

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

А. З. Альяшев

Спонтанная флюоресценция в гастроинтестинальных стромальных опухолях прямой кишки

ГОУВПО Мордовский государственный университет имени

Н. П. Огарева, Саранск

Введение. Гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСТ) — это саркомы мягких тканей, возникающие из мезенхимальной ткани ЖКТ. ГИСТ — редкие опухоли, составляющие менее 0,1–3 % всех злокачественных новообразований ЖКТ (10–20 случаев на 1 млн населения). Поверхность опухоли изъязвлена, на разрезе выявляются поля некроза и кровоизлияний.

Цель исследования. Изучить диагностическую селективность накопления эндогенных флюорохромов (ЭФ) в опухоли, очаге воспаления и внешне неизмененных тканях прямой кишки *in vivo* (эндоскопически) и *ex vivo* (лазерно-спектроскопическим экспресс-методом удаленного макропрепарата).

Материал и методы. Использован клинический диагностический комплекс для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии рака ДТК-3М (ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва). Аутофлюоресценция (АФ) биотканей связана с молекулами дыхательной цепи окислительного фосфорилирования, флавином, эндогенными порфиринами, ароматическими аминокислотами (тирозин, триптофан, фенилаланин), экстрацеллюлярными эластином и коллагеном. Реальные спектральные характеристики обусловлены и АФ депозитов перекисного окисления липидов, продуктов некроза, количества кровеносных сосудов, гемоглобина и пигмента.

Результаты. АФ изучили у 2 больных с неэпителиальными опухолями прямой кишки (лейомиосаркома и злокачественная неходжкинская лимфома): в одном случае *ex vivo*, а в другом — *in vivo*. Контроль: 7 пациентов без патологии в прямой кишке, 1 — с воспалительными заболеваниями и 9 — с колоректальным раком. АФ здоровой слизистой оболочки прямой кишки составила $6,33 \pm 0,606$ отн. ед.; коэффициент диагностической контрастности (КДК) (к слизистой оболочке нижней губы) — 0,71, при язвенном ректите — 5,081 и 0,77, при ворсинчатой аденоме — 4,89 и 0,63, при раке — 15,9 и 0,76 соответственно.

Выводы. 1. Диагностическая ценность эндоскопической лазерно-индуцированной АФ (ЭЛИАФ) при раке прямой кишки мала ввиду низкой концентрации ЭФ в опухолевой ткани (прежде всего, протопорфирина IX и его дериватов). 2. Неэпителиальные опухоли прямой кишки склонны к повышенной АФ в красной области спектра: спектральные кривые имеют характерную форму и пик при $\lambda = 684$ нм, интенсивность АФ — $31,765 \pm 5,944$ отн. ед., КДК — $5,6 \pm 0,729$ ($p < 0,001$). 3. ЭЛИАФ-диагностика ГИСТ требует дальнейшего изучения.

Е. Г. Вакуловская, В. В. Кузнецов, А. Н. Грицай

Флюоресцентная диагностика у больных раком шейки и раком тела матки с фотосенсибилизатором аласенс

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

Цель исследования. Разработать методы флюоресцентной диагностики (ФД) у больных раком шейки и раком тела матки с использованием отечественного фотосенсибилизатора аласенс (ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва), оценить эффективность ФД в этих группах больных.

Материал и методы. Во время 2-й фазы клинических испытаний выполнялось открытое проспективное исследование ФД с препаратом аласенс (АС) у 28 больных раком шейки матки $T_{1a-b}N_0M_0$ (РШМ) и 12 больных раком тела матки $T_1N_0M_0$ (РТМ). В исследование были включены больные-добровольцы — женщины в возрасте от 32 до 68 лет, средний возраст которых составил в группе больных РШМ $41,3 \pm 8,7$ лет, у больных РТМ — $54,9 \pm 7,5$ лет. У пациенток с РШМ при морфологическом исследовании был выявлен плоскоклеточный рак (в 2 случаях низкодифференцированный), у больных РТМ — различные виды аденокарциномы. 5 больным РШМ проведена ранее лучевая терапия (СОД 30 Гр), 8 больным РТМ — раз-

дельное диагностическое выскабливание полости матки (не менее, чем за 4 нед. до проведения ФД). Для выполнения ФД использовался отечественный фотосенсибилизатор АС (5-аминолевулиновая кислота, предшественник эндогенного фотоактивного протопорфирина IX). АС в однократной дозе 20 или 30 мг/кг массы тела больной, растворенный в 100–200 мл негазированной питьевой воды, принимался внутрь за 4 ч до проведения ФД. Пациентки после введения препарата ограничивали пребывание на прямом солнечном свете на 24 ч. ФД проводилась до введения АС через 4 и 24 ч после приема внутрь раствора АС. В качестве источника излучения, возбуждающего флюоресценцию протопорфирина 9 в тканях, использовалась флюоресцентно-спектроскопическая установка ЛЭСА-01 (ЗАО «Биоспек», Москва) для регистрации спектров интенсивности флюоресценции и определения флюоресцентной контрастности на границе «опухоль-норма» — He-Ne-лазер (633 нм).

Результаты. При назначении внутрь раствора препарата АС не было отмечено фототоксических реакций кожи лица и открытых участков тела при соблюдении больными ограниченного светового режима в течение первых 24 ч после введения АС, а также других проявлений общих местных и токсических реакций. Динамическое наблюдение за показателями крови и мочи показало отсутствие гемато-, нефро- и гепатотоксичности препарата АС и ФД с его использованием. При ФД у всех больных РШМ и РТМ наблюдалась флюоресценция клинически определяемых очагов со смещением пика флюоресценции протопорфирина IX в более длинноволновую часть спектра. При спектрометрии кожи лица и рук, слизистой оболочки нижней губы пациентов через 4 ч после приема препарата отмечалось достоверное увеличение интенсивности флюоресценции по сравнению с исходным фоновым, фототоксичность была кратковременной и сохранялась не более 24 ч. Флюоресцентная контрастность на границе «опухоль-норма» варьировала от 2,1:1 до 4,1:1 у различных пациенток. У больных РШМ отмечалась в большинстве случаев неомогенность зоны флюоресценции с различиями между минимальным и максимальным флюоресцентным контрастом 22–34 %. У 64,3 % больных РШМ и 66,7 % РТМ определяемые при ФД границы зоны флюоресценции совпадали с определяемыми клинически границами опухоли, а у 35,7 и 33,3 % — превышали клинические определяемые границы опухоли на 0,3–0,8 см. Не отмечено различий в интенсивности флюоресценции и флюоресцентном контрасте у больных при приеме АС в дозе 20 и 30 мг/кг массы тела. У 1 больной выявлена дополнительная зона флюоресценции, при морфологическом исследовании биоптата обнаружена высокодифференцированная аденокарцинома.

Выводы. Таким образом, нами разработаны методы ФД у больных РШМ и РТМ с использованием препарата АС; отмечена высокая чувствительность и специфичность ФД и возможность определять границы опухолевого роста. Проведение ФД не сопровождалось побочными эффектами, кроме кратковременной световой токсичности.

С. Ю. Васильченко¹, А. И. Волкова¹, С. Б. Коровин¹,

В. Б. Лоценов¹, М. Л. Синяева², Ад. А. Мамедов²,

Е. А. Лукьянец³, С. Г. Кузьмин⁴

Исследование флюоресцентных свойств наночастиц фталоцианина алюминия в микроповреждениях эмали зубов

¹ ЦЕНИ ИОФ РАН, Москва

² Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова

³ ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

⁴ ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

Диагностика микроповреждений эмали имеет большое значение в стоматологии для предупреждения развития кариеса. Микроповреждения эмали связаны с локальным дефицитом кальция в эмали и характеризуются изменением состава, формы, размеров и взаимной ориентации кристаллов гидроксиапатита, являющихся основными структурными единицами эмали. Недостатком методов, использующихся в современной клинической стоматологии для диагностики раннего кариеса и повреждений эмали зуба (визуальный

осмотр полости рта, зондирование, витальное окрашивание эмали специальными красителями и др.), является то, что они не предназначены для диагностики микроповреждений эмали и способны выявить лишь повреждения достаточно больших размеров или кариес в стадии «белого пятна».

Целью исследования являлось изучение возможности применения флюоресцентной диагностики микроповреждений эмали зубов с использованием наночастиц неводорастворимого фталоцианина алюминия, полученных из исходного крупнодисперсного препарата путем ультразвуковой диспергации. Для апробации метода использовались зубы различной групповой принадлежности, удаленные по клиническим показаниям. Измерение флюоресценции проводилось с помощью волоконно-оптического спектрометра LESA-01-BIOSPEC (ЗАО «Биоспек», Россия), возбуждение флюоресценции осуществлялось He-Ne-лазером (длина волны 632,8 нм). Также проведено исследование динамики интенсивности флюоресценции наночастиц фталоцианина алюминия в микроповреждениях эмали. Обнаружен эффект «разгорания» флюоресценции фталоцианина алюминия в зонах микроповреждения эмали зуба.

В. Н. Волгин, Т. В. Соколова, И. А. Ламоткин, М. В. Садовская
Применение фотодитазина при фотодинамической
терапии заболеваний различной этиологии

Главный военный клинический госпиталь имени
акад. Н. Н. Бурденко, Москва

Введение. В последнее время все больше расширяется спектр применения фотодинамической терапии (ФДТ) при различных заболеваниях.

Цель исследования. Разработка оптимальных режимов ФДТ с фотосенсибилизатором фотодитазином при различной патологии кожи и слизистых.

Материал и методы. В Главном военном клиническом госпитале имени Н. Н. Бурденко лечение методом ФДТ проведено 57 больным. Спектр заболевания и средний возраст больных приведены в табл. 1.

Таблица 1. Возрастной состав пролеченного контингента методом ФДТ

Заболевание	Количество больных		Средний возраст
	абс.	%	
Базальноклеточный рак кожи	43	75,7	71,2
Плоскоклеточный рак кожи	1	1,7	76,0
Метатипический рак кожи	1	1,7	52,0
Кератома	9	15,8	61,3
Лейкоплакия	2	3,4	61,0
Эрозия шейки матки	1	1,7	28,0
Всего...	57	100	68,3

Преобладали больные базальноклеточным раком кожи (БКРК) — 75,4 %. Средний возраст всей группы составил 70 лет. Всем больным проведено лечение методом ФДТ. Использовали лазерную установку «АТКУС» (Россия). Выходная мощность лазера 0,1–2,0 Вт. Во время лечения плотность мощности излучения была от 0,1 до 0,8 Вт/см². Количество вводимого фотосенсибилизатора рассчитывалось на 1 кг массы тела больного — 0,6–0,8 мг/кг. Длительность облучения зависела от размера опухоли и составляла от 30 с до 10 мин. В случае возникновения локальной болезненности делали перерыв в течение нескольких минут, т. е. облучение проводили фракционно. Для облучения опухолей использовали световод с микролинзой на конце.

Сеансы ФДТ, а также динамическое наблюдение за больными и их перевязки в большинстве случаев проводили амбулаторно. Количество визитов больного к врачу, начиная с первичного осмотра и до результатов оценки эффективности выбранного метода терапии (спустя 2 мес.), составляло в среднем 7 раз.

У 57 больных было 80 очагов.

Результаты. Оценка эффективности ФДТ проводилась по следующим критериям: полная регрессия (ПР) опухоли — отсутствие визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста; частичная регрессия (ЧР) — уменьшение размеров опухоли не менее чем на 50 %; без эффекта (БЭ) — уменьшение размера опухоли менее чем на 50 %. При этом следует учитывать, что ЧР оценивается как положительный терапевтический эффект. В соответствии с общепринятой установкой в онкологии оценка непосредственных результатов ФДТ производилась через 2 мес. Этот срок в большинстве случаев был достаточным для регрессии опухолей и эпителизации дефектов кожи.

Результаты лечения отражены в табл. 2.

Таблица 2. Эффективность ФДТ БКРК

Заболевание	Количество больных	Результаты ФДТ			
		ПР		ЧР	
		абс.	%	абс.	%
Базальноклеточный рак кожи	43	39	90,7	4	9,3
Плоскоклеточный рак кожи	1	1	—	—	—
Метатипический рак кожи	1	1	—	—	—
Кератома	9	9	—	—	—
Лейкоплакия	2	2	—	—	—
Эрозия шейки матки	1	1	—	—	—
Всего...	57	53	91,2	4	8,8

Из данных табл. 2 видно, что полная регрессия очагов поражения наступила у 53 (91,2 %) больных, частичная — у 4 (8,8 %). Оба результата принято оценивать как положительный терапевтический эффект. 4 рецидива было только у больных БКРК. В 4 случаях с ЧР проведен повторный курс ФДТ, после чего в процессе наблюдения отмечена полная регрессия опухолей. При диспансерном наблюдении 53 больных в сроки от 2 до 6 мес. рецидивов заболевания не наблюдалось.

При лечении использовали различные дозы световой энергии — от 150 до 500 Дж/см². При поверхностных опухолях доза составляла 150–250 Дж/см², при солидных образованиях — 250–300 Дж/см², а при язвенных, экзотических формах БКРК и опухолях с глубоким инфильтративным ростом — 300–500 Дж/см².

Выводы. Проведенный анализ позволяет сделать вывод, что ФДТ можно использовать при заболеваниях различной этиологии с высоким терапевтическим эффектом.

Н. Ф. Гамалея, И. А. Лисняк, В. В. Куценко, О. Б. Горобец
Влияние ФДТ с применением в качестве
фотосенсибилизатора 5-аминолевулиновой
кислоты на ангиогенез и метастазирование
карциномы Льюис

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

Цель исследования. Изучение влияния фотодинамической терапии (ФДТ) на опухолевый ангиогенез и метастазирование у мышей с карциномой Льюис.

Материал и методы. Экспериментальной моделью опухолевого роста и метастазирования служила мышьяная карцинома легких Льюис. Для ФДТ использовали фотосенсибилизатор II поколения — 5-аминолевулиновую кислоту (5-АЛК), синтезированную в Институте органической химии НАН Украины, лазерное излучение с длиной волны 633 нм и плотностью мощности 150 мВт/см² при экспозиции 20 мин.

Противоопухолевую активность ФДТ определяли по торможению роста первичных опухолей и степени метастатического поражения легких. Содержание фактора роста эндотелиальных клеток (VEGF) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом.

Результаты. Анализ полученных данных показал выраженное торможение под влиянием АЛК-ФДТ роста первичных опухолей,

достигавшее 93 %. Одновременно отмечено значительное угнетение метастатического процесса: количество животных без метастазов в группе, подвергнутой ФДТ, было в 5 раза большим по сравнению с животными контрольной группы, где лечения не проводилось. У тех животных, у которых метастазы все же выявлялись, наблюдалось уменьшение их количества и размеров. Параллельно с торможением роста первичной опухоли и угнетением метастатического процесса отмечались значительное снижение содержания в сыворотке крови медиатора ангиогенеза — VEGF и угнетение процесса васкуляризации в легочных метастазах, относительную интенсивность которого определяли по соотношению количества метастазов, находившихся в аваскулярной и васкулярной фазах развития. У животных, которые были подвергнуты АЛК-ФДТ, среднее количество метастазов в васкулярной фазе развития было в 10 раз ниже контрольных значений.

Выводы. ФДТ с применением в качестве фотосенсибилизатора 5-АЛК вызывает значительное угнетение роста первичной опухоли и развития процессов метастазирования с одновременным снижением концентрации VEGF в крови и торможением васкуляризации легочных метастазов. Полученные результаты указывают на наличие васкулярно-направленного компонента в противоопухолевом эффекте ФДТ с использованием 5-АЛК.

*Л. Г. Гатинская, Н. А. Дмитричева, Е. В. Игнатьева,
Б. С. Кикоть, И. В. Ярцева*

Изучение растворимости тиосенса

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

Введение. Тиосенс — тетра-3-фенилтиофталацианин алюминия гидроксида — новый инфракрасный фотосенсибилизатор, синтезированный в ФГУП ГНЦ «НИОПИК», проходит доклиническое исследование с целью передачи на клинические испытания для ФДТ злокачественных опухолей.

Цель исследования. Изучение растворимости тиосенса в различных растворителях, необходимое при стандартизации субстанции препарата и выборе оптимальной лекарственной формы.

Материал и методы. Работа выполнена на образцах тиосенса, синтезированных в ФГУП ГНЦ «НИОПИК». Использовались органические растворители марки «ХЧ», хроматографические пластинки Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merk, Германия). Система растворителей хлороформ-метанол-аммиак (87:12:1) подобрана экспериментально. Электронные спектры поглощения снимали на регистрирующем спектрофотометре HITACHI-U-3210 (Япония).

Результаты. Образцы всех серий нерастворимы в воде и 0,1 М кислом хлористоводородной (растворитель над исследуемым веществом не окрашивается). При обработке всех образцов в органических растворителях основная часть вещества растворяется при добавлении небольших количеств растворителя с образованием интенсивно окрашенных растворов. Не растворившееся сразу вещество остается в виде небольшого количества расплывающихся темных точек (хлороформ, диметилсульфоксид, диметилформамид) или в виде мелкодисперсного осадка (спирт этиловый, эфир диэтиловый). Для растворения этой части вещества требуется добавление дополнительных количеств растворителя, очень значительных в случае спирта этилового и эфира диэтилового. Дисперсный осадок, очень плохо растворяющийся в спирте, отделяли, растворяли в хлороформе и хроматографировали в тонком слое на одной пластине с пробами спиртового раствора вещества и вещества, растворенного непосредственно в хлороформе. Хроматограммы всех проб идентичны. Электронные спектры поглощения хлороформных растворов тиосенса и его фракций (растворимой и нерастворимой в спирте этиловом) также идентичны.

Выводы. Особенности растворимости тиосенса предположительно связаны с существованием различных кристаллических форм вещества. Это затрудняет определение категории растворимости в терминах ГФ XI (вып. 1, с. 175). Условно тиосенс можно отнести к категории малорастворимых веществ в хлороформе, диметилсульфоксиде и диметилформамиде и практически нерастворимых в спирте этиловом и эфире диэтиловом.

Работа поддержана Правительством Москвы. Авторы благодарят Г. Н. Ворожцова, Е. А. Лукьянца и В. М. Деркачеву за сотрудничество и предоставленные для исследования образцы тиосенса.

М. Л. Гельфонд, А. И. Арсеньев, А. С. Барчук

ФДТ с фотодитазинном в паллиативном лечении злокачественных новообразований

НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова, Санкт-Петербург

Введение. В НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова закончены клинические испытания нового отечественного фотосенсибилизатора фотодитазин при фотодинамической терапии злокачественных новообразований.

Цель исследования. Клинические испытания фотодитазина при ФДТ рака бронха и базальноклеточного рака кожи.

Материал и методы. Сеансы ФДТ проведены 36 больным трахеобронхиальным раком, 3 пациентам с рецидивом рака щитовидной железы с вращением в трахею. Общее число сеансов составило 59. В клинические испытания включено также 115 больных с морфологически верифицированным базальноклеточным раком кожи. Из них у 92 имелась первичная, не леченная ранее опухоль кожи, а в 23 случаях — рецидив после ранее проводившейся в другом лечебном учреждении лазерной коагуляции.

Результаты. В ходе клинических испытаний предложен новый алгоритм комбинированной паллиативной терапии при распространенном раке легкого, включающий аргонплазменную реканализацию просвета органа и, при необходимости, стентирование, ФДТ с последующей брахи- и дистанционной лучевой терапией. ФДТ рака бронха с помощью препарата фотодитазин позволила получить у 74 % больных полный и частичный регресс опухоли, причем в 57 % случаев регресс расценен как полный. Этот результат представляется достаточно успешным, если учесть, что все пациенты имели местнораспространенный рак бронха. У всех 115 больных отмечен полный и длительный регресс опухоли. При клинических испытаниях эффективности фотодитазина нами изучены как эффекты прямого фототоксического повреждения опухолевых клеток в культурах, так и воздействия фотохимических реакций на кровь и ее компоненты. Используя триггерные эффекты сенсибилизированной фотомодификации крови, в ряде случаев вполне можно достичь ее цитотоксического воздействия на злокачественную опухоль. По нашим предварительным данным, реализация цитотоксического действия при химиосенсибилизированной фотомодификации крови реализуется за счет перекисей. Это существенно расширяет возможности применения метода ФДТ.

Выводы. Фотодитазин является практически идеальным фотосенсибилизатором, т. к. обладает высокой терапевтической активностью и отсутствием побочных эффектов.

В. А. Евтушенко, М. В. Вусик, Е. А. Чижииков

Фотодинамическая терапия рецидивных опухолей кожи с фотосенсибилизатором фотодитазин

ГУ НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН, Томск

Введение. Лечение рецидивов злокачественных опухолей — более сложная задача, чем лечение первичных поражений. У больных раком кожи, пролеченных ранее лучевым методом, развиваются выраженные трофические изменения покровных тканей, после хирургического лечения наблюдается грубая рубцовая деформация.

Цель исследования. Оценка эффективности фотосенсибилизатора фотодитазин (ООО «Вета-Гранд», Москва) и импульсного лазера на красителях (Томский государственный университет) у больных рецидивным базальноклеточным раком кожи.

Материал и методы. Лечение проведено 14 больным, диагноз рецидива рака кожи был установлен клинически и подтвержден морфологическими данными. Опухоли локализовались в основном на лице и шеи, площадь поражения составляла от 5 до 80 см². У 1 больного гигантская опухоль площадью 400 см² располагалась на спине. Фотодитазин вводился за 2 ч до лазерного воздействия внутривенно капельно в дозе 0,7 мг/кг масс тела в 400 мл физиологического раствора. Накопление сенсибилизатора в опухоли определялось непосредственно перед облучением методом флюоресцентной спектроскопии на установке «Спектр-кластер» (Москва). Применяемая нами лазерная установка на красителях дает возможность плавной перестройки в области красного спектра излучения в широком диапазоне, что позволяет использовать его при работе с различными фотосенсибилизаторами.

Результаты. В настоящем исследовании применялось излучение с длиной волны 662 нм, плотность мощности лазерного излучения

составила 400 мВт/см², плотность энергии лазерного излучения — 300–600 Дж/см². Сеансы ФДТ проводились амбулаторно и переносились больными хорошо. Оценены 3-месячные результаты: у 12 больных отмечена полная регрессия опухолей, у 2 пациентов с гигантскими опухолями потребовалось проведение повторных курсов ФДТ.

Выводы. ФДТ с фотодитазинотом может быть успешно применена у больных с рецидивными опухолями кожи. Сенсибилизатор не токсичен, лечение можно проводить амбулаторно.

В. Н. Капинус, М. А. Каплан

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотодитазин опухолей кожи лица неудобных локализаций

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Введение. Органосохраняющее лечение опухолей в настоящее время является важной концепцией клинической и экспериментальной онкологии. При использовании традиционных методов лечения опухолей кожи лица высок риск развития анатомо-функциональных нарушений в данной области, поэтому расширение возможностей малоинвазивных методов позволит качественно улучшить результаты лечения и реабилитации больных. В настоящее время благодаря внедрению в клиническую практику фотодинамической терапии (ФДТ) существенно расширился арсенал органосохраняющих методов, т. к. при ФДТ происходит избирательное разрушение опухоли с минимальным повреждением окружающих тканей.

Материал и методы. В отделе лазерной и фотодинамической терапии ГУ МРНЦ РАМН была проведена ФДТ с фотосенсибилизатором (ФС) фотодитазин 42 больным, имеющим так называемую неудобную локализацию рака кожи лицевого области (угол глаза, параорбитальная область, крыло носа, носогубные складки, ушная раковина). У всех больных морфологически был верифицирован базальноклеточный рак кожи, а распространенность опухолевого процесса была следующей: Т₁ — 13 (31,0 %) больных, Т₂ — 26 (61,9 %) и Т₃ — 3 (7,1 %). Кроме того, 14 (33,3 %) пациентов получали ранее лечение, и у них наблюдали частичный регресс опухоли или ее рецидив после лучевой терапии, хирургического иссечения, криодеструкции или комплексного лечения.

Всем больным вводился ФС фотодитазин внутривенно капельно после предварительного разведения в физиологическом растворе в дозе 0,6–1,0 мг/кг. Проведение спектрофлуоресцентного анализа через 2 ч после введения ФС позволяло доказать наличие достаточного уровня накопления ФС в опухолевой ткани по отношению к видимому здоровой ткани и визуализировать распространение опухолевого процесса.

В качестве источников лазерного света использовались лазерные аппараты «Аткус-2» и «Ламеда» (662 нм). Облучение опухолей, расположенных параорбитально, проводилось аккуратно с использованием специальных приспособлений для защиты глазного яблока от повреждающего действия лазерного света. К опухолям подводилась световая энергия 100–300 Дж/см² в течение 1 сеанса облучения с 1 или нескольких полей.

После ФДТ опухолевых образований параорбитальной области для уменьшения отека и защиты окружающих тканей использовались офтальмологические средства, такие как глазные капли тобродекса, глазной гель солкосерил или актовегин.

Результаты. Непосредственные результаты лечения оценивались по критериям ВОЗ: полная регрессия, частичная регрессия, без эффекта.

У 37 (88,1 %) из 42 больных была получена полная регрессия опухолевых очагов, частичная регрессия — у 5 (11,9 %) пациентов, отсутствия эффекта не отмечалось.

При сроке наблюдения от 2 мес. до 4 лет только у 6 (14,3 %) пациентов были диагностированы рецидивы заболевания, по поводу которых были проведены повторные курсы ФДТ с эффектом.

Анализ косметических и органосохраняющих результатов лечения опухолей кожи методом ФДТ с фотодитазинотом показал, что после проведенного лечения у всех больных сформировались неглубокие рубцы, имеющие меньшие размеры, чем первоначальная опухоль, которые практически не деформировали окружающих тканей. Следует особо отметить результаты лечения опухолей параорбитальной области. Так, после фотодинамической терапии с ФС фотодитазин

у всех пациентов не пострадала функция зрения (не изменились цветоощущение и острота зрения), сохранились веки, ресницы, размеры глазной щели и функции этих органов, а сформировавшиеся рубцы являлись еще более нежными, чем на других участках кожи лица. После ФДТ рака кожи носа, ушных раковин в некоторых случаях развивалась минимальная деформация хрящевых структур.

Выводы. ФДТ с ФС фотодитазин является эффективным органосохраняющим методом лечения, который не вызывает функциональных и косметических нарушений. Это позволяет считать ФДТ рациональным методом лечения базальноклеточного рака кожи неудобных локализаций.

М. А. Каплан, О. А. Скугарева

Интерстициальная фотодинамическая терапия экспериментальной опухоли саркомы М1 с фотосенсибилизатором фотодитазин

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Цель исследования. Разработка методики интерстициальной фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором фотодитазин экспериментальной опухоли саркомы М1.

Материал и методы. Работа выполнена на 52 беспородных крысах-самках, которым под кожу в область бедра прививали саркому М1. Животных брали в опыт на 10–14-е сутки после перевивки опухоли. Фотодитазин вводили внутривенно в стандартной дозе 5 мг/кг. Опухоль облучали через 2,5–3 ч после введения ФС с помощью лазерного аппарата «Аткус-2» (мощность 2 Вт, λ 662 нм). Для доставки лазерного излучения к опухоли использовались волоконно-оптические катетеры с гибким цилиндрическим диффузором. Животные были разделены на две группы: в 1-й группе применялась плотность энергии 300 Дж/см², во 2-й группе — 600 Дж/см².

Эффект фотодинамической терапии оценивали на 3, 7, 10, 14 и 21-е сутки после ФДТ по проценту полной регрессии и коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К), который рассчитывали по формуле:

$$K = \frac{V_t - V_0}{V_0} \quad V \text{ (см}^3\text{)} = \frac{1}{6} \pi \cdot d_1 \cdot d_2 \cdot d_3,$$

где d_1 , d_2 , d_3 — три взаимно перпендикулярных диаметра опухоли; V_0 — объем опухоли до воздействия; V_t — объем опухоли на определенный срок наблюдения.

Результаты. В группе животных, где плотность энергии составляла 300 Дж/см², коэффициент абсолютного прироста опухоли был значительно ниже и к 21-м суткам составил 4,94, а в контрольной группе — 20,5.

В группе животных с плотностью энергии 600 Дж/см² коэффициент абсолютного прироста к 21-м суткам составил 0,45, а в контрольной группе — 69,3. Полная регрессия опухоли наблюдалась в 50 % случаев.

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод об эффективности интерстициальной ФДТ при лечении злокачественных новообразований, однако требуются дальнейшие исследования для установления оптимальных параметров излучения и дозы фотосенсибилизатора.

*Т. А. Кармакова¹, Е. В. Филоненко¹, А. В. Феофанов²,
В. В. Соколов¹, Р. И. Якубовская¹, Е. А. Лукьянец³,
В. И. Чиссов¹*

Динамика накопления и распределения АЛК-индуцированного протопорфирина IX в ткани базальноклеточного рака

¹ МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва

² Институт биоорганической химии РАН, Москва

³ ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Распределение и уровень накопления фотосенсибилизатора в ткани-мишени определяют возможности флуоресцентной диагностики опухоли, механизмы фотиндуцированного повреждения тканей и эффективность фотодинамического воздействия.

Целью настоящего исследования являлось изучение локализации и кинетики накопления АЛК-индуцированного протопорфирина IX

(РРІХ) в ткани базальноклеточного рака кожи человека (БКР) после применения препарата аласенс.

Методом флуоресцентной микроспектроскопии исследованы криостатные срезы опухолевых тканей 7 пациентов с первично-множественным БКР (I стадия), иссеченные хирургически на разных сроках в течение суток после перорального приема аласенса в виде раствора 20 мг/мл в дозе 30 мг/кг массы тела.

Количественная обработка микроспектральных изображений показала, что при системном применении аласенса АЛК-индуцированный РРІХ детектируется в тканях на протяжении 8 ч после введения препарата и в течение этого периода содержание флюорохрома в тканях опухоли выше, чем в нормальной коже. Высокое содержание РРІХ в опухолевом узле обусловлено его накоплением в опухолевых клетках и в строме, а также в дисплазированном эпидермисе в зоне роста опухоли. Максимум накопления флюорохрома в опухолевых клетках наблюдается через 2 ч после приема аласенса. Содержание РРІХ в строме опухоли в первые 4 ч после введения ниже, чем в опухолевых клетках. В течение 4–6 ч после приема препарата РРІХ выявляется также в стенке кровеносных сосудов кожи.

Таким образом, анализ динамики накопления АЛК-индуцированного РРІХ позволил установить, какие компартменты ткани опухолевого образования являются преимущественным источником специфической флуоресценции в каждый отдельный период времени после приема аласенса. Полученные результаты могут служить дополнительным критерием для оптимизации режимов фотодинамической терапии БКР с препаратом аласенс.

С. В. Козлов, А. А. Морятов, М. А. Морозова
Оптимизация диагностики и лечения больных со злокачественными новообразованиями пищевода и кардиального отдела желудка

Самарский ГМУ, кафедра онкологии

ГУ Самарский областной онкологический диспансер

Традиционные методы паллиативной помощи онкологическим больным не удовлетворяют современным требованиям поддержания качества их жизни.

Актуальность исследования обусловлена необходимостью разработки новых малоинвазивных методов помощи больным со злокачественными новообразованиями пищевода и кардиального отдела желудка, осложненными опухолевой стриктурой, с целью улучшения качества их жизни.

Основные задачи исследования — оценить возможность и эффективность применения флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии в исследуемой группе больных, разработать режимы проведения ФДТ, изучить возможность сочетания ФДТ с другими методами лечения.

На кафедре онкологии СамГМУ на базе ГУ СООД метод ФДТ начал применяться с 2003 г. В изучаемую группу включены больные раком пищевода (56) с выраженной дисфагией II–IV степени по Савицкому. Среди них с поражением верхней трети пищевода было 3 больных, средней — 24, нижней — 10, с кардиоэзофагеальным раком — 19; мужчин — 35, женщин — 21. Средний возраст составил 66 лет. Проводилось следующее лечение: хирургическое в радикальном объеме, осложнившееся местным рецидивом, — 5 больных, ПХТ — 5, в т. ч. комплексное лечение — 3, ДГТ — 6, в т. ч. комбинированное — 1, пробные или диагностические операции выполнены 19 пациентам, остальные не получали специального лечения. Гистологически преобладали аденокарцинома (31), плоскоклеточный рак (25), отдаленные метастазы имелись у 24 больных: в печень — 19, канцероматоз брюшной полости — 5.

Для проведения ФД и ФДТ применяли современные отечественные фотосенсибилизаторы фотогем и аласенс; введение системное, в дозировках, рекомендованных МНИОИ им. П. А. Герцена. ФД проводили с помощью установки «Спектр-кластер» с длиной волны возбуждения флуоресценции 510 нм. Для оценки степени и специфичности накопления ФС в ткани опухоли и окружающих тканях ФДТ проводили с лазерным полупроводниковым аппаратом «Кристалл» с длиной волны 630 нм, доставку лазерного излучения осуществляли посредством волоконно-оптического световода с цилиндрическим диффузором-излучателем. Лазером облучали опухолевую поверхность и прилегающие участки с высоким специфичес-

ким накоплением ФС. Дозы лазерного излучения рассчитывались индивидуально по стандартным формулам, предложенным МНИОИ им. П. А. Герцена.

Контроль результата ФДТ проводили эндоскопически с морфологической оценкой и рентгенологически, а при необходимости использовали другие методы исследования (УЗИ, КТ, МРТ). Визуальная реакция опухоли наблюдалась в 100 % случаев в виде отека, инъекции сосудов опухоли, с развитием частичного некроза или полного лизиса опухоли на 20–30-е сутки. Морфологические изменения наблюдались всегда в виде отека, некроза опухоли, воспалительных изменений. Клинический функциональный эффект не всегда соответствовал эндоскопическому осмотру. В 15 (26,7 %) наблюдениях наступило полное разрешение дисфагии, в 32 (57 %) — частичное, у 9 (16 %) больных — без эффекта. Более года наблюдаются 13 больных, среди них стойкая ремиссия с морфологически подтвержденным излечением отмечена в 7 случаях, остальные получают повторные курсы ФДТ. В 11 наблюдениях отмечались осложнения в виде отека и покраснения кожи, связанные с несоблюдением светового режима.

Метод ФДТ можно признать эффективным, позволяющим достичь высокой степени реабилитации у больных со злокачественными новообразованиями полых органов, осложненными феноменом опухолевой стриктуры. Важное преимущество ФДТ — возможность применения у широкой категории больных, в т. ч. и у ослабленных. Изучается возможность применения различных режимов проведения ФДТ, сочетания ее с другими методами противоопухолевого лечения.

*М. А. Кортава¹, И. Г. Меерович¹, Г. А. Меерович²,
А. П. Полозкова¹, И. Ю. Кубасова¹, Л. М. Борисова¹,
М. П. Киселева¹, Е. В. Игнатьева¹, О. Л. Орлова¹,
З. С. Смирнова¹, А. Ю. Барышников¹, Н. А. Оборотова¹,
Г. Н. Воронцов³*

Изучение динамики накопления стерически стабилизированной липосомальной лекарственной формы фотосенса (ССЛЛФФ) в опухолевой и нормальной ткани

¹ ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

² ЦНИИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

³ ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Введение. Одной из проблем применения в онкологии фотодинамической терапии с использованием фотосенса является длительная фототоксичность, обусловленная медленным снижением концентрации препарата в коже больного после проведенного лечения.

Цель исследования. Изучить динамику накопления ССЛЛФФ в коже и опухоли Эрлиха мышей в сравнении с инъекционной лекарственной формой фотосенса (ФС).

Материал и методы. Опухоль Эрлиха перевивали мышам — гибридам F₁ внутримышечно в область бедра асцитной жидкостью по 0,1 мл, содержащей 500 тыс. опухолевых клеток. ССЛЛФФ в терапевтической дозе 1 мг/кг и инъекционную лекарственную форму ФС в терапевтической дозе 4 мг/кг вводили на 5–6-е сут после перевивки, когда размер опухоли составлял в среднем 700 мм³. Уровень накопления препаратов в опухоли и коже оценивали спектрально-флуоресцентным методом с использованием спектроанализатора «ЛЭСА-БИОСПЕК» по интенсивности флуоресценции. Возбуждение флуоресценции осуществляли He-Ne лазером с длиной волны 632,8 нм.

Результаты (рис. 1).

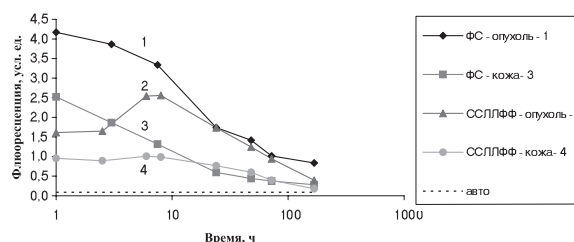


Рис. 1. Динамика интенсивности флуоресценции тканей мышей при введении ФС в разных лекарственных формах (пунктир — уровень автофлуоресценции ткани)

Показано, что через 1 ч после введения ФС интенсивность флюоресценции как в опухоли, так и в коже постепенно снижается. При введении ССЛЛФФ интенсивность флюоресценции в опухолевой ткани нарастает в течение 8 ч, после чего снижается. В коже интенсивность флюоресценции в течение 8 ч не изменяется, после чего снижается до уровня автофлюоресценции. На 7-е сутки после введения ССЛЛФФ уровень интенсивности флюоресценции в коже в 2 раза ниже, чем после введения ФС.

Таким образом, установлено, что выведение ССЛЛФФ из кожи в 2 раза выше, чем ФС, что свидетельствует о возможности снижения кожной фототоксичности фотосенса в новой лекарственной форме.

Работа выполнена в рамках ФНТП «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний».

А. А. Красновский

Фосфоресценция синглетного кислорода: есть ли перспективы применения в клинической практике?

Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва

Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова

Инфракрасная фосфоресценция кислорода (1270 нм) сопровождается дезактивацией синглетного $^1\Delta_g$ -состояния молекулярного кислорода, которое, как известно, определяет фотодинамические реакции окисления, лежащие в основе фотодинамической терапии рака и других болезней. Применение этой фосфоресценции в фотохимических и фотобиологических исследованиях стало возможным начиная с 1976 г., когда она была впервые обнаружена автором в аэробных растворах фотосенсибилизаторов [1]. С тех пор ее измерение широко используется в экспериментальной практике, главным образом, для анализа фотохимических моделей фотобиологических и фотомедицинских систем.

Поскольку интенсивность фосфоресценции низка, существенный элемент этих исследований — модернизация экспериментальной техники. Базовыми установками для исследований нашей группы служат приборы на основе охлаждаемых фотоумножителей со спектральной характеристикой С-1 (ФЭУ-83). Нами сконструировано два вида таких приборов. Один использует механические фосфороскопы и пригоден для анализа систем, в которых время жизни синглетного кислорода превышает 1 мс. Эти приборы удобны для тестирования фотосенсибилизирующей активности липофильных красителей и измерения констант скоростей тушения синглетного кислорода липофильными соединениями. Приборы 2-го типа используют импульсное лазерное возбуждение, разрешенный во времени счет фотонов и накопление сигнала от большого числа лазерных импульсов. С помощью таких приборов удается надежно регистрировать кинетические параметры фосфоресценции кислорода в водных системах, в которых квантовый выход фосфоресценции менее 10–7 [2].

В последние годы этот тип приборов получил широкое распространение благодаря созданию фирмой «Хамаматсу» фотоумножителей нового поколения с полупроводниковым фотокатодом (InGaAs), чувствительность которых в области 1270 нм по крайней мере на 2 порядка выше, чем у ФЭУ-83. Эти фотоумножители также требуют глубокого охлаждения. Принципиальная схема установок не отличается от разработанной нами. Однако из-за более высокой чувствительности они используются для анализа синглетного кислорода непосредственно в живых системах — клетках и тканях, а также для создания микроскопа, регистрирующего изображение генерирующих синглетный кислород компонентов клеток. Альтернативой таким установкам служат приборы на базе фотодиодов с малым фотокатодом, которые глубокого охлаждения не требуют, но работают в сочетании с надежными оптическими системами.

В докладе предполагается суммировать результаты последних исследований, выполненных с помощью указанных приборов и обсудить возможности их клинического применения. Автор благодарит РФФИ за поддержку работ в этом направлении.

Литература

1. Красновский А. А. мл. // Биофизика. — 1976. — Т. 21, вып. 4. — С. 748.
2. Красновский А. А. мл. // Биофизика. — 2004. — Т. 49, вып. 2. — С. 305.

И. Ю. Кубасова¹, К. В. Ермакова¹, Л. Н. Борисова¹, М. П. Киселева¹, А. С. Халанский³, Г. А. Меерович⁴, З. С. Смирнова¹, А. Ю. Барышников¹, Е. А. Лукьянец², Г. Н. Ворожцов²

Изучение проницаемости гематоэнцефалического барьера для фотосенса спектрально-флюоресцентным методом у крыс с глиомой С6

¹ ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

² ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

³ НИИ морфологии человека РАМН, Москва

⁴ ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

Введение. Первичные злокачественные опухоли головного мозга составляют около 9 % всех новообразований у человека и представляют собой серьезную проблему из-за невозможности адекватного лечения. Полное хирургическое удаление глиомы связано с риском развития серьезных психоневрологических осложнений, а проведение послеоперационной лучевой и химиотерапии недостаточно эффективно. В последнее десятилетие широкое распространение получил новый метод диагностики и лечения глиом, основанный на селективном накоплении фотосенсибилизатора в опухолевой ткани. Для диагностики и лечения опухолей мозга большое значение имеет существование гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), в нормальном состоянии препятствующего поступлению в мозг терапевтических агентов. В опухолях I и II степени злокачественности ГЭБ, по-видимому, сохраняет свои функции. В процессе прогрессии опухоли отмечается нарушение проницаемости ГЭБ, особенно в активно растущей периферической зоне.

Цель исследования. Оценить динамику проницаемости ГЭБ для фотосенса в процессе развития глиомы С6 крыс.

Материал и методы. Глиому С6 перевивали интракраниально в область правого бокового желудочка мозга крыс Wistar по 200×10³ опухолевых клеток в 10 мкл среды RPMI-1640. Фотосенс, синтезированный в ФГУП ГНЦ «НИОПИК» (0,2% раствор для инъекций), вводили внутривенно однократно в дозе 2 мг/кг с 3-го по 10-й день опыта. Уровень накопления препарата в опухоли и ткани мозга (противоположное полушарие мозга) оценивали спектрально-флюоресцентным методом с использованием спектроанализатора «ЛЭСА-БИОСПЕК» по интенсивности флюоресценции. Возбуждение флюоресценции осуществляли He-Ne-лазером с длиной волны 632,8 нм. О проницаемости ГЭБ судили по интенсивности флюоресценции в опухолевой и нормальной ткани, которую выражали в условных единицах (отношение интегральной интенсивности флюоресценции к интенсивности рассеянной лазерной линии) и определяли через 4 и 24 ч после введения препарата.

Результаты. Показано, что с ростом глиомы С6 интенсивность флюоресценции фотосенса в опухоли быстро нарастает. Интенсивность флюоресценции в опухоли через 4 ч после введения препарата на 4-й день опыта составляла 5,2 усл. ед., на 6-й день — 4,7 усл. ед., а к 10-му дню возрастала до 6,2 усл. ед. Более быстрый рост накопления фотосенса в опухоли наблюдался при оценке интенсивности флюоресценции через 24 ч после введения препарата: на 3-й день интенсивность флюоресценции составляла 3,7 усл. ед., на 6-й день — 5,9 усл. ед., а на 10-й день опыта — 6,7 усл. ед. В ткани мозга уровень накопления фотосенса был значительно ниже и интенсивность флюоресценции не превышала 1 усл. ед.

Выводы. Высокий уровень накопления фотосенса в глиоме С6 уже на 3-й день опыта позволяет сделать вывод о быстром росте опухоли и проницаемости ГЭБ для препарата на начальных стадиях ее развития. Полученные данные дают основание полагать, что применение фотосенса открывает новую возможность для фотодинамической терапии и диагностики опухолей головного мозга.

Работа выполнена в рамках ФНТП «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний».

В. И. Кулаков¹, И. А. Аполихина¹, Е. Д. Денисова¹, С. Г. Кузьмин², Г. Н. Ворожцов²

Возможности фотодинамической терапии с препаратом аласенс пациентов с папилломавирусной инфекцией гениталий

¹ Кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ФППО ГОУ ВПО ММА им И.М. Сеченова, Москва

² ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

Введение. Разработка и внедрение новых методов лечения заболеваний нижнего отдела генитального тракта, ассоциированных с вирусом папилломы человека (ВПЧ), является актуальной проблемой современной гинекологии ввиду распространенности данных заболеваний у женщин репродуктивного возраста с нереализованной репродуктивной функцией и ряда осложнений, возникающих после применения существующих методов лечения. Альтернативным и малоинвазивным методом лечения данной группы заболеваний является фотодинамическая терапия (ФДТ), нашедшая свое широкое применение в различных отраслях медицины.

Цель исследования. Оценка клинической эффективности препарата аласенс (5-аминолевулиновая кислота) при проведении ФДТ женщинам с заболеваниями вульвы, влагалища и шейки матки, ассоциированными с ВПЧ.

Материал и методы. В исследовании участвовало 25 пациенток, которые принимали препарат аласенс перорально в дозе 25 мг/кг массы тела с последующим сеансом ФДТ через 3–4 ч. Из них 19 пациенток с остроконечными кондиломами вульвы (76 %), 5 — с атипическим эпителием на шейке матки в виде уксусно-белого эпителия, мозаики, пунктации (20 %) и 1 пациентка с остроконечными кондиломами вульвы и атипическим эпителием на шейке матки в виде уксусно-белого эпителия (4 %). Контроль эффективности лечения проводили тестированием на ВПЧ с помощью полимеразной цепной реакции (оценивался противовирусный эффект), морфологического и кольпоскопического исследований (оценивалась регрессия патологических участков).

Результаты. В отношении заболеваний, ассоциированных с ВПЧ, полная регрессия была выявлена у 17 (68 %) пациенток, у 2 (8 %) пациенток — отсутствие эффекта, у 6 (24 %) пациенток — частичная регрессия, т. е. отмечено уменьшение размеров патологического участка на 50 %. Полный противовирусный эффект был зарегистрирован у 13 (52 %) пациенток, отсутствие противовирусного эффекта — у 12 (48 %) пациенток.

При приеме фотосенсибилизатора практически отсутствовали побочные реакции, лишь у 3 пациенток было отмечено незначительное головокружение, которое проходило самостоятельно в течение 1,5–2 ч. У 3 пациенток, которым ФДТ была проведена в летнее время года, имелись фототоксические реакции в виде гиперемии кожи лица и кистей рук, которые исчезли в течение 5 сут.

Также нами был отмечен отдаленный эффект от ФДТ у 5 пациенток (3 женщины — с остроконечными кондиломами вульвы и 2 — с атипическим эпителием на шейке матки), при оценке эффективности у которых через 3 мес. была зафиксирована частичная регрессия пораженных участков, а при осмотре через 5 мес. отмечена полная регрессия заболевания.

В целом отмечена хорошая переносимость сеансов ФДТ: только у 2 пациенток имелась значительная болезненность, у остальных было умеренное или слабое проявление болевого синдрома. После ФДТ болевые ощущения исчезали в течение 3–5 сут, что зависело от площади поражения.

Эпителизация тканей после сеансов ФДТ у 21 пациентки произошла в течение 7 сут, у 4 пациенток — в срок от 8 до 14 дней.

У большинства пациенток сохраняется полная регрессия патологических участков в течение 9–12 мес., только у 1 пациентки с остроконечными кондиломами вульвы был зарегистрирован рецидив заболевания.

Выводы. Таким образом, ФДТ приводит не только к излечению мультифокальных поражений, обеспечивая сохранность морфологической структуры нижнего отдела женской половой системы за счет избирательного накопления фотосенсибилизатора, но и обладает противовирусным эффектом. Нами не зафиксировано признаков системного фототоксического эффекта, локальный же был выражен незначительно. Наряду с этим не выявлены и серьезные нежелательные эффекты от ФДТ. Отсутствие повреждения неизмененной ткани во время ФДТ уменьшает болевые ощущения, а также сокращает продолжительность процесса заживления послеоперационной раны. ФДТ не вызывает образования эрозий и рубцов, при этом в 3 раза сокращается период заживления по сравнению с существующими

традиционными методами лечения (лазервапоризация, криодеструкция, радиохирургический метод).

По нашему глубокому убеждению, разработка и внедрение органосохраняющих методов лечения вирусассоциированных заболеваний нижнего генитального тракта является весьма актуальным и перспективным направлением в гинекологии.

В. Г. Лихванцева¹, Е. А. Осипова¹, С. А. Шевчик¹, В. Б. Лощенов², С. Г. Кузьмин³, Г. Н. Ворожцов³
Флюоресцентная диагностика опухолей органа зрения различной локализации с применением 5-аминолевулиновой кислоты

¹ ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва

² ЦЕНИ ИОФ РАН, Москва

³ ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

Введение. Опухоли век и конъюнктивы составляют 33 % среди всей офтальмоонкопатологии. Подавляющее большинство их представлено доброкачественными опухолями эпидермального и эпителиального генеза. Частота злокачественных новообразований достигает 30 %. Полиморфность их проявлений, сходство симптомокомплекса с клиникой воспалительных заболеваний затрудняют дифференциальную диагностику (ДД). Существенным подспорьем в их диагностике служат компьютерная термография и радиоизотопные методы исследования. Возможности флюоресцентной диагностики (ФД) с применением 5-аминолевулиновой кислоты при опухолях этой локализации не изучены.

Цель исследования. Изучить возможности ФД с применением 5-аминолевулиновой кислоты в ДД доброкачественных и злокачественных опухолей век и конъюнктивы.

Материал и методы. ФД с 5-аминолевулиновой кислотой (аласенс производства ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва) применяли у 35 пациентов с опухолями различного генеза и локализации. Использовали два метода количественного анализа аутофлюоресценции: спектроскопию и поточечный анализ гистограмм фотофлюоресцентного изображения. Спектроскопию выполняли на лазерной электронно-спектральной установке ЛЭСА-01-БИОСПЕК (гелий-неоновый лазер, $\lambda=632,8$ нм). Фотофлюоресцентное изображение получали с помощью видеофлюоресцентного устройства УФФ-675-01-БИОСПЕК (длина волны 675 нм, пропускание фильтров 425–570 нм; плотность мощности 40 мВт/см²). Интенсивность свечения сопоставляли с результатами гистоморфологических исследований.

Результаты. Независимо от типа опухоли пик флюоресценции протопорфирина IX (ППИХ) выявлялся к концу 2-го часа после приема аласенса. При этом злокачественные образования характеризовались достоверно большей амплитудой накопления ($p<0,05$): их интенсивность свечения в 6–10 раз превышала аналогичные показатели при доброкачественных опухолях. Воспалительные процессы не сопровождалась усилением выработки ППИХ под воздействием приема аласенса.

Выводы. Таким образом, предварительные результаты свидетельствуют о возможностях применения ФД с аласенсом в дифференциальной диагностике опухолей органа зрения.

В. Г. Лихванцева¹, А. Ю. Федотов¹, Л. М. Когония¹, С. И. Харлап¹, Т. А. Ручко¹, О. Ю. Мерзлякова¹, Э. Э. Казарян¹, М. В. Будзинская¹, С. А. Шевчик¹, В. Б. Лощенов², С. Г. Кузьмин³, Г. Н. Ворожцов³

Фотодинамическая терапия в комбинированном лечении внутриглазных метастазов рака грудной железы

¹ ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва

² ЦЕНИ ИОФ РАН, Москва

³ ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

Введение. Появление в арсенале онкологов новых эффективных химиотерапевтических препаратов привело к увеличению продолжительности жизни пациентов с метастазами рака в различных органах и системы. А вместе с удлинением их жизни чаще стали развиваться метастазы в тех органах, где их выявление ранее считалось редкостью. Среди пациентов с различными типами рака только у 10 % развиваются метастазы в глаз, при этом 37 % составляют метастазы рака молочной железы. В их лечении используют дистанци-

онную гамма- (ДГТ) и химиотерапию (ХТ). Высокая частота осложнений, связанных с ДГТ, заставляет скептически относиться к этому методу и обосновывает поиск новых методов лечения.

Цель исследования. Дать оценку возможности применения фотодинамической терапии с использованием фотосенса в комбинированном лечении метастазов рака грудной железы в хориоидею (МРХ).

Материал и методы. Наблюдали 4 пациентов с МРХ. В 2 случаях были поражены оба глаза (всего 6 глаз). В диагностике использовали традиционные обязательные (визометрия, периметрия и тонометрия) и специальные офтальмологические методы исследования (флюоресцентная ангиография глазного дна, современные ультразвуковые и лазерные методы исследования глаза). ФДТ проводили лазерным излучением с длиной волны 675 нм. В качестве фотосенсибилизатора (ФС) использовали фотосенс из расчета 0,2 мг/кг массы тела больного. ФС вводили внутривенно. Облучали в одном режиме (плотность мощности — 250 мВт/см², экспозиция — 5 мин). Сеансы облучения проводили ежедневно, доводя их количество до 10. В качестве химиотерапевтического агента применяли гемзар, который вводили из расчета 1000 мг/м². Сроки наблюдения за пациентами составили от 3 мес. до 1,5 лет.

Результаты. В 4 глазах наблюдали положительную динамику с полной регрессией МРХ до формирования плоского хориоретинального рубца и восстановлением зрения с 0,1 до 0,5 и в 1 случае — до 0,7. Еще в 1 случае имела место неполная регрессия МРХ с 5,5 мм до 1,5 мм при общей ремиссии неопластического процесса. Экссудативная отслойка сетчатки и присутствие остаточной опухоли служили причиной низкого функционального результата у этой пациентки. У другого пациента с двусторонними метастазами на глазу с грубыми изменениями в сетчатке высоких функциональных результатов достичь не удалось.

Выводы. ФДТ в комбинации с ХТ эффективна при метастазах рака в хориоидею. Комбинированный метод лечения позволяет достичь высоких зрительных функций, что существенно повышает качество жизни этого тяжелого контингента больных.

*В. Г. Лихванцева¹, О. Ю. Мерзлякова¹, С. А. Шевчик¹,
В. Б. Лощенов², С. Г. Кузьмин³, Г. Н. Ворожцов³*

Фотодинамическая терапия в комбинированном лечении увеальных меланом

¹ ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва

² ЦЕНИ ИОФ РАН, Москва

³ ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

Введение. Эффективность современных органосохраняющих методов лечения увеальных меланом (УМ) зависит от ряда факторов. Степень пигментации и чувствительность опухоли к тому или иному виду лучевой терапии играют немаловажную роль. Известно, что основными механизмами цитодеструкции опухоли при термотерапии (ТТ) являются гипертермия опухоли в диапазоне 42–65 °С и объемная коагуляция новообразованных сосудов в ее строме. Биологическими механизмами фотодинамической терапии (ФДТ) признаны антиангиогенные и иммунные реакции. Совмещение механизмов цитодеструкции ТТ и ФДТ может потенцировать лечебный эффект комбинации методов.

Цель исследования. Изучить возможности ФДТ в комбинированном лечении увеальных меланом.

Материал и методы. ФДТ применяли в комбинации с ТТ на завершающем этапе лечения 5 пациентов с УМ (Т3N0M0) высотой от 5 до 7 мм. В качестве фотосенсибилизатора использовали отечественный препарат фталоцианинового ряда фотосенс, который вводили внутривенно из расчета 0,2 мг/мл массы тела больного. ФДТ проводили на отечественной лазерной установке с длиной волны 675 нм, адаптированной к щелевой лампе. Использовали плотность мощности 250 Дж/см², экспозицию 5 мин, количество сеансов довели до 10. Термотерапию проводили транспупиллярно на диодном инфракрасном лазере с длиной волны 810 нм производства IRIDEX (США). Мощность лазерного воздействия варьировала от 250 до 1600 мВт и зависела от высоты опухоли, характера пигментации, близости к центральному отделу сетчатки. Экспозиция была величиной постоянной и составляла 60 с. Диаметр светового пятна лучевого воздействия в фокальной плоскости колебался от 600 до 3000 мкм, количество сеансов облучения — от 1 до 3.

Результаты. Во всех случаях 3 сеанса ТТ вызвали неполную регрессию опухоли. Толщина остаточного узла составляла до 1,5 мм. Сформировавшаяся плотная фиброзная ткань на его поверхности служила препятствием для последующих сеансов ТТ. ФДТ с фотосенсом снимала феномен лучевой резистентности и вносила дополнительный лечебный компонент. В последующие 2 мес. после ФДТ отмечали разрушение остаточной опухоли и формирование плоского хориоретинального рубца.

Выводы. ФДТ в комбинации с ТТ может существенно повысить эффективность и расширить возможности органосохраняющего лечения и показания к его применению при увеальных меланом.

О. В. Макаров, А. З. Хашукоева, О. Б. Бороненкова
Фотодитазин в лечении гиперпластических процессов эндометрия

Российский государственный медицинский университет, Москва

Введение. В настоящее время одним из важных и стратегических направлений современной гинекологии является лечение гиперпластических процессов эндометрия, которые могут играть ключевую роль с точки зрения возможности развития злокачественной трансформации. Фотодинамическая терапия (ФДТ) — это метод лечения, основанный на селективном разрушении патологических клеток посредством взаимодействия накапливающегося в клетках фотосенсибилизатора (ФС) и поглощаемого им света.

Цель исследования. Изучение возможностей метода ФДТ при гиперпластических процессах эндометрия (ГПЭ).

Материал и методы. Фотодинамическая деструкция (ФД) эндометрия была выполнена 15 пациенткам в пери- и постменопаузе с морфологически верифицированным диагнозом железисто-кистозной гиперплазии эндометрия. Предоперационное обследование пациенток было стандартно и включало ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопию с раздельным диагностическим выскабливанием и последующим гистологическим исследованием полученного материала, а также обследование шейки матки. На первом этапе ФДТ пациентке внутриматочно и/или внутривенно вводили раствор ФС фотодитазин (ООО «Вета-гранд»). Через 2–4 ч на слизистую оболочку матки воздействовали лазером на аппарате «Аткус-2» с длиной волны 662 нм, мощностью на выходе 1 Вт при помощи внутриматочного баллонного световода. Плотность энергии при проведении процедуры составила 300 Дж/см², а удельная мощность 0,3 Вт/см².

Результаты. С целью оценки ФДТ эндометрия проводилось ультразвуковое исследование срединных маточных структур через 1, 3 и 6 мес. после процедуры. Показатель М-эха через 3 и 6 мес. во всех наблюдениях составлял от 2 до 4 мм. Нами планируется оценка отдаленных результатов лечения через 12 мес. после операции.

Выводы. Безусловно, отсутствие отдаленных результатов исследования в настоящий момент не позволяет нам сформулировать окончательные выводы относительно долгосрочного и полного удаления эндометрия методом ФДТ с использованием ФС фотодитазин. Кроме того, требуют уточнения оптимальные условия расчетной дозы световой энергии, длительности и характера облучения для эффективной деструкции эндометрия. Однако дальнейшие исследования в этом направлении представляются нам перспективными и позволяют определить место ФДТ в лечении больных ГПЭ.

*Г. А. Меерович, Т. А. Савельева, В. Г. Жуков, В. П. Журавлева,
Л. М. Коган, К. Г. Линьков, В. А. Сердобов, А. И. Волкова,
В. Б. Лощенов*

Источники света для ФДТ на основе мощных светодиодов

ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

Введение. Широкое распространение метода ФДТ делает актуальной задачу создания эффективных и недорогих источников света для облучения патологических очагов. Эти источники должны удовлетворять следующим требованиям:

— излучать в определенных спектральных диапазонах красной или ближней инфракрасной области спектра квазимонохроматический свет;

— иметь плотность мощности в области светового пятна в пределах 50–250 мВт/см², оптимальную для большинства фотосенсибилизаторов;

— быть недорогими, компактными и простыми в эксплуатации. Современные светодиоды позволяют создать источники для ФДТ, удовлетворяющие этим требованиям.

Результаты. Нами разработан параметрический ряд светодиодных источников, включающий:

- светодиод, смонтированный на мощном хладопроводе;
- систему охлаждения, включающую радиатор и вентилятор;
- светосильную ахроматическую широкоугольную оптическую систему, обеспечивающую максимальный сбор излучения светодиодов на облучаемой поверхности;
- блоки питания светодиода и вентилятора.

Созданы источники света с излучением в спектральных диапазонах 630 ± 10 , 660 ± 10 , 690 ± 10 , 730 ± 10 и 800 ± 10 нм, соответствующих рабочим областям фотосенсибилизаторов, разрешенных в России или проходящих испытания (аласенс, фотогем, хлориновые производные, фотосенс, фталосенс, новые длинноволновые производные фталоцианинов и бактериохлоринов).

Разработанные приборы обеспечивают плотность мощности до 250 мВт/см^2 в световом пятне диаметром около 1 см, сфокусированном на расстоянии 15–25 мм от излучателя. Они имеют невысокую стоимость, долговечны и просты в эксплуатации и могут найти широкое применение как для фотодинамической терапии поверхностных патологических очагов, так и для других фототерапевтических процедур.

*И. Г. Меерович¹, М. А. Грин², Г. А. Меерович³,
А. Г. Ципровский², О. А. Масс², С. В. Барканова⁴,
Л. М. Борисова¹, Н. А. Оборотова¹, В. Б. Лоценков²,
А. Ю. Барышников¹, А. Ф. Миронов²*

Новые фотосенсибилизаторы на основе производных бактериохлорофилла: предварительные результаты изучения *in vivo*

¹ ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

² МИТХТ им. М. В. Ломоносова, Москва

³ ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

⁴ ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Введение. Производные бактериохлорофилла являются перспективным классом соединений для создания фотосенсибилизаторов (ФС) ближнего инфракрасного диапазона. Такие ФС могут обеспечить эффективную фотодинамическую терапию (ФДТ) опухолей, в т. ч. расположенных достаточно глубоко под кожей или слизистой.

Материал и методы. В настоящей работе проводились исследования *in vivo* соединений: тринатриевой соли бактериохлорина-р (Bchlр), метилового эфира оксима N-метоксициклоимида бактериохлорина-р (CIBchlр-NOMe) и тринатриевой соли 3-деацетил-3-(α -гидроксиэтил)бактериохлорина-р (Bchlр-ОН). Исследования проводились на мышцах F_1 с опухолью Эрлиха, перевитой внутримышечно в область голени. Все ФС вводились внутривенно. Bchlр и Bchlр-ОН вводились в водном растворе в дозе 20 и 5 мг/кг массы тела соответственно. CIBchlр-NOMe из-за его ограниченной растворимости в воде вводился в виде кремоформной дисперсии в дозе 1 мг/кг массы тела. Для исследования *in vivo* поглощения и флюоресценции ФС в тканях, а также оценки в динамике уровня и селективности накопления ФС в опухоли по отношению к коже использовались методы спектроскопии диффузного рассеяния и/или флюоресценции с использованием волоконного спектроанализатора «ЛЭСА». При ФДТ опухоли использовали излучение с плотностью мощности до 300 мВт/см^2 , длина волны которого соответствовала спектральному максимуму поглощения введенного ФС. Эффективность воздействия оценивалась по торможению роста опухолей у мышей в группе после ФДТ по отношению к контрольной группе.

Результаты. Исследуемые ФС обладают значительным поглощением в области минимального собственного поглощения биологической ткани. Спектральные максимумы поглощения Bchlр, CIBchlр-NOMe и Bchlр-ОН находятся в области 765, 795 и 735 нм соответственно. Все ФС быстро (менее чем за 2 сут) выводятся из кожи. Максимальная селективность накопления Bchlр в опухоли составляет 3–4, Bchlр-ОН — 2–3. CIBchlр-NOMe обладает низкой селективностью. ФДТ проводилась через 10–50 мин после введения, когда накопление ФС в опухоли было близко к максимальному. Торможение роста опухоли при ФДТ с CIBchlр-NOMe и Bchlр пре-

вышало 70 и 80 % соответственно, при ФДТ с Bchlр-ОН — достигало 60 %.

Выводы. Таким образом, предварительные исследования показывают достаточно высокую эффективность изучаемых соединений и потенциальную возможность использовать их в качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ.

*А. В. Рябова¹, В. И. Конов¹, Л. В. Адамян², Л. А. Беляева²,
В. Б. Лоценков²*

Разработка системы флюоресцентной визуализации клеточных культур

¹ ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

² Кафедры репродуктивной медицины и хирургии ФПДО МГМСУ, Москва

Цель исследования. Метод флюоресцентной диагностики активно применяется в онкологии на макро- и микроуровнях. В последнее время ведущие лаборатории, занимающиеся клеточными технологиями, столкнулись с проблемой туморогенного перерождения стволовых клеток в культурах. Для решения задачи флюоресцентной диагностики на клеточном уровне было решено использовать факт накопления фотосенсибилизаторов опухолевыми клетками, а для очистки культуры от злокачественных клеток — прецизионное облучение.

Результаты. Разработан и изготовлен макет монохроматического источника света на основе металлоалюидной лампы для проведения ФДТ и одновременного проведения диагностики в естественном и флюоресцентном свете. В ходе технических испытаний показано, что изготовленный образец монохроматического источника света является надежным устройством, пригодным для проведения ФДТ и ФД клеточных культур с поверхностью диаметром до 35 мм с контролируемой дозой облучения.

Разработан и изготовлен анализатор флюоресцентного изображения света для одновременного наблюдения и регистрации флюоресцентных и цветных изображений. В ходе технических испытаний показано, что изготовленный анализатор флюоресцентных изображений является надежным устройством, пригодным для проведения ФД клеточных культур в естественном и флюоресцентном свете. Разработана оптическая система регистрации флюоресцентного изображения с кратностью увеличения от 1 до 100.

Разработан метод регистрации и анализа флюоресцентных изображений модельных растворов. Определена чувствительность системы путем проведения испытаний на тест-образцах ППХ различной концентрации. Система позволяет получить хорошо различимую флюоресценцию образца вплоть до концентрации ППХ 0,1 мг/л, а в тонких слоях — 0,5 мг/л.

Выводы. На данном этапе разработан макет системы флюоресцентной визуализации клеточных культур, включающий в себя монохроматический источник света, микроскоп и систему регистрации и анализа флюоресцентных изображений.

*А. В. Рябова¹, А. А. Стратонников¹, Г. А. Меерович¹,
В. Б. Лоценков¹, С. В. Барканова², Е. А. Лукьянец²,
В. М. Негримовский²*

Особенности фармакокинетики гидрофобных фотосенсибилизаторов

¹ ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

² ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Цель исследования. В последнее время возрос интерес к использованию водонерастворимых фотосенсибилизаторов в фотодинамической терапии (ФДТ). Несмотря на то что гидрофильные вещества более удобны с точки зрения приготовления растворов для внутривенного введения, их способность транспорта сквозь клеточные мембраны к жизненно важным мишеням клетки довольно ограничена. Напротив, для липофильных веществ преодоление мембраны клетки может быть существенно облегчено, и они смогут достигнуть необходимых мишеней, в частности ядра, митохондрий, лизосом и др. Однако для внутривенного введения липофильных соединений их необходимо предварительно солюбилизовать с использованием поверхностно активных веществ (ПАВ). В данной работе рассматривается фармакокинетика некоторых алкил-фталоцианинов, солюбилизованных в растворе проксанола.

Материал и методы. Проводились исследования динамики накопления 3 безметалльных бутилфталоцианинов, растворенных в 4% растворе проксанола, у мышей с привитыми опухолями после внутривенного введения. Были получены спектры поглощения и флюоресценции *in vivo* для оценки изменения концентрации препаратов в опухоли и нормальной мышечной ткани с течением времени после введения. Мы использовали дозы от 2 до 10 мг/кг и снимали спектры поглощения через разные промежутки времени в течение 15 дней после введения. Также часть животных была облучена лазером с длиной волны, равной 680 нм, и плотностью мощности 150 мВт/см² в течение 15 мин.

Результаты. Безметалльный тетра-3-трет. бутилфталоцианин показал наилучшие результаты.

Установлено, что для этого препарата максимум накопления в опухоли достигается через сутки, когда достаточно препарата и в нормальной ткани (контраст 4 по поглощению). На 2-е сутки концентрация в опухоли падает на 30–50 %, при этом препарат значительно выводится из нормальных тканей (контраст по поглощению 10 для дозы 10 мг/кг и 20 для дозы 2 мг/кг). Далее в опухоли препарат фиксируется (не выводится), т. е. абсолютная экстинкция препарата в опухоли очень высока и визуально опухоли определяются как зеленые.

Динамика контрастности препарата по флюоресценции проходит через резкий максимум через сутки после введения и отлична от динамики контрастности препарата по поглощению. Флюоресценция препарата долго наблюдается в нормальных тканях и печени. В нормальной ткани интенсивность флюоресценции препарата через 15 сут и 2 сут отличается всего в 1,5–2 раза.

При облучении опухолей с препаратом наблюдалась резкая дезоксигенация.

Выводы. Динамика накопления безметалльного тетра-3-трет. бутилфталоцианина в опухолях, возможно, лучшая из динамик накопления для существующих в настоящий момент водонерастворимых фотосенсибилизаторов.

*А. В. Рябова¹, А. А. Стратонников¹, В. Б. Лощенов¹,
Е. А. Лукьянец²*

Использование сенсорной системы «N-ацетил-3,7-дигидроксифеноксазин — пероксидаза» для детектирования молекул синглетного кислорода и перекиси водорода, образовавшихся при фотодинамической терапии

¹ ЦЕНИ ИОФ им. А.М. Прохорова РАН, Москва

² ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Цель исследования. Изучение процессов тушения молекул синглетного кислорода и образования перекиси водорода при фотодинамической терапии в биологических средах.

Материал и методы. N-ацетил-3,7-дигидроксифеноксазин (A-Phe) (коммерческое название Amplex RedTM, Molecular Probes) широко используется в биохимических исследованиях для детекции перекиси водорода. В присутствии пероксидазы он реагирует с перекисью водорода, образуя сильно флюоресцирующий краситель — резорурфин.

В нашей работе мы применяли A-Phe для изучения образования синглетного кислорода и перекиси водорода, образующихся в процессе фотодинамической терапии (ФДТ) с сульфенированным фталоцианином алюминия (ФотосенсTM, «НИОПИК») в качестве фотосенсибилизатора (ФС).

Результаты. Было обнаружено, что A-Phe способен переходить в резорурфин вследствие реакций с участием синглетного кислорода во время облучения с ФС даже в отсутствие пероксидазы. Насколько нам известно, это первое экспериментальное наблюдение преобразования вещества из нефлюоресцирующей во флюоресцирующую форму под воздействием синглетного кислорода. При облучении флюоресцирующая форма (резорурфин) в процессе фотоблинка разрушается и флюоресценция пропадает. Динамическая кривая флюоресценции с момента включения облучения ведет себя так: сначала быстро растет от нулевого значения, проходит через ярко выраженный максимум, а затем падает вследствие фотоблинка. Более того, разгорание флюоресценции и динамика фотоблинка различаются в D₂O и в H₂O, что подтверждает участие в этих реакциях синглетного кислорода.

Мы также установили, что в присутствии пероксидазы во время ФДТ образование резорурфина идет еще быстрее, что может свидетельствовать о накоплении перекиси водорода. Вовлечение перекиси водорода в ФДТ может оказаться важным для механизмов разрушения и запуска апоптоза. Wentworth и соавт. наблюдали преобразование синглетного кислорода в перекись водорода в воде, катализируемое антителами, и предположили, что этот механизм может быть существенным в реакциях иммунного ответа. Мы также изучали образование перекиси водорода во время лазерного облучения в присутствии белков плазмы и ФС.

Выводы. Количество синглетного кислорода, генерируемое фотосенсибилизаторами (фотосенс, хлорин-Е6, фталоцианины цинка) при облучении достаточно точно определяется по измерению интенсивности флюоресценции резорурфина в системе «D₂O + пероксидаза + A-Phe».

Количественная оценка концентрации перекиси водорода по интенсивности флюоресценции резорурфина в системе «ФС + пероксидаза + A-Phe» показывает ее повышение при увеличении дозы облучения и уменьшение при переходе от альбумина к плазме, к D₂O и к H₂O соответственно.

По скорости образования резорурфина и по кинетике его фотоблинка можно количественно определять характер иммунологических реакций.

*В. В. Соколов¹, В. И. Чиссов¹, Е. В. Филоненко¹,
Р. И. Якубовская¹, Е. А. Лукьянец², Г. Н. Ворожцов²,
С. Г. Кузьмин²*

Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия с препаратами фотосенс и аласенс: опыт 11-летнего клинического применения

¹ МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва

² ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

В МНИОИ им. П. А. Герцена методы флюоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ) разрабатываются с 1980 г. Совместно с ГНЦ «НИОПИК» были синтезированы, прошли предклинические и клинические испытания препараты фотосенс и аласенс. Фотосенс — фотосенсибилизатор класса фталоцианинов был применен впервые в мире в клинической практике в России в 1994 г. С 1999 г. в клинике используется препарат аласенс, синтезированный на основе 5-аминолевулиновой кислоты, предшественника эндогенного фотосенсибилизатора протопорфирина IX (ППИХ).

С 1994 по 2005 г. проведено 3740 сеансов ФД и ФДТ у 1003 пациентов для диагностики и лечения опухолей кожи, головы и шеи, верхних дыхательных путей, плевры, пищеварительного тракта, мочеполовой системы и др. ФД с препаратом аласенс выполнена 335 пациентам. Во время сеансов диагностики мы применяем сочетание визуального определения очагов повышенного накопления аласенс-индуцированного ППИХ с использованием флюоресцентных эндоскопов фирмы «Карл Шторц» (Германия) и количественной оценки уровня накопления ППИХ путем локальной флюоресцентной спектроскопии с использованием диагностической установки «Спектр» фирмы «Спектр-Кластер» (Россия). В результате проведенного обследования скрытые очаги первично-множественного синхронного рака кожи диагностированы у 20 % больных, рака мочевого пузыря — у 5 %, рака шейки матки и эндометрия — у 8 %, рака верхних дыхательных путей — у 12 %. ФДТ в сочетании с ФД с фотосенсибилизатором фотосенс проведена 448 больным, с препаратом аласенс — 220. Для ФДТ мы используем отечественные диодные, газовые и твердотельные лазерные установки. ФДТ с препаратом аласенс применяли у больных с дисплазией и преинвазивным раком. ФДТ с фотосенсом проводили в группе пациентов с начальным раком с целью полного удаления опухоли и в группе больных с метастатическими, в т. ч. стенозирующими, опухолями, а также у больных с метастатическими и рецидивными опухолями, резистентными к химиолучевой терапии с паллиативной целью для реканализации, уменьшения объема новообразования, гемостаза, уменьшения болевого синдрома.

Для повышения эффективности лечения в институте разработаны методики пролонгированной ФДТ (многокурсовая ФДТ и ФДТ с фракционированием дозы света) и сочетанного или последовательного применения ФДТ с лучевой, химиотерапией или лазер-

но-индуцированной гипертермией. Наилучшие результаты лечения получены в группе больных поверхностными формами рака: в зависимости от локализации число полных регрессий опухолей составило от 67 до 95 %. Применение ФДТ инкурабельным по местной распространенности опухоли больным позволило в большинстве случаев добиться улучшения качества их жизни и стабилизации опухолевого процесса.

О. И. Трушина, Е. Г. Новикова, В. В. Соколов, Е. В. Филоненко
Фотодинамическая терапия в лечении генитальной папилломавирусной инфекции

МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва

Цель исследования. Разработка методики фотодинамической терапии (ФДТ) вирусассоциированных заболеваний в гинекологии.

Материал и методы. Фотодинамическая терапия шейки матки выполнена 35 больным в возрасте от 23 до 65 лет, $2/3$ из которых находились в репродуктивном возрасте. При комплексном обследовании с применением методов клинической, эндоскопической, флюоресцентной и морфологической диагностики у 22 (62,9 %) из 35 больных диагностирована дисплазия тяжелой степени (1-я группа), у 9 (5,7 %) — дисплазия умеренной степени (2-я группа) и в 4 случаях (5,7 %) — дисплазия легкой степени и фоновые заболевания шейки матки (3-я группа). При вирусологическом исследовании женщин всех групп методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) у 31 (88,5 %) из них установлено инфицирование онкогенными генотипами высокого риска (16/18) папилломавирусной инфекции (ПВИ): в 1-й группе — у 20 (90,9 %) пациенток, во 2-й группе — у 7 (77,8 %) и в 3-й — у 4 (100 %).

Сеанс ФДТ проводился через 24 ч после внутривенного введения фотосенсибилизатора фотосенс в дозе 0,3 мг/кг массы тела больно-го. В качестве источника оптического излучения для проведения ФДТ использовали лазерную установку «Кристалл» (длина волны 670 нм). Плотность энергии лазерного излучения составляла 100–300 Дж/см².

Лазерное облучение цервикального канала осуществлялось с использованием кварцевого световода с цилиндрическим диффузором длиной 3 см, влагалищной порции шейки матки — микролинзой с диаметром светового пятна 1–2 см в виде полипозиционного облучения патологически измененных участков слизистой оболочки.

Результаты. К настоящему времени во всех клинических наблюдениях через 1–3–6 мес. после лечения проведено вирусологическое обследование методом ПЦР. Полная эрадикация ПВИ установлена у 27 (88 %) больных: в 1-й группе у 18 (90 %) пациенток, во 2-й — у 5 (77,8 %), в 3-й — во всех случаях (100 %).

Выводы. Полученные результаты эффективности ФДТ с использованием фотосенсибилизатора фотосенс свидетельствуют о перспективности его дальнейшего изучения и целесообразности продолжения клинических испытаний в рамках противовирусного лечения.

А. З. Хащукоева, С. А. Рехвиашвили, О. Б. Бороненкова
Использование фотодитазина в лечении патологии шейки матки

Российский государственный медицинский университет, Москва

Цель исследования. Проблема лечения фоновых и предраковых заболеваний шейки матки остается актуальной ввиду высоких показателей заболеваемости у пациенток репродуктивного периода. Фотодинамическая терапия (ФДТ) — это метод, основанный на селективном накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в патологической ткани с последующим развитием в ней фотохимических реакций под воздействием лазерного облучения. В настоящее время ФДТ широко используется в терапии диспластических процессов шейки матки, а также рака шейки матки, однако эффективность фотодинамической деструкции (ФД) в лечении фоновых и предраковых заболеваний шейки матки изучена недостаточно.

Материал и методы. ФДТ была проведена 72 больным с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки в возрасте от 19 до 67 лет. Из них у 37 (51,38 %) пациенток диагностирована эктопия шейки матки, у 14 (19,4 %) — лейкоплакия, у 7 (9,72 %) — эндометриоз, у 9 (12,5 %) — дисплазия шейки матки I–II степени и у 5 (6,9 %) — эктропион на фоне незначительной рубцовой деформации шейки матки. Лазерное воздействие осуществлялось через 2 ч пос-

ле местной аппликации ФС на экзоцервикс или внутривенного введения ФС фотодитазин (ООО «Вета-гранд») при помощи полупроводникового лазерного аппарата «Аткус-2». Длина волны при этом составила 662 нм, при плотности энергии 80–250 Дж/см², мощности лазерного излучения на выходе 1 Вт и времени воздействия от 8 до 20 мин.

Результаты. При наблюдении за репаративными процессами было отмечено начало краевой эпителизации на 5–8-е сутки, в то время, как полная эпителизация выявлена через 4–8 нед. Эффективность методики оценивалась на основании данных кольпоскопии и цитологического исследования и составила, по нашим наблюдениям, 88,9 %. Побочные эффекты наблюдались у 11,1 % больных в послеоперационном периоде и заключались в неполной эпителизации шейки матки.

Выводы. Таким образом, изученные наблюдения свидетельствуют, что данный метод лечения с использованием ФС фотодитазин является высокоэффективным способом терапии фоновых и предраковых заболеваний шейки матки, позволяющим селективно воздействовать на патологический очаг, не вызывая рубцовых изменений шейки матки и сохраняя ее анатомическую целостность. Следовательно, это средство выбора при лечении патологии шейки матки, предпочтительное у пациенток репродуктивного возраста.

Д. М. Язудаев¹, А. Е. Сорокатый¹, А. В. Гейниц²
Комбинированная фотодинамическая терапия поверхностного рака мочевого пузыря

¹ *Городская клиническая больница № 51, Москва*

² *ФГУ Государственный научный центр лазерной медицины Росздрава, Москва*

Рак мочевого пузыря — одно из самых распространенных (после рака предстательной железы) онкологических заболеваний в урологии.

Одним из современных малоинвазивных методов лечения данного заболевания является фотодинамическая терапия (ФДТ). Рак мочевого пузыря необходимо рассматривать как заболевание всей слизистой оболочки, а не ее локальное поражение. Для улучшения результатов лечения нами было предложено проведение комбинированной ФДТ.

Суть данного способа заключается не только в фотодинамическом воздействии на саму опухоль, но и в последующем лазерном облучении всей слизистой оболочки мочевого пузыря с помощью светового волокна с цилиндрическим диффузором, введенным в силиконовом баллоне.

В настоящее время мы можем привести обработанные данные 13 пациентов, которым была произведена ФДТ комбинированным способом при поверхностном раке мочевого пузыря; срок наблюдения — 3 года. Средний возраст пациентов составил 68,2 лет, средний койко-день — 9 дней. При контрольной цистоскопии после проведения ФДТ через неделю и месяц у всех пациентов мы отметили фотодеструкцию опухоли и отсутствие рецидивов в течение 1-го года наблюдения. 3-летняя безрецидивная выживаемость составила 84,7 %. Таким образом, ФДТ поверхностного рака мочевого пузыря является перспективным методом его лечения и профилактики рецидивов.

И. В. Ярцева, Л. Г. Гатинская, Н. А. Дмитричева, Н. А. Машалова, Б. С. Кикоть

Количественное определение тиосенса

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

Тиосенс — тетра-3-фенилтиофталацианин алюминия гидроксида [3-(PhS)4-PcAlOH] — новое комплексное соединение алюминия класса тиофталацианинов, полученное в ФГУП ГНЦ «НИОПИК» и предназначенное для фотодинамической терапии опухолей.

Одной из главных задач стандартизации новой субстанции является выбор метода количественного определения содержания основного действующего вещества. Наиболее оптимальным вариантом прямого количественного определения тиосенса является дающий надежные результаты метод, основанный на определении серы сожжением образца в токе кислорода по Шеннигеру в соответствии с ГФ XI. Следует, однако, отметить, что в случае тиосенса этот метод неспецифичен в отношении исходного вещества — тетра-3-фенилтиофталацианина алюминия хлорида, т. к. оба соединения имеют очень близкие молярные массы и содержат в процентном отно-

шении практически одинаковое количество серы (12,94 и 12,70 % соответственно).

Для контроля за содержанием в тиосенсе тетра-3-фенилтиофталацианина алюминия хлорида мы предложили дополнительно определять содержание хлора в исследуемых образцах тиосенса также сожжением в токе кислорода. Определение хлора в искусственно составленных модельных смесях, содержащих оба вещества в известных и разных соотношениях, показало, что в образцах серий тиосенса, где хлор определялся в количествах выше 0,5 %, со-

держание тетра-3-фенилтиофталацианина алюминия хлорида составляло более 5,0 %.

Выводы. В результате проделанной работы было четко показано, что содержание в тиосенсе 0,5 % хлора является критическим, а также то, что этот параметр (содержание хлора) может служить критерием чистоты препарата.

Работа поддержана Правительством Москвы. Авторы благодарят Г. Н. Ворожцова, Е. А. Лукьянца и В. М. Деркачеву за сотрудничество и предоставленные для исследования образцы тиосенса.

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Н. В. Андропова¹, Е. М. Трещалина¹, Д. В. Филоненко¹,
А. Л. Николаев², В. Е. Божевольнов², И. М. Трещалин¹,
О. Л. Каляя³, Г. Н. Ворожцов³

Влияние ультразвука и сонодинамической терапии на метастазирование

¹ ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

² МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

³ ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Введение. Известно, что под влиянием локального ультразвукового воздействия (УЗ) происходит усиление цитотоксичности различных противоопухолевых агентов (сонодинамическое действие, СДТ) и химических веществ (соносенсибилизация). Нами показано существенное повреждение опухоли и ее сосудистого русла при СДТ с использованием адриабластина (Адр), карбоплатина (Карбо) и соносенсибилизатора терафала (ТФ), что не исключает усиления гематогенного метастазирования.

Цель исследования. Изучение способности к метастазированию меланомы В16 под влиянием УЗ и СДТ с использованием Адр, Карбо и ТФ.

Материал и методы. Мышам ($n=8-10$) BDF₁ с развившейся внутримышечно меланомой В16 площадью более 1 см² проводили терапию УЗ, Адр+Карбо, ТФ+УЗ и Адр+Карбо+ТФ+УЗ. УЗ на установку «УСДТ-м» выполняли в течение 10 мин с 2 полей под водой при температуре 36 °С, интенсивность на 1-е поле — 0,88 МГц (1,0 Вт/см²), на 2-е поле — 2,64 МГц (2,0 Вт/см²). Препараты вводили однократно до УЗ в разные сроки: Карбо и ТФ — в дозе 30 мг/кг в/в, Адр — в дозе 4 мг/кг в/в. Группа контроля — мыши с В16 без специфического воздействия. Лечение проводили на 7-е сутки после перевивки, на следующий день опухоли удаляли. В момент гибели первой мыши в контроле от метастазов всех мышей умерщвляли, выделяли и взвешивали легкие, после чего рассчитывали соотношение средней массы легких ($m_{\text{ср}}$) леченных и здоровых мышей (легочный коэффициент, ЛК). Показателем метастазирования был ЛК в группе контроля. Данные обрабатывали статистически, используя доверительные интервалы для средних сравниваемых величин по стандартному методу Стьюдента в модификации Р. Б. Стрелкова.

Результаты. У здоровых мышей $m_{\text{ср}}$ составляла 172 мг, в группе контроля на 27 сут метастазирование в легкие — 100 %, $m_{\text{ср}}=923$ мг, ЛК=5,4. В группе УЗ метастазирование 100 %, $m_{\text{ср}}=729$ мг, ЛК=4,2. В группе Адр+Карбо метастазирование 100 %, $m_{\text{ср}}=287$ мг ($p<0,05$), ЛК=1,7. В группе ТФ+УЗ метастазирование 100 %, $m_{\text{ср}}=783$ мг, ЛК=4,6. В группе Адр+Карбо+ТФ+УЗ метастазирование 100 %, $m_{\text{ср}}=196$ мг ($p<0,05$), ЛК=1,1. Побочные эффекты при УЗ и СДТ проявлялись слабым кратковременным отеком лапки без гибели мышей.

Выводы. УЗ на установке «УСДТ-м» и СДТ с адриабластинном, карбоплатином и терафалом не вызывает стимуляции метастазирования в/м меланомы В16 в легкие (первичный узел удален) и хорошо переносится животными. В результате лечения масса легких с метастазами при комбинированной химиотерапии или СДТ с использованием терафала достоверно уменьшалась в 3,2–4,7 раза.

Г. И. Борисов, Р. И. Кондратенко

Полуэмпирическая оценка характеристик терапевтических пучков нейтронов для ¹⁰B-НЗТ

ФГУ РНЦ «Курчатовский институт», Москва

Для установления зависимостей между физическими характеристиками пучков нейтронов для ¹⁰B-НЗТ ядерными и атомными данными и критериями, на основании которых проводятся расчеты, предлагается такая интегральная характеристика пространственных распределений потоков медленных нейтронов в облучаемом объекте, как эффективная масса. В ней происходит столько же ядерных реакций, сколько во всем облучаемом объекте, при этом число реакций в единичной массе постоянно и равно максимальному значению в облучаемом объекте. Эффективная масса — это экспериментально измеряемая величина.

Таблица 1

Фильтр	Cd	Fe+Al+S	¹⁰ B
Эффективная масса, $m_{\text{эфф. мин.}}$, г	240	380	460
$\Phi_{\text{теп. поверхности}}/\Phi_{\text{теп. макс.}}$ отн. ед.	0,43	0,27	0,31

Средняя энергия, создаваемая одним нейтроном E_n , вычисляется по формуле:

$$E_n = \frac{k_H \sigma_H E_{\gamma, H} I_{\gamma, H} \delta_{\gamma, H} + k_N \sigma_N E_{p, N} + k_{B^{10}} \sigma_{B^{10}} (E_{\alpha} + E_{Li^7})}{\frac{k_H \sigma_H}{A_H} + \frac{k_N \sigma_N}{A_N} + \frac{k_{B^{10}} \sigma_{B^{10}}}{A_{B^{10}}}}, \quad (1)$$

где обозначения физических величин соответствуют общепринятым в ядерной физике: k — концентрации элементов, $\delta_{\gamma, H}$ — доля поглощения энергии фотонов из реакции радиационного захвата нейтронов водородом, которая определяется значением $m_{\text{эфф.}}$ в соответствии с:

$$\delta_{\gamma, H} = \mu_{\text{эн. } \gamma, H} L_{\text{ср.}}, \quad L_{\text{ср.}} = \frac{3\pi R_{m_{\text{эфф.}}}^2}{8}; \quad \frac{4\pi R_{m_{\text{эфф.}}}^3}{3\rho_{\text{матр}}} = m_{\text{эфф.}} \quad (2), (3), (4)$$

Число тепловых нейтронов $N_{\text{тепл}}$ и число промежуточных нейтронов $N_{\text{пр.}}$, необходимое для создания поглощенной дозы D в облучаемом объекте, рассчитываются из выражений:

$$N_{\text{тепл.}} = \frac{D m_{\text{эфф.}}}{1,6 \cdot 10^6 E_n}; \quad N_{\text{пр.}} = \frac{N_{\text{тепл.}}}{1 - \beta}, \quad (5), (6)$$