

А.А. Фильченков
В.Н. Залесский

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

*Национальный центр
«Институт кардиологии
им. Н.Д. Стражеско», Киев,
Украина*

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭНДОБРОНХИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Ключевые слова:

*фотодинамическая
терапия, рак легкого,
обструктивная пневмония,
bronхиальная эндоскопическая
ультрасонография,
фотосенсибилизатор, активные
формы кислорода, апоптоз,
некроз.*

Резюме. В обзоре проанализированы результаты клинических исследований эффективности применения фотодинамической терапии (ФДТ) в области онкопульмонологии с терапевтической либо диагностической целью, а также обсуждаются молекулярные механизмы цитотоксического действия ФДТ.

ВВЕДЕНИЕ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой способ светозависимого лечения больных, основанный на использовании фотосенсибилизаторов (ФС), повышающих чувствительность накопившихся ФС тканей к свету определенной длины волны. Исходно являясь нетоксичными соединениями, ФС активируются светом (в том числе лазерным) и передают энергию фотонов молекулярному кислороду с образованием активных форм кислорода, которые обуславливают такие фототоксические эффекты, как апоптоз и/или некроз опухолевых клеток [3], повреждение микроциркуляторного русла [2, 57], а также индукцию иммунологических реакций [18].

Известно, что глубина проникновения фотонов и выраженность зоны деструкции тканей в процессе ФДТ являются функцией тканевого светопоглощения, а длина волны падающего света подбирается для максимальной активации фотосенсибилизирующего соединения. Установлено, что только поглощенные ФС фотоны света, проникая в ткани, обладают выраженным противоопухолевым действием, которое обеспечивается преимущественной задержкой и накоплением ФС в опухолевых клетках, а также избирательным фотоповреждением неопластических очагов.

В начале 80-х годов прошлого столетия сотрудниками Института проблем онкологии АН Украины установлено, что введение в опухолевую ткань соединений порфиринового ряда усиливает фототоксический эффект лазерной радиации сине-зеленой области спектра [1, 20]. В результате этих доклинических исследований убедительно продемонстрировано наличие у препаратов порфиринового ряда фотосенсибилизирующей активности по отношению к

опухолевым клеткам. Примерно в это же время Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США (FDA) Министерства здравоохранения США в качестве первого ФС был сертифицирован препарат фотофрин («Photofrin», **Axcan Scandipharm, Inc.; США**). С тех пор фотофрин начали применять в клинике для лечения эндобронхиального рака легкого, обструктивного рака пищевода, а также с паллиативной целью при различных формах опухолей [16]. Позже были получены и внедрены в онкологическую клинику другие ФС (**Foskan, Levulan, Visidin**). Успехи их применения способствовали разработке ФС нового поколения (**Antrin, Purlytin, Verteporfin, Talaporfin**), которые в настоящее время проходят клинические испытания при лечении рака шейки матки, опухолей желудочно-кишечного тракта, новообразований мочевого пузыря и других локализаций. Крупномасштабные исследования эффективности ФДТ у больных раком легкого (РЛ) проведены в ряде ведущих пульмонологических центров Западной Европы, США и Японии.

В журнале «Онкология» уже были опубликованы работы по проблеме ФДТ [4, 5], однако в них не рассматривались вопросы, связанные с использованием этого метода для лечения больных РЛ. Цель данной статьи — анализ результатов клинического применения ФДТ в области онкопульмонологии, а также обобщение современных представлений о молекулярных механизмах действия (в рамках ФДТ) фотофрина и других фотосенсибилизирующих препаратов.

ФДТ ранних стадий РЛ. Известно, что золотым стандартом в лечении больных с ранними стадиями РЛ является хирургическая резекция первичного очага поражения. При этом 5-летняя выживаемость пациентов с опухолями I стадии после анатомичес-

кой резекции колеблется от 69 до 75% [17, 36]. Отмечено незначительное снижение этого показателя (до 64–69%) после сегментарной или клинообразной резекции очага поражения [13, 17]. В связи с тем, что РЛ на ранних стадиях развития протекает у большинства больных с сохранением функции легочного дыхания, многие пациенты отказываются от хирургического вмешательства. Этим больным рекомендуют паллиативное лечение химиолучевыми методами, однако у данной категории пациентов такая терапия проводится реже, чем хирургическое иссечение опухоли. Несмотря на то, что лучевая терапия более щадящий метод в плане сохранения у больных функции внешнего дыхания, возникающее резкое ограничение легочного резерва препятствует продолжению лучевой терапии, и тогда становится целесообразным подвергать больных ФДТ.

D.A. Cortese и соавторы [12] представили результаты лазерной ФДТ при ранних стадиях РЛ: 10 больным с опухолями небольшого размера и трахеобронхиальной локализацией с помощью бронхоскопа была проведена ФДТ с использованием гематопорфирина. Полную ремиссию отмечали у 4 пациентов, тогда как у остальных (с большей глубиной прорастания опухоли) ремиссия была лишь частичной. Данные наблюдения свидетельствуют о том, что ФДТ может служить методом выбора в лечении опухолей легкого эндобронхиальной локализации. Другие исследователи [50] проводили ФДТ у 26 больных с неоперабельной формой мелкоклеточного РЛ. При этом у 10 из 11 пациентов с I стадией заболевания достигнута полная регрессия опухоли: у больных с III стадией отмечали частичную ремиссию в 10 из 15 случаев. Необходимо отметить, что 4 из них ранее уже проводили лучевую терапию, брахиотерапию либо лазерное (Nd-YAG) лечение геморрагических процессов в легком. Во всех случаях достигнут объективный эффект, однако у 2 пациентов через 6 нед появились признаки прогрессирования опухолевого роста.

K. Furuse и соавторы [19] сообщили результаты второй фазы клинических испытаний ФДТ у больных с центральной формой РЛ (начальные стадии). За 48 ч до сеанса лазерного облучения пациенты принимали фотофрин в дозе 2 мг/кг массы тела. Из 58 патологоанатомически подтвержденных случаев в 50 (85%) достигнута полная ремиссия, отмечаемая через 14 мес (по данным бронхоскопических исследований). Авторы отмечают минимальный уровень токсического воздействия: аллергические реакции составили 8%, легочная токсичность — 8%, транзиторный подъем уровня трансаминаз — 2% и фототоксическая реакция кожи — 2%. При этом степень деструкции опухолевого узла зависела от его диаметра и была высокой в случаях, когда последний был менее 10 мм. Эти результаты показывают зависимость эффективности лечения от глубины инвазии опухоли и ее размеров. Можно надеяться, что современная методика бронхиальной эндоско-

пической ультрасонографии позволит определять истинные размеры эндобронхиальных опухолей и отбирать пациентов для проведения ФДТ.

На базе университетских клиник Японии были проведены многоцентровые рандомизированные исследования эффективности эндобронхиальной ФДТ при РЛ с применением жестких программ отбора пациентов. **H. Kato и соавторы [25] сообщили результаты 10-летних наблюдений за 240 больными (283 опухоли разной локализации), получившими ФДТ.** После проведения процедуры ФДТ отмечали полную ремиссию у 79 (83%) из 95 пациентов с ранней стадией заболевания и центральной формой локализации РЛ. Группой авторов из клиники Мэйо (штат Миннесота, США) [11] метод ФДТ был включен в программу базисного лечения 27 пациентов с эпителиально-клеточным РЛ центральной локализации. Через 72 ч после приема производного гематопорфирина в концентрации 2,5 мг/кг массы тела всех больных подвергли ФДТ красным светом лазера (630 нм). Полная ремиссия достигнута у 15 из 21 (71%) пациентов (3-месячное наблюдение). У 7 больных отсутствие рецидивов отмечали на протяжении 12 мес после ФДТ. В то же время 9 из 21 (43%) пациентов избавлены от каких-либо хирургических вмешательств на протяжении 8 мес наблюдения после проведения ФДТ.

Среди практикующих онкологов ФДТ в первую очередь ассоциируется с лечебными подходами. Однако этот метод применяют также с целью диагностики опухолей легкого эндобронхиальной локализации, а также для оценки распространенности процесса и планирования объемов оперативных вмешательств [24, 46]. На ранних стадиях РЛ по результатам аутопсии регистрируют морфологические различия на границе опухоль/здоровые ткани. В институте Рокуэля Паркса (штат Мэриленд, США) прошли успешные клинические испытания системы для флуоресцентной диагностики **Life-System («Xillix Corp.», США), с помощью которой может быть осуществлена прижизненная визуализация участков дисплазии эпителия бронхов и ранней стадии эпителиального рака бронхов.** Данная система обеспечивает надежный диагностический контроль на самых ранних стадиях развития РЛ, еще до момента появления первых клинических симптомов заболевания.

Паллиативная ФДТ обструктивных процессов при РЛ. Обструктивные эндобронхиальные изменения, обусловленные ростом мелкоклеточного РЛ, могут быть причиной появления такой симптоматики, как резкое ограничение функции дыхания и обструктивная пневмония. Для больных, не подлежащих первичной резекции, стандарт лечения включает лазерную абляцию, постановку стента или лучевую терапию (рисунок).

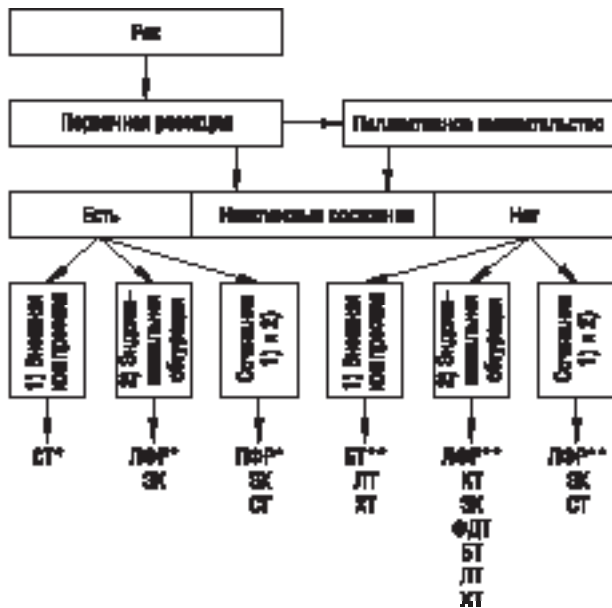


Рисунок. Алгоритм лечения трахеобронхиальной обструкции, обусловленной ростом опухоли легкого (адаптировано по [34])

*С последующей химиотерапией или лучевой терапией; ** может применяться как самостоятельно, так и в сочетании с другими лечебными мероприятиями. ЛФР – лазерная фоторезекция; ЭХ – электрохирургия; СТ – стентирование; ЛТ – лучевая терапия; ХТ – химиотерапия; БТ – брахитерапия; КТ – криотерапия.

Оказалось, что ФДТ также эффективна для лечения обструктивных эндобронхиальных поражений опухолевого генеза. Описаны результаты рандомизированных исследований, проведенных у 31 пациента с клиникой частичной или полной легочной обструкции, развившейся на фоне роста неоперабельной формы немелкоклеточного РЛ [14]. У 14 больных проведена ФДТ, а у 17 — лазерная абляция (Nd-YAG). Более устойчивый лечебный эффект отмечен у больных первой группы. В другом рандомизированном исследовании [16] результаты ФДТ сравнивали с лазерной абляцией (Nd-YAG) у 211 больных РЛ (с неполной легочной обструкцией), прошедших лечение в 35 центрах США и Западной Европы. Результаты проведенного анализа оказались такими: при учете через неделю (но не через год, как в работе [14]) эффективность использования ФДТ оказалась выше по сравнению с Nd-YAG-группой (Европа — 61 и 36%, США — 42 и 19% соответственно).

К. Moghissi и соавторы [41] представили данные о результатах ФДТ 100 пациентов с неоперабельным РЛ IIIa–IV стадии, отягощенным обструктивным эндобронхиальным процессом. Фототерапия, проведенная через 24–72 ч после приема фотофрина (доза 2 мг/кг массы тела), вызывала снижение уровня эндолюминальной обструкции с 86 до 18%. Согласно тестам жизненной емкости легких и объема форсированного выдоха за 1-ю секунду, у таких больных отмечалось улучшение состояния функции дыхания. Средний срок наблюдения составил 5 мес. Данное исследование подтвердило обоснованность применения ФДТ при состояниях,

обусловленных опухользависимой обструкцией дыхательных путей.

В другом пилотном исследовании [40] авторы применяли ФДТ с целью паллиативного лечения неоперабельных обструктивных трахеобронхиальных процессов. 17 пациентам проведена Nd-YAG-абляция на протяжении 6 нед после ФДТ. Несмотря на резкую выраженность симптомов до лечения, у 7 больных отмечали полную ремиссию на протяжении от 3 до 6 мес. 2-летняя выживаемость составила 47%. При этом комбинированное воздействие (Nd-YAG лазерная деструкция + ФДТ) оказалось эффективным в случаях паллиативного лечения больных с неоперабельными формами обструктивного рака и метастазами легочного генеза.

Результаты лечения эндобронхиального метастазирования нелегочного происхождения представлены в работе J.S. McCaughan [37]. Ретроспективный анализ 13 случаев метастазирования в легкие проведен для сравнения качества жизни этих пациентов с 27 случаями немелкоклеточного (IV стадия) РЛ. Всем больным проведена ФДТ. Достоверные отличия выявлены в степени выраженности диспноэ, кровохарканья, кашля и по изменениям пробы Карновского. Средняя выживаемость составила 14 мес у пациентов с метастазированием нелегочного генеза и 4 мес — у больных с первичной опухолью в легком. При этом качество жизни больных после проведенной терапии существенно улучшилось, что связывают со снижением степени легочной обструкции. Хотя в ряде вышеприведенных работ описано повышение средней выживаемости больных после ФДТ, некоторые исследователи не разделяют точки зрения о возможности существенного изменения продолжительности жизни после применения ФДТ с паллиативной целью.

Трудности ранней диагностики обуславливают незначительный процент выявления больных с поверхностной эндобронхиальной локализацией опухоли легкого. Разработаны новые молекулярно-генетические маркеры для ранней диагностики этих состояний. Для выявления больных РЛ предложено использовать определение экспрессии гена *FHIT* (Fragile Histidine Triad), который локализован в третьей хромосоме (участок 3p14.2) и является одним из ранних опухолевых маркеров [60]. Известно, что этот ген восприимчив к генотоксическим факторам окружающей среды, в том числе к асбесту и продуктам табакокурения. Отсутствие белка FHIT в опухолевых клетках коррелирует с высоким пролиферативным и низким апоптотическим индексами, является независимым прогностическим фактором для больных с немелкоклеточным РЛ [51]. Оценка экспрессии FHIT в предопухолевых и опухолевых тканях бронхов может явиться важным критерием отбора больных для проведения ФДТ. Сегодня уже разрабатываются флуоресцентно-диагностические методы прижизненной оценки экспрессии генов с помощью эндобронхоскопа [46]. T.J. van Boxem и

соавторы [54] сообщили о результатах пилотного исследования, в котором 19 больных с небольшими эндобронхиальными опухолями получили ФДТ в качестве терапии первой линии. Полная ремиссия достигнута у 14 больных (73%) при среднем сроке наблюдения 29 мес. При этом одному пациенту с рецидивом заболевания потребовалась хирургическое вмешательство (в связи со стенозом в области крупного бронха). Авторы сообщения полагают, что в случаях эффективной ранней диагностики предопухолевых процессов в просвете бронхов необходимость в проведении хирургического вмешательства может вообще отпасть.

Механизмы фототоксического действия ФДТ. ФДТ основан на трехкомпонентном воздействии, предполагающем обязательное участие ФС, света, поглощенного сенсibilизатором, и молекулярного кислорода. Образующиеся молекулы синглетного кислорода, обуславливающие эффекты ФДТ, взаимодействуют с липидами и белками опухолевых клеток, что приводит к их фотоповреждению [16]. Цитотоксическое действие ФДТ осуществляется с участием трех основных клеточных реакций: 1) непосредственной гибели опухолевых клеток в результате индукции окислительного стресса; 2) гибели опухолевых клеток, вызванной блокадой кровеносных сосудов, питающих опухолевый узел; 3) активации иммунологических реакций [2, 57]. Все перечисленные реакции напрямую зависят от типа ФС и его субклеточного распределения в опухолевой ткани. Кроме того, доставка молекул ФС (транспорт через гистогематические барьеры) к органам-мишеням и способ их введения в организм также отражаются на их фармакокинетике и эффективности ФДТ [9].

Место внутриклеточного накопления хромофоров имеет определяющее значение при ФДТ, поскольку для фотоактивированных ФС характерен короткий радиус действия ($< 0,02$ мкм) [38]. Основными органеллами-мишенями для воздействия ФДТ являются митохондрии, лизосомы и цитоплазматическая мембрана. Кроме того, ФС могут сенсibilизировать к фотонам света такие клеточные компартменты, как аппарат Гольджи или эндоплазматический ретикулум. Благодаря определенным свойствам ФС (липофильность, гидрофобность и др.) происходит более активное их накопление и замедленное вымывание из клеток опухолевой ткани по сравнению с нормальной. Это обеспечивает отсутствие фототоксичности по отношению к неопухолевым клеткам при последующем световом воздействии.

Повышенной тропностью к митохондриям обладают такие ФС: фталоцианины, пурпурины, мероцианины, хлорины, феофорбиды, гиперидин и другие хромофоры [28, 56]. ФДТ-повреждение лизосом преимущественно вызывают фотофрин и сульфатированные соединения фенилпорфиринов [30, 42]. Согласно данным Y.J. Hsieh и соавторов [22],

цитотоксичность ФДТ при использовании производных фотофрина связана с тропностью этих ФС к плазматической мембране и аппарату Гольджи. ФДТ-повреждение эндоплазматического ретикулума происходит в случае фотоактивации полусинтетического феофорбида, полученного из хлорофилла растений [49].

При проведении ФДТ также следует учитывать имеющую место смену внутриклеточной локализации ФС после воздействия света. Например, для препаратов тетрафенилпорфинсульфонат и Zn-фталоцианин характерной оказалась релокализация молекул флюорохромов из лизосом в ядро и ядрышки после облучения клеток светом [58]. В зависимости от типа ФС, такая смена внутриклеточной локализации может существенно повышать [31, 35] либо снижать [39] чувствительность мест связывания ФС к интегральному световому потоку.

Как известно, в дыхательной цепи митохондрий, наряду с восстановлением молекулярного кислорода до воды, происходит реакция одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода с образованием супероксид аниона O_2^- [6]. При определенных условиях супероксид анион вступает в реакцию дисмутации, в результате которой образуются синглетный кислород и перекись водорода. Образование активных форм кислорода отмечается уже в первые минуты после облучения лазерным светом (при длине волны 670–675 нм) опухолевых клеток линии A-431, которые абсорбировали ФС Pc-4 [33]. При изучении механизмов апоптоза, происходящего в результате фотосенсibilизации митохондрий, было показано [27], что ФДТ вызывает снижение значений показателя электрохимического потенциала митохондриальной мембраны ($\Delta\psi_m$). Повышение проницаемости митохондриальной мембраны сопровождается выходом в цитоплазму цитохрома *c*, в присутствии которого (и АТФ) происходит взаимодействие прокаспазы-9 с адаптерным белком Araf-1, что приводит к образованию белкового комплекса, называемого апоптосомой, и активации эффекторной каспазы-3 (цит. по [11]). Такие клеточные реакции развиваются очень быстро и через 30–60 мин обычно появляются клетки с морфологическими признаками апоптоза [27].

Одной из митохондриальных мишеней ФДТ служит антиапоптотический белок Bcl-2. Показано [26, 53], что фотоповреждение Bcl-2 способствует активации каспазы-3, а также немедленному апоптозу клеток, накопивших ФС; однако гибели клеток не происходит, когда белок Bcl-2 лишен мембраносвязывающего участка. На то, что Bcl-2 является одной из мишеней ФДТ, косвенно указывают клинические наблюдения о прогностическом значении уровня экспрессии этого белка в опухолевой ткани: при высоком содержании Bcl-2 эффективность ФДТ существенно выше [32].

Установлено, что супернатант лизосом, обработанных дигитонином, может активировать *in vitro*

каспаподобные протеазы [23]. Поскольку содержащая катепсин В фракция лизосомных протеаз также способствует процессингу прокаспаз-1, -2, -6, -7, -11 и -12 *in vitro* [55], можно предположить, что индукция апоптоза протеазами лизосом связана с непосредственной активацией каспаз. При исследовании действия трех различных активированных светом ФС (хлорины е6 и р6, тексаферин) на перививаемые лейкозные клетки или гепатоциты выявлено, что избирательное повреждение лизосом при ФДТ вызывает выход в цитозоль катепсина В, снижение мембранного потенциала $\Delta\psi_m$ и высвобождение цитохрома *c* [29]. Эти процессы сопровождаются повышением содержания в фотоповрежденной клетке каспазы-3.

Активация внутриклеточных механизмов реализации апоптоза может также происходить в результате специфических лиганд-рецепторных взаимодействий. Наиболее изученным механизмом рецепторопосредованной инициации апоптоза является индукция Fas-опосредуемой гибели клеток. Активация тримеров рецептора Fas обуславливает образование белкового комплекса DISC (**death-inducing signaling complex**), **играющего особую роль в инициации** каспазы-8 и каспазы-3, которая в свою очередь служит субстратом для каспазы-8 [44]. В карциномных клетках человека, сенсibilизированных гипокрелином А или В, уже через 2 ч после активации ФС светом отмечается повышение экспрессии рецептора Fas и его лиганда (FasL) [8]. **Поскольку через 2–3 ч после начала проведения ФДТ в цитоплазме этих клеток выявляют цитохром *c*, а через 3–4 ч — активное расщепление субстрата каспазы-3 поли (АДФ-рибозил) полимеразы (блокирующееся химическими ингибиторами каспаз), можно предположить, что фотоиндуцированный апоптоз опухолевых клеток инициируется при участии системы Fas/FasL и активации каспаз-8 и -3.** При исследовании лазериндуцированного апоптоза опухолевых клеток в системе *in vivo* (животные-опухоленосители) получены подобные результаты. ФДТ мышей, которым предварительно был введен фотофрин, приводит к существенному повышению доли апоптотических клеток в опухоли через 12 ч после облучения [59]. Параллельно с этим, среди погибающих клеток увеличивается число клеток, экспрессирующих Fas-рецептор. На гистологических срезах опухолевые клетки, имеющие FasL, располагаются преимущественно вокруг TUNEL-положительных (то есть апоптотических) клеток.

Генотоксические эффекты ряда повреждающих ДНК агентов реализуются за счет их непосредственного воздействия на ядро клетки [43]. Центральным звеном в клеточных механизмах, активирующихся в ответ на повреждение ДНК, является фактор транскрипции p53. В случае существенных повреждений ДНК белок p53 активирует экспрессию проапоптотических генов, в том числе *Bax*, *Noxa*, *Puma*, *Bid*, *Fas*, *DR5* и *Apaf-1* (цит. по [48]).

Кроме того, белок p53 способен подавлять экспрессию антиапоптотических генов (например, выявлено p53-зависимое снижение транскрипционной активности генов *bcl-2* и сурвивина). Участие белка p53 в механизмах ФДТ-индуцированного апоптоза пока изучено мало, и данные о взаимосвязи между p53 и гибелью клеток после ФДТ противоречивы. Так, хотя в псевдонормальных фибробластах человека после фотофриновой ФДТ отмечаются повышение уровня белка p53 и массовая гибель клеток, однако каких-либо специфических для апоптоза изменений в этих клетках не выявлено. Вместе с тем, в иммортализованных клетках LFS, для которых характерна экспрессия только мутантной формы p53, в ответ на фотофриновую ФДТ происходит остановка в G₂-фазе цикла и апоптотическая гибель [52]. Согласно результатам другого исследования [10], чувствительность к ФДТ клеток рака толстого кишечника человека существенно повышается после их трансфекции немутированной формой гена *p53*.

Наиболее активно в последнее время изучаются механизмы апоптоза с участием сфинголипидов и одного из продуктов их метаболизма — церамида. Как известно, накопление церамида в клетке отмечается при влиянии различных экзогенных факторов: цитокинов, химиотерапевтических препаратов, теплового шока, ионизирующего или ультрафиолетового излучения, дефицита факторов роста, и во время вирусных или бактериальных инфекций (цит. по [21]). При ФДТ также отмечается повышение продукции церамида (как правило, в первые 10 мин после начала ФДТ [47]). Согласно V. Dolgachev и соавторам [15] при фотосенсибилизации клеток ФС Pс-4 **накопление церамида происходит за счет ингибирования его превращения в сложные сфинголипиды.** Повышение внутриклеточного содержания церамида приводит к активации каспазы-3, расщеплению энзима поли (АДФ-рибозил) полимеразы и гибели клеток [45]. При этом церамидопосредуемый апоптоз блокируется панкаспазным ингибитором Вос-D.fmk или гиперэкспрессией антиапоптотического белка Bcl-2, который, как считают, препятствует образованию церамида.

ВЫВОДЫ

Представленные в обзоре данные позволяют заключить, что ФДТ поверхностно расположенных новообразований легкого является возможной альтернативой для пациентов с неоперабельными формами РЛ. У операбельных больных этот терапевтический подход может быть использован в качестве дополнения к хирургическому лечению (с целью контроля процессов метастазирования), а также для паллиативного лечения обструктивных изменений трахеобронхиального дерева. В качестве скринингового метода, фотодинамическая флюоресцентная диагностика может найти применение для оптимизации программ лечения больных РЛ.

Углубление представлений о молекулярных механизмах, участвующих в реализации эффектов ФДТ, имеет большое значение для клинической онкологии. Обращают на себя внимание полученные в последнее время данные о непосредственном участии митохондрий и лизосом в качестве мишеней ФДТ. Фотосенсибилизация этих и некоторых других клеточных органелл может приводить к быстрой активации цистеиновых и сериновых протеаз, ответственных за агрегацию хроматина, фрагментацию ядра, конденсацию цитоплазмы и последующую деструкцию облученной светом клетки. Уникальная комбинация фотоповреждения внутриклеточных мишеней с активацией зависимых и независимых от рецепторов смерти путей сигнализации клеточной гибели вносит существенный вклад в противоопухолевый эффект ФДТ. Более активное накопление и замедленное вымывание ФС из клеток опухолевых тканей обеспечивает отсутствие фототоксичности по отношению к клеткам нормальных тканей. Перспективной, на наш взгляд, представляется разработка новых схем ФДТ, включающих препараты, повышающих чувствительность опухолевых клеток к ФДТ-индуцируемому апоптозу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамалея НФ, Залесский ВН, Басс ТЮ и др. Фотосенсибилизированное порфиринами действие лазерного излучения на клетки солидного рака Эрлиха у мышей. Эксперим онкол 1983; 5 (4): 70–3.
2. Залесский ВН, Бобров ВА. Лазерная фотодинамическая терапия в кардиологии. Тер архив 1990; (9): 145–7.
3. Залесский ВН, Фильченков АА. Апоптоз клеток опухолей желудочно-кишечного тракта при фотодинамической терапии. Вопр онкол 2004; 50: 9–19.
4. Куценко ВВ, Гамалея НФ. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей. Онкология 2003; 5 (1): 69–72.
5. Куценко ВВ, Горобец ОБ, Лозинский МО и др. Использование 5-аминолевулиновой кислоты в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии злокачественных опухолей (доклинические исследования). Онкология 2004; 6 (3): 225–30.
6. Скулачев ВП. Кислород в живой клетке — добро и зло. Соросовский образовательный журнал 1996; (3): 4–10.
7. Ali SM, Chee SK, Yuen GY, Olivo M. Photodynamic therapy induced Fas-mediated apoptosis in human carcinoma cells. Int J Mol Med 2002; 9: 257–70.
8. Allemann E, Rousseau J, Brousseau N, et al. PDT of tumours with hexadecafluoro zinc phthalocyanine formulated in PEG-coated poly(lactic acid) nanoparticles. Int J Cancer 1996; 66: 821–4.
9. Barberi-Heyob M, Vedrine PO, Merlin JL, et al. Wild-type p53 gene transfer into mutated p53 HT29 cells improves sensitivity to photodynamic therapy via induction of apoptosis. Int J Oncol 2004; 24: 951–8.
10. Cecconi F, Gruss P. Apaf1 in developmental apoptosis and cancer: how many ways to die? Cell Mol Life Sci 2001; 58: 1688–97.
11. Cortese DA, Edell ES, Kinsey JH. Photodynamic therapy for early stage squamous cell carcinoma of the lung. Mayo Clin Proc 1997; 72: 595–602.
12. Cortese DA, Kinsey JH. Endoscopic management of lung cancer with hematoporphyrin derivative phototherapy. Mayo Clin Proc 1982; 57: 543–7.
13. Crabbe MM, Patrissi GA, Fontenelle LJ. Minimal resection for bronchogenic carcinoma. An update. Chest 1991; 99: 1421–4.
14. Diaz-Jimenez JP, Martinez-Ballarín JE, Llonell A, et al. Efficacy and safety of PDT versus Nd-YAG laser resection in NSCLC with airway obstruction. Eur Respir J 1999; 14: 800–5.
15. Dolgachev V, Farooqui MS, Kulaeva OI, et al. De novo ceramide accumulation due to inhibition of its conversion to complex sphingolipids in apoptotic photosensitized cells. J Biol Chem 2004; 279: 23238–49.
16. Dougherty TJ, Gomer C J, Henderson BW, et al. Photodynamic therapy. J Natl Cancer Inst 1998; 90: 889–905.
17. Errett LE, Wilson J, Chiu RC, Munro DD. Wedge resection as an alternative procedure for peripheral bronchogenic carcinoma in poor-risk patients. J Thorac Cardiovasc Surg 1985; 90: 656–61.
18. Fingar VH, Wieman TJ, Doak KW. Role of thromboxane and prostacyclin release on photodynamic therapy-induced tumor destruction. Cancer Res 1990; 50: 2599–603.
19. Furuse K, Fukuoka M, Kato H, et al. A prospective phase II study on PDT with Photofrin II for centrally located early-stage lung cancer. J Clin Oncol 1993; 11: 1852–7.
20. Gamaleya NF, Zalesky VN, Solovyev KN, Egorova GN. Photosensitizing activity of some porphyrin compounds. Lasers Surg Med 1984; 3: 355–6.
21. Hannun YA, Luberto C. Ceramide in the eukaryotic stress response. Trends Cell Biol 2000; 10: 73–80.
22. Hsieh YJ, Wu CC, Chang CJ, Yu JS. Subcellular localization of Photofrin(R) determines the death phenotype of human epidermoid carcinoma A431 cells triggered by photodynamic therapy: when plasma membranes are the main targets. J Cell Physiol 2003; 194: 363–75.
23. Ishisaka R, Utsumi T, Yabuki M, et al. Activation of caspase-3-like protease by digitonin-treated lysosomes. FEBS Lett 1998; 435: 233–6.
24. Kato H, Imaizumi T, Aizawa K, et al. Photodynamic diagnosis in respiratory tract malignancy using an excimer dye laser system. J Photochem Photobiol B 1990; 6: 189–96.
25. Kato H, Okunaka T, Shimatani H. PDT for early stage bronchogenic carcinoma. J Clin Laser Med Surg 1996; 14: 235–8.
26. Kessel D, Castelli M, Reiners JJ, Jr. Apoptotic response to photodynamic therapy versus the Bcl-2 antagonist HA14-1. Photochem Photobiol 2002; 76: 314–9.
27. Kessel D, Castelli M. Evidence that Bcl-2 is the target of three photosensitizers that induce a rapid apoptotic response. Photochem Photobiol 2001; 74: 318–22.
28. Kessel D, Luo Y. Mitochondrial photodamage and PDT-induced apoptosis. J Photochem Photobiol B 1998; 42: 89–95.
29. Kessel D, Luo Y, Mathieu P, Reiners JJ Jr. Determinants of the apoptotic response to lysosomal photodamage. Photochem Photobiol 2000; 71: 196–200.
30. Kessel D, Poretz RD. Sites of photodamage induced by photodynamic therapy with a chlorin e6 triacetoxymethyl ester (CAME). Photochem Photobiol 2000; 71: 94–6.
31. Kessel D, Woodburn K, Gomer CJ, et al. Photosensitization with derivatives of chlorine p6. J Photochem Photobiol B 1995; 28: 13–8.
32. Koukourakis MI, Corti L, Skarlatos J, et al. Clinical and experimental evidence of Bcl-2 involvement in the response to photodynamic therapy. Anticancer Res 2001; 21: 663–8.
33. Lam M, Oleinick NL, Nieminen A L. Photodynamic therapy-induced apoptosis in epidermoid carcinoma cells. Reactive oxygen species and mitochondrial inner membrane permeabilization. J Biol Chem 2001; 276: 47379–86.
34. Lee PL, Kupeli E, Mehta AC. Therapeutic bronchoscopy in lung cancer. Laser therapy, electrocautery, brachytherapy, stents, and photodynamic therapy. Clin Chest Med 2002; 23: 241–56.

35. Lin CW, Shulok JR, Wong YK, *et al.* Photosensitization, uptake, and retention of phenoxazine Nile Blue derivatives in human bladder carcinoma cells. *Cancer Res* 1991; **51**: 1109–16.
36. Little AG, De Meester TR, Ferguson MK, *et al.* Modified stage I (T1N0M0, T2N0M0), nonsmall cell lung cancer: treatment results, recurrence patterns, and adjuvant immunotherapy. *Surgery* 1986; **100**: 621–8.
37. McCaughan JS Jr. Survival after PDT to non-pulmonary metastatic endobronchial tumors. *Lasers Surg Med* 1999; **24**: 194–201.
38. Moan J, Berg K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochem Photobiol* 1991; **53**: 549–53.
39. Moan J, Berg K, Anholt H, Madslie K. Sulfonated aluminium phthalocyanines as sensitizers for photochemotherapy. Effects of small light doses on localization, dye fluorescence and photosensitivity in V79 cells. *Int J Cancer* 1994; **58**: 865–70.
40. Moghissi K, Dixon K, Hadson E, *et al.* Endoscopic laser therapy in malignant tracheobronchial obstruction using sequential Nd-YAG laser and PDT. *Thorax* 1997; **52**: 281–3.
41. Moghissi K, Dixon K, Stringer M, *et al.* The place of bronchoscopic PDT in advanced unresectable lung cancer: experience of 100 cases. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; **15**: 1–6.
42. Noodt BB, Berg K, Stokke T, *et al.* Different apoptotic pathways are induced from various intracellular sites by tetraphenylporphyrins and light. *Br J Cancer* 1999; **79**: 72–81.
43. Norbury CJ, Zhivotovsky B. DNA damage-induced apoptosis. *Oncogene* 2004; **23**: 2797–808.
44. Rank KB, Mildner AM, Leone JW, *et al.* W206R-procaspase 3: an inactivatable substrate for caspase 8. *Protein Expr Purif* 2001; **22**: 258–66.
45. Ravid T, Tsaba A, Gee P, *et al.* Ceramide accumulation precedes caspase-3 activation during apoptosis of A549 human lung adenocarcinoma cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; **284**: 2082–92.
46. Rooney CP, Suter M, McLennan G, *et al.* Laser fluorescence bronchoscopy for detection of fluorescent reporter genes in airway epithelia. *Gene Therapy* 2002; **9**: 1639–44.
47. Separovic D, Mann KJ, Oleinick NL. Association of ceramide accumulation with photodynamic treatment-induced cell death. *Photochem Photobiol* 1998; **68**: 101–9.
48. Sordet O, Khan Q, Kohn KW, Pommier Y. Apoptosis induced by topoisomerase inhibitors. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2003; **3**: 271–90.
49. Sun X, Leung WN. Photodynamic therapy with pyropheophorbide-a methyl ester in human lung carcinoma cancer cell: efficacy, localization and apoptosis. *Photochem Photobiol* 2002; **75**: 644–51.
50. Sutedja T, Baas P, Stewart F, van Zandwijk N. A pilot study of PDT in patients with inoperable non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 1992; **28A**: 1370–3.
51. Toledo G, Sola JJ, Lozano M D, *et al.* Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung cancer. *Mod Pathol* 2004; **17**: 440–8.
52. Tong Z, Singh G, Rainbow AJ. The role of the p53 tumor suppressor in the response of human cells to photofrin-mediated photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2000; **71**: 201–10.
53. Usuda J, Chiu SM, Murphy ES, *et al.* Domain-dependent photodamage to Bcl-2. A membrane-anchorage region is needed to form the target of phthalocyanine photosensitization. *J Biol Chem* 2003; **278**: 2021–9.
54. van Boxem TJ, Venmans BJ, Van Mourik JC, *et al.* Bronchoscopic treatment of intraluminal typical carcinoid: a pilot study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; **116**: 402–6.
55. Vancompernelle K, Van Herreweghe F, Pynaert G, *et al.* Attractoside-induced release of cathepsin B, a protease with caspase-processing activity. *FEBS Lett* 1998; **438**: 150–8.
56. Weizman E, Rothmann C, Greenbaum L, *et al.* Mitochondrial localization and photodamage during photodynamic therapy with tetraphenylporphyrins. *J Photochem Photobiol B* 2000; **59**: 92–102.
57. Wieman T J, Mang TS, Fingar VH, *et al.* Effects of PDT on blood flow in normal and tumor vessels. *Surgery* 1988; **104**: 512–7.
58. Wood SR, Holroyd JA, Brown SB. The subcellular localization of Zn(II) phthalocyanines and their redistribution on exposure to light. *Photochem Photobiol* 1997; **65**: 397–402.
59. Yokota T, Ikeda H, Inokuchi T, *et al.* Enhanced cell death in NR-S1 tumor by photodynamic therapy: possible involvement of Fas and Fas ligand system. *Lasers Surg Med* 2000; **26**: 449–60.
60. Zochbauer-Muller S, Wistuba II, Minna JD, Gazdar AF. Fragile histidine triad (FHIT) gene abnormalities in lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2000; **2**: 141–5.

CLINICAL EFFICIENCY AND CELL DEATH MECHANISMS OF BRONCHOSCOPIC PHOTODYNAMIC THERAPY IN LUNG CANCER

A.A. Philchenkov, V.N. Zalessky

Summary. *This paper reviews the available literature on therapeutic and diagnostic usefulness of photodynamic therapy in the patients with lung cancer. The various mechanisms of PDT-triggered tumour cell death are also discussed.*

Key Words: photodynamic therapy, lung cancer, obstructive pulmonary disease, endobronchial ultrasonography, photosensitizer, reactive oxygen species, apoptosis, necrosis.

Адрес для переписки:

Фильченков А.А.
03022, Киев, ул. Васильковская, 45
Институт экспериментальной
патологии, онкологии и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины