

УДК 616.831—006.484:615.849.19:615.831

## Фотодинамическая терапия опухолей головного мозга: эффект в культуре глиомы (штамм 101.8)

Розуменко В.Д., Семёнова В.М., Стаино Л.П., Герасенко К.М.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев, Украина

*Ключевые слова:* фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, фталоцианин, лазерное излучение, глиома.

*Введение.* Фотодинамическая терапия (ФДТ) относится к бинарным методам лечения злокачественных опухолей. Принцип противоопухолевого эффекта ФДТ состоит в способности ряда химических агентов (фотосенсибилизаторов) селективно накапливаться в опухолевой ткани и под воздействием лазерного облучения определённой длины волны генерировать синглетный кислород, что приводит к избирательному некрозу опухоли. Метод ФДТ [32,39,54] в научной литературе встречается также под названиями фототерапия [41], фотохимиотерапия [43,53], фоторадиационная терапия [16,22,29]. В эксперименте и клинической практике исследуются возможности ФДТ при опухолях легких, молочной железы, пищевода, желудка, кишечника, мочевого пузыря и других органов.

Перспективным направлением является разработка метода ФДТ при глиомах головного мозга, преимущественно инфильтративный характер роста которых исключает возможность проведения радикального удаления опухоли хирургическим путем [9,32,38,39,54].

В настоящее время при проведении ФДТ, наряду с производными гематопорфирина (ПГП), исследуются фотосенсибилизаторы второго поколения на основе комплексов фталоцианина, которые имеют четко определенную структуру, характеризуются высокой фотодинамической активностью, быстрой фармакокинетикой, наличием интенсивного максимума поглощения в более длинноволновой части спектра, низкой токсичностью для нормальных тканей [7,11,24,35,51,59].

В эксперименте отмечена высокая эффективность комплексов фталоцианина с различными металлами. Так, фталоцианин алюминий по сравнению с производными гематопорфирина проявляет стократное увеличение поглощения излучения с длиной волны 675 нм и вызывает более резкое снижение выживаемости опухолевых клеток, что показано на суспензионных культурах линии U87 MG, происходящей из глиобластомы человека [11]. Обнаружена также высокая селективность накопления

цинк-фталоцианина в ткани экспериментальных рабдомиосарком, что сочетается с медленным его выведением и возможностью проведения многократных сеансов фотооблучения. При этом продолжительность жизни таких экспериментальных животных увеличивается на 150—160% по сравнению с контрольными [57]. Установлена также высокая эффективность фталоцианина хлоралюминия как фотосенсибилизатора для лейкемических клеток мышей линии P 388 и 1210. Так, при инкубации клеток с 0,3 мкг фталоцианина и низкой дозе облучения апоптоз 90% клеток достигнут при экспозиции 60 мин. При этом фталоцианин проходил через цитоплазму и вызывал фотоповреждение лизосом и митохондрий. При нарастающей дозе облучения прогрессировало повреждение клеточных мембран и наблюдалась неспецифическая деградация ДНК [37].

Целью настоящей работы явилось экспериментальное исследование фотодинамического эффекта в культурах перевивной глиомы 101.8 мозга крыс при использовании фотосенсибилизатора второго поколения сульфированного фталоцианина алюминия (СФА) и воздействии лазерным излучением с длиной волны 675 нм.

Как известно, культуры клеток часто используют в качестве биологической модели для сравнительного изучения токсичности, внутриклеточной локализации, биотрансформации и механизмов действия различных фотосенсибилизаторов. Это способствует подбору в эксперименте оптимальных режимов фотодинамической терапии опухолей различного гистогенеза.

*Материалы и методы.* Исследования провели на культурах перевивной глиомы мозга крыс (штамм 101.8), близкой по своим гистологическим свойствам к злокачественной глиоме человека, в которой одновременной малигнизации подвергаются астроцитарная глия, олигодендроциты и эпендима в различных соотношениях [10].

В работе использовали метод диссоциированных культур, разработанный для нервной ткани [3], и адаптированный нами для опухо-

левого материала. Применение этого метода дает возможность получить многоклеточный пласт с характерным ростом на 4—5-е сутки, то есть в более короткие сроки, чем в первичных культурах.

Для получения культур ткань опухоли в стерильных условиях измельчали на фрагменты размером 1—2 мм, которые помещали в раствор СМФ, свободный от ионов кальция и магния. Дезагрегацию ткани проводили механически многократным пипетированием. Полученную клеточную суспензию дважды центрифугировали. Клетки осадка ресуспендировали в питательной среде, состоящей из телячьей эмбриональной сыворотки (40,0%), минимальной среды Игла (40,0%), глюкозы (800 мг %), инсулина (0,2 ЕД/мл), сыворотки крови человека (10,0%). Клеточную взвесь переносили на адгезивные покровные стекла, предварительно покрытые спиртовым раствором полиэтиленimina и помещенные в пластиковые чашки Петри (R = 3 см). Дальнейшее культивирование проводили в питательной среде указанного состава.

Культуры опухоли наблюдали в динамике роста прижизненно в инвертированном микроскопе “Биолам-3” (ЛОМО, Санкт-Петербург) с микрофотографической регистрацией. В опыт отбирали культуры с относительно равномерной зоной роста, которая начинала формироваться через 48—72 ч после начала культивирования опухоли.

Всего провели 28 опытов. Каждый опыт включал: 1) контрольные культуры опухоли; 2) культуры опухоли, инкубированные с фотосенсибилизатором в течение 24 ч; 3) культуры опухоли, подвергнутые лазерному облучению при экспозиции 15, 30, 60, 120, 180, 240 и 300 с (без фотосенсибилизатора); 4) культуры опухоли, инкубированные с фотосенсибилизатором в течение 24—48 ч с последующим лазерным облучением при экспозиции 15, 30, 60, 120, 180, 240 и 300 с. Концентрация фотосенсибилизатора СФА составляла 5 мкг на 1 мл питательной среды.

Облучение культур проводили с применением лазерного аппарата для фотодинамической терапии “Альфа—Фотосен”, АЛФДТ—0,67/500 (Россия), разработанного на базе твердотельного лазера на аллюминате иттрия с преобразованием излучения во II гармонику. Длина волны излучения — 675 нм. Лазерная установка оснащена фиброволоконной оптикой. Мощность излучения на выходе световода — 200 мВт.

Через 24 ч после проведения эксперимента культуры фиксировали в 10,0% растворе нейтрального формалина и окрашивали гематок-

силином Караччи. На гистологических препаратах в контрольных и опытных культурах, помимо общей структуры роста, оценивали морфологические характеристики клеток, подсчитывали среднюю плотность их распределения, средний митотический индекс, долю поврежденных клеток, выраженную в процентах на 1000 клеток с учетом общепринятых морфологических признаков цитотоксичности. В каждом из опытов указанные параметры анализировали в 10—15 полях зрения светового микроскопа при стандартном увеличении ( $\times 400$ ). Фигуры апоптоза исследовали в иммерсионной системе при увеличении  $\times 900$ . Все морфометрические исследования проводили с помощью цитоанализатора изображения “IBAS-2000” (ФРГ) с использованием телемонитора и фоторегистрации.

В специально поставленных 3 опытах по вышеописанной методике культивировали фрагменты нервной ткани, взятой из коры сенсорной зоны мозга новорожденных крыс. В этой серии опытов исследовали влияние СФА на глиальные и нервные клетки культур и способность его к внутриклеточному накоплению.

*Результаты.* В диссоциированных культурах клетки глиомы штамма 101.8 проявляют хорошо выраженную миграционную активность и формируют характерные структуры роста, свойственные цитоархитектонике анапластических глиом (рис.1). На гистологических препаратах на 4—5 сутки роста контрольные культуры глиомы характеризовались обширными разрастаниями угловатых умеренно полиморфных опухолевых клеток с короткими конусовидными отростками. На рис.2 показан клеточный состав глиомы 101.8 с наличием фигур митотического деления. В различных участках роста митотический индекс колебался от 0,1 до 0,4 %. На большем протяжении зоны роста опухолевые клетки располагались в виде мозаикоб-

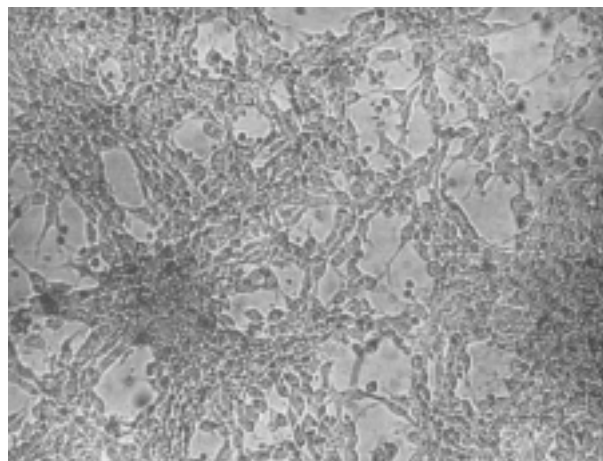


Рис.1. Общая структура живой культуры глиомы 101.8 на 4-е сутки роста. Увеличение  $\times 100$

разного монослоя с различной степенью разрыхления, местами в зоне роста культур преобладали многослойные разрастания мультиполярных длинноотростчатых опухолевых клеток.

Такие клетки нередко формировали сетевидные структуры с признаками глиофибриллообразования, что характерно для опухолей астроцитарного генеза в условиях культивирования. Клеточная плотность в зоне роста культур колебалась от 39 до 54 клеток в поле зрения, дистрофически измененные клетки с округленной цитоплазмой, редукцией отростков и кариопикнозом составляли 5—7 %.

Добавление СФА в питательную среду исследуемых культур глиомы не изменяло структуры их роста. Прижизненное наблюдение культур выявило активное поглощение фотосенсибилизатора большинством опухолевых клеток, которые приобретали голубую окраску. На гистологических препаратах в цитоплазме таких клеток выявляются плотногранулярные включения интенсивно синего цвета. Максимальное количество опухолевых клеток с включениями фотосенсибилизатора местами достигало 90,0% (рис.3). Общая структура роста и митотическая активность культур, инкубированных СФА, подобны полученным в контрольных наблюдениях. Отмечается лишь небольшое нарастание дистрофированных клеток с редукцией отростков, округлением цитоплазмы и компактизацией хроматиновой субстанции ядра. Количество таких клеток увеличивалось до 10—13 % по сравнению с контрольными культурами.

Воздействие на культуры глиомы (без фотосенсибилизатора) лазерным излучением при короткой (15—30 с) экспозиции вызывает стимуляцию роста культур, на что указывает увеличение митотического индекса до 0,7—1,2 %. При этом общая архитектура зоны роста сохраняется подобно таковой в контрольных наблюдениях (рис.4). Увеличение экспозиции лазерного облучения свыше 60 с приводит к постепенному снижению митотической активности вплоть до полного исчезновения делящихся клеток. При экспозиции облучения 240—300 с наблюдается отчетливое разрежение зоны роста культур в результате десквамации части опухолевых клеток и увеличения доли дистрофически измененных клеток на 10—15 % (рис.5).

В опытах с лазерным облучением культур глиомы, предварительно инкубированных с СФА, установлено, что степень структурных изменений значительно усиливается и зависит от экспозиции и соответственно дозы облучения. Кратковременное облучение таких культур (в пределах 15—60 с) не изменяет характерной структуры зоны роста с сохранением клеточной плот-

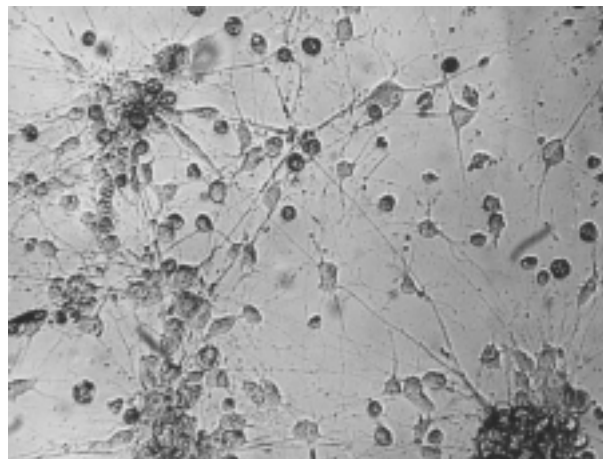


Рис.5. Живая культура глиомы 101.8 после лазерного облучения в течение 300 с. Разрежение зоны роста. Увеличение  $\times 200$

ности и митотической активности подобно контрольным наблюдениям. Начиная с экспозиции 120 с лазерного облучения в культурах, наблюдается нарастание количества дистрофически и некробиотически измененных клеток за счет клеток, включивших фотосенсибилизатор. Такие клетки округляются, утрачивают отростки, их цитоплазма нередко подвергается мелкоглыбчатому распаду или гидропической трансформации. Встречаются клетки-тени (рис.6). Это сопровождается снижением клеточной плотности на 40—50 % в связи с десквамацией поврежденных клеток.

При увеличении до 240 с экспозиции лазерного облучения культур, инкубированных с СФА, зона их роста подвергается дальнейшему опустошению. Нередко на подложке удается обнаружить лишь небольшие скопления клеток с признаками сильного повреждения. Судя по остаточной серо-голубой окраске, эти разрушенные клетки содержали фотосенсибилизатор (рис.7). Кроме того, среди таких клеток выявляются завершенные стадии апоптозной гибели.

При увеличении экспозиции лазерного облучения культур до 300 с после прединкубации их с СФА доля необратимо поврежденных клеток местами достигает 70—80%. В таких участках обнаруживается субтотальная повреждаемость клеточного пласта, состоящего из клеток-теней, на фоне которых угадываются лишь следы фотосенсибилизатора бледно-серой окраски, который, по-видимому, подвергается вымыванию в результате необратимо поврежденных клеточных мембран (рис.8). Лишь местами остаются сохранными по морфологии высокодифференцированные отростчатые клетки, которые не содержат включений фотосенсибилизатора.

В опытах по исследованию характера накопления СФА и его влияния на культуру нервной ткани из мозга новорожденных крыс установлено, что через 24—48 ч после введения фотосенсибилизатора в питательную среду он не выявляется в нейронах и накапливается лишь в отдельных глиальных клетках культур в виде диффузной мелкодисперсной зернистости. При этом плотность клеточного пласта и митотическая активность культур, инкубированных с фотосенсибилизатором, не отличается от этих же показателей в контрольных культурах. Это указывает на отсутствие токсического влияния СФА на клетки нормального мозга в условиях данной экспериментальной модели.

Сравнительный анализ степени включения СФА в опухолевых клетках и в клетках нормальной нервной ткани культур показал, что в опухолевых клетках глиомы 101.8 исследуемый фотосенсибилизатор накапливается в 20—25 раз больше, чем в глиальных клетках нормального мозга, что подтверждает селективность его накопления в клетках опухоли и согласуется с данными литературы [26].

*Обсуждение.* Как известно, глиомы головного мозга составляют около 50,0% всех первичных внутричерепных опухолей [4,5]. Глиальным опухолям присущ инфильтративный характер роста с распространением опухолевых клеток по периваскулярным пространствам, проводниковым путям мозга, вдоль базальных мембран мягких мозговых оболочек и их сосудов [15,48]. Известно, что опухолевые клетки обычно выявляются на расстоянии 2—3 см от локализации первичного очага [19,30]. У большинства больных глиальные опухоли распространяются на функционально значимые отделы мозга и в медианные структуры, при этом у 47,0% больных отмечено врастание злокачественных глиом в противоположное полушарие мозга [4,40]. Существующие в настоящее время хирургические методы лечения глиом, основанные на использовании современных ультразвуковых и лазерных технологий, навигационной и эндоскопической техники, микрохирургии и эндоскопии, направлены на максимально возможное удаление опухолевой ткани в пределах функционально обоснованных границ, обеспечение внутренней декомпрессии, снижение травматичности хирургического вмешательства, улучшение качества жизни оперированных больных. Однако проведение радикальных операций при глиомах мозга не выполнимо и даже при “полном” удалении опухоли по перифокальной зоне у 96 % больных в течение относительно короткого периода времени наблюдается продолженный рост [18,20].

С целью увеличения сроков ремиссии хирургический метод дополняют послеоперационной лучевой и химиотерапией.

Перспективным методом лечения больных с глиомами головного мозга является фотодинамическая терапия [32,41,44,54]. Метод ФДТ отличается высокой степенью избирательного повреждения опухолевой ткани, отсутствием токсичности для окружающих непораженных опухолевым процессом участков мозга в дозах, обеспечивающих фотодинамический эффект, а также безопасностью и малоинвазивным характером проводимого лечения, наряду с возможностью его многократного повторения [42,50,52,54]. Эффект фотодинамического разрушения опухоли обеспечивается при участии трех компонентов — фотосенсибилизатора, кислорода и света (лазерное излучение). Возникающая под воздействием света фотодинамическая реакция приводит к образованию синглетного кислорода, который оказывает токсическое воздействие на опухолевые клетки.

Механизмы ФДТ полностью не раскрыты. Считается, что основными мишенями токсического действия синглетного кислорода являются клеточные мембраны, митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, ядерный аппарат клетки [9,23,52,56]. Имеются данные о накоплении фотосенсибилизаторов лизосомами и об “адресном” поступлении этих соединений в лизосомы с последующей гибелью клеток при участии гидролитических ферментов. Предполагается, что одним из механизмов фотолизиса опухолевых клеток при ФДТ является фотохимически индуцируемая деполимеризация микротрубочек, являющихся мишенью при фотохимиотерапии [14]. Вместе с тем к вторичной деструкции опухоли приводит и повреждение в процессе проведения ФДТ собственной сосудистой системы опухоли [17,23,31,40,46,52]. Чем выше фотодинамическая активность сенсбилизатора, тем выше степень цитотоксического эффекта [39].

Качественно новый этап развития метода ФДТ связан с использованием фотосенсибилизаторов второго поколения на основе комплексов фталоцианина [8,11,51,59]. Использование для активирования фталоцианина лазерного излучения с длиной волны 675 нм, соответствующей максимуму поглощения фотосенсибилизатора, обеспечивает более глубокое проникновение излучения в ткани [23,47,58].

На различных опухолях в эксперименте показана высокая селективность накопления фталоцианинов в опухолевой ткани. Кроме того, по сравнению с ППТ они дают более высокое соотношение концентрации в опухоли по сравнению с таковыми в нормальных тканях, что

обеспечивает более эффективную регрессию объема опухоли в сочетании с лазерным облучением при длине волны 670 нм [26].

Как показали результаты проведенных нами исследований по моделированию фотодинамического эффекта в культурах экспериментальной глиомы 101.8, лазерное облучение на длине волны 675 нм культур, предварительно инкубированных в питательной среде с добавлением СФА в дозе 5 мкг/мл, вызывает нарастающую с увеличением экспозиции фотодеструкцию большинства опухолевых клеток. Этот эффект начинает отчетливо проявляться после облучения культур глиомы в течение 120 с, а субтотальное повреждение опухолевых клеток и резко выраженная клеточная потеря достигается после облучения таких культур в течение 240—300 с. В серии опытов по оценке 24-часового воздействия СФА на культуры, полученные из нормального мозга новорожденных крыс, установлена устойчивость нейроцитов к накоплению фотосенсибилизатора и лишь слабое его включение в цитоплазму части глиальных клеток. Это подтверждает положение об избирательном накоплении исследуемого СФА в опухолевых клетках и предполагает отсутствие нейротоксичности при его использовании. Полученные результаты могут служить обоснованием к последующему клиническому применению апробированного нами в эксперименте СФА.

В клинической практике ФДТ применяют как в комбинации с хирургическим удалением опухоли с целью воздействия на остатки опухолевой ткани и краевую зону инфильтрации [28,39,44,49,52], так и в виде самостоятельного метода фотодеструкции опухоли с применением стереотаксической имплантации гибкого волоконного световода в предварительно сенсибилизированную внутримозговую опухоль [32,33,36,54].

Установлен синергизм ФДТ и химиотерапии [21,31,54], лучевой терапии [12,45,52], криодействия [27]. Адьювантом ФДТ является интерстициальная термотерапия [1,2,12,31,47]. Учитывая тот факт, что обязательным компонентом фотодинамической реакции является кислород, заслуживают внимания исследования по сочетанному проведению гипербарической оксигенации и ФДТ [6]. Расширение возможностей и повышение эффективности ФДТ обеспечит ее сочетанное применение с бор-нейтронзахватной терапией (БНЗТ) на основе синтеза и использования порфириновых соединений, обогащенных бором-10 [13, 25].

Перспективы развития метода ФДТ глиом головного мозга связаны с синтезом новых ФС, которые должны иметь высокую степень се-

лективного накопления в ткани опухоли по сравнению с окружающим мозговым веществом, более эффективно генерировать синглетный кислород и иметь пик поглощения лазерного излучения при длине волны, обеспечивающей максимальную глубину проникновения в опухолевую и мозговую ткани. Совершенствование технологий ФДТ требует также разработки новых лазерных аппаратов с оптимальными энергетическими характеристиками, оснащенных компьютеризированными системами управления и укомплектованными волоконно-оптическими устройствами, адаптированными к условиям проведения нейрохирургических внутричерепных операций с использованием современной навигационной и стереотаксической техники. Метод ФДТ обеспечивает реальные возможности улучшить результаты лечения злокачественных глиом головного мозга, увеличить сроки ремиссии и продолжительности жизни больных, существенно повысить качество их жизни.

#### Список литературы

1. Бидненко В.Н., Сигал В.Л., Розуменко В.Д. Механизмы разрушения опухолевой ткани при фотодинамической терапии // II съезд биофизиков России (Москва, 1999): Тез. докл.—М., Т. 2, 1999.—С. 648.
2. Бидненко В.Н., Сигал В.Л., Розуменко В.Д. Эффекты локальной гипертермии при фотодинамической терапии опухолей мозга / / Доп. НАН України.—1999.—№ 10.—С.181—185.
3. Викторов И.В. Руководство культивирования нервной ткани.—М.: Наука, 1988.—С. 31—34.
4. Зозуля Ю.А., Розуменко В.Д., Лисяный Н.И. Проблемы современной нейроонкологии // Журн. АМН України.—1999.—Т. 5.—С. 426—441.
5. Марченко С.В. Комплексное лечение злокачественных глиом больших полушарий головного мозга // Вопр. онкологии.—1997.—Т.43.—С.610—612.
6. Меерович Г.А., Торшина Н.Л., Коган Е.А. и соавт. Гипербарическая оксигенация для улучшения результатов фотодинамической терапии с использованием препарата “Фотосенс” // Материалы II Всерос. съезда фотобиологов. — Пуцдино, 1998.—С. 382—384.
7. Розуменко В.Д., Семенова В.М. Фотодинамическая терапия опухолей головного мозга: эффект в культуре глиомы (штамм 101.8) с применением фталоцианина // Фотобиология та фотомедицина.—2000.—№ 1,2.—С. 65—70.

8. Розуменко В.Д., Семенова В.М., Стайно Л.П. Реакция глиом головного мозга на воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения в условиях фотосенсибилизации в эксперименте // XIII Междунар. науч.-практ. конф. Применение лазеров в медицине и биологии (5—8 окт. 1999 г.).—Алупка, 1999.—С.24—25.
9. Странадко Е.Ф. Основные механизмы фотодинамической терапии (обзор литературы) // Фотобиология и фотомедицина.—1999.—№ 1.—С.36—43.
10. Халанский А.С., Кондакова Л.И., Авцын А.П. Новые перевиваемые глиомы головного мозга крыс // Вопр. нейрохирургии.—1995.—№ 2.—С.2—5.
11. Abernathy C.K., Anderson R.E., Kooistra R.L. et al. Activity of phthalocyanine photosensitizers against human glioblastoma in vitro // Neurosurg.—1987.—V.21.—P.468—473.
12. Bahary J.P., Larson K.A. Radiotherapy, hyperthermia and phototherapy for central nervous system tumors // Curr. opin. oncol.—1992.—V.4.—P.515—517.
13. Barth R.F., Sokay A.H., Farchild R.G. Boron neutron capture therapy for cancer // Sci. Am. 1990.—V.263.—P.100—107.
14. Berg K., Moan J. Lysosomes and microtubules as targets for photochemotherapy of cancer // Photochem. Photobiol.—1997.—V. 65.—P. 403—409.
15. Bernstein J.J., Goldbery W.J., Laws E.R. C6 glioma cells invasion and migration of rat brain after neural homografting: Ultrastructure // Neurosurg.—1990. — V.26. — P. 622—628.
16. Boggan J.E., Bolger C.A., Edwards M.S.B. Effect of hematoporphyrin derivative photoradiation therapy on survival in the rat 9 L gliosarcoma brain-tumor model // J.Neurosurg. — 1985. — V.63. — P. 917 — 992.
17. Bugelski P.J., Porter C.W., Kougherty T.J. Autoradiographic distribution of hematoporphyrin derivative in normal and tumor tissue of the mouse // Cancer Res. — 1981. — V.41. — P.4606 — 4612.
18. Burger P.C., Kubois P.J., Schold S.E. et al. Computerized tomographic and pathologic studies of the untreated, quiescent and recurrent glioblastoma multiforme // J.Neurosurg. —1983.—V.58.—P.159—169.
19. Caroni P., Schwab M.E. oligodendrocytes and CNS myelin are nonpermissive substrates for neurite growth and fibroblast spreading in vitro // J. Neurosci. — 1988. — V.8. — P.2381 — 2393.
20. Caspar L.F., Fisher B.J., Mac Kould K.R. et al. Supratentorial malignant glioma: patterns of recurrence and implication for external beam local treatment // Int. J. Radiol. oncol. Biol. Phys. — 1992. — V.24. — P.55 — 57.
21. Chen K.T., Hau K.M., You J.S. et al. Therapeutic effect of photosensitizers in combination with laser and ACNU on in vivo or in vitro model of cerebral glioma // Clin. Med. J. — 1995. — V.102. — P.98 — 104.
22. Cheng M.K., Mc Kean J., Boisver K. et al. Effects of photoradiation therapy on normal rat brain // Neurosurg. — 1984. —V.I 5. —P. 804 — 810.
23. Chi-Wei L. Photodynamic therapy of malignant tumors — recent development // Cancer Cells. — 1991. — V.3. — P.437 — 444.
24. Cook M.J., Chambrier J., Craknell S.J. et al. meta-alkyl zinc phthalocyanines: potential photosensitizers for use in the photodynamic therapy of cancer // Photochem. Photobiol. — 1995. — V.62. —P. 542 — 545.
25. Hill J.S., Kahl J.B., Kaye A.H. Selective tumor uptake of a boronated porphyrin in animal model of cerebral glioma // Proc. nat. Acad. Sci. — 1992. — V.89. — P. 1785 — 1789.
26. Hisazumi H., Hirata A., Uchibayashi T. et al. / J. Cancer. Chemother. — 1990. — V.17. — P. 1120 — 1126.
27. Jones Q.C., Kinsey J.H., Neel H.B., Cortese K.A. The effect of cooling on the photodynamic action of haematoporphyrin derivative during interstitial phototherapy of solid tumors // otalaryng. Head and Neck Surg. — 1984. — V.92. — P.532 — 536.
28. Kaye A.H., Morstyn G., Brownbill K. Adjuvant high-dose photoradiation therapy in the treatment of cerebral glioma: A phase 1—2 study // J. Neurosurg. — 1987. — V.67. — P.500 — 505.
29. Kaye A.H., Morstyn G., Apuzzo M.L.J. Photoradiation therapy and its potential in the management of neurological tumors// J.Neurosurg. — 1988. — V.69. — P.1 — 14.
30. Kelly P.J., Kaumas-Kuport C., Kispert K.B. et al. Imaging-based stereotaxic serial biopsies in untreated intracranial glial neoplasms // J. Neurosurg. — 1987. — V.66. — P. 865 — 874.
31. Korbek M. Photosensitizers in photodynamic therapy // Period. Biol. — 1991. — V.93. — P.563 — 574.
32. Kostron H., Weiser K., Fritsch E., Grunert V. Photodynamic therapy of malignant brain

- tumors: clinical and neuropathological results // *Photochem. Photobiol.* — 1987. — V.46. — P. 937 — 943.
33. *Kostron H., Fritsch E., Grunert V.* Photodynamic therapy of malignant brain tumors: A phase I — II trial // *Brit. J. Neurosurg.* — 1988. — №2. — P. 241 — 248.
  34. *Kostron H., Plangger C., Fritsch E., Maier H.* Photodynamic treatment of malignant brain tumors // *Wien. klin. Wschr.* — 1990. — V.108. — P.531 — 535.
  35. *Lajat Y., Patrice T.* Photochemotherapy applied stereotactically to brain tumors // *Surg. Neurol.* — 1987. — V.27. — P.403 — 404.
  36. *Laws E.R., Cortese K.A., Kinsey J.H. et al.* Photoradiation therapy in the treatment of malignant brain tumors: A phase I (feasibility) study // *Neurosurg.* — 1981. — № 9. — P.672 — 678.
  37. *Luo Yu., Kessel K.* Initiation of apoptosis versus necrosis by photodynamic therapy with chloroaluminum phthalocyanine // *Photochem. Photobiol.* — 1997. — V.66, № 4. — P.479 — 483.
  38. *Malham G.M., Thomsen R.J., Finlay G.J., Baguley B.C.* Subcellular distribution and photocytotoxicity of aluminium phthalocyanines and haematoporphyrin derivative in cultured human meningioma cells // *Brit. J. Neurosurg.* — 1996. — V.10. — P. 51 — 57.
  39. *Manyak M.J., Russo A., Smith P.K., Glatstein E.* Photodynamic Therapy // *J. Clin. Oncol.* — 1988. — V.6. — P.380 — 391.
  40. *Matsucado Y., Mac Carty C.S., Kernohan J.W.* The growth of glioblastoma multiforme in neurosurgical practice // *J. Neurosurg.* — 1961. — VI. — P. 636 — 644.
  41. *Mc Culloch G.A., Forbes I.J., See K.L. et al.* Phototherapy malignant brain tumors // *Progr. Clin. Biol. Res.* — 1984. — V.170. — P.709 — 717.
  42. *Muller P.J., Wilson B.C.* Photodynamic therapy: Cavitary photoillumination of malignant cerebral tumours using a laser coupled inflatable balloon // *Can. J. Neurol. Sci.* — 1985. — V.12. — P.371 — 373.
  43. *Muller P.J., Wilson B.C.* An update on the penetration depth of 630 nm light in normal brain and malignant human brain tissue in vivo // *Physiol. Med. Biol.* — 1986. — V.31. — P.1295 — 1297.
  44. *Muller P.J., Wilson B.C.* Photodynamic therapy of malignant primary brain tumours: clinical effects, post-operative ICP and light penetration of the brain // *Photochem. Photobiol.* — 1987. — V.46. — P. 929 — 935.
  45. *Mullez P.J., Wilson B.C.* Photodynamic therapy of malignant brain tumors // *Can. J. Neurol. Sci.* — 1990. — V.17. — P.193 — 198.
  46. *Nelson J.S., Liaw L.H., Berns M.W.* Tumor destruction in photodynamic therapy // *Photochem. Photobiol.* — 1996. — V.63. — P.72.
  47. *Noske K.P., Wolbergs J.G., Sterenberg H.J.* Photodynamic therapy of malignant glioma. A review of literature // *Clin. Neurol. Neurosurg.* — 1991. — V.93. — P.293 — 307.
  48. *Pedersen P.H.* Migration pattern of fetal rat brain cells and human glioma cells in adult rat brain // *Cancer Res.* — 1993. — V.53. — P.5158 — 5165.
  49. *Perria C., Capuzzo T., Cavagnaro G. et al.* First attempts at the photodynamic treatment of human gliomas // *J. Neurosurg. Sci.* — 1980. — V.24. — P. 119 — 129.
  50. *Perria C., Carai M., Fabrai A. et al.* Photodynamic therapy of malignant brain tumors: clinical results of, difficulties with, questions about, and future prospects for neurosurgical applications // *Neurosurg.* — 1988. — V.23. — P.557 — 563.
  51. *Poon W.S., Schomacker K.T., Keutsch T.F., Martuza P.L.* Laser-induced fluorescence: experimental intraoperative delineation of tumor resection margins // *J. Neurosurg.* — 1992. — V.76. — P.679 — 686.
  52. *Popovic E.A., Kaye A.H., Hill J.S.* Photodynamic therapy of brain tumors // *Seminars in Surgical Oncology.* — 1995. — V.11. — P.335 — 345.
  53. *Powers S.K., Beckman W C, Brown J.T., Kolpack L.C.* Interstitial laser photochemotherapy of rodamine-123-sensitized rat glioma // *J. Neurosurg.* — 1987. — V.67. — P.889 — 894.
  54. *Powers S.K., Cush S.S., Walstad K.L., Kwock L.* Stereotactic intratumoral photodynamic therapy for recurrent malignant brain tumors // *Neurosurg.* — 1991. — V.29. — P.688 — 695.
  55. *Rounds K.E., Jacques S., Sheldon C.H. et al.* Development of protocol for photoradiation therapy of malignant brain tumors // *Neurosurg.* — 1982. — V.11. — P.500 — 505.
  56. *Sienkiewicz A., Graczyk A.* Photodynamic therapy — photochemical and photophysical principles // *Biocybern. Biomed. Eng.* — 1991. — V.11. — P.23 — 36.
  57. *Shopova M., Hadjiolov K., Spirov I. et al.* Pharmacokinetic and photodynamic studies with zinc — phthalocyanine in hamsters with induced or transplanted KMBA rhabdomyosarcoma /

- / *Lasers Surg. Med.* — 1992. — Suppl. — № 4. — P. 54.
58. *Svaasand L.K., Ellingsen R.* Optical penetration in human intracranial tumors / / *Photochem. Photobiol.* — 1985. — V.41. — P.73 — 76.
59. *Tralau C.J., Barr H., Sandeman K.R. et al.* Aluminium sulfonated phthalocyanine distribution in rodent tumors of the colon, brain and pancreas // *Photochem. Photobiol.* — 1987. — V.46. — P.777 — 781.

Фотодинамічна терапія пухлин головного мозку: ефект у культурі гліоми (штам 101.8)

*Розуменко В.Д., Семёнова В.М., Стайно Л.П., Герасенко К.М.*

Ефект фотодинамічного впливу на гліальну пухлину головного мозку досліджений на клітинній культурі експериментальної гліоми мозку щурів (штам 101.8), яка за гістобіологічними властивостями є близькою до злоякісної гліоми мозку людини. В експериментах використаний фотосенсибілізатор сульфований фталоціанін алюмінію. Встановлено, що інкубація пухлинних клітин протягом 24—48 год у поживному середовищі з додаванням фотосенсибілізатора не викликає суттєвих змін у структурі

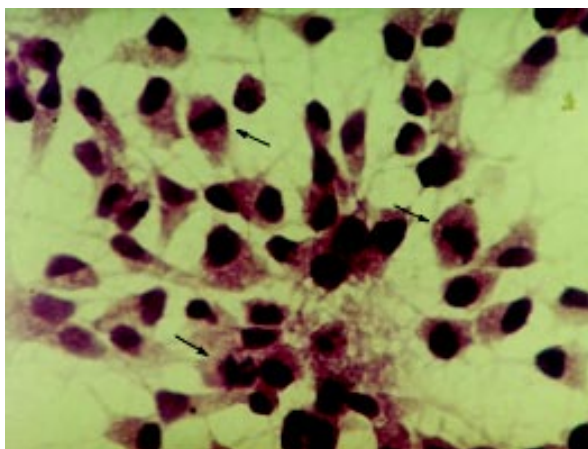
зони росту. В культурах гліоми, інкубованих з фотосенсибілізатором з подальшим лазерним опроміненням, спостерігається дозозалежний ефект деструкції пухлинних клітин. Результати дослідження зазначають позитивний ефект застосування фотосенсибілізатора другого покоління сульфований фталоціанін алюмінію для фотодинамічної терапії злоякісних гліом головного мозку.

Photodynamic therapy of brain tumours: effect in culture of glioma (stamm 101.8)

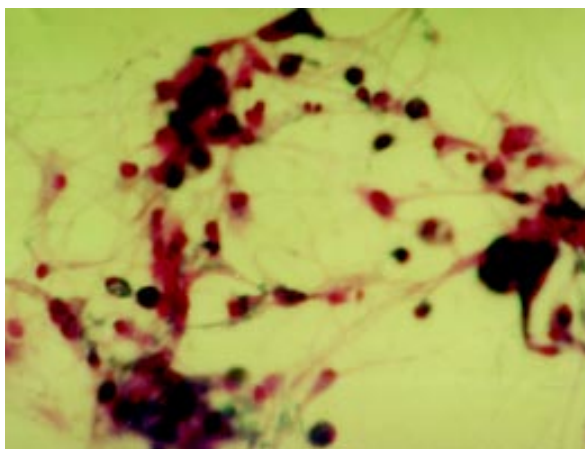
*Rozumenko V.K., Semionova V.M., Stajno L.P., Gerasenko K.M.*

The effect of photodynamic action on glial tumour of brain has been investigated in cell culture of experimental glioma rat brain (stamm 101.8), which approximate in histobiological characteristics to human malignant glioma of brain. We used photosensitizer sulphonated aluminium phthalocyanine in experiments. It was determined that incubation of tumour cells in substratum with photosensitizer alone during 24—48 hours was not elicit any important changes in structure of growth zone in culture. In cultures of glioma with photosensitizer and laser irradiation was showed a dose-dependent effect of tumour cell destruction. Results of our study have pointed on positive effect of usage the second generation photosensitizer sulphonated aluminium phthalocyanine for photodynamic therapy of malignant gliomas of brain.

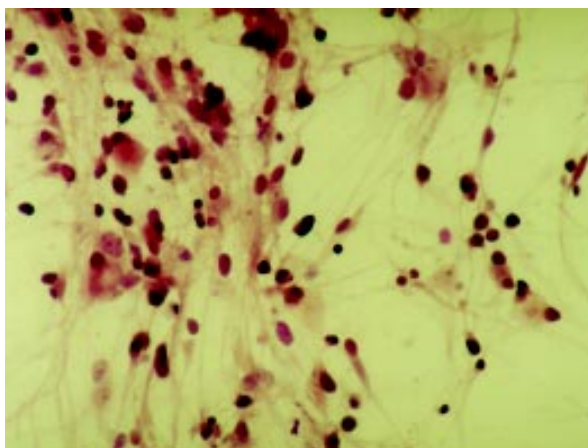




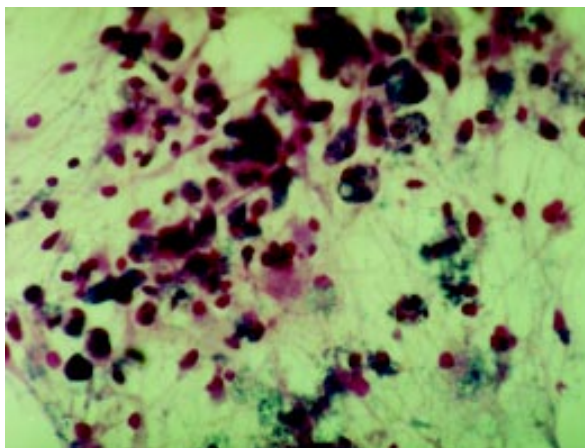
**Рис.2.** Клеточный состав культуры глиомы 101.8 на 4-е сутки роста. Стрелками показаны клетки в митозе. Окраска гематоксилином Караччи. Увеличение  $\times 400$



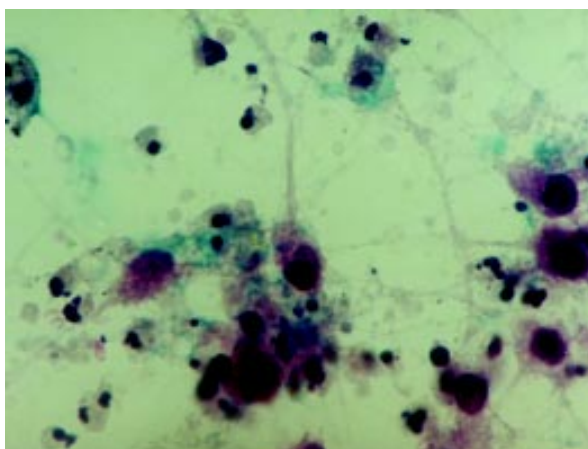
**Рис.3.** Культура глиомы 101.8, инкубация с фталоцианином. Окраска гематоксилином Караччи. Увеличение  $\times 200$



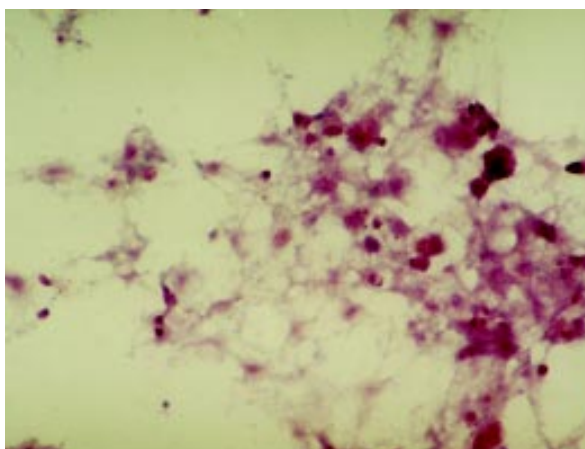
**Рис.4.** Сохранность клеточного состава культуры глиомы 101.8 после лазерного облучения в течение 30 с. Окраска гематоксилином Караччи. Увеличение  $\times 200$



**Рис.6.** Культура глиомы 101.8 после инкубации с фталоцианином с последующим лазерным облучением в течение 120 с. Окраска гематоксилином Караччи. Увеличение  $\times 200$



**Рис.7.** Культура глиомы 101.8 после инкубации с фталоцианином с последующим лазерным облучением в течение 240 с. Окраска гематоксилином Караччи. Увеличение  $\times 400$



**Рис.8.** Культура глиомы 101.8 после инкубации с фталоцианином с последующим лазерным облучением в течение 300 с. Окраска гематоксилином Караччи. Увеличение  $\times 200$