

На правах рукописи

БОРГУЛЬ Ольга Валентиновна

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ КОЖНЫХ МЕТАСТАЗОВ
ПРИ ДИССЕМНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЕ КОЖИ**

14.00.19 – лучевая диагностика, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Обнинск - 2007

Работа выполнена в отделе лазерной и фотодинамической терапии и радиологическом отделении ГУ - Медицинский радиологический научный центр Российской академии медицинских наук.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Каплан Михаил Александрович,
доктор медицинских наук, профессор Кудрявцева Галина Терентьевна.

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Золотков Алексей Григорьевич,
кандидат медицинских наук Сухова Татьяна Евгеньевна.

Ведущая организация:

Федеральный Государственный научный центр лазерной медицины ФА по здравоохранению и социальному развитию.

Защита диссертации состоится 27 ноября 2007 года в 11⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 001.011.01 при ГУ - Медицинский радиологический научный центр РАМН по адресу: 249036, г. Обнинск Калужской обл., ул. Королева, 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ - Медицинского радиологического научного центра РАМН.

Автореферат разослан «_____» октября 2007 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Палыга Г.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время практически во всех регионах мира зафиксирован устойчивый и интенсивный факт заболеваемости населения меланомой кожи (МК) [Лемехов В.Г., 2001]. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями меланомы занимает особое место. Так, структурно составляя не более 10% от всех форм рака кожи, на ее долю приходится от 65% до 79% всех летальных исходов в группе злокачественных опухолей кожи [Демидов Л.В., Харкевич Г.Ю., 2001; Носов Д.А., 2001]. В отличие от других опухолей кожи меланомы в значительно большей степени представляет собой модель злокачественной опухоли, для которой характерны не только местный рецидив или проявления регионарных лимфогенных метастазов, но и в значительно большей степени развитие отдаленных метастазов в различных тканях и внутренних органах (печень, легкие, головной мозг) [Барчук А.С., 2001; Демидов Л.В., 2001]. За последние 30 лет не достигнуто улучшения показателей выживаемости больных с метастатической (или диссеминированной) меланомой. Средняя продолжительность жизни больных, страдающих этим недугом, колеблется от 6 до 9 мес. при 5-ти летней выживаемости менее 5% [Анисимов В.В., 2000; Булат Ю.В., 2000].

На сегодняшний день лекарственная противоопухолевая и иммунотерапия являются ведущими направлениями в лечении метастатической меланомы. Однако эффективность различных комбинаций лечения не превышает 30-35%.

Одним из перспективных методов в онкологии является фотодинамическая терапия (ФДТ). Суть метода состоит в использовании свойства опухолевых клеток накапливать определенные вещества – фотосенсибилизаторы (ФС) – в значительно большей степени, чем здоровые клетки. При облучении светом, спектральный состав которого соответствует спектру поглощения сенсибилизатора, в опухолевых клетках развивается фотохимическая реакция, результатом которой является разрушение клетки [Maziere J.C., 1991; Thomas J.P., 1989]. ФДТ является сложным воздействием, важным компонентом которого является влияние на клетки иммунной системы [Ярилин А.А., 1999; Васильев Н.Е., 2006]. Уникальность действия ФДТ обусловлена индукцией повреждений биологических структур под действием природных регуляторов клеточной пролиферации, метаболизма и апоптоза [Agarwal M.L., 1991; Kessel D., 1998; Lilge L., 2000]. В настоящее время рассматривается три основных механизма противоопухолевого действия ФДТ - прямое повреждение опухолевых клеток, нарушение сосудистой стромы опухолей, элиминация под действием иммунных клеток [Фильченкова А.А., 1998; Странадко Е.Ф., 1999; Куценко В.В., 2003; Якубовская Р.И., 2004; Nowis D., 2005]. Важным фактором индукции ФДТ-опосредованного иммунного ответа является повреждение клеточных мембран и сосудов опухоли [Васильев Н.Е., 2006]. Фотоокислительные нарушения индуцируют выделение медиаторов,

провоцирующих местную воспалительную реакцию. Следствием этих процессов является окклюзия сосудов опухоли и индуцированная цитотоксическая активность клеток воспаления в отношении опухолевых клеток. Разрушение клеток и сосудов опухоли служит пусковым фактором развития специфических иммунных реакций [Ярилин А.А., 1999].

В отделе лазерной и фотодинамической терапии ГУ-Медицинский радиологический научный центр РАМН в течение ряда лет разрабатывается метод ФДТ для разрушения метастатических очагов в кожу при диссеминированных формах МК вопреки бытующему мнению о резистентности к ФДТ тканей, богатых пигментом. Однако вопрос о выборе наиболее эффективной методики ФДТ, а также ФС для лечения МК остается нерешенным. Известно, что лазерное излучение с длиной волны менее 800 нм плохо поглощается пигментом, и соответственно, для разрушения клеток пигментной меланомы в процессе ФДТ эффективны ФС и источники излучения с длиной волны более 800 нм. Возможно это связано с содержанием неодинакового количества и неоднородного распределения пигмента в клетках меланомы, фотоиндуцированной деструкции сосудов, питающих опухоль, а также с активацией неспецифических иммунных механизмов под воздействием ФДТ. Вместе с тем появился ряд экспериментально-клинических работ, показывающих высокую эффективность ФДТ в лечении МК с применением ФС с длиной волны 660-680 нм [Bussetti A., 1998; Shopova M., 1999].

Цель работы. Целью настоящей работы является разработка и оценка эффективности методики фотодинамической терапии кожных метастазов при диссеминированной меланоме кожи.

Основные задачи исследования.

1. Разработать методику фотодинамической терапии экспериментальной опухоли меланомы В16.
2. Изучить фармакокинетику фотосенсибилизаторов «Фотолон» и «Фотосенс»; фотодинамический эффект при различных параметрах проведения фотодинамической терапии экспериментальной опухоли меланомы В16.
3. Разработать методику фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором «Фотолон» кожных метастазов при диссеминированной меланоме кожи в клинике.
4. Оценить эффективность разработанной методики фотодинамической терапии в зависимости от расположения метастатических опухолей (интра- и субдермальных).

Научная новизна.

1. Впервые разработана и оценена методика фотодинамической терапии меланомы В16 с фотосенсибилизаторами «Фотолон» и «Фотосенс» в эксперименте. Определено время оптимального накопления, доза вводимых фотосенсибилизаторов, параметры лазерного облучения для эффективной ФДТ меланомы В16.

2. Впервые представлена и апробирована методика фотодинамической терапии кожных метастазов при диссеминированной меланоме кожи с фотосенсибилизатором хлоринового ряда. Впервые изучено влияние разработанной методики на регрессию интра- и субдермальных метастазов при диссеминированной меланоме, на улучшение качества жизни больных с данной патологией и даны рекомендации для применения в практическом здравоохранении.

Практическая значимость работы. Экспериментально разработанная методика ФДТ меланомы В16 дала возможность применить данный метод в лечении кожных метастазов при диссеминированной меланоме в клинике. ФДТ является эффективным методом паллиативной помощи больным диссеминированной меланомой. Применение этого метода улучшает результаты комбинированного лечения, повышает качество жизни больных диссеминированной меланомой, что позволяет рекомендовать разработанную методику ФДТ для более широкого внедрения в клиническую практику.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на Научно-практической конференции «Современные достижения лазерной медицины и их применение в практическом здравоохранении», Москва, 2006; на VI Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты», Москва, 2007; на XVI Научно-практической конференции «Современные возможности лазерной медицины и биологии», Великий Новгород, 2007. По материалам исследования опубликовано 8 печатных работ в отечественных изданиях.

Диссертация апробирована на научной конференции клинического сектора ГУ - Медицинский радиологический научный центр РАМН 05 июня 2007 г (протокол № 5).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, двух глав собственных исследований, обсуждения и заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа содержит 10 таблиц, 15 рисунков. Библиографический указатель включает 189 источников, из них 61 отечественных и 128 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Работа включает экспериментальную и клиническую части. Экспериментальные исследования выполнены на 135 животных (мыши линии F₁(СВА*С57В1/6)). В экспериментальной части работы изучена динамика накопления фотосенсибилизатора «Фотолон» (длина волны 666 нм) и «Фотосенс» (длина волны 670 нм) в меланоме В16, оценен эффект ФДТ опухоли меланомы В16 в зависимости от параметров лазерного излучения с длиной волны 660-670 нм, дозы вводимых фотосенсибилизаторов. В клинической части

разработана наиболее эффективная методика ФДТ с фотосенсибилизатором «Фотолон» кожных метастазов при диссеминированной меланоме, представлена эффективность разработанной методики по результатам лечения 80 метастатических очагов у 45 больных диссеминированной меланомой.

Исследования проводили с применением морфологических, клинических, ультразвуковых, математических методов. Статистическая обработка результатов производилась при помощи программы Statistica 6.0. В случае сравнения двух несвязанных выборок использовали непараметрический метод с U-критерием (критерий Уилкоксона-Манна-Уитни)

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали фотосенсибилизаторы второго поколения – «Фотосенс» ($\lambda=670$ нм, производный фталоцианинов), «Фотолон» ($\lambda=666$ нм, производный хлорина Е6). Источниками светового излучения служили полупроводниковые лазерные аппараты «Аткус-2» (ЗАО «Полупроводниковые приборы», Санкт-Петербург), длина волны 661 ± 1 нм, максимальная мощность рабочего излучения на выходе оптического разъема аппарата 2 Вт и «ЛД 680-2000» (ЗАО «Биоспек», Москва), длина волны 675 ± 5 нм, максимальная мощность рабочего излучения на выходе оптического разъема аппарата 1,5 Вт.

Для определения динамики накопления фотосенсибилизаторов в экспериментальной опухоли 74 животным вводили внутривенно ФС «Фотолон» в дозе 9 и 12 мг/кг, 61 животному – ФС «Фотосенс» в дозе 4 мг/кг массы тела. Количество вводимых фотосенсибилизаторов соответствовало минимальной клинической дозе (0,8-1 мг/кг для «Фотолона» и 0,3 мг/кг для «Фотосенса») с учетом коэффициента перерасчета дозы для мышей.

Измерения накопления ФС в опухолевой и здоровой тканях проводили на диагностическом спектрометрическом комплексе «Lesa-6» (ЗАО «Биоспек», Москва). Комплекс имеет оптоволоконное устройство для проведения зондирующего излучения к объекту исследования и регистрации обратно отраженного, обратно рассеянного и флюоресцентного излучений. Датчики подвели к коже над опухолью в четырех точках под прямым углом к объекту. Накопление в здоровых тканях определяли на противоположном бедре. Время экспозиции составляло 1-2 с. Анализ полученных спектров проводили по форме, величине и амплитуде сигнала. Фиксировали площадь (S_1) под пиком флюоресценции, определяющей содержание флюорофоров в тканях, площадь (S_2) под пиком отраженного лазерного излучения и их отношение (S_2/S_1). S_2 зависело от: степени пигментации анализируемого объекта, рельефа поверхности анализируемого объекта, пространственного положения световода в момент регистрации спектра. По отношению S_2/S_1 оценивали уровень флюоресценции, что позволило определить среднее значение накопления препарата в тканях на определенный срок после введения ФС. По отношению накопления ФС в пигментированной ткани опухоли и здоровой ткани

определяли индекс контрастности ($I_{\text{контр.}}$), при котором будет эффективна ФДТ меланомы В16 с ФС «Фотолон» и «Фотосенс»:

$$I_{\text{контр.}} = \frac{S_2 / S_1 \text{ опухоли}}{S_2 / S_1 \text{ здоровой ткани}}$$

Во время сеанса ФДТ облучение проводили перпендикулярно к поверхности опухоли. Границы поля облучения формировались с захватом здоровой ткани не менее 3-5 мм от видимой или пальпируемой границы опухоли. При введении ФС «Фотолон» эксперимент проводили с плотностью энергии падающего излучения (E): 75, 150, 200 и 300 Дж/см² и плотностью мощности (P_S): 0,38; 0,25; 0,12 Вт/см². При введении ФС «Фотосенс» – плотность энергии падающего излучения: 150 и 300 Дж/см², плотность мощности: 0,38; 0,25; Вт/см².

Динамику роста опухоли регистрировали на 3, 7, 10, 14 сутки после сеанса ФДТ. Объем опухоли вычисляли по формуле:

$$V = \frac{1}{6} \pi \times d_1 \times d_2 \times d_3,$$

где: $d_{1,2,3}$, – три взаимно перпендикулярные диаметры опухоли, $1/6\pi=0,52$ – постоянная величина, V-объем опухоли в см³.

Фотодинамический эффект оценивали с помощью показателя полной регрессии (отсутствие пальпируемой опухоли), показателя продолженного роста (рост опухоли после ФДТ) и коэффициента абсолютного прироста опухоли (K), рассчитываемого по формуле :

$$K = \frac{V_t - V_0}{V_0},$$

где V_0 – исходный объем опухоли, V_t – объем опухоли на определенный срок наблюдения.

При этом рассматривались градации K:

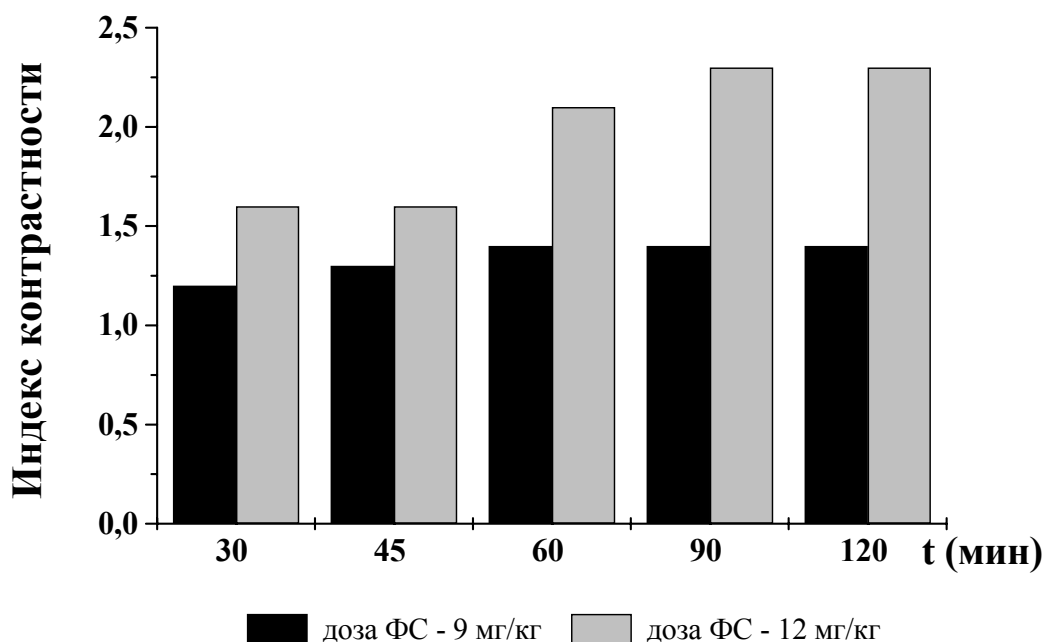
- K=-1, соответствует полной регрессии опухоли, когда визуально и пальпаторно опухоль не определяется;
- K >0, указывает на рост опухоли.

Контролем служили интактные животные-опухоленосители (число особей n=30).

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование динамики накопления «Фотолон» в меланоме В16 и здоровой тканях показало, что с увеличением дозы введенного препарата с 9 до 12 мг/кг повышается уровень накопленного сенсibilизатора в опухоли. Через 1,5 ч после введения «Фотолон» (рис. 1) при всех использованных дозах индекс контрастности достигает значения 1,4 (при введении ФС в дозе 9 мг/кг) и 2,3 (при введении ФС в дозе 12 мг/кг).

Рис. 1. Индекс контрастности опухоль/здоровая ткань после внутрибрюшинного введения "Фотолона"



Исследование динамики накопления «Фотосенса» в дозе 4 мг/кг в опухолевой и здоровой тканях показало, что максимальное накопление препарата в пигментированных тканях опухоли имеет индивидуальные колебания. Высокое содержание препарата в опухоли отмечается уже через 1 ч и сохраняется в течение суток. Однако в здоровых тканях так же наблюдается высокое содержание ФС (индекс контрастности опухоль/здоровая ткань составлял 1,0). Через 24 ч после введения «Фотосенса» значение индекса контрастности опухоль/здоровая ткань соответствует 2,6 (рис. 2). С учетом полученных значений индексов контрастности опухоль/здоровая ткань сеансы ФДТ в эксперименте начинали через 1,5 ч после введения «Фотолона» и через 24 ч после введения «Фотосенса».

Оценка динамики развития опухолей меланомы В16 после ФДТ с ФС «Фотолон» показала, что максимальный фотодинамический эффект отмечался при дозе введенного сенсibilизатора 12 мг/кг и плотности энергии 150 Дж/см² ($P_s=0,12$ Вт/см²). При этом сочетании полная регрессия меланомы отмечается в 50% случаев. С увеличением плотности мощности в 2 и 4 раза, показатель полной регрессии опухолей не улучшается, однако коэффициент абсолютного прироста опухоли после ФДТ во всех группах достоверно отличался от контроля (таблица 1).

Рис. 2. Индекс контрастности опухоль/здоровая ткань после внутрибрюшинного введения "Фотосенса"

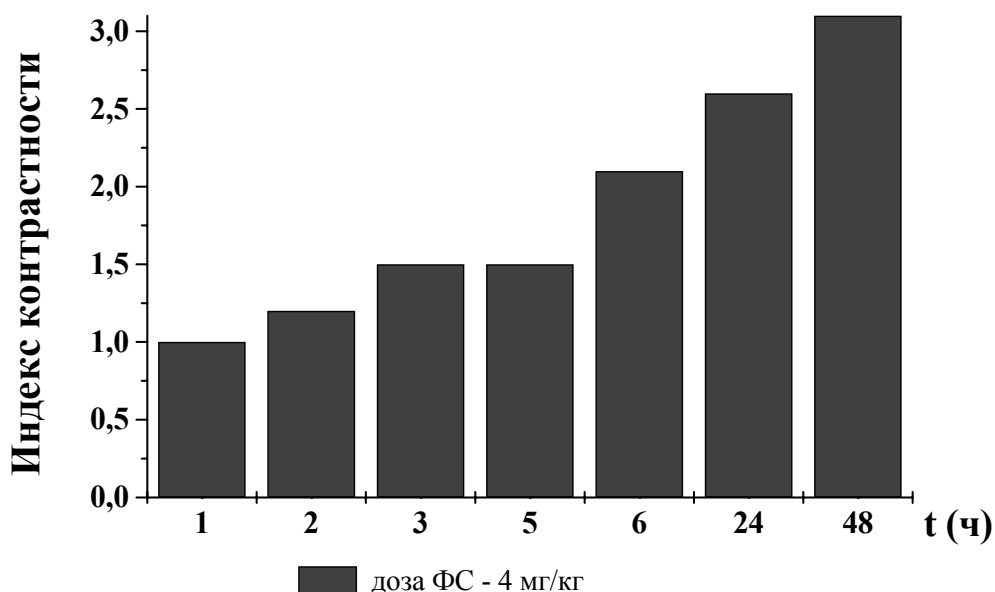


Таблица 1

Эффективность ФДТ меланомы В16 с использованием «Фотолона»

Доза ФС мг/кг	E, Дж/см ²	P _s , Вт/см ²	n	Полная регрессия опухоли		Продолженный рост опухоли		Коэффициент абсолютного прироста опу- холи на 14 сут.
				абс.	%	абс.	%	
9	75	0,12	9	0	0	9	100	14,66±3,78*
	150	0,12	9	1	11	8	89	8,01±2,62
	150	0,38	12	1	9	11	91	18,70±4,49
	200	0,38	7	0	0	7	100	38,68±10,15
	300	0,38	8	0	0	8	100	22,64±5,51
12	75	0,06	9	0	0	9	100	46,44±6,89
	150	0,12	10	5	50	5	50	13,16±6,17*
	150	0,25	8	2	25	6	75	10,34±3,89*
	150	0,38	9	0	0	9	100	14,53±3,54*
Контроль			31	0	0	31	100	35,45±4,03

* - достоверность различий с контролем по U-критерию Манна Уитни (p<0,05)

При оценке динамики развития опухолей после ФДТ с фотосенсибилизатором «Фотосенс» в дозе 4 мг/кг обнаружено, что высокий фотодинамический эффект отмечается при плотности энергии 150 Дж/см², 300 Дж/см² (P_s=0,25 Вт/см²). При этих сочетаниях полная регрессия меланомы

отмечается в 13% случаев. С увеличением плотности мощности в 2 раза показатель полной регрессии опухолей снижается, однако коэффициент абсолютного прироста опухоли во всех группах достоверно отличается от контроля (таблица 2). В пределах использованных режимов ФДТ значимой разницы коэффициента абсолютного прироста меланомы В16 между группами не получено.

Таблица 2

Эффективность ФДТ меланомы В16 с использованием ФС «Фотосенс»

Доза ФС мг/кг	E, Дж/см ²	P _s , Вт/см ²	n	Полная регрессия опухоли		Продолженный рост опухоли		Коэффициент абсолютного прироста опу- холи на 14 сут.
				абс.	%	абс.	%	
4	75	0,12	13	0	0	13	100	9,48±2,91*
	150	0,25	11	1	13	7	87	13,64±2,60*
	150	0,38	7	0	0	7	100	16,28±3,39
	300	0,25	8	1	13	7	87	23,77±13,73*
Контроль			19	0	0	19	100	62,39±14,25

* - достоверность различий с контролем по U-критерию Манна Уитни (p<0,05)

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические исследования проводили 45 больным диссеминированной меланомой с кожными метастазами. Среди них было 19 мужчин и 26 женщин в возрасте от 18 до 76 лет. Перед началом лечения все пациенты были проинформированы о целях исследования, ожидаемых результатах и необходимости соблюдения светового режима. У всех больных диагноз был морфологически верифицирован и соответствовал на момент лечения IV стадии заболевания по классификации AJCC (клинические рекомендации Американского онкологического общества от 2002 г.). Это были больные, которые проходили неоднократное лечение хирургическим методом, неоднократные курсы полихимиотерапии, иммунотерапии, лучевой терапии.

Всего было пролечено 80 метастатических очагов. Форма, расположение метастазов диагностировались с помощью УЗИ до начала лечения. В зависимости от расположения к дермальному слою кожи, что учитывало физические возможности проникающей способности лазерного излучения с длиной волны 666 нм, все метастазы были разделены на интрадермальные и субдермальные.

Интрадермальными метастазами считали опухолевые очаги, расположенные в эпидермальном и дермальном слое кожи на глубине до 0,5 см от поверхности - 59 очагов, субдермальные метастазы располагались на границе ретикулярного слоя дермы и подкожно-жировой клетчатки, в самой подкожно-жировой клетчатке, а также могли захватывать мышечный слой на глубине 0,5-2,0 см от поверхности кожи - 21 очаг.

Так как экспериментальные данные показали подобную эффективность фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами «Фотолон» и «Фотосенс», для клинических исследований был выбран «Фотолон», как обладающий более коротким периодом кожной фототоксичности. Раствор «Фотолона» готовили ex tempore и вводили в дозе 1,0-1,5 мг/кг массы тела больного внутривенно капельно за 3 ч до начала сеанса ФДТ. До начала и непосредственно после сеанса ФДТ проводили флюоресцентную визуализацию и спектральный компьютерный анализ. Если визуализировался очаг мало- или беспигментной меланомы, мы видели достаточно ярко свящающееся пятно на фоне темных здоровых тканей и фиксировали фотопики накопления «Фотолона» в опухоли, в 3-4 раза превышающие фотопики накопления в здоровых тканях. Облучение проводили на лазерных аппаратах «Аткус-2», «ЛД 680-2000» с дозой лазерного облучения 150-300 Дж/см², с плотностью мощности 0,3-0,5 Вт/см². Непосредственно после лечения появление темного пятна на месте ранее яркосветящегося свидетельствовало о прореагировавшем ФС и развитии начальных признаков геморрагического некроза в результате фотохимической реакции. При этом спектральный анализ фотопиков ФС выявлял снижение их до уровня со здоровыми тканями.

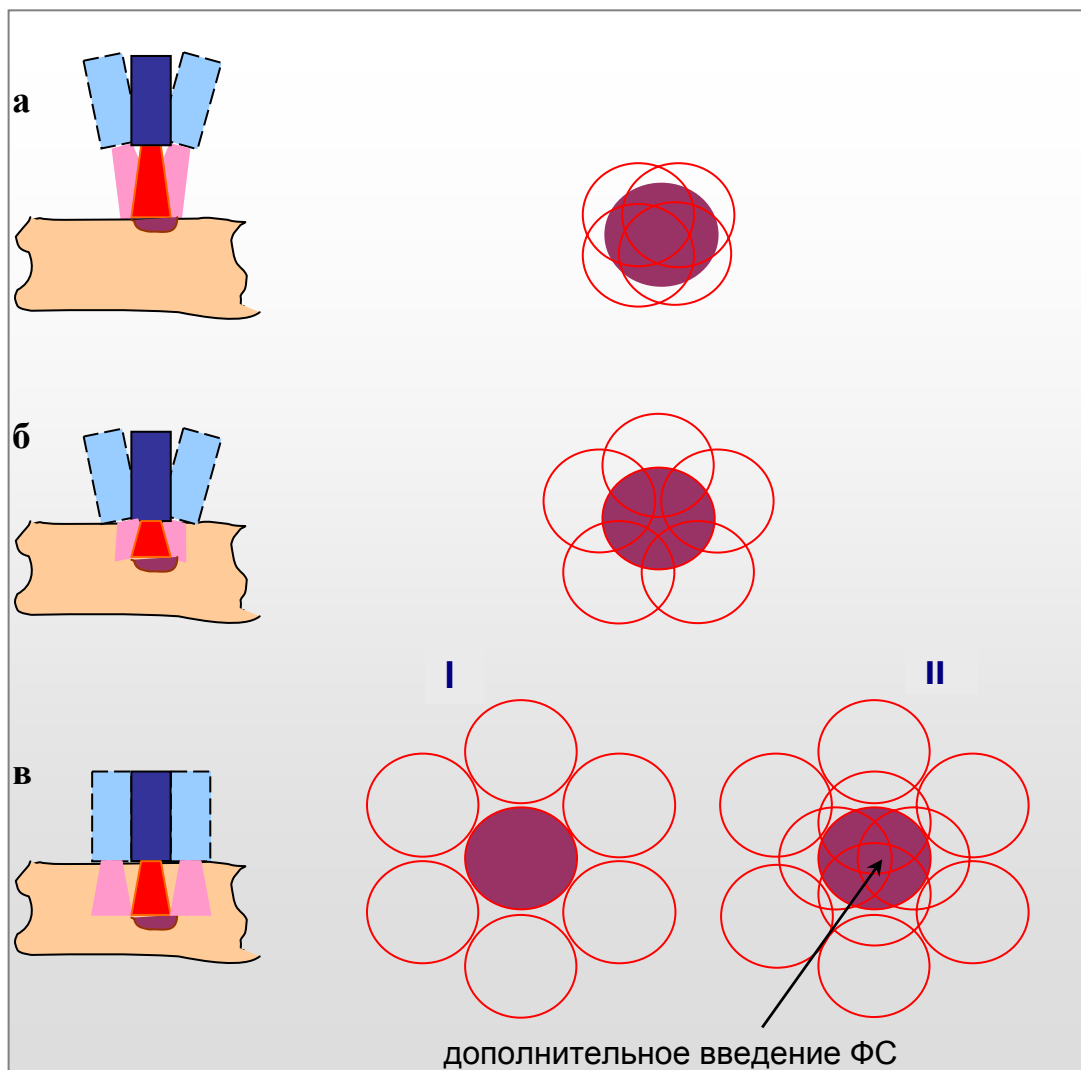
Разработка методики ФДТ кожных метастазов меланомы

Дистанционная. На первом этапе облучение всех метастазов было дистанционным. Очаги до 1 см в диаметре облучали одним полем, при большем диаметре – с 3-4 полей с их перекрытием на 3-4 мм и захватом здоровых тканей до 5 мм. Суммарная доза лазерного излучения с учетом воздействия несколькими полями составляла 900-1200 Дж на очаг (рис.3 а).

На 3-5 сутки после сеанса ФДТ проводилось цитологическое исследование материала, полученного пункционной тонкоигольной биопсией под контролем УЗИ из периферической и центральной частей образований. Отмечалось наличие полиморфной картины лечебного патоморфоза, иногда с присутствием неизмененных клеток меланомы, что не исключало в дальнейшем возможности развития рецидива и требовало проведения повторных сеансов ФДТ.

Контактная I. С целью оптимизации доставки лазерного излучения применяли контактное облучение очагов. Для этого использовали световоды с контактными линзами диаметром 0,5 и 1,0 см, во время лечения применяли дополнительный нажим на линзы, что уменьшало толщину подлежащих тканей и способствовало снижению поглощения лазерного излучения гемоглобином крови за счет уменьшения кровенаполненности сосудов. Облучение осуществляли несколькими полями с перекрытием соседних на 3-4 мм и с захватом окружающих тканей на 0,5-1,0 см. Контактный способ облучения позволил увеличить дозу подводимого лазерного излучения до 1200-1800 Дж на очаг без повреждения поверхностно расположенных здоровых тканей, а также увеличить площадь захвата окружающей ткани с питающими сосудами (рис. 3 б).

Рис. 3. Способы проведения ФДТ кожных метастазов при диссеминированной МК: а – дистанционный, б – контактный 1, в – контактный 2

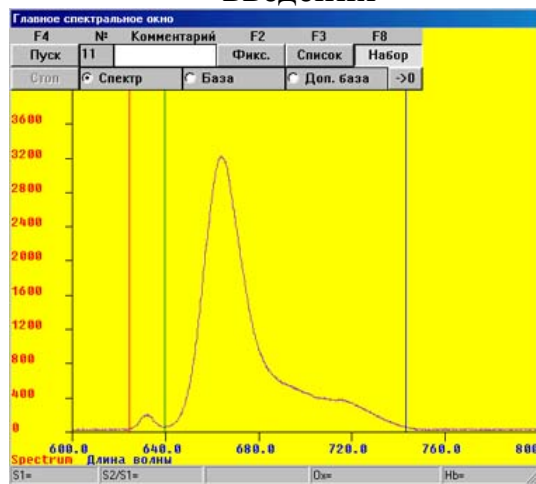


При цитологическом исследовании материала неизменных клеток меланомы зафиксировано не было. Выявляли наличие лечебного патоморфоза умеренной и выраженной степени, с большей долей умеренного в субдермальных очагах.

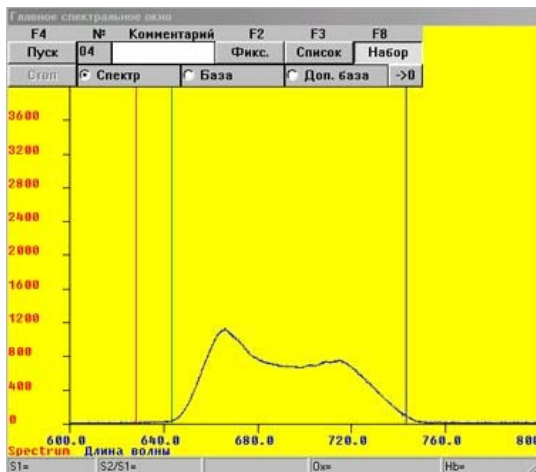
В некоторых случаях отмечали недостаточную визуальную выраженность геморрагического некроза в уже пролеченных субдермально расположенных очагах, при этом флуоресцентный анализ свидетельствовал о наличии остаточного ФС в опухолевой ткани, что давало возможность для проведения повторного сеанса ФДТ. Однако проведя спектрометрическое исследование флуоресценции оставшегося препарата обнаружили, что пик флуоресценции видоизменился: фотопик, характерный для флуоресценции «Фотолон» (длина волны 666 нм), значительно снизился с одновременным увеличением пика в

области 700-730 нм (рис. 4). Это свидетельствовало о конверсии «Фотолон» в другие вещества (пурпурины), не обладающие фотодинамическим эффектом [Пономарев Г.В., 2006].

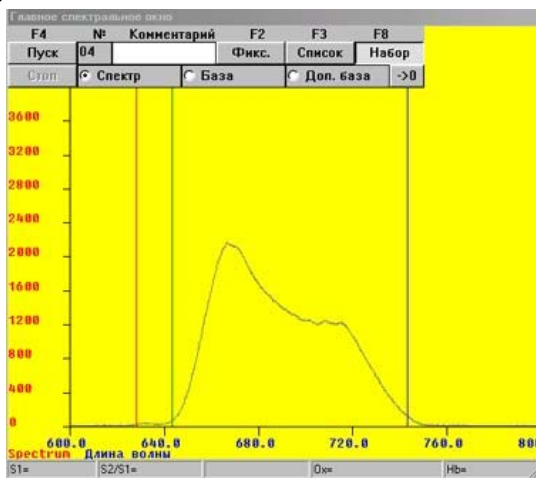
Рис. 4. Спектрометрические показатели флюоресценции «Фотолон»:
а – через 3 ч после введения; **б** – на 2-е сутки; **в** – после дополнительного введения



а



б



в

Это свидетельствовало о конверсии «Фотолон» в другие вещества (пурпурины), не обладающие фотодинамическим эффектом [Пономарев Г.В., 2006.

Контактная П. С учетом установленного факта, субдермально расположенные очаги облучали по следующей методике: в 1-е сутки ФС вводили системно и облучали контактным способом только периферическую часть опухоли с максимальным захватом окружающих тканей для того, чтобы блокировать содержащиеся в них сосуды. На 2-е сутки применяли дополнительное локальное введение 1% раствора «Фотолон» интратуморально в объеме 0,3-0,5 мл и облучали только центральную часть очага. Суммарная доза лазерного излучения за 2 сут. максимально составляла 3000 Дж на очаг (рис. 3 в).

Цитологический материал из субдермальных очагов, пролеченных по вышеописанной методике, выявлял лечебный патоморфоз выраженной степени.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Непосредственные результаты лечения метастазов меланомы мы оценивали через 1-2 мес после окончания лечения по критериям ВОЗ, которые включали в себя показатели: полной и частичной регрессии (ПР, ЧР), стабилизации (Ст) и прогрессирования (Пр). Кроме того оценивался: *объективный ответ* – сумма полной и частичной регрессии (ПР+ЧР), *лечебный эффект* – сумма полной регрессии, частичной регрессии и стабилизации (ПР+ЧР+Ст). При лечении интрадермальных очагов были получены следующие результаты: ПР-34%, ЧР-39%, Ст-25%, Пр-2%. Объективный ответ составил 73%, а лечебный эффект – 98%. Лечение субдермальных очагов привело к следующим результатам: ПР-9,5%, ЧР-19%, Ст-68% и Пр – 5%. Объективный ответ – 28,5%, а лечебный эффект – 96,5% (таблица 3).

Таблица 3

Данные об эффективности ФДТ кожных метастазов при диссеминированной МК с препаратом «Фотолон»

Локализация метастатических очагов	Кол-во очагов	Результаты лечения			
		ПР	ЧР	Ст	Пр
<i>Интрадермально</i>	59 73,8%	20 33,9%	23 39,0%	15 25,4%	1 1,7%
<i>Субдермально</i>	21 26,2%	2 9,5%	4 19,0%	14 66,7%	1 4,8%
<i>Всего</i>	80 100%	22 27,5%	27 33,8%	29 36,3%	2 2,5%

Таким образом, разработан новый метод локального разрушения интра- и субдермально расположенных метастазов диссеминированной меланомы, который можно использовать как паллиативный метод, улучшающий качество

жизни пациентов. Этот метод может применяться, когда проведение курсов химиотерапии, иммунотерапии, лучевой терапии невозможно в связи с тяжелой сопутствующей патологией, у пациентов пожилого возраста, так как не обладает токсическим системным воздействием на организм и не накапливает суммарную интегральную дозу облучения. Кроме того, применение данного метода может облегчить выбор терапевтического подхода, наиболее выгодного для той или иной группы пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Разработана методика фотодинамической терапии меланомы В16 с фотосенсибилизаторами «Фотолон» и «Фотосенс» в эксперименте, позволяющая получить значимое по сравнению с контролем снижение коэффициента абсолютного прироста опухоли ($K=13-14$ после ФДТ, $K=62$ в контроле).
2. Определено время оптимального накопления фотосенсибилизаторов «Фотолон» (1,5 ч) и «Фотосенс» (24 ч), доза вводимых фотосенсибилизаторов (12 мг/кг и 4 мг/кг массы животного, соответственно), доза лазерного облучения (150 Дж/см^2) для эффективной фотодинамической терапии меланомы В16.
3. Максимальный фотодинамический эффект – 50% полной регрессии меланомы В16 – отмечался при введении фотосенсибилизатора «Фотолон» в дозе 12 мг/кг и плотности энергии 150 Дж/см^2 ($P_S=0,12 \text{ Вт/см}^2$). При введении фотосенсибилизатора «Фотосенс» в дозе 4 мг/кг и плотности энергии 150 и 300 Дж/см^2 ($P_S=0,25 \text{ Вт/см}^2$) полная регрессия наблюдалась в 13%.
4. На основании экспериментальных данных определен наиболее оптимальный фотосенсибилизатор – «Фотолон» для фотодинамической терапии кожных метастазов при диссеминированной меланоме в клинике.
5. Разработаны методики дистанционной и контактной фотодинамической терапии с препаратом «Фотолон» интра- и субдермальных метастазов при диссеминированной меланоме глубиной залегания до 1,5-2,0 см от поверхности кожи и действии лазерного излучения с длиной волны 660-670 нм для использования в клинике.
6. Определены оптимальные параметры лазерного излучения длиной волны 660-670 нм для фотодинамической терапии кожных метастазов диссеминированной меланомы в клинике: плотность мощности $0,3-0,5 \text{ Вт/см}^2$, плотность энергии $150-300 \text{ Дж/см}^2$.
7. Разработанная методика позволила получить полную регрессию в 33,9%, частичную регрессию в 39,0%, стабилизацию в 25,4% при лечении интрадермальных метастазов, при этом объективный ответ (ПР+ЧР) составил 72,9%, а лечебный эффект (ПР+ЧР+Ст) – 98,3%. Лечение субдермально расположенных метастазов привело к следующим результатам: полная регрессия – 9,5%, частичная – 19,0%, стабилизация – 66,7%, при этом объективный ответ был получен в 28,5%, лечебный – в 95,2%.

8. При частичной регрессии после фотодинамической терапии или появлении новых метастатических очагов возможно проведение повторных сеансов, кото, рые могут проводиться многократно с целью поэтапного разрушения опухолей.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Боргуль О.В., Каплан М.А., Козлова Е.М. Возможности системной внутривенной фотодинамической терапии в лечении диссеминированных форм меланомы // Труды III международной конференции «Электромагнитные излучения в биологии» – Калуга, 2005 – С.38.
2. Каплан М.А., Кудрявцева Г.Т., Закурдяева И.Г., Боргуль О.В., Козлова Е.М., Пономарев Г.В. Предварительные результаты системной внутривенной фотодинамической терапии злокачественных опухолей III-IV стадии развития процесса //Физическая медицина, 2005. - Т.15, №1 – С.39-41.
3. Закурдяева И.Г., Кудрявцева Г.Т., Каплан М.А., Боргуль О.В., Капинус В.Н. Изучение возможности использования метода фотодинамической терапии при лечении диссеминированной меланомы кожи // Материалы IV съезда онкологов и радиологов СНГ – Баку, 2006 – С.189.
4. Каплан М.А., Мардынская В.П., Сокол Н.И., Малыгина А.И., Никитина Р.Г., Боргуль О.В., Михайловская А.А. Экспериментальная фотодинамическая терапия меланомы В16 с производными Хлорина Е₆ // Физическая медицина – 2006, Т.16 – №2 – С.9-14.
5. Боргуль О.В., Каплан М.А., Капинус В.Н. Фотодинамическая терапия диссеминированной меланомы с фотосенсибилизатором «Фотолон» // Материалы научно-практической конференции «Современные достижения лазерной медицины и их применение в практическом здравоохранении» – Москва, 2006 – С.138.
6. Кудрявцева Г.Т., Каплан М.А., Закурдяева И.Г., Борисова Т.Н., Боргуль О.В., Капинус В.Н. Комбинированное лечение метастатической меланомы кожи // Материалы VII Всероссийского научного форума «Радиология 2006» – Москва, 2006 – С.142.
7. Боргуль О.В., Каплан М.А., Капинус В.Н., Мардынская В.П., Малыгина А.И., Никитина Р.Г., Бурмистрова Н.В. Фотодинамическая терапия в лечении диссеминированной меланомы кожи // Российский биотерапевтический журнал – 2007, Т.6 – №1 – С.11-12.
8. Шубина А.М., Боргуль О.В., Каплан М.А., Капинус В.Н., Никитина Р.Г. Применение внутривенной фотодинамической терапии у животных с саркомой М1 и онкобольных с III-IV стадией опухолевого процесса // Сборник научных трудов XVI научно-практической конференции «Современные возможности лазерной медицины и биологии» – Великий Новгород - Калуга, 2007 – С.222-226.