

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА РЕЖИМОВ ОБЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ НА ОСНОВЕ ПОРФИРИНОВ И ФТАЛОЦИАНИНОВ

А.А. Панкратов¹, Э.А. Сулейманов², Е.А. Лукьянец³, Ю.Б. Венедиктова¹, А.Д. Плютинская¹

¹Национальный медицинский исследовательский радиологический центр Минздрава России, Москва, Россия

²Республиканский Онкологический Диспансер, Грозный, Россия

³Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей, Москва, Россия

Резюме

В экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo* определены оптимальные режимы облучения для проведения интраперитонеальной фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами на основе порфиринов и фталоцианинов.

В эксперименте на культуре клеток HEP2 показано, что снижение плотности мощности при постоянной световой дозе достоверно приводит к увеличению эффективности фотодинамического воздействия (снижение плотности мощности с 20-80 мВт/см² до 10 мВт/см² позволило достигнуть такого же результата (гибель 90% клеток) при вдвое меньшей концентрации фотосенсибилизатора).

Полученные результаты были подтверждены в экспериментах *in vivo* на мышах с перевивной опухолью S-37. При использовании световой дозы 90 Дж/см² и плотности мощности 25 мВт/см² ни у одного животного в экспериментальной группе не было достигнуто полной резорбции опухоли. При той же световой дозе и снижении плотности мощности до 12 мВт/см² полная резорбция опухоли была получена у 34% животных, 66% животных погибло от фототоксического шока. При снижении световой дозы в два раза – до 45 Дж/см², и использовании такой же низкоинтенсивной плотности мощности (12 мВт/см²) удалось добиться полной резорбции опухоли у 100% животных.

В ходе дальнейших экспериментальных исследований по определению оптимального режима облучения для интраперитонеальной фотодинамической терапии была оценена реакция здоровой брюшины крыс на фотодинамическое воздействие и определены оптимальные параметры лазерного облучения, которые не вызывали некроза и выраженной воспалительной реакции брюшины – световая доза 10 Дж/см² при плотности мощности излучения 10 мВт/см².

Таким образом, экспериментально обоснована целесообразность применения для интраперитонеальной фотодинамической терапии низкоинтенсивных режимов облучения, что позволяет достичь высокой эффективности лечения без развития воспалительной реакции брюшины.

Ключевые слова: фотосенс, фотогем, фотодинамическая терапия, низкоинтенсивное облучение.

Для цитирования: Панкратов А.А., Сулейманов Э.А., Лукьянец Е.А., Венедиктова Ю.Б., Плютинская А.Д. Экспериментальное обоснование выбора режимов облучения для интраперитонеальной фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами на основе порфиринов и фталоцианинов // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 12-20.

Контакты: Панкратов А.А., e-mail: andreimnioi@yandex.ru

EXPERIMENTAL CONFIRMATION FOR SELECTION OF IR-RADIATION REGIMENS FOR INTRAPERITONEAL PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PORPHYRIN AND PHTHALOCYANINE PHOTOSENSITIZERS

Pankratov A.A.¹, Suleymanov E.A.², Lukyanets E.A.³, Venediktova Yu.B.¹, Plyutinskaya A.D.¹

¹National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²Republican Oncology Dispenser, Groznyi, Russia

³State Scientific Center Scientific Research Institute Organic Intermediates and Dyes, Moscow, Russia

Abstract

Optimized irradiation regimens for intraperitoneal photodynamic therapy with porphyrin and phthalocyanine photosensitizers are determined in *in vitro* and *in vivo* studies.

The experimental study on HEP2 cell line showed that reduce of power density for constant light dose increased significantly the efficacy of photodynamic therapy (the reduce of power density from 20-80 mW/cm² to 10 mW/cm² had the same results (90% cell death) for half as much concentration of the photosensitizer).

The obtained results were confirmed *in vivo* in mice with grafted tumor S-37. For light dose of 90 J/cm² and power density of 25 mW/cm² none of animals in the experimental group had total resorption of the tumor. For the same light dose and decrease of power density to 12 mW/cm² total tumor resorption was achieved in 34% of animals, 66% of animals died from phototoxic shock. For twofold decrease of light dose – to 45 J/cm² with the same low-intensity power density (12 mW/cm²) we managed total tumor resorption in 100% of animals.

In the following studies of optimized irradiation regimen for intrapleural photodynamic therapy the reaction of intact peritoneum of rats on photodynamic exposure was assessed and optimized parameters of laser irradiation, which did not cause necrosis and intense inflammatory reaction of peritoneum, were determined – light dose of 10 J/cm² with power density of mW/cm².

Thus, the reasonability for use of low-intensity regimens of irradiation for intraperitoneal photodynamic therapy was confirmed experimentally with possibility of high efficacy of treatment without inflammatory reactions of peritoneum.

Key words: photosens, fotogem, photodynamic therapy, low-intensity irradiation.

For citations: Pankratov A.A., Suleymanov E.A., Lukyanets E.A., Venediktova Yu.B., Plyutinskaya A.D. Experimental confirmation for selection of irradiation regimens for in-traperitoneal photodynamic therapy with porphyrin and phthalocyanine photosensitizers, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 2, pp. 12-20 (in Russian).

Contacts: Pankratov A.A., e-mail: andreimnoi@yandex.ru

Введение

В настоящее время в широкую медицинскую практику интенсивно внедряются новые высокотехнологичные методы лечения, базирующиеся на последних достижениях современной науки. Одним из таких методов является фотодинамическая терапия (ФДТ) больных злокачественными новообразованиями [1-3].

Показаниями для проведения ФДТ являются доброкачественные опухоли, тяжелые дисплазии, злокачественные опухоли кожи и полых органов (желудочно-кишечный тракт, дыхательные пути, мочевого пузыря). Данный метод лечения показан также больным с тяжелой сопутствующей патологией, функциональной нерезектабельностью опухолей при первично-множественном поражении, при рецидивах заболевания после хирургического, комбинированного и других видов противоопухолевого лечения. Для ряда сложных локализаций ФДТ рассматривается как альтернатива хирургическому лечению. В последние годы исследуются возможности проведения ФДТ при диссеминированных формах рака [4-7].

В настоящее время в клинике, как правило, при проведении ФДТ используется «высокоинтенсивное» по мощности лазерное излучение (50-100 мВт/см² и выше). Однако при ряде локализаций (при опухолях брюшины и плевры) использование такого режима облучения не представляется возможным в виду высокого риска развития тяжелых побочных реакций.

Целью настоящего исследования являлось изучение в экспериментах *in vitro* и *in vivo* противоопухолевой эффективности и безопасности ФДТ с препаратами фотосенс и фотогем в «низкоинтенсивном» режиме облучения (плотность мощности лазерного излучения до 20 мВт/см²).

Материал и методы

Исследования *in vitro*

Исследования *in vitro* проводили на культуре опухолевых клеток человека – эпидермоидной карциноме гортаноглотки (HEp2). Клетки культивировали в среде ИГЛА-МЕМ, с добавлением 2 мМ L-глутамин и 10% эмбриональной телячьей сыворотки, при 37°C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO₂. Клетки рассеивали в лунки плоскодонного 96-луночного микропланшета в концентрации 8×10⁴кл/мл. Через 24 ч роста клеток в лунки вносили по 50 мкл препарата фотосенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Россия, регистрационное удостоверение РN000199/02 от 04.03.2010) в серийных разведениях и инкубировали в CO₂-инкубаторе. Световое воздействие осуществляли через 2 ч инкубации клеток с красителем. В качестве источника оптического излучения применяли светодиодный источник с максимумом излучения 670 нм. Плотность мощности составляла 10, 20, 40 и 80 мВт/см² (технические ограничения прибора не позволяли использовать плотность мощности ниже 10 мВт/см² из-за значительной ошибки измерений). После воздействия клетки инкубировали в стандартных условиях в течение 24 ч.

Оценку выживаемости клеток проводили как визуально, так и колориметрическим методом с использованием МТТ-теста [8]. Оценку фототоксического эффекта *in vitro* проводили, используя величины ИК₉₀ (концентрация, при которой наблюдается 90% гибель клеток).

Исследования *in vivo*

Исследования *in vivo* выполнены на мышах-гибридах BDF₁, самках, весом 20-25 г. Животных получали из ГУ НЦБМТ РАМН (филиал «Андреевка»). В качестве опухолевой модели исполь-

зовали саркому мыши S-37 (S-37). Опухолевый штамм S-37 поддерживали *in vivo* в асцитном варианте. Для экспериментов асцитическую жидкость в разведении 1:3 изотоническим раствором хлористого натрия прививали подкожно на наружную поверхность бедра в количестве 0,05 мл/животное. Лечение начинали на 6-ой или 7-ой день после прививки опухолевого материала. Размер опухолей на день лечения составлял 4-5 мм x 4-5 мм.

Препарат фотосенс 0,2%-ый раствор животным вводили внутривенно за 24 ч до сеанса ФДТ в дозах от 0,6 мг/кг до 5 мг/кг.

Препарат фотогем (лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, Россия) животным вводили внутривенно за 48 ч до сеанса ФДТ в дозе, равной 35 мг/кг.

В качестве источника оптического излучения при проведении процедуры ФДТ с препаратом фотосенс использовали лазер MRL250 (КНР) с длиной волны излучения, равной 671 нм (общая мощность – 250 мВт). В экспериментах применяли следующие параметры облучения: плотность мощности (P_s) – от 5 мВт/см² до 100 мВт/см²; плотность энергии (P_w) – от 10 Дж/см² до 90 Дж/см².

При проведении процедуры ФДТ с препаратом фотогем использовали лазер «Кристалл-635» (ООО «Полироник», Москва) с длиной волны, равной 635 нм (максимальная мощность – 1000 мВт). В экспериментах применяли следующие параметры излучения: плотность мощности (P_s) – от 10 мВт/см² до 100 мВт/см²; плотность энергии (P_w) – от 10 Дж/см² до 90 Дж/см².

При проведении исследований на животных были использованы режимы проведения процедуры ФДТ, которые применяются у человека:

– в/в введение фотосенса, 24 ч → лазерное облучение;

– в/в введение фотогема, 48 ч → лазерное облучение.

Перед проведением сеанса ФДТ животных седировали путем внутримышечного введения дроперидола в дозе 6,25 мг/кг.

Противоопухолевый эффект оценивали по общепринятым в экспериментальной онкологии критериям, а также по критериям, разработанными нами для оценки эффективности ФДТ в системе *in vivo*: средней продолжительности жизни животных (СПЖ, сут), увеличению продолжительности жизни (УПЖ, %), торможению роста опухоли (ТРО, %), полной регрессии опухолевого узла (ПР, %) и излечению от опухоли, о котором судили по отсутствию ее продолженного роста у животных в течение 90 дней после лечения. Минимальным биологически-значимым эффектом считали ТРО, равное 50% [8].

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica ver. 7.0. Достоверность различий между группами данных оценивали с применением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни в зависимости от числа наблюдений и характера распределения величин параметров в группе. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Результаты

Противоопухолевая эффективность и переносимость ФДТ с препаратом фотосенс при использовании «высокоинтенсивных» и «низкоинтенсивных» режимов облучения

В биологической системе *in vitro* на культуре клеток HEp2 с использованием в качестве фотосенсибилизатора препарата фотосенс установлено, что противоопухолевая эффективность зависит от плотности мощности. Так, при $P_w = 3,0$ Дж/см² и $P_s = 10$ мВт/см² ИК₉₀ составило величину, равную $2,6 \pm 0,7$ мкМ (рис. 1), в то время как при более высокой плотности мощности излучения – 20, 40 и 80 мВт/см² величина ИК₉₀ повышалась в 2 раза – до величины, равной $5,9 \pm 0,4$ мкМ. При снижении плотности энергии до 1,5 Дж/см² при плотности мощности 10, 20, 40 и 80 мВт/см² специфическая активность фотодинамического воздействия с фотосенсом была в 1,5-3 раза ниже, чем при световой дозе 3,0 Дж/см² (рис. 1).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о большей эффективности *in vitro* фотодинамического воздействия с препаратом фотосенс в «низкоинтенсивном» режиме облучения.

Это послужило основанием для проведения дальнейших исследований на животных-опухоленосителях.

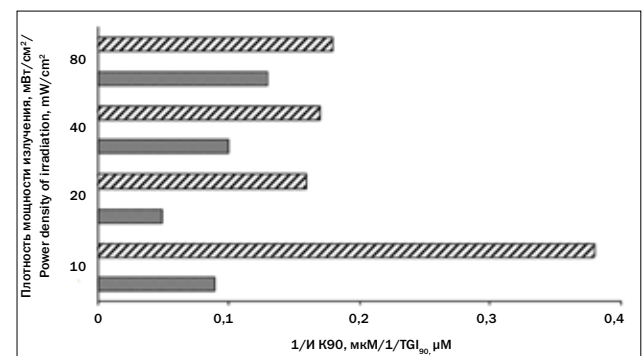


Рис. 1. Фотоиндуцированная активность фотосенса в зависимости от режимов облучения:

- ▨ световая доза 3,0 Дж/см²;
- световая доза 1,5 Дж/см²

Fig. 1. Photoinduced activity of photosens depending on irradiation regimens:

- ▨ light dose of 3,0 J/cm²;
- light dose of 1,5 J/cm²

Таблица 1

Противоопухолевая эффективность и переносимость ФДТ с препаратом фотосенс в зависимости от плотности мощности излучения у мышей с саркомой S-37

Table 1

Antitumor efficacy and tolerability of PDT with photosens depending on power density in mice with sarcoma S-37

| № группы # of the group | Доза фотосенса, мг/кг Dose of photosens, mg/kg | Параметры облучения Parameters of irradiation | | Гибель мышей от фототоксического шока, % Death of mice from phototoxic shock, % | Выраженность местнотканевых реакций, баллы Intensity of local tissue reactions, points | Полная резорбция опухолевого узла, % Total resorption of tumor node, % | ТРО, % (сут после лечения) TGI, % (days after treatment) | | | |
|-------------------------|---|--|-------------------------|--|---|---|---|---------|----------|----------|
| | | Ps, мВт/см² Ps, mW/cm² | Pw, Дж/см² Pw, J/cm² | | | | | | | |
| 1 | 5,00 | 100 | 90 | 0 | ++ | 0 | 54*(6) | 51(8) | 23(10) | 9(15) |
| 2 | 5,00 | 25 | | 0 | ++ | 0 | 72*(6) | 76*(8) | 77*(10) | 78*(15) |
| 3 | 5,00 | 12 | | 66 | +++ | 34 | 100*(6) | 100*(8) | 100*(10) | 100*(15) |
| 4 | 5,00 | 12 | 45 | 0 | +++ | 100 | 100*(7) | 100*(9) | 100*(12) | 100*(14) |
| 5 | 2,50 | | | 0 | ++ | 0 | 100*(11) | 98*(15) | 95*(18) | 74*(27) |
| 6 | 1,25 | | | 0 | ++ | 0 | 84*(7) | 87*(9) | 82*(12) | 74*(14) |
| 7 | 0,60 | | | 0 | + | 0 | 44(7) | 51(9) | 47(12) | 54*(14) |

Мыши F₁ или BDF₁, самки. Лечение начинали на 6-ой день после инокуляции опухолевого материала.
 Режим лечения: фотосенс, 24 ч → облучение.

Ps – плотность мощности лазерного излучения; Pw – плотность энергии лазерного излучения; ТРО – торможение роста опухоли.

* – V опухоли у мышей в опытной группе достоверно отличается от V опухоли у мышей в контрольной группе при p<0,05.

Mice F₁ or BDF₁, female. The treatment was started on the 6th day after tumor inoculation.

Treatment regimen: photosens, 24 h → irradiation.

Ps – power density of laser irradiation; Pw – energy density of laser irradiation; TGI — tumor growth inhibition.

* – V of tumor in mice in the study group differs significantly from V of tumor in mice of the control group, p<0,05.

При проведении ФДТ с фотосенсом на мышах с опухолью S-37 наблюдали ту же закономерность, что и в опытах *in vitro*: эффективность ФДТ в значительной степени определялась режимом облучения.

Результаты экспериментов по оценке эффективности и безопасности различных световых ре-

жимов при проведении ФДТ с препаратом фотосенс у мышей с саркомой S-37 приведены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, ФДТ в стандартном «высокоинтенсивном» режиме облучения (Ps = 100 мВт/см²; Pw = 90 Дж/см²) при использовании терапевтической дозы фотосенса 5 мг/кг приводила к ингибированию роста опухоли на 51-54% в течение

8 сут после лечения (табл. 1, опытная группа 1). Снижение плотности мощности излучения со 100 мВт/см² до 12 мВт/см² при той же плотности энергии и дозе фотосенсибилизатора существенно увеличивало эффективность лечения: максимальный терапевтический эффект (полная резорбция опухолевого узла у 34% мышей) был отмечен у животных при Ps = 12 мВт/см² (табл. 1, опытная группа 3).

Однако, при высокой плотности энергии (90 Дж/см²) со снижением плотности мощности лазерного излучения со 100 мВт/см² до 12 мВт/см² одновременно с повышением эффективности лечения наблюдали увеличение общей токсичности, которая при плотности мощности 12 мВт/см² характеризовалась гибелью животных от фототоксического

шока и выраженными местно-тканевыми реакциями в зоне облучения (табл.1, опытные группы 1-3).

С целью снижения токсического компонента лечения в дальнейших исследованиях мы пошли по пути снижения, как световой дозы лазерного излучения, так и дозы фотосенсибилизатора.

Уменьшение плотности энергии в 2 раза (до 45 Дж/см²) при сохранении «низкой» плотности мощности излучения – 12 мВт/см² и терапевтической дозы фотосенсибилизатора 5 мг/кг приводило к высокому терапевтическому эффекту без проявлений токсичности лечения: у всех животных опытной группы 4 наблюдали полную резорбцию опухолевого узла, отсутствие гибели и умеренно выраженные местно-тканевые реакции в зоне облучения (табл. 1).

Таблица 2
 Противоопухолевая эффективность «низкоинтенсивной» ФДТ с препаратом фотосенс у мышей с саркомой S-37 в зависимости от плотности мощности и плотности энергии лазерного излучения.

Table 2
 Antitumor efficacy of "low-intensity" PDT with photosens in mice with sarcoma S-37 depending on power density and energy density of laser irradiation

| № группы # of the group | Доза фотосенса, мг/кг Dose of photosens, mg/kg | Параметры облучения Parameters of irradiation | | TPO, % TGI, % | | | | |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Ps, мВт/см ² Ps, mW/cm ² | Pw, Дж/см ² Pw, J/cm ² | 7-е сутки после ФДТ 7 days after PDT | 10-е сутки после ФДТ 10 days after PDT | 13-е сутки после ФДТ 13 days after PDT | 17-е сутки после ФДТ 17 days after PDT | 20-е сутки после ФДТ 20 days after PDT |
| 1 | 5,00 | 5 | 10 | 66* | 43 | 45 | 46 | 30 |
| 2 | | 10 | | 73* | 52 | 54 | 40 | 34 |
| 3 | | 10 | 20 | 67* | 62* | 54* | 46 | 38 |
| 4 | | 20 | | 52 | 48 | 39 | 39 | 37 |
| 5 | | 10 | 30 | 100* | 99* | 99* | 99* | 97* |
| 6 | | 20 | | 87* | 86* | 70* | 50 | 56 |
| 7 | | 10 | 40 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 8 | | 20 | | 81* | 81* | 73* | 67* | 50 |

Мыши BDF₁, самки.

S-37 прививали подкожно на наружную поверхность бедра.

Лечение начинали на 7-е сутки после инокуляции опухолевого материала.

Режим лечения: фотоенс, 24 ч → облучение.

Ps – плотность мощности лазерного излучения. Pw – плотность энергии лазерного излучения.

* - V опухоли у мышей в опытной группе достоверно отличается от V опухоли у мышей в контрольной группе при p<0,05.

Mice BDF₁, female.

S-37 was grafted subcutaneously on the lateral surface of thigh

The treatment was started on the 7th day after tumor inoculation.

Treatment regimen: photosens, 24 h → irradiation.

Ps – power density of laser irradiation; Pw – energy density of laser irradiation; TGI — tumor growth inhibition.

* – V of tumor in mice in the study group differs significantly from V of tumor in mice of the control group, p<0,05.

При снижении дозы фотосенсибилизатора с 5 мг/кг до 0,6 мг/кг при тех же параметрах облучения наблюдали пропорциональное снижение эффективности лечения (табл. 1, опытные группы 5-7).

Для оптимизации параметров светового воздействия ФДТ с фотосенсом в «низкоинтенсивном» режиме облучения мы варьировали параметры облучения в более широких пределах (P_s – от 5 мВт/см² до 20 мВт/см² и P_w – от 10 Дж/см² до 45 Дж/см²) при фиксированной дозе фотосенсибилизатора 5 мг/кг. Результаты по противоопухолевой эффективности приведены в табл. 2.

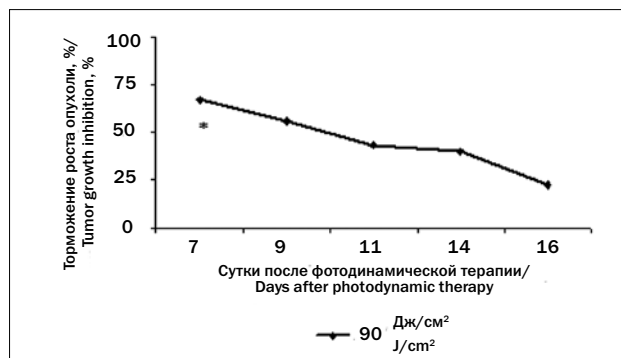
Как видно из приведенных данных, максимальный терапевтический эффект отмечен при плотности мощности 10 мВт/см² и плотности энергии 30 Дж/см² и 40 Дж/см² (табл. 2, опытные группы 5 и 7, соответственно). У животных опытной группы 5 ($P_s = 10$ мВт/см²; $P_w = 30$ Дж/см²) наблюдали длительное ТРО на уровне 97-100%, а у животных 7 группы ($P_s = 10$ мВт/см²; $P_w = 40$ Дж/см²) – полную резорбцию опухолевого узла. При снижении плотности энергии до 20 Дж/см² и ниже отмечено резкое снижение эффективности лечения (табл. 2).

Противоопухолевая эффективность и переносимость ФДТ с препаратом фотогем при использовании «высокоинтенсивных» и «низкоинтенсивных» режимов облучения

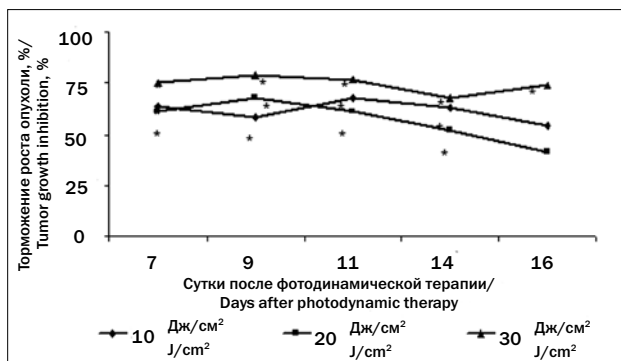
При оценке противоопухолевой эффективности ФДТ в «низкоинтенсивном» режиме облучения с другим фотосенсибилизатором, являющегося производным гематопорфирина – препаратом фотогем, также установлена высокая терапевтическая эффективность метода.

При использовании «высокоинтенсивного» режима облучения ($P_s = 100$ мВт/см²; $P_w = 90$ Дж/см²) терапевтическая эффективность ФДТ с препаратом фотогем была низкой: ТРО на уровне 56-67% наблюдали только в течение 9 сут после проведения лечебной процедуры (рис. 2). В то время как использование «низкоинтенсивных» режимов облучения ($P_s = 10$ и 20 мВт/см²; $P_w = 30$ Дж/см²) эта лечебная процедура оказывала выраженное терапевтическое действие, приводя у мышей с S-37 к ТРО на уровне 79-90% в течение 16 сут после лечения (рис. 2).

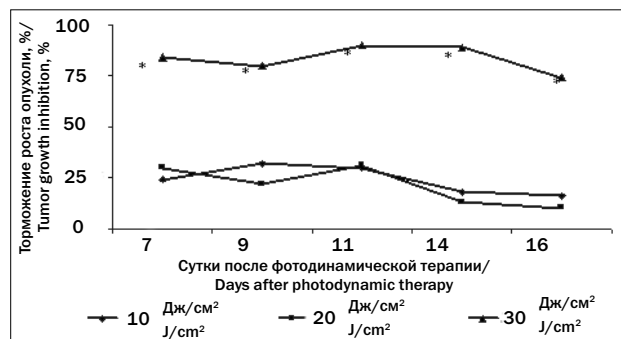
Противоопухолевая эффективность ФДТ с препаратом фотогем в «низкоинтенсивном» режиме облучения при $P_s = 10$ мВт/см² практически не зависела от плотности энергии, а при $P_s = 20$ мВт/см² наблюдали существенное повышение эффективности лечения при увеличении световой дозы облучения с 10 до 30 Дж/см² (рис. 2).



а



б



в

Рис. 2. Противоопухолевая эффективность ФДТ с препаратом фотогем в «высокоинтенсивном» и «низкоинтенсивном» режимах облучения (мыши BDF₁, самки; S-37 прививали подкожно на наружную поверхность бедра; лечение начинали на 7-е сутки после инокуляции опухолевого материала; режим лечения: фотосенсибилизатор, 48 ч → облучение): а – плотность мощности излучения 100 мВт/см²; б – плотность мощности излучения 10 мВт/см²; в – плотность мощности излучения 20 мВт/см²
 * – V опухоли у мышей в опытной группе достоверно отличается от V опухоли у мышей в контрольной группе при p < 0,05
Fig. 2. Antitumor efficacy of PDT with fotogem in “high-intensity” and “low-intensity” regimens of irradiation (mice BDF₁, female; S-37 was implanted subcutaneously in the lateral thigh; treatment was started at 7th day after tumor inoculation; treatment regimen: PS, 48 h → irradiation): а – power density of irradiation 100 mW/cm²; б – power density of irradiation 10 mW/cm²; в – power density of irradiation 20 mW/cm²
 * – V of tumor in mice in the experimental group differs significantly from V of tumor in mice in the control group, p < 0,05

Оценка местно-тканевых реакций интраперитонеальной ФДТ с препаратом фотосенс при использовании «низкоинтенсивного» режима облучения

Поскольку при проведении такого вида лечения очень важно оценить реакцию здоровой брюшины на лечение и определить оптимальные параметры лазерного облучения, которое не вызвало бы некроза и выраженной воспалительной реакции брюшины с развитием слипчивого перитонита, нами оценена реакция здоровой брюшины крыс на ФДТ с препаратом фотосенс.

Исследовали два «низкоинтенсивных» режима облучения: $P_s = 10 \text{ мВт/см}^2$ и $P_w = 10 \text{ Дж/см}^2$, а также $P_s = 10 \text{ мВт/см}^2$ и $P_w = 30 \text{ Дж/см}^2$. Фотосенсибилизатор вводили за 24 ч до ФДТ в терапевтической дозе 5 мг/кг (табл. 3). Как видно из данных, представленных в табл. 3, у крыс интраперитонеальная ФДТ с фотосенсом при $P_w = 30 \text{ Дж/см}^2$ и $P_s = 10 \text{ мВт/см}^2$ приводила к развитию выраженной воспалительной реакции в зоне облучения, которая сохранялась более 14 сут после воздействия. При снижении световой дозы до 10 Дж/см^2 у животных наблюдали значительно менее выраженные местно-тканевые реакции: гиперемию и отек брюшины,

которые сохранялись в течение 7 сут после ФДТ (табл. 3).

Обсуждение

Различия в степени выраженности противоопухолевого эффекта ФДТ с фотосенсом и фотогемом в зависимости от плотности мощности лазерного излучения («низко- и высокоинтенсивный» режимы облучения), на наш взгляд, могут быть обусловлены различной скоростью утилизации кислорода в зоне облучения. Так, облучение патологического очага после введения препарата фотосенс в жестком «высокоинтенсивном» режиме ($P_s = 100 \text{ мВт/см}^2$) приводило к резкому (в течение нескольких секунд) снижению парциального давления кислорода в опухолевой ткани практически до нулевого уровня (рис. 3а). В связи с тем, что кислород является неотъемлемым компонентом фотохимической реакции, в результате которой происходит образование активных форм кислорода и иных свободных радикалов, обладающих высоким цитотоксическим потенциалом, дальнейшее световое воздействие в данном режиме облучения является малоэффективным. Напротив, при облучении опухоли лазерным излучением с плотностью мощности, равной 25 мВт/см^2 («низкоинтенсив-

Таблица 3
 Реакция здоровой брюшины у крыс на ФДТ с препаратом фотосенс в «низкоинтенсивном» режиме облучения (макроскопическая оценка)

Table 3
 Reaction of normal peritoneum in rats on PDT with photosens in "low-intensity" regimen of irradiation (macroscopic assessment)

| № группы # of the group | Доза фотосенса, мг/кг Dose of photosens, mg/kg | Параметры облучения Parameters of irradiation | | Местно-тканевые реакции Local tissue reactions | |
|----------------------------|---|---|---|---|---|
| | | P_s , мВт/см ² P_s , mW/cm ² | P_w , Дж/см ² P_w , J/cm ² | 7-е сутки после ФДТ 7 days after PDT | 14-е сутки после ФДТ 14 days after PDT |
| 1 | 5 | 10 | 30 | Выраженная локальная воспалительная реакция брюшины (гиперемия, отек, кровоизлияния, налет фибрина) Intense local inflammatory reaction of peritoneum (hyperemia, edema, haemorrhaging, fibrin plaque) | Воспалительная реакция менее выражена (гиперемия, налет фибрина) Less intense inflammatory reaction (hyperemia, fibrin plaque) |
| 2 | | | 10 | Слабовыраженная воспалительная реакция брюшины (гиперемия, отек) Mild local inflammatory reaction of peritoneum (hyperemia, edema) | Без особенностей No specific findings |

Режим лечения: фотосенс, 24 ч → облучение.

P_s – плотность мощности лазерного излучения. P_w – плотность энергии лазерного излучения.

Treatment regimen: photosens, 24 h → irradiation.

P_s – power density of laser irradiation; P_w – energy density of laser irradiation; TGI — tumor growth inhibition.

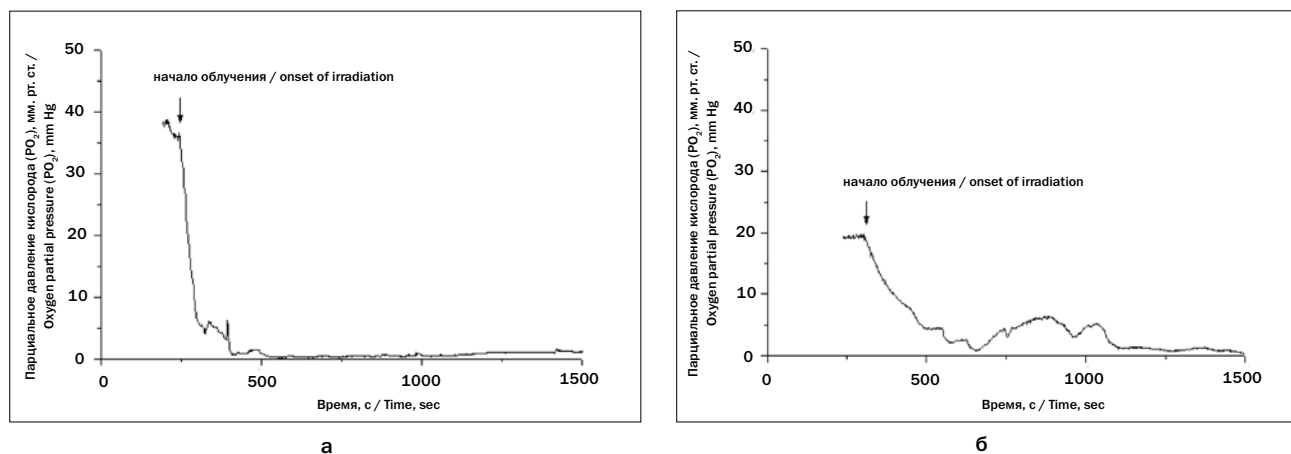


Рис. 3. Изменение парциального давления кислорода в опухолевой ткани мышей в процессе ФДТ с препаратом фотосенс в разных режимах облучения:

а – плотность мощности 100 мВт/см²; световая доза 90 Дж/см²;

б – плотность мощности 25 мВт/см²; световая доза 90 Дж/см²

Fig. 3. Change of oxygen partial pressure in tumor tissue of mice during PDT with photosens for:

а – power density of 100 mW/cm²; light dose of 90 J/cm²;

б – power density of 25 mW/cm²; light dose of 90 J/cm²

ное» световое воздействие), процесс деоксигенации опухолевой ткани протекает более медленно (рис. 3б), в результате чего в течение всего времени облучения образуется достаточное количество цитотоксических продуктов фотохимической реакции, способных эффективно индуцировать повреждение различных структурных элементов опухолевой ткани и как следствие – приводить к выраженному терапевтическому эффекту.

Таким образом, получены данные о высокой противоопухолевой эффективности и безопасности ряда «низкоинтенсивных» режимов облучения при ФДТ с препаратами фотосенс и фотогем, что чрезвычайно важно для обоснования возможности изучения использования интраперитонеальной ФДТ при первичном и метастатическом опухолевом поражении брюшины в клинике.

Заключение

Проведенные исследования в биологических системах *in vitro* на культуре опухолевых клеток чело-

века (культура клеток НEr-2) и *in vivo* на животных с перевиваемой злокачественной опухолью (саркома S-37) показали высокую противоопухолевую эффективность метода ФДТ с препаратами фотосенс (*in vitro* и *in vivo*) и фотогем (*in vivo*) в «низкоинтенсивном» режиме облучения.

Максимальная противоопухолевая эффективность фотодинамического воздействия с препаратом фотосенс *in vitro* на однослойных опухолевых клетках была достигнута при $P_s = 10$ мВт/см² и $P_w = 3$ Дж/см², а *in vivo* на опухолевом узле объемом 48-75 см³ – при $P_s = 10$ мВт/см² и $P_w = 30-40$ Дж/см²; максимальная противоопухолевая эффективность ФДТ с препаратом фотогем *in vivo* на опухолевом узле объемом 48-75 см³ – при $P_s = 10$ и 20 мВт/см² и $P_w = 30$ Дж/см².

Интраперитонеальная ФДТ с препаратом фотосенс при $P_w = 30$ Дж/см² и $P_s = 10$ мВт/см² приводила к развитию сильной воспалительной реакции брюшины, а при $P_w = 10$ Дж/см² и $P_s = 10$ мВт/см² местнотканевые реакции в зоне облучения были слабо выражены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Соколов В.В., Филоненко Е.В. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей. Краткий очерк развития и опыт клинического применения в России // Российский химический журнал. – 1998. – Т. XLII, № 5. – С. 5-9.
2. Agostinis P, Berg K, Cengel K.A., et al. Photodynamic therapy of cancer: an update // *CA Cancer J Clin.* – 2011. – Vol. 61, No. 4. – P. 250-281.

REFERENCES

1. Chissov V.I., Sokolov V.V., Filonenko E.V. Photodynamic therapy of malignant tumors. A brief history of development and clinical use in Russia, *Rossiiskii khimicheskii zhurnal*, 1998, Vol. XLII, No. 5, pp. 5-9. (in Russian).
2. Agostinis P, Berg K, Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P, Nowis D, Piette J, Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update, *CA Cancer J Clin.*, 2011, Vol. 61, No. 4, pp. 250-281.

3. Dougherty T.J., Marcus S.L. Photodynamic therapy // *Eur J Cancer*. – 1992. – Vol. 28A, No. 10. – P. 1734-1742.
4. Соколов В.В., Филоненко Е.В., Карпова Е.С., Мамонтов А.С. Возможности фотодинамической терапии больных раком пищевода стадии T1N0M0: клинические наблюдения // *Российский онкологический журнал*. – 2007. – № 6. – С. 36-38.
5. Филоненко Е.В., Вашакмадзе Л.А., Кириллов Н.В. и др. Интраоперационная фотодинамическая терапия при лечении местнораспространенного и диссеминированного рака желудка // *Онкохирургия*. – 2012. – Т. 4, № 3. – С. 57-61.
6. Ivanova-Radkevich V. I., Filonenko E. V., Slovokhodov E.K., et al. Organization of clinical trials of photosensitizer based on 5-aminolevulinic acid hexyl ester // *Indian Journal of Science and Technology*. – 2016. – Vol. 9(18). – P. 1-7. DOI: 10.17485/ijst/2016/v9i18/93759
7. Filonenko E.V., Kaprin A.D., Alekseev B.Ya., Apolikhin O.I., Slovokhodov E.K., Ivanova-Radkevich V.I., Urlova A.N. 5-Aminolevulinic acid in intraoperative photodynamic therapy of bladder cancer (results of multicenter trial) // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2016. – Vol. 16. – P. 106-109.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / под ред. Миронова А.Н., Бутияна Н.Д. и др. – М.: Гриф и К., 2012. – 944 с.
3. Dougherty T.J., Marcus S.L. Photodynamic therapy, *Eur J Cancer*, 1992, Vol. 28A, No. 10, pp. 1734-1742.
4. Sokolov V.V., Filonenko E.V., Karpova E.S., Mamontov A.S. Opportunities of photodynamic therapy of patients with esophageal cancer stage T1N0M0: case report, *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*, 2007, No. 6, pp. 36-38. (in Russian).
5. Filonenko E.V., Vashakmadze L.A., Kirillov N.V., Khomyakov V.M., Kolobaev I.V., Krylova G.I. Intraoperative photodynamic therapy for locally advanced and disseminated gastric cancer, *Onkokhirurgiya*, 2012, Vol. 4, No. 3, pp. 57-61. (in Russian).
6. Ivanova-Radkevich V.I., Filonenko E.V., Slovokhodov E.K., Smirnova I.P., Kuznetsova O.M., Lobaeva T.A., Gushchina Yu.Sh. and Khadasheva Z.S. Organization of clinical trials of photosensitizer based on 5-aminolevulinic acid hexyl ester, *Indian Journal of Science and Technology*, 2016, Vol. 9(18), pp. 1-7. DOI: 10.17485/ijst/2016/v9i18/93759
7. Filonenko E.V., Kaprin A.D., Alekseev B.Ya., Apolikhin O.I., Slovokhodov E.K., Ivanova-Radkevich V.I., Urlova A.N. 5-Aminolevulinic acid in intraoperative photodynamic therapy of bladder cancer (results of multicenter trial), *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2016, Vol. 16, pp. 106-109.
8. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' 1* [Handbook for management of pre-clinical studies of pharmaceutical preparations. Part 1], by eds Mironov A.N., Butyanan N.D. Moscow, Grif i K. Publ., 2012. 944 p.