

В.В. Куценок

Н.Ф. Гамалея

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

**Ключевые слова:**

*фотодинамическая терапия, злокачественные опухоли, фотосенсибилизаторы, флуоресцентная диагностика, фотохимические реакции, порфирины, 5-аминолевулиновая кислота.*

## ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

**Резюме.** *Метод фотодинамической терапии опухолей (ФДТО) основан на применении фотосенсибилизаторов, обладающих свойствами селективно накапливаться в злокачественных опухолях и при воздействии лазерного излучения в присутствии кислорода вызывать фотохимические реакции, приводящие к избирательному разрушению опухолевых клеток. ФДТО выгодно отличается от традиционных методов лечения малой инвазивностью, избирательностью поражения опухоли, низкой токсичностью вводимых препаратов, возможностью многократного применения, а также сочетанием в одной процедуре флуоресцентной диагностики и терапевтического действия.*

Недостаточная эффективность применяемых методов терапии злокачественных опухолей обуславливает необходимость поиска новых путей решения этой проблемы. Особый интерес представляют подходы, способные обеспечить селективное повреждение опухолевой ткани, ибо отсутствие необходимой избирательности основных принятых в современной онкологии лечебных методов (хирургического, лучевого и лекарственного) ограничивает результативность их применения. Одним из таких подходов, сформировавшимся главным образом в течение последних двадцати лет, является воздействие на опухоль световым излучением после введения в организм фотосенсибилизаторов — веществ, повышающих чувствительность опухолевой ткани к свету (так называемая фотодинамическая терапия опухолей — ФДТО) [1].

В сущности, применение метода ФДТО в онкологии имеет довольно длительную историю. Первое подробное описание эффекта химической фотосенсибилизации и фотодеструкции биологической ткани относится к началу XX ст., когда О. Raab [27] установил, что низкие концентрации акридинового оранжевого и других красителей, инертных в темноте, приводят к быстрой гибели парameций при облучении обычным солнечным светом. Для определения данного феномена Н. von Tarreiner [31] ввел термин «фотодинамический эффект», который используется и до настоящего времени. Под этим термином понимают явление повреждения биологических объектов световым излучением в присутствии некоторых красителей (фотосенсибилизаторов), которые повышают чувствительность объекта к свету, обычно при доступе кислорода. Первые исследования биологической активности порфиринов как потенциальных фотосенсибилизаторов провел W. Hausman в 1909 г. на веществе, выделенном из крови и названном гематопорфирином (цит. по [9]). Результаты исследования показали, что добавление этого вещества

в культуру простейших (парameций) повышает их чувствительность к свету [16]. В 1924 г. А. Policard [26] обнаружил накопление эндогенных порфиринов в злокачественных опухолях, флуоресцирующих в ультрафиолетовом свете, а в 1960 г. R.L. Lipson и соавторы [21] впервые получили препарат, названный «производное гематопорфирина» (ПГП), обладающий опухолетропными, флуоресцентными и фототоксическими свойствами.

Но по-настоящему интерес к ФДТО проявился только в конце 70-х годов, когда американский ученый Т. Dougherty [9] опубликовал впечатляющие результаты клинического применения этого метода. Он облучал пациентов с использованием лазера на красителях и использовал в качестве фотосенсибилизатора препарат на основе гематопорфирина [10]. И сегодня в медицинской практике наиболее широко применяются препараты на основе того же гематопорфирина: фотофрин — в США и Канаде, фотосан — в ФРГ, НрD в Китае, фотогем — в России.

Практическая реализация метода включает четыре этапа. На *первом* этапе пациенту вводят, обычно внутривенно, раствор сенсibilизатора. *Второй* этап (продолжительностью от нескольких часов до 3 сут) необходим для накопления сенсibilизатора в опухоли. При этом в зависимости от химической природы вещества и типа опухоли устанавливается определенное соотношение концентрации сенсibilизатора в опухоли и окружающей нормальной ткани. Для используемых в настоящее время препаратов это отношение колеблется от 3:1 до 10:1. На этом этапе по флуоресценции сенсibilизатора судят о размерах опухоли и ее расположении. На *третьем* этапе на пораженный участок воздействуют лучом с определенной длиной волны в течение 15–20 мин. В качестве источника облучения обычно используется лазер и система световодов, которая позволяет доставлять свет к месту расположения опухоли, включая полые внутренние органы. В участках

## ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

опухоли, содержащих сенсibilизатор, под действием лучей происходят высокотоксичные фотохимические превращения, которые приводят к гибели раковых клеток. При этом соседние нормальные клетки сохраняются. *Четвертый* этап продолжительностью от 2 до 4 нед состоит в дальнейшем разрушении злокачественной опухоли и частичном или полном восстановлении пораженных органов [22].

Туморотропность фотосенсibilизаторов определяется более длительной задержкой их опухолью и более быстрым выведением из окружающей нормальной ткани. Многие авторы [5, 7] указывают на то, что рН-зависимость внутриклеточного накопления ППП и его производных может быть одной из основных причин их селективного удерживания в опухолевой ткани, для которой характерно закисление межклеточной среды.

Как уже отмечалось, в современной ФДТО применяют, главным образом, фотосенсibilизаторы из группы порфиринов. Еще в 20-е годы было показано, что гематопорфирин, который, кстати, естественным образом присутствует в живом организме, имеет повышенное сродство к раковым клеткам. Причина этого окончательно не выяснена, но есть данные о том, что порфирины связываются с сывороточными белками, в том числе с липопротеинами низкой плотности. Опухолевые же клетки содержат большое количество рецепторов, к которым прикрепляются липопротеины. Поэтому фотосенсibilизаторы, образуя комплексы с липопротеинами, скапливаются на цитоплазматических мембранах опухолевых клеток и мембранах внутриклеточных органелл: митохондрий, лизосом, ядра [2, 23].

Механизм фотодинамического противоопухолевого действия в настоящее время также до конца неясен. Согласно данным исследований, молекулы порфиринов при поглощении света способны индуцировать фотохимические реакции двух типов [3, 12, 13]. Фотоокисление первого типа включает прямую реакцию возбужденного сенсibilизатора с субстратом, что приводит к образованию переходных радикалов, которые затем вступают в реакцию с кислородом. При этом поглощение кванта света молекулы фотосенсibilизатора переходит из основного состояния в возбужденное. В дальнейшем либо происходит обратный переход в основное состояние, сопровождающийся излучением кванта света — флуоресценцией, либо триплетная форма фотосенсibilизатора, взаимодействуя с молекулами биологического субстрата, отрывает у них электроны или атомы водорода, в результате чего образуются свободные радикалы, вызывающие окисление.

В реакции второго типа энергоперенос происходит из возбужденного триплетного состояния сенсibilизатора на молекулы кислорода с образованием синглетного кислорода, который образует нестабильные циклические перекиси, распадающиеся затем в термических и ферментативных процессах [32]. При этом образуются продукты деструкции и

свободные радикалы. Не исключена возможность того, что синглетный кислород отрывает электрон от окисляемых субстратов с возникновением супероксидных радикалов [3, 6].

На конечном этапе фотодинамического действия фотохимические реакции обоих типов приводят к деструктивным эффектам, которые заключаются в разрушении жизненно важных структур клеток и их гибели [24].

Кроме прямого фототоксического действия на опухолевые клетки при ФДТО важную роль в механизме деструкции выполняют: нарушение кровоснабжения опухолевой ткани за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов и их микротромбоза; реакции, обусловленные стимуляцией продукции фактора некроза опухолей, интерлейкинов, активацией макрофагов и лимфоцитов.

ФДТ наиболее целесообразна при ранних и поверхностно расположенных опухолях кожи, слизистых оболочек внутренних полых органов, опухолях, стенозирующих дыхательные пути и пищеварительный тракт, а также распространенных первичных и метастатических опухолях, не чувствительных к химиолучевой терапии [4].

ФДТ можно применять для лечения больных с опухолями практически всех основных локализаций как самостоятельный метод, так и в сочетании с традиционными видами лечения (хирургическая операция, лучевая и химиотерапия). Указанные варианты сочетанной и комплексной терапии направлены на улучшение результатов радикального или паллиативного лечения наиболее тяжелых больных онкологического профиля.

Способность порфиринов селективно накапливаться в опухолевых тканях привела к закономерным попыткам использования их для разработки новых подходов к диагностике опухолей. Возможности диагностического применения фотосенсibilизаторов существенно расширились с внедрением в медицинскую практику эндоскопии, базирующейся на использовании волоконной оптики. В настоящее время на основе порфириновой флуоресценции наиболее хорошо разработаны методы диагностики злокачественных опухолей бронхов, пищеварительного тракта и мочевого пузыря [8, 14, 17, 19, 20].

Важным преимуществом порфириновой диагностики и ФДТО является низкая токсичность препарата. Среди описанных побочных эффектов ФДТО главными являются различной степени реакции на солнечный свет (прямой и рассеянный), обычно в течение 1-й недели после инъекции фотосенсibilизатора. Примерно 20% пациентов испытывают проходящую (в течение 1–5 сут) боль в облученной области. Многие аспекты клинического применения ФДТО (в частности, отдаленные результаты лечения, технические вопросы, связанные с транспортировкой излучения к месту расположения опухоли и его дозиметрией) изучены недостаточно и требуют дальнейшего исследования.

Оценивая перспективы применения ФДТО в онкологии, необходимо отметить следующее. Накопленный клинический опыт свидетельствует об определенных преимуществах этого метода перед традиционными способами лечения. Важнейшим является значительно большая избирательность действия на опухолевую ткань. Так, соотношение повреждаемых опухолевых и нормальных клеток при ФДТО существенно выше, чем при лучевой терапии, химиотерапии или гипертермии [31]. Кроме того, ФДТО отличается незначительным мутагенным действием [11], а возможные осложнения лечения ограничиваются развитием фотореакций при случайном воздействии прямых солнечных лучей. Связанная с последним обстоятельством необходимость в длительном (до 1–2 мес) предохранении пациентов от действия солнечного света вызвана медленным выведением ППП из организма и является одним из препятствий для более широкого применения ФДТО. Требуются новые, быстро метаболизируемые соединения с сохраненной или даже повышенной фотодинамической активностью.

Создание новых фотосенсибилизаторов и соответствующих им лазерных источников света — не единственный путь повышения эффективности ФДТО. В последние годы серьезные усилия прилагаются для развития направленной ФДТ. Как следует из названия, метод основан на точной доставке сенсибилизатора в заданную цель. Для этого используются моноклональные антитела, липопротеиды, белки и другие носители [15, 28, 29]. При этом намного уменьшается количество используемого сенсибилизатора. Несмотря на очевидные преимущества направленной ФДТ, трудности, возникающие при реализации метода, пока не позволили приступить к апробации метода в клинической практике.

Другим принципиально новым подходом в ФДТО является предложенный канадским ученым J. Kennedy [18] метод, основанный на таком регулировании биосинтеза порфиринов, при котором избыточно образующиеся в организме эндогенные порфирины сами направляются в опухоль. Естественно, что при этом отпадает необходимость введения в организм внешних сенсибилизаторов. Метод Kennedy предполагает местное (при поверхностных опухолях) нанесение в форме крема 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) — соединения, являющегося предшественником порфирина в его биологическом синтезе. Для лечения больных с базально-клеточной карциномой в качестве источника света использовалась обычная проекционная лампа. Полное излечение наблюдалось в четырех случаях из пяти, что является очень высоким показателем [8]. В настоящее время АЛК-ФДТ активно применяют в ряде лабораторий при злокачественных заболеваниях кожи, а также при опухолях других типов, назначая пероральный прием препарата [25].

Практическому применению метода ФДТ у больных раком более 20 лет. За это время выполнен огромный объем клинических исследований. Успешно про-

шли курс лечения тысячи пациентов. Накопленные данные дают основание надеяться, что интенсивно проводимые в области ФДТО исследования (к сожалению, преимущественно за рубежом) в результате объединенных усилий физиков, химиков, биологов и врачей будут способствовать широкому внедрению в Украине этого нового перспективного метода лечения больных онкологического профиля.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Гамалея НФ, Михалкин ИА.** Световая терапия опухолей с применением фотосенсибилизаторов. Эксперим онкол 1988; **10** (1): 9–16.
2. **Зорин ВП, Хлудеев ИИ, Горбацевич ВН и др.** Современное состояние и перспективы развития фармакокинетики. Москва, 1991. 98 с.
3. **Красновский АА.** Итоги науки и техники. Проблемы лазерной физики. Москва, 1990; **3**: 63–135.
4. **Странадко ЕФ, Скобелкин ОА, Ворожцов ГН и др.** Пятилетний опыт клинического применения фотодинамической терапии. Рос онкол журнал 1998; (4): 13–8.
5. **Черняева ЕБ, Степанова НВ, Литинская ЛЛ.** Итоги науки и техники. Проблемы лазерной физики. Москва, 1990; **3**: 136–224.
6. **Athar M, Emets CA, Bickers DR, et al.** A novel mechanism for the generation of superoxide anions in hematoporphyrin derivative — mediated cutaneous photosensitization. Activation of the xanthine oxidase pathway. J Clin Invest 1989; **83** (4): 1137–43.
7. **Bohmer RM, Morstyn G.** Uptake of hematoporphyrin derivative by normal and malignant cells: effect of serum, pH, temperature and cell size. Cancer Res 1985; **45** (6): 5328–34.
8. **Clive J Ketly, Nikola J Brown, Malcolm WR Reed, Ackroyd R.** The use of 5-aminolaevulinic acid as a photosensitizer in photodynamic therapy and photodiagnosis. Photochem Photobiol Sci 2002; **1**: 158–68.
9. **Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, et al.** Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. Cancer Res 1978; **38** (8): 2628–35.
10. **Dougherty TJ.** Photoradiation therapy for cutaneous and subcutaneous malignancies. J Invest Dermatol 1981; **77** (1): 122–4.
11. **Everson JR, Moan J.** Photodynamic action and chromosomal damage: a comparison of hematoporphyrin derivative (HPD) and light with X-irradiation. Brit J Cancer 1982; **45** (3): 456–65.
12. **Foote CS.** Porphyrin Localisation and Treatment of Tumors. Eds DR Doirion, C J Gomer New York 1984: 3–18.
13. **Grossweiner LI, Patel AS, Grossweiner JB.** Type I and type II mechanisms in the photosensitising lyses of phosphatidylcholine liposomes by hematoporphyrin. Photochem Photobiol 1982; **36** (2): 159–67.
14. **Harubumi K, Katsuo A, Jutaru O, et al.** Clinical measurement of tumor fluorescence using a new diagnostic system with hematoporphyrin derivative, laser photoradiation and spectroscopy. Laser Surg Med 1984; **4** (1): 49–58.
15. **Jiang FN, Jiang S, Liu D, et al.** Development of technology for linking photosensitizers to a model monoclonal antibody. J Immunol Meth 1990; **134**(1): 139–149.
16. **Jiang F, Lui D, Neyendorff H, et al.** Photodynamic killing of human squamous cell carcinoma cells using a monoclonal antibody-photosensitizer conjugate. J Natl Cancer Inst 1991; **83**: 1218–25.
17. **Koenig F, Kennedy T, Unger M, et al.** Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy. Chest 1998; **113** (3): 696–702.
18. **Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC.** Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. J Photochem Photobiol B 1991; **6**: 143–8.
19. **Ladner DP, Steiner RA, Allemann J, et al.** Photodynamic diagnosis of breast tumors after oral application of aminolevulinic acid. Br J Cancer 2001; **84**: 33–37.

20. Leonard JR, Beck WL. Hematoporphyrin fluorescence: an aid in diagnosis of malignant neoplasma. *Laryngoscope* 1971; **81** (2): 365–72.
21. Lipson RL, Baldes EJ. The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. *Arch Dermatol* 1960; **82** (3): 508–16.
22. Macdonald LG, Dougherty TJ. Basic principles of photodynamic therapy. *J Porphyrins Phthalocyanines* 2001; **5**: 105–29.
23. Maziere JC, Santus R, Morliere PP. Cellular uptake and photosensitizing properties of anticancer porphyrins in cell membranes and low and high density lipoproteins. *J Photochem Photobiol B* 1990; **6** (1–2): 61–8.
24. Pass HI. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use. *J Natl Cancer Inst* 1993; **85** (6): 443–56.
25. Omrod D, Jarvis B. Topical aminolevulinic acid HCl photodynamic therapy. *Am J Clin Dermatol* 2000; **1**: 133–9.
26. Policard A. Etude sur les aspects offerts pour des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood. *C R Soc Biol Paris* 1924; **91**: 1423–34.
27. Raab O. Über die Wirkung fluorescirender Stoffe auf Infusoria. *Z Biol* 1900; **39**: 524–39.
28. Richter AM, Waterfield E, Jain AK, *et al.* Liposomal delivery of a photosensitizer, benzoporphyrin derivative monoacid ring A (BPD) to tumor tissue in a mouse tumor model. *Photochem Photobiol* 1993; **57** (6): 1000–6.
29. Savitsky AP, Lopatin KV, Golubeva NA, *et al.* pH dependence of fluorescence and absorbance spectra of free sulphonated aluminium phthalocyanine and its conjugate with monoclonal antibodies. *J Photochem Photobiol B* 1992; **13** (3–4): 327–33.
30. Svanberg K, Svanberg S. Diagnostics and treatment of cancer tumors based on photoactivation of hematoporphyrin derivative (HPD). *Lund Repts Atom Phys* 1983; (23): 1–35.
31. Tappenier H, Jesionik A. Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen. *Munch Med Wochenschr* 1903; (1): 2042.
32. Tatsuta M, Yamamoto R, Yamamura H, *et al.* Photodynamic effects of exposure to hematoporphyrin derivatives and dye laser

radiation of human gastric adenocarcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1984; **73** (1): 56–67.

## PHOTODYNAMIC THERAPY OF MALIGNANT TUMORS

V.V. Kutsenok, N.F. Gamaleia

**Summary:** *A short review is given of photodynamic therapy (PDT) principles and applications in oncology. The PDT is a method based on the light (laser) irradiation of the tumor after introduction in patient's organism of a photosensitizer which is mainly accumulated by malignant cells. As a result the selective destruction of tumors may be achieved. The PDT's major advantages compared to traditional methods of cancer treatment are its better selectivity, slight traumaticity, low general toxicity of the photosensitizing preparations used, and also the possibility to combine in one procedure the fluorescence diagnostics with therapy.*

**Key Words:** photodynamic therapy, malignant tumors, photosensitizers, fluorescence diagnostic, photochemical reactions, porphyrins, 5-aminolaevulinic acid

### Адрес для переписки:

Куценко В.В.  
03022, Киев, ул. Васильковская, 45  
Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, отдел фотобиологии и фотомодуляции