

Толстых П.И.¹, Соловьева А.Б.², Тамразова О.Б.¹, Аксенова Н.А.², Воротилов Ю.В.¹

Оптимизация методов фотодинамической терапии ран фотодитазином, комплексированным с амфифильными полимерами

Tolstikh P.I.¹, Solovjeva A.B.², Tamrazova O.B.¹, Aksenova N.A.², Vorotilov Yu.V.¹

Optimization of photodynamic therapy in treating wounds with Photoditazine complexated with amphiphilic polymers (a literature review)

¹ ФГУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России»,² Институт химической физики им. Н.Н. Семенова, г. Москва

В обзоре рассмотрены публикации по применению фотодитазина, комплексированного с амфифильными полимерами в лечении гнойных ран. Показаны патогенетическая обоснованность и высокая эффективность данного метода. Убедительно доказано, что комплексация фотодитазина с амфифильными полимерами улучшает результат и снижает на порядок стоимость лечения. *Ключевые слова: фотодитазин, амфифильные полимеры, фотосенсибилизатор.*

The given review analyzes publications discussing application of Photoditazine complexated with amphiphilic polymers for treating purulent wounds. The authors have shown pathogenetic backgrounding and high effectiveness of the given technique. It has been evidently shown that application of Photoditazine with amphiphilic polymers improves results and considerably reduces financial expenses. *Key words: photoditazine, amphiphilic polymers, photosensitizer.*

Метод фотодинамической терапии, разработанный в 60-е годы прошлого века для лечения новообразований, основан на селективном воздействии лазерного излучения на предварительно обработанные фотосенсибилизатором (ФС) патологически измененные ткани, формирующие рану и вегетирующие на ней микроорганизмы.

Суть метода состоит в том, что многие биологические объекты (раковые клетки, микробы) накапливают определенные красители – фотосенсибилизаторы, в результате чего они становятся чувствительными к воздействию энергии низкоинтенсивного лазерного излучения соответствующей длины волны [3]. В сенсibilizированных клетках или тканях развивается фотохимическая реакция с выделением синглетного кислорода и свободных радикалов – высокоактивных биологических окислителей, которые являются цитотоксичными для большинства биологических объектов,

и в частности для опухолевых клеток, некоторых микроорганизмов и др. [10, 11, 14]. В связи с указанным ФДТ нашла довольно широкое применение для лечения рака и других злокачественных опухолей [7]. В последние годы появились научные предпосылки применения ФДТ и для лечения гнойных ран, поскольку она имеет преимущества перед традиционными методами антибактериальной терапии [12]. А именно, эффективность ФДТ не зависит от спектра чувствительности патогенных микроорганизмов к антибиотикам [11, 16–18]. ФДТ оказалась губительной даже для антибиотикорезистентных штаммов золотистого стафилококка, кишечной палочки и других микроорганизмов [4, 5].

Во-вторых, противомикробное действие ФДТ не убывает со временем при длительном лечении хирургических инфекционных процессов. У патогенных микроорганизмов, в отличие от воздействия на них антибиотиков, не развивается резистентности к ФДТ.

Повреждающее действие ФДТ на микроорганизмы вызывается синглетным кислородом и свободными радикалами, а кислород необходим для жизнедеятельности большинства микроорганизмов. Именно поэтому развитие резистентности к губительному действию ФДТ на микроорганизмы маловероятно [11, 15].

В-третьих, фотодинамическое повреждение носит локальный характер, а бактерицидный эффект лимитируется зоной лазерного облучения фотосенсибилизированных клеток, это и позволяет избежать при местной ФДТ побочного эффекта, наблюдаемого при применении антибиотиков и антисептиков для лечения хирургической инфекции [5]. В то же время, несмотря на перечисленные выше преимущества перед традиционными методами лечения, ФДТ пока не нашла широкого применения в гнойной хирургии. В литературе имеются единичные сообщения о том, что ФДТ не препятствует заживлению, а возможно, даже ускоряет этот процесс [13]. Однако все эти сообщения, высказанные в отдельных работах, нуждаются в экспериментальном подтверждении и клинической аргументации. Кроме того, почти все фотосенсибилизаторы, созданные на основе гемопорфиринов (препараты I поколения – фотофрин, фотогем, фотосан), имеют целый ряд серьезных недостатков:

- относительно низкую избирательность накопления в опухолях – «тумаротропность» – по сравнению со здоровой тканью (превышение в два–три раза), что является причиной возможного травмирования здоровых тканей при проведении ФДТ;

- относительно низкую эффективность преобразования энергии излучения в цитотоксические продукты (свободные радикалы, активные формы кислорода) при длительном времени выведения фотосенсибилизатора из организма (от 4 до 6 нед.), что вынуждает пациента находиться в этот период в затемненном помещении для исключения ожогов кожи вследствие фотосенсибилизации [5, 12].

Поиски решения проблем, выявившихся при использовании фотосенсибилизаторов на основе гемопорфиринов, привели к появлению новых требований к свойствам фотосенсибилизаторов второго поколения. Их можно сформулировать следующим образом:

- высокая тумаротропность по отношению к опухолевым клеткам при незначительном накоплении в здоровых тканях;

- низкая токсичность и быстрое выведение из организма;

- устойчивость при введении в организм и при хранении;

- наличие люминесценции для надежной диагностики опухоли;

- максимум поглощения в области 660–900 нм при повышенном квантовом выходе синглетного кислорода как фактора, наиболее эффективно воздействующего на опухоли [10].

Перспективной основой для создания фотосенсибилизаторов второго поколения оказались хлорины и их производные, максимально удовлетворяющие приведенным требованиям. В настоящее время лучшим из известных фотосенсибилизаторов является фото-

дитазин – препарат отечественной разработки на основе хлорина е-6 [19, 20]. Фотодитазин фактически не токсичен (LD₅₀-168 мг/кг при терапевтической дозе 0,7–1,4 мг/кг), имеет полосу поглощения 662 нм (при этом фотодинамический эффект может развиваться в тканях на глубине до 1,7–2 см) с достаточно высоким квантовым выходом синглетного кислорода, обладает высокой тумаротропностью, превышение содержания по отношению к здоровой ткани составляет от 8–19 раз в зависимости от локализации опухоли. При этом фотосенсибилизация кожи настолько мала, что исключает ожоги от воздействия солнечного света. Время выведения препарата из организма составляет не более 26 ч.

Приведенные показатели существенно отличают фотодитазин от других фотосенсибилизаторов на основе гематопорфиринов [12], что является основой его высокой клинической эффективности. По данным литературы, терапевтический эффект при лечении некоторых злокачественных заболеваний достигается в 62–83% случаев в зависимости от вида и стадии заболевания. При лечении гнойно-воспалительных процессов, в том числе и ран различного генеза, фармакокинетика данного препарата не изучалась.

При исследовании механизмов реакции *in vivo*, протекающих в организме в процессе процедуры ФДТ и после ее завершения, установлено, что в дополнение к прямому повреждению мембран и других клеточных структур свободными радикалами происходит выделение клетками воспалительных и иммунных медиаторов. Среди них идентифицированы цитокины ИЛ6, ИЛ2, фактор некроза опухолей, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, факторы роста и другие иммунорегуляторы [12], компоненты каскада комплемента, вазоактивные субстанции. Они, в свою очередь, запускают процессы, ответственные за дальнейшее развитие цитотоксического эффекта. Возрастающее число фактов указывает, что полное разрушение опухоли в результате ФДТ не обходится без участия иммунной системы. Воспалительный процесс при ФДТ может послужить инициатором формирования эффективного иммунного ответа, в том числе противоопухолевого, противомикробного и противовирусного [12].

Однако одной из серьезных проблем ФДТ при лечении новообразований остается повышение селективности накопления фотосенсибилизаторов (ФС) в пораженных тканях и органах и снижение терапевтической дозы вводимых препаратов. При внутривенном способе введения большинства ФС первого поколения накопление достаточной концентрации препарата в очаге поражения обычно сопровождается его высоким содержанием во всем организме, что является причиной длительного токсического эффекта и опасности экспозиции больного на свету [12].

В этой связи перспективным способом применения ФДТ для лечения гнойно-воспалительных заболеваний оказалось использование фотосенсибилизатора в виде комплексов с низкотоксичными амфифильными полимерами. В институте химической физики имени М.Н. Семенова РАН и МГУ имени Ломоносова была предложена лекарственная форма препарата для ФДТ опухолей, гнойных и огнестрельных ран, предусматри-

вающая локальное использование ФС, в том числе фотодитазина, иммобилизованного на амфифильном полимерном носителе, что позволило значительно снизить лекарственную дозу ФС и улучшить лечебный эффект, повышая биологическую доступность препарата [6, 21]. Последние исследования показали, что ряд амфифильных полимеров (на основе простых алифатических или сложных эфиров и спиртов) образуют комплексы с порфиринами в водной и органической фазе, в которых порфириновые фотосенсибилизаторы (ПФС) находятся в виде агрегатов размерами 100–300 нм [12]. Использование таких иммобилизованных систем позволяет на порядок увеличивать эффективность ФДТ и тем самым значительно снизить концентрации используемых ФС, что ведет к снижению терапевтической дозы препарата и побочных токсических осложнений [19, 20].

Эксперименты *in vitro* на культурах опухолевых клеток человека (аденокарцинома молочной железы, HBL-100, ЛАК-фазы 22–24 ч и карциномы яичника Skov-3, ЛАК-фаза 26–30 ч), нормальных и раковых мышечных фибробластах NIH3T3 и лабораторных животных показали, что использование комплексов ПФС | АКП при воздействии на опухоли позволяет не только снизить концентрации используемых ФС, но и в ряде случаев уменьшить количество отдаленных метастазов у лабораторных животных. Было установлено, что терапевтическая эффективность комплексов при воздействии на опухоли разной природы определяется в первую очередь природой полимеров. При исследовании 14 полимеров разной молекулярной массы и химической природы и было доказано, что наиболее эффективными оказались сополимеры этиленоксидов и пропиленоксидов, полуспиртов, смол. массами 10–20 тыс. Да, а также их смеси.

Приведенные данные по использованию фотосенсибилизатора, иммобилизованного в геле на амфифильном полимере, в онкологической практике позволяют рассматривать данный препарат как весьма эффективный для применения в лечении гнойных ран различного генеза. В связи с чем было проведено исследование эффективности таких систем при лечении экспериментальных ран у крыс. При этом было установлено, что фотодитазин в форме геля (0,1 мг на 1 мл геля), комплексированный на амфифильных полимерах, способствует заживлению гнойных ран в полтора раза быстрее по сравнению с традиционным лечением антисептиком хлоргексидином и в 1,2 раза быстрее по сравнению с коммерческим препаратом фотодитазин-гель (1 мг на 1 мл геля) [12]. В клинической практике гель на основе амфифильных полимеров и фотодитазина для лечения гнойных ран различного генеза, по данным доступной литературы и патентной информации, применяется в единичных случаях [12].

Таким образом, ФДТ злокачественных новообразований с использованием фотодитазина в комплексе с амфифильными полимерами получила достаточное теоретическое и практическое обоснование, в том числе и ран мягких тканей различного генеза. В последние годы ФГУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА» совместно с сотрудниками института химической физики имени М.Н. Семенова РАН был разработан метод

иммобилизации фотосенсибилизаторов хлоринового ряда (фотодитазин, динатриевая соль хлорина е-6) на амфифильном полимере. Использование таких иммобилизованных систем позволяет на порядок снизить стоимость и эффективность лечения [19, 20]. В то же время, несмотря на эффективность ФДТ лечения ран фотосенсибилизаторами первого поколения, данное направление пока не получило широкого распространения [12]. Что касается использования фотосенсибилизаторов второго поколения (фотодитазин, динатриевая соль хлорина е-6) и фотосенсибилизаторов, иммобилизованных на амфифильном полимере для лечения гнойно-воспалительных заболеваний, то этот опыт Азимшоева А.М. (2008) основан на лечении 120 пациентов с гнойными ранами мягких тканей различного генеза и локализации [1].

Автором в зависимости от метода лечения все пациенты были распределены на две группы: первую, контрольную (n = 60), в которую вошли пациенты, получавшие традиционную терапию, основанную на применении антибактериальных препаратов, местном лечении антисептиками и мазями на гидрофильной и гидрофобной основе; во вторую (n = 60) – пациенты, которым проводили местную лазерную фотодинамическую терапию. В качестве фотосенсибилизатора использовали гель фотодитазина, комплексированный на амфифильных полимерах.

На основе клинических, морфологических и планиметрических исследований автор установил, что ФДТ с фотодитазином способствует сокращению сроков очищения ран от гнойно-некротического детрита, появлению грануляций и начала эпителизации в 1,5–2 раза и сроков полного заживления гнойных ран на 5–7 дней, по сравнению с традиционным лечением.

За последние годы появились единичные работы об эффективности применения ФДТ в лечении огнестрельных ран [2]. Ахмедов Б.А. (2010) включил ФДТ в комплексную программу профилактики гнойных осложнений и стимуляции процессов заживления огнестрельных ран. Методика такой ФДТ заключается в наложении на рану на протяжении первых трех суток салфетки, пропитанной фотосенсибилизатором в виде 0,5% геля фотодитазина с экспозицией 90 мин и с последующим облучением раны на протяжении 15 мин низкоинтенсивным лазерным излучением с плотностью энергии 50 Дж/см² и длиной волны 660 нм. Результаты проведенного лечения осложненных огнестрельных ран показали, что в случае использования фотодинамической терапии удастся сократить фазу воспаления на 6 сут по сравнению с контролем, а огнестрельные раны заживали в среднем на $21,6 \pm 1,4$ сут быстрее [2].

Литература

1. Азимшоев А.М. Лазерная фотодинамическая терапия гнойных ран с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2008. 23 с.
2. Ахмедов Б.А. Оптимизация методов лечения раненых с огнестрельными переломами костей конечностей // Автореф. дис. ... док. мед. наук. СПб. 2010. 45 с.
3. Клебанов Г.И. К вопросу о механизме лечебного действия низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения //

- Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001. № 3. С. 286–289.
4. *Корабаев У.М.* Фотодинамическая терапия гнойных, длительно незаживающих ран и трофических язв // Автореф. дис. ... док. мед. наук. М. 2000. С. 33.
 5. *Корабаев У.М., Толстых М.П., Гейниц А.В., Уринов А.Я.* Фотохимическая терапия гнойных ран и трофических язв. Андиган, 2005. С. 127.
 6. *Соловьева А.Б., Толстых П.И., Сорокатый А.А., Глаголев Н.Н., Иванов А.И., Исмаилов Г.И.* ФДТ обширных гнойных ран и ожогов с комплексами амфифильный полимер – порфирин, иммобилизованными на наночастицах гидроксиапатита // Росс. биотерапевт. ж-л. 2011. № 1. Т. 10. С. 81–82.
 7. *Странадо Е.Ф.* Современные возможности, проблемы и перспективы фотодинамической терапии в онкологии // Лазер-маркет. 1993. № 7–8. С. 22–23.
 8. *Странадо Е.Ф.* Экспериментально-клиническая разработка метода лазерной фотодинамической терапии злокачественных опухолей с использованием отечественных фотосенсибилизаторов первого и второго поколения // Лазер-маркет. 1994. № 11–12. С. 20–26.
 9. *Странадо Е.Ф., Толстых П.И., Корабаев У.М.* Фотохимическое воздействие на патогенные микроорганизмы, вызывающие гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей // Мат. III Всерос. симп. 11–12 ноября 1999 г. М. 1999. С. 83–91.
 10. *Странадо Е.Ф., Толстых П.И., Тепляшин А.С., Корабаев У.М.* Перспективы применения фотодинамической терапии для лечения гнойных ран // Проблемы неотложной хирургии: Сб. науч. тр. М. 1998. Т. IV. С. 108–109.
 11. *Толстых П.И., Клебанов Г.И., Шехтер А.Б., Толстых М.П.* Антиоксиданты и лазерное излучение в терапии ран и трофических язв. М.: Изд. дом «Эко». 2002. С. 234.
 12. *Толстых П.И.* Перспективные способы лазерной фотохимии для лечения некоторых онкологических и хирургических заболеваний // Мед. вест. 2 мая. 2008. С. 15.
 13. *Adili F., Statins Van Eps R.G., Karp S.J., Watkins M.T. et al.* Differential modulation of vascular endothelial and smooth muscle cell function by photodynamic therapy of extracellular matrix // J. Vasc. Surg. 1996. V. 23. P. 698–705.
 14. *Dougherty T.J., Gower C.J., Henderson G. et al.* Photodynamic therapy // J. Nat. Cancer Inst. 1998. V. 90. P. 889–905.
 15. *Grosserode M.H., Wenzel R.P.* The continuing importance of staphylococci as major hospital pathogens // J. Hosp. Infect. 1991. Vol. 19. P. 3–17.
 16. *Malik Z., Hanania J. and Nitzan Y.* Bactericidal effects of photoactivated porphyrins. An alternative approach to antimicrobial drugs // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1990. Vol. 5. P. 281–293.
 17. *Malik Z., Ladan H., Ehrenberg B., Nitzan Y.* Bacterial and viral photodynamic inactivation // In "Photodynamic therapy – medical applications". Ed. B.W.Henderson and T.J.Dougherty. Buffalo, Marcel Dekker Inc. N.Y. 1992. P. 97–113.
 18. *Malik Z., Ladan H., Nitzan Y., Smetana Z.* Antimicrobial and antiviral activity of porphyrin photosensitization. In Photodynamic therapy of cancer. G. Jori, J. Moan, W. Star, editors, Proc. SPIE. 2078. 1994. P. 305–312.
 19. Способ получения водорастворимых хлоринов. Патент № 2144538 с приоритетом от 22.11.1998. Пономарев Г.В., Репетников А.В., Гусева-Донская Т.Н., Швец В.И., Баум Р.Ф., Ашмаров В.В. ЗАО «Вета».
 20. Фотосенсибилизатор и способ его получения. Патент № 2276976 с приоритетом от 10.08.2004. Пономарев Г.В., Тавровский Л.Д., Зарецкий А.М., Ашмаров В.В., Баум Р.Ф. ОАО «Группа компаний «ГРАНД».
 21. Средство для лечения злокачественных опухолей методом фотодинамической терапии. Патент № 2314806 с приоритетом от 13.06.2006. Соловьева А.Б., Иванов А.В., Конопляников А.Г., Филинова Е.Ю., Глаголев Н.Н., Мелик-Нубаров Н.С., Пономарев Г.В., Жиентаев Т.М., Кирюхин Ю.И., Поляков Д.К., Роговина С.З. ИХФ им. Н.Н. Семенова РАН (ИХФ РАН).

Поступила в редакцию 03.03.11 г.

Для контактов: Толстых Петр Иванович.
Тел. 8-905-761-51-77