается тот же высокий уровень ложноположительной флюоресценции.

Флюоресценция с 5-АЛК при использовании флюоресцентных эндоскопов или операционных микроскопов может регистрироваться в виде как спектра, так и флюоресцентного изображения. Лучшие результаты дает комбинация этих методов диагностики, ибо спектрометрия дает количественные характеристики флюоресценции.

Кинетика накопления ПП-9 после введения 5-АЛК отличается при использовании различных клеточных линий опухолей: максимальная концентрация возникает через 85 мин – 24 ч после введения [68]. При исследовании накопления 5-АЛК в опухолях моз-

га крыс и кроликов было показано, что отношение концентрации ПП-9 в опухоли и нормальной ткани составляет примерно 6:1, максимальное накопление в опухоли наблюдается через 3–6 ч после системного введения. 5-АЛК может проникать в ткань мозга на некоторое расстояние от опухоли (до 2 мм) и sensibilizировать инфильтрирующие здоровую ткань опухолевые клетки [85].

В Германии завершена III фаза многоцентрового (19 медицинских центров) клинического исследования по интраоперационной флюоресцентной диагностике и флюоресцентному контролю резекции у больных МГ с 5-АЛК, принимаемой внутрь в дозе 20 мг/кг веса тела пациента за 3 ч до наркоза. Проведено рандомизированное исследование двойным слепым методом с использованием в качестве контроля пациентов, которым проводилось традиционное микрохирургическое удаление опухоли в белом свете. В исследование были включены 350 больных, заключительный анализ проведен 270 больным, 139 из которых выполнен флюоресцентный контроль резекции. Было доказано, что в опухоли выделяются 2 типа флюоресценции: интенсивно-красная, соответствующая солидной части опухоли, и бледно-розовая (интенсивность которой по данным спектрометрии была на порядок ниже). При морфологическом изучении биопсийного материала оказалось, что слабая флюоресценция соответствует опухолевым клеткам, инфильтрирующим здоровую ткань мозга в зоне перифокального отека. Использование флюоресцентной навигации позволило увеличить количество удаляемой опухолевой ткани, а число случаев полного удаления опухоли по данным МРТ повысить с 36 до 65 %, что привело к достоверному увеличению безрецидивной выживаемости через 6 мес после операции с 21 до 41 %, а также увеличению медианы выживаемости больных МГ [84].

Развивая исследования флюоресцентного контроля резекции МГ, были начаты работы по ФДТ с 5-АЛК остаточной опухоли у больных МГ, проводимой как интраоперационно, так и в послеоперационном периоде с помощью оставленных в полости резекции световодов. В последних случаях возможно повторное проведение ФДТ после дополнительного введения 5-АЛК. Эффективность ФДТ с 5-АЛК была предварительно убедительно показана в экспериментальных исследованиях на клеточных культурах, сфероидах и моделях опухолей животных [89]. Ряд авторов и в эксперименте, и в клинике предлагают использовать для повышения эффективности терапии многократное лазерное облучение. Так, S. J. Madsen et al. показали, что многократная ФДТ сфероидов глиомы более эффективна, чем одномоментное облучение. Кроме того, облучение более эффективно при использовании низкой плотности мощности в течение длительного времени, так называемое метронное облучение [6; 56–59].

В настоящее время в Германии завершена II фаза клинических исследований по ФДТ глиобластом с использованием АЛК. Больные принимали АЛК перорально в дозе 10–20 мг/кг за 3 ч до наркоза. После

удаления опухоли пострезекционная полость облучалась светом с длиной волны 375–440 нм. При послеоперационной МРТ отсутствие опухоли наблюдалось у 63 % пациентов с глиобластомой, в остальных случаях часть флюоресцирующей ткани не удаляли во избежание серьезных неврологических нарушений. Из всех изученных 89 биопсий чувствительность и специфичность обнаружения опухолевой ткани составила 85 и 100 % соответственно [80–82].

Наиболее технически сложной является стереотаксическая ФДТ глубокорасположенных неоперабельных МГ. Внедряется несколько световодов в зависимости от размеров опухоли. Выбор позиции световодов, интервала между ними, световой дозы находятся в процессе изучения. Опубликованы первые обнадеживающие результаты 2-летней безрецидивной выживаемости больной рецидивом МГ, начата I фаза клинических испытаний.

Интересной представляется также возможность одновременного использования для интраоперационной ФД и ФДТ 2 фотосенсибилизаторов – фотофрина и 5-АЛК – для потенцирования эффективности лечения. Опубликованные на настоящий момент данные лечения 8 больных не дают возможности оценить перспективы такого варианта лечения [41; 86].

## ВЫВОДЫ

Флюоресцентная диагностика обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Флюоресцентный контроль резекции глиобластом позволяет добиться более полного удаления опухоли и увеличения безрецидивного периода у больных МГ. Фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизаторов 1-го и 2-го поколений представляется перспективной для улучшения выживаемости больных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Земская А. Г. Мультиформные глиобластомы головного мозга. – Л.: Медицина, 1976. – 170 с.
2. Тиглиев Г. С., Олюшин В. Е., Чеснокова Е. А. и др. Фотодинамическая терапия в нейроонкологии: первый опыт проведения и краткий обзор литературы // РБЖ. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 83–90.
3. Albert F. K., Forsting M., Sartor K., et al. Early postoperative magnetic resonance imaging after resection of malignant glioma: objective evaluation of residual tumor and its influence on regrowth and prognosis // Neurosurgery. – 1994. – Vol. 34, No 1. – P. 45–60.
4. Beck T. J., Beyer W., Pongratz T. et al. Clinical Determination of Tissue Optical Properties in vivo by Spatially Resolved Reflectance Measurements // Proc.SPIE. – 2003. – Vol. 5138. – P. 96–105.
5. Bigelow C. E., Mitra S., Kmuechel R., Foster T. H. ALA- and ALA-hexylester-induced protoporphyrin IX fluorescence and distribution in multicell tumour spheroids // British J of Cancer. – 2001. – Vol. 85, No 5. – P. 727–34.
6. Bisland S. K., Lilje L., Lin A. et al. Metronomic photodynamic therapy as a new paradigm for photody-

- dynamic therapy: rationale and preclinical evaluation of technical feasibility for treating malignant brain tumors // *Photochem Photobiol.* – 2004. – Vol. 80. – P. 22–30.
7. *Black P. M.* Brain tumors, part 1 // *N Engl J Med.* – 1991. – Vol. 324. – P. 1471–6.
  8. *Boggan J. E., Walter R., Edwards M. S. et al.* Distribution of hematoporphyrin derivative in the rat 9L gliosarcoma brain tumor analyzed by digital videofluorescence microscopy // *J. Neurosurgery.* – 1984. – Vol. 61. – P. 1113–9.
  9. *Burton E. C., Prados M. D.* Malignant gliomas // *Curr Treat Options Oncol.* – 2000. – Vol. 1, No 5. – P. 459–68.
  10. *Chen Q., Chopp M., Madigan L. et al.* Damage threshold of normal rat brain in photodynamic therapy // *Photochem Photobiol.* – 1996. – Vol. 64. – P. 163–7.
  11. *Cohen A. M., Wood W. C., Bamberg M et al.* Cytotoxicity of human brain tumors by hematoporphyrin derivative // *J. Surg. Res.* – 1986. – Vol. 41. – P. 81–3.
  12. *Dereski M. O., Chopp M., Chen Q. et al.* Normal brain tissue response to photodynamic therapy: histology, vascular permeability and specific gravity // *Photochem Photobiol.* – 1989. – Vol. 50. – P. 653–7.
  13. *Devaux B. C., O'Fallon J. R., Kelly P. J.* Resection, biopsy, and survival in malignant glial neoplasms: A retrospective study of clinical parameters, therapy and outcome // *J Neurosurg.* – 1993. – Vol. 78. – P. 767–75.
  14. *Dougherty T. J., Gomer C. J., Henderson B. W. et al.* Photodynamic therapy // *J Natl Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90, No 12. – P. 889–905.
  15. *Duffner F., Ritz R., Freudenstein D. et al.* Specific intensity imaging for glioblastoma and neural cell cultures with 5-aminolevulinic acid-derived protoporphyrin IX // *J Neurooncol.* – 2005. – Vol. 71, No 2. – P. 107–11.
  16. *Ehtesham M, Black K. L., Yu J. S.* Recent progress in immunotherapy for malignant glioma: treatment strategies and results from clinical trials // *Cancer Control.* – 2004. – Vol. 11, No 3. – P. 192–207.
  17. *Eljamel M. S.* New light on the brain: The role of photosensitizing agents and laser light in the management of invasive intracranial tumors // *Technol Cancer Res Treat.* – 2003. – Vol. 2, No 4. – P. 303–9.
  18. *Eljamel M. S.* Photosensitizing assisted surgical resection and treatment of malignant brain tumors; technique, technology and clinical application // *Photodiag Photodyn Ther.* – 2004. – Vol. 1. – P. 93–8.
  19. *Ennis S. R., Novotny A., Xiang J. et al.* Transport of 5-aminolevulinic acid between blood and brain // *Brain Res.* – 2003. – Vol. 959, No 2. – P. 226–34.
  20. *Fenstermaker R. A., Ciesielski M. J.* Immunotherapeutic strategies for malignant glioma // *Cancer Control.* – 2004. – Vol. 11, No 3. – P. 181–91.
  21. *Fine H A.* The basis for current treatment recommendations for malignant gliomas // *J Neurooncol.* – 1994. – Vol. 20, No 2. – P. 111–20.
  22. *Foster T. H., Hartley D. F., Nichols M. G. et al.* Fluence rate effects in photodynamic therapy of multicell tumor spheroids // *Cancer Res.* – 1993. – Vol. 53. – P. 1249–54.
  23. *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. – P. 1481–6.
  24. *Georgakoudi I. M., Nichols G., Foster T. H.* The mechanism of photofrin photobleaching and its consequences for photodynamic therapy // *Photochem Photobiol.* – 1997. – Vol. 65. – P. 135–44.
  25. *Goetz C, Hasan A, Stummer W et al.* Experimental research photodynamic effects in perifocal, oedematous brain tissue // *Acta Neurochir (Wien).* – 2002. – Vol. 144, No 2. – P. 173–9.
  26. *Granelli S. G., Diamond I., McDonagh A. F. et al.* Photochemotherapy of glioma cells by visible light and hematoporphyrin // *Cancer Res.* – 1975. – Vol. 35. – P. 2556–70.
  27. *Grant W. E., Hopper C., MacRobert A. J. et al.* Photodynamic therapy of oral cancer: photosensitization with systemic aminolaevulinic acid // *Lancet.* – 1993. – Vol. 342. – P. 147–8.
  28. *Gumprecht H., Lumenta C. B.* Intraoperative imaging using a mobile computed tomography scanner // *Minim Invasive Neurosurg.* – 2003. – Vol. 46, No 6. – P. 317–22.
  29. *Hammoud M. A., Ligon B L., elSouki R. et al.* Use of intraoperative ultrasound for localizing tumors and determining the extent of resection: a comparative study with magnetic resonance imaging // *J. Neurosurg.* – 1996. – Vol. 84, No 5. – P. 737–41.
  30. *Hebeda K. M., Kamphorst W., Sterenberg H. J. et al.* 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, No 5. – P. 495–501.
  31. *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, No 5. – P. 503–12.
  32. *Hill J. S., Kaye A. H., Sawyer W. H. et al.* Selective uptake of hematoporphyrin derivative into human cerebral glioma // *Neurosurgery.* – 1990. – Vol. 26. – P. 248–54.
  33. *Hirschberg H., Sun C. H., Tromberg B. J., Madsen S. J.* ALA- and ALA-ester-mediated photodynamic therapy of human glioma spheroids // *J Neurooncol.* – 2002. – Vol. 57, No 1. – P. 1–7.
  34. *Hochstetter A.* ALA-Protoporphyrin 9-mediated PDD-PDT of brain tumors // 5 International symposium on PDT in clinical practice, 2003. – abs. 59.
  35. *Ito S, Rachinger W, Stepp H et al.* Oedema formation in experimental photo-irradiation therapy of brain tumours using 5-ALA // *Acta Neurochir (Wien).* – 2005. – Vol. 147, No 1. – P. 57–65.
  36. *Ji Y., Walstad D., Brown J. T., Powers S. K.* Improved survival from intracavitary photodynamic therapy of rat glioma // *Photochem Photobiol.* – 1992. – Vol. 56, No 3. – P. 385–90.

37. Ji Y, Powers SK, Brown J T, et al. Toxicity of photodynamic therapy with Photofrin in the normal rat brain // *Lasers Surg Med.* – 1994. – Vol. 14. – P. 219–28.
38. Jiang F., Chopp M., Katakowski M. et al. Photodynamic therapy with photofrin reduces invasiveness of malignant human glioma cells // *Lasers Med Sci.* – 2002. – Vol. 17, No 4. – P. 280–8.
39. Jiang F., Zhang Z. G., Katakowski M. et al. Angiogenesis induced by photodynamic therapy in normal rat brains // *Photochem Photobiol.* – 2004. – Vol. 79, No 6. – P. 494–8.
40. Kabuto M., Kubota T., Kobayashi H. et al. Experimental and clinical study of detection of glioma at surgery using fluorescent imaging by a surgical microscope after fluorescein administration // *Neurol Res.* – 1997. – Vol. 19, No 1. – P. 9–16.
41. Kaneko S., Tokuda K., Yoshimoto T. et al. PDT following PDD for glioma patients in the eloquent brain areas and spinal cord using HPE and ALA // 10 International symposium of IPA, Munich, 2005. – P.60.
42. Kaye A. H., Hill J. S. Photodynamic therapy of brain tumours // *Ann Acad Med Singapore.* – 1993. – Vol. 22, No 3. – P. 470–81.
43. Kaye A H, Morstyn G. Photoradiation therapy causing selective tumor kill in the rat glioma model // *Neurosurgery.* – 1987. – Vol. 20. – P. 408–15.
44. Kaye A H, Morstyn G, Ashcroft R G. Uptake and retention of hematoporphyrin derivative in an in vivo/vitro model of cerebral glioma // *Neurosurgery.* – 1985. – Vol. 17. – P. 883–90.
45. Kennedy J. C., Pottier R. H., Pross D. C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience // *J Photochem Photobiol B.* – 1990. – Vol. 6. – P. 143–8.
46. Kloek J., Akkermans W., Beijersbergen van Henegouwen M. J. Derivatives of 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy: enzymatic conversion into protoporphyrin // *Photochem Photobiol.* – 1998. – Vol. 167. – P. 150–4.
47. Kostron H, Obwegeser A, Jakober R. Photodynamic therapy in neurosurgery: a review // *J.Photochem Photobiol B.* – 1996. – Vol. 36, No 2. – P. 157–68.
48. Kostron H. Photodynamic therapy and diagnosis of brain tumours – state of the art // 5 International symposium on PDT in clinical practice, 2003. – abs. 55.
49. Kostron H. Foscan-mediated Photodynamic diagnosis in combination with simultaneous Photodynamic therapy as new treatment concept for malignant brain tumours // 10 International symposium of IPA, Munich, 2005. – P. 61.
50. Krishnamurthy S., Powers S.K., Witmer P., Brown T.. Optimal light dose for interstitial photodynamic therapy in treatment for malignant brain tumors // *Lasers Surg Med.* – 2000. – Vol. 27, No 3. – P. 224–34.
51. Lacroix M., Abi-Said D., Fourney D.R. et al. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival // *J Neurosurg.* – 2001. – Vol. 95, No 2. – P. 190–8.
52. Laws E. R., Cortese D. A., Kinsey J. H. et al. Photoradiation therapy in the treatment of malignant brain tumors: a feasibility study // *Neurosurgery.* – 1981. – Vol. 9. – P. 672–8.
53. Lewin J. S., Metzger A. K. Intraoperative MR systems. Low-field approaches // *Neuroimaging Clin N Am.* – 2001. – Vol. 11, No 4. – P. 611–28.
54. Lilge L., Olivo M.C., Schatz S.W. et al. The sensitivity of normal brain and intracranially implanted VX2 tumors to interstitial photodynamic therapy // *Br.J.Cancer.* – 1996. – Vol. 73. – P. 332–43.
55. Loh C. S., Vernon D., MacRobert A. J. et al. Endogenous porphyrin distribution induced by 5-aminolaevulinic acid in the tissue layers of the gastrointestinal tract // *J Photochem Photobiol B.* – 1993. – Vol. 20. – P. 47–54.
56. Madsen S. J., Sun C. H., Tromberg B. J. et al. Effects of combined photodynamic therapy and ionizing radiation on human glioma spheroids // *Photochem Photobiol.* – 2002. – Vol. 76, No 4. – P. 411–7.
57. Madsen S. J., Sun C. H., Tromberg B. J. et al. Photodynamic therapy of human glioma spheroids using 5-aminolevulinic acid // *Photochem Photobiol.* – 2000. – Vol. 72, No 1. – P. 128–34.
58. Madsen S. J., Sun C. H., Tromberg B. J., Hirschberg H. Repetitive 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy on human glioma spheroids // *J Neurooncol.* – 2003. – Vol. 62, No 3. – P. 243–50.
59. Madsen S. J., Sun C. H., Tromberg B. J. et al. Development of a novel indwelling balloon applicator for optimizing light delivery in photodynamic therapy // *Lasers Surg Med.* – 2001. – Vol. 29, No 5. – P. 406–12.
60. Malik Z., Lugaci H. Destruction of erythroleukemic cells by photoactivation of endogenous porphyrines // *Br J Cancer.* – 1987. – Vol. 56. – P. 589–95.
61. McCulloch G. A., Forbes I. R., Lee See K. et al. Phototherapy for malignant brain tumors // *The Clayton Symposium for Porphyrin localization and Treatment of Tumors, Santa Barbara, California, 1983.*
62. Moore G. E., Peyton W. T., French L. A. et al. The clinical use of fluorescein in neurosurgery. The localization of brain tumors // *J Neursurg.* – 1948. – Vol. 5. – P. 392–8.
63. Muller P. J., Wilson B. C. An update on the penetration depth of 630nm light in the normal and malignant human brain tissue in vivo // *Phys Med Biol.* – 1986. – Vol. 31. – P. 1295–7.
64. Muller P. J., Wilson B. C. Photodynamic therapy of malignant brain tumours // *Can J Neurol Sci.* – 1990. – Vol. 17. – P. 193–8.
65. Muller P. J., Wilson B. C. Photodynamic therapy for malignant newly diagnosed supratentorial gliomas // *J Clin Laser Med Surg.* – 1996. – Vol. 14, No 5. – P. 263–70.
66. Muller P. J. Survival results in randomized controlled clinical trial of photofrin-PDT in the treatment of newly diagnosed cerebral glioblastoma multiforme // 10 Symposium of IPA, Munich, 2005. – P. 63.

67. Nitta T., Sato K. Prognostic implications of the extent of surgical resection in patients with intracranial malignant gliomas // *Cancer*. – 1995. – Vol. 75. – P. 2727–31.
68. Novotny A., Xiang J., Stummer W. et al. Mechanisms of 5-aminolevulinic acid uptake at the choroid plexus // *J Neurochem*. – 2000. – Vol. 75, No 1. – P. 321–8.
69. Obwegeser A., Jakober R., Kostron H. Uptake and kinetics of <sup>14</sup>C-labelled meta-tetrahydro-xyphenylchlorin and 5-aminolaevulinic acid in the C6 rat glioma model // *Br J Cancer*. – 1998. – Vol. 78, No 6. – P. 733–8.
70. Olzowy B., Hundt C.S., Stocker S. et al. Photoirradiation therapy of experimental malignant glioma with 5-aminolevulinic acid // *J Neurosurg*. – 2002. – Vol. 97, No 4. – P. 970–6.
71. Origiano T. C., Reichman O. H. Photodynamic therapy for intracranial neoplasms: development of an image-based computer-assisted protocol for photodynamic therapy of intracranial neoplasms // *Neurosurgery*. – 1993. – Vol. 32, No 4. – P. 587–95.
72. Origiano T. C., Caron M. J., Reichman O. H. Photodynamic therapy for intracranial neoplasms. Literature review and institutional experience // *MolChem europathol*. – 1994. – Vol. 21, No 2–3. – P. 337–52.
73. Peng Q., Berg K., Moan J. et al. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research // *Photochem Photobiol*. – 1997. – Vol. 65. – P. 235–51.
74. Perria C. Photodynamic therapy for human gliomas by hematoporphyrin and helium-neon laser // *IRCS Medical Science*. – 1981. – Vol. 9. – P. 57–8.
75. Popovic E. A., Kaye A. H., Hill J. S. Photodynamic therapy of brain tumors // *Semin Surg Oncol*. – 1995. – P. 335–45.
76. Popovic E. A., Kaye A. H., Hill J. S. Photodynamic therapy of brain tumors // *J Clin Laser Med Surg*. – 1996. – Vol. 14, No 5. – P. 251–1.
77. Powers S K, Cush S S, Walstad D L et al. Stereotactic intratumoral photodynamic therapy for recurrent malignant brain tumors // *Neurosurgery*. – 1991. – Vol. 29, No 5. – P. 688–95.
78. Regula J., MacRobert A. J., Gorchein A. et al. Photosensitization and photodynamic therapy of oesophageal, duodenal, and colorectal tumors using 5-aminolaevulinic acid induced protoporphyrin IX—a pilot study // *Gut*. – 1995. – Vol. 36. – P. 67–75.
79. Shinoda J., Yano H., Yoshimura S. I. et al. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using high-dose fluorescein sodium // *J Neurosurg*. – 2003. – Vol. 99. – P. 597–603.
80. Rostomily R. C., Spence A. M., Duong D. et al. Multimodality management of recurrent adult malignant glioma: Results of a phase II multiagent chemotherapy study and analysis of cytoreductive surgery // *Neurosurgery*. – 1994. – Vol. 35. – P. 378–88.
81. Stummer W., Hassan A., Kempfski O. et al. Photodynamic therapy within edematous brain tissue: consideration on sensitizer dose and time point of laser irradiation // *J Photochem Photobiol B*. – 1996. – Vol. 36, No 2. – P. 179–81.
82. Stummer W., Gotz C., Hassan A. et al. Kinetics of Photofrin II in perifocal brain edema // *Neurosurgery*. – 1993. – Vol. 33, No 6. – P. 1075–81.
83. Stummer W., Novotny A., Stepp H. et al. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients // *J Neurosurg*. – 2000. – Vol. 93. – P. 1003–13.
84. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T. et al. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial // *Lancet Oncol*. – 2006. – Vol. 7. – P. 392–401.
85. Stummer W., Stocker S., Novotny A. et al. In vitro and in vivo porphyrin accumulation by C6 glioma cells after exposure to 5-aminolevulinic acid // *J Photochem Photobiol B*. – 1998. – Vol. 45, No 2–3. – P. 160–9.
86. Stummer W., Stocker S., Wagner S. et al. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence // *Neurosurgery*. – 1998. – Vol. 42. – P. 518–26.
87. Stummer W., Stepp H., Moller G. et al. Technical principles for protoporphyrin-IX-fluorescence guided microsurgical resection of malignant glioma tissue // *Acta Neurochir (Wien)*. – 1998. – Vol. 140. – P. 995–1000.
88. Stylli S. S., Howes M., MacGregor L. et al. Photodynamic therapy of brain tumours: evaluation of porphyrin uptake versus clinical outcome // *J Clin Neurosci*. – 2004. – Vol. 11, No 6. – P. 584–96.
89. Tsai J. C., Hsiao Y. Y., Teng L. J. et al. Comparative study on the ALA photodynamic effects of human glioma and meningioma cells // *Lasers Surg Med*. – 1999. – 24(4). – P. 296–305.
90. Uzdensky A. B., Dergacheva O. Y., Zhavoronkova A. A. et al. Photodynamic effect of novel chlorin e6 derivatives on a single nerve cell // *Life Sci*. – 2004. – Vol. 74, No 17. – P. 2185–97.
91. Uzdensky A. B., Juzeniene A., Kolpakova E. et al. Photosensitization with protoporphyrin IX inhibits attachment of cancer cells to a substratum // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2004. – Vol. 322, No 2. – P. 452–7.
92. Webber J., Kessel D., Fromm D. Side effects and photosensitization of human tissues after aminolevulinic acid // *J Surg Res*. – 1997. – Vol. 68. – P. 31–7.
93. Wharen R. E., Anderson R. E., Laws E. R. Quantification of hematoporphyrin derivative in human gliomas, experimental central nervous system tumors, and normal tissue // *Neurosurgery*. – 1983. – Vol. 12. – P. 446–50.
94. Whelan H T, Schmidt M H, Segura A D et al. The role of photodynamic therapy in posterior fossa brain tumors. A preclinical study in a canine glioma model // *J Neurosurg*. – 1993. – Vol. 79. – P. 562–8.
95. Wilson B., Muller P. J., Yanche J. S. Instrumentation and light dosimetry for intraoperative photodynamic therapy // *Phys Med Biol*. – 1986. – Vol. 32. – P. 125–33.

96. *Wirtz C. R., Albert F. K., Schwaderer M. et al.* The benefit of neuronavigation for neurosurgery analyzed by its impact on glioblastoma surgery // *Neurol Res.* – 2000. – Vol. 22, No 4. – P. 354–60.
97. *Wu S. M., Ren Q. G., Zhou M. O. et al.* Protoporphyrin IX production and its photodynamic effects on glioma cells, neuroblastoma cells and normal cerebellar granule cells in vitro with 5-aminolevulinic acid and its hexylester // *Cancer Letters.* – 2003. – Vol. 200. – P. 123–31.
98. *Yang V. X., Muller P. J., Herman P., Wilson B. C.* A multispectral fluorescence imaging system: design and initial clinical tests in intra-operative Photofrin-photodynamic therapy of brain tumors // *Lasers Surg Med.* – 2003. – Vol. 32, No 3. – P. 224–32.
99. *Yoshida J., Kajita Y., Wakabayashi T., Sugita K.* Long-term follow-up results of 175 patients with malignant glioma: Importance of radical tumour resection and postoperative therapy with interferon, ACNU and radiation // *Acta Neurochir (Wien).* – 1994. – Vol. 127. – P. 55–9.
100. *Zimmermann A., Ritsch-Marte M., Kostron H.* mTHPC-mediated photodynamic diagnosis of malignant brain tumors // *Photochem Photobiol.* – 2001. – Vol. 74, No 4. – P. 611–6.
101. *Aoyama H., Shirato H., Tago M. et al.* Stereotactic radiosurgery plus whole-brain radiation therapy vs stereotactic radiosurgery alone for treatment of brain metastases: a randomized controlled trial // *Journal of the American Medical Association.* – 2006, Jun. – Vol. 295, No 21. – P. 2483–91.
102. *Stark A. M., Tscheslog H., Buhl R., Held-Feindt J., Mehdorn H. M.* Surgical treatment for brain metastases: prognostic factors and survival in 177 patients // *Neurosurgical Review.* – 2005, Apr. – Vol. 28, No 2. – P. 115–9.

Поступила 20.09.2006.

УДК 615.849.19:577.352.2:615.831.03

*M. A. Kortava<sup>1</sup>, N. A. Oborotova<sup>1</sup>, G. A. Meerovich<sup>2</sup>, I. G. Meerovich<sup>1</sup>, A. P. Polozkova<sup>1</sup>,  
E. V. Ignatyeva<sup>1</sup>, L. M. Borisova<sup>1</sup>, M. P. Kiseleva<sup>1</sup>, Z. S. Smirnova<sup>1</sup>, A. Yu. Baryshnikov<sup>1</sup>*

## VALUE OF ABSORPTION COEFFICIENT FOR THE EFFECT OF TWO DRUG FORMS OF PHOTOSENSE ON TREATMENT OF BREAST ADENOCARCINOMA CA 755

<sup>1</sup>*N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow*

<sup>2</sup>*Natural Sciences Center of A. M. Prokhorov General Physics Institute RAS, Moscow*

### ABSTRACT

The aim of this paper is to examine the effect of sterically stabilized liposomal form and solution of the photosense in response to alteration of wavelengths of a laser irradiation on photodynamic therapy of mice with breast adenocarcinoma Ca 755. The effectiveness of photodynamic therapy was examined at wavelengths 671, 678, 687 nm. The results obtained indicate that the best therapeutic effect was at 671 and 687 nm despite the fact that the maximum absorption was estimated at 678 nm.

**Key words:** absorption spectrum, wavelength, laser irradiation, sterically stabilized liposomes, photodynamic therapy.

*M. A. Кортава<sup>1</sup>, Н. А. Оборотова<sup>1</sup>, Г. А. Меерович<sup>2</sup>, И. Г. Меерович<sup>1</sup>,  
А. П. Полозкова<sup>1</sup>, Е. В. Игнатъева<sup>1</sup>, Л. М. Борисова<sup>1</sup>,  
М. П. Киселева<sup>1</sup>, З. С. Смирнова<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>*

## ЗНАЧЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА ПОГЛОЩЕНИЯ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СА 755 У МЫШЕЙ ДВУМЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ФОРМАМИ ФОТОСЕНСА

<sup>1</sup>*ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

<sup>2</sup>*ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

### РЕЗЮМЕ

Работа посвящена оценке эффективности стерически стабилизированной лекарственной липосомальной формы (ССЛЛФФ) и раствора фотосенса в фотодинамической терапии у мышей с подкожно перевитой аденокарциномой молочной железы Са 755 в зависимости от длины волны (671; 678 и 687 нм) лазерного облучения.

Установлено, что наилучший терапевтический эффект на аденокарциноме молочной железы Са 755 наблюдается при лазерном облучении с длиной волны 671 нм и 687 нм.

**Ключевые слова:** спектр поглощения, длина волны, лазерное облучение, стерически стабилизированные липосомы, фотодинамическая терапия.

### ВВЕДЕНИЕ

Наряду со свойствами и дозой лекарственного препарата – фотосенсибилизатора, важнейшее влияние на механизмы и эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) оказывают характеристики лазерного излучения. В ряде отечественных работ изучалось влияние плотности мощности и дозы

возбуждающего света, а также временного интервала между введением производных фталоцианина и облучением на механизмы повреждения опухоли Эрлиха [3; 7].

За рубежом изучение фотодинамического действия дисульфированного фталоцианина алюминия (AlS<sub>2</sub>Pc) на мышцах с фибросаркомой MS2 и пигмен-

тированной меланомой В16 показало, что важную роль играет выбор длины волны терапевтического излучения в пределах спектрального контура поглощения фотосенсибилизатора [5].

В ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» для ФДТ и флюоресцентной диагностики рака разработан препарат на основе фталоцианинов – фотосенс (Р.№ 000199-2001). Он обладает интенсивной полосой поглощения в красной области спектра с максимумом в водном растворе  $\lambda=676$  нм. Высокая противоопухолевая активность фотосенса при применении его в виде водного раствора сопровождается высокой кожной фоточувствительностью, обусловленной длительным удерживанием препарата в коже.

Важным направлением повышения эффективности ФДТ, снижения токсичности и побочных эффектов метода является повышение избирательности действия фотосенсибилизаторов путем разработки новых видов транспортных систем доставки препарата к терапевтическим мишеням.

В ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН разработана липосомальная лекарственная форма фотосенса, позволившая снизить терапевтическую дозу препарата в 4 раза и уменьшить уровень накопления фотосенса в коже [4]. Однако фармакокинетические исследования показали, что эта липосомальная форма быстро инактивируется РЭС. Поэтому продолжается совершенствование липосомальной лекарственной формы фотосенса путем ее пространственной стабилизации, затрудняющей захват препарата макрофагами РЭС [1].

Целью настоящей работы являлась оценка противоопухолевой эффективности стерически стабилизированной лекарственной липосомальной формы фотосенса (ССЛЛФФ) и раствора фотосенса в зависимости от длины волны лазерного облучения при проведении фотодинамической терапии у мышей с подкожно перевитой аденокарциномой молочной железы Са 755.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фотосенс синтезировали в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК». Липосомы получали путем диспергирования 1%-ным раствором фотосенса тонкой липидной пленки, образованной упариванием в вакууме на роторном испарителе хлороформного раствора липидов. Дисперсию многослойных липосом измельчали на экструдере «Avanti Mini-Extruder», последовательно пропуская дисперсию через фильтры «Nucleopore» с размерами пор 0,4; 0,2 и 0,1 мкм. Средний размер липосом измеряли на приборе Submicron Particle Sizer NISCOMP-380. Для очистки липосомальной дисперсии от не включенного в липосомы фотосенса использовали метод колоночной хроматографии (гель-фильтрацию) [1; 6]. В качестве сорбента использовали Sephadex G-50 superfine.

Эффективность ФДТ оценивали на мышах с подкожно перевитой аденокарциномой молочной железы Са 755. Опухоли перевивали мышам-гибридам 1-го поколения BDF<sub>1</sub> подкожно в область бедра в виде суспензии по 0,1 мл, содержащей 500 тыс. опухолевых

клеток в среде 199. Фотосенсибилизаторы (водный раствор фотосенса и/или ССЛЛФФ) вводили мышам однократно внутривенно на 5-й день после перевивки опухоли в дозе 2 мг/кг. При этом объем опухолевого узла, определяемый по формуле:

$$V = a \times b \times c,$$

где a, b, c – линейные размеры опухоли, составляя 0,6-0,8 см<sup>3</sup>. Облучение проводили через 5 ч после введения препаратов лазером ЛФТ-630/670-01-БИОСПЕК через кожные покровы при длинах волн 671 нм; 678 нм и 687 нм, мощность облучения 100 мВт/см<sup>2</sup>, время облучения 15 мин. Поглощение фотосенса в опухолях исследуемых мышей оценивали методом диффузного рассеяния [3].

Эффективность ФДТ определяли по торможению роста опухоли (ТРО, %) в разные сроки наблюдения.

Торможение роста опухоли вычисляли по формуле:

$$\text{ТРО (\%)} = (V_k - V_0) / V_k \times 100,$$

где:

ТРО – торможение роста опухолей;

V<sub>k</sub> – средний объем опухолей в контрольной группе;

V<sub>0</sub> – средний объем опухолей в опытной группе.

Опытные группы формировали из 5–6 мышей, а контрольную – из 8–10 особей.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Стьюдента. Разницу считали достоверной при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования обнаружено, что, в отличие от дисульфированного фталоцианина алюминия (AlS<sub>2</sub>Pc) с максимумом спектрального поглощения 672 нм [5], для фотосенса максимум спектрального поглощения в биологической ткани наблюдается при несколько больших значениях длины волны (около 678 нм) (см. рисунок).

Абсолютные значения коэффициента поглощения для фотосенса в максимуме оказались достаточно высокими (примерно 0,7 см<sup>-1</sup>). Столь высокое поглощение фотосенсибилизатора может привести к заметной неоднородности распределения фотодинамического эффекта на разную глубину освещаемой лазером поверхности, оказывая заметное влияние на эффективность использования энергии светового облучения и как следствие – на эффективность ФДТ [2].

Для опыта использовали 7 групп мышей с аденокарциномой молочной железы Са 755, по 3 группы для введения ССЛЛФФ и раствора фотосенса в дозе 2 мг/кг. 7-я группа животных была контрольной. Опухоли мышей облучали лазером с одинаковой плотностью мощности излучения (100 мВт/см<sup>2</sup>), но с разными длинами волн (671; 678 и 687 нм соответственно).

Обнаружено, что в группах, в которых опухоли облучались при длине волны 671 нм и 687 нм, незави-

симо от вида лекарственной формы, ТРО было выше, чем в группах, облучение в которых осуществлялось при длине волны 678 нм, соответствующей максимуму поглощения фотосенса. Так, наилучший терапевтический эффект на 10-й день после лечения с ССЛЛФФ наблюдался при лазерном облучении с длиной волны 671 нм и 687 нм (ТРО = 50 % и 47 %), а при длине волны 678 нм ТРО составило только 23 % (табл. 1).

[2] модель, согласно которой на опухолях большой толщины (средняя толщина используемых в этом опыте опухолей составляла 9 мм) сильное поглощение фотосенсибилизатора в верхних слоях опухоли, прилегающих к коже, приводит к тому, что энергия облучения нижних, наиболее удаленных от облучаемой поверхности слоев оказывается недостаточной, из-за чего там продолжается рост опухоли, и терапевтический эффект снижается.

Таблица 1

### Эффективность ФДТ с ССЛЛФФ при разной длине волны лазерного облучения

Воздействие	Дни после проведения ФДТ			
	7		10	
	Объем опухоли, мм <sup>3</sup>	ТРО, %	Объем опухоли, мм <sup>3</sup>	ТРО, %
Контроль, мм <sup>3</sup>	16093±260,9	–	20425±1504,3	–
ССЛЛФФ (2 мг/кг), длина волны 671 нм	4327±964,5*	73	10133±2708,8*	50
ССЛЛФФ (2 мг/кг), длина волны 678 нм	6804±457,0*	58	15633±949,6*	23
ССЛЛФФ (2 мг/кг), длина волны 687 нм	5431±169,5*	66	11081±760,5*	47

\* p<0,05 по отношению к контрольной группе

Такая же картина наблюдалась и с раствором фотосенса, где терапевтический эффект при облучении с длиной волны 671 нм и 687 нм (ТРО = 63 % и 34 % соответственно) превосходил эффект облучения с длиной волны 678 нм (ТРО = 23 %) (табл. 2).

Причины наблюдаемого явления не ясны и требуют дальнейшего изучения. Однако для объяснения вполне может быть использована и предложенная в

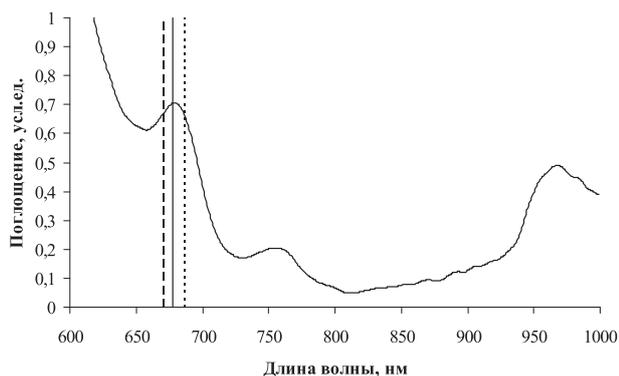
Поскольку спектральный максимум поглощения фотосенса во всех группах наблюдался при 678 нм, а на длине волны 671 и 687 нм поглощение было меньшим (см. рисунок), соответственно экранировка нижних слоев опухолей верхними при облучении на этих длинах волн оказалась менее значительной, что и обеспечило более эффективное терапевтическое воздействие на всю опухоль и более высокие значения ТРО.

Таблица 2

### Эффективность ФДТ с водным раствором фотосенса при разной длине волны лазерного облучения

Воздействие	Дни после проведения ФДТ			
	7		10	
	Объем опухоли, мм <sup>3</sup>	ТРО, %	Объем опухоли, мм <sup>3</sup>	ТРО, %
Контроль, мм <sup>3</sup>	16093±260,9	–	20425±1504,3	–
Раствор фотосенса, длина волны 671 нм	5581±410,3*	79	7549±2308,5*	63
Раствор фотосенса, длина волны 678 нм	6383±2109,6	60	15718±1429,1*	23
Раствор фотосенса, длина волны 687 нм	3399±826,2*	65	13466±1205,6*	34

\* p<0,05 по отношению к контрольной группе



**Спектр поглощения раствора фотосенса в опухоли Ca 755 через 3 ч после введения в дозе 2 мг/кг:**

сплошной вертикальной линией отмечена длина волны 678 нм, пунктирами – 671 нм и 687 нм.

### ВЫВОДЫ

Эффективность фотосенса (ССЛЛФФ и/или водного раствора) в ФДТ зависит от длины волны лазерного облучения: при длине волны 671 нм ТРО = 50 % и 63 % соответственно, при длине волны 687 нм ТРО = 47 % и 34 %, а при длине волны 678 нм эффективность снижается до 23 % как для ССЛЛФФ, так и для водного раствора фотосенса.

Наблюдаемая зависимость может быть объяснена экранированием сенсibilизированными слоями опухоли, расположенными ближе к облучаемой поверхности, ее более глубоких слоев.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кортава М. А., Рябова А. В., Игнатьева Е. В. и др. Изучение эффективности включения фотосенса в пространственно стабилизированные липосомы // РБЖ. – 2005. – Т. 4, № 4. – С.96–101.
2. Меерович И. Г., Меерович Г. А., Оборотова Н. А., Барышников А. Ю. Распределение света по глубине опухолевого очага и эффективность использования терапевтического излучения при фотодинамической терапии // РБЖ. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 93–7.
3. Меерович И. Г., Стратонников А. А., Рябова А. В. и др. Исследование оптического поглощения сенсibilизаторов в биологических тканях // РБЖ. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 37–42.
4. Смирнова З. С., Кубасова И. Ю., Макарова О. А. и др. Доклиническое изучение эффективности липосомальной лекарственной формы фотосенса для фотодинамической терапии // РБЖ. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 40–4.
5. Canti G., Lattuada D., Leroy E. et al. Action spectrum of photoactivated phthalocyanine ALS<sub>2</sub>Pc in tumor bearing mice // *Anti-Cancer Drugs*. – 1992. – Vol. 3. – P. 139–42.
6. Gabrielle-Madlmont C., Lesieur S., Ollivon M. Characterization of loaded liposomes by size exclusion chromatography // *J Biochem Biophys Methods*. – 2003. – Vol. 56. – P. 189–217.
7. Gennady A. Meerovich, Alexander A. Stratonnikov, Victor B. Loshenov et al. Influence of parameters of laser irradiation on the mechanisms of tumours damage due to PDT // *Proceeding of SPIE*. – 2001. – Vol. 4248. – P. 97–106.

Поступила 21.11.2006.

УДК 618.19-006.327:615.038

L. Z. Bolieva<sup>1</sup>, A. V. Sergeev<sup>2</sup>, F. K. Dzhiyoyev<sup>1</sup>,  
B. G. Alborova<sup>1</sup>, M. Ya. Shashkina<sup>2</sup>, S. S. Chistyakov<sup>3</sup>

## CLINICAL INVESTIGATION OF CANCER-PREVENTIVE AGENTS IN PATIENS WITH BENIGN BREAST DISEASE

<sup>1</sup>North-Ossetian State Medical Academy, Vladikavkas  
<sup>2</sup>N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow  
<sup>3</sup>Moscow State Medical Stomatological University

### ABSTRACT

A trial of efficiency of Kascatol, sodium selenite and licorice root in patients with benign breast disease was carried out. It was found that combined therapy reduced the severity of mastalgia, premenstrual syndrome and caused regression of palpable and echographic symptoms of the breast fibromatosis. On the whole combined therapy with cancer-preventive agents had positive action in 78,1 % women in the age from 18 to 35 years old and in 74,5 % women in the age from 36 to 45 years old and may be useful for the treatment of patients with benign breast disease.

**Key words:** Kascatol, Glycyrrhiza, sodium selenite, benign breast disease, anticancer.

Л. З. Болиева<sup>1</sup>, А. В. Сергеев<sup>2</sup>, Ф. К. Джиюев<sup>1</sup>,  
Б. Г. Алборова<sup>1</sup>, М. Я. Шапкина<sup>2</sup>, С. С. Чистяков<sup>3</sup>

## ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ С АНТИКАНЦЕРОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ У БОЛЬНЫХ МАСТОПАТИЕЙ

<sup>1</sup>Североосетинская государственная медицинская академия, Владикавказ  
<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва  
<sup>3</sup>Московский государственный медицинский стоматологический университет

### РЕЗЮМЕ

Изучена клиническая эффективность препаратов с антиканцерогенной активностью каскатола, селенита натрия и солодки-ЭДАС в комплексной терапии мастопатий (МП). Исследуемый комплекс уменьшал проявления масталгии, синдрома предменструального напряжения, приводил к регрессии пальпаторных и эхографических признаков МП, нормализации показателей гормонального и иммунного статусов. В целом положительное действие средств с антиканцерогенной активностью выявлено у 78,1 % больных в возрасте 18–35 лет и у 74,5 % больных 36–45 лет, что позволяет рекомендовать их комплексное применение в лечении больных МП.

**Ключевые слова:** каскатол, солодка, селенит натрия, мастопатия, молочные железы, антиканцерогенность.

### ВВЕДЕНИЕ

Мастопатия (МП) – одно из наиболее распространенных заболеваний молочной железы и встречается, по данным ряда авторов, у 30–60 % женщин репродуктивного возраста [7; 14; 16; 17]. Интерес онкологов к различным формам МП объясняется прежде всего как к заболеваниям, на фоне которых может развиваться рак молочной железы. Хотя МП не является облигатным предраком, у этой категории больных частота возникновения рака в 3–5 раз выше, чем у

здоровых женщин, а при пролиферативных формах МП риск возрастает в 20–30 раз [6; 8; 16]. Общность этих заболеваний определяется суммой сложных этиологических факторов, сочетанием в большом числе наблюдений МП и рака, близостью некоторых форм фиброаденоматоза к раку, схожестью изменений как в гормональном, так и в метаболическом звеньях гомеостаза [18].

По данным ряда авторов, частота развития рака на фоне МП в значительной степени зависит от биологи-

ческих особенностей больной, а именно гормонально-метаболического статуса и индивидуальных особенностей взаимоотношений в системе «организм – пролиферативная ткань молочной железы». Определяющим в патогенезе доброкачественных заболеваний молочных желез является нарушение ритма секреции гонадотропных гормонов, а возникший при этом гормональный дисбаланс выражается в абсолютной или относительной гиперэстрогении и недостатке прогестерона [17; 20–22]. Значительную роль в развитии МП играет иммунная система. В ряде работ показано, что дисгормональные гиперплазии молочных желез сопровождаются угнетением иммунных реакций [1; 3; 4].

Предложено множество средств лечения МП, однако общепринятых рекомендаций и схем лечения до настоящего времени не существует. Поэтому поиск эффективных и безопасных способов лечения МП является актуальной проблемой. Диагностика, наблюдение и лечение больных МП должны быть направлены как на облегчение патологической симптоматики, так и на коррекцию нарушений гормонально-метаболического гомеостаза и профилактику возможного развития рака молочной железы [10; 14].

Целью исследования явилось изучение эффективности комплексной негормональной терапии с применением препаратов с антиканцерогенной активностью каскатола, селенита натрия и солодки-ЭДАС у больных МП.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 130 женщин репродуктивного возраста (18–45 лет), больных МП. Работа проводилась на базе Республиканского онкологического диспансера г. Владикавказа (главный врач – И. П. Томаев). Получено согласие больных на участие в исследовании.

Диагноз МП ставился на основании жалоб, анамнеза, клинического обследования, ультразвукового сканирования молочных желез. Клиническое обследование включало осмотр и пальпацию молочных желез и регионарных лимфоузлов. Эхографию молочных желез осуществляли на аппарате «Aloka CCD 1400». Обследование проводили до начала лечения и далее ежемесячно в 1-й половине менструального цикла. Степень тяжести МП оценивали по 6-балльной шкале по Л. Н. Сидоренко [14]. Эта оценка была положена в основу анализа первоначального состояния и кинетики патологического процесса.

Для изучения патогенетических механизмов формирования МП исследовали содержание в крови больных гормонов, непосредственно влияющих на молочную железу (эстрадиола, прогестерона, пролактина), и состояние иммунного статуса. Содержание гормонов в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом. Иммунный статус оценивали по унифицированной методике лабораторно-иммунологического обследования. Определяли количество лейкоцитов, а также абсолютное и относитель-

ное количество лимфоцитов. Состояние клеточного иммунитета оценивали по экспрессии поверхностных антигенов лимфоцитов в реакции непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва) при помощи люминесцентного микроскопа «МИКМЕД-2» («ЛОМО», СПб). Характеризовались уровни CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD95, HLA-DR лимфоцитов. Количество иммуноглобулинов А, М, G определяли методом прямой радиальной иммунодиффузии в геле с использованием моноспецифических антисывороток по Манчини. Фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов оценивали в тесте бактериального фагоцитоза со *Staphylococcus aureus*. При этом определяли фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ).

Больные были разделены на 2 возрастные группы в соответствии с периодами гормональной активности: в 1-ю вошли 32 женщины активного репродуктивного возраста – 18–35 лет, во 2-ю – 98 женщин позднего репродуктивного возраста – 36–45 лет. Критериями включения в исследование были отсутствие сопутствующих гиперпластических заболеваний внутренних половых органов, обострения хронических воспалительных заболеваний, отсутствие отягощенного аллергического анамнеза, нормальные показатели рутинных лабораторных анализов, отрицательный тест на беременность. Тип исследования: пострегистрационное открытое несравнительное. Исследуемые препараты: каскатол (ОАО «Холдинг «ЭДАС») – поливитаминный комплекс, содержащий в 1 драже бета-каротина 2,5 мг, аскорбиновой кислоты 25 мг, альфа-токоферола 12,5 мг; неоселен (НПЦ «Исинга», г. Чита) – 0,05%-ный нейтральный раствор селенита натрия; ЭДАС 927 (ОАО «Холдинг «ЭДАС») – комплексный гомеопатический препарат в гранулах; солодка-ЭДАС (ОАО «Холдинг «ЭДАС») – драже, содержащие по 0,025 г экстракта солодки голой и 0,015 г аскорбиновой кислоты. Пациентки принимали каскатол по 1 драже 3 раза в день и неоселен по 50 мкг селена в сут непрерывно в течение 3 мес, мастиол (ЭДАС-927) по 5–7 гранул 3 раза в день под язык в течение 1 мес, солодку-ЭДАС по 2 драже 2 раза в день в течение 1 мес. Эффективность медикаментозного комплекса оценивали по клинической и эхографической динамике патологических изменений в молочных железах, изменению показателей гормонально-иммунологического статуса.

Результаты исследования обрабатывали стандартными статистическими методами с использованием критериев t-Стьюдента, Уилкоксона,  $\chi^2$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст больных в 1-й группе составил  $27,4 \pm 2,7$  лет, средняя оценка степени тяжести мастопатии до лечения –  $4,5 \pm 0,21$  балла. Во 2-й группе средний возраст больных равнялся  $40,7 \pm 2,9$ , степень тяжести мастопатии по данным объективного обследования до лечения –  $4,7 \pm 0,18$  баллов.