

Е.В. Филоненко

ФД и ФТ – обоснование применения и возможности в онкологии

ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ – ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ И ВОЗМОЖНОСТИ В ОНКОЛОГИИ

Е.В. Филоненко

ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» МЗ РФ, г. Москва

Резюме

Статья посвящена исследованиям отечественных фотосенсибилизаторов различных классов, проводимых в МНИОИ им. П.А. Герцена. Приведены результаты изучения кинетики тканевого и внутритканевого распределения препаратов фотогем, фотосенс, препаратов на основе хлорина e_6 и аласенс-индуцированного протопорфирина IX (ППИХ) у онкологических больных, послужившие основой для разработки медицинских технологий флуоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ). В статье обобщены результаты 20-летнего применения в МНИОИ им. П.А. Герцена ФД и ФДТ у пациентов с различными онкологическими заболеваниями. Приведены последние данные по эффективности радикальной и паллиативной ФДТ, интраоперационной противорецидивной ФДТ, пролонгированной ФДТ, а также сочетанной с химиотерапией ФДТ. Представлены данные по специфичности и чувствительности ФД у пациентов с опухолями различной локализации. Автором отмечены достижения и существующие проблемы применения современных методов ФД и ФДТ в клинической практике, намечены основные направления их дальнейшего развития.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, флуоресцентная диагностика, кинетика тканевого и внутритканевого распределения, фотогем, фотосенс, аласенс, фотодитазин, радахлорин.

Проблема борьбы со злокачественными новообразованиями остается приоритетной для современного общества. По прогнозам ВОЗ за 1999–2020 гг. заболеваемость и смертность от онкологических заболеваний во всем мире возрастет в 2 раза, поэтому разработка и внедрение новых, высокотехнологичных методов ранней диагностики и лечения рака является актуальной проблемой современной медицины. Одними из таких методов являются флуоресцентная диагностика (ФД) и фотодинамическая терапия (ФДТ). Несмотря на то, что применение данных методов стало возможно лишь в последние несколько десятилетий, после изобретения и освоения лазерной техники, история развития самих методик, основанных на фотохимических свойствах различных видов лекарственных препаратов, насчитывает не одно столетие.

В фотохимиотерапии экзогенные или эндогенные фотосенсибилизаторы применяются как инициаторы химической реакции в биологической ткани. Концепция фотохимиотерапии не нова, ее использовали много веков назад при лечении витилиго в Индии, Египте и Китае. Первое детальное описание эффекта «химической фотосенсибилизации» биоткани относится к началу XX века. За точку отсчета современного научного и экспериментального подхода к изучению фотосенсибилизации принято считать работу О. Raab, опубликованную в 1900 г. Будучи студентом-медиком, проводя исследования в Мюнхенском университете под руководством проф. Н. Tareiner, О. Raab установил, что низкие концентрации акридинового и других красителей, химически инертных в темноте, приводят

к быстрой гибели парameции при облучении их солнечным светом. Н. Tareiner высоко оценил это открытие, высказав предположение, что данный эффект найдет применение в медицине. Он инициировал развитие данного направления медицины и впервые ввел термин «фотодинамическое действие» с тем, чтобы избежать путаницы с аналогичными фотохимическими процессами, реализуемыми в фотографии. Этот термин широко используется до настоящего времени [1, 2].

В 1903 г. Н. Tareiner совместно с А. Jesionek из Мюнхенской дерматологической клиники опубликовали результаты клинического применения эозина и света при лечении герпеса, псориаза и рака кожи [3]. Позже, в 1905 г. эти же исследователи, наряду с эозином, использовали в качестве фотосенсибилизатора флуоресцеин.

Последующее изучение фотодинамического эффекта привело к развитию нового направления в медицине – фотодинамической терапии злокачественных опухолей.

В 1920-е годы среди многих свойств злокачественных опухолей была отмечена их способность накапливать порфирины, проявляющие флуоресцирующие свойства под воздействием ультрафиолетового излучения. Важным шагом на пути к созданию методов ФД и ФДТ рака явилось наблюдение, сделанное в 1924 г. А. Polikard, о том, что в опухолях животных могут накапливаться эндогенные порфирины, обладающие способностью флуоресцировать при облучении светом видимой части спектра [4]. В 1942 г. Н. Auler и G. Banzer из Берлина зафиксировали красную флуоресценцию в первичной опухоли и в мета-

стазах у крыс после подкожного и внутримышечного введения гематопорфирина [5].

Современный этап развития ФД и ФДТ начался в 60-е годы прошлого столетия с исследований R. Lipson и соавт. в США, которые разработали препарат и показали, что введение онкологическим больным производного гематопорфирина, полученного путем ацетилирования и восстановления порфириновой смеси, обогащенной гидрофобными олигомерами порфиринов приводит к возможности регистрировать флуоресценцию опухолей [6,7]. В большинстве мировых публикаций точкой отсчета начала широкого клинического применения ФДТ в онкологии считается 1978 г., когда T. Dougherty и соавт. сообщили о результатах ФДТ у 25 больных со 113 первичными, рецидивными и метастатическими опухолями кожи [8].

В России, несмотря на многолетние экспериментальные исследования, ФДТ опухолей получила развитие в клинике только с 1992 г., когда была создана лекарственная форма первого отечественного фотосенсибилизатора фотогем, относящегося к группе производных гематопорфирина (МИТХТ им. М.В. Ломоносова, проф. А.Ф. Миронов). Первые успешные клинические испытания были проведены на базе МНИОИ им. П.А. Герцена и ГНЦ Лазерной медицины. Через два года (в 1994 г.) были начаты клинические испытания фотосенсибилизатора второго поколения – фотосенса (сульфированный фталоцианин алюминия), разработанного в ГНЦ РФ «НИОПИК» (чл.-кор. РАН, проф. Г.Н. Ворожцов, проф. Е.А. Лукьянец). В 1999 г. было начато применение в клинике препарата, синтезированного на основе 5-аминолевулиновой кислоты – аласенса (ГНЦ РФ «НИОПИК», чл.-кор. РАН, проф. Г.Н. Ворожцов, проф. Е.А. Лукьянец), а в 2002 и 2004 гг. – препаратов, синтезированных на основе хлорина e_6 – радахлорина (ООО «Радафарма», А.В. Решетников) и фотодитазина (ООО «ВЕТА-ГРАНД», проф. Г.В. Пономарев).

В МНИОИ им. П.А. Герцена экспериментальные исследования в области ФД и ФДТ были начаты около 30 лет назад. В 1984 г. были доложены первые результаты данных работ. Клинические исследования ведутся с 1992 г. К настоящему времени для ФД и ФДТ на основе указанных препаратов, разработаны методики, подготовлены методические рекомендации, пособия для врачей и программа обучения специалистов.

Внедрению методов в России способствовало создание отечественной диагностической и терапевтической аппаратуры, что делает, наряду с высокой онкологической эффективностью, применение данных методов также и экономически целесообразным.

ФДТ можно применять для лечения опухолей практически всех основных локализаций как самостоятельный метод, так и в сочетании с традиционными видами лечения (хирургическое, лучевая и химиотерапия). Указанные варианты сочетанной и комбинированной терапии направлены на улучшение результатов радикального и паллиативного лечения

наиболее тяжелых групп онкологических больных. В зависимости от стадии, характера и формы роста опухоли для повышения эффективности ФДТ разработаны различные варианты лазерного облучения: одно- и многопозиционное, инвазивное и неинвазивное внутритканевое и др.

В настоящее время в МНИОИ им. П.А. Герцена методики флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии применены для диагностики и лечения нескольких тысяч больных с различной стадией и локализацией опухолевого процесса.

Методы ФД и ФДТ основаны на введении в организм пациента фотосенсибилизаторов, избирательно накапливающихся в опухолевой ткани, которые при световом, в частности, лазерном воздействии (в зависимости от длины волны и режима облучения) могут приводить либо к излучению кванта света, вследствие чего можно регистрировать их флуоресценцию, либо продуцировать образование цитотоксических веществ, прежде всего синглетного кислорода 1O_2 и других активных радикалов, накопление которых приводит к разрушению жизненно важных структур опухолевых клеток и их гибели. Кроме прямого фототоксического воздействия на опухолевые клетки при ФДТ важную роль в механизме деструкции играют: нарушение кровоснабжения опухолевой ткани вследствие повреждения эндотелия и тромбоза кровеносных сосудов; цитокиновые реакции, обусловленные стимуляцией продукции фактора некроза опухоли, интерлейкинов, активацией макрофагов и лейкоцитов.

Изучению иммуномодифицирующего и стимулирующего механизмов ФДТ в последние годы уделяется повышенное внимание. Опыт, накопленный в МНИОИ им. П.А. Герцена, показывает, что ФДТ обладает свойством стимуляции нейтрофильного звена и ряда других показателей иммунитета.

Таким образом, методы ФД и ФДТ характеризуются многоэтапной процедурой проведения сеансов диагностики и лечения, а также многокомпонентными ответами при реализации терапевтического воздействия, что потребовало создания и применения новых подходов к изучению фотосенсибилизаторов в клинике при разработке медицинских технологий ФД и ФДТ.

Для определения оптимальных режимов ФД и ФТ с отечественными фотосенсибилизаторами различных классов в МНИОИ им. П.А. Герцена была разработана «Программа клинического изучения новых фотосенсибилизаторов». В соответствии с этапами разработанной программы были проведены исследования фотосенсибилизаторов различных групп, в частности была изучена кинетика тканевого распределения данных препаратов у онкологических больных, позволившая оптимизировать методики ФД и ФДТ. Кроме этого была изучена кинетика внутритканевого распределения фотосенсибилизаторов для определения мишеней ФДТ, так как реализация эффектов ФДТ напрямую зависит от того в каких структурах опухолевого узла

фотосенсибилизатор накопился во время проведения сеанса ФДТ. При наличии фотосенсибилизатора в клетках опухоли будет реализовано прямое повреждение опухолевых клеток, при накоплении в богатой сосудами строме опухоли – ишемический некроз, вследствие тромбоза и разрушения сосудов. Для правильного планирования сеансов ФДТ необходимо решение данных вопросов, что было осуществлено в ходе нашей работы.

Было показано, что фотогем максимально накапливается в опухолевой ткани с достижением максимальной флуоресцентной контрастности опухоль/норма через 24–48 ч после внутривенного введения. В результате ФДТ с этим препаратом будет преобладать ишемический некроз вследствие того, что он накапливается в богатой сосудами строме опухоли в большем количестве, чем в опухолевых клетках. Данные о невысоком содержании препарата в стенке неизменных сосудов могут свидетельствовать о невысоком риске развития ишемических изменений неизменных тканей в границах зоны светового воздействия при использовании стандартных режимов лазерного облучения.

Показано, что в результате ФДТ с препаратом фотосенс будет преобладать ишемический некроз опухоли. Максимальные уровни флуоресценции препарата в структурах опухоли зарегистрированы через 2–8 ч после его внутривенного введения, что обуславливает наибольшее повреждение опухоли при проведении ФДТ в этот период времени. Наличие значительного количества фотосенса в структурах опухоли в течение недели после внутривенного введения свидетельствует о возможности проведения сеансов ФДТ в эти сроки после однократного введения препарата. Одинаковое содержание фотосенса в структурах опухоли и стенке неизменных сосудов рядом с зоной опухолевого роста через 1–2 ч после введения препарата может привести к повреждению сосудов и ишемическим изменениям тканей в границах поля лазерного облучения при проведении ФДТ в данный срок.

При проведении ФДТ с препаратами на основе хлорина e_6 будет преобладать ишемический некроз опухоли. При этом, оптимальное время проведения ФДТ составляет 3–8 ч после внутривенного введения препарата, так как в этот период времени содержание его в структурах опухоли максимальное. Практически одинаковое содержание фотосенсибилизатора в структурах опухоли и стенке неизменных сосудов через 3–4 ч после внутривенного введения может приводить к повреждению нормальных сосудов в границах всего поля лазерного облучения и ишемическим изменениям здоровых тканей при проведении ФДТ в этот период времени при использовании высоких доз лазерного облучения.

Было показано, что аласенс-индуцированный протопорфирин IX (ППИХ) является единственным

фотосенсибилизатором, который преимущественно накапливается в клетках опухоли, следствием чего является прямое цитотоксическое воздействие при проведении ФДТ. Результаты изучения кинетики тканевого распределения аласенс-индуцированного ППИХ в опухолях различной локализации и неизменных тканях показали, что оптимальный интервал времени между введением препарата и проведением сеанса ФД и ФДТ зависит от способа введения аласенса. При местном способе введения – оптимальный интервал времени между введением аласенса и проведением сеанса ФД и ФДТ составляет 1–3 ч, при системном введении – 3–6 ч.

Таким образом были определены методические подходы к разработке медицинских технологий: определены оптимальные сроки проведения ФД и ФДТ с каждым из фотосенсибилизаторов; показано, что ряд фотосенсибилизаторов (фотогем, препараты на основе хлорина e_6 , аласенс-индуцированный ППИХ) быстро выводятся из опухолевой ткани вследствие чего их можно использовать для проведения однокурсовой или многокурсовой ФДТ, другие (фотосенс) длительно задерживаются в опухоли что позволяет проводить повторные сеансы ФДТ после однократного введения препарата (продолжительная ФДТ); определено, какие эффекты реализуются при проведении ФДТ с различными препаратами – непосредственное разрушение опухолевых клеток, или ишемический некроз вследствие разрушения богатой сосудами стромы опухоли. С учетом полученных данных были разработаны запатентованные методики ФД и ФДТ. Методики ФД и ФДТ явились основой для разработки медицинских технологий ФД и ФДТ.

Результаты применения медицинских технологий показали их высокую эффективность. При лечении предрака и рака стадии $T_1N_0M_0$ полная регрессия с длительным сроком безрецидивного наблюдения получена у больных раком слизистой оболочки полости рта и языка в 64,4% наблюдений, у больных раком желудка – в 72,6%, у больных раком пищевода – в 77,1%, у больных центральным раком легкого – в 86,5%, у больных раком кожи – в 99,6–100%, у больных раком шейки матки – в 84–100%, у больных с патологией вульвы – в 92,5% [9, 10].

Медицинские технологии ФДТ при применении в качестве адьювантной терапии или интраоперационного воздействия показали эффективность у больных с высоким риском местного рецидивирования опухоли после хирургического лечения. Так, в группе больных поверхностным раком мочевого пузыря при проведении адьювантной сочетанной ФДТ с митомицином С после трансуретральной резекции безрецидивная выживаемость при сроке наблюдения до 24 мес. составила 100% (в контрольной группе рецидив выявлен у 50% больных); в группе больных с метастатическими опухолями головного мозга после хирургического лечения с интраоперационной ФД и

ФДТ продолженный рост метастаза в срок от 1 до 6 мес. диагностирован в 4,2% наблюдений (в контрольной группе – в 30,3%); в группе больных с неорганными забрюшинными опухолями частота рецидивов после хирургического лечения с интраоперационной ФДТ составила 12% (частота рецидивирования после хирургического лечения составляет 50–80%) [11, 12].

Разработанные технологии паллиативной ФДТ позволили улучшить качество и увеличить продолжительность жизни наиболее сложной категории онкологических больных. При применении пролонгированной ФДТ у больных с внутрикожными метастазами рака молочной железы и меланомы полная регрессия опухолей получена в 39,3% и 38% соответственно, частичная – в 46% и 52,4%. Проведение многокурсовой ФДТ у больных стенозирующим раком пищевода и кардии позволило устранить дисфагию и восстановить естественный режим питания у 100% больных, а проведение пролонгированной внутривисцеральной ФДТ у больных с мезотелиомой и метастатическими поражениями плевры – добиться стойкого прекращения внутривисцеральной экссудации у 92% больных при сроке наблюдения до 3,5 лет [13].

Разработанные медицинские технологии ФД с препаратом аласенс позволили уточнять границы опухолевого поражения при планировании хирургического лечения и ФДТ, а также эффективно выявлять скрытые очаги раннего первичного и поверхностного рецидивного рака кожи и слизистой оболочки полых органов.

Чувствительность и специфичность ФД с аласенсом составила в группе больных с опухолями верхних дыхательных путей – 100% и 88%, соответственно, с опухолями верхних отделов пищеварительного тракта – 96% и 98%, с опухолями толстой кишки –

87,5% и 95,7%, с опухолями мочевого пузыря – 98,4% и 76,6%, с опухолями эндометрия – 100% и 97,9%, с опухолями плевры – 89,1% и 88,4%, с опухолями брюшины – 87,5% и 76%. При этом, ФД позволила диагностировать скрытые очаги предрака, раннего рака и поверхностные рецидивы рака кожи у 25,5% больных, верхних дыхательных путей – у 19,4%, скрытые очаги метастатического поражения плевры – у 57,2%, брюшины – у 15,5% [14–16].

Разработанная методика интраоперационной ФД позволяет проводить экспресс-диагностику метастатического поражения лимфатических узлов первого уровня с чувствительностью 87,2% и специфичностью – 94,8% [17].

Разработанные в МНИОИ им. П.А. Герцена медицинские технологии ФД и ФДТ оказались востребованными в различных медицинских учреждениях. Подготовлена программа обучения специалистов. С 1995 по 2011 гг. на базе МНИОИ им. П.А. Герцена обучение прошли 192 врача из медицинских учреждений различных городов России, 20 врачей из стран ближнего (3) и дальнего (17) зарубежья.

Для дальнейшего совершенствования метода ФДТ требуется поиск новых фотосенсибилизаторов, обладающих более высокой фотоактивностью, опухолетропностью, способностью к возбуждению в ближнем инфракрасном диапазоне спектра; создание новой и совершенствование уже разработанной диагностической и терапевтической аппаратуры; совершенствование методик ФДТ опухолей различной локализации. Опыт клинического применения ФДТ показывает, что данный метод относится к одному из перспективных направлений в современной клинической онкологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Raab O. Ueber die Wirkung Stoffe auf Infusoria // Z. Biol. – 1900. – Vol. 39. – P. 524.
2. Tappeiner H. Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von Raab // Muench. Med. Wochenschr. – 1900. – Vol. 1. – P. 5–7.
3. Tappeiner H., Jesionek A. Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen // H. Ibid. – 1903. – Vol. 50. – P. 2042–2044.
4. Policard A. Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood // CR Soc. Biol. – 1924. – Vol. 91. – P. 1423–1424.
5. Auler H. and Banzer G. Untersuchung ueber die Rolle der Porphyrine bei geschwulstkranken Menschen und Tieren // Z. Krebsforsch. – 1942. – Vol. 53. – P. 65–68.
6. Lipson R.L., Baldes E.J., Olsen A.M. A further evaluation of the use of hematoporphyrin derivate as a new aid for endoscopic detection of malignant disease // Dis. Chest. – 1964. – Vol. 46. – P. 676–679.
7. Lipson R.L., Pratt J.H., Baldes E.J., Dockerty M.B. Hematoporphyrin derivate for detection of cervical cancer // Obstet. Gynecol. – 1964. – Vol. 24. – P. 78–84.
8. Dougherty T.J., Kaufman J.E., Goldfarb A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors // Cancer research. – 1978. – Vol. 38. – P. 2628–2635.
9. Филоненко Е.В., Соколов В.В., Карпова Е.С. Эффективность фотодинамической терапии при лечении больных ранним раком желудка // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №2. – с. 3–9.
10. Соколов В.В., Филоненко Е.В. Фотодинамическая терапия больных ранним центральным раком легкого // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №4. – с. 3–8.
11. Вашакмадзе Л.А., Филоненко Е.В., Черемисов В.В., Хомяков В.М. Интраоперационная фотодинамическая терапия при неорганных забрюшинных опухолях // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №2. – с. 7–10.
12. Вашакмадзе Л.А., Филоненко Е.В., Бутенко А.В., Кириллов Н.В., Хомяков В.М. Отдаленные результаты хирургического лечения больных местнораспространенным и диссеминированным раком желудка в сочетании с интраоперационной фотодинамической терапией // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №1. – с. 3–10.
13. Трахтенберг А.Х., Соколов В.В., Филоненко Е.В., Пикин О.В., Вурсол Д.А., Колбанов К.И., Глушко В.А., Крылова Г.П. Эффективность внутривисцеральной пролонгированной фотодинамической терапии у больных со злокачественным плевритом // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2012. – №1. – с. 12–16.

14. Пикин О.В., Филоненко Е.В., Мироненко Д.Е. Эффективность флуоресцентной диагностики опухолевого поражения плевры с препаратом аласенс // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №4. – с. 11–14.
15. Вашакмадзе Л.А., Филоненко Е.В., Лукин В.А. Флуоресцентная лапароскопия у больных раком желудка // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №4. – с. 7–10.
16. Теплов А.А., Филоненко Е.В., Алексеев Б.Я., Ульянов Р.В., Андреева Ю.Ю. Применение локальной флуоресцентной спектроскопии в комбинации с методикой флуоресцентной визуализации при цистоскопии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – №4. – с. 15–18.
17. Филоненко Е.В., Пак Д.Д. Флуоресцентная диагностика метастатического поражения регионарных лимфатических узлов при хирургическом лечении рака молочной железы // Оптика и спектроскопия. – 2013. – Т. 114, №6. – с. 1026–1031.

FLUORESCENCE DIAGNOSTICS AND PHOTODYNAMIC THERAPY: JUSTIFICATION OF APPLICATIONS AND OPPORTUNITIES IN ONCOLOGY

E.V.Filonenko

«P.A. Herten Moscow Cancer Research Institute» Ministry of Healthcare of Russia, Moscow

This article is dedicated to current research of domestic photosensitizers of different classes carried out by Herten Moscow Cancer Research Institute. Results of research in tissue distribution kinetics of Photogem, Photosense, Chlorine e6 based photosensitizers and 5-ALA induced protoporphyrine IX (PPIX) in cancer patients are represented. These results have been used for development of medical techniques in fluorescence diagnostics (FD) and photodynamic therapy (PDT). This article summarizes Herten Moscow Cancer Research Institute results of 20 years experience of PD and PDT in patients with different cancer diseases. The most recent data on the efficacy of radical and palliative PDT, anti-relapse intra-operative PDT, prolonged PDT, and PDT combined with chemotherapy are given. Data on sensitivity and specificity of FD in patients with different tumor localizations are represented. The author outlines achievements and challenges of novel FD and PDT methods in clinical practice and defines the main directions of the further FD and PDT development.

Keywords: photodynamic therapy, fluorescence diagnostics, tissue distribution kinetics, Photogem, Photosense, Alasense, Photodiazine, Radachlorine.

Контакты: Филоненко Е.В., e-mail: derkul23@yandex.ru