

2. Пальцев М.А., Аничков Н.П. Патологическая анатомия. — Т. 1. — М.: Медицина, 2001. — С. 130–134, 149–156.
3. Плетнев С.Д. Лазеры в клинической хирургии. — М.: Медицина, 1996. — С. 347–378.
4. Поляков В.М., Шмаленюк А.С. СВЧ-термография и перспективы ее развития. Электроника СВЧ. — Вып. 8. — М., 1991.
5. Попкиров С. Гнойно-септическая хирургия. — София: Мед. и физ.-ра, 1977. — 502 с.
6. Хамада Давд. Глубинная микроволновая радиотермография в комплексной диагностике острого аппендицита: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 2001. — С. 120.

Radiothermometric control in the surgical treatment of carbuncles

A.V. Geinitz, N.T. Gulmuradova, D.A. Daudov,
P.I. Tolstikh, V.A. Derbenejev

Radiothermometric diagnostics (RTM) is a highly sensitive, uninvasive technique which is based on the

temperature measurement of the skin in the infrared range of the spectrum. Due to this technique we could define more precisely the necrosis borders in 60 patients with skin carbuncles before the surgery. We made marking of a pathologic focus on the patient's skin and, further it helped us to maximally perform the necrectomy. RTM also helped us to control in dynamics the healing process of wounds after the incision done with CO₂ laser scalpel. We also treated the wounds topically with photodynamic techniques, low-level laser irradiation and biologically active dressings. The treatment and the discussed diagnostic control have led to better wound cleaning, better microcirculation in the wound area, improvement of reparative processes: macrophagial reaction, collagen synthesis, scarring and epithelisation. All these made it possible to make suturing and autodermpoplasty of large wounds in the early postoperative period.

УДК 616-006.3.04-085.849.19:59

М.А. Каплан, Ю.С. Романко, В.В. Попучиев, В.В. Южаков,
Л.Н. Бандурко, Л.Н. Михина, Н.К. Фомина, А.И. Малыгина, И.Э. Ингель

Влияние плотности световой энергии на противоопухолевую эффективность фотодинамической терапии с фотодитазином

ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск

Ключевые слова: световая энергия, фотодитазин, саркома М-1, PCNA, некроз, апоптоз

Фотодинамическая терапия (ФДТ) опухолей представляет способ лечения, основанный на цитотоксическом действии синглетного кислорода и других биологических окислителей, которые образуются в ходе фотохимических реакций [5, 6, 11, 13]. На эффективность ФДТ влияют несколько факторов: доза фотосенсибилизатора, временной интервал от его введения до светового воздействия, а также мощность дозы, плотность световой энергии и режим облучения [4, 5, 10, 12–14]. Большое внимание уделяют изучению механизмов действия фотосенсибилизаторов нового поколения, в том числе производных хлорина [1, 4, 10, 12–14], которые поглощают свет в той области спектра, где биологические ткани наиболее «прозрачны» для светового излучения, обладают высокой селективностью накопления в злокачественных новообразованиях и быстро выводятся из организма. Результаты ранее проведенных нами исследований показали, что N-метилглюкаминная соль хлорина е₆ – фотодитазин, обладает высокой фотодинамической эффективностью в экспериментах на крысах с имплантированной соединительно-тканной опухолью [1].

В представляемой работе приведены данные по изучению влияния плотности лазерной световой энергии на морфофункциональные параметры саркомы М-1 после ФДТ с фотодитазином.

Методика исследования

Работа выполнена на самцах белых беспородных крыс в возрасте 3 мес. массой тела 160–180 г с имплантированной под кожу правого бедра саркомы М-1 [1, 2]. Животные-опухоленосители были распределены на 3 группы (табл. 1). 15 крыс были включены в 1-ю группу с подведением к опухоли световой энергии плотностью 150 Дж/см², 17 – во 2-ю группу (300 Дж/см²) и 15 – в 3-ю группу (600 Дж/см²). Объем опухолей на месте прививки рассчитывали по формуле:

$$V = \pi/6 \times D_1 \times D_2 \times D_3,$$

где D_1 – длина, D_2 – ширина, а D_3 – высота опухоли в см. Коэффициент регрессии опухолей (КРО) после ФДТ определяли как:

$$(V_4 - V_0)/V_0,$$

где V_0 – объем опухоли в день ФДТ, V_4 – объем опухоли через 4 сут. Интегральный темп роста опухолей рассчитывали как:

$$\sqrt[4]{V(0\text{сут}) \times V(4\text{сут}) \times V(12\text{сут}) \times V(21\text{сут})}.$$

На 12–14-е сут после прививки саркомы животным внутривенно вводили фотодитазин из расчета 2,5 мг/кг массы тела. Для светового воздействия использовали лазерный аппарат «Аткус-2» (длина волны – 661 нм, плотность мощности – 0,48 Вт/см², диаметр светового пятна – 2 см). ФДТ проводили через 1,5 ч после введения фотодитазина.

Влияние плотности световой энергии на количественные характеристики исследованных параметров саркомы М-1 после ФДТ с фотодиагностом (M ± m)

Показатель	Плотность световой энергии (Дж/см ²), группа животных																
	150					300					600						
	(1-я группа, n = 15)			(2-я группа, n = 17)			(3-я группа, n = 15)			(1-я группа, n = 15)			(2-я группа, n = 17)			(3-я группа, n = 15)	
Объем опухолей, см ³	3 часа (n* = 3)	0,25 ± 0,04	0,28 ± 0,12	0,23 ± 0,14	1,26 ± 0,73	2,73 ± 1,64	0,33 ± 0,06	0,26 ± 0,10	0,07 ± 0,06	0,64 ± 0,38	1,21 ± 1,04	0,28 ± 0,06	0,28 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,02 ± 0,01**	0,02 ± 0,01**	0,02 ± 0,01**
	СЖЗЛ	0,36 ± 0,04	0,18 ± 0,08	0,08 ± 0,06	(-)	(-)	0,22 ± 0,03*	0,08 ± 0,08	0,009 ± 0,002	(-)	(-)	0,053 ± 0,048**	0,007 ± 0,007	0,007 ± 0,007	0,006 ± 0,003*	0,006 ± 0,003*	(-)
Оптическая плотность окрашивания PCNA, усл. ед.	0,154 ± 0,005	0,142 ± 0,012	0,147 ± 0,032	0,174 ± 0,014	0,185 ± 0,021	0,134 ± 0,008*	0,145 ⁽¹⁾ ± 0,005*	0,097 ± 0,005*	0,187 ± 0,011	0,185 ± 0,010	0,185 ± 0,010	0,124 ± 0,021*	0,112 ⁽¹⁾ ± 0,001*	0,080 ± 0,001*	0,080 ± 0,001*	0,171 ± 0,021	
	Количество ядер, окрашенных AgNOR на 1 мм ²	5283 ± 228	3792 ± 370	2333 ± 898	3568 ± 1156	3294 ± 1037	4488 ± 290	4200 ⁽¹⁾ ± 167*	1787 ± 167*	4575 ± 226	4200 ± 162	4445 ± 192	3775 ⁽¹⁾ ± 192	983 ± 512**	3309 ± 1120	3309 ± 1120	3309 ± 1120
PCNA, %	44,1 ± 1,1	51,0 ± 8,3	78,9 ± 9,2	83,7 ± 8,92	82,7 ± 4,6	43,0 ± 7,1	17,4 ± 17,4*	81,9 ± 7,8	94,1 ± 2,3	94,8 ± 2,8	16,4 ± 14,8**	18,1 ± 18,1*	18,1 ± 18,1*	38,1 ± 19,3**	87,5 ± 4,4	87,5 ± 4,4	
	Фрэнкн, %	19,1 ± 2,2	7,72 ± 4,2	4,22 ± 3,9	(-)	(-)	9,67 ± 2,3*	3,8 ± 3,8	0,29 ± 0,04*	(-)	(-)	2,42 ± 2,41**	0,31 ± 0,31**	0,11 ± 0,06**	(-)	(-)	
АИ, %	0,65 ± 0,07	0,17 ± 0,03	0,45 ⁽¹⁾ ± 0,03	0,30 ± 0,06	0,35 ± 0,03	0,85 ± 0,09	(-)	(-)	(-)	0,33 ± 0,12	0,51 ± 0,02	0,82 ± 0,19	(-)	(-)	0,43 ± 0,08	0,43 ± 0,08	
	Средняя площадь срезов ядер опухолевых клеток, мкм ²	80,5 ± 5,6	104,0 ± 1,2	78,7 ± 2,3	79,3 ± 3,9	90,9 ± 1,9	67,7 ± 2,5*	(-)	61,9 ± 2,1*	90,5 ± 2,1	81,4 ± 4,5	72,4 ± 3,4	(-)	(-)	53,7 ± 1,6*	84,1 ± 6,9	
Объемное содержание зон ЯО в ядрах опухолевых клеток, %	13,35 ± 1,10	11,14 ± 0,27	10,17 ± 0,53	9,32 ± 0,49	9,14 ± 0,11	14,11 ± 0,57	(-)	10,08 ± 0,28	9,74 ± 0,19	10,05 ± 0,53	15,91 ± 0,84	(-)	(-)	8,89 ± 0,77	9,75 ± 0,54	9,75 ± 0,54	
	Средние размеры одной зоны ЯО, мкм ²	4,41 ± 0,46	5,20 ± 0,16	3,72 ± 0,30	3,02 ± 0,46	3,80 ± 0,06	4,98 ± 0,17	(-)	2,79 ± 0,12*	3,86 ± 0,11	3,74 ± 0,33	5,21 ± 0,14	(-)	(-)	2,89 ± 0,07*	3,68 ± 0,16	

Примечание: p < 0,05 – *по сравнению с 1-й группой; **по сравнению со 2-й группой на соответствующий срок наблюдения; * – указано количество животных, высланных из эксперимента для изучения морфофункциональных характеристик саркомы М-1; ⁽¹⁾ – данные по одному случаю; (-) – количественные данные не определялись вследствие субтотального некроза опухолей.

Материал для исследования брали через 3 ч, 1, 4, 12 и 21 сут после ФДТ. Опухоли выделяли в условиях нембуталового наркоза. Ткань опухоли вырезали в виде пластинок толщиной 3–4 мм, ориентированных вдоль длинной оси, фиксировали 24 ч в кислой жидкости Буэна, обезвоживали и заливали в HISTOMIX™. Микротомные срезы толщиной 6 мкм помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma). Для иммуноокрашивания пролиферирующих клеток использовали мышинные моноклональные антитела к PCNA (proliferating cell nuclear antigen) при разведении 1:50 (клон PC10, «Calbiochem») и биотин-стрептавидин-пероксидазный набор для выявления мышинных иммуноглобулинов («ICN»). Зоны ядрышковых организаторов (ЯО) изучали методом AgNOR [15]. Апоптотический индекс (АИ) опухолевых клеток определяли на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и импрегнированных по методу Мозера [1,2].

Морфометрические исследования выполнены с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений «IMSTAR». В работе использовали следующие стереологические параметры [1]: объемная доля PCNA (ρ_{PCNA}) как отношение суммарной площади иммуноокрашивания на PCNA к общей площади среза опухолевого узла с D_1 до 1,5 см (Примечание. На 4 сут после ФДТ при дозах 300 и 600 Дж/см² не во всех случаях можно было определить площадь среза опухолевых узлов на гистологических срезах. В этом случае площадь сечения опухоли рассчитывали по двум диаметрам — D_1 и D_2 , измеренным в день проведения ФДТ.); количественная плотность ядер опухолевых клеток ($N_{ЯОК}$); объемная плотность зон ЯО. Для изучения пролиферативной активности клеток определяли индекс PCNA (I_{PCNA}), который рассчитывали как отношение количественной плотности PCNA-положительных ядер к $N_{ЯОК}$, окрашенных методом AgNOR. Относительную фракцию пролиферирующих клеток рассчитывали по формуле:

$$\Phi_{PCNA} = \rho_{PCNA} \times I_{PCNA} \times K_N,$$

где $K_N = N_{ЯОК}$ в опыте / $N_{ЯОК}$ в контроле.

Количественные параметры для саркомы М-1 в контрольной группе животных и объем выборки для морфометрии соответствующих структур приведены в предыдущей работе [1]. Для статистической обработки полученных результатов использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Сравнительное действие доз лазерного излучения на рост опухолей представлено на рис. 1. После подведения световой энергии 150 Дж/см²

КРО составил $-0,40 \pm 0,24$ ($n = 15$), а темп роста опухолей — $-0,52 \pm 0,23$. Отклонение от средних тенденций отмечено только для опухоли, облученной в объеме 0,61 см³, слабо прореагировавшей на ФДТ. Одна опухоль объемом 0,36 см³ полностью регрессировала к 12-м суткам. Увеличение световой дозы до 300 Дж/см² привело к более выраженной регрессии саркомы и полному макроскопическому исчезновению опухоли на 4-е сут у 3 животных. КРО снизился до $0,86 \pm 0,08$ ($n = 17$, $p < 0,05$), а интегральный темп роста — до 0,37. При плотности дозы 600 Дж/см² у всех животных, независимо от объема опухоли, в день ФДТ на 4-е сут макроскопически опухолевые узлы не выявлялись. При этом КРО достиг минимального значения — 0,99. У двух крыс, оставленных в 3-й группе для изучения параметров роста, к 12-м суткам появились небольшие рецидивирующие узелки, полностью рассосавшиеся до 21 суток.

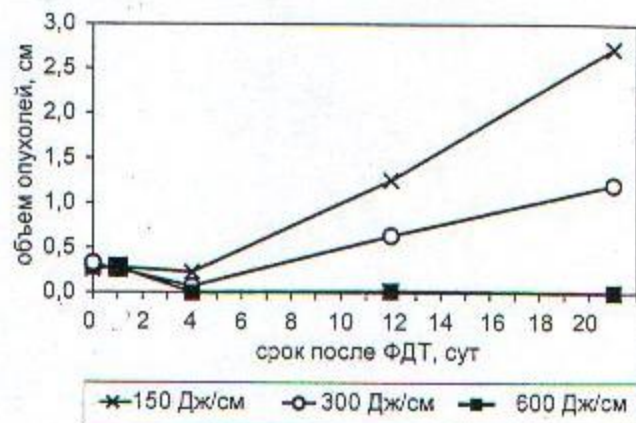


Рис. 1. Действие ФДТ с фотодитазинном на рост саркомы М-1 после подведения световой дозы 150, 300 и 600 Дж/см².

Через 3 ч после дозы 150 Дж/см² на обзорных препаратах определяются обширные очаги фотодеструкции опухолей с исчезновением в этих зонах реакции на PCNA (рис. 2, а). Φ_{PCNA} составила $19,1 \pm 2,2\%$, что в 4 раза ниже, чем для опухолей без ФДТ [1]. В сохранившейся паренхиме определяется сосудистая реакция в виде резкого полнокровия. Вдоль капилляров виден лизис опухолевых клеток с разрушением плазматических мембран и «оголением» ядер. В субкапсулярной зоне и вокруг капилляров появляются небольшие скопления опухолевых клеток в ранней стадии апоптоза (рис. 2, б). Через 1 сут большая часть паренхимы представлена полями некроза, а погибшая ткань окружена воспалительным валом из полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов и макрофагов. Реакция ядер клеток на PCNA сохраняется только по периферии опухолевых узлов в виде узких прерывистых полосок, прилегающих к капсуле. Φ_{PCNA} снижается до $7,72 \pm 4,2\%$. На 4-е сут по периферии опухолевых узлов

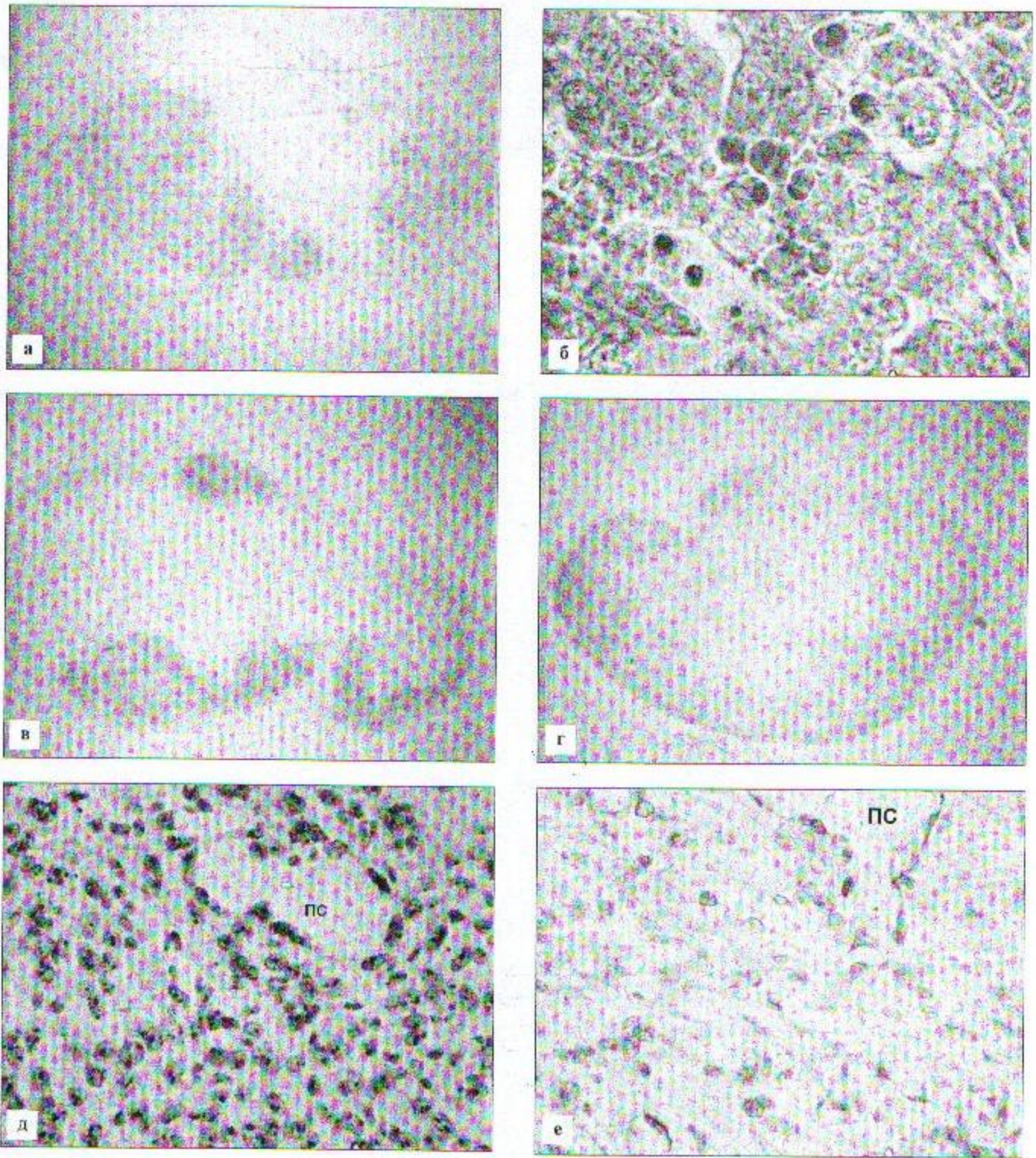


Рис. 2. Действие ФДТ с фотодитазинном на функциональную морфологию саркомы М-1 при световой энергии 150 Дж/см² (а-в), 300 Дж/см² (г-е) через 3 ч (а, б, г, з-е), 4 сут (в, д, е) после облучения; а, в, г, е – иммуногистохимическая реакция ядер клеток с антителами к PCNA, б – импрегнация по Мозеру, д – окрашивание методом AgNOR; а, в, г, – $\times 7,5$, б – $\times 1200$, д, е – $\times 470$; ПС – просвет сосуда.

появляются небольшие фрагменты с четко очерченной реакцией на PCNA (рис. 2, в), окруженные прослойками соединительной ткани и многочисленными капиллярными петлями вновь образующихся кровеносных сосудов. F_{PCNA} уменьшается до $4,22 \pm 3,9\%$, однако I_{PCNA} возрастает (табл. 1). По данным морфометрии, количественные параметры саркомы на 12-е и 21-е сутки после ФДТ при 150 Дж/см² совпадают либо

находятся в диапазоне варьирования данных в контрольной группе [1].

Через 3 ч после ФДТ при дозе 300 Дж/см² интенсивность PCNA-положительной реакции существенно снижается (рис. 2, г), а расчетное значение F_{PCNA} в два раза ниже, чем при дозе 150 Дж/см². В паренхиме опухоли видны обширные очаги коагуляционного некроза и кровоизлияния. Опухолевые клетки резко сжаты, имеют гиперхром-

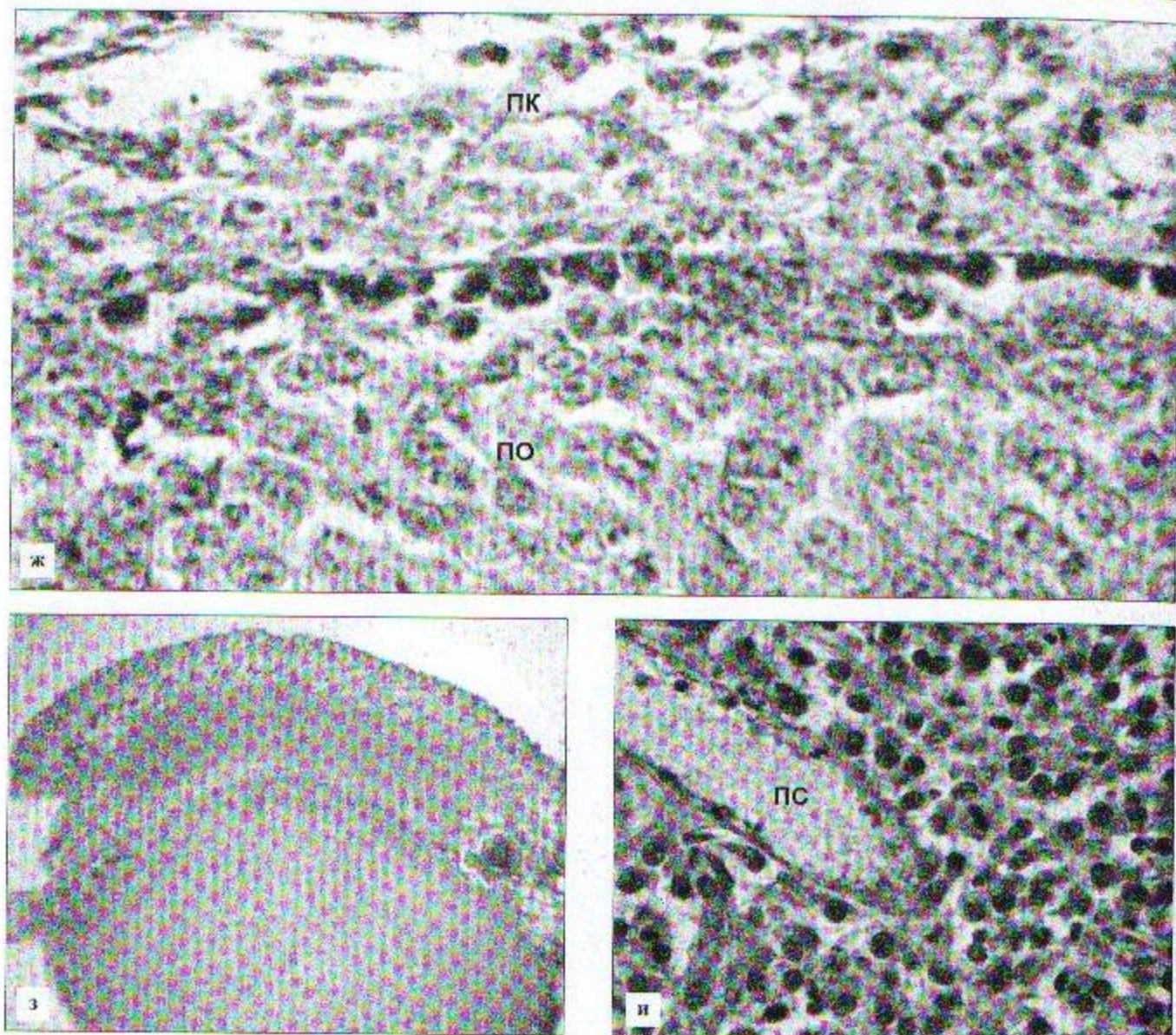


Рис. 2. Действие ФДТ с фотодитазином на функциональную морфологию саркомы М-1 при световой энергии 300 Дж/см² (ж) и 600 Дж/см² (з-и) через 3 ч (з-и) и 12 сут (ж) после облучения; ж-и – окрашивание гематоксилином и эозином; з – $\times 7,5$, ж – $\times 1200$, и – $\times 470$; ПС – просвет сосуда, ПК – подкожная клетчатка, ПО – паренхима опухоли.

ную што- и кариоплазму. Проллиферирующие клетки сохраняются в виде небольших островков в основании опухолей. Следует отметить, что даже в зонах с сохранившейся реакцией ядер на PCNA большая часть опухолевых клеток находится в состоянии фотоцитотоксического шока. При этом ядра клеток уменьшены в размерах, их кариоплазма уплотнена, а объемная плотность зон ЯО увеличивается (табл. 1). Следует отметить, что в этих условиях достаточно трудно дифференцировать апоптотические фигуры. АИ составил $0,85 \pm 0,09\%$. Однако мы не исключаем, что этот индекс несколько завышен за счет включения отдельных клеток, погибших в результате коагуляционного некроза.

Через 1 сут после ФДТ слабая PCNA-положительная реакция контурирует в основном нижнюю границу новообразований, а вся опухоль практически представлена погибшей тканью. На

4-е сут наблюдается однотипная картина субтотального некроза опухолей. Выжившие на этот срок клетки саркомы, как правило, локализируются поблизости от сосудов (рис. 2, д) и, судя по окрашиванию их ядер на PCNA (рис. 2, е), сохраняют свой пролиферативный потенциал. На 12 и 21-е сут принципиальных отличий морфофункциональных характеристик саркомы М-1 относительно повторно растущих опухолей в 1-й группе не выявлено. В то же время, обращает на себя внимание интенсивная инфильтрация лимфоцитами пограничной зоны. Иногда по периметру опухолей на границе с нормальной тканью видны пояски толщиной в 1–2 опухолевые клетки, которые находятся в состоянии лизиса, распада на фрагменты и апоптоза (рис. 2, ж). АИ в этот период составляет 0,33–0,51%, а апоптотические клетки рассеяны по периферии в зонах роста и активной пролиферации саркомы М-1.

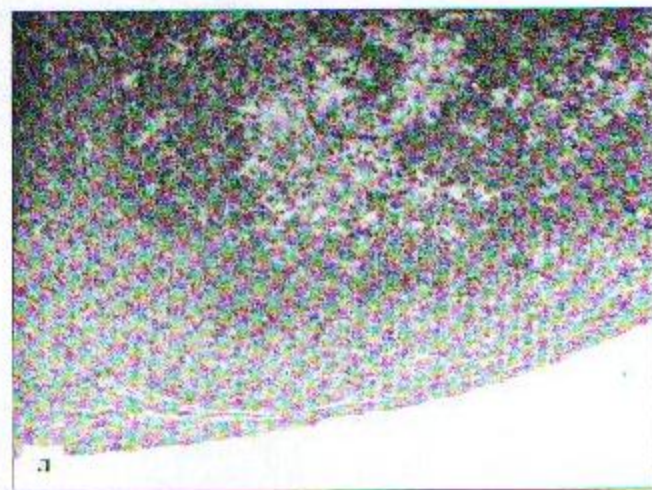
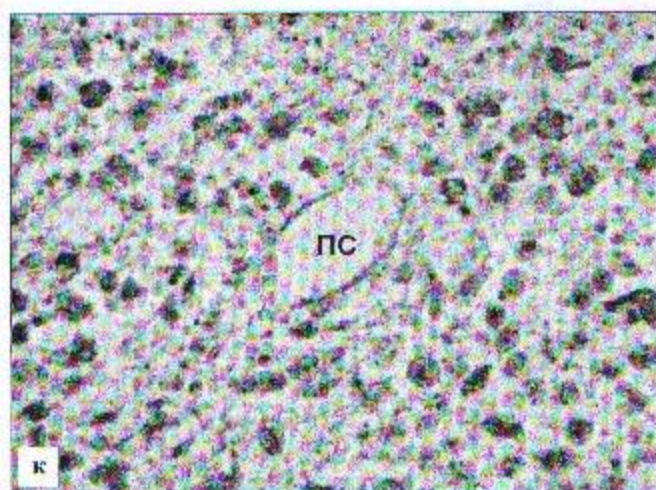


Рис. 2. Действие ФДТ с фотодитиазином на функциональную морфологию саркомы М-1 при световой энергии 600 Дж/см² (к–л) через 3 ч (к), 1 сут (л) после облучения; к – окрашивание методом AgNOR, л – окрашивание гематоксилином и эозином, к – $\times 470$, л – $\times 40$; ПС – просвет сосуда.

При плотности светового потока 600 Дж/см² через 3 ч на коже над опухолью определяется фотодинамический ожог, в области подкожной клетчатки формируется массивный экссудативный выпот (рис. 2, з), в просвете сосудов, окружающих опухоль, формируются эритроцитарные тромбы, а в опухолях наблюдается практически полный коллапс пролиферативной активности клеток. Вдоль погибших сосудов паренхима представлена полями опухолевых клеток в состоянии коагуляции, между которыми располагаются фрагменты ткани, содержащие сжатые и гиперхромные клетки (рис. 2, и). В отличие от 1-й и 2-й групп признаков массивного плазматического и геморрагического пропитывания паренхимы не определяется. Стенка отдельных сосудов выглядит разрушенной, однако кровоизлияния занимают относительно небольшую площадь. Все вышеизложенное свидетельствует об остановке гемодинамики в опухолевых узлах. Реакция ядер клеток на PCNA сохранилась лишь в субкапсульной зоне основания двух опухолей. Расчетное значение Φ_{PCNA} снизилось до 2,4%. В зонах PCNA-положительной реакции объемное содержание зон ЯО возросло до $15,91 \pm 0,84\%$ как за счет уменьшения размеров ядер, так и увеличения ЯО. В центральных зонах опухолей определялась деструкция ядер и ЯО с появлением в этих местах ядерного детрита (рис. 2, к). АИ составил 0,82%, что практически не отличается от этого показателя для 2-й группы.

Через 1 сут после применения дозы 600 Дж/см² отмечается тотальный или субтотальный ишемический некроз саркомы (рис. 2, л) с практически полной потерей реакции на PCNA. Обратило на себя внимание, что уже через сутки погибшие ткани были окружены воспалительным валом, а со стороны менее поврежденных тканей наблюдалась пролиферация фибробластов, активная эли-

минация погибших клеток с участием макрофагов, и появлялись петли неоангиогенеза. На 4-е сут у двух животных были выявлены небольшие группы выживших опухолевых клеток, окруженные вновь образованными капиллярами и грануляционной тканью. Эти опухолевые клетки имели небольшие размеры и редуцированную слабо базофильную цитоплазму. Их ядра содержали мелкие ядрышки и одно-два ЯО. Через 12 сут в одном случае были выявлены аналогичные прослойки опухолевых клеток в состоянии патоморфоза. У двух животных небольшие опухолевые узелки имели солидную структуру и дали достаточно интенсивную реакцию на PCNA. Гистологические и морфофункциональные характеристики этих клеток были без особенностей, за исключением повышенного уровня апоптотической гибели по периферии зоны роста. На 21-е сут в толще склерозированной ткани мы наблюдали небольшие участки, содержащие группы погибших и/или погибающих клеток и инфильтрированные лимфоидными клетками и макрофагами. Признаков активной пролиферации опухолевых клеток не выявлено.

Согласно полученным результатам, одним из показателей деструктивного действия ФДТ с фотодитиазином на саркому М-1 является снижение в опухоли пролиферирующих клеток. Основные закономерности этих изменений при подведении разных доз световой энергии представлены на рис. 3. Анализ кривых «доза-эффект» показал, что дозовые зависимости носят нелинейный характер. По-видимому, снижение реакции ядер клеток саркомы на PCNA через 3 ч после ФДТ обусловлено прямым действием светового потока на sensibilizированные фотодитиазином элементы паренхимы опухолей. В то же время, учитывая, что синтез PCNA чувствителен к концентрации поступающего в клетки кислорода [2],

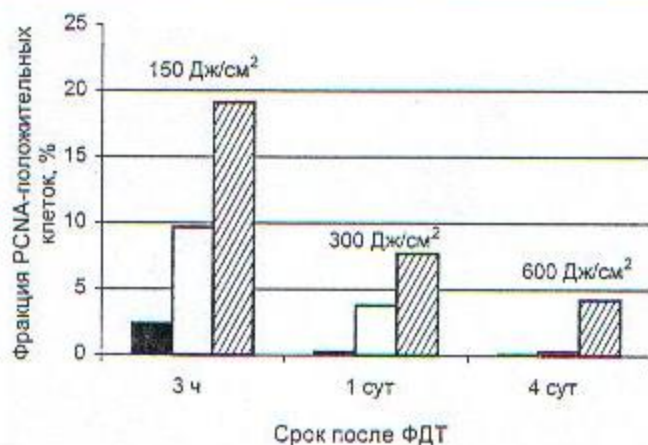


Рис. 3. Влияние плотности световой энергии на пролиферативную активность клеток саркомы М-1 после ФДТ с фотодитазином.

нельзя исключить возможный вклад в этот эффект гипоксии, быстро развивающейся в условиях не только нарушения гемодинамики, но и расходования основного кислорода в процессе фотохимических реакций [3, 4]. Кроме того, не исключена возможность накопления фотодитазина как сенсibilизатора в ядрах с последующей фотохимической деструкцией антигенных детерминант PCNA и изменением иммунореактивных свойств этого циклина.

Через 1 сут после ФДТ дозовая зависимость снижения фракции пролиферирующих клеток относительно контроля [1] носит экспоненциальный характер: при 150 Дж/см² F_{PCNA} снизилась в 10 раз, при 300 Дж/см² – в 21 раз и при 600 Дж/см² – в 257 раз. Очевидно, что в этот период снижение пролиферации опухолевых клеток обусловлено непрямым влиянием и коррелирует с разрушением сосудистого русла, образованием тромбов и развитием ишемического некроза опухолей. На наш взгляд, дозовая зависимость на 4 сут отражает фракцию выживших опухолевых клеток, сохранивших пролиферативный потенциал.

По нашим наблюдениям, в ранние сроки после ФДТ с фотодитазином основным типом гибели опухолевых клеток является некроз: прямой фотокоагуляционный, обусловленный деструкцией сенсibilизированных клеточных структур и ишемический некроз, развивающийся в результате повреждения и разрушения микроциркуляторного русла опухолей. Согласно результатам морфометрии, уровень индуцированного апоптоза варьирует в диапазоне от 0,61 до 0,85% и практически не зависит от подведенной световой дозы. Мы обратили внимание на то, что через 3 ч после ФДТ АИ почти в три раза ниже, чем через 3 ч после однократного гамма-облучения в дозе 30 Гр [2]. Эта разница может быть обусловлена несколькими причинами. Во-первых, при ФДТ может запускаться принципно

ально иной по сравнению с ионизирующей радиацией механизм инициации апоптотической программы. Во-вторых, разница пороговых доз ФДТ, инициирующих апоптоз и вызывающих некроз клеток саркомы М-1, может быть очень небольшой. И, в-третьих, в отличие от некроза, апоптоз – это активный процесс, требующий энергии и синтеза белков [11]. Вполне вероятно, что в условиях оксидативного шока, вызванного прямым действием продуктов фотохимических реакций в опухолевых клетках, может блокироваться метаболический путь развития апоптоза и развиваться смешанная гибель клеток с быстрым переходом незавершенного апоптоза в некроз.

Проведенные исследования показали, что противоопухолевое действие ФДТ с фотодитазином зависит от подведенной дозы световой энергии и определяется последовательностью развития деструктивных и воспалительных изменений в паренхиме саркомы М-1. По данным литературы [6, 8], сильная воспалительная реакция представляет одно из центральных событий в механизме деструкции опухоли, вызванной ФДТ. Кроме того, активированная ФДТ иммунная защита организма представляет ряд взаимодействующих специфических и неспецифических реакций разных типов клеток, способных эффективно уничтожать опухолевые клетки путем цитолитических и апоптотических механизмов [9]. Не исключено, что рис. 2, ж отражает картину иммунной атаки клеток микроокружения на саркому М-1. По нашим данным, максимальный фототерапевтический эффект по регрессии саркомы М-1, снижению пролиферации клеток и деструкции опухолей в целом был достигнут при световой энергии 600 Дж/см². При такой плотности энергии появляются достаточно серьезные повреждения тканей, окружающих опухоль. Однако быстро развивающееся при этом альтеративно-экссудативное воспаление, по-видимому, сопровождается мобилизацией клеток воспалительного инфильтрата, которые могут оказывать цитотоксическое действие на опухолевые клетки и вместе с иммунной системой определять окончательную элиминацию клеток, выживших после ФДТ.

Один из серьезных вопросов повышения противоопухолевой эффективности заключается в выяснении причин выживания опухолевых клеток после ФДТ. Есть основания полагать, что неоангиогенез в зонах сохранившихся жизнеспособными опухолевых клеток способствует выживанию и/или активирует их репопуляцию. И не случайно в последние годы особое внимание уделяется разработке антиангиогенных мероприятий после ФДТ [7].

Литература

1. Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В., Южаков В.В., Бандурко Л.Н., Фомина Н.К., Михина Л.Н., Малигина А.И., Ингель И.Э. Действие фотодинамической терапии с Фотодитазином на рост и функциональную морфологию саркомы М-1 // Лазерная медицина. – 2005.
2. Южаков В.В., Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Фомина Н.К., Кузнецова М.Н. Кинетика роста и функциональная морфология саркомы М-1 у интактных крыс и после гамма-облучения // Вопр. онкол. – 2001. – Т. 47. – № 3. – С. 328–334.
3. Busch T.M., Hahn S.M., Evans S.M., Koch C.J. Depletion of tumor oxygenation during photodynamic therapy: detection by the hypoxia marker EF3 [2-(2-nitroimidazol-1[H]-yl)-N-(3,3-trifluoropropyl) acetamide] // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60. – № 10. – P. 2636–2642.
4. Coutier S., Bezdetsnaya L.N., Foster T.H., Parache R.M., Guillemain F. Effect of irradiation fluence rate on the efficacy of photodynamic therapy and tumor oxygenation in meta-tetra (hydroxyphenyl) chlorin (mTHPC)-sensitized HT29 xenografts in nude mice // Radiat. Res. – 2002. – Vol. 158. – № 3. – P. 339–345.
5. Dolmans D.E., Kadambi A., Hill J.S., Flores K.R., Gerber J.N., Walker J.P., Rinkes I.H., Jain R.K., Fukumura D. Targeting tumor vasculature and cancer cells in orthotopic breast tumor by fractionated photosensitizer dosing photodynamic therapy // Cancer Res. – 2002. – Vol. 62. – № 15. – P. 4289–4294.
6. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy // J. Natl. Cancer Inst. – 1998. – Vol. 90. – № 12. – P. 889–905.
7. Ferrario A., von Tiehl K.F., Rucker N., Schwarz M.A., Gill P.S., Gomer C.J. Antiangiogenic treatment enhances photodynamic therapy responsiveness in a mouse mammary carcinoma // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60. – № 15. – P. 4066–4069.
8. Golnick S.O., Evans S.S., Baumann H., Owezarczak B., Maier P., Vaughan L., Wang W.C., Unger E., Henderson B.W. Role of cytokines in photodynamic therapy-induced local and systemic inflammation // Br. J. Cancer. – 2003. – Vol. 88. – № 11. – P. 1772–1779.

Influence of light energy density at antineoplastic efficiency of photodynamic therapy with photoditazin
 M.A. Kaplan, Y.S. Romanko, V.V. Popuchiev,
 V.V. Yuzhakov, L.N. Bandurko, L.N. Mikhina,
 N.K. Fomina, A.I. Malygina, I. Ingel

The effect of light flux density at morphofunctional parameters of sarcoma M-1 after photodynamic therapy (PDT) with Photoditazin has been assessed. In a range of 150–600 (J/cm²) the decrease of tumoural cells proliferative activity by PCNA have nonlinear dependences with the doses. Early after PDT with Photoditazin the basic way of destruction of tumoural cells is direct photocoagulating necrosis caused by destruction of sensitized cellular structures and ischemic necrosis developing as a result of damage and destruction of vascular channels in tumours. The level of induced apoptosis practically does not depend on the applied density of light energy.