


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*



КАЗАКОВ НИКИТА ВЛАДИМИРОВИЧ

**ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ  
ЭНДОБРОНХИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ  
ЦЕНТРАЛЬНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО**

14.01.12 – онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Акопов Андрей Леонидович

Санкт-Петербург – 2021

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

|  |    |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....   | 4  |
| Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....  | 9  |
| 1.1 Рак легкого – актуальная проблем медицины .....  | 9  |
| 1.2 Фотодинамическая терапия: механизмы, история развития метода,<br>применение при раке легкого .....   | 10 |
| 1.2.1 История развития метода .....  | 10 |
| 1.2.2 Механизм фотодинамической терапии.....   | 10 |
| 1.2.3 Фотосенсибилизаторы .....  | 16 |
| 1.2.4 Источники света .....  | 20 |
| 1.2.5ФДТ в паллиативном лечении рака легкого .....   | 21 |
| 1.3 Флуоресцентная диагностика рака легкого .....  | 23 |
| 1.4. Фотодинамическая тераностика применительно к раку легкого .....   | 26 |
| ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования .....   | 29 |
| 2.1 Клиническая картина больных, включенных в исследование.....  | 29 |
| 2.2 Описание применяемых ФС, методик введения и доз .....  | 32 |
| 2.3 Методики обследования и лечения больных .....  | 36 |
| 2.4 Методы статистического анализа результатов исследования .....  | 37 |
| ГЛАВА 3. Техническое обеспечение хлориновой флуоресценции и<br>фотодинамической терапии (фотодинамической тераностики)<br>центрального рака легкого при бронхоскопии ..... | 38 |
| 3.1 Инструментальная система для проведения фотодинамической<br>тераностики центрального рака легкого .....  | 38 |
| 3.2 Контроль эффективности ФДТ с помощью видеоэндоскопической<br>системы для фотодинамической тераностики рака легкого .....   | 43 |
| 3.3 Клинические исследования хлориновой флуоресценции центрального<br>рака легкого при бронхоскопии на видеоэндоскопической системе .....                                  | 46 |

|   |    |
|---|----|
| 3.4 Клинические примеры контроля эффективности ФДТ с помощью видеоэндоскопической системы для фотодинамической тераностики рака легкого.....            | 51 |
| 3.5 Исследование степени хлориновой флуоресценции плазмы крови и эндобронхиальной опухоли у больных раком легкого.....                                  | 52 |
| ГЛАВА 4. Клиническое исследование информативности хлориновой флуоресцентной диагностики центрального немелкоклеточного рака легкого.....                | 56 |
| 4.1 Эндобронхиальная фотодинамическая терапия под флуоресцентным контролем .....  | 56 |
| 4.2 Эндобронхиальная флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия как этап предоперационной подготовки больных центральным раком легкого ..... | 63 |
| 4.3 Клинические результаты фотодинамической терапии при R1 резекциях с положительным краем резекции бронха.....   | 72 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....  | 78 |
| ВЫВОДЫ .....  | 88 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....  | 89 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....  | 90 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....  | 91 |

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность проблемы исследования**

Рак легкого – одна из самых частых злокачественных опухолей человека. Число заболевших в мире ежегодно приближается к 2 миллиону, а в России заболевает около 65 000 человек в год. Самой частой гистологической формой является немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), на его долю приходится около 80% всех вновь диагностируемых злокачественных опухолей легкого [26, 29, 28, 61, 167]. К сожалению, у большей части пациентов в момент диагностики заболевание характеризуется обширным местным распространением или диссеминацией, таких больных не менее 65-70% от всех, у кого диагностируется рак легкого [15, 35, 89]. Так как радикальное лечение большинства таких пациентов недостижимо, чрезвычайно важным является купирование тягостных симптомов и улучшение качества их жизни.

Применительно к лечению рака легкого одним из таких подходов считаются эндобронхиальные манипуляции, направленные, в первую очередь, на восстановление и поддержание просвета крупных бронхов и трахеи при их опухолевом поражении [11,13, 98, 170]. В различных клинических ситуациях и в разных центрах с этой целью применяются фотодинамическая терапия (ФДТ) [43, 164, 56]. ФДТ характеризуется целым рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами лечения рака – минимальной инвазивностью, относительной дешевизной, минимальным количеством побочных реакций, возможностью выполнения у больных, находящихся в тяжелом состоянии, высокой эффективностью. Есть у ФДТ и недостатки – у всех пациентов она проводится по одинаковой методике, с использованием одного и того же количества фотосенсибилизатора, параметры облучения никак не зависят от особенностей опухоли [145, 57, 102]. Так как каждая опухоль, как и каждый пациент, характеризуются индивидуальными биологическими особенностями,

представляется логичной индивидуализация параметров проведения ФДТ, что может позволить повысить ее эффективность [38, 172, 177].

### **Цель**

Разработка методики и улучшение результатов эндобронхиальной ФДТ центрального рака легкого путем флуоресцентного контроля его эффективности.

### **Задачи**

- Разработать инструментальный комплекс для проведения ФДТ хлориновыми фотосенсибилизаторами под флуоресцентным контролем.
- Изучить динамику накопления, выведения и распределения фотосенсибилизатора хлоринового ряда в центральных опухолях легких методом флуоресценции.
- Разработать оптимальные параметры проведения процедуры фотодинамической терапии центрального рака легкого.
- Оценить непосредственные и отдаленные результаты фотодинамической терапии. Определить возможности контроля эффективности неoadьювантной фотодинамической терапии рака легкого.
- Оценить эффективность адьювантной фотодинамической терапии культи бронха после R1 резекций.

### **Научная новизна**

Разработана инструментальная система и метод проведения ФДТ под флуоресцентным контролем, позволяющий

- обеспечить индивидуализированный подход к эндобронхиальной ФДТ,
- выделить группу больных, которым проведение ФДТ не показано,
- проводить предоперационное лечение, направленное на повышение радикализма хирургических вмешательств, и оценивать его эффективность.

Особенность предлагаемого метода заключается в тераностическом подходе (тераностика=диагностика+терапия), когда способность

фотосенсибилизатора флуоресцировать используется для визуализации границ опухолевого роста, а выгорание флуоресценции при лечебном облучении - для оценки эффективности облучения. И диагностический и лечебный этапы проводятся в рамках одной процедуры. Доказано, что тераностический подход позволяет оптимизировать и индивидуализировать параметры проведения ФДТ.

### **Степень разработанности темы исследования**

На основе новых технологий разработан комплексный подход к ведению пациентов раком легкого, состоящий из раннего выявления, точной локализации и лечения. Эти технологии –новый, высокочувствительный метод флуоресцентной бронхоскопии для выявления и локализации преинвазивных поражений бронхов; и внедрение новых методов эндобронхиального лечения, таких как ФДТ.

В данной диссертационной работе рассмотрен мировой опыт автофлуоресцентной бронхоскопии при контроле лечения центрального рака легкого ФДТ, опубликованный в медицинской литературе, и включен наш собственный клинический опыт.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Результаты исследования направлены на повышение эффективности и устранение недостатков эндобронхиальной фотодинамической терапии центрального рака легкого, таких как отсутствие индивидуализации и не всегда высокая эффективность. С помощью разработанного инструментального комплекса возможно оценить степень накопления фотосенсибилизатора в патологической ткани, уточнить границы зоны облучения, оптимизировать длительность и дозу лечебного воздействия. Проведение ФДТ под флуоресцентным контролем в неоадьювантном режиме способствует существенному уменьшению распространенности опухолевого роста в бронхиальном дереве, позволяет выполнить радикальную операцию у больных, исходно расцененных как неоперабельные.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

Эндобронхиальная флуоресцентная диагностика центрального рака легкого позволяет существенно оптимизировать и индивидуализировать параметры лечебного воздействия при проведении эндобронхиальной фотодинамической терапии.

Эндобронхиальная флуоресцентная диагностика позволяет оценить эффективность ФДТ, проводимой в качестве компонента неоадьювантного лечения НМКРЛ.

Эндобронхиальная ФДТ – безопасный и эффективный метод лечения больных НМКРЛ, перенесших R1 резекцию с положительным краем резекции бронха.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования внедрены в учебную программа кафедры хирургии госпитальной с клиникой, а также используются в клинической работе отделения торакальной онкологии и отделения эндоскопии НИИ Хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России.

### **Апробация диссертационного материала**

Результаты исследования доложены на 15-м Международном Конгрессе «LaserHelsinki» 2010 г.; Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы фотодинамической терапии и фотодиагностики» (Москва, 2013 г.; Новосибирск, 2014 г.; Санкт-Петербург, 2015 г.; Ростов, 2017 г.; Москва, 2019г.); Всероссийской научно-практической конференции «Лекарственная терапия и инструментальные методы в паллиативной медицине», Москва, 2019 г.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 7 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов научных исследований, получено 4 патента РФ на изобретения, в которых изложены основные положения диссертационного исследования.

### **Личный вклад автора**

Участие автора выразилось в определении идеи работы и планировании исследования. Автор непосредственно принимал участие в диагностике и лечении у всех пациентов центральным немелкоклеточным раком легкого, вошедших в материал диссертационного исследования. Лично автором проведен сбор, статистическая обработка и анализ полученных результатов.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 109 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 9 таблиц, 21 рисунок. Список литературы включает 184 источника, в том числе 137 зарубежных авторов.



## ГЛАВА 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1 Рак легкого – общие сведения

Рак легкого - злокачественное заболевание, связанное с неконтролируемым клеточным ростом тканей бронхов или легочной паренхимы [84, 167, 88, 21]. Рак легкого является одной из самых частых разновидностей злокачественных новообразований у человека [14, 10]. На сегодняшний день он занимает первое место в мире по числу заболевших, а смертность составляет 1,4 миллиона случаев ежегодно [22]. Кроме того, заболеваемость неуклонно растет и, по мнению специалистов, к 2035 году смертность от рака легкого увеличится до 3 миллионов случаев в год [22].

В настоящее время активно ведутся исследования для усовершенствования уже существующих методов лечения, а также изучается возможность применения нетрадиционных методик.

*Традиционные методы лечения: хирургия, химиотерапия и лучевая терапия*

В большинстве случаев применяется хирургическое лечение, лекарственное лечение, лучевая терапия или комбинации этих методов, что в значительной степени зависит от стадии заболевания [63, 149, 153].

Резекция опухоли в пределах здоровых тканей является радикальным и наиболее эффективным способом борьбы с болезнью [41, 20, 154, 34]. Однако, эта форма лечения является инвазивной, и нередко приходится сталкиваться с осложнениями и летальностью в послеоперационном периоде. Радикально опухоль может быть удалена не более чем 25-30% клинических случаев [112]. Нередко хирургическое лечение сопровождается противоопухолевым лекарственным лечением [162, 82, 96, 79, 114, 77] и лучевой терапией [46, 129, 100], хотя эти методы чаще применяются при нерезектабельных и неоперабельных опухолях [157]. К сожалению, при местно-распространенном и диссеминированном раке легкого результаты его лечения нельзя признать удовлетворительными [146, 117].

## **1.2 Фотодинамическая терапия: механизмы, история развития метода, применение при раке легкого**

### **1.2.1 История развития метода**

Более 100 лет назад студент медицинского факультета Oscar Raab из Германии случайно обнаружил, что солнечный свет, направленный на краситель, приводит к быстрой гибели инфузорий [148]. Его старшие коллеги Jesionek и von Tarreiner смогли теоретически обосновать этот эффект и сформулировали термин "фотодинамический эффект" [160].

В последующие годы "фотодинамическому эффекту" подвергнуто значимое число больных, в том числе и с разными вариантами поверхностных злокачественных опухолей, причем во многих наблюдениях был достигнут существенный клинический эффект. Но научного признания метод не приобрел. В середине 20 века Lipson и Schwartz [119, 120] доказали возможность гибели опухолевых клеток под воздействием света, а также, используя специальные фотосенсибилизаторы (ФС) и их флуоресцентные свойства, смогли визуализировать границы опухолевого роста.

В США в 70-х годах прошлого века накопился опыт лечения рака с помощью ФДТ, который обобщен в работах Dougherty [72]. В качестве ФС применялись соединения порфирина. Роль Dougherty в развитии метода была и в том, что он представил онкологическому сообществу приборы, используемые в качестве источника света, а также проводил соответствующие клинические испытания, придав методу научное обоснование. Именно он позволил вывести метод ФДТ на другой уровень, сделав его доступным клиницистам [75, 73, 74].

### **1.2.2 Механизм фотодинамической терапии**

В основе ФДТ лежат 3 основополагающих фактора, а именно: ФС, световая энергия и молекулярный кислород [99]. После введения ФС пациенту он избирательно генерируется в опухолевой ткани и активизируется путем воздействия на него световой энергии определенной длины волны [128, 45].

После активации ФС происходит селективное разрушение опухоли за счет образования синглетного кислорода и других свободных радикалов. Современные исследования в области ФДТ онкологических заболеваний сосредоточены, в том числе, на улучшении доставки ФС путем разработки специфических модульных систем доставки, возможных благодаря технологиям конъюгирования фотосенсибилизирующего препарата с присоединенными моноклональными антителами и нанотранспортеров, которые способствуют активной абсорбции ФС клетками-мишенями, минуя барьеры иммунной системы и минимизируя распределение ФС в здоровых тканях [78].

В ФДТ одновременно действуют три компонента: ФС, источник света и кислород. ФС и источник света должны быть безвредны для клетки-мишени [99]. На рисунке Рисунок 1 представлены три фундаментальных элемента ФДТ.

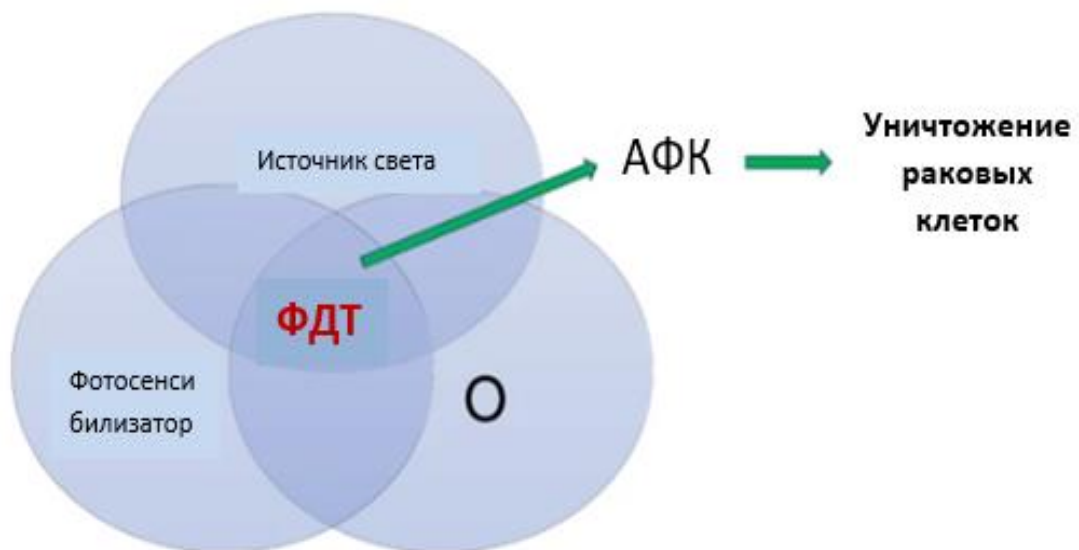


Рисунок 1 – Три фундаментальных элемента ФДТ

Без кислорода ФДТ не давала бы цитотоксических эффектов [156]. Когда молекула фотосенсибилизатора в клетке поражения поглощает фотон, свет возбуждает молекулу фотосенсибилизатора из ее стабильного основного состояния в короткоживущее нестабильное синглетное состояние и относительно долгоживущее триплетное состояние [156]. Для восстановления стабильного

основного состояния активированная молекула передает энергию кислороду, что приводит к образованию активных форм кислорода (АФК) [110]. АФК обладают высокой цитотоксичностью, коротким временем жизни ( $<0,04$  мкс) и коротким радиусом действия ( $<0,02$  мкм), они способствуют разрушению опухолевого поражения. На обработанном участке происходит нормальное заживление и реэпителизация. Фотосенсибилизатор активируется светом и вызывает серию фотохимических и фотобиологических реакций, что приводит к необратимому повреждению и, в конечном итоге, гибели аномально пролиферативных клеток [99]. Поскольку ФДТ является холодным фотохимическим процессом, нагрев ткани не происходит, и соединительные ткани, такие как коллаген и эластин, на обработанном участке не подвержены воздействию. Следовательно, существует гораздо меньший риск нарушения целостности основных функциональных структур, чем при использовании термолазерных методов и других инвазивных подходов [99].

Несмотря на то, что метод ФДТ включен в перечень высокотехнологичных методов лечения и финансируется в рамках соответствующих государственных программ, среди медицинского персонала знаний о таком подходе недостаточно [183, 42]. Отечественной медицинской литературы на эту тему очень мало, а именно понимание механизмов действия той или иной лечебной методики является основой ее успешного развития.

ФДТ, как и другие методы лечения, особенно эффективна на ранних стадиях рака, в случае небольших локализованных опухолей [36, 44]. Ее достоинства по сравнению с другими методами лечения рака (хирургией, радио- и химиотерапией) – локальность и селективность воздействия, возможность многократного повторения, послойной обработки опухолей, бесконтактность воздействия, возможность сочетания с другими методами лечения, безопасность для больного и персонала. ФДТ является бинарным воздействием, оба компонента которого – ФС и свет - по отдельности нетоксичны и только при совместном применении разрушают клетки. К недостаткам относятся трудность точной дозиметрии, медленное выведение действующего вещества из организма,

придающее организму нежелательную фоточувствительность, отсутствие индивидуализации.

В зависимости от локализации опухолевого процесса для успешного проведения ФДТ используют разные способы введения ФС, такие, как: внутривенный, пероральный или аппликационный [45]. Поглощение квантов света молекулами ФС, локализованными в мембранах или цитоплазме раковой клетки, в присутствии кислорода приводит к фотохимической реакции, в результате которой молекулярный кислород превращается в синглетный, а также образуется большое количество высокоактивных радикалов (ROS) [169]. Инициированные вторичные свободнорадикальные реакции приводят к повреждению жизненно важных структур клетки (липидов, белков и нуклеиновых кислот) на молекулярном уровне [169]. Поскольку ROS и синглетные формы кислорода обладают высокой реактивностью и коротким периодом полураспада, при проведении ФДТ цитотоксический эффект реализуется только в зоне малигнизации, не затрагивая окружающие здоровые ткани [83].

ФС, поглотив квант света определенной длины волны, может вступить в химические реакции двух типов. При первом типе реакций происходит взаимодействие возбужденной молекулы непосредственно с молекулами биологического субстрата, что в конечном итоге приводит к образованию ROS. Во втором случае происходит взаимодействие возбужденного ФС с молекулой триплетного (обычного) кислорода, присутствующего в клетках тканей, с образованием синглетного кислорода, обладающего высокой реактивностью и цитотоксичностью. В обоих случаях образующиеся продукты фотохимической реакции оказывают угнетающее действие на клетки, вызывая их последующую гибель [144].

Как правило, фотохимические реакции разных типов происходят в клеточных структурах параллельно, и поддержание динамического равновесия между этими реакциями во многом влияют на выработку необходимых ROS, которые в свою очередь определяют фотоцитотоксичность процесса и общую эффективность лечения ФДТ [111, 66]. Эффективность генерации ROS при

проведении ФДТ в значительной степени зависит от типа используемого ФС, концентрации кислорода в клетках-мишенях, лечебной дозы препарата, устойчивости раковых клеток к ФДТ, распределения ФС в клетках и тканях, а также абсорбции ФС непосредственно в клетках-мишенях [64, 48].

Поэтому для устранения нежелательных побочных эффектов селективное поглощение ФС опухолевыми клетками является решающим фактором в исследованиях абсорбции лекарственных препаратов, применяемых в ФДТ, поскольку необходимо обеспечить локальное накопление ФС клетками-мишенями опухолевой ткани для того, чтобы запущенный каскад фотоцитотоксических реакций затронул только раковые клетки, оставляя интактными окружающие здоровые ткани [109, 163].

Кроме того, остается важным фактором активация ФС лазерным излучением, действующим в терапевтической красной области видимого спектра света (650-780 нм), дабы избежать поглощения энергии светового пучка другими эндогенными пигментами, а также для обеспечения максимального поглощения квантов света тканевыми структурами и проникновения световой энергии на максимально возможную глубину [68, 130, 58].

Так как бронхиальное дерево пронизывает ткань легких и может обеспечить достаточный доступ к разным его отделам, ФДТ для лечения рака легких является релевантным [49].

В зависимости от места накопления ФС внутри опухолевых клеток, повреждения, вызванные фотодинамическими реакциями, могут затрагивать различные клеточные органеллы [139]. По данным литературы, нет единого пути развития клеточной гибели. В результате проведения ФДТ проявляется цитотоксический эффект, в результате которого происходит разрушение биомембран и клеточных органелл путем апоптоза, некроза, и аутофагии, которые могут возникать по отдельности или одновременно [23].

Апоптоз - как правило, самый известный запрограммированный механизм гибели клеток, который возникает в опухолевых клетках в ответ на ФДТ при активации каспаз, семейства клеточных белков Bcl-2, а также класса сигнальных

белков, контролирующих практически все внутриклеточные процессы, - протеинкиназ и факторов транскрипции, управляющих работой генома [25]. При апоптозе раковые клетки сморщиваются и фрагментируются без нарушения внутриклеточных мембранных структур и получают ряд морфологических особенностей, характерных для отмирающей клетки, что в последующем ведет к поглощению их соседними клетками или тканевыми макрофагами [107]. Однако, в случаях ФДТ, когда апоптотический путь невозможен (например, при условии низкого уровня АТФ в клетке), гибели раковых клеток можно добиться посредством индукции аутофагического или некротического механизма [161].

Аутофагия является еще одной формой запрограммированной клеточной смерти, которая может либо способствовать сопротивлению раковых клеток лечению, подавляя процессы утилизации, либо наоборот повышать восприимчивость опухолевых клеток к деструктивному воздействию ФДТ [81].

Как показывают исследования в области ФДТ, процесс гибели патологически измененных клеток при аутофагии зависит от типа ФС и стадии онкологического заболевания, на которой проводится лечение [90]. Таким образом, при проведении ФДТ целесообразна стимуляция аутофагии при одновременной гибели раковых клеток путем апоптоза, что ведет к снижению шансов патологических клеток на восстановление и увеличивает эффективность лечения [87].

Клеточная смерть путем некроза, индуцированная ФДТ, представляет собой незапрограммированную патологическую форму клеточной дегенерации, которая сопровождается воспалением и поражает обширные клеточные поля. Для некроза характерно наличие цитоплазматического отека с разрушением внутриклеточных органелл и клеточной мембраны с высвобождением внутриклеточного содержимого. Фрагменты разрушенной раковой клетки поглощаются иммунокомпетентными клетками с последующим локальным соединительно-тканым замещением [173]. Как показали исследования в работе [181], высокие дозы ФДТ (высокая концентрация ФС и/или облучение в больших дозах) приводит к разрушению раковых клеток путем некроза, в то время как ФДТ,

проведенная в более низких дозах, больше стимулирует апоптотические формы гибели клеток.

Наиболее актуальными проблемами в лечении раковых заболеваний путем ФДТ являются такие, как: поиск наиболее подходящей длины волны лазерного излучения, определение оптимального времени экспозиции излучателя для обеспечения максимального перехода каждого конкретного ФС в возбужденное состояние, обеспечение дополнительной концентрации и локализации ФС для клеток-мишеней с целью генерации максимального количества ROS для индукции клеточной гибели и увеличения общей эффективности ФДТ [71]. Кроме того, неспецифичность большинства доступных ФС, гипоксическая природа опухолевой ткани и сложности в проведении световой энергии часто являются дополнительными проблемами, с которыми сталкиваются исследователи ФДТ [65].

Туморотропность ФС формируется в результате пассивной диффузии, связанной с повышенной проницаемостью аномально устроенных кровеносных и лимфатических сосудов, и наличия эффекта удержания (EPR) опухолевой тканью ФС наряду с более быстрым его выведением из здоровой ткани. Однако иногда окружающие ткани также задерживают ФС, что приводит к появлению нежелательных побочных эффектов [65].

### 1.2.3 Фотосенсибилизаторы

*Фотосенсибилизирующие препараты, используемые в ФДТ рака легкого*

ФС классифицируются на три группы в соответствии с их функциональными возможностями, а именно: первое, второе и третье поколение [60]. Оптимальный ФС должен обладать следующими качествами:

- быстрый клиренс из организма;
- устойчивость агента воздействия к разрушению продуктами реакции (минимизация процесса «отбеливания» ФС);



- сильное поглощение в спектральном диапазоне, где биологические ткани имеют наибольшее пропускание (красный и ближний ИК-диапазоны 650–800 нм);
- высокий квантовый выход триплетных возбужденных состояний и фотогенерации синглетного кислорода;
- селективное накопление в опухолях;
- доступность получения или синтеза, однородный химический состав;
- высокая скорость депонирования в опухолевой ткани (короткий временной интервал между введением ФС и лазерным излучением);
- оптимальное соотношение между величинами квантового выхода флуоресценции и квантового выхода интерконверсии, первый из которых определяет возможность применения ФС во флуоресцентной диагностике, а второй – способность к генерации синглетного кислорода;
- низкая темновая токсичность, отсутствие нежелательных побочных явлений [158].

Главным представителем первого поколения фотосенсибилизирующих препаратов (в основном это производные получищенного гематопорфирина (Hr)), разрешенных к использованию в ФДТ рака легкого, является Photofrin [69]. Однако, препараты первого поколения обладают недостаточной тропностью к опухолевой ткани, а лечебный и диагностический эффекты проявляются при взаимодействии со светом с длиной волны 630–635 нм, излучение этих длин волн проникает в ткани на глубину до 2 мм, что существенным образом ограничивает возможность лечения опухолей более глубоких локализаций. Другими недостатками, ограничивающими клиническое применение этих средств, являются относительно низкий коэффициент накопления в опухолях (1:2) и наличие фототоксичности. В результате низкой скорости выведения препаратов из организма, в течение нескольких недель при попадании яркого света на кожу пациента возможны ожоги [135].

Ко второму поколению ФС относятся хлорины, бензопорфирины и фталоцианины, для которых характерны более выраженная тумор-селективность и снижение пролонгированной фототоксичности, связанной с более быстрым выведением фототерапевтических препаратов из здоровых тканей и организма в целом. В отличие от препаратов первого поколения, ФС второго поколения свойственно сильное поглощением света в области "фототерапевтического окна" — от 650 до 800 нм, в котором незначительно рассеяние света биологическими тканями и практически отсутствует поглощение света эндогенными биомолекулами [95, 108].

Особый интерес вызывают порфиразины в силу наличия у них макросистемы сопряжения двойных связей, а также способности образовывать прочные комплексы с большинством металлов периодической системы. Среди металлокомплексов порфиразина в качестве ФС наиболее изучены нафталоцианины и фталоцианины цинка, алюминия и кремния, что в значительной степени благоприятно влияет на их фотофизические свойства, связанные с максимумом поглощения энергии в области хорошей проницаемости света в ткани при 680 нм и выше, продолжительным временем жизни триплетного состояния и эффективной генерацией синглетного кислорода. Однако, нафталоцианины, также как и фталоцианины, высоко гидрофобны и, как следствие, плохо растворимы в воде [27].

В нашей стране наиболее популярными препаратами для проведения ФДТ являются хлорины, так как именно отечественные производные хлоринов оказались, во-многом, более эффективными с лечебной и коммерческой точек зрения, чем зарубежные аналоги. Ряд торговых названий: МАСЕ, LS11, NРe6, Фотодитазин (Вета-гранд, Россия), Радахлорин (Рада-фарма, Россия), Фотолон (РУП Белмедпрепараты, Минск, Республика Беларусь). Эти препараты - растительное производное хлорина, обладающие высокой эффективностью и низкой темновой фототоксичностью, выраженной у Фоскана. Лечение может проводиться через несколько часов после введения, что представляется наиболее удобным для пациента и врача [16].

В Таблице 1 представлены ФС первого и второго поколения, используемые в ФДТ рака легкого. Оценка результатов, приведенных в Таблице 1, свидетельствует о более высокой эффективности ФС второго поколения в ФДТ рака легких.

Таблица 1 - Фотосенсибилизаторы, применяемые для ФДТ в онкологической практике

| Фотосенсибилизаторы   | Длина волны (нм) | Доза (мг/кг) | Интервал (час) между введением ФС и облучением |
|---|------------------|--------------|--|
| <u>Производные гематопорфирина</u> (Фотофрин, Фотогем)  | 630              | 2.0          | 48   |
| <u>Аминолевулиновая кислота</u> (Левулан, Аласенс)  | 630              | 30.0         | 48   |
| <u>Производные хлорина</u> -M-tetrahydroxophenylchlorine (mTHPC) (Фоскан)-Mono-L-aspartylchlorine е6 (NPe6)(Радахлорин, Фотодитазин, Фотолон) | 660              | 0.15         | 96   |
|   | 662              | 1.0          | 2,5  |
| <u>Производные фталоцианина</u> (Фотосенс)  | 675              | 1.0          | 24   |

ФС третьего поколения - это представители второго поколения, связанные с носителем, обеспечивающим селективную доставку фотосенсибилизирующего препарата к раковой клетке-мишени.

При попадании в организм биологически активные вещества равномерно распределяются по всему организму, проникая как в очаги болезни, так и в здоровые органы и ткани. Одним из решений этой проблемы является направленная адресная доставки лекарственного вещества вместе с биodeградируемым полимером [106, 147]. В этом случае активное вещество высвобождается не моментально, а по мере деградации полимера. Однако, есть ещё более продвинутое методы целевой доставки лекарства при помощи наночастиц генетического материала, ДНК или РНК.

В качестве нанотранспортеров выступают моносахариды, пептиды, липопротеины низкой плотности (ЛПНП), полимеры, наночастицы (NP) или моноклональные антитела (mAbs) [179]. Это направление развития ФДТ не являлось предметом настоящего исследования.

Таким образом, это направление в лечении онкопатологии нуждается в дальнейшем исследовании с точки зрения использования ФДТ с применением ФС, подходящих для лечения рака легкого. Эти исследования позволят увеличить эффективность ФДТ рака легкого за счет активного поглощения и накопления фотосенсибилизирующего вещества опухолевыми клеткам, тогда как здоровые окружающие ткани остаются без изменений, а также контроля эффективности ФДТ в реальном времени.

#### **1.2.4 Источники света**

Клинический протокол ФДТ обычно включает стандартную дозу препарата, дозу от источника света и интервал между приемом препарата и светом [45, 44].

Предпочтительно использовать лазер, то есть когерентный свет, в качестве источника излучения в ФДТ. Для проведения ФДТ используют полупроводниковые лазеры (например, диодные лазеры с длинами волн от 600 до 950 нм), аргон лазеры (от 448 до 514,5 нм) и твердотельные лазеры, такие как

Nd:YAG-лазеры (1064, 532, 355 или 266 нм) [151]. Монохроматический свет доставляется через оптическое волокно, что обеспечивает более стабильный луч и позволяет легко рассчитать дозиметрию и облучение света с оптимальной длиной волны для конкретного фотосенсибилизатора. Однако такие устройства дорогие. Альтернативно, мощные светодиоды, которые обеспечивают другой вид когерентного света, также могут использоваться в качестве источника для ФДТ [49, 68]. Длина волны света, создаваемого светодиодами, варьируется от 350 до 1100 нм, а светодиодные устройства портативны и относительно недороги. Использование некогерентных источников света, таких как обычные лампы, также проводилось в ряде более ранних работ [156].

Наиболее подходящая длина волны для ФДТ составляет 600–800 нм, что известно как «терапевтическое окно», поскольку более короткие волны имеют меньшую глубину проникновения в ткани, в то время как более длинные волны могут иметь более низкий выход АФК [130]. Что касается выбора световых приборов, следует учитывать несколько аспектов, в том числе особенности поражения (ткань, размер, местоположение и доступность), спектр поглощения и способ введения фотосенсибилизатора и источник света (стоимость и доступность) [130].

Важно учитывать дозу или расход света [139]. Следующая формула представляет соотношение между дозой света ( $\rho$ , Дж  $\cdot$  см<sup>-2</sup>), мощностью излучения ( $P$ , мВт  $\cdot$  см<sup>-2</sup>), диаметром излучения ( $d$ , см) и временем ( $t$ , с) (1):

$$\rho = 4 P t / \pi d^2 \quad (1)$$

### 1.2.5 ФДТ в паллиативном лечении рака легкого

В паллиативных условиях ФДТ эффективно уменьшает обструкцию дыхательных путей и улучшает дыхательную функцию [126, 85, 50]. Ретроспективное исследование, которое включало 529 операций у 133 пациентов, сообщило, что ФДТ безопасен и эффективен при лечении кровоточащих опухолей, которые блокируют трахеобронхиальное дерево [59]. Эти исследователи сообщили, что ФДТ был эффективен даже у сильно

ослабленных пациентов с глубокой одышкой из-за прогрессирующего злокачественного новообразования, которые не смогли пройти традиционное лечение сердечной недостаточности. Пилотное исследование с использованием ФДТ с гипербарическим кислородом для усиления кислородно-зависимого лизиса опухолей продемонстрировало значительное улучшение в контроле кровотечения и обструктивных симптомов [165].

За последние 10 лет несколько клинических исследований дали обнадеживающие результаты в лечении рака легкого с обструкцией дыхательных путей. В.D. Weinberg et al. [178] объединили порфимер-опосредованную ФДТ с брахитерапией с высокой мощностью дозы и получили местный контроль опухоли у 78%. J.P. Ross et al., [155] выполняли порфимер-натрий-опосредованную ФДТ в качестве дополнительного метода индукции в отдельности или в сочетании с химиотерапией и / или облучением. Они достигли частичного ответа в 100% случаев, а снижение уровня хирургического вмешательства было возможно в 54% случаев. Ji W. et al., [101] сообщили, что ФДТ с радахлорином в качестве индивидуальной терапии может вызывать полный ответ в 20% случаев и частичный ответ в 70% случаев.

В других исследованиях сообщалось, что ФДТ может эффективно уменьшить размер неоперабельных опухолей, чтобы сделать их операбельными, что позволит лечащему врачу изменить предполагаемые пневмонэктомии для уменьшения анатомических резекций легкого [12].

В проспективном рандомизированном исследовании с участием 42 пациентов со стадией IIIA и IIIB рака легкого эффективность и безопасность ФДТ с хлорином еб в сочетании со стандартной химиотерапией сравнивалась с эффективностью только одной химиотерапии [1]. Результаты этого исследования свидетельствуют о том, что неoadьювантная ФДТ является безопасной и эффективной методикой.

Однако, как и любая терапия, ФДТ имеет некоторые ограничения. Фотодинамический эффект происходит избирательно в облученном месте, что делает невозможным использование ФДТ при распространенных метастазах [62].

Оксигенация тканей и опухолей имеет решающее значение для фотодинамического эффекта; следовательно, опухоли, окруженные некротической тканью или плотными опухолевыми массами, приводят к нарушению ФДТ. Наконец, вероятность точной доставки света к тканям-мишеням является наиболее важным моментом при рассмотрении ФДТ в качестве варианта лечения. Следовательно, глубокие опухоли трудно поддаются лечению из-за низкого проникновения в ткани видимого света [163].

### 1.3 Флуоресцентная диагностика рака легкого

Ключевым фактором повышения эффективности помощи больным раком любой локализации является его ранняя диагностика. В настоящее время основным методом ранней диагностики рака легкого является компьютерная томография, которая, однако, не решает проблему выявления скрытых, рентгенонегативных форм центрального рака легкого (ЦРЛ), составляющих 30% от общего их числа. Рутинная бронхоскопия, выполняемая в белом свете, часто не справляется с задачей раннего выявления опухолевых участков. Одним из перспективных направлений ранней диагностики ЦРЛ и предраковых изменений является бронхоскопия в свете флуоресценции [127].

Флуоресценция ткани может быть обусловлена эндогенными флуорофорами и внешними агентами. В первом случае ее принято называть автофлуоресценцией (АФ), которая в сине-зеленой области спектра в основном определяется двумя компонентами дыхательной цепи клетки - пиридиннуклеотидом (NADH) и флавопротеидом (FP) и зависит от их метаболического состояния [143, 31]. Поскольку метаболизм раковых клеток отличается от нормальных, эти вещества могут выполнять функцию маркеров злокачественной трансформации. Такая возможность была впервые оценена с помощью специально разработанного для этой цели в ГОИ им. С.И. Вавилова в 1982 г. двухволнового микрофлуориметра [17]. Было установлено, что интенсивность флуоресценции NADH и FP в опухолях желудочно-кишечного тракта и матки в 2 - 5 раз слабее АФ здоровой ткани. Применительно к опухолям бронхов возможность АФ диагностики была

также показана R.R. Alfano et al., в 1984 г [54]. В указанной работе измерения выполнялись методом лазерной флуоресцентной спектроскопии. Этот метод требует при поиске опухолевого участка и границ его распространения множественного касания оптическим зондом поверхности исследуемого органа, что существенно затрудняет диагностическую процедуру. Более эффективной является диагностика, основанная на изображениях.

Первая видеосистема для внутрисветной АФ диагностики рака легкого LIFE (LungImaging Fluorescence Endoscope) была создана в Канаде в 1991г на основе обычного волоконного эндоскопа [140]. В ней в качестве источника возбуждения флуоресценции применен гелий-кадмиевый лазер (442 нм), а для приема изображений – две высокочувствительные телевизионные камеры, осуществляющие захват АФ изображений в различных спектральных областях, что использовалось для уменьшения влияния дистанции до объекта и угла его освещения. Первые результаты АФ эндоскопической диагностики раннего рака легкого показали возможность обнаружения опухолей размером от 1,5 до 3 мм, которые абсолютно незаметны при обычной бронхоскопии [168, 113]. Этот факт послужил стимулом для создания ряда промышленных приборов: Onco-LIFE (Xillix Technologies Corp. Canada), Autofluorescence Imaging - AFI (Olympus Co, Japan), Storz D-Light AF (Karl Storz, Germany), SAFE-3000 (Pentax Co, Japan), EVIS LUCERA ELITE Bronchoscopy (Olympus Co, Japan). Два последних прибора, относятся к видеоэндоскопам нового поколения – электронным эндоскопам, в которых приемником служит миниатюрная камера, установленная на дистальном конце эндоскопа, что по сравнению с волоконным эндоскопом существенно повышает разрешающую способность приборов и улучшает качество изображения. Эти эндоскопы отличаются также возможностью одновременного наблюдения объекта в свете АФ и в белом свете.

В системе SAFE-3000 такие мультимодальные исследования проводятся путем быстрого переключения источника возбуждения АФ (лазер 408 нм) и источника белого света (ксеноновая лампа) синхронно с кадровой разверткой видеосистемы. Захваченные кадры отображаются на экране в виде рядом



расположенных двух картинок. Разделение сигналов по времени используется также в EVISLUCERASPECTRUMBF-F260, но результирующая картина представляется иначе. В этом случае возбуждение АФ производится излучением с широкой спектральной полосой (390–470 нм), а ее регистрация вузкой спектральной области (540–560 нм), в которой расположены Q-полосы поглощения гемоглобина. Цветной кадр на выходе системы формируется следующим образом - в канал G посылается флуоресцентное изображение, а в каналы В и R – соответствующие монохромные изображения из кадра белого света. В комбинированном изображении участки ткани с более низкой яркостью флуоресценции выглядят на экране более зелеными. Вне зависимости от вида картины, отображаемой на экране, в основе АФ диагностики лежит эффект снижения интенсивности флуоресценции в патологическом очаге [118]. Он, в основном, связан с высокой васкуляризацией поверхностного эпителия в зоне злокачественного роста [30].

Что касается диагностической ценности АФ бронхоскопии, то в настоящее время признано, что хотя она по сравнению с обычным исследованием в белом свете характеризуется вдвое более высокой чувствительностью, ее специфичность из-за возможности принять воспалительные изменения за дисплазию и рак весьма низка [182]. К недостатку АФ диагностики можно также отнести низкую интенсивность автофлуоресцентного свечения.

Преодолеть указанные недостатки можно за счет введения в организм флуоресцентноконтрастного вещества, способного избирательно накапливаться в опухоли и, либо самостоятельно флуоресцировать, либо стимулировать флуоресценцию какого-либо эндогенного флуорофора. Этими свойствами обладают фотосенсибилизаторы, применяемые при фотодинамической терапии для разрушения опухоли под действием света. Диагностику, основанную на стимулированной извне флуоресценции, часто называют лекарственной флуоресцентной диагностикой или фотодинамической диагностикой (ФДД). Вызванная ФС флуоресценция, по сравнению с АФ, является более интенсивной, и спектр ее эмиссии смещен в длинноволновую сторону. Эти оба фактора

способствуют увеличению контраста и, следовательно, благоприятствуют диагностике.

Наиболее пригодными для ФДТ рака легких оказались ФС хлоринового ряда. Наши пилотные исследования, начатые в 2010 г, показали, что в опухолевых очагах наблюдается красная флуоресценция, которую легко визуально отличить от здоровой слизистой бронхов, представленной в сине-зеленых тонах. К настоящему времени накоплен значительный опыт, подтверждающий целесообразность применения хлориновых ФС при злокачественных поражениях дыхательных путей как для ФДТ, так и для флуоресцентной диагностики [8, 2, 51, 4, 6].

#### **1.4. Фотодинамическая терапия применительно к раку легкого**

Исследователи в разных странах работают над возможностью визуализации опухолевых очагов для более точного воздействия на них, предупреждая, в том числе, и поражение здоровых тканей. Реализация такой цели может быть достигнута применением ФС, которые флуоресцируют при воздействии на них света определенной длины волны. Более того, интенсивность флуоресценции может использоваться и как критерий эффективности фотодинамического воздействия в реальном времени. Так, предлагается визуализировать границы опухолевого роста в бронхиальном дереве путем предварительного введения ФС хлоринового ряда и последующего освещения новообразований светом длиной волны 398–410 нм [172, 170]. Флуоресцирующие участки затем облучали длиной волны 660 нм, вызывая тем самым деструкцию опухолевых клеток.

S. Lam et al. [113] отмечают, что флуоресцентная бронхоскопия является важной частью мониторинга в общем ведении пациентов с ранней карциномой легкого. Мировые данные об использовании флуоресцентной бронхоскопии приведены в таблице. Исследование методом флуоресцентной бронхоскопии увеличило частоту выявления рака легкого в среднем в 2 раза. Уровень выявления флуоресцентной бронхоскопии составил 71% в США и Канаде, 83% в Европе и 88% в Японии и Сингапуре.

Мировые данные об использовании флуоресцентной бронхоскопии для локализации областей преинвазивной карциномы (дисплазия средней или тяжелой степени или рак *in situ*) приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Локализация поражений с помощью флуоресцентной бронхоскопии

| Особенность                | Северная Америка<br>(n = 553) | Европа (n =<br>508) | Юго-Восточная<br>Азия (n = 401) <sup>c</sup> |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------|--|
| Уровень обнаружения<br>(%) | 71                            | 83                  | 88   |
| Специфичность (%)          | 67                            | 57                  | 71   |
| PPV (%)                    | 29                            | 25                  | 47   |
| NPV (%)                    | 92                            | 95                  | 95   |

PPV: положительная прогностическая ценность; NPV: отрицательная прогностическая ценность

Авторы отмечают, что:

- Флуоресцентный контроль оптимизирует и индивидуализирует процедуру ФДТ;
- Параметры лечения могут быть скорректированы в соответствии с полученными диагностическими данными;
- Контроль флуоресценции выявляет пациентов, у которых лечение ФДТ неэффективно;
- Флуоресцентный контроль ФДТ объединяет диагностику и терапию в одной процедуре

В работе Дж. Вергнона и соавт. [174] использовался метод флуоресцентной бронхоскопии для анализа эффективности ФДТ.

В работе [80] представлен обзор клинического опыта фотодинамической терапии. Потенциальные преимущества ФДТ включают длительность лечебного эффекта, достигнутого благодаря отсроченным клеточным эффектам ФДТ в опухоли. В качестве фотосенсибилизатора использовали (Фотофрин, Порфимер натрия, Ахсан Scandipharm, Монреаль, Квебек).

Для того чтобы ФДТ заняла надлежащее место в системе противораковых лечебных воздействий, необходимо решить многочисленные, еще не раскрытые вопросы о механизмах действия ФДТ [70]. Но сама по себе возможность такого подхода таит в себе большие перспективы.

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1 Клиническая картина больных, включенных в исследование

В основу настоящей работы положен анализ результатов обследования и лечения 163 больных раком легкого в возрасте от 42 до 82 лет (средний возраст 64,5 лет). Мужчин было 122 (54%), женщин – 41 (46%). Все пациенты обследовались и лечились в клинике госпитальной хирургии №1, НИИ хирургии и неотложной медицины ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с 2008 по 2018 годы (Таблица 3).

Таблица 3 – Распределение больных раком легкого по полу и возрасту

| Пол     | Возраст, лет |       |             | Всего |
|---------|--------------|-------|-------------|-------|
|         | до 40        | 40–59 | 60 и старше |       |
| Мужчины | 2            | 61    | 59          | 122   |
| Женщины | 2            | 13    | 26          | 41    |
| Всего   | 4            | 74    | 85          | 163   |
| Частота | 2,5%         | 45,4% | 52,1%       | 100%  |

Средний возраст больных, включенных в исследование, составил 63 года

Среди наблюдавшихся пациентов было 122 мужчины (75%) и 41 женщина (25%). Большая часть пролеченных больных – 52,1% – входила в возрастную категорию 60 и старше (см. таблицу 3).

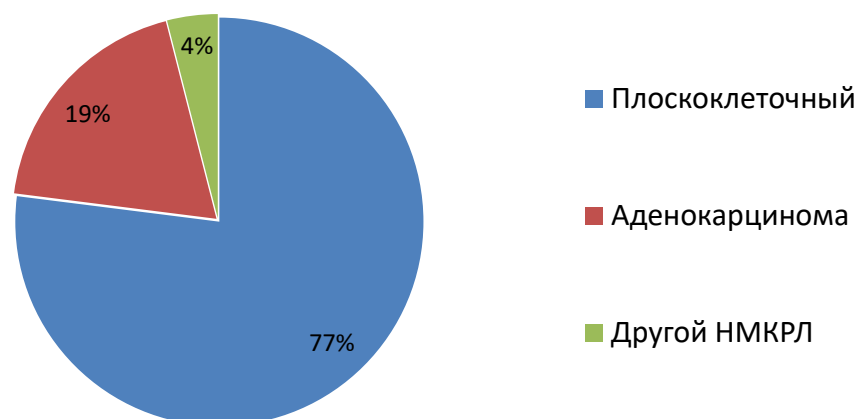


Рисунок 2 – Распределение больных согласно гистологическому варианту рака легкого, в % к общему числу пациентов, включенных в исследование

Классификация больных по стадиям рака легкого осуществлялась согласно Международной системе стадирования рака легкого 7 редакции (2009).

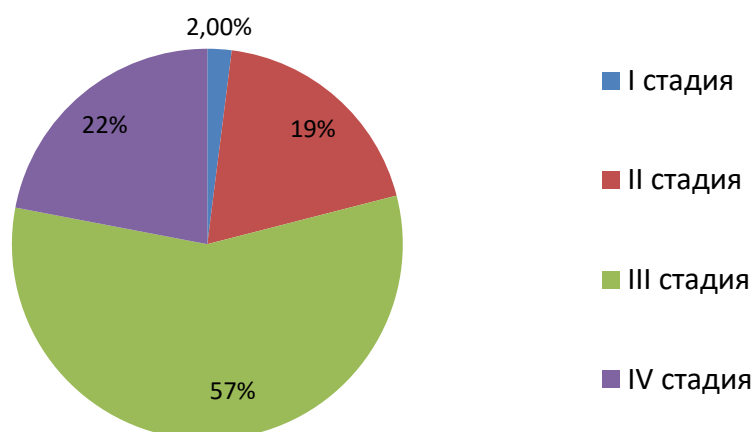


Рисунок 3 – Распределение больных по стадиям рака

Гистологическими вариантами рака легкого были: плоскоклеточный рак – у 125 пациентов (77 %), аденокарцинома – у 31 (19 %), другой НМКРЛ – у 7 (4 %) (Рисунок 3).

Стадия рака легкого: I стадия – 3 больной (2 %), II стадия – 31 больной (19 %), III стадия – 93 больных (57 %), IV стадия – 36 больных (22 %) (Рисунок №3).

Все пациенты давали письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Наличие немелкоклеточного рака легкого доказано гистологически или иммуногистохимически.

Основными критериями для включения в исследование явились: наличие у больного гистологически верифицированного немелкоклеточного рака легкого; наличие опухолевого стеноза дыхательных путей; поражение центральных бронхов или трахеи; невозможность на момент постановки диагноза выполнения радикального хирургического вмешательства; общее состояние больного, позволяющее выполнить видеобронхоскопию и эндобронхиальные вмешательства.

Критерии исключения: наличие сопутствующих заболеваний, не позволяющих выполнить бронхоскопию; отказ больного от участия в исследовании.

Таким образом, набор пациентов в основную группу исследования осуществлялся по принципу нерезектабельности и неоперабельности, когда имелись отдаленные метастазы или причинами отказа от операции являлись существенная местная (T) и регионарная (N) распространенность опухоли, а также функциональная непереносимость удаления всей опухолевой ткани.

Одной из основных причин нерезектабельности явилось распространение опухоли на трахею, неоперабельности – дыхательная недостаточность при отсутствии адекватной вентиляции значимого объема легочной паренхимы.

Принципы Хельсинкской 2013 г. декларации были соблюдены. Перед включением в исследование у пациентов получено информированное согласие. Протокол клинического обследования утвержден локальным этическим комитетом Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова.

## 2.2 Описание применяемых ФС, методик введения и доз

В качестве ФС применялся препарат Радахлорин (производитель «Рада-Фарма», Россия). У всех пациентов ФДТ проводилась путем гибкой бронхоскопии под седацией (Дексмедетомидин 1 мкг/кг массы тела). В качестве средства доставки лазерного излучения применялись световоды с цилиндрическим диффузором длиной 6 мм.



Рисунок 4 – Препарат Радахлорин

Введение фотосенсибилизатора осуществляли в дозе в среднем 1 мг на кг массы тела больного внутривенно капельно в течение 30 минут согласно инструкции. Рекомендовалось избегать попадания прямого солнечного света на открытые участки кожи и глаз в течение 24 часов после введения препарата.

Эндоскопическое низкоинтенсивное лазерное облучение опухоли проводили через два-три часа после начала инфузии сенсибилизатора, что необходимо для максимального накопления препарата в опухоли и достижения наибольшей флуоресцентной контрастности «опухоль – нормальная слизистая оболочка бронха».



Бронховидеоскоп вводили в трахеобронхиальное дерево до достижения проксимальной части опухоли. Через рабочий канал бронхоскопа проводили кварцевое волокно с диффузором цилиндрического типа, соединенным с источником лазерного излучения.

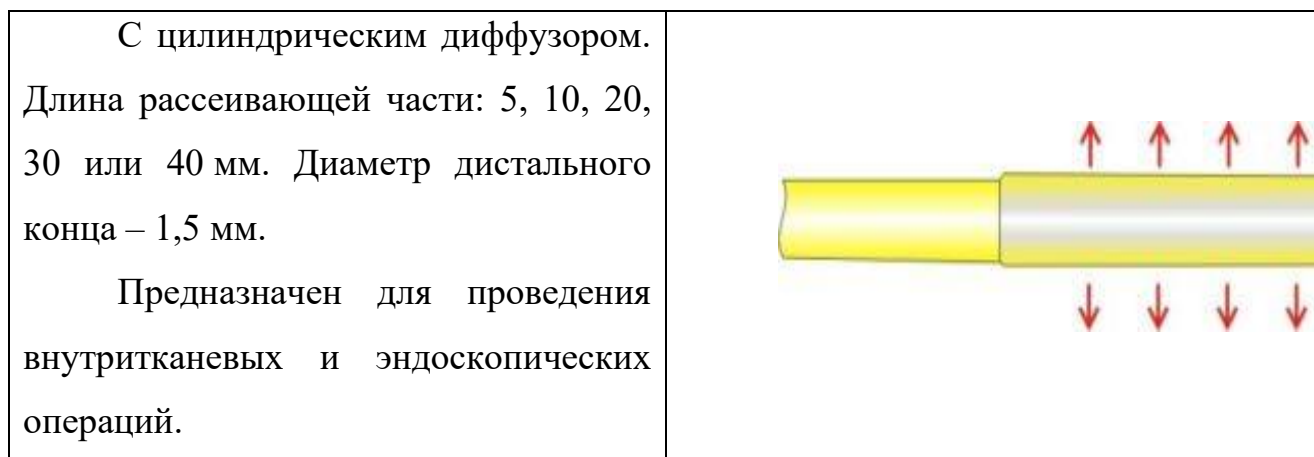


Рисунок 5 – Световод диффузионного типа

Лазерное облучение осуществляли с помощью полупроводникового лазерного аппарата «Лахта-Милон», генерирующего излучение длиной волны  $662 \pm 1$  нм мощностью излучения до 2 Вт. Эти лазерные аппараты позволяют проводить облучение как в постоянном режиме, так и в импульсном, а также выбирать длительность импульса и его частоту (мс) в зависимости от планируемой дозы облучения.



Рисунок 6 – Лазер-аппарат «Лахта-Милон»

Плотность мощности лазерного излучения составляла 260–380 мВт/см<sup>2</sup>. Время, затраченное на выполнение процедуры, рассчитывали в зависимости от протяженности поражения при расчетных показателях плотности энергии 60–150 Дж/см<sup>2</sup>.

При проведении эндобронхиальной ФДТ по стандартной методике время облучения рассчитывалось по формуле (2):

$$T = (210 \times L \times R)(W/P), \quad (2)$$

где

T – время в минутах,

L – длина диффузора в см,

R – расстояние от оси диффузора до поверхности опухоли в см,

W – плотность энергии в Дж/см<sup>2</sup>,

P – мощность излучения лазера в мВт [39].

Величина плотности энергии, набираемой 1 см<sup>2</sup> поверхности опухоли за время облучения, равное 1 минуте, рассчитывалось по формуле (3):

$$W = 1/L \times P / 200R, \quad (3)$$

где

L – длина диффузора в см,

P – мощность излучения лазера в мВт,

R – расстояние от оси диффузора до поверхности опухоли в см [40].

163 больных центральным немелкоклеточным раком легкого I-IV стадии

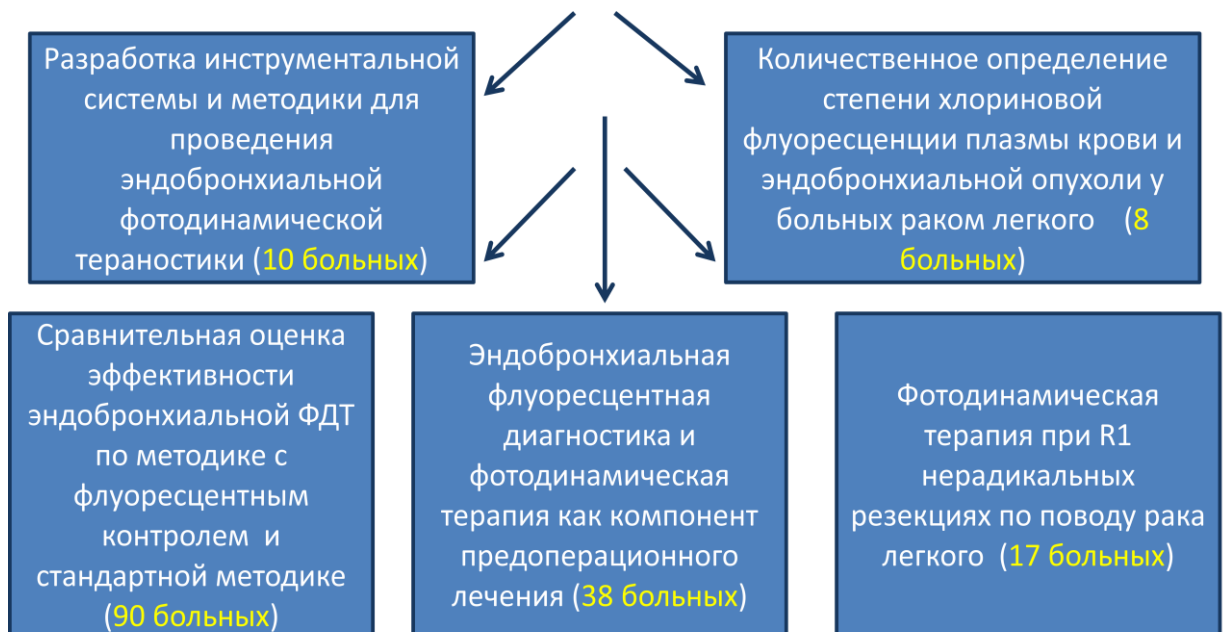


Рисунок 7 – Схема проведения исследования

Всем неоперабельным и нерезектабельным пациентам наряду с эндобронхиальной ФДТ проводилась полихимиотерапия. Использовались платиносодержащие схемы: цисплатин 75 мг/м<sup>2</sup>/карбоплатин (AUC 6) в 1 день цикла в сочетании с паклитаксел 175 мг/м<sup>2</sup> в 1 день 21 дневного цикла или этопозид 100 мг/м<sup>2</sup> в 1, 2, 3 день 21 дневного цикла или гемцитабин 1250 мг/м<sup>2</sup> в 1, 8 день 21 дневного цикла или пеметрексед 500 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1-й и 8-й день 21-дневного цикла (только при неплоскоклеточном раке). За 24-48 часов перед

каждым курсом химиотерапии проводился сеанс эндобронхиальной фотодинамической тераностики. У оперированных больных проводилась патоморфологическая оценка степени патоморфоза по схеме Г.А. Лавниковой [24].

Эндоскопический контроль осуществлялся через 21 день после процедуры ФДТ. При достижении увеличения просвета трахеи/bronха констатировали положительный эффект лечения.

Методика проведения ФДТ под флуоресцентным контролем подробно представлена в Главе 3.

### **2.3 Методики обследования и лечения больных**

Всем больным помимо общеклинических исследований производились электрокардиография, эхокардиография, рентгенография и компьютерная томография грудной клетки, ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости и плевральных полостей. Также всем пациентам выполнялось фибробронхоскопия под местной анестезией. При наличии опухолевого роста в центральных бронхах производилась биопсия ткани опухоли.

Рентгенологическое обследование включало рентгеноскопию, рентгенографию грудной клетки в двух проекциях, компьютерную томографию.

С целью оценки состояния органов брюшной полости и поиска первичного опухолевого очага всем пациентам выполнялось ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Для уточнения характера выявленных интраабдоминальных изменений осуществлялась компьютерная томография органов брюшной полости. Компьютерная томография головного мозга и радионуклидное исследование костей скелета производились, в основном, при наличии клинических проявлений возможного опухолевого поражения. При сомнительных результатах исследований выполнялась позитронно-эмиссионная томография всего тела.

С целью уточнения функциональной операбельности со стороны органов дыхания всем пациентам производилась спирометрия, определение

диффузионной способности легких, кардиореспираторное нагрузочное тестирование, в том числе и нелабораторное (6-минутный тест с ходьбой, лестничная проба).

#### **2.4 Методы статистического анализа результатов исследования**

Сбор материала по отдаленным результатам лечения осуществлялся путем анализа результатов контрольных обследований пациентов в сроке через 3, 6, 12 месяцев.

Статистическая обработка полученных результатов производилась с помощью точного теста Фишера, использованием критерия  $X^2$ , критерия Стюдента при наличии нормального распределения. Расчеты выполнялись с использованием статистической программы BMDP MedicalStatistical-Software (LosAngeles, CA).

Описательные статистические данные были использованы для обобщения характеристик пациентов, патологических оценок при исследовании биопсии бронхов и функции легких. Сравнение между группами проводилось с помощью критерия Манна-Уитни. Все значения  $P$  являются двусторонними. Двустороннее значение  $P < 0,05$  считалось статистически значимым.

**ГЛАВА 3**

**ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ХЛОРИНОВОЙ  
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ  
(ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАНОСТИКИ) ЦЕНТРАЛЬНОГО РАКА  
ЛЕГКОГО ПРИ БРОНХОСКОПИИ**

**3.1 Инструментальная система для проведения фотодинамической  
тераностики центрального рака легкого**

В данном разделе описывается разработанная нами экспериментальная система, предназначенная для реализации технологий фотодинамической тераностики центрального рака легкого. Возможности системы иллюстрируются клиническими примерами.

Система представляет собой построенную на базе бронхофиброскопа лазерную видеозендоскопическую мультимодальную платформу. Оптические параметры системы оптимизированы для использования препаратов на основе хлорина еб, возбуждение флуоресценции производится лазером с длиной волны 405 нм. Для фотодинамического облучения с хлоринами применяется лазер на 660 нм. Наблюдение в отраженном белом свете осуществляется с помощью RGB лазеров. Доставка диагностических излучений в осветительный канал эндоскопа производится по одному и тому же моноволокну. Видеосистема для одновременной визуализации обычной картины и картины в свете флуоресценции в реальном времени построена на основе общей телевизионной камеры. В приборе, в основном, используются стандартные модули, что способствует снижению его стоимости и упрощает модернизацию.

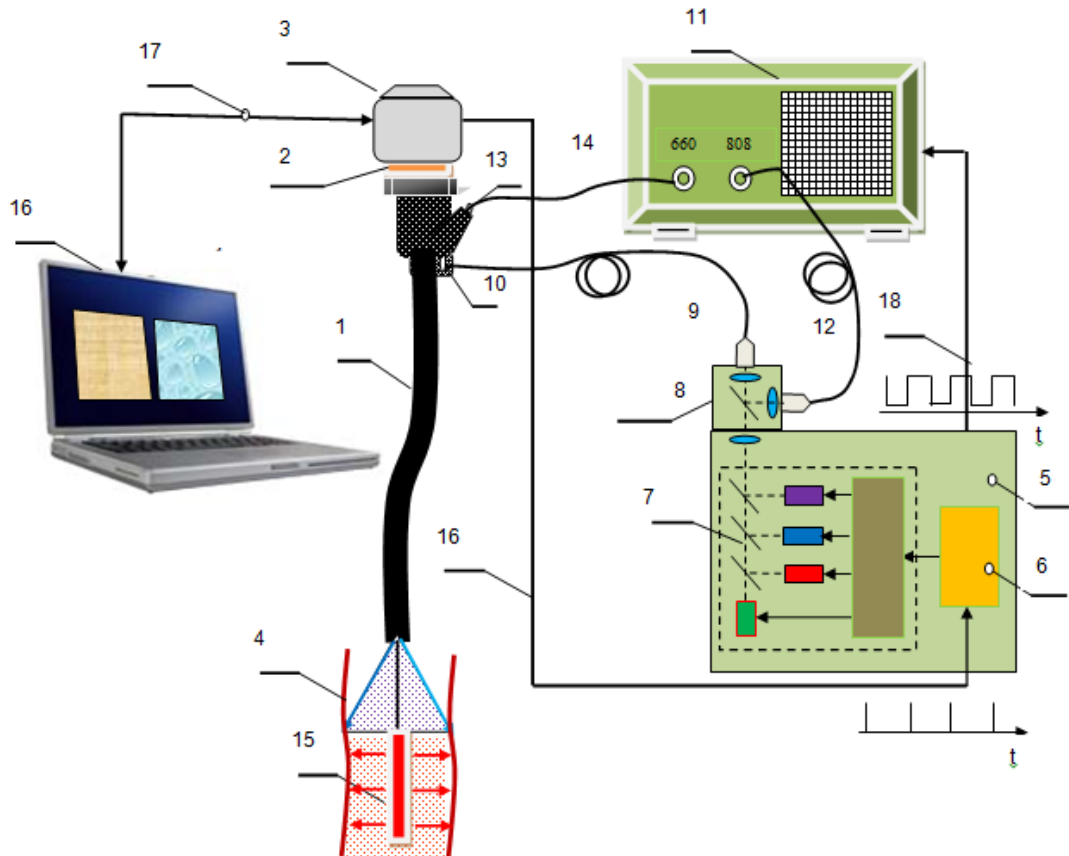


Рисунок 8 – Схема лазерной видеоэндоскопической системы для фотодинамической терапии рака легкого. Пояснения в тексте

Схема лазерной видеоэндоскопической системы для ФТ рака легкого показана на рис.8. В ней формирование изображения производится с помощью бронхофиброскопа **1** (Pentax FB 15RBS; HOYA Group, Japan). К его окуляру через оптический адаптер ( $f=20$  мм) с блокирующими светофильтрами **2** (F425, F808) присоединена матричная цифровая камера **3** (acA720-520uc; BaslerAG, Germany). Для освещения объекта **4** (слизистая бронхов, трахеи) используется специально разработанный многоволновый лазерный аппарат **5**. В нем установлен управляемый контроллером **6** блок лазерных модулей **7** с излучателями на четыре длины волны (405 нм, 450 нм, 520 нм, 635 нм). Излучение с длиной волны 405 нм предназначено для возбуждения видимой флуоресценции (АФ, хлорины), а с длинами волн 450 нм, 520 нм и 635 нм, – для формирования изображений в отраженном белом свете. Излучение из многоволнового лазера, прошедшее последовательно через дихромное зеркало оптического смесителя **8** и волоконно-

оптический кабель **9** подается на вход осветительного канала **10** эндоскопа. С его выхода производится освещение объекта **4**.

Кроме многоволнового лазера в состав системы входит также двухволновый лазерный аппарат **11** (ЛАХТА-МИЛОН 660/808; ООО «Квалитек», Россия). Излучение 808 нм, предназначенное для работы с индоцианином зеленым (не рассматривается в рамках настоящего исследования), поступает через световодный кабель **12** в оптический смеситель **8**, где с помощью согласующей оптики объединяется с излучением многоволнового лазера **5**. Излучение другого канала - 660 нм, обеспечивающее лечебное фотодинамическое воздействие, поступает через инструментальный канал эндоскопа **13**, с помощью световода **14**, оснащенного цилиндрическим диффузором на конце **15**. Наконечник, представляет собой кварцевый капилляр диаметром 1,75 мм, длиной 10 мм с рассеивающей средой внутри, что позволяет проводить равномерное облучение стенок бронха соответствующей длины. При необходимости увеличить зону облучения производится сканирование.

Лазерный аппарат **5** излучает в импульсно-периодическом режиме. Работа его синхронизирована с телевизионной камерой **3** с помощью кабеля **16**, передающего из телевизионной камеры **3** кадровые синхроимпульсы в контроллер **6**, где они преобразуется в импульсную последовательность  $t1$  и  $t2$ , которая позволяет поочередно включать лазеры возбуждения и белого света. Изменение длительности включения лазеров позволяет в пределах длительность кадра регулировать среднюю мощность излучения от 0 до 100%, а поочередная их подача - осуществлять отдельный захват четных и нечетных кадров. Видеосигналы в цифровом виде поступают в компьютер **16** с помощью кабеля **17** (USB 3.0). Работа лазера **11** с помощью дополнительного кабеля **18** синхронизирована с работой лазера **5**.

На экране компьютера, оснащенного программой **Win2**, формируется двухоконная телевизионная картина, в которой кадры, полученные в свете флуоресценции и в отраженном свете, размещаются рядом. Программа **Win2** является одним из модулей программы **MMCSOft** [141], предназначенной для



формирования, обработки и анализа баз данных, основанных на изображениях. Модуль *Win2* обеспечивает работу цифровой телевизионной камеры в режиме двух потоковой видео регистрации с разделением во времени, запись одно- и двух кадровых фото и видео изображений, измерение интенсивности сигналов, автоматическую регулировку мощности лазеров.

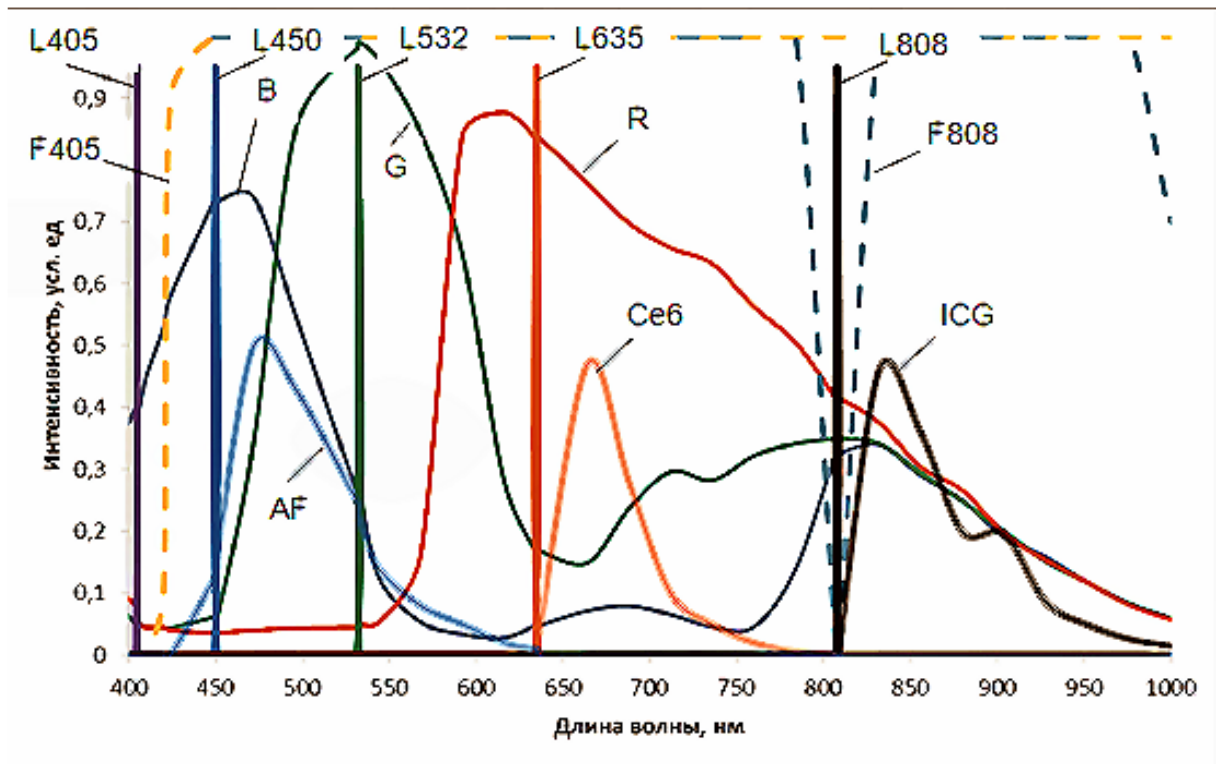


Рисунок 9 – Спектральные характеристики элементов системы  
(пояснения в тексте)

Спектральные характеристики элементов системы показаны на рисунке 9. Кривые R, G и B являются кривыми спектральной чувствительности цветных каналов КМОП сенсора IMX287 (Sony) камеры acA720-520uc (Basler). Для блокировки коротковолнового возбуждения L405 используется ступенчатый фильтр F405. Он пропускает без ослабления излучения в диапазоне от 420 до 950 нм, в котором излучают RGB лазеры L450, L532, L635, формирующие картину в белом свете, и где расположены эмиссионные спектры автофлуоресценции (AF), хлорина еб (Ce6). Лазерное излучение L660 нм при ФДТ не блокируется,

поскольку в периоды, когда лазер находится во включенном состоянии, телевизионная система отображает предшествующий кадр, когда лазер выключен.



Рисунок 10 – Видео эндоскопическая система при проведении лазерной фотодинамической терапии бронхов

На рисунке 10 показан внешний вид видеоэндоскопической системы при выполнении лазерной ФТ бронхов.

Представленная в этой главе инструментальная система, насколько нам известна, является первой в мире бронхоскопической инструментальной видеоэндоскопической системой для ФТ центрального рака легкого.

### **3.2 Контроль эффективности ФДТ с помощью видеоэндоскопической системы для фотодинамической терапии рака легкого**

Нами разработан способ проведения эндобронхиальной ФДТ с контролем ее эффективности в реальном времени. Этот способ может быть использован для оптимизации процедуры абляции эндобронхиальных злокачественных новообразований.

Ранее в литературе подобные способы не публиковались. Однако наиболее близким к предлагаемому нами можно считать метод, примененный Maehara S. et al. [121]. Метод заключается в уточнении границ злокачественных образований в трахее/бронхах наблюдением флуоресцентного свечения красного цвета при освещении этих образований, спустя 2-6 часов после введения пациенту фотосенсибилизатора хлоринового типа, фиолетовым светом в области 398 – 410 нм через световод, встроенный в бронхоскоп. После этого, выявленные участки подвергали деструкции, облучая их через световод, проведенный через рабочий канал бронхоскопа, излучением диодного лазера с длиной волны 660-665 нм с плотностью мощности около 100 – 200 мВт/см кв, а затем вновь освещали фиолетовым светом для выявления участков с остаточной флуоресценцией красного цвета. Введенный пациенту фотосенсибилизатор хлоринового ряда, например, NРeб или Радахлорин, обладает поглощающей способностью с максимумом в области 398-410 нм и 660-665 нм. Освещение фиолетовым светом длиной волны в пределах 398-410 нм вызывает поверхностное разрушение ткани с повышенной концентрацией в ней указанного вещества фотосенсибилизатора и, обусловленное этим фотосенсибилизатором флуоресцентное свечение красного цвета, а облучение светом длиной волны 660-665 нм через световод, введенный в рабочий канал бронхоскопа, – значительно более глубокую деструкцию этой ткани, на чем и основан принцип фотодинамической терапии. Контроль результата лечения производился после завершения фотодинамической терапии, повторным облучением фиолетовым светом с целью обнаружения флуоресцирующих красным светом участков.

Основным недостатком этого метода является неопределенность длительности проведения фотодинамической терапии, а также отсутствие влияния результатов флуоресцентной диагностики на длительность и методику проведения фотодинамической терапии из-за отсутствия информации о состоянии обрабатываемой ткани в течение самой процедуры. Кроме того, повторное наблюдение флуоресценции, никакого влияние на лечебный процесс не оказывало.

Предлагаемый нами метод обеспечивает индивидуализацию режима проведения процедуры, в зависимости от биологических особенностей, локализации, степени кровоснабжения и других параметров, характеризующих каждую конкретную опухоль бронха. В результате достигается значительное повышение вероятности полного удаления патологического образования за один сеанс фотодинамической терапии.

Для достижения такого результата необходимо:

- введение фотосенсибилизатора хлоринового ряда;
- через 2-3 часа - бронхоскопическое выявление участков, обладающих интенсивной флуоресценцией красного цвета при их облучении через световод, встроенный в бронхоскоп, фиолетовым (диагностическим) светом в области 398-410 нм;
- деструкция выявленных участков при облучении их через световод, проведенный через рабочий канал бронхоскопа, излучением красного (лечебного) диодного лазера длиной волны 660-665 нм с плотностью мощности около 100 – 200 мВт/см кв; облучение этим лазером в импульсно-периодическом режиме;
- освещение фиолетовым (диагностическим) светом производится непрерывно, при этом оценивается уровень интенсивности флуоресцентного свечения красного цвета в промежутках между импульсами красного лазера;

– при падении интенсивности диагностического свечения ниже терапевтического уровня вследствие фотообесцвечивания, отключение облучения обоими видами излучения;

– через 1-3 минуты возобновление освещения фиолетовым светом и при возникновении флуоресцентного свечения красного цвета за счет эффекта фоторазгорания, возобновление импульсного облучения красным (лечебным) лазером с оценкой уровня интенсивности флуоресцентного свечения красного цвета;

– при падении интенсивности флуоресцентного свечения ниже терапевтического уровня принимается решение о прекращении процедуры.

Наличие флуоресцентного свечения красного цвета оценивается визуально на мониторе бронхоскопа и/или с помощью измерительной системы в промежутках между импульсами облучения диодным лазером с частотой 1-2 Гц.

Частота облучения диодным лазером 1-2 Гц со скважностью 1,5-3 определяется необходимостью достаточного для визуального контроля перерыва в облучении диодным лазером с целью оценки уровня флуоресцентного свечения красного цвета вследствие освещения фиолетовым светом. Слишком короткий перерыв в облучении диодным лазером не позволит достичь адекватного визуального контроля, а слишком длинный – снизит лечебную эффективность фотодинамической терапии.

Сочетание импульсно-периодического облучения патологической ткани со скважностью 1,5 - 3 диодным лазером с оценкой в течение 0,3-0,5 сек уровня интенсивности флуоресцентного свечения красного цвета как показателя концентрации фотосенсибилизатора в промежутках между импульсами излучения диодного лазера обуславливает оптимальность проведения фотодинамической терапии, обеспечивая необходимый режим деструкции злокачественного новообразования для каждого конкретного случая. В частности, в обильно кровоснабжаемой патологической ткани концентрация фотосенсибилизатора будет восстанавливаться существенно быстрее, и

продолжение проведения фотодинамической терапии приведет к еще большему разрушению опухоли. С другой стороны, при плохо развитой сосудистой сети в опухоли длительное проведение фотодинамической терапии будет лишено смысла, так как поступление в зону облучения новых молекул фотосенсибилизатора будет недостаточным, и целесообразным будет прервать процедуру на несколько минут для достижения терапевтической дозы фотосенсибилизатора в облучаемой патологической ткани. Таким образом, достигается индивидуализация проведения фотодинамической терапии в зависимости от биологических особенностей опухоли в каждом конкретном клиническом наблюдении.

При отсутствии флуоресцентного свечения красного цвета в процессе наблюдения за его наличием оператор приостанавливает освещение ткани, как фиолетовым светом, так и облучение излучением красного лазера, восстанавливая через 3-5 минут освещение фиолетовым светом, а в случае фиксации флуоресцентного свечения красного цвета и облучение диодным лазером. После повторного исчезновения красного свечения процедуру прекращают.

Оценка клинической эффективности предлагаемого способа описана в разделе 3.3.

### **3.3 Клинические исследования хлориновой флуоресценции центрального рака легкого при бронхоскопии на видеоэндоскопической системе**

Представленные на рисунках 11 и 12 парные фотографии в белом свете (слева) и в свете флуоресценции (справа) получены при исследовании пациентов М1 и Б1, у которых гистологически подтвержден центральный плоскоклеточный рак легкого III стадии.

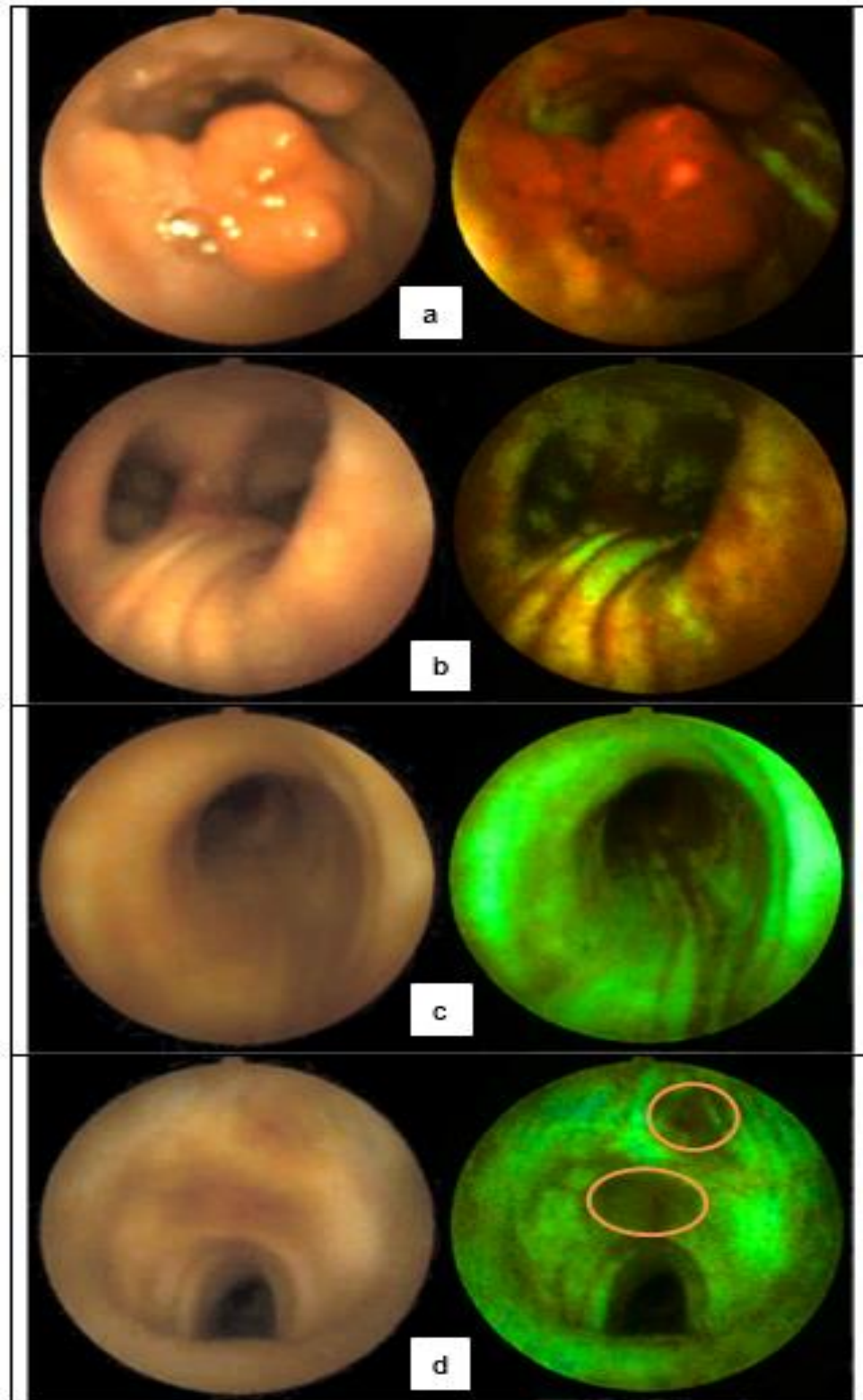


Рисунок 11 – Фотографии в отраженном белом свете (слева) и в свете флуоресценции (справа): участков опухоли (a, b) и здоровой слизистой (c, d) бронхов, полученные у пациентов Б1 (a) и М1 (b, c, d)

Фотография на рисунке 11b иллюстрирует диагностическую чувствительность флуоресцентной визуализации с хлорином еб: опухолевый участок, абсолютно незаметный в обычном свете, за счет наличия красной компоненты отчетливо виден в свете флуоресценции. Обращают на себя внимание темные участки на рисунке 11d (обозначены кружками). Они, согласно критериям АФ диагностики, должны быть приняты за опухоли, но таковыми не являются. Этот ложноположительный случай подтверждает низкую специфичность АФ диагностики.

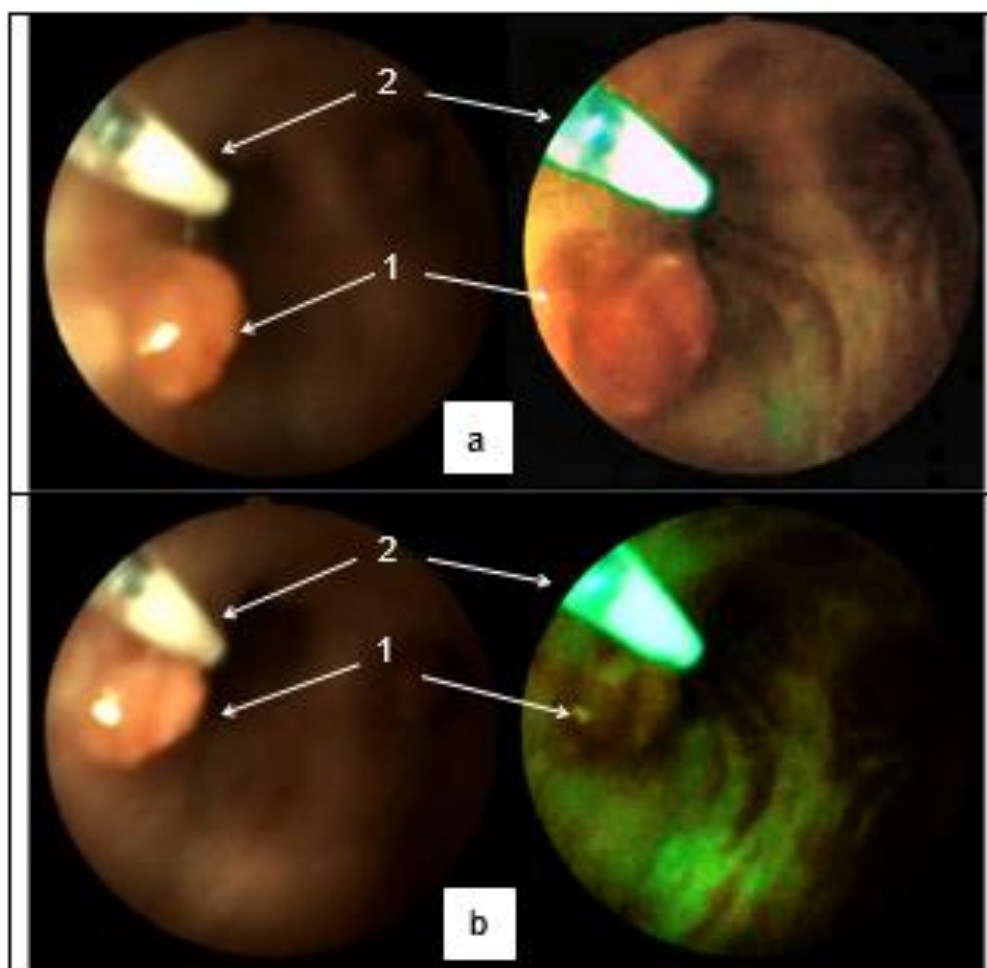


Рисунок 12 – Участок опухолевой ткани (1) бронха у пациента Б1: (а) до и (б) после фотодинамического облучения через наконечник (2) световода с диффузным излучением



Фотографии на рисунке 12 показывают результат облучения опухоли бронха при выполнении ФТ. Фотодинамическое облучение выполнялось лазером с длиной волны 660 нм, работающим в импульсно-периодическом режиме (300 мс = свет, 500 мс – темнота). Излучение мощностью 800 мВт подавалось через наконечник световода диффузного типа. Исходно отмечалась яркая красная флуоресценция фотосенсибилизатора, накопившегося в опухолевой ткани (Рисунок 12). Через 105 секунд облучения, когда красная компонента флуоресценции уже полностью отсутствовала, облучение было прекращено. За это время данный участок ткани получил дозу лазерного излучения 30 Дж/см<sup>2</sup>. Во время процедуры дистальный конец бронхоскопа постоянно перемещался и многократно фиксировался в местах локализации других фокусов опухоли, в результате чего ФТ в общей сложности заняла немногим более 7 минут.

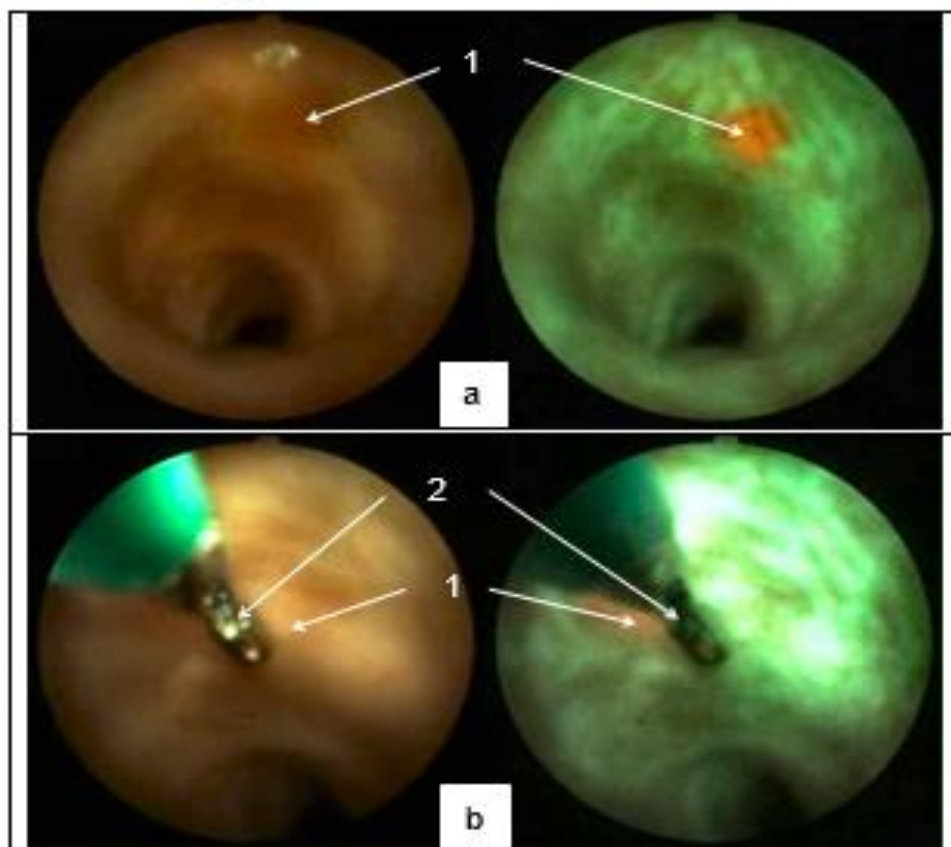


Рисунок 13 – Прицельная биопсия слизистой бронха у пациента М2: (а) до и (б) в момент взятия материала. (1) - участок локального свечения слизистой, (2) – бранши биопсийных щипцов

Фотографии на рисунке 13 иллюстрируют процесс биопсии под флуоресцентным контролем у больного М2. Локализация зоны биопсии соответствует участку красной флуоресценции в области максимального накопления препарата. Результат гистологического исследования биоптата – плоскоклеточный рак.

Особенности системы состоят в следующем:

- для наблюдения двух картин (в отраженном белом свете и свете флуоресценции) применен принцип временного разделения каналов, позволивший использовать для приема одну и ту же коммерчески доступную цифровую видео камеру.

- для освещения в отраженном свете применяется RGB лазер, что позволяет использовать тонкий световодный кабель для транспортировки в эндоскоп «белого» света одновременно с возбуждающим излучением,

- все модули системы, кроме многоволнового лазерного аппарата, являются стандартными, что удешевляет ее создание и упрощает модернизацию,

- для возбуждения видимой флуоресценции используется лазерное излучение 405 нм, позволяющее проводить регистрацию как автофлуоресценции, так и флуоресценции большинства ФС, в том числе хлоринового ряда,

- использование лазерного возбуждения позволяет проводить регистрацию двух флуоресценций без переключения барьерных фильтров,

- для фотодинамического воздействия используется устанавливаемый в инструментальный канал эндоскопа дополнительный световодный инструмент, что позволяет пространственно разделить два канала освещения (терапевтический и диагностический) и, одновременно с облучением, организовать его контроль по флуоресценции.

Указанные особенности будут способствовать основному назначению системы – служить инструментальной платформой для разработки методов ФТ заболеваний бронхиального дерева.

### **3.4 Клинические примеры контроля эффективности ФДТ с помощью видеозэндоскопической системы для фотодинамической тераностики рака легкого**

#### **Пример 1.**

Пациент С., 63 лет, с диагнозом: Плоскоклеточный рак верхней доли правого легкого T3N1M0. Пациент признан неоперабельным в связи с выраженной сопутствующей патологией (хроническая обструктивная болезнь легких тяжелой степени). При бронхоскопии – опухоль исходит из верхнедолевого бронха и обтурирует просвет правого главного бронха на 75%. Имеет место гиповентиляция средней и нижней долей. Компонентом комплексного лечения является фотодинамическая терапия, направленная на восстановление просвета правого главного бронха и вентиляции средней и нижней долей. За 2 часа до начала проведения видеобронхоскопии внутривенно начато введение фотосенсибилизатора хлоринового ряда, продолжительность инфузии 30 минут.

После 2 мин облучения яркость флуоресценции, определяемая визуальным способом на экране монитора в промежутке между импульсами лазера 662 нм, заметно снизилась в результате обесцвечивания фотосенсибилизатора. Облучение прекращено. Через 3 мин проведено повторное флуоресцентное исследование, показавшее восстановление флуоресцентного свечения в месте облучения (эффект фоторазгорания). Проведена повторная процедура фотодинамического облучения в течение 4 мин, которая привела к окончательному обесцвечиванию зоны облучения.

#### **Пример 2.**

Пациент В., 51 года, с диагнозом: Рак левого легкого. Удаление левого легкого 08.2011, местный рецидив опухоли. При бронхоскопии имело место разрастание опухолевой ткани в области бифуркации трахеи с частичным (субкомпенсированным) стенозом правого главного бронха (на 50%). С целью профилактики декомпенсации стеноза принято решение провести сеанс фотодинамической терапии.

После 1,5 мин облучения яркость флуоресценции, определяемая телевизионной системой регистрации, снизилась в два раза относительно исходного уровня. Это значение было принято в качестве предельно допустимой величины для проведения эффективного фотодинамического облучения, т.е. в качестве терапевтического уровня. В результате компаратор выдал сигнал на отключение диодного лазера, и облучение им было прекращено. Через 2 мин проведено повторное флуоресцентное исследование, показавшее, что эффект восстановления флуоресцентного свечения в данном случае отсутствовал. Еще через одну минуту отмечено четкое восстановление флуоресцентного свечения до исходного уровня. Процедура фотодинамической терапии была продолжена в течение еще 4 минут.

### **3.5 Исследование степени хлориновой флуоресценции плазмы крови и эндобронхиальной опухоли у больных раком легкого**

С целью оценки динамики интенсивности хлориновой флуоресценции в эндобронхиальной опухоли проведен анализ количественных показателей флуоресценции через 3, 12, 24 и 48 часов после начала внутривенного введения раствора Радахлорина. Параллельно, в эти же временные промежутки, проводился забор внутривенной крови больных и также определялись количественные показатели хлориновой флуоресценции плазмы крови. Определялась также концентрация Радахлорина в крови.

В исследование включено 8 больных IV стадией немелкоклеточного рака легкого. Следует отметить, что через 3 часа после начала инфузии ФС всем больным проводился сеанс эндобронхиальной ФДТ,

Степень интенсивности флуоресценции опухоли оценивали по 100 бальной шкале, причем за 100 принималась интенсивность флуоресценции через 3 часа после начала введения ФС.

На рисунке 14 представлена динамика средней концентрации ФС в сыворотке крови через 3, 12, 24 и 48 часов после начала инфузии.

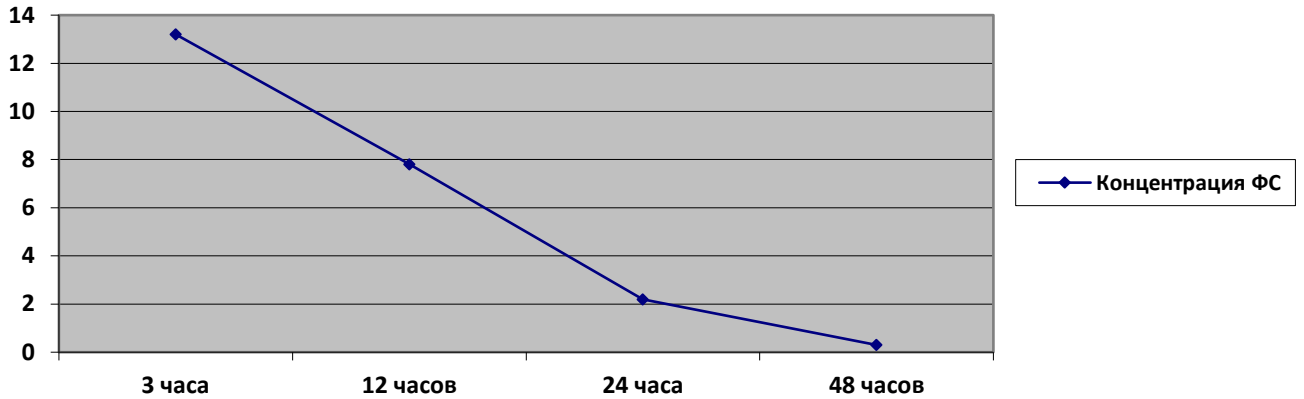


Рисунок 14 - Динамика средней концентрации ФС в сыворотке крови через 3, 12, 24 и 48 часов после начала инфузии.

Из рисунка 14 следует, что через 48 часов концентрация ФС в сыворотке крови минимальна. У 6 из 8 пациентов наличие препарата в крови не определялось.

Через 24 часа после начала инфузии концентрация ФС в крови, в среднем, в 7 раз ниже, чем максимальная. Следует отметить, что у 2 больных концентрация ФС составила около 50% от максимальной, а у остальных 6 пациентов не превышала 10% от максимальной.

Наиболее интересные результаты получены через 12 часов после начала инфузии препарата. Оказалось, что у всех 8 больных концентрация ФС в крови превышала 50% от исходной, причем у 5 пациентов достигала значений 80% от исходной концентрации.

Исследование концентрации ФС плазмы крови были дополнены, как отмечено выше, исследованием степени хлориновой флуоресценции плазмы. Оказалось, что степень интенсивности флуоресценции полностью коррелировала с концентрацией ФС. Максимальной у всех больных оказалась флуоресценция через 3 часа после начала инфузии, это величина принята за 100%. В последующем, во всех наблюдениях интенсивность флуоресценции снижалась, и через 48 часов определялась незначительно лишь у одного пациента. Через 24

часа флуоресценция плазмы отмечалась у 6 пациентов, однако степень ее была около 30% от исходной у 2 из 8 пациентов, а у остальных – существенно ниже.

В то же время через 12 часов после начала инфузии ФС отмечен значимый уровень флуоресценции у всех пациентов. У 3 больных степень флуоресценции составила около 80% от исходной, а у остальных 5 – не менее 50% от исходной.

Полученные результаты косвенно позволяли предположить, что и концентрация Радахлорина в опухолевой ткани через 12 часов после начала введения препарата могла быть также высокой и достигать уровня лечебной. Для подтверждения или опровержения этого предположения и оценивалась степень флуоресценции эндобронхиальной опухоли в различные временные промежутки после введения ФС. Как показали исследования плазмы крови, по степени флуоресценции опухоли можно было достоверно судить и о концентрации ФС в опухолевой ткани. У всех 8 больных при проведении сеанса ФДТ через 3 часа после инфузии ФС имело место яркое свечение ФС в зоне опухолевого роста. Как отмечено выше, степень флуоресценции через 3 часа после начала введения ФС принята за 100%.

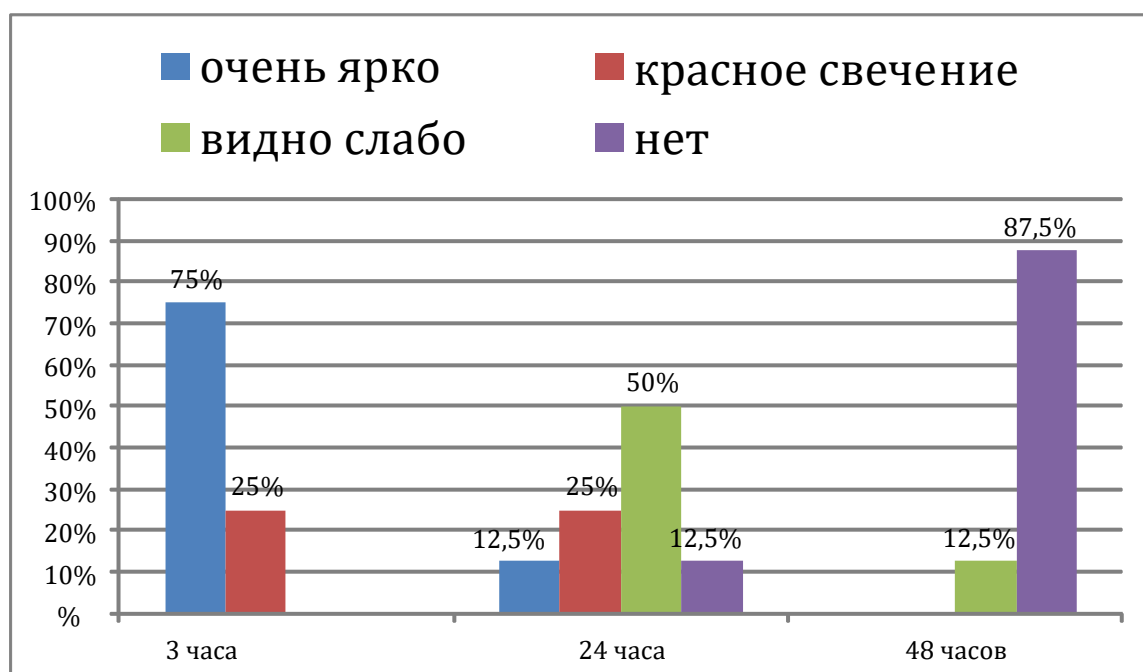


Рисунок 15 – Динамика флуоресценции опухоли через 3, 24 и 48 часов после начала инфузии

Из рисунка 15 следует, что:

- Через 3 часа: у 6 (75%) очень яркая флуоресценция, у 2 (25%) красное свечение;
- Через 24 часа: у 1 (12,5%) очень яркая флуоресценция, у 2 (25%) красное свечение, у 4 (50%) слабое свечение и у 1 (12,5%) пациента свечение отсутствовало;
- Через 48 часа: у 1 (12,5%) слабое свечение и у 7 (87,5%) свечение отсутствовало;

Через 48 часов после инфузии ФС флуоресценция не регистрировалась у 7 пациентов из 8, в одном наблюдении имела место минимальная флуоресценция. Теоретически, этому больному можно было выполнить повторный сеанс эндобронхиальной ФДТ через 48 часов после инфузии ФС. Однако проводить повторный сеанс ФДТ 8 больным с вероятностью эффективности только у одного из них вряд ли целесообразно.

Принципиально другие результаты получены через 24 часа после инфузии ФС. Несмотря на проведенный через 3 часа после инфузии сеанс эндобронхиальной ФДТ концентрация ФС в крови и, соответственно, в опухоли, еще достаточно высока у 7 больных из 8. Причем уровень концентрации ФС в опухоли, определяемый по степени хлориновой флуоресценции, вполне достаточен для проведения повторного сеанса ФДТ.

Таким образом, однократное внутривенное введение разовой дозы ФС может позволить проводить два сеанса эндобронхиальной ФДТ в интервале не более 24 часов после начала инфузии. Через 48 часов выполнение ФДТ не целесообразно. Следует принять во внимание определенную травматичность и субъективную непростую переносимость бронхоскопии, в процессе которой может быть выполнен сеанс эндобронхиальной ФДТ. Однако у тех больных, у которых ФДТ эффективна и которые спокойно переносят процедуру, такая схема выполнения ФДТ дважды в течение 24 часов вполне оправдана.

**ГЛАВА 4****КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ  
ХЛОРИНОВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦЕНТРАЛЬНОГО  
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО****4.1 Эндобронхиальная фотодинамическая терапия под флуоресцентным  
контролем**

Цель данной части работы заключалась в создании метода эндобронхиальной фотодинамической терапии центрального немелкоклеточного рака легкого, обеспечившего индивидуальный подход к лечению заболевания, и анализ его эффективности.

Эндобронхиальная фотодинамическая терапия выполнялась 90 пациентам с неоперабельными (не подлежащими резекции) стадиями центрального НМКРЛ (стадии II-IV). Пациенты распределены путем рандомизации (смена способа проведения эндобронхиальной ФДТ у каждого пятого пациента) на две группы: 45 пациентам исследуемой группы эндобронхиальная ФДТ выполнялась в соответствии с созданной технологией с флуоресцентным контролем (группа 1); 45 пациентам группы сравнения эндобронхиальная ФДТ выполнялась стандартно – область стеноза подвергалась облучению, пока не будет достигнута плотность энергии  $150 \text{ Дж/см}^2$ , которая служит наименьшей плотностью энергии, указанной в инструкции к фотосенсибилизатору (группа 2). Возможность провести гибкий бронхоскоп дистальнее стенозированного участка имелась во всех наблюдениях. Пациенты, у которых такая возможность отсутствовала, а так же, больные, у которых требовалась по клиническим показаниям экстренная реканализация бронхиального дерева, не вошли в исследование. Иное эндобронхиальное лечение, кроме фотодинамической терапии, пациенты не получали. Всем больным, кроме того, была назначена противоопухолевая медикаментозная терапия 1-й или 2-й линии, которая, тем не менее, не имела значительного эффекта на эндобронхиальную составляющую новообразования.

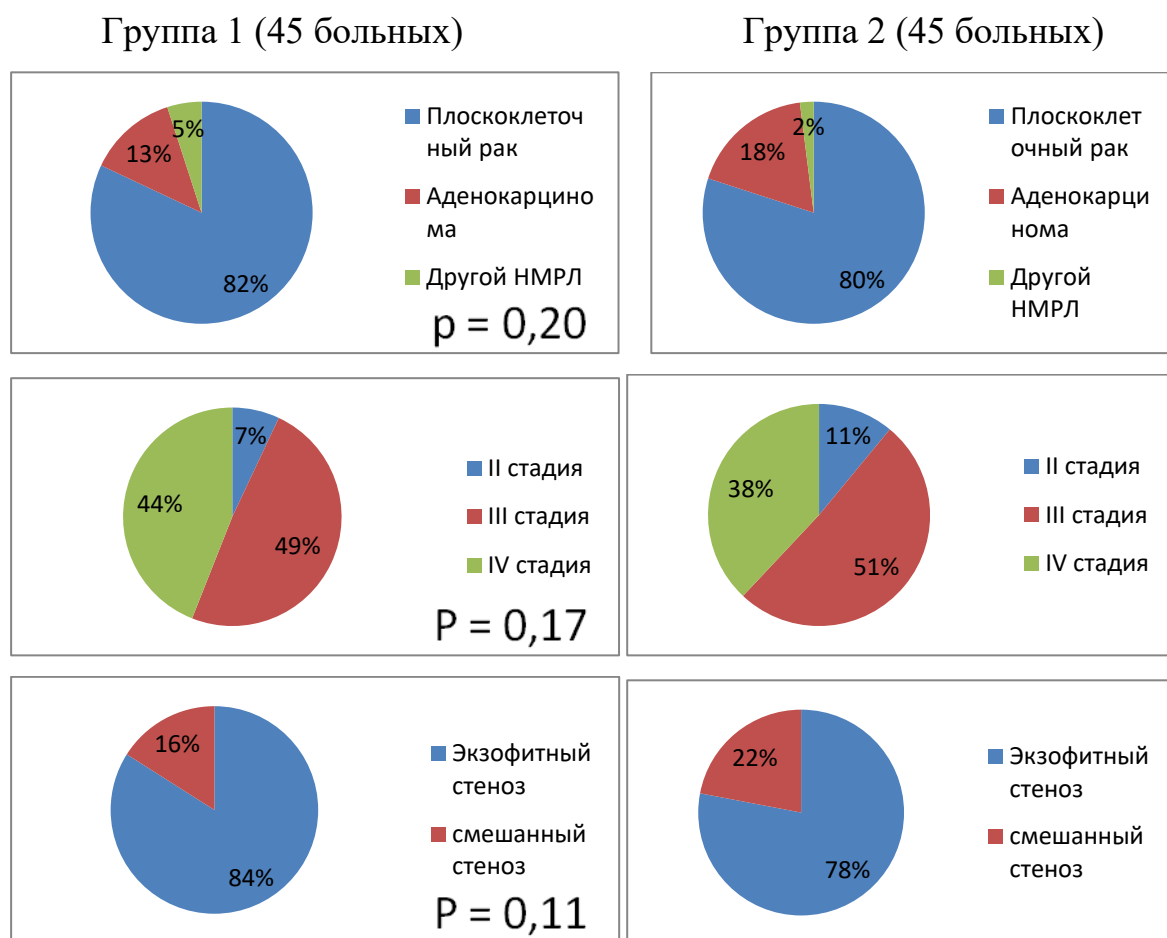


Разработанный метод ФДТ применялся у пациентов группы 1 в соответствии с описанием, приведенным в разделе 3.2.

Всем больным выполнялся один сеанс эндобронхиальной фотодинамической терапии, показатели выполнения которой (длительность, плотность энергии) сравнивались в обеих группах больных. Также проводилось сравнение данных, полученных при контрольной бронхоскопии спустя 3 недели после сеанса ФДТ. Оценка изменений бронхоскопической картины в динамике осуществлялась по ряду показателей: полный регресс - просвет трахеи/крупных бронхов полностью восстановлен; частичный регресс –просвет трахеи/крупных бронхов восстановился не менее чем на 50%; стабилизация –степень стеноза увеличилась или снизилась менее чем на 50%; прогрессирование –степень стеноза увеличилась более чем на 50%. При этом, для наиболее объективной оценки результата, фотодинамическая терапия в обеих группах выполнялась лишь в области роста новообразования с наивысшей степенью стеноза дыхательных путей.

Характеристика пациентов 1-й и 2-й группы приводится на рисунке 16. Плоскоклеточный рак имел место у 82% в 1-й группе и у 80% в 2-й группе ( $p=0,20$ ). Степень первичной опухоли T3 и T4 установлена у 24 (53%) и 19 (42%) пациентов 1-й группы и у 25 (56%) и 16 (36%) пациентов 2-й группы. Экзофитный стеноз имел место у 38 (84%) и 35 (78%) пациентов 1-й и 2-й группы, соответственно ( $p=0,12$ ), смешанный экзофитный и компрессионный стеноз отмечался у 7 (16%) и 10 (22%) пациентов, соответственно ( $p=0,10$ ).

Рисунок 16 – Клиническая характеристика больных



Как указано выше, во всех клинических случаях проводилась плановая ФДТ. Ни в одном наблюдений осложнений при проведении ФДТ не отмечено. Участок, подлежащий фотодинамической терапии, был расположен в трахее у 1 (2%) пациента 1-й группы и 1 (2%) пациента 2-й группы ( $p=0,51$ ), в области бифуркации трахеи локализовался у 14 (31%) и 13 (29%) пациентов, соответственно ( $p=0,14$ ), в главном бронхе – у 23 (51%) и 18 (40%) пациентов, соответственно ( $p=0,10$ ), в устье долевого бронха располагался у 5 (11%) и 13 (29%) пациентов первой и второй группы, соответственно ( $p=0,06$ ). Длина стенозированного опухолью участка находилась в пределах от 0,5 см до 3,2 см (в среднем, 1,5 см).

Пациентам 1-й группы перед выполнением фотодинамической терапии проводилась флуоресцентная диагностика. Из 45 пациентов первой группы у 43

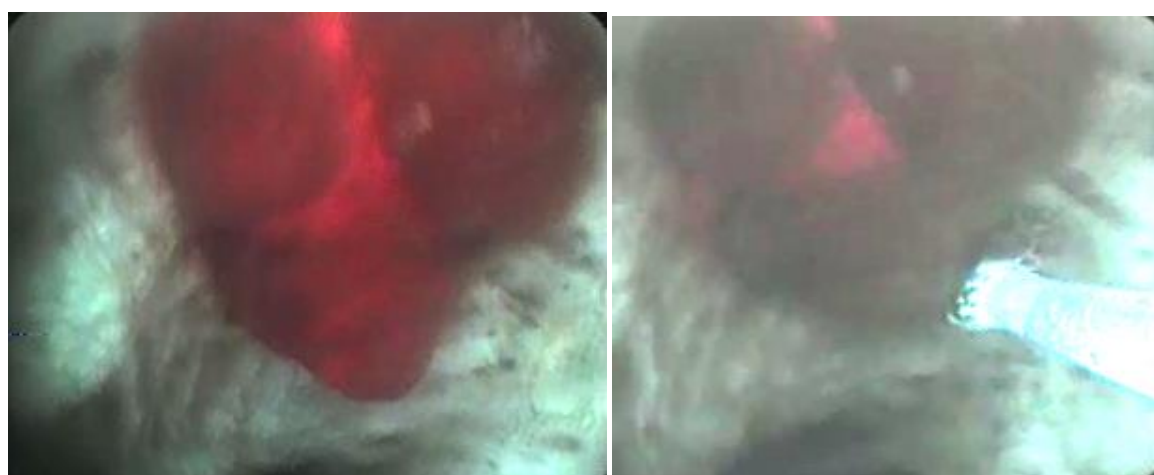
(96%) отмечалось выраженное свечение в области опухолевого стеноза трахеи/bronхов. У 2 (5%) больных свечение в стенозированном участке не наблюдалось, что могло указывать на отсутствие аккумуляции в ткани опухоли фотосенсибилизатора в необходимой для флуоресценции концентрации. У 4 из 45 (9%) пациентов первой группы в ходе бронхоскопии и облучения фиолетовым светом лазера отмечалось свечение зон слизистой, расположенных на расстоянии от области главного опухолевого поражения, в белом свете эти изменения выявлены не были. Такие находки локализовались на слизистой нижней трети трахеи у 2 больных (5%) и в левом главном бронхе у 1 (2%). Еще у одного пациента (2%) свечение выявлено на слизистой обоих главных бронхов. Произведена биопсия слизистой в зоне флуоресценции и во всех 4 наблюдениях в зонах флуоресценции выявлен рост злокачественной опухоли, соответствующий по гистологической структуре первичной опухоли. В 3 наблюдениях выявлен плоскоклеточный рак, а в одном – аденокарцинома.

У пациентов 1-й группы продолжительность первого этапа облучения в ходе выполнения ФДТ до полного выгорания фотосенсибилизатора (прекращения свечения) имела значение в пределах от 65 секунд до 310 секунд (в среднем,  $195 \pm 35$  секунд) (Таблица 5). Далее облучение прекращалось до восстановления свечения. Продолжительность паузы до восстановления изначальной яркости флуоресценции находилась в пределах от 75 секунд до 130 секунд (в среднем,  $105 \pm 15$  секунд). Продолжительность повторного облучения – от 50 до 280 секунд (в среднем,  $170 \pm 65$  секунд). Плотность энергии за все время выполнения ФДТ составила, в среднем,  $95 \pm 20$  Дж/см<sup>2</sup> (от 60 до 130 Дж/см<sup>2</sup>), что достоверно меньше, чем в группе 2 ( $p=0,01$ ). Следовательно, средняя продолжительность сеанса ФДТ у пациентов 1-й группы составила  $470 \pm 45$  секунд, а у больных 2-й группы –  $690 \pm 65$  секунд, что приблизительно на 50% дольше ( $p=0,002$ ). Общая продолжительность облучения достоверно меньше в группе 1 ( $365 \pm 65$  сек), чем в группе 2 ( $690 \pm 65$  сек),  $p=0,001$ .

Во второй группе продолжительность выполнения фотодинамической терапии находилась в пределах от 530 секунд до 840 секунд и составила, в среднем,  $690 \pm 65$  секунд. Во всех случаях мощность лазерного излучения имела значение 720 мВт, значение плотности энергии составило 150 Дж/см<sup>2</sup>. Разница в продолжительности облучения обусловлена разным диаметром области стеноза трахеи/бронха. Расстояние от оси световода до поверхности облучаемой ткани опухоли было прямо пропорционально длительности облучения.

Таблица 4—Параметры выполнения сеанса ФДТ у исследуемых пациентов

| Параметры   | Группа 1     | Группа 2     | Уровень p |
|---|--------------|--------------|-----------|
| Продолжительность облучения (сек)                 | $365 \pm 65$ | $690 \pm 65$ | 0,001     |
| Продолжительность сеанса ФДТ (сек)                | $470 \pm 45$ | $690 \pm 65$ | 0,002     |
| Суммарная плотность энергии (Дж/см <sup>2</sup> ) | 150          | $95 \pm 20$  | 0,01      |



Яркое свечение

Фотобличинг

Рисунок 17 – Флуоресцентный контроль эффективности

При контрольной бронхоскопии, выполнявшейся спустя 3 недели после ФДТ, выявлено, что в 1-й группе полный эндобронхиальный регресс получен у 8 пациентов (18%), частичный регресс достигнут у 35 пациентов (78%), стабилизация – у 1 (2%) пациента и прогрессирование – также у 1 (2%) пациента (таблица 5). У обоих больных, у которых ФДТ оказалась неэффективна, отмечалось отсутствие явления флуоресценции, что указывало на низкое содержание ФС в ткани опухоли.

Во 2-й группе полный регресс отмечался у 6 (13%) больных, частичный регресс – у 36 (80%) пациентов, стабилизация получена у 2 (5%) пациентов и прогрессирование – у 1 (2%) пациента. Различие в эффекте от лечения пациентов двух групп статистически недостоверно.

Таблица 5 –Результат эндобронхиальной ФДТ у исследуемых пациентов

| Результат         | Группа 1 | Группа 2 | Уровень р |
|-------------------|----------|----------|-----------|
| Полный регресс    | 8 (18%)  | 6 (13%)  | 0,19      |
| Частичный регресс | 35 (78%) | 36 (80%) | 0,20      |
| Стабилизация      | 1 (2%)   | 2 (5%)   | 0,38      |
| Прогрессирование  | 1 (2%)   | 1 (2%)   | 0,51      |

При проведении данной части исследования, мы сфокусировались на поиске преимуществ флуоресцентной визуализации для контроля результата фотодинамического лечения в условиях реального времени, когда степень аккумуляции ФС в ткани новообразования могла бы применяться как в качестве лечебного, так и диагностического критерия. Контроль эффективности лечения по степени уменьшения яркости свечения осуществлялся в ходе выполнения ФДТ, что дало возможность значительно снизить продолжительность облучения относительно традиционного способа (в среднем, с 690±65 секунд до 470±45 секунд,  $p=0,002$ ). Также, если до выполнения сеанса ФДТ обнаружено отсутствие свечения пораженного участка, то есть, вероятно, в ткани опухоли аккумуляровалось недостаточное количество ФС, такому больному можно не

выполнять ФДТ, поскольку данный метод лечения будет неэффективен. Подобная ситуация отмечалась у 2 больных 1-й группы, у которых на фоне отсутствия свечения отмечалась неэффективность ФДТ.

В опухолевой ткани, характеризующейся интенсивной васкуляризацией, восстановление концентрации ФС происходит за довольно короткое время, на что будет указывать яркость флуоресцентного свечения красного цвета, и продолжение выполнения фотодинамической терапии позволит добиться ещё большей деструкции новообразования. В то же время, при слабой васкуляризации новообразования продолжительное выполнение фотодинамической терапии не имеет смысла, поскольку проникновение в область облучения новых молекул фотосенсибилизатора недостаточное для достижения необходимого эффекта. Прекращение процедуры облучения на 1-3 минуты требуется для аккумуляции терапевтической дозы фотосенсибилизатора в облучаемой опухолевой ткани, что фиксируется по восстановлению флуоресцентного свечения красного цвета. В таком случае повторное выполнение облучения диодным лазером позволяет добиться наилучшего лечебного эффекта на пораженную ткань. Таким образом, удастся добиться индивидуального подхода к выполнению ФДТ в зависимости от биологических характеристик новообразования в каждом отдельном клиническом случае.

#### **4.2 Эндобронхиальная флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия как этап предоперационной подготовки больных центральным раком легкого**

Несмотря на разработку новых и развитие уже существующих методов лечения для большинства больных НМКРЛ единственной возможностью, позволяющей рассчитывать на излечение, является радикальная операция. Однако на момент диагностики у трети больных НМКРЛ имеет место нерезектабельный местнораспространенный процесс или существенное снижение функциональных резервов, при которых радикальное хирургическое лечение не может быть выполнено [127,54, 133]. Проведение лекарственного или другого

предоперационного лечения может способствовать повышению резектабельности [133, 155]. Но, к сожалению, на практике такое имеет место нечасто [105]. Предложено включить в схему комплексного лечения на предоперационном этапе лучевую терапию, однако такой подход не находит широкого распространения в связи с агрессивностью лечения, невысокой частотой регресса, техническими сложностями при выполнении последующей операции, большим числом послеоперационных осложнений.

В медицинской научной литературе авторам встретились три работы, в которых изучалась роль предоперационной фотодинамической терапии при раке легкого.

В двух из них, представленных японскими авторами, эндобронхиальная ФДТ проводилась с целью уменьшения объема последующей резекции. 19 больным вместо исходно планируемой пневмонэктомии удалось выполнить лобэктомию. После предоперационной эндобронхиальной ФДТ лобэктомию вместо пневмонэктомий выполнены 18 больным, причем оперированы 4 из 5 пациентов, исходно расцененных как неоперабельные [133]. Еще в одной работе из США ФДТ включена в схему неоадьювантного лечения наряду с химио- и лучевой терапией у 41 больного НМКРЛ. 23 (56%) больных, исходно расцененных как нерезектабельные, подвергнуты в последующем хирургическому лечению, а 11 (27%) больным, которые нуждались в пневмонэктомии, произведены лобэктомии [155].

Авторы настоящей статьи опубликовали в 2014 году работу, посвященную анализу результатов лечения больных местнораспространенным НМКРЛ, получавших и не получавших эндобронхиальную ФДТ, наряду с химиотерапией, в неоадьювантном режиме [51]. Основным результатом исследования был существенно более высокий радикализм хирургических вмешательств в группе больных, получавших неоадьювантную химиотерапию в сочетании с ФДТ.

Цель настоящего фрагмента исследования – оценка эффективности комбинированного лечения исходно нерезектабельного и неоперабельного

НМКРЛ, включающего предоперационную эндобронхиальную тераностику и интраоперационную ФДТ, проводимую с целью уменьшения объема резекции.

Критерии включения в исследование: наличие центрального НМКРЛ, а также один из следующих признаков, свидетельствующий о невозможности выполнения радикальной операции по причине нерезектабельности или неоперабельности:

поражение главного бронха + функциональная непереносимость пневмонэктомии (ОФВ1 < 1,5 л, DLCO < 30%, max VO<sub>2</sub> < 10 мл/кг/мин, снижение фракции выброса левого желудочка ≤ 35%), или

вовлечение в опухолевый процесс нижней трети трахеи при раке левого легкого, или

поражение промежуточного бронха + непереносимость билобэктомии.

Критерии исключения – непереносимость противоопухолевой химиотерапии, эндобронхиальной ФДТ.

Основным критерием неоперабельности, то есть прогнозируемой невозможности перенести радикальную операцию, было снижение ОФВ1. Однако, учитывая центральный рак легкого у всех больных, первичное решение о неоперабельности принималось после сопоставления показателей спирометрии, бронхоскопии и компьютерной томографии грудной клетки, эхокардиографии. При необходимости, проводилось комплексное исследование функции внешнего дыхания с оценкой диффузионной способности легких (DLCO) и кардиореспираторное тестирование с оценкой максимально потребления кислорода (maxVO<sub>2</sub>).

Для проведения неоадьювантной химиотерапии использовались платиносодержащие схемы: цисплатин 75 мг/м<sup>2</sup>/карбоплатин (AUC 6) в 1 день цикла в сочетании с паклитаксел 175 мг/м<sup>2</sup> в 1 день 21 дневного цикла или этопозид 100 мг/м<sup>2</sup> в 1, 2, 3 день 21 дневного цикла или гемцитабин 1250 мг/м<sup>2</sup> в 1, 8 день 21 дневного цикла. За 24-48 часов перед каждым курсом химиотерапии проводился сеанс эндобронхиальной фотодинамической тераностики.



Проводилось от 2 до 6 циклов химиотерапии и эндобронхиальной ФДТ с оценкой эндобронхиального эффекта каждые 3 недели, рентгенологического (с помощью компьютерной томографии) – каждые 6 недель. При наличии регресса, позволяющей рассматривать возможность проведения радикального хирургического вмешательства, неоадьювантное лечение прекращалось и пациент оперировался. Таким образом, целью неоадьювантного лечения было: 1) выполнить лобэктомию (билобэктомию) вместо пневмонэктомии, 2) выполнить лобэктомию вместо билобэктомии, 3) выполнить пневмонэктомию вместо пневмонэктомии с резекцией бифуркации трахеи.

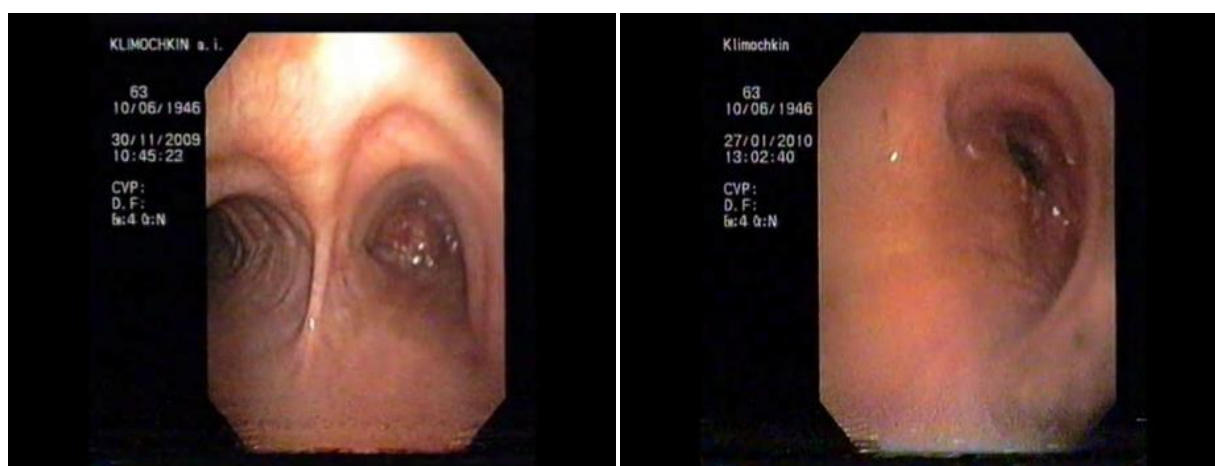


Рисунок 18 – Результаты неоадьювантного лечения

Интраоперационно особое внимание уделялось обработке культи бронха, так как у всех больных резекция легкого проводилась путем пересечения бронха в зоне, ранее вовлеченной в опухоль. Бронх пересекался острым путем под контролем глаза и ушивался вручную атравматичной рассасывающейся нитью. Специальная пластика культи проводилась только после правосторонних пневмонэктомий преперикардальным жиром.

Оценены переносимость и результаты неоадьювантного лечения, непосредственные и отдаленные результаты операций.

В исследование включены 38 больных, средний возраст составил 62 года. Плоскоклеточный рак имел место у 31 (82%), аденокарцинома у 5 (13%),

крупноклеточный рак у 2 (5%). Распределение больных по стадиям рака легкого – ПА стадия у 2 больных, ПВ – у 2 больных, ША – у 15 больных, ШВ – у 19 больных. Другие характеристики опухолей представлены в таблице 6.

Таблица 6–Характеристика больных, включенных в исследование

| Характеристика   | Показатель (n=38)                                |
|--|--|
| Средний возраст, лет   | 62±5 (от 44 до 72)                               |
| Общее состояние (ECOG), 0:1:2  | 21:13:4  |
| Стадия, ПА:ПВ:ША:ШВ  | 2:2:15:19  |
| Вариант НМКРЛ <ul style="list-style-type: none"> <li>• Плоскоклеточный</li> <li>• Аденокарцинома</li> <li>• Крупноклеточный</li> </ul>   | 31 (82%)<br>5 (13%)<br>2 (5%)                    |
| Статус сТ <ul style="list-style-type: none"> <li>• Т2</li> <li>• Т3</li> <li>• Т4</li> </ul>   | 9 (24%)<br>8 (21%)<br>21 (55%)                   |
| Статус сN <ul style="list-style-type: none"> <li>• N0</li> <li>• N1</li> <li>• N2</li> <li>• N3</li> </ul>   | 8 (21%)<br>9 (23,8%)<br>17 (44,7%)<br>4 (10,5%)  |
| Проксимальная граница опухоли <ul style="list-style-type: none"> <li>• Правый главный бронх</li> <li>• Левый главный бронх</li> <li style="padding-left: 40px;">• Трахея</li> <li>• Промежуточный бронх</li> </ul> | 13 (34,2%)<br>9 (23,7%)<br>13(34,2%)<br>3 (7,9%) |

По результатам первичного клинико-инструментального обследования 19 больных расценены как неоперабельные, 19 – как нерезектабельные.

Причинами неоперабельности были следующие:

3 больных - ранее перенесли лобэктомии слева (непереносимость пневмонэктомии справа)

7 больных - выраженные эмфизематозные изменения в контрлатеральном легком в сочетании со снижением ОФВ1 ниже 50% от должного (непереносимость пневмонэктомии)

5 больных - снижение фракции выброса левого желудочка ниже 35% (непереносимость пневмонэктомии)

4 больных – низкий уровень ОФВ1, DLCO и  $\max\text{VO}_2$ .

В целом средний уровень ОФВ1 составил -  $49\pm 18\%$  от должного (от 21% до 77%).

У всех нерезектабельных больных имело место поражение опухолевое поражение трахеи.

Во всех 38 наблюдениях во время бронхоскопии отмечено наличие интенсивной флуоресценции в зоне опухолевого роста. Как отмечено выше, зоны свечения подвергались воздействию фотодинамической терапии. Зона флуоресцентного свечения в большой степени соответствовала границам экзофитной части опухоли, определяемым при рутинном исследовании в белом свете, лишь у 5 больных (13%). В 28 наблюдениях (74%) имело место свечение вокруг опухолевого роста, в пределах 1-1,5 см от границ опухоли в белом свете. У 12 пациентов (32%) распространение флуоресценции фиксировалось на вышележащие отделы бронхиального дерева, например, флуоресценция отмечена в области бифуркации трахеи при проксимальной границе опухоли в белом свете на уровне дистальных отделом правого главного бронха.

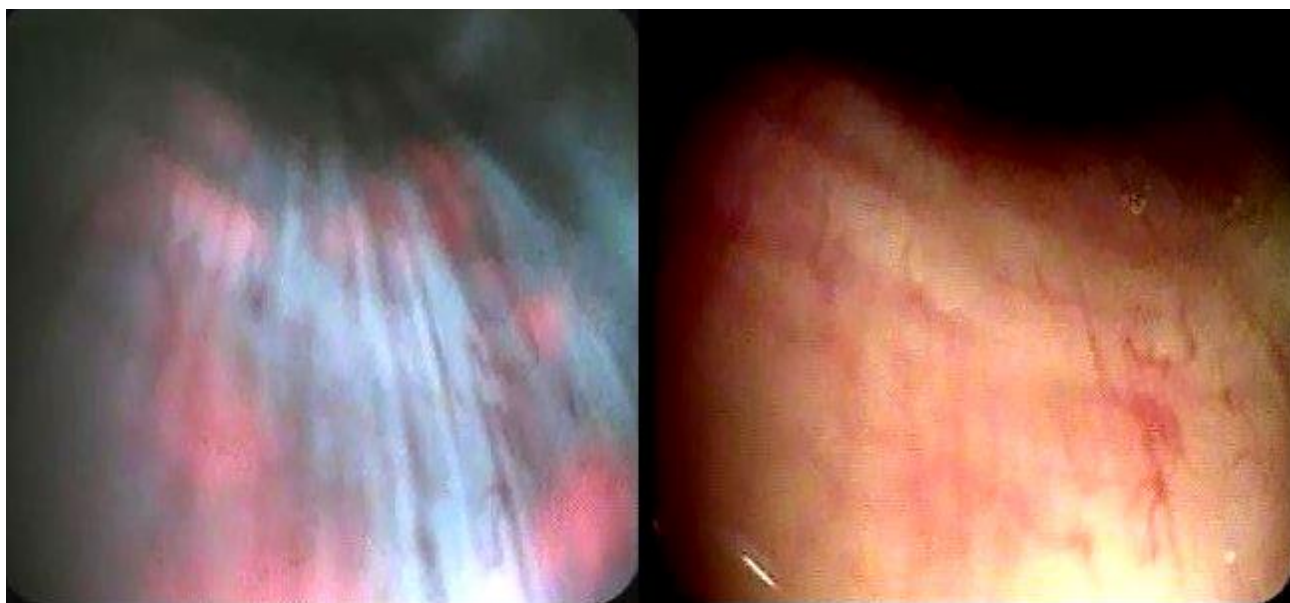


Рисунок 19 – Флуоресцирующие очаги в отдалении от первичной опухоли, не видимые в белом свете

В результате проведения неоадьювантного лечения регресса при КТ (RECIST 1.1) удалось достичь у 33 больных (87%), а эндобронхиального регресса – у 34 больных (89%) (Таблица 7). В оперативном лечении отказано 6 больным (16%) – трем по причине прогрессирования заболевания, и еще трем вследствие отсутствия положительной динамики (все трое расценивались как неоперабельные в аспекте пневмонэктомии).

Таблица 7 – Частота клинического и эндобронхиального регресса после неоадьювантного лечения

| Регресс          | Клинический | Эндобронхиальный |
|------------------|-------------|------------------|
| Полный           | 5 (13,6%)   | 11 (28,9%)       |
| Частичный        | 28 (73,7%)  | 23(60,5%)        |
| Стабилизация     | 2 (5,3%)    | 2 (5,3%)         |
| Прогрессирование | 3 (7,9%)    | 2(5,3%)          |

В общей сложности, при проведении бронхоскопии под флуоресцентным контролем, флуоресценция в зоне опухоли зафиксирована у всех больных, у

которых имели место признаки центральной опухоли в белом свете (29 пациентов). Зон флуоресценции в отдалении от основного очага не отмечено ни у одного пациента. Флуоресценция по периметру выявляемой в белом свете опухоли диагностирована лишь у 3 больных (8%), а флуоресценция в вышележащих участках бронхиального дерева имела место у 1 больного (3%). Динамика флуоресцентной картины после неоадьювантного лечения может свидетельствовать об уменьшении явлений инфильтрации (лимфангита) вокруг первичной опухоли, что и является основной целью неоадьювантного лечения. Более того, изменения со стороны эндобронхиальной картины в результате неоадьювантного лечения были более выражены, чем при рентгенологическим контроле, что можно объяснить локальным воздействием фотодинамической терапии на стенку бронха и трахеи.

Оперативному вмешательству подвергнуты 32 пациента (84%). У двух из них (5%) операции носили эксплоративный характер, в обоих случаях имело место опухолевое поражение общего ствола легочной артерии. Резекции легких проведены 30 больным из 32 (94%). Таким образом, резектабельность составила 79% от всех больных, включенных в исследование (Таблица 8).

Таблица 8 - Объем резекций легкого

| Операции                                     | n=32     |
|--|----------|
| Эксплоративная                               | 2 (6%)   |
| Пневмонэктомия справа                        | 8 (25%)  |
| Пневмонэктомия с резекцией бифуркации трахеи | 2 (6%)   |
| Пневмонэктомия слева                         | 10 (31%) |
| Нижняя билобэктомия                          | 2 (6%)   |
| Лобэктомия                                   | 2 (6%)   |
| Лобэктомия с резекцией главного бронха       | 2 (6%)   |
| Лобэктомия с резекцией промежуточного бронха | 2 (6%)   |
| Лобэктомия с резекцией легочной артерии      | 2 (6%)   |

Существенных интраоперационных осложнений отмечено не было. Технических особенностей выполнения операций, связанных с проведением неоадьювантной химиотерапии или эндобронхиальной ФДТ, также не было.

По результатам патоморфологического исследования операции расценены как радикальные у 26 (87%) больных, как микроскопически нерадикальные – у 4 (13%) (во всех наблюдениях выявлены комплексы опухолевых клеток в крае резекции бронха). Метастазы в лимфатических узлах отсутствовали у 18 пациентов (60%), поражение узлов уровня N1 имело место у 10 больных (33%), уровня N2 – у 2 больных (4%). У 6 больных (20%) наблюдалась I степень лекарственного патоморфоза, у 9 больных (30%) - II степень, у 12 больных (40%) – III степень, у 3 больных (10%) – IV степень лечебного патоморфоза.

Осложнения в раннем послеоперационном периоде развились в трех наблюдениях (10%), во всех случаях имели место аритмии. Один пациент после правосторонней пневмонэктомии с резекцией бифуркации трахеи погиб на 21 сутки после операции по причине несостоятельности трахеобронхиального анастомоза и развившегося желудочного кровотечения.

В отдаленном периоде в течение всего периода наблюдения ни у одного пациента не отмечено развитие локального рецидива. Годичная, трехлетняя и пятилетняя выживаемость всех больных, включенных в исследование, составила 89%, 71% и 57%, соответственно; оперированных больных - 95%, 88% и 68%, соответственно (Рисунок 20).

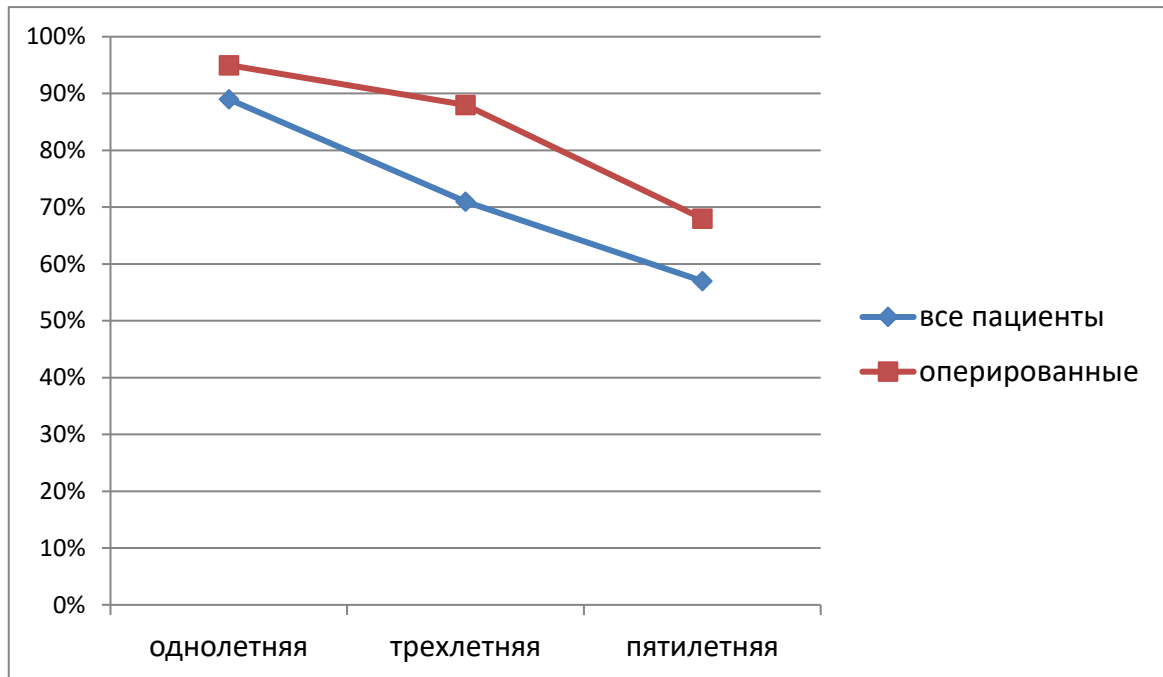


Рисунок 20 – Выживаемость больных

В настоящем исследовании изучены возможности применения ФДТ и ФД как этапа комбинированного лечения, целью которого явилось бы радикальное лечение рака легкого. Большая часть больных НМКРЛ характеризуются нерезектабельной местнораспространенной опухолью или не могут перенести хирургическое вмешательство по функциональным соображениям (то есть, являются неоперабельными) [18]. Теоретически, часть таких больных могла бы быть успешно оперирована после соответствующей предоперационной подготовки, например, путем уменьшения необходимого объема резекции в случае непереносимости пневмонэктомии. В настоящей работе оценивается возможность расширения контингента оперируемых больных НМКРЛ путем применения химиотерапии и ФДТ на предоперационном и интраоперационном этапе в качестве компонента комбинированного лечения. При этом принципиально важным является достижение радикальности хирургического вмешательства несмотря на уменьшение объема удаляемой части легкого.

Представленный опыт комплексного лечения местнораспространенного рака легкого, включающего полихимиотерапию, предоперационную ФДТ и ФД и интраоперационную ФДТ, свидетельствует о безопасности и эффективности

предложенной лечебной методики. Комбинация неоадьювантной полихимиотерапии и эндобронхальной ФДТ позволила достичь полный регресс со стороны экзофитной части опухоли у 30% больных.

#### **4.3 Клинические результаты фотодинамической терапии при R1 резекциях с положительным краем резекции бронха**

Нерадикальные операции при немелкоклеточном раке легкого (НМКРЛ) наблюдаются примерно в 2-40 % хирургических вмешательств, причем частота таких резекций возрастает в зависимости от распространенности онкологического процесса на момент проведения операции [180, 152, 115]. Согласно современной классификации, степень радикализма резекционной операции определяется как R0 при полном удалении всей опухоли, R2 при заведомой невозможности удаления всей опухолевой ткани и оставлении части опухоли в организме больного. Наиболее противоречивая ситуация имеет место в случаях, когда в процессе проведения операции макроскопически удалена вся опухолевая ткань, однако при плановом морфологическом исследовании удаленного препарата в крае резекции выявляются комплексы опухолевых клеток или наиболее удаленный от первичной опухоли лимфатический узел содержит метастазы. Такой вариант нерадикальности резекции легкого классифицируется как R1 и наиболее часто встречается при исследовании края резекции бронха (так называемый «положительный край резекции бронха», ПКРБ) [115, 159, 94]. Однозначных рекомендаций о послеоперационном лечении таких больных нет. Одни авторы предлагают проводить ререзекцию культи пораженного бронха [86, 93], по мнению других оптимальным является проведение лучевой или химиолучевой терапии [183, 134]. Существует также мнение об отсутствии необходимости проводить какое-либо активное лечение и ограничиться наблюдением таких больных, так как не у всех пациентов после R1 резекций в будущем развивается клинический значимый рецидив [124, 76].

С 2008 года в нашей клинике принят протокол лечения больных раком легкого после R1 резекций с ПКРБ с помощью эндобронхальной ФДТ.



Цель исследования – оценить эффективность эндобронхиальной ФДТ в профилактике рецидивов НМКРЛ после R1 резекций при наличии ПКРБ.

С 2008 по 2017 годы под наблюдением авторов находился 21 больной НМКРЛ после R1 резекций с ПКРБ. Отдаленные результаты лечения оказались доступны у 17 пациентов, которые и явились материалом настоящего исследования. 10 больных (59 %) оперированы в нашей клинике, еще 7 (41 %) - в других стационарах. Средний возраст пациентов составил 62 года (от 47 до 81), 12 мужчин (57 %) и 5 женщин (43 %).

В качестве адьювантного лечения проводилась только эндобронхиальная ФДТ. Сеанс эндоскопического низкоинтенсивного лазерного облучения опухоли проводили по традиционной методике через два-три часа после начала инфузии сенсибилизатора. С целью повышения диагностической информативности бронхоскопии непосредственно перед сеансом ФДТ проводилась флуоресцентная диагностика возможного накопления ФС в зоне облучения по разработанной авторами методике [53]. Во всех наблюдениях проводился только один сеанс ФДТ.

Непосредственно перед проведением первого сеанса ФДТ выполнялась компьютерная томография грудной клетки с контрастным усилением, ни в одном наблюдении данных за наличие опухолевой ткани в области резекции легкого не получено. Клинически значимых опухолевых очагов в плевральной полости или в других органах на момент начала адьювантного лечения также не определялось.

Контрольная бронхоскопия проводилась через 3 недели, а в последующем бронхоскопия и компьютерная томографии грудной клетки выполнялись через каждые 6 месяцев в течение первых двух лет, затем - ежегодно.

В исследование включены 17 больных. Характеристика пациентов представлена в таблице 9.

Таблица 9 - Характеристика больных, включенных в исследование

| Заболевание          | Показатель (n=17) |
|----------------------|-------------------|
| Средний возраст, лет | 62±5(от 47 до 81) |
| Вариант НМКРЛ        |                   |
| Плоскоклеточный      | 10 (59%)          |
| Аденокарцинома       | 5 (29%)           |
| атипичный карциноид  | 2 (12%)           |
| Стадия               |                   |
| I                    | 3 (18%)           |
| II                   | 6(35%)            |
| III                  | 8 (47%)           |
| Статус cN            |                   |
| N0                   | 6 (35%)           |
| N1                   | 4(24%)            |
| N2                   | 7 (41%)           |
| Характероопераций    |                   |
| пневмонэктомий       | 8 47%)            |
| лобэктомий           | 9 (53%)           |

Гистологическими вариантами рака легкого были: плоскоклеточный рак – у 10 пациентов (59 %), аденокарцинома – у 5 (29 %), атипичный карциноид – у 2 (12 %).

Стадия рака легкого: I стадия – 3 больных (18 %), II стадия – 6 больных (35 %), III стадия – 8 больных (47 %). Степень поражения регионарных лимфатических узлов клинически оценена как N0 у 6 больных (35 %), N1 – у 4 больных (24 %), N2 – у 7 больных (41 %).

У 6 пациентов из 17 (35 %) в предоперационном периоде проводилась химиотерапия, в результате которой достигнут частичный или полный регресс опухоли. Хирургическое вмешательство в этих наблюдениях выполнялись в

меньшем объеме, чем того требовала исходная распространенность опухоли. Так, у 4 пациентов (24 %) исходно, по результатам бронхоскопии, имело место распространение опухоли на нижние отделы трахеи, в результате неoadьювантного лечения опухолевые изменения в трахее не определялись, проведена левосторонняя (3) и правосторонняя (1) пневмонэктомия. Еще у 2 больных (12 %) с исходным поражением главного бронха и частичным регрессом после неoadьювантного лечения проведена бронхопластическая лобэктомия, так как функциональная возможность удаления всего легкого была сомнительной. У этих 6 больных резекция бронха осуществлена в зоне, исходно, до проведения неoadьювантной терапии, пораженной опухолью.

Выполнено 8 пневмонэктомий и 9 лобэктомий.

Интраоперационное срочное гистологическое исследование проведено в 4 наблюдениях из 17 (24%), опухолевые клетки в крае резекции бронха не обнаружены.

Плановое морфологическое исследование выявило наличие комплексов опухолевых клеток в слизистой по краю резекции бронха в 5 (29 %) наблюдениях (Ca in situ - 2, инвазивный рак - 3), в перибронхиальных тканях – у 5 больных (29 %), в лимфатических сосудах по краю резекции - у 7 больных (41 %).

По результатам патоморфологического исследования удаленного препарата степень поражения регионарных лимфатических узлов расценена как N0 у 11 больных (65 %), N1 – у 2 больных (12 %), N2 – у 4 больных (23 %). Наличие комплексов опухолевых клеток в лимфатических сосудах по краю резекции бронха имело место только у больных со степенью pN1-2 лимфогенного распространения опухоли (рисунок 21).

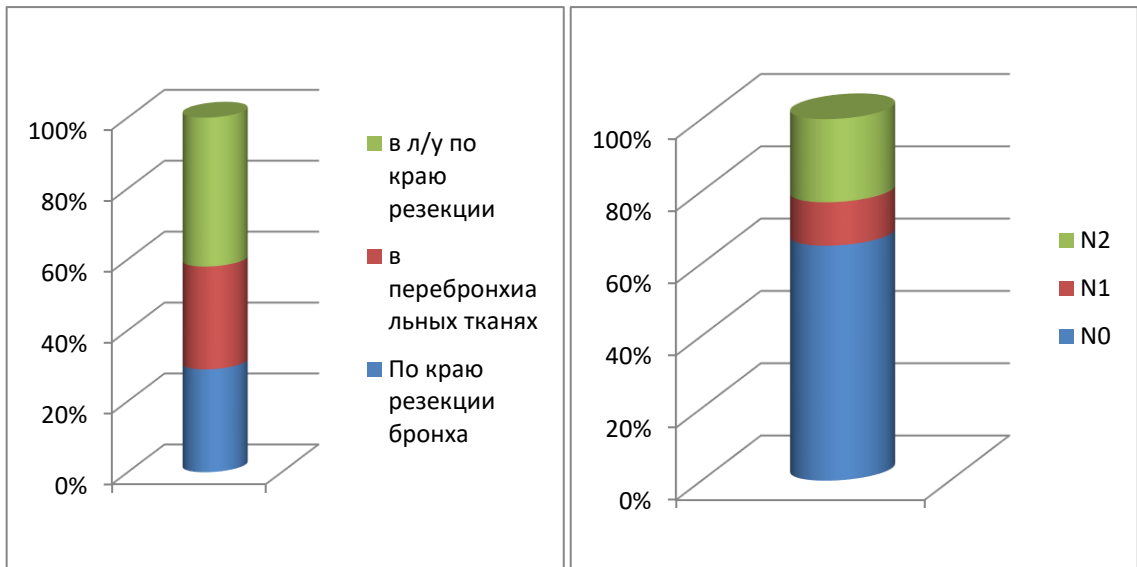


Рисунок 21 – Результаты патоморфологического исследования

Интервал от момента проведения операции до начала адьювантного лечения составлял от 9 суток до 30 суток (в среднем, 21 сутки). ФДТ подвергались культи главных бронхов в 7 наблюдениях (41 %), долевых бронхов – в 9 наблюдениях (53 %), зона трахеобронхиальной анастомоза – в 1 наблюдении (6 %). Продолжительность сеанса ФДТ в большинстве наблюдений не превышала 15 минут.

При проведении бронхоскопии макроскопических опухолевых изменений в области культи бронха не выявлено, ни у одного больного не отмечено наличие участков хлориновой флуоресценции в области культи бронха. Каких-либо осложнений со стороны культи бронха после ФДТ не отмечено.

При осмотре больных в отдаленные сроки после операции наличие рецидива в зоне культи бронха установлено у 1 больного (6 %) – через 2 года после пневмонэктомии справа. У него же выявлен одиночный отдаленный метастаз. Проводилась эндобронхиальная ФДТ и химиотерапия, пациент жив в течение 6 лет после операции. Еще у 3 больных (18 %) отмечено развитие локального рецидива (в легком – 1, в лимфатических узлах – 2), у 4 (24 %) – отдаленных метастазов. Развитие новой злокачественной опухоли имело место у 2 больных (рак пищевода – 1, рак контрлатерального легкого – 1). Общая частота развития рецидивов – 47 %. 1 год прожили 16 больных (94%), 5 лет - 12

пациентов (71 %). 5-летняя выживаемость больных, получавших неoadьювантную химиотерапию, составила 75 %.

При анализе выживаемости в зависимости от характера поражения края резекции бронха и других патоморфологических данных существенно хуже оказались отдаленные результаты у больных с наличием опухолевых комплексов в лимфатических сосудах по краю резекции бронха. 5-летняя выживаемость таких больных после операции составила 29 %, а больных с ПКРБ без комплексов опухолевых клеток в лимфатических сосудах – 90 % ( $p=0,04$ ). 5-лет не прожил ни один больной с pN2, в то время как среди больных pN0-1 5-летняя выживаемость составила 77 % ( $p=0,01$ ). Из 5 пациентов аденокарциномой легкого 5-лет прожил лишь 1 (20 %), в то время 5-летняя выживаемость больных плоскоклеточным раком составила 90 %, больных ( $p=0,03$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Центральный рак легкого - серьезная проблема клинической онкологии. Одним из возможных путей ее решения является развитие внутрипросветных эндоскопических операций, при которых лечебные процедуры выполняются под контролем средств, обеспечивающих четкую визуализацию опухолевого участка.

В последние годы в нашей стране и в мире ФДТ злокачественных опухолей становится все более популярной. Нередки клинические ситуации, когда проведение хирургического вмешательства или лучевой терапии невыполнимо; именно ФДТ в таких наблюдениях может достичь хорошего лечебного эффекта, ограниченного не только купированием симптомов. ФДТ – малоинвазивный метод, что позволяет применять его и у больных, находящихся в относительно тяжелом состоянии. Применительно к раку легкого в большинстве наблюдений ФДТ как самостоятельный метод лечения может быть показана только с паллиативной целью. Но в сочетании с другими методами лечения вполне можно достичь и излечения или существенного пролонгирования жизни. Но, к сожалению, эффект ФДТ достижим не у всех больных, и связано это, в первую очередь, с особенностями той или иной опухоли, со степенью пролиферации, интенсивностью кровоснабжения, потребления кислорода, метаболических процессов и др. Именно биологические особенности опухолевой ткани, а не только размер и протяженность опухолевого стеноза трахеи или бронха является определяющим в наличии или отсутствии эффекта [158, 105, 132]. И оценка интенсивности накопления ФС, отчасти отражающая эти биологические особенности, может существенно влиять как на прогнозирование лечебного эффекта, так и на изменение методики фотодинамического облучения.

Ранее ФДТ и флуоресцентная диагностика применялись в онкологии, но как независимые друг от друга процедуры с разными целями. Впервые применительно к раку легкого и эндобронхиальному лечению их объединили в одну методику японские авторы [170], которые путем флуоресцентной

диагностики уточняли границы опухолевого роста, а тазем подвергали опухоль лечебному облучению [121]. Такая методика позволила точнее проводить фотодинамическое воздействие, но не влияла сама по себе на особенности это облучения, которая оставалась стандартной, не учитывающей особенности конкретной опухоли.

Усовершенствованный нами способ позволяет, как определить точную зону облучения бронхиального дерева, так и контролировать дозировку световой энергии [51, 53, 4]. В описанной в главе 3 системе эта задача решается путем совместного использования двух оптических методов: флуоресцентной диагностики и фотодинамической. С целью флуоресцентной диагностики применяется излучение длиной волны около 400 нм, а с целью лечебного – около 660 нм. Обе эти длины волны соответствуют пику поглощения света применяемым фотосенсибилизатором хлоринового ряда. Причем лечебное облучение проводится в существенной большей дозе и с большей мощностью, а также проникает в патологическую ткань на гораздо большую глубину.

Разработанная нами система представляет собой лазерную видеоэндоскопическую мультимодальную платформу с использованием бронхофиброскопа. Оптические параметры системы оптимизированы для использования фотосенсибилизаторов на основе хлорина еб. Наблюдение в отраженном белом свете осуществляется с помощью RGB лазеров. Доставка всех диагностических излучений в осветительный канал эндоскопа производится по одному и тому же моноволокну. Видеосистема для одновременной визуализации обычной картины и картины в свете флуоресценции в реальном времени построена на основе общей телевизионной камеры. В приборе, в основном, используются стандартные модули, что способствует снижению его стоимости и упрощает модернизацию. На экране компьютера формируется двухоконная телевизионная картина, в которой кадры, полученные в свете флуоресценции и в отраженном свете, размещаются рядом.

Частью нашего исследования явилась оценка эффективности предлагаемой новой методики ФДТ под флуоресцентным контролем с помощью разработанного

нами аппаратного комплекса. При сравнении в группе больных, у которых ФДТ проводилась по стандартной методике, без флуоресцентной диагностики, оказалось, что применение флуоресцентной диагностики в реальном времени в процессе проведения ФДТ позволило существенно изменить методику облучения. Так, общая длительность процедуры у больных, которым проводилась стандартная ФДТ, оказалась примерно на 50% больше, а длительность облучения – почти в 2 раза больше. При этом, не отмечено снижения эффекта ФДТ при контрольной бронхоскопии, проводимой через 21 день после ФДТ. Более того, у 2 больных вообще не отмечено флуоресценции в зоне опухоли, что свидетельствовало об отсутствии накопления ФС в опухолевой ткани в значимом количестве, что делало проведение ФДТ бесперспективным. А у части больных при проведении флуоресцентной диагностики на слизистой трахеобронхиального дерева выявлены опухолевые очаги в отдалении от первичной опухоли, не диагностированные в белом свете. Все это свидетельствует о важной роли флуоресцентной диагностики в процессе проведения эндобронхиальной ФДТ.

Разработанный новый подход к проведению эндобронхиальной ФДТ под флуоресцентным контролем мы назвали «фотодинамической тераностикой», так как одна проводимая процедура включает в себе и диагностический и лечебный этап. При этом проведение лечебного воздействия существенным образом зависит от получаемой в реальном времени диагностической информации.

Собственный опыт применения эндобронхиальной ФДТ с целью паллиативного лечения центрального рака легкого достаточно большой [37, 19]. В настоящем исследовании изучены возможности применения ФДТ и как этапа комбинированного лечения, целью которого явилось бы радикальное лечение рака легкого [91]. Мы оценили возможность расширения контингента оперируемых больных НМКРЛ путем применения химиотерапии и ФДТ на предоперационном и интраоперационном этапе в качестве компонента комбинированного лечения. При этом принципиально важным является достижение радикальности хирургического вмешательства несмотря на уменьшение объема удаляемой части легкого



В исследование эффективности применения ФД теаностики в неоадьювантном режиме включено 38 больных. По результатам первичного клинико-инструментального обследования 19 больных исходно расценены как неоперабельные, 19 – как нерезектабельные.

Причинами неоперабельности были следующие:

3 больных - ранее перенесли лобэктомии слева (непереносимость пневмонэктомии справа)

7 больных - выраженные эмфизематозные изменения в контрлатеральном легком в сочетании со снижением ОФВ1 ниже 50% от должного (непереносимость пневмонэктомии)

5 больных - снижение фракции выброса левого желудочка ниже 35% (непереносимость пневмонэктомии)

4 больных – низкий уровень ОФВ1, DLCO и  $\max\dot{V}O_2$ . Средний уровень ОФВ1 составил -  $49\pm 18\%$  от должного (от 21% до 77%).

У всех нерезектабельных больных имело место поражение опухолевое поражение трахеи.

Для проведения неоадьювантной химиотерапии использовались платиносодержащие схемы. За 24-48 часов перед каждым курсом химиотерапии проводился сеанс эндобронхиальной фотодинамической теаностики. Проводилось от 2 до 6 циклов химиотерапии и эндобронхиальной ФДТ с оценкой эффекта каждые 3-6 недель. При наличии регресса, позволяющего рассматривать возможность проведения радикального хирургического вмешательства, неоадьювантное лечение прекращалось, и пациент оперировался.

Во всех 38 наблюдениях во время бронхоскопии отмечено наличие интенсивной флуоресценции в зоне опухолевого роста, причем зона флуоресцентного свечения точно соответствовала границам экзофитной части опухоли, определяемым при рутинном исследовании в белом свете, лишь у 5 больных (13%). В 28 наблюдениях (74%) имело место свечение вокруг опухолевого роста, в пределах 1-1,5 см от границ опухоли в белом свете. У 12 пациентов (32%) распространение флуоресценции фиксировалось на

вышележащие отделы бронхиального дерева, например, флуоресценция отмечена в области бифуркации трахеи при проксимальной границе опухоли в белом свете на уровне дистальных отделом правого главного бронха.

В результате проведения неоадьювантного лечения рентгенологический регресс (RECIST 1.1) удалось достичь у 33 больных (87%), а эндобронхиальный регресс – у 34 больных (89%). В оперативном лечении отказано 6 больным (16%) – трем по причине прогрессирования заболевания, и еще трем вследствие отсутствия положительной динамики (все трое расценивались как неоперабельные в аспекте пневмонэктомии).

После неоадьювантного лечения при проведении бронхоскопии флуоресценция в зоне опухоли зафиксирована у всех больных, у которых имели место признаки центральной опухоли в белом свете (29 пациентов). Зон флуоресценции в отдалении от основного очага не отмечено ни у одного пациента. Флуоресценция по периметру выявляемой в белом свете опухоли диагностирована лишь у 3 больных (10%), а флуоресценция в вышележащих участках бронхиального дерева имела место у 1 больного (3%). Динамика флуоресцентной картины после неоадьювантного лечения может свидетельствовать об уменьшении явлений инфильтрации (лимфангита) вокруг первичной опухоли, что и является основной целью неоадьювантного лечения. Более того, изменения со стороны эндобронхиальной картины в результате неоадьювантного лечения были более выражены, чем при рентгенологическим контроле, что можно объяснить локальным воздействием фотодинамической терапии на стенку бронха и трахеи.

Оперативному вмешательству подвергнуты 32 пациента (84%). У двух из них (6%) операции носили эксплоративный характер, в обоих случаях имело место опухолевое поражение общего ствола легочной артерии. Резекции легких проведены 30 больным из 32 (94%). Таким образом, резектабельность составила 79% от всех больных, включенных в исследование.

По результатам патоморфологического исследования операции расценены как радикальные у 26 (87%) больных, как микроскопически нерадикальные – у 4

(13%) (во всех наблюдениях выявлены комплексы опухолевых клеток в крае резекции бронха). Метастазы в лимфатических узлах отсутствовали у 18 пациентов (60%), поражение узлов уровня N1 имело место у 10 больных (33%), уровня N2 – у 2 больных (4%).

Осложнения в раннем послеоперационном периоде развились в трех наблюдениях (10%), во всех случаях имели место аритмии. Один пациент после правосторонней пневмонэктомии с резекцией бифуркации трахеи погиб на 21 сутки после операции по причине несостоятельности трахеобронхиального анастомоза и развившегося желудочного кровотечения.

В отдаленном периоде в течение всего периода наблюдения ни у одного пациента не отмечено развитие локального рецидива. Годичная, трехлетняя и пятилетняя выживаемость всех больных, включенных в исследование, составила 89%, 61% и 37%, соответственно; оперированных больных - 95%, 78% и 48%, соответственно.

Представленный опыт комплексного лечения местнораспространенного рака легкого, включающего полихимиотерапию, пред- и интраоперационную ФДТ, свидетельствует о безопасности и эффективности предложенной лечебной методики. Комбинация неoadьювантной полихимиотерапии и эндобронхальной ФДТ позволила достичь полного регресса со стороны экзофитной части опухоли у 30% больных.

Под наблюдением авторов находились 17 пациентов НМКРЛ после микроскопически нерадикальных (R1) резекций с наличием комплексов атипичных клеток в крае резекции бронха, у которых оказались доступны отдаленные результаты лечения. В качестве адьювантного лечения проводилась только эндобронхиальная ФДТ. Стадия рака легкого: I стадия – 3 больных (18 %), II стадия – 6 больных (35 %), III стадия – 8 больных (47 %). Выполнено 8 пневмонэктомий и 9 лобэктомий.

Плановое морфологическое исследование выявило наличие комплексов опухолевых клеток в слизистой по краю резекции бронха в 5 (29 %) наблюдениях (Ca in situ - 2, инвазивный рак - 3), в перибронхиальных тканях – у 5 больных (29

%), в лимфатических сосудах по краю резекции - у 7 больных (41%). По результатам патоморфологического исследования удаленного препарата степень поражения регионарных лимфатических узлов расценена как N0 у 11 больных (65 %), N1 – у 2 больных (12 %), N2 – у 4 больных (23 %). Наличие комплексов опухолевых клеток в лимфатических сосудах по краю резекции бронха имело место только у больных со степенью pN1-2 лимфогенного распространения опухоли.

Интервал от момента проведения операции до начала адьювантного лечения составлял от 9 суток до 30 суток (в среднем, 21 сутки). ФДТ подвергались культы главных бронхов в 7 наблюдениях (41 %), долевых бронхов – в 9 наблюдениях (53 %), зона трахеобронхиального анастомоза – в 1 наблюдении (6 %). Продолжительность сеанса ФДТ в большинстве наблюдений не превышала 15 минут.

При проведении бронхоскопии макроскопических опухолевых изменений в области культы бронха не выявлено, ни у одного больного не отмечено наличие участков флуоресценции в области культы бронха. Каких-либо осложнений со стороны культы бронха после ФДТ не отмечено.

При осмотре больных в отдаленные сроки после операции наличие рецидива в зоне культы бронха установлено у 1 больного (6 %) – через 2 года после пневмонэктомии справа. У него же выявлен одиночный отдаленный метастаз. Проводилась эндобронхиальная ФДТ и химиотерапия, пациент жив в течение 6 лет после операции. Еще у 3 больных (18 %) отмечено развитие локального рецидива (в легком – 1, в лимфатических узлах – 2), у 4 (24 %) – отдаленных метастазов. Развитие новой злокачественной опухоли имело место у 2 больных (рак пищевода – 1, рак контрлатерального легкого – 1). Общая частота развития рецидивов – 47 %. 1 год прожили 16 больных (94%), 5 лет - 12 пациентов (71 %).

При анализе выживаемости в зависимости от характера поражения края резекции бронха и других патоморфологических данных существенно хуже оказались отдаленные результаты у больных с наличием опухолевых комплексов

в лимфатических сосудах по краю резекции бронха. 5-летняя выживаемость таких больных после операции составила 29 %, а больных с ПКРБ без комплексов опухолевых клеток в лимфатических сосудах – 90 % ( $p=0,04$ ). 5-лет не прожил ни один больной с  $pN2$ , в то время как среди больных  $pN0-1$  5-летняя выживаемость составила 77 % ( $p=0,01$ ).

Частота всех R1 резекций с ПКРБ при НМКРЛ составляет 1.2–17 % [1]. Согласно существующим классификациям, выделяют несколько вариантов микроскопически нерадикальных резекций легкого – наличие комплексов опухолевых клеток в крае резекции бронха, в легочной паренхиме, в кровеносных сосудах, в окружающих легкое структурах и органах, в лимфатических узлах. Нет сомнений, что отдаленные результаты после R1 резекций хуже, чем после радикального удаления опухоли, при этом при ПКРБ выживаемость несколько лучше, чем при других вариантах R1 [115, 159, 94].

Некоторые исследователи связывают более низкую выживаемость при наличии ПКРБ не с самой нерадикальностью операции, а с большей стадией опухолевого поражения на момент хирургического вмешательства у таких больных [150]. В то же время, в ряде исследований, ПКРБ встречается и у больных с I стадией НМКРЛ [150].

Полностью избежать ПКРБ и наличия клинически значимых рецидивов в культе бронха не представляется возможным. Можно считать доказанным, что чем ближе край резекции к опухоли, тем выше частота нерадикальных резекций и локальных рецидивов. Но даже и достаточное расстояние от опухоли не гарантирует от рецидива в культе [176].

Более того, от считавшегося необходимым срочного гистологического исследование края резекции бронха как способа профилактики нерадикальных резекций при раке легкого многие хирурги отказываются в связи с недостаточно высокой информативностью такого исследования. Так, из 11 больных с ПКРБ не выявлено опухоли по краю резекции при срочном исследовании у 9 (82 %) . По мнению Owen R. M. et al. пришли к заключению, что практическая значимость

срочного исследования низка, так как результат такого исследования очень редко влияет на объем операции [138].

Стандартов лечения больных после R1 резекций легких на сегодняшний день не существует. Некоторые авторы рекомендуют проведение химиолучевой терапии [97], хотя сами же пишут о большом числе осложнений после лучевой терапии, в том числе и летальных. Другие – повторную операцию с ререзекцией культи, если это технически и функционально возможно [137, 92], что имеет место далеко не всегда.

По данным Massard G. et al. из 40 больных, перенесших R1 резекцию с ПКРБ, рецидив развился в 60 % наблюдений (24 больных), а только локальный рецидив – у 4 больных (10 %). Основным методом адъювантной терапии была лучевая терапия, которая сама по себе вызвала летальные осложнения у 6 больных [123, 124].

Частота локальных рецидивов в культе существенно возрастает при перибронхиальном поражении. В исследовании Eric Vallières et al. [76] частота *Ca in situ* в ПКРБ составила 2.4 %, выживаемость при этом мало зависела от наличия такого очага, но была существенно хуже при перибронхиальном поражении культи бронха или поражении лимфатических сосудов. Поэтому, некоторые авторы при наличии *Ca in situ* в крае резекции бронха предлагают простое наблюдение без проведения адъювантного лечения [116]. В нашем материале большинство больных характеризовались местнораспространенным НМКРЛ, *Ca in situ* имел место только в 2 наблюдениях из 17 (12 %), прогноз у остальных 15 пациентов был существенно хуже, что определяло необходимость проведения адъювантного лечения.

Эндобронхиальную ФДТ в качестве неоадъювантного лечения после R1 резекции предлагают несколько исследовательских коллективов [125, 6]. В частности, ФДТ при ПКРБ (только *Ca in situ*) проведена 18 больным I стадией НМКРЛ, локальный контроль достигнут в отдаленные сроки в 91 % наблюдений. В нашем исследовании у 6 больных с ПКРБ бронх пересекался в зоне, исходно, до проведения предоперационной химиотерапии, вовлеченной в опухоль. Вероятно,

системное лечение, позволяющее в ряде наблюдений уменьшить степень лимфогенного распространения опухоли, не достаточно само по себе для полной элиминации опухолевых клеток из бронхиальной стенки. А внедрение в клиническую практику фотосенсибилизаторов второго поколения позволяет рассчитывать на повышение эффективности лечения больных с ПКРБ, так как длина волны лазерного излучения, соответствующая спектру поглощения хлорина е6, отличается относительно высокой проникающей способностью в ткани (до 10-15 мм).

## ВЫВОДЫ

1. Разработанная первая отечественная инструментальная система позволяет реализовать проведение эндобронхиальной фотодинамической терапии под флуоресцентным контролем с высоким качеством визуализации. Такой подход может рассматриваться как вариант тераностики.

2. Под флуоресцентным контролем у части больных целесообразно проводить два сеанса эндобронхиальной ФДТ с интервалом не более 24 часов после начала инфузии.

3. Проведение эндобронхиальной ФДТ под флуоресцентным контролем в реальном времени способствует достоверному уменьшению длительности фотодинамического облучения на 220сек (32%), дозу энергии на 55Дж/см<sup>2</sup> (36%) при сопоставимой эффективности, а также выделить группу больных с отсутствием флуоресценции опухолевой ткани, которым проведение ФДТ нецелесообразно.

4. Фотодинамическая тераностика играет важную роль как компонент неоадьювантного лечения НМКРЛ, а также для оценки эффективности проводимого лечения и позволила достичь полного и частичного эндобронхиальногорегресса у 89% пациентов, исходно расцененных как нерезектабельные и неоперабельные, резекции легких произведены 79% больных, радикальные – 72% больных.

5. Применение эндобронхиальной ФДТ в качестве адьювантного лечения у больных НМКРЛ, перенесших R1 резекцию с положительным краем резекции бронха, характеризуется хорошими непосредственными и отдаленными результатами.



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Эндобронхиальную ФДТ рекомендовано проводить под флуоресцентным контролем в реальном времени, позволяющим уточнить границы опухолевого роста и модифицировать методику лечебного облучения в зависимости от динамики интенсивности флуоресценции в опухолевой ткани.

2. Эффективность неоадьювантного лечения НМКРЛ может быть оценена путем флуоресцентной диагностики, особенно в аспекте распространения опухоли на проксимальные сегменты трахеобронхиального дерева.

3. Пациентам после хирургического лечения НМКРЛ с наличием комплексов опухолевых клеток в крае резекции бронха показано проведение эндобронхиальной ФДТ культи бронха.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

|      |                                      |
|------|--------------------------------------|
| НМРЛ | – немелкоклеточный рак легкого       |
| ФДТ  | – фотодинамическая терапия           |
| ФС   | – фотосенсибилизатор                 |
| АФК  | – активные формы кислорода           |
| ROS  | – высокоактивные радикалы            |
| ЛПНП | – липопротеины низкой плотности      |
| НР   | – наночастицы                        |
| mAbs | – моноклональные антитела            |
| ЦРЛ  | – центральный рак легкого            |
| АФ   | – автофлуоресценцией                 |
| NADH | – пиридиннуклеотидом                 |
| ФР   | – флавопротеидом                     |
| ФДД  | – фотодинамическая диагностика       |
| УЗИ  | – ультразвуковое исследование        |
| ПКРБ | – положительный край резекции бронха |

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акопов, А.Л. Предоперационная эндобронхиальная фотодинамическая терапия улучшает резектабельность при изначально неоперабельном (неоперабельном) местно-распространенном немелкоклеточном раке легкого / А.Л. Акопов [и др.] // Фотодиагностика и фотодинамическая терапия. - 2014. - Т. 11. - №. 3. - С. 259-264.
2. Акопов, А.Л. Неoadьювантная и интраоперационная фотодинамическая терапия при местнораспространенном немелкоклеточном раке легкого / А.Л. Акопов [и др.] // Biomedical Photonics. – 2014. – №. 1. – С. 42-43.
3. Акопов, А.Л. Применение фотодинамической терапии с целью уменьшения объема резекции при немелкоклеточном раке легкого / А.Л. Акопов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2013. – Т. 59. – №. 6. – С. 740-744.
4. Акопов, А.Л. Уменьшение объема резекции у больных немелкоклеточным раком лёгкого после неoadьювантной химио-и фотодинамической терапии / А.Л. Акопов [и др.] // Вестник хирургии имени И.И. Грекова. – 2017. – Т. 176. – №. 5. - С38-42.
5. Акопов, А.Л. Фотодинамическая терапия в комбинированном лечении рака легкого III стадии / А.Л. Акопов [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2013. – №. 3. – С. 17-20.
6. Акопов, А.Л. Фотодинамическая терапия при R1 нерадикальных резекциях по поводу рака легкого / А.Л. Акопов [и др.] // Вестник хирургии имени ИИ Грекова. – 2019. – Т. 178. – №. 1. – С. 21-24.
7. Акопов, А.Л. Механизмы фотодинамического воздействия при лечении онкологических / А.Л. Акопов [и др.] // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. - 2015. - №4. - С. 9-16.
8. Акопов, А.Л. Эндобронхиальная фотодинамическая терапия под флуоресцентным контролем: фотодинамическая тераностика / А.Л. Акопов [и др.]

- др.] //Вестник хирургии имени ИИ Грекова. – 2016. – Т. 175. – №. 5. - С. 26-31.
9. Акопов, А.Л. Рандомизированное исследование эффективности предоперационной фотодинамической терапии при исходно нерезектабельном (неоперабельном) немелкоклеточном раке легкого / А.Л. Акопов, А.А. Русанов, В.П. Молодцова [и др.] //Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2013. – Т. 172. – № 1. – С. 20-24.
  10. Аксарин, А.А. Современные подходы к хирургическому лечению немелкоклеточного рака легкого / А. А. Аксарин, М.Д. Тер-Ованесов, Е.В. Билан //Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 2. – №. 25. – С. 54-57.
  11. Арсеньев, А.И. Роль трансторакальной биопсии в современной диагностике новообразований органов грудной полости / А.И. Арсеньев [и др.] //Вопросы онкологии. – 2014. – Т. 60. – №. 1. – С. 6-13.
  12. Арсеньев, А.И. Применение эндотрахеобронхиальной хирургии в сочетании с радиохимиотерапией при запущенном немелкоклеточном раке легкого / А.И. Арсеньев [и др.] // Вопросы онкологии. - 2007. - Т. 53. - №. 4. - С. 461-467.
  13. Арсеньев, А.И. Неинвазивные и инвазивные методы первичной и уточняющей диагностики рака легкого / А.И. Арсеньев, С.Н. Новиков, А.С. Барчук [и др.]//Вопросы онкологии. – 2020. – Т. 66. – №. 1. – С.42-49.
  14. Бабанов, С.А. Профессиональные злокачественные новообразования легких и других локализаций и потенциально опасные производственные канцерогены / С.А. Бабанов [и др.] //Consilium Medicum. – 2017. – Т. 19. – №. 11.
  15. Барчук, А.С. Стандарты лечения немелкоклеточного рака легкого / А.С. Барчук //Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2003. – Т. 14. – №. 1.- С.2.
  16. Бельтюкова, Д.М. Люминесценция водного раствора фотосенсибилизатора Радахлорин при возбуждении в полосах 405 и 605 nm / Д.М. Бельтюкова [и др.] //Оптика и спектроскопия. – 2018. – Т. 124. – №. 1. – С. 51-55.

17. Варданян, А.Г. Лазерный микроскоп для флуоресцентной спектроскопии с временным разрешением / А.Г. Варданян [и др.] //Квантовая электроника. – 1989. – Т. 16. – №. 9. – С. 1920-1924.
18. Гатьятов, Р.Р. Использование фотодинамической терапии в паллиативных целях при стенозирующем центральном раке легкого / Р.Р. Гатьятов, А.В. Важенин, С.В. Яйцев [и др.] //Уральский медицинский журнал. - 2015. - № 7 (130). - С. 56-60
19. Горбунков, С.Д. Паллиативная хирургическая коррекция дыхательной недостаточности при диффузной эмфиземе легких / С.Д. Горбунков [и др.] // Хирургия. Журнал им. НИ Пирогова. – 2017. – №. 10. – С. 52-56.
20. Добродеев, А.Ю. Результаты хирургического лечения немелкоклеточного рака легкого / А.Ю. Добродеев, А.А. Завьялов, С.А. Тузиков // Хирургия. Журнал им. НИ Пирогова. – 2016. – №. 3. – С. 26-31.
21. Довгальук, А. Рак легкого / А. Довгальук // Litres. - 2017. - С.17-32.
22. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). Под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. - ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва. - 2018. - С.3.
23. Кузнецов, В.В. Использование фотодинамической терапии в отечественной онкологии (обзор литературы) / В.В. Кузнецов //Research'n Practical Medicine Journal. – 2015. – Т. 2. – №. 4. - С.4.
24. Лавникова, Г.А. Гистологический метод количественной оценки терапевтического повреждения опухоли: Методические рекомендации / Г.А. Лавникова. - Москва, 1979. - 13 с.
25. Лазарев, А.Ф. Взаимосвязь маркеров апоптоза с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при немелкоклеточном раке легкого / А.Ф. Лазарев [и др.] //Российский онкологический журнал. – 2015. – Т. 20. – №. 4.- С.15.
26. Левченко, Е.В. Скрининг рака лёгкого / Е.В. Левченко //Практическая онкология. – 2010. – Т. 11. – №. 2-2010. – С. 88.

27. Лермонтова, С.А. Новые перспективные агенты оптической тераностики онкологических заболеваний на основе порфиразиновых макроциклов / С.А. Лермонтова [и др.] //Журнал общей химии. – 2017. – Т. 87. – №. 3. – С. 474-480.
28. Мерабишвили, В.М. Наблюдаемая и относительная выживаемость онкологических больных (популяционное исследование) / В.М. Мерабишвили //Российский онкологический журнал. – 2012. – №. 3. - С.10.
29. Мерабишвили, В.М Среднесрочный вариантный прогноз смертности населения России от злокачественных новообразований / В.М. Мерабишвили // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т. 18. – №. 4. – С. 5-12.
30. Папаян, Г.В. Возможности мультиспектральной аутофлуоресцентной визуализации злокачественных опухолей / Г.В. Папаян [и др.] // BiomedicalPhotonics. – 2014. – Т. 3. – №. 4. – С. 3-12.
31. Папаян, Г.В. Микрофлюориметр для медицинских исследований / Г.В. Папаян [и др.] // Оптико-механическая промышленность. – 1982. – №. 7. – С. 34-36.
32. Папаян, Г.В. Флуоресцентная эндоскопическая видеосистема/ Г.В. Папаян [и др.] // Оптический журнал. - 2006. - Т. 64. - №10. - С. 94-99.
33. Патент № 2015108226/14 РФ. Способ фотодинамической терапии центрального рака легкого и контроля ее эффективности / А. А. Русанов, Г. В. Папаян, Н. В. Казаков [и др.]. – 2016. – С8.
34. Пикин, О.В. Хирургическое лечение больных немелкоклеточным раком легкого с резектабельными отдаленными метастазами / О.В. Пикин [и др.] //Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2014. – Т. 3. – №. 4. – С. 11-18.
35. Пикин, О.В. Резекция культи бронха по поводу местного рецидива рака легкого / О.В. Пикин, А.Б. Рябов, А.Г. Васюкевич [и др.] //Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2020. – Т. 9. – №. 5. – С. 36-39.
36. Рагулин, Ю.А. Фотодинамическая терапия при раке легкого: основные показания к применению / Ю.А. Рагулин, В.Н. Галкин //Сибирский онкологический журнал. – 2016. – Т. 15. – №. 4.

37. Русанов, А.А. Паллиативная медицинская помощь при центральном раке легких / А.А. Русанов [и др.] //Паллиативная медицина и реабилитация. – 2014. – №. 3. – С. 16-17.
38. Патент на изобретение № 2015108226/14 (013178) РФ. Способ фотодинамической терапии центрального рака легкого и контроля ее эффективности / А.А. Русанов. – 2006. – С. 8.
39. Соколов, В.В. Эндобронхиальная хирургия и фотодинамическая терапия при первично-множественном раке легкого / В.В. Соколов [и др.] //Хирургия. Журналим. НИ Пирогова. – 2010. – №. 7. – С. 28-31.
40. Соколов, В. В. Фотодинамическая терапия больных центральным раком легкого / В. В. Соколов, Е. В. Филоненко, А. Х. Трахтенберг [и др.]. - М. : МНИОИ им. П. А. Герцена Росмедтехнологий. - 2008. – С. 15.
41. Стилиди, И.С. Хирургическое лечение рака легкого / И.С. Стилиди, М.Д. Тер-Ованесов //Практическая онкология. – 2000. – Т. 3. – С. 21-3.
42. Странадко, Е.Ф. Фотодинамическая терапия рака и неопухолевых заболеваний (основные этапы развития и современное состояние ФДТ в России) / Е.Ф. Странадко [и др.] //ООО «Maxliyo-shifo» &V. – 2018. – С. 4.
43. Телегина, Л.В. Применение внутрипросветной эндоскопической хирургии при нерезектабельной опухоли трахеи и бронха / Л.В. Телегина, С.С. Пирогов, Т.И.А. Тазабаев [и др.] //Онкология. Журнал им. ПА Герцена. – 2020. – Т. 9. – №. 5. – С. 40-44.
44. Филоненко, Е.В. Фотодинамическая терапия в клинической практике / Е.В. Филоненко, Л.Г. Серова //Biomedicalphotonics. – 2016. – Т. 5. – №. 2. – С. 26-37.
45. Филоненко, Е.В. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия в онкологии / Е.В. Филоненко //Наука в России. – 2012. – №. 4. – С. 4-9.
46. Черниченко, А.В. Эндобронхиальная лучевая терапия в лечении больных раком трахеи и легкого / А.В. Черниченко //Онкология. Журнал им. ПА Герцена. – 2017. – Т. 6. – №. 4. – С. 9-13.

47. Яицкий, Н.А. Комбинированное лечение первично-множественного метастатического рака легкого и толстой кишки / Н.А. Яицкий, А.Л. Акопов, А.А. Русанов [и др.] // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2009. - Т. 168, № 5. - С. 63-65.
48. Abrahamse, H. New photosensitizers for photodynamic therapy / H. Abrahamse, M.R. Hamblin //Biochemical Journal. – 2016. – Т. 473. – №. 4. – P. 347-364.
49. Agostinis, P. Photodynamic therapy of cancer: an update / P. Agostinis [et al.] //CA: a cancer journal for clinicians. – 2011. – Т. 61. – №. 4. – С. 250-281.
50. Akimoto, J. Photodynamic therapy for malignant brain tumors / J. Akimoto //Neurologia medico-chirurgica. – 2016. – P. 2015-0296.
51. Akopov, A. Preoperative endobronchial photodynamic therapy improves resectability in initially irresectable (inoperable) locally advanced non small cell lung cancer / A. Akopov [et al.] //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2014. – Т. 11. – №. 3. – P. 259-264.
52. Akopov, A.L. Application of photodynamic therapy to reduce the amount of resection for non-small cell lung cancer / A.L. Akopov [et al.] //Voprosy onkologii. – 2013. – Т. 59. – №. 6. – P. 740-744.
53. Akopov, A.L. Endobronchial photodynamic therapy under fluorescence control: photodynamictheranostics/ A.L. Akopov, A.A. Rusanov, G.V. Papayan [et al.] // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. - 2017. - Т. 19. - P. 73-77.
54. Alfano, R. Laser induced fluorescence spectroscopy from native cancerous and normal tissue [Электронный ресурс] / R. Alfano [et al.] //IEEE Journal of Quantum Electronics. – 1984. – Т. 20. – №. 12. – P. 1507-1511. – Режим доступа: doi: 10.1109/JQE.1984.1072322
55. Allison, R. Photodynamic therapy (PDT) for lung cancer / R. Allison [et al.] // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2011. – Т. 8. – №. 3. – P. 231-239.
56. Allison, R.R. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms / R.R. Allison, K. Moghissi //Clinical endoscopy. – 2013. – Т. 46. – №. 1. – P. 24.



57. Almerie, M.Q. Hotodynamic diagnosis for detection of peritoneal carcinomatosis / M.Q. Almerie [et al.] // Journal of surgical research. – 2015. – T. 195. – №. 1. – P. 175-187.
58. Asnaashari, M. A comparison of the antibacterial activity of the two methods of photodynamic therapy (using diode laser 810 nm and LED lamp 630 nm) against *Enterococcus faecalis* in extracted human anterior teeth / M. Asnaashari [et al.] // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2016. – T. 13. – P. 233-237.
59. Banerjee, A. Bronchoscopic photodynamic diagnosis and therapy for lung cancer / A. Banerjee, J. George // Current opinion in pulmonary medicine. – 2000. – T. 6. – №. 4. – P. 378-383.
60. Bock, G.R. Photosensitizing compounds: their chemistry, biology and clinical use/ G.R. Bock, S. Harnett // John Wiley & Sons. - 2008. – T. 146. - P. 134.
61. Brambilla, E. The new World Health Organization classification of lung tumours / E. Brambilla [et al.] // European respiratory journal. – 2001. – T. 18. – №. 6. – P. 1059-1068.
62. Brown, S.B. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment / S.B. Brown, E.A. Brown, I. Walker // The lancet oncology. – 2004. – T. 5. – №. 8. – P. 497-508.
63. Chaudhuri, A.A. Stereotactic ablative radiotherapy (SABR) for treatment of central and ultra-central lung tumors / A.A. Chaudhuri [et al.] // Lung Cancer. – 2015. – T. 89. – №. 1. – P. 50-56.
64. Chen, C. Recent advances in developing photosensitizers for photodynamic cancer therapy / C. Chen [et al.] // Combinatorial chemistry & high throughput screening. – 2017. – T. 20. – №. 5. – P. 414-422.
65. Conte, C. Photodynamic therapy for cancer: Principles, clinical applications, and nanotechnological approaches / C. Conte [et al.] // Nano-Oncologicals. – Springer, Cham, 2014. – P. 123-160.
66. Dąbrowski, J.M. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment / J.M. Dąbrowski, L.G. Arnaut // Photochemical & Photobiological Sciences. – 2015. – T. 14. – №. 10. – P. 1765-1780.

67. Dai, T. Photodynamic therapy for localized infections—state of the art / T. Dai, Y.Y. Huang, M.R. Hamblin //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2009. – T. 6. – №. 3-4. – P. 170-188.
68. Davanzo, N.N. Light source is critical to induce glioblastoma cell death by photodynamic therapy using chloro-aluminiumphthalocyanine albumin-based nanoparticles / N.N. Davanzo [et al.] //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2017. – T. 19. – P. 181-183.
69. Domagala, A. Inhibition of autophagy sensitizes cancer cells to photofrin-based photodynamic therapy / A. Domagala [et al.] //BMC cancer. – 2018. – T. 18. – №. 1. – P. 210.
70. Donohoe, C. Cell death in photodynamic therapy: From oxidative stress to anti-tumor immunity / C. Donohoe [et al.] //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer. – 2019.
71. Dos Santos, A.F. Photodynamic therapy in cancer treatment-an update review / A. F. Dos Santos [et al.] //J Cancer Metastasis Treat. – 2019. – T. 5. – №. 25. – P. 1-20.
72. Dougherty, T. J. Historical perspective in photodynamic therapy / T.J. Dougherty [et al.] //Photodynamic Therapy. – 1992. – P. 1-18.
73. Dougherty, T. J. Photodynamic therapy / T.J. Dougherty //Methods in porphyrin photosensitization. – Springer, Boston, MA, 1985. – C. 313-328.
74. Dougherty, T. J. Photodynamic therapy / T.J. Dougherty //Photochemistry and photobiology. – 1993. – T. 58. – №. 6. – P. 895-900.
75. Dougherty, T.J. Photodynamic therapy / T. J. Dougherty, S.L. Marcus //European Journal of Cancer. – 1992. – T. 28. – №. 10. – P. 1734-1742.
76. Vallières, E. Carcinoma In Situ at the Bronchial Resection Margin / E. Vallières, P. Van Houtte, D. William[et al.] // Journal of Thoracic Oncology. - 2011. - V. 6. - P. 1617-1623.
77. Fennell, D.A. Cisplatin in the modern era: The backbone of first-line chemotherapy for non-small cell lung cancer / D.A. Fennell [et al.] //Cancer treatment reviews. – 2016. – T. 44. – P. 42-50.

78. Figueira, J.A. Photodynamic therapy—critical literature review of existing protocols / J.A. Figueira, V.C. Veltrini //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2017. – T. 20. – P. 125-129.
79. Fischer, J.R. Docetaxel–carboplatin chemotherapy combined with cetuximab in patients with locally advanced or metastatic non small-cell lung cancer (NSCLC)—Results of the nonrandomised phase II study TaxErb / J.R. Fischer [et al.] //Lung Cancer. – 2012. – T. 75. – №. 3. – P. 348-352.
80. Freitag, L. Sequential photodynamic therapy (PDT) and high dose brachytherapy for endobronchial tumour control in patients with limited bronchogenic carcinoma / L. Freitag [et al.] //Thorax. – 2004. – T. 59. – №. 9. – P. 790-793.
81. Fulda, S. Cell death by autophagy: emerging molecular mechanisms and implications for cancer therapy / S. Fulda, D. Kögel //Oncogene. – 2015. – T. 34. – №. 40. – P. 5105.
82. Gandhi, L. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non–small-cell lung cancer / L. Gandhi [et al.] //New England journal of medicine. – 2018. – T. 378. – №. 22. – P. 2078-2092.
83. Garcia-Diaz, M. Use of fluorescent probes for ROS to tease apart Type I and Type II photochemical pathways in photodynamic therapy / M. Garcia-Diaz, Y.Y. Huang, M.R. Hamblin //Methods. – 2016. – T. 109. – P. 158-166.
84. Gazdar, A. F. Lung cancer in never-smokers: a different disease / A.F. Gazdar, C. Zhou //IASLC Thoracic Oncology. – Content Repository Only, 2018. – P. 23-29.
85. Gharibi, N. Exploiting the Cellular Redox-Control System for Activatable Photodynamic Therapy / N. Gharibi, K. Kailass, A.A. Beharry //ChemBioChem. – 2019. – T. 20. – №. 3. – P. 345-349.
86. Ghiribelli, C. Treatment and survival after lung resection for non-small cell lung cancer in patients with microscopic residual disease at the bronchial stump / C. Ghiribelli [et al.] //European journal of Cardio-thoracic Surgery. – 1999. – T. 16. – №. 5. – P. 555-559.

87. Goldar, S. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment / S. Goldar [et al.] //Asian Pac J Cancer Prev. – 2015. – Т. 16. – №. 6. – P. 2129-2144.
88. Goldstraw, P. The IASLC lung cancer staging project: proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for lung cancer / P. Goldstraw [et al.] //Journal of Thoracic Oncology. – 2016. – Т. 11. – №. 1. – P. 39-51.
89. Goldstraw, P. The 7th edition of TNM for lung and pleural tumours / P. Goldstraw //J Clin Anal Med. – 2012. – Т. 3. – №. 1. – P. 123-127.
90. Goodall, M.L. The autophagy machinery controls cell death switching between apoptosis and necroptosis / M.L. Goodall [et al.] // Developmental cell. – 2016. – Т. 37. – №. 4. – P. 337-349.
91. Grass, G.D. Анализ случаев рецидива после окончательной химиолучевой терапии у пациентов с местно-распространенным немелкоклеточным раком легкого / G.D.Grass [et al.] // Клинический рак легкого. - 2019. - Т. 20. - №. 1. - P. e1-e7.
92. Gridelli, C. Treatment of elderly patients with non–small-cell lung cancer: results of an international expert panel meeting of the Italian Association of Thoracic Oncology / C. Gridelli [et al.] //Clinical Lung Cancer. – 2015. – Т. 16. – №. 5. – P. 325-333.
93. Griess, D.F. Proximal extension of carcinoma of the lung in the brouchial wall / D.F. Griess //J Thorac Cardiovasc Surg. – 1945. – Т. 13. – P. 362-368.
94. Gunluoglu, M. Z. Bronchial Stump Recurrence after Complete Resection of Lung Cancer: Effect of the Distance between the Tumor and Bronchial Resection Margin / M.Z. Gunluoglu [et al.] //The Thoracic and cardiovascular surgeon. – 2018. – Т. 66. – №. 02. – P. 156-163.
95. Hamblin, M.R. Photosensitizers / M.R. Hamblin, C.P. Sabino //Photodynamic Therapy in Veterinary Medicine: From Basics to Clinical Practice. – Springer, Cham, 2016. – P. 25-43.

96. Hellmann, M.D. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden / M.D. Hellmann [et al.] //New England Journal of Medicine. – 2018. – T. 378. – №. 22. – P. 2093-2104.
97. Herbst, R.S. The biology and management of non-small cell lung cancer / R.S. Herbst, D. Morgensztern, C. Boshoff //Nature. – 2018. – T. 553. – №. 7689. – P. 446-454.
98. Herth, F. New aspects in early detection and local staging of early lung cancer / F. Herth, H.D. Becker //Lung cancer. – 2001. – T. 34. – P. 7-11.
99. Hopper, C. Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer / C. Hopper //The lancet oncology. – 2000. – T. 1. – №. 4. – P. 212-219.
100. Horne, Z.D. Stereotactic body radiation therapy for isolated hilar and mediastinal non-small cell lung cancers / Z.D. Horne [et al.] //Lung cancer. – 2018. – T. 115. – P. 1-4.
101. Ji, W. The effect of Radachlorin® PDT in advanced NSCLC: A pilot study / W. Ji [et al.] //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2013. – T. 10. – №. 2. – P. 120-126.
102. Kamrava, S.K. Evaluation of diagnostic values of photodynamic diagnosis in identifying the dermal and mucosal squamous cell carcinoma / S.K. Kamrava [et al.] //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2012. – T. 9. – №. 4. – P. 293-298.
103. Kim, D. Central lung cancer management: impact of bronchial resection margin length / D. Kim [et al.] //The Thoracic and cardiovascular surgeon. – 2015. – T. 63. – №. 07. – P. 583-588.
104. Kim, H. ROS-responsive activatable photosensitizing agent for imaging and photodynamic therapy of activated macrophages / H. Kim [et al.] //Theranostics. – 2014. – T. 4. – №. 1. – P. 1.
105. Kimura, M. Photodynamic therapy (PDT) with chemotherapy for advanced lung cancer with airway stenosis / M. Kimura [et al.] //International journal of molecular sciences. – 2015. – T. 16. – №. 10. – P. 25466-25475.

106. Kinoshita, T. Evaluation of novel imaging devices for nanoparticle-mediated fluorescence-guided lung tumor therapy / T. Kinoshita [et al.] //The Annals of thoracic surgery. – 2019. – T. 107. – №. 6. – P. 1613-1620.
107. Koff, J.L. A time to kill: targeting apoptosis in cancer / J.L. Koff, S. Ramachandiran, L. Bernal-Mizrachi //International journal of molecular sciences. – 2015. – T. 16. – №. 2. – P. 2942-2955.
108. Kou, J. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications / J. Kou, D. Dou, L. Yang //Oncotarget. – 2017. – T. 8. – №. 46. – P. 81591.
109. Kubiak, M. Cell reactions and immune responses to photodynamic therapy in oncology / M. Kubiak [et al.] //Advances in Hygiene & Experimental Medicine/ Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej. – 2016. – T. 70.
110. Kübler, A. Treatment of oral leukoplakia by topical application of 5-aminolevulinic acid / A. Kübler [et al.] //International journal of oral and maxillofacial surgery. – 1998. – T. 27. – №. 6. – P. 466-469.
111. Kwiatkowski, S. Photodynamic therapy–mechanisms, photosensitizers and combinations / S. Kwiatkowski [et al.] //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2018. – T. 106. – P. 1098-1107.
112. Kwint, M. Outcome of radical local treatment of non-small cell lung cancer patients with synchronous oligometastases / M. Kwint [et al.] //Lung Cancer. – 2017. – T. 112. – P. 134-139.
113. Lam, S. Detection and localization of early lung cancer by fluorescence bronchoscopy / S. Lam [et al.] //Cancer. – 2000. – T. 89. – №. S11. – P. 2468-2473.
114. Lammers, A. Association of early palliative care with chemotherapy intensity in patients with advanced stage lung Cancer: a national cohort study / A. Lammers [et al.] //Journal of Thoracic Oncology. – 2019. – T. 14. – №. 2. – P. 176-183.
115. Lee, G.D. Significance of R1-resection at the bronchial margin after surgery for non-small-cell lung cancer / G.D. Lee //European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. – 2016. – T. 51. – №. 1. – P. 176-181.

116. Lee, W. Limited resection for non-small cell lung cancer: observed local control with implantation of I-125 brachytherapy seeds / W. Lee [et al.] // The Annals of thoracic surgery. – 2003. – T. 75. – №. 1. – P. 237-242.
117. Leong, T.L. Preoperative staging by EBUS in cN0/N1 lung cancer: Systematic review and meta-analysis / T.L. Leong [et al.] //Journal of bronchology& interventional pulmonology. – 2019. – T. 26. – №. 3. – P. 155-165.
118. Leonhard, M. New incoherent autofluorescence/fluorescence system for early detection of lung cancer / M. Leonhard //Diagnostic and therapeutic endoscopy. – 1999. – T. 5. – №. 2. – P. 71-75.
119. Lipson, R.L. Photosensitivity and heat / R.L. Lipson, E.J. Baldes //Archives of dermatology. – 1960. – T. 82. – №. 4. – P. 517-520.
120. Lipson, R.L. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection / R.L. Lipson, E.J. Baldes, A.M. Olsen //Journal of the National Cancer Institute. – 1961. – T. 26. – №. 1. – P. 1-11.
121. Maehara, S. Combination effect of photodynamic therapy using NPe6 with pemetrexed for human malignant pleural mesothelioma cells / S. Maehara, J. Usuda, T. Ishizumi [et al.] //International journal of oncology. – 2015. – T. 46. – №. 2. – P. 741-749.
122. Mang, T.S. Lasers and light sources for PDT: past, present and future / T.S. Mang //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2004. – T. 1. – №. 1. – P. 43-48.
123. Massard, G. Bronchogenic cancer in the elderly: operative risk and long-term prognosis / G. Massard [et al.] //The Thoracic and cardiovascular surgeon. – 1996. – T. 44. – №. 01. – P. 40-45.
124. Massard, G. Prognostic implications of a positive bronchial resection margin / G. Massard, C. Doddoli, B. Gasser [et al.] //Eur J Cardiothorac Surg. - 2000. - V. 17. - P. 557-565.
125. Mehta, H.J. Photodynamic Therapy for Bronchial Microscopic Residual Disease After Resection in Lung Cancer / H.J. Mehta [et al.] //Journal of bronchology& interventional pulmonology. – 2019. – T. 26. – №. 1. – P. 49-54.

126. Minnich, D. J. Photodynamic laser therapy for lesions in the airway/ D.J. Minnich [et al.] //The Annals of thoracic surgery. – 2010. – Т. 89. – №. 6. – P. 1744-1749.
127. Moghissi, K. Fluorescence photodiagnosis in clinical practice [Электронный ресурс] / K. Moghissi, M.R. Stringer, K. Dixon //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2008. – Т. 5. – №. 4. – P. 235-237. – Режим доступа: doi:10.1016/j.pdpdt.2009.01.006.
128. Mroz, P. Stimulation of anti-tumor immunity by photodynamic therapy / P. Mroz [et al.] //Expert review of clinical immunology. – 2011. – Т. 7. – №. 1. – P. 75-91.
129. Nantavithya, C. Phase 2 study of stereotactic body radiation therapy and stereotactic body proton therapy for high-risk, medically inoperable, early-stage non-small cell lung Cancer / C. Nantavithya [et al.] //International Journal of Radiation Oncology\* Biology\* Physics. – 2018. – Т. 101. – №. 3. – P. 558-563.
130. O’Connell, K.A. Photodynamic Therapy for Bowen’s Disease (Squamous Cell Carcinoma in situ) Current Review and Update / K.A. O’Connell, J.P. Okhovat, N.C. Zeitouni //Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2018.- P. 10
131. O’Connor, A.E. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy / A.E. O’Connor, W. M. Gallagher, A. T. Byrne //Photochemistry and photobiology. – 2009. – Т. 85. – №. 5. – P. 1053-1074.
132. Ohtani, K. PDT for Lung Cancer / K. Ohtani, N. Ikeda //HANDBOOK OF PHOTODYNAMIC THERAPY: Updates on Recent Applications of Porphyrin-Based Compounds. – 2016. – P. 485-499.
133. Okunaka, T. Lung cancers treated with photodynamic therapy and surgery / T. Okunaka [et al.] //Diagnostic and therapeutic endoscopy. – 1999. – Т. 5. – №. 3. – C. 155-160.
134. Olszyna-Serementa, M. Patterns of failure after postoperative radiotherapy for incompletely resected (R1) non-small cell lung cancer: implications for radiation target volume design / M. Olszyna-Serementa [et al.] //Lung Cancer. – 2013. – Т. 80. – №. 2. – P. 179-184.



135. Ong, Y.H. PDT dose dosimetry for Photofrin-mediated pleural photodynamic therapy (pPDT) / Y.H. Ong // *Physics in Medicine & Biology*. – 2017. – T. 63. – №. 1. – P. 015031.
136. Ormond, A. Dye sensitizers for photodynamic therapy / A. Ormond, H. Freeman // *Materials*. – 2013. – T. 6. – №. 3. – P. 817-840.
137. Osorio, B. Clinical significance of pretreatment tumor growth rate for locally advanced non-small cell lung cancer / B. Osorio [et al.] // *Annals of translational medicine*. – 2019. – T. 7. – №. 5.
138. Owen, R.M. Routine intraoperative frozen section analysis of bronchial margins is of limited utility in lung cancer resection / R.M. Owen [et al.] // *The Annals of thoracic surgery*. – 2013. – T. 95. – №. 6. – P. 1859-1866.
139. Ozog, D.M. Photodynamic therapy: a clinical consensus guide / D.M. Ozog [et al.] // *Dermatologic Surgery*. – 2016. – T. 42. – №. 7. – P. 804-827.
140. Palcic, B. Detection and localization of early lung cancer by imaging techniques / B. Palcic [et al.] // *Chest*. – 1991. – T. 99. – №. 3. – P. 742-744.
141. Papayan, G.V. Video-endoscopy system for photodynamic theranostics of central lung cancer / G.V. Papayan [et al.] // *Journal of Optical Technology*. – 2019. – T. 86. – №. 7. – P. 414-419.
142. Papayan, G. Potential of indocyanine green near-infrared fluorescence imaging in experimental and clinical practice / G. Papayan, A. Akopov // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. – 2018. – T. 24. – P. 292-299.
143. Papayan, G. Autofluorescence spectroscopy for NADH and flavoproteins redox state monitoring in the isolated rat heart subjected to ischemia-reperfusion / G. Papayan, N. Petrishchev, M. Galagudza // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. – 2014. – T. 11. – №. 3. – P. 400-408.
144. Pibiri, I. Photochemically produced singlet oxygen: applications and perspectives / I. Pibiri // *ChemPhotoChem*. – 2018. – T. 2. – №. 7. – P. 535-547.
145. Piotrowski, W.J. Inhalations of 5-ALA in photodynamic diagnosis of bronchial cancer / W.J. Piotrowski [et al.] // *Monaldi archives for chest disease*. – 2004. – T. 61. – №. 2.

146. Postmus, P.E. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / P.E. Postmus [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2017. – T. 28. – №. suppl\_4. – P. iv1-iv21.
147. Pramual, S. Polymer-lipid-PEG hybrid nanoparticles as photosensitizer carrier for photodynamic therapy / S. Pramual [et al.] // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2017. – T. 173. – P. 12-22.
148. Rabb, O. Über die wirkung fluoreszieren der stoffe auf infusoren / O. Rabb // *Z. Biol.* – 1900. – T. 39. – P. 524-526.
149. Ramalingam, S.S. Osimertinib as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer / S.S. Ramalingam [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2018. – T. 36. – №. 9. – P. 841-849.
150. Reck, M. Precision diagnosis and treatment for advanced non-small-cell lung cancer / M. Reck, K.F. Rabe // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – T. 377. – №. 9. – P. 849-861.
151. Renk, K.F. Some Other Lasers and Laser Amplifiers / K.F. Renk // *Basics of Laser Physics*. – Springer, Cham, 2017. – P. 309-316.
152. Riquet, M. Microscopic residual disease after resection for lung cancer: a multifaceted but poor factor of prognosis / M. Riquet [et al.] // *The Annals of thoracic surgery*. – 2010. – T. 89. – №. 3. – P. 870-875.
153. Román, M. KRAS oncogene in non-small cell lung cancer: clinical perspectives on the treatment of an old target / M. Román [et al.] // *Molecular cancer*. – 2018. – T. 17. – №. 1. – P. 33.
154. Rosen, J.E. Lobectomy versus stereotactic body radiotherapy in healthy patients with stage I lung cancer / J.E. Rosen [et al.] // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. – 2016. – T. 152. – №. 1. – P. 44-54.
155. Ross, Jr. P. Incorporation of photodynamic therapy as an induction modality in non-small cell lung cancer / Jr.P. Ross [et al.] // *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*. – 2006. – T. 38. – №. 10. – P. 881-889.

156. Saini, R. Photodynamic therapy: a review and its prospective role in the management of oral potentially malignant disorders / R. Saini, C.F. Poh //Oral diseases. – 2013. – T. 19. – №. 5. – P. 440-451.
157. Sarfati, D. The impact of comorbidity on cancer and its treatment / D. Sarfati, B. Koczwara, C. Jackson //CA: a cancer journal for clinicians. – 2016. – T. 66. – №. 4. – P. 337-350.
158. Shafirstein, G. Photodynamic therapy of non–small cell lung cancer. Narrative review and future directions / G. Shafirstein [et al.] //Annals of the American Thoracic Society. – 2016. – T. 13. – №. 2. – P. 265-275.
159. Snijder, R.J. Survival in resected stage I lung cancer with residual tumor at the bronchial resection margin / R. J. Snijder [et al.]//The Annals of thoracic surgery. – 1998. – T. 65. – №. 1. – P. 212-216.
160. Spikes, J.D. The historical development of ideas on applications of photosensitized reactions in the health sciences / J.D. Spikes //Primary photo-processes in biology and medicine. – Springer, Boston, MA, 1985. – P. 209-227.
161. Su, Z. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis / Z. Su [et al.] //Molecular cancer. – 2015. – T. 14. – №. 1. – P. 48.
162. Sun, Y.W. Targeted drugs for systemic therapy of lung cancer with brain metastases / Y.W. Sun [et al.] //Oncotarget. – 2018. – T. 9. – №. 4. – P. 5459.
163. Sun, Z. Photosensitizers for Two-Photon Excited Photodynamic Therapy / Z. Sun [et al.] //Advanced Functional Materials. – 2017. – T. 27. – №. 48. – P. 1704079.
164. Sutedja, T.G. Fluorescence bronchoscopy for early detection of lung cancer: a clinical perspective / T.G. Sutedja [et al.] // Lung Cancer. – 2001. – T. 34. – №. 2. – P. 157-168.
165. Tomaselli, F. Photodynamic therapy enhanced by hyperbaric oxygen in acute endoluminal palliation of malignant bronchial stenosis (clinical pilot study in 40 patients) / F. Tomaselli [et al.] //European journal of cardio-thoracic surgery. – 2001. – T. 19. – №. 5. – P. 549-554.

166. Tong, H. Glutathione Activatable Photosensitizer-Conjugated Pseudopolyrotaxane Nanocarriers for Photodynamic Theranostics / H. Tong [et al.] // *Small*. – 2016. – T. 12. – №. 45. – P. 6223-6232.
167. Torre, L.A. Lung cancer statistics / L.A. Torre, R.L. Siegel, A. Jemal // *Lung cancer and personalized medicine*. – Springer, Cham, 2016. – P. 1-19.
168. Tremblay, A. Low prevalence of high-grade lesions detected with autofluorescence bronchoscopy in the setting of lung cancer screening in the pan-canadian lung cancer screening study / A. Tremblay [et al.] // *Chest*. – 2016. – T. 150. – №. 5. – P. 1015-1022.
169. Turan, I.S. A bifunctional photosensitizer for enhanced fractional photodynamic therapy: Singlet oxygen generation in the presence and absence of light / I.S. Turan [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2016. – T. 55. – №. 8. – P. 2875-2878.
170. Usuda, J. Outcome of photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways > 1.0 cm in diameter / J. Usuda [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2010. – T. 16. – №. 7. – P. 2198-2204.
171. Usuda, J. Photodynamic therapy (PDT) for lung cancers / J. Usuda [et al.] // *Journal of Thoracic Oncology*. – 2006. – T. 1. – №. 5. – P. 489-493.
172. Usuda, J. Photodynamic therapy for lung cancers based on novel photodynamic diagnosis using talaporfin sodium (NPe6) and autofluorescence bronchoscopy / J. Usuda [et al.] // *Lung Cancer*. – 2007. – T. 58. – №. 3. – P. 317-323.
173. Van Straten, D. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions / D. Van Straten [et al.] // *Cancers*. – 2017. – T. 9. – №. 2. – P. 19.
174. Kostron, H. Photodynamic medicine: From bench to clinic / H. Kostron, T. Hasan [et al.] // *Royal Society of Chemistry*. – 2016. – P. 63-74.
175. Vergnon, J. M. Place of cryotherapy, brachytherapy and photodynamic therapy in therapeutic bronchoscopy of lung cancers / J.M. Vergnon, R.M. Huber, K. Moghissi // *European Respiratory Journal*. – 2006. – T. 28. – №. 1. – P. 200-218.

176. Von Tappeiner, H. Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen / H. Von Tappeiner // *Munch Med Wochenschr.* – 1903. – T. 1. – P. 2042-2044.
177. Warkentin, M.T. Factors Associated With Small Aggressive Non-Small Cell Lung Cancers in the National Lung Screening Trial: A Validation Study / M.T. Warkentin [et al.] // *JNCI Cancer Spectrum.* – 2018. – T. 2. – №. 1. – P. pxx010.
178. Weber, B.C. Device for the picture-providing diagnosis of tissue using one of at least two diagnosis modes: пат. 8019405 / B.C. Weber, H. van den Bergh, D. Goujon, G. Wagnières. - *CIIA.* – 2011.
179. Weinberg, B.D. Results of combined photodynamic therapy (PDT) and high dose rate brachytherapy (HDR) in treatment of obstructive endobronchial non-small cell lung cancer (NSCLC) / B.D. Weinberg [et al.] // *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* – 2010. – T. 7. – №. 1. – P. 50-58.
180. Williams, T. M. Design and Synthesis of Photosensitizer-Peptide Conjugates for PDT / T. M. Williams, M. Sibrian-Vazquez, M. G. H. Vicente // *HANDBOOK OF PHOTODYNAMIC THERAPY: Updates on Recent Applications of Porphyrin-Based Compounds.* – 2016. – P. 45-93.
181. Wind, J. et al. Residual disease at the bronchial stump after curative resection for lung cancer / J. Wind [et al.] // *European journal of cardio-thoracic surgery.* – 2007. – T. 32. – №. 1. – P. 29-34.
182. Yoo, J.O. New insights into the mechanisms for photodynamic therapy-induced cancer cell death / J.O. Yoo, K.S. Ha // *International review of cell and molecular biology.* – Academic Press, 2012. – T. 295. – P. 139-174.
183. Zhang, J. AFB vs WLB for Diagnosing Airway Non-Normal Lesions With Inflammatory Changes: A Systematic Review and Meta-analysis / J. Zhang [et al.] // *Chest.* – 2016. – T. 149. – №. 4.
184. Zhou, M. Concurrent paclitaxel-based chemo-radiotherapy for post-surgical microscopic residual tumor at the bronchial margin (R 1 resection) in non-small-cell lung cancer / M. Zhou [et al.] // *BMC cancer.* – 2015. – T. 15. – №. 1. – P. 36.