

УДК 618.19-006.6:615.831:616-073.524

E.G. Vakulovskaya, V.P. Letyagin, E.M. Pogodina

PHOTODYNAMIC THERAPY AND FLUORESCENT DIAGNOSTICS IN BREAST CANCER PATIENTS

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

ABSTRACT

Photodynamic Therapy and fluorescent diagnostics using photosensitizers Aluminium Phtalocyanine (Photosense, NIOPIС, Russia) and alasense have been provided in 131 patients with breast cancer. In 21 patients primary tumor was treated as the preoperative treatment, radical mastectomy has been fulfilled 7-10 days after PDT with subsequent histological examination. 110 patients had local recurrences of breast cancer after combined treatment, chemotherapy and radiotherapy. Treating primary tumor interstitial irradiation has been done in light dose 150-250 J/cm³. In patients with skin metastases multiple surface irradiations were provided with interval 24-72 hours and total light dose 600-900 J/cm². In cases of preoperative photodynamic therapy pathomorphosis of different degree has been found in 15 cases. 2 months after photodynamic therapy we had overall response rate of 86,9 % with complete response in 51,5 % and partial response in 36,4 %. During year after successful photodynamic therapy we had complete response in 36,6 %, local recurrences in 23,1 %, progression (distant (lung or bone) metastasis) in 40,4 % of cases. Our experience show pronounced efficacy of photodynamic therapy for treating breast cancer.

Key words: photodynamic therapy, breast cancer, fluorescent diagnostics, photosense, alasense.

Е.Г. Вакуловская, В.П. Лetyагин, Е.М. Погодина

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

РЕЗЮМЕ

Работа посвящена фотодинамической терапии и флюоресцентной диагностике рака молочной железы с отечественными фотосенсибилизаторами Фотосенс и Аласенс, оценке эффективности фотодинамической терапии и флюоресцентной диагностики. В результате исследования, проведенного у 131 больной (21 пациентка — предоперационная интерстициальная фотодинамическая терапия, 110 — фотодинамическая терапия кожных метастазов рака молочной железы), показано, что флюоресценция опухоли была получена во всех случаях, в 71,3 % зона ее превышала клинически определяемую. Выполнение флюоресцентной диагностики с препаратами Аласенс и Фотосенс дает диагностически значимую информацию о больных раком молочной железы. Применение фотодинамической терапии как предоперационного лечения позволяет добиться частичной регрессии опухоли с развитием лечебного патоморфоза у большинства пациентов. Через 2 месяца после фотодинамической терапии общий противоопухолевый эффект у больных рецидивами рака молочной железы составил 86,9 %, при этом в 51,5 % был получен полный эффект, в 36,3 % — частичный. Наиболее эффективна фотодинамическая терапия у больных ограниченными рецидивами рака молочной железы — в 91,2 % полный эффект. Через год после успешной фотодинамической терапии у 36,6 % пациенток сохранялся полный эффект, прогрессирование рака молочной железы с поражением легких, костей выявлено в 40,4 %, местный рецидив — в 23,1 %. Наши данные демонстрируют высокую эффективность флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии у больных раком молочной железы.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, рак молочной железы, флюоресцентная диагностика, Фотосенс, Аласенс.

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) — одна из центральных проблем современной онкологии. Общеизвестно

быстрое метастазирование этой опухоли. Генерализация опухолевого процесса наступает не менее, чем у 50 % больных РМЖ при применении всего комплекса

современных методов лечения: радикального хирургического вмешательства, лучевой, эндокринной, химиотерапии. В последние годы большое внимание уделяется вопросам ангиогенеза опухолей, являющегося необходимым звеном в цепи событий, ведущих к метастазированию [2; 3]. Следовательно, ингибирование неоваскуляризации — многообещающий подход для предупреждения метастазирования. Фотодинамическая терапия (ФДТ), обладающая как выраженным прямым цитотоксическим воздействием на паренхиму опухоли, так и повреждающая эндотелий кровеносных сосудов опухолевой ткани [1; 4; 5; 6], может снижать биологическую агрессивность солидных опухолей и, возможно, риск метастазирования. В последние годы появились работы по применению ФДТ у больных рецидивами РМЖ, подкожными и внутрикожными метастазами. В основном за рубежом эти исследования проведены с препаратом 1 поколения Фотосенс [1; 6], в РФ — с препаратом Фотосенс (сульфированный фталоцианин алюминия) (ФГУП ГНЦ «НИОПИК») [7].

Фталоцианины как фотосенсибилизаторы вследствие своей химической природы имеют ряд преимуществ: относительно простая и дешевая технология производства, химическая стабильность и воспроизводимость состава, высокая фотодинамическая активность в красной области спектра, наличие интенсивного максимума поглощения в более длинноволновой части спектра, т.е. в районе большей световой проницаемости тканей [9]. Задачами проводимого исследования были разработка методик ФДТ и ФД рака молочной железы с фотосенсибилизаторами Фотосенс и Аласенс, оценка эффективности и побочных эффектов лечения и диагностики у больных раком молочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ФДТ и ФД с препаратом ФС проведена как открытое исследование в рамках 2-3 фазы клинических испытаний у 131 больной РМЖ в возрасте от 31 года до 78 лет, 10 из них была также проведена ФД с препаратом Аласенс. У 19 больных РМЖ T1-3N0M0 ФДТ представляла предоперационное лечение. Оперативное вмешательство в объеме радикальной мастэктомии с сохранением грудных мышц производилось через 7-10 дней после сеанса интерстициальной ФДТ с последующим гистологическим изучением операционного материала для определения лечебного патоморфоза. Интерстициальная ФДТ у 2 больных с остаточными опухолями после лучевой терапии представляла собой паллиативное лечение без последующей операции. У 110 больных рецидивами РМЖ T1-2N0-1M0 после комбинированного лечения, химиолучевого и гормонального (подкожные, внутрикожные метастазы) ФДТ проводилась на зоны метастазирования. У всех пациенток этой группы подкожные метастазы были единственным проявлением болезни. Рецидивы возникли в период от 2 мес до 5 лет после комбинированного лечения. Предшествующее лечение включало в себя, кроме комбинированного, множественные (3-12) курсы полихимиотерапии (ПХТ), лучевую терапию (ЛТ) (до 85 Гр) и гормональную. Интервал между ПХТ и ФДТ был не менее 1,5 мес, между ЛТ и ФДТ — не менее 2 мес. У 34 больных рецидивами РМЖ наблюда-

лись единичные метастазы (1-3), у 69 — множественные, у 7 — распространенные метастазы панцирного рака. 2 больным проведены повторные курсы ФДТ в связи с рецидивами заболевания. При морфологическом исследовании у больных отмечались: инфильтративный протоковый рак, инфильтративный дольковый рак, аденокарцинома. Общеклиническое обследование больных обязательно сопровождалось верификацией процесса, установлением стадии и распространенности заболевания до ФДТ. Оно включало: клиническое наблюдение, биохимический и общий анализы крови, рентгенографию легких (все больные) и костей скелета (по показаниям), скинтиграфию костей скелета (все больные), ультразвуковое исследование лимфоузлов шейно-надключичной и подмышечной областей, брюшной полости, молочной железы, маммографию, цитологическое исследование пунктатов и соскобов. В дальнейшем больные находились под динамическим наблюдением сроками от 6 мес до 5 лет.

Для ФДТ и ФД использовались отечественные фотосенсибилизаторы Фотосенс и Аласенс (5-аминолевулиновая кислота) (ФГУП ГНЦ РФ «НИОПИК»). Фотосенс вводился однократно в дозе 0,5 — 0,8 мг/кг веса тела больной с разведением 0,9 %-ным раствором NaCl — 1:4 посредством 30-мин внутривенной инфузии. Аласенс в виде 20 %-ной мази, приготовленной не позднее, чем за 24 ч до использования и хранящейся при температуре 0-10°С, накладывался равномерным тонким слоем на кожу, длительность аппликации — 4 ч. Вследствие фотосенсибилизирующих свойств Фотосенса пациент после инъекции препарата находился в затененной палате с изоляцией от прямого и рассеянного солнечного света на срок пребывания в стационаре.

В качестве источника лазерного излучения использовались следующие установки: диагностическая электронно-спектральная установка ЛЭСА 01-«Биоспек», (гелий-неоновый лазер, $\lambda = 633$ нм) — для регистрации спектров интенсивности флюоресценции и определения границ опухоли; полупроводниковый лазер ЛФТ 630-675-01-«Биоспек» ($\lambda = 672 \pm 2$ нм, $P = 1,5$ Вт), светодиодное видеофлюоресцентное устройство УФФ 630-675-01-«Биоспек». Для ФД использовались торцевые волоконно-оптические катетеры. Спектрометрические измерения проводились при использовании Фотосенса до и после каждого сеанса ФДТ для ФД и оценки содержания сенсибилизатора в тканях, при использовании Аласенса — по истечении времени аппликации и удаления мази. Применяя видеофлюоресцентное устройство, получали двухмерное изображение образований. Средняя мощность лазерного излучения 2 мВт, плотность энергии локального лазерного облучения на поверхности тканей в процессе одного обследования < 1 Дж/см², что существенно ниже уровня индуцирования необратимых фотодинамических повреждений тканей.

За время исследования были разработаны методики поверхностного интерстициального терапевтического лазерного облучения или их комбинации. Во всех случаях лазерное облучение производилось через 24 ч (первый сеанс) после введения Фотосенса. При предоперационной ФДТ к первичному очагу лазерное излучение подводилось с помощью гибкого моноволоконного металлизированного световода через стандартные

иглы интерстициально, части больных — под ультразвуковым контролем. Плотность мощности лазерного излучения — 150-400 мВт/см², световая доза 150 — 250 Дж/см². Применялась потенцированная анестезия: промедол, каллипсол, кетонал. При ФДТ подкожных рецидивов в основном использовалось поверхностное облучение волоконно-оптическими катетерами с микролинзой или торцевыми, при глубоком расположении подкожных метастазов — в комбинации с интерстициальным. Плотность мощности лазерного излучения — 150-250 мВт/см², световая доза 150 — 250 Дж/см². Всем больным проводились повторные сеансы облучения с интервалом 24-72 ч, количество сеансов от 3 до 6, общая световая доза — до 900 Дж/см². Поля облучения превышали флюоресцентные границы образований на 1,0 см. Через 2 мес после лечения для оценки его эффективности повторяли клиническое и инструментальное обследование пациенток: рентгенография легких и костей скелета (по показаниям), сцинтиграфия костей скелета, ультразвуковое исследование лимфоузлов шейно-надключичной и подмышечной областей, брюшной полости, молочной железы, маммография. При выявлении прогрессирования процесса с метастазами в легкие или кости проводилась ПХТ, ЛТ или иммунотерапия, при появлении кожных рецидивов — повторная ФДТ.

Через 1 и 2 мес после ФДТ оценивали эффективность лечения по стандартным критериям (ВОЗ), учитывая динамику изменения размеров опухоли и данных морфологического контроля:

- полный эффект (ПЭ) — полное исчезновение всех проявлений болезни, установленное через 1 мес после проведения лечения и подтвержденное через 2 мес после установления эффекта;
- частичный эффект (ЧЭ) — уменьшение размеров опухоли (или суммы площадей всех метастазов или опухолевых образований) на 50 % и более, подтвержденное через 2 мес после установления;
- стабилизация (С) — уменьшение размеров опухоли (или суммы площадей всех метастазов) менее, чем на 50 %, или отсутствие изменений;
- прогрессирование (ПР) — увеличение размеров опухоли (хотя бы одного из очагов) на 25 % или появление новых.

Переносимость и токсичность Фотосенса и Аласенса и ФДТ с использованием Фотосенса определяли на основании клинического наблюдения за больными и оценки результатов лабораторного изучения показателей крови, мочи в динамике после введения фотосенсибилизаторов и проведения ФД и ФДТ. Клиническое обследование больных включало оценку общего состояния больного, параметров гемодинамики (АД, пульс), функции внешнего дыхания (ЧДД), температуры тела до введения препарата, через 1; 24 ч; 7 и 28 сут после ФДТ. Определялся внешний вид зоны облучения (наличие отека, побледнения, покраснения кожи и других местных реакций) через 1; 24 ч; 7 и 28 сут после проведения ФДТ. Фиксировалось появление аллергических, болевых реакций, токсических проявлений со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота) после ФДТ.

Тропность препарата к опухолевой ткани оценивалась по соотношению уровней содержания препара-

та в опухоли и окружающей ткани по данным спектрометрии. На основании первичных данных произведен статистический анализ показателей с использованием стандартных методов статистической обработки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При аппликации препарата Аласенс реакций отмечено не было. При спектроскопии у больных отмечалось превышение флюоресценции опухоли над окружающей тканью в 3 — 8 раз. Низкая контрастность образований наблюдалась у больных в зонах предшествующей лучевой терапии в дозе, превышающей 60 Гр. При наличии крупных новообразований, более 1 см в диаметре, отмечалась неоднородность распределения препарата в опухоли, особенно при ее визуализации. Выявленное повышение интенсивности флюоресценции отмечалось в зонах эрозий и изъязвленных поверхностей. У 4 больных с распространенными рецидивами выявленные зоны флюоресценции существенно — на 2,0 — 5,0 см — превышали клинически определяемые.

При введении препарата Фотосенс у 1 больной отмечена гипотензивная реакция. При спектроскопии у больных определялось терапевтическое накопление препарата, превышающее его содержание в коже и слизистой в 2,1 — 3,2 раза, при этом флюоресцентные границы опухоли превышали клинически определяемые у 71,3 % больных. При сравнении определяемых флюоресцентных границ метастазов с различными сенсбилизаторами у 8 больных они практически совпали, а у 2 пациенток зона флюоресценции с Аласенсом превышала зону флюоресценции с Фотосенсом довольно значительно — на 1,0 — 1,2 см. Непосредственно после ФДТ отмечается существенное снижение интенсивности флюоресценции в зоне облучения. В зоне проведения ФДТ у больных с эрозиями изменяется форма спектра на некротическую. Длительное сохранение терапевтической концентрации Фотосенса в зоне облучения позволило разработать режимы ФДТ с многократным лазерным облучением. По данным спектрометрии, Фотосенс определяется в здоровой коже и слизистых оболочках пациентов до 6-8 нед после внутривенного введения препарата в дозе 0,5 — 0,8 мг/кг веса тела больной.

ФДТ сопряжена с болевым синдромом, интенсивность которого зависит как от индивидуальной реакции больного, так и от размера поля облучения и плотности мощности лазерного облучения, поэтому использовалась потенцированная анестезия. При сеансах ФДТ у больных не были отмечены значительные болевые ощущения при использовании комплекса анестетиков. После лечения через 1 ч возникал и сохранялся в течение 24-48 ч отек мягких тканей в зоне облучения, что является закономерной реакцией на фотодинамическое повреждение опухоли при ФДТ.

При клиническом наблюдении за пациентами после ФДТ не было выявлено изменений их общего самочувствия, артериального давления, частоты сердечных сокращений и дыхательных движений, температуры тела. У пациентов также не было отмечено развития аллергических реакций, токсических проявлений со стороны желудочно-кишечного тракта. Динамическое наблюдение за показателями крови и мочи говорило об отсутствии гемато-, нефро- и гепатотоксичности

препаратов Аласенс и Фотосенс, ФД и ФДТ с их использованием. В целом колебания параметров биохимического анализа крови, мочи не превышали границ физиологической нормы, не было выявлено статистически значимых различий.

При интерстициальной ФДТ была получена частичная регрессия опухоли у 15 больных; при этом 6 из них проводилось 2 — 3 сеанса лазерного облучения и 9 — однократное облучение. Гистологическое исследование операционного материала выявило лечебный патоморфоз 2 — 4 степени у этих пациенток. У 6 больных с однократным лазерным облучением выявлен патоморфоз 1 степени или его отсутствие, у 2 больных однако отмечалась лимфоидная гиперплазия регионарных лимфоузлов. Послеоперационный период протекал без особенностей. Рецидивы заболевания выявлены в течение первого года после лечения только у 2 больных рецидивами РМЖ Т2-3N1M0 после лучевой терапии, которым проводилась паллиативная ФДТ.

У больных метастазами РМЖ через 2 мес объективный противоопухолевый эффект составил 86,9 %, при этом у 51,5 % больных отмечался ПЭ, у 35,4 % — ЧЭ, у 13,1 % — С или ПР. У 7 больных панцирным раком с множественной лекарственной устойчивостью в результате ФДТ была получена кратковременная стабилизация: 1 мес — у 5 больных, 2 мес — у 2. Лучшие результаты были получены в группе из 34 пациенток с ограниченными рецидивами РМЖ — объективный противоопухолевый эффект составил 100%, при этом у 91,2% больных отмечался ПЭ, у 8,8 — ЧЭ. Через 1 год после ФДТ в группе больных (52 пациентки), у которых была получена полная регрессия опухоли после ФДТ, в 23,1 % были выявлены новые подкожные метастазы, у 40,4 % зафиксировано прогрессирование заболевания с появлением отдаленных метастазов (легкие, кости) без местного рецидива, у 36,6 % сохранялась полная регрессия опухоли.

Специфичным побочным действием многих фотосенсибилизаторов 1 и 2 поколения является длительное повышение чувствительности кожи к прямому солнечному свету. Аппликация Аласенса не связана с развитием световой токсичности, поэтому ФД с Аласенсом позволяет получать диагностически значимую информацию, уточнять границы опухоли без побочных эффектов. Фотосенс обладает длительной кожной фототоксичностью, тем не менее, снизив дозу вводимого Фотосенса с 0,8 до 0,5 мг/кг, удалось существенно уменьшить количество побочных реакций и осложнений у больных при проведении ФДТ; в частности, отмечены незначительные кожные реакции в первые 2 мес после его введения при соблюдении ограниченного светового режима. Последующего развития гиперпигментации кожи не выявлено. У одной из пациенток через 1 мес после ФДТ развился некроз подкожной клетчатки в зоне ФДТ. Ранее на эту зону была проведена лучевая терапия в дозе 80 Гр. Полагаем, что в таких случаях световая доза не должна превышать 500 Дж/см².

ВЫВОДЫ

Полученные результаты позволяют заключить, что выполнение ФД с препаратом Аласенс позволяет получать диагностически значимую информацию о больных РМЖ. Препарат характеризуется высокой флюоресцентной активностью и не обладает световой токсичностью, что позволяет широко его использовать. Применение интерстициальной ФДТ с Фотосенсом как в предоперационном варианте, так и для самостоятельного лечения позволяет добиться лечебного патоморфоза у большинства пациентов и нуждается в дальнейшем исследовании. ФДТ с Фотосенсом достаточно эффективна у больных рецидивами РМЖ, подкожными и внутрикожными метастазами. Особенно высокая эффективность ФДТ выявлена у больных ограниченными рецидивами РМЖ. Длительность эффекта ФДТ чаще всего определяется дальнейшим прогрессированием процесса с возникновением новых опухолевых очагов на коже вне зоны, предшествующей ФДТ, или поражением легких, костей, что обуславливает необходимость тщательного динамического наблюдения за больными после ФДТ, рентгенологического и радиоизотопного обследования зон отдаленного метастазирования. Возможно, комбинирование ФДТ с другими методами системной терапии (ПХТ, лучевой терапией) сможет увеличить длительность положительного эффекта, что будет изучаться нами в дальнейшем.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Douherty T.J., Mang T.S.* Mechanisms and new clinical approaches // *Photodynamic Treatment of Malignancies*, RG Landers Company, Austin, 1992. — P. 177-195
2. *Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group.* Effect of radiotherapy and surgery in early breast cancer: an overview of randomized trials // *N. Engl. J. Med.* — 1998. — Vol. 333. — P. 1445-1455.
3. *Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group.* Polychemotherapy for early breast cancer // *Lancet.* — 1998. — Vol. 352. — P. 930-942.
4. *Ellis L.M., Fidler I.J.* Angiogenesis and breast cancer metastasis // *The Lancet.* — 1995. — Vol. 3461. — P. 388-390.
5. *Folkman J.* Clinical application of research on angiogenesis // *New Engl. J. Med.* -1995. — Vol. 333, P. 1757-1763.
6. *Gomer C.J.* Preclinical examination of first and second generation photosensitizers used in photodynamic therapy // *Photochem. Photobiol.* — 1991. — Vol. 54. — P. 1093-2005.
7. *Jori G.* Photodynamic Therapy: Basic and Preclinical Aspects // *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, CRC Press, Boca Raton, New York, 1995. — P.1379-1383.
8. *McCaughan J.S., Jr.* Photodynamic Treatment of malignancies: a clinical manual, RG Landers Company Austin, 1992. — 246 p.
9. *Vakoulovskaja E., Chental V., Letyagin V. et al.* Photodynamic Therapy and fluorescent diagnostics of Breast Cancer metastases: 11 International Congress on Anticancer Treatment, 2001. — P. 206.