

## ВСЕГДА ЛИ НАБЛЮДАЕТСЯ ПОВЫШЕННАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В ОПУХОЛИ ?

*Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., Гусева И.А.*

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, г.Москва,  
тел. (495) 681.89.84, эл.почта rogatkin@monikiweb.ru

### **Is There Always Increased Fluorescence of a Photosensitizer in a Tumor ?**

*Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Guseva I.A.*

“MONIKI” named after M.F.Vladimirskiy,  
phone (495) 681.89.84, e-mail rogatkin@monikiweb.ru

Обсуждается отсутствие в ряде случаев злокачественных новообразований вынужденной флюоресценции экзогенного фотосенсибилизатора *in situ*, которая по современным представлениям, наоборот, должна быть в опухоли повышена.

The problem of lack of the exogenous photosensitizer’s fluorescence *in situ* in some cases of malignant neoplasms is discussed, but by the modern view, on the contrary, it should be increased in tumors.

Сегодня лазерная флюоресцентная неинвазивная и малоинвазивная (*in vivo, in situ*) спектроскопическая диагностика – достаточно развитое научное, а в ряде случаев и практическое направление в медицине [1-3]. Особенно широко лазерная флюоресцентная спектроскопия (ЛФС) применяется сегодня в онкологии для фотодинамической терапии (ФДТ) и интраоперационной хирургической навигации (ИХН) [4-6]. Согласно существующим представлениям, многие фотосенсибилизаторы обладают способностью к повышенному накоплению в злокачественных опухолевых тканях в концентрациях, превышающих их накопление в нормальных интактных тканях в 2–10 раз и более, а также способностью к сильной вынужденной флюоресценции под действием освещающего их лазерного излучения, т.е. способны переизлучать значительную часть поглощенной ими световой энергии (до 20–25 %) в виде квантов света с меньшей частотой (с большей длиной волны) [1,3]. Это позволяет при системном введении фотосенсибилизатора (внутривенно, например) онкологическому пациенту контрастировать его опухоль на фоне нормальных тканей. Рисунок 1 демонстрирует такой пример с разной интенсивностью зарегистрированной *in situ* методом ЛФС флюоресценции с опухоли (рак дна полости рта) и интактной нормальной слизистой полости рта при системном введении больному отечественного фотосенсибилизатора “Фотосенс”.

Однако накопление фотосенсибилизаторов в тканях зависит от множества факторов внутри организма: от концентрации и длительности нахождения препарата в циркулирующей крови (при его внутривенном введении), от

артериальной доставки препарата в сосудистое русло опухоли, скорости выведения (экскреции из плазмы крови), функционирования эндотелиальных клеток сосудов опухоли, рН среды меж опухолевых клеток, напряжения кислорода в клетках опухоли и интерстициальной жидкости и т.д. [4].

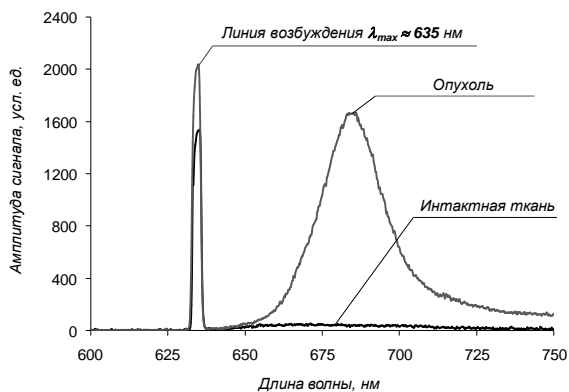


Рисунок 1. Флуоресцентное контрастирование опухоли при системном введении онкологическому больному фотосенсибилизатора «Фотосенс». Контраст  $\sim 16$ .

инфильтраты, ткани, поврежденные грибковыми и анаэробными инфекциями, кератомы [6,7]. В комплексе с амфифильными полимерами фотосенсибилизатор «Фотодитазин» хорошо аккумулируется в области хирургических ран и ожогов [8]. В последнее время появились серьезные основания полагать, что повышенное накопление в тканях фотосенсибилизаторов на основе порфиринов и фталоцианина алюминия может быть связано с состоянием воспаления и гипоксии в тканях [9-11]. Все это заставляет по-новому посмотреть на проблему интраоперационного контрастирования опухолей и на диагностику в ФДТ.

Несмотря на то, что воспаление и гипоксия практически всегда сопровождают рост злокачественных новообразований, а гипоксия является еще и хорошо известным фактором радиорезистентности опухолей, накопление фотосенсибилизатора в гипоксических клетках и в злокачественных клетках — не одно и то же. Контуры злокачественного пула клеток в опухоли, особенно хорошо оксигенированных, и гипоксического пула клеток, в который попадают и доброкачественные клетки в состоянии гипоксии, обычно не совпадают. Соответственно, распределение фотосенсибилизатора в опухоли может неточно отражать распространение злокачественного процесса. Как следствие, возможны ошибки ИХН и не эффективность (или слабая эффективность) процедур ФДТ. Такие данные встречаются в литературе. В [12], например, говорится о том, что ряд глиом головного мозга в группе испытуемых не имел повышенного контраста флуоресценции. Не исключено, что это были хорошо оксигенированные опухоли со слабо выраженным местным

Более того, по данным ряда авторов многие фотосенсибилизаторы, особенно на основе гематопротопорфирина, могут накапливаться не только в злокачественных новообразованиях, но и в некротических, воспаленных, гнойных и других патологически измененных тканях [1,3,6 и др.]. Сильной порфириновой флуоресценцией обладают различные клеточные

воспалением. Аналогичные замечания для рака почки и мочевого пузыря содержатся в [13], а для случаев немеланомных опухолей кожи в работе [14] в целом по 855 случаям клинических наблюдений описан низкий контраст флюоресценции в опухоли, намного менее 1,5 ( $<1,2$ ).

Данные групп радиологического отделения и отделения нейрохирургии МОНИКИ также подтверждают возможность ошибок ФДТ и флюоресцентной ИХН по причине накопления фотосенсибилизаторов преимущественно в гипоксических клетках и областях воспаления, а не в перерожденных злокачественных клетках, особенно молодых. Например, на протяжении длительного времени группа отделения радиологии исходила из предположения, что если экзогенные фотосенсибилизаторы и порфирины активно накапливаются в опухоли, а в организме есть много и эндогенных порфиринов, то при достаточной чувствительности аппаратуры увидеть контраст опухоли можно и без использования экзогенных фотосенсибилизаторов, регистрируя только эндогенную флюоресценцию порфиринов *in situ*. Увы, результаты 5-7 лет исследований показали, что около 50% опухолей головы и шеи (рак кожи головы и шеи, а также органов полости рта) не имеют выраженного контраста эндогенной флюоресценции, т.е. фактически не накапливают сверх нормальных тканей ни эндогенных, ни экзогенных порфиринов, и не имеют явного контраста флюоресценции контура опухоли на их фоне [3, 15] в противоположность, например, флюоресценции коллагена при базально-клеточном раке [16]. Аналогично при разработке и совершенствовании методов микрохирургии опухолей головного мозга с применением нейронавигации и лазерной флюоресцентной ИХН в отделении нейрохирургии МОНИКИ недавно на примере 16 пациентов с глиобластомами головного мозга было показано, что, хотя, в целом контраст флюоресценции в опухоли и фиксировался для большинства пациентов выше 1,5 (до 5 и более), для 3-х пациентов (19%) он не был достоверно выше 1. Таким образом, злокачественные процессы, скорее всего, не дифференцируются достоверно от доброкачественных по уровню накопления фотосенсибилизаторов. Это, видимо, не специфический признак злокачественности, а признак измененного метаболизма тканей – гипоксии, пониженного рН, интоксикации тканей и т.п.

Более того, даже если начальный контраст флюоресценции и фиксируется в опухоли, часто его уменьшение вплоть до полного исчезновения, что особенно подмечено в литературе для флюоресценции порфирина (PpIX) *in situ*, отмечается в динамике наблюдения пациента. Например, это явление в ФДТ, носит название фотобликинга и позволяет по данным ряда авторов по измерениям флюоресценции объективизировать временной интервал, где наиболее эффективна дозировка и наиболее эффективно действие этого типа фото-активированной химиотерапии в целом [4]. Похожее явление для эндогенного порфирина при лучевой терапии было описано нами в [7]. Это мог бы быть хороший способ оценки эффективности лечебных процедур, если бы не целый ряд замечаний, сводящихся к тому, что непонятно, какой уровень флюоресценции принимать за опорный, и как он соотносится с истинным

содержанием фотосенсибилизатора в опухоли. Как справедливо указывается в [4], наиболее ярко проявляет себя этот эффект, к сожалению, только для порфирина, а для других типов фотосенсибилизаторов он, почему-то, не так четко выражен, либо отсутствует. Кроме того, зависимость интенсивности регистрируемой флюоресценции на поверхности опухоли нелинейно зависит от концентрации фотосенсибилизатора внутри опухоли, что тоже осложняет оценки истинного контраста накопления [17]. Поскольку регистрация флюоресценции в ЛФС происходит *in vivo*, с поверхности кожи или слизистой, то уровень кровенаполнения этих тканей также существенно влияет на регистрируемый сигнал. Во-первых, кровь сильно за счет поглощения света гемоглобином, особенно в синей области спектра (использовалась для диагностики в [14]), ослабляет зондирующее лазерное излучение, что ослабляет вынужденную флюоресценцию, а, во-вторых, за счет рассеяния сильно ослабляет и сам регистрируемый сигнал флюоресценции в красной области спектра. Поэтому просто уровень флюоресценции мало что говорит врачу об уровне накопления фотосенсибилизатора, если не учитывать кровенаполнение и индивидуальные оптико-физические свойства тканей в зоне обследования.

Тем не менее, такой анализ ситуаций с флюоресценцией порфириновых фотосенсибилизаторов в опухолях, особенно в свете публикации [18], наталкивает на одно интересное размышление. Не исключено, что уровни накопления фотосенсибилизатора в опухоли могут коррелировать со степенью ее химио- и радиорезистентности. В работе [7] некоторые предпосылки к этому можно усмотреть. Радио- и химиорезистентность, например, опухолей полости рта наблюдается примерно в 30% случаев. Примерно такое же количество опухолей имеет явно выраженный контраст порфириновой флюоресценции. Сегодня нет оснований утверждать, что это явления взаимосвязаны, но, явно, этот вопрос весьма интересен и требует дополнительного изучения.

#### Литература

1. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2-х т. / Пер. с англ. под. ред. Тучина В.В. – М.: Физматлит, 2007.
2. Rogatkin D., Shumskiy V., Tereshenko S., Polyakov P. Laser-based non-invasive spectrophotometry - an overview of possible medical application // *Photonics and Lasers in Medicine*, 2013. V. 2. No. 3. - P. 225-240.
3. Рогаткин Д.А. Физические основы лазерной клинической флюоресцентной спектроскопии *in vivo*. Лекция // *Медицинская физика*, 2014. №4. -С.78-96.
4. Pogue B.W., Elliot J.T., Kanick S.C., Davis S.C. and Samkoe K.S. Revisiting photodynamic therapy dosimetry: reductionist & surrogate approaches to facilitate clinical success // *Physics in Medicine & Biology*, 2016. V. 61. - P. R57-R89.
5. Elliot J.T., Dsouza A.V., Davis S.C., Olson J.D., Paulsen K.D., Roberts D.W. and Pogue B.W. Review of fluorescence guided surgery visualization and overlay techniques // *Biomed. Opt. Express*, 2015. V. 6. No. 10. - P. 3765-3782.
6. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. - М.: Мир, 1965.

7. Tchernyi V.V., Rogatkin D.A., Bychenkov O.A., Polyakov P.Yu. Some results of multiwave in situ autofluorescence diagnostics // Progress in Biomedical Optics and Imaging / Proc. SPIE, 2005. V. 5693. – P. 336-343.

8. Соловьева А.Б., Толстых П.И., Иванов А.В., и др. Полимеры в фотодинамической терапии: наноразмерные комплексы плуроников с фотодитазиним при лечении ожогов и гнойных ран // Альманах клинич. медицины, 2008. № 17-2. - С. 362-365.

9. Горенков Р.В., Карпов В.Н., Рогаткин Д.А., Шумский В.И. Хроническая гипоксия как один из факторов повышенной флуоресценции эндогенных порфиринов в живых биологических тканях // Биофизика, 2007. Т.52. № 4. - С. 711-717.

10. Rogatkin D.A., Tereshenko S.G., Lapaeva L.G., Gorenkov R.V. Complex Therapeutic-Diagnostic Endoscopy with Laser Irradiation and in-Situ Spectrophotometry of Erosive-Ulcerative Impairments of Up-per Part of the Gastrointestinal Tract // Proc. of SPIE, 2002. V. 4613. - P. 286-294.

11. Петрицкая Е.Н., Куликов Д.А., Рогаткин Д.А., Гусева И.А., Куликова П.А. Использование флуоресцентной спектроскопии для диагностики гипоксии и воспалительных процессов в тканях // Оптический ж., 2015. Т. 82. №12. – С. 41-46.

12. Горяйнов С.А., Потапов А.А., Гольбин Д.А. Зеленков П.В., Кобяков Г.Л., Гаврилов А.Г. Флуоресцентная диагностика и лазерная биоспектрофотометрия как один из методов мультимодальной нейронавигации в нейрохирургии // Вопросы нейрохирургии, 2012. № 6. - С.57-65.

13. Demos S.G. Near-infrared autofluorescence imaging for detection of cancer // J. of Biomed. Optics, 2004. V. 9. No. 3. - P. 587-592.

14. Гамаюнов С.В., Скребцова Р.Р., Корчагина К.С., Сапунов Д.А., Шахова М.А., Шахова Н.М. Возможности оптимизации клинических исходов фотодинамической терапии с использованием оптической визуализации // Альманах клинич. медицины, 2016. Т.44. №2. - С. 148-157.

15. Рогаткин Д.А. Неинвазивная лазерная флуоресцентная диагностика в медицине // Лазерная медицина, 2000. Т.4. №1. - С. 30-35.

16. Smirnova O.D., Rogatkin D.A., Litvinova K.S. Collagen as in vivo quantitative fluorescent biomarkers of abnormal tissue changes // J. of Innovative Optical Health Science, 2012. V. 5. No. 2. -P. 1250010.

17. Rogatkin D., Guseva I., Lapaeva L. Nonlinear behavior of the autofluorescence intensity on the surface of light-scattering biotissues and its theoretical proof // J. of Fluorescence, 2015. V.25(4). - P. 917-924.

18. Huang Z., Hsu Y.-C., Li L.-B., Wang L.W., Song X.D., Yow C.M., Lei X., Munsani A.I., Luo R.-C. and Day B.J. Photodynamic therapy of cancer - challenges of multidrug resistance // J. of Innovative Optical Health Sciences, 2015. V. 8. No. 1. -P. 1530002 (13 p.).

