

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение
Высшего Образования
Российский Биотехнологический Университет

на правах рукописи

Давыдов Евгений Владимирович

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ СПОНТАННЫХ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ**

4.2.1. Патология животных, морфология,
физиология, фармакология и токсикология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук

Научный консультант:

академик РАН,
доктор ветеринарных наук,
профессор Уша Б.В.

Москва - 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
1.1 История фотодинамической терапии в отечественной клинической ветеринарии.....	22
1.2 Характеристика фотосенсибилизатора Фотодитазин.....	24
1.3 Механизм фотодинамического эффекта.....	29
1.4 Принцип метода флуоресцентной диагностики.....	39
1.5 Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии саркомы мягких тканей	40
Лечение сарком мягких тканей животных при помощи фотодинамической терапии.....	44
Методы лечения сарком мягких тканей у животных.....	62
1.6 Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии рака молочной железы	63
Лечение рака молочной железы при помощи фотодинамической терапии....	68
Методы лечения рака молочной железы у животных.....	76
1.7 Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии опухолей кожи	77
Фотодинамическая терапия базальноклеточной опухоли кожи	82
Методы лечения базальноклеточной опухоли кожи у животных	88
Фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака кожи.....	89
Методы лечения плоскоклеточного рака кожи у животных.....	92
Фотодинамическая терапия меланомы кожи.....	92
Методы лечения меланомы кожи у животных.....	99
1.8 Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии для лечения опухолей ротовой полости у животных	101

Фотодинамическая терапия саркомы ротовой полости.....	106
Методы лечения саркомы ротовой полости у животных.....	107
Фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака ротовой полости.....	108
Методы лечения плоскоклеточного рака ротовой полости у животных.....	109
Фотодинамическая терапия меланомы ротовой полости.....	110
Методы лечения меланомы ротовой полости у животных.....	112

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	114
2.1 Характеристика группы животных с саркомой мягких тканей.....	115
2.2 Характеристика группы животных с раком молочной железы.....	118
2.3 Характеристика группы животных с злокачественными опухольями кожи.....	121
2.3.1 Характеристика группы животных с базальноклеточной опухолью кожи.....	121
2.3.2 Характеристика группы животных с плоскоклеточным раком кожи...	124
2.3.3 Характеристика группы животных с меланомой кожи.....	125
2.4 Характеристика группы животных с злокачественными опухольями ротовой полости.....	127
2.4.1 Характеристика группы животных с саркомой ротовой полости.....	127
2.4.2 Характеристика группы животных с плоскоклеточным раком ротовой полости.....	129
2.4.3 Характеристика группы животных с меланомой ротовой полости.....	134
2.5 Методика осмотра животных с онкологическими заболеваниями.....	136
2.6 Методика исследования крови животных с онкологическими заболеваниями.....	137
2.7 Методика проведения инструментальных методов диагностики животных с онкологическими заболеваниями: ультразвукового и рентгенологического исследования.....	138
2.8 Методика проведения биопсии животных	

с онкологическими заболеваниями	139
2.9 Методика проведения морфологического исследования (цитология и гистология)	141
2.10 Методика проведения анестезиологического пособия при проведении фотодинамической терапии	142
2.11 Методика проведения флуоресцентной диагностики	142
2.12 Методика проведения фотодинамической терапии опухолей	144
2.13 Критерии оценки эффективности лечения	146
Глава 3. ОБОСНОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ	149
Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	164
4.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении сарком мягких тканей	164
4.1.1 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при саркоме мягких тканей.....	167
4.1.2 Клинический случай лечения саркомы мягких тканей методом фотодинамическая терапия.....	176
4.2 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении рака молочной железы	181
4.2.1 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при раке молочной железы	186
4.2.2 Клинический случаи лечения рака молочной железы с использованием метода фотодинамическая терапия.....	195
4.3 Результаты применения фотодинамической терапии при лечении злокачественных опухолей кожи животных	202
4.3.1.1 Результаты применения фотодинамической терапии при лечении базальноклеточной опухоли кожи животных.....	204

4.3.1.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при базальноклеточной опухоли кожи	207
4.3.1.3 Клинический случай лечения базальноклеточной опухоли кожи у собаки с использованием метода фотодинамическая терапия.....	210
4.3.2.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия для лечения плоскоклеточного рака кожи.....	217
4.3.2.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии плоскоклеточного рака кожи	219
4.3.2.3 Клинический случай лечения плоскоклеточного рака кожи животных с использованием фотодинамической терапии.....	221
4.3.3.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении меланомы кожи у животных	227
4.3.3.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии меланомы кожи	230
4.3.3.3 Клинический случай фотодинамической терапии меланомы кожи животного	233
4.4 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении злокачественных опухолей ротовой полости у животных.....	238
4.4.1.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия для лечения саркомы ротовой полости у животных	241
4.4.1.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при саркоме ротовой полости	243
4.4.1.3 Клинический случай фотодинамической терапии саркомы ротовой полости животного	247
4.4.2.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении плоскоклеточного рака ротовой полости животных.....	252
4.4.2.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при плоскоклеточном раке слизистой ротовой полости	256
4.4.2.3 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при плоскоклеточном раке языка.....	260

4.4.2.4 Клинический случай фотодинамической терапии плоскоклеточного рака слизистой ротовой полости	263
4.4.2.5 Клинический случай фотодинамической терапии плоскоклеточного рака языка.....	269
4.4.3.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении меланомы ротовой полости у животных	273
4.4.3.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при меланоме ротовой полости	277
4.4.3.3 Клинический случай фотодинамической терапии меланомы ротовой полости животного	280
4.5 Результаты изучения безопасности применения метода фотодинамическая терапия у животных.....	285
Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	295
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	319
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	321
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	322
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	323
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	368

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. В настоящее время широкое распространение получили злокачественные заболевания животных и человека, поэтому онкология находится в центре внимания биологической, медицинской и ветеринарной науки. В патологии любого организма злокачественные новообразования представляют собой одну из сложнейших проблем как теоретических, так и практических. Борьба с опухолевыми заболеваниями является одной из актуальных задач ветеринарии и медицины.

Имеется большое количество наблюдений, свидетельствующих о широком распространении злокачественных новообразований среди животных. К сожалению, развитие ветеринарной онкологии сдерживалось вследствие недостаточного внимания к проблеме опухолей животных и отсутствия современных диагностических и терапевтических средств. Лишь за последние 15-20 лет интерес к сравнительной патологии новообразований в значительной мере повысился (Ишенбаева С. Н., 2016; Дилекова, О.В. 2020, 2022; Понятов М.П., 2023; Татарникова Н.А., 2018, 2022, 2023; Якунина М.Н., 2012, 2014, 2016).

По данным литературы, в ветеринарии нет четких статистических данных по распространенности онкологических заболеваний у домашних животных. Как справедливо отметила С.Н. Ишенбаева, статистика опухолей в ветеринарии основана на случайном материале и часто не соответствует истинному состоянию вопроса, так как нет хорошо разработанной системы учета заболеваний (Ишенбаева С.Н., 2016). Некоторые ученые, определяя количество больных животных, исходят из данных клинического приема. Так Shcutz определил, что распространенность опухолей у собак составляет около 0,56 % от всех заболеваний, это позволяет оценить ситуацию только среди животных, посетивших ветеринарные клиники (Morris J., Dobson J., 2001).

Опухоли чаще регистрируются во второй половине жизни животного. Во многом это связано как с неудовлетворительными экологическими условиями и некачественным кормлением, так и с общим увеличением продолжительности жизни животных. Таким образом, в ветеринарной онкологии актуальной задачей является лечение опухолей у возрастных животных, которые часто имеют сопутствующие заболевания, что зачастую не дает возможность использовать в полной мере все имеющиеся сейчас методы лечения. Поэтому продолжается поиск новых методов диагностики, а также эффективных и безопасных способов лечения новообразований, среди которых особую значимость имеют органосохраняющие способы терапии.

В настоящее время основным системным методом лечения злокачественных опухолей у человека и животных является лекарственная противоопухолевая терапия. Основные локальные методы лечения: хирургия, лучевая терапия и криодеструкция. Помимо положительных сторон у этих методов есть в той или иной степени выраженные побочные эффекты.

Операция – основной метод локального лечения в онкологии, позволяет полностью избавиться пациента от первичного объёма опухоли, хотя полностью избавиться от болезни не всегда удастся. Есть определенные сложности с проведением оперативного лечения: большие объёмы операции (что требует предварительного лечения) или анестезиологические риски (например, у гериатрических животных) делают этот метод лечения недоступным ряду пациентов. Так же проблему для оперативного лечения представляют опухоли сложных локализаций и опухоли в области дефицита тканей (например, в области головы, ротовой полости, конечностей и пр.), которые либо невозможно удалить по всем правилам онкохирургии, либо приходится проводить ампутацию частей тела с опухолью. Лучевая терапия имеет ряд преимуществ (например, в отличие от хирургии нет обширных раневых поверхностей), однако требует достаточно длительного лечения с применением общей анестезии, что может иметь нежелательные последствия у гериатрических пациентов и пациентов группы анестезиологического риска, а также может вызывать осложнения в виде

постлучевых реакций. Кроме того, лучевая терапия недоступна при многих опухолях, как правило связанных с низкой скоростью роста опухолевого процесса (высокодифференцированные опухоли, G1-2 и пр.) или с низкой васкуляризацией опухоли, что сужает возможности применения лучевой терапии. Еще одним методом локального воздействия на опухоль является криодеструкция, но данное лечение недоступно при многих патологиях (в том числе расположенных внутри организма, например, в ротовой полости и пр.) так как, во-первых, данное лечение необходимо проводить под общим наркозом, во-вторых, вызывает выраженные отеки, что может сказываться на качестве жизни пациента (King G.K. et al., 1995; Hunley D.W. et al., 2010).

В связи с этим актуальным является создание новейших методик лечения, среди которых большое значение уделяется целенаправленным методам (таргетное воздействие), которые избирательно действуют преимущественно на опухолевые клетки, не повреждая при этом здоровые ткани, что позволяет сохранить анатомическую целостность организма.

Одним из таких методов является фотодинамическая терапия (ФДТ), которая плохо изучена в ветеринарии и крайне мало используется для лечения спонтанных опухолей у животных. В России фотодинамическая терапия относительно широко применяется в гуманной медицине с 1991 года, но не применялась в ветеринарии в виду сложности с закупкой и размещением «громоздкого» лазерного оборудования.

На сегодняшний день появились компактные диодные лазеры в настольном исполнении и фотосенсибилизаторы, которые не вызывают побочных эффектов и могут быть широко использованы. Таким образом, данный метод лечения стал более доступен для применения в ветеринарии, что позволяет применять его как альтернативный метод локального воздействия на опухоль.

Фотодинамическая терапия - является таргетным методом воздействия на опухолевые клетки, минимально затрагивая здоровые ткани организма. ФДТ основана на введении в организм больного лекарственного вещества-фотосенсибилизатора (ФС), которое накапливается преимущественно в

злокачественных опухолевых клетках (и меньше в местах воспаления). Данное накопление можно определить с помощью флуоресцентной диагностики. Далее, при облучении опухоли, накопившей фотосенсибилизатор, лучом лазера определенной волны происходит каскад фотохимических реакций, с выделением синглетного кислорода и других активных форм кислорода, которые, являясь сильными окислителями, оказывают цитотоксическое влияние на опухолевые клетки.

Фотосенсибилизаторы получают из натурального биологического сырья, поэтому они имеют большое сродство к биотканям организма человека и животных, не обладают токсическими и побочными эффектами. Образующийся синглетный кислород существует миллисекунды и проходит расстояние около 5-10 нм, поэтому он действует в месте образования, а именно, в опухолевой клетке. (Schweitzer C., Schmidt R., 2003; Skovsen E. et al., 2005; Кулешова О. А. 2012). После введения ФС у человека возникает умеренная фототоксичность (в течение 24-48 часов не рекомендуется находиться на открытом солнце), которая у животных практически не наблюдается ввиду наличия шерстного покрова (Филоненко Е.В., 2006; Каплан М.А., 2014; Гельфонд М.Л., 2007; Кулешова О. А., 2012).

Флуоресцентная диагностика – позволяет визуализировать в режиме реального времени область накопления фотосенсибилизатора в опухоли по его свечению (флуоресценции), при воздействии возбуждающего лазерного излучения (Филоненко Е.В., 2013).

Преимущества ФДТ:

- 1) в большинстве случаев лечение не требует общей анестезии, то есть является терапией выбора у пациентов группы анестезиологического риска;
- 2) возможно достичь полного регресса опухоли;
- 3) позволяет лечить опухоли сложной локализации (например, в области ротовой полости, головы, шеи, конечностей) с сохранением анатомических структур (органосохранное лечение);
- 4) хороший косметический эффект;
- 5) возможно применять многократно;

б) можно комбинировать с флуоресцентной диагностикой, что позволяет более четко сфокусировать вмешательство на объёме опухоли, не затрагивая здоровые ткани организма.

7) возможно комбинировать с другими методами лечения;

8) используя эндоскопическую технику, возможно проводить ФДТ внутренних опухолей. (Гельфонд М.Л., 2007; Странадко Е.Ф., 2017).

Фотодинамическая терапия в последнее время получила широкое распространение в медицине и признание среди врачей, во многом благодаря эффективности этого метода в лечении некоторых нозологических форм онкологических болезней с отсутствием выраженных побочных эффектов. Постоянно синтезируются новые ФС, совершенствуется оборудование (лазерные терапевтические и диагностические комплексы), поэтому ФДТ является перспективным методом в лечении не только онкозаболеваний, но и воспалительных процессов, гнойных ран, антибиотико-резистентных инфекций, патологий опорно-двигательного аппарата и пр.

Поэтому актуальным является изучение и разработка новых методов флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии, внедрение этих методик в ветеринарию для диагностики и лечения широкого спектра болезней животных.

Следует подчеркнуть, что в настоящее время для обеспечения технологического и научного суверенитета страны особенно важной задачей стало импортозамещение. С 15.04.2014 вступила в юридическую силу программа импортозамещения ПП РФ под № 328.

В п. 21 указа президента Российской Федерации от 28 февраля 2024 г. № 145 "О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации", говорится о необходимости создать отечественные наукоемкие технологии, обеспечивающие в том числе переход к персонализированной, предиктивной и профилактической медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, а так же создание научной базы для разработки

рационального применения средств химической и биологической защиты животных.

Важно отметить, что фотодинамическая терапия является импортозамещающим способом лечения новообразований и некоторых других патологий, так как используются фотосенсибилизаторы и лазерные аппараты отечественного производства.

Изучение фотодинамической терапии в ветеринарии не только повышает эффективность лучения опухолей у животных, но и дает основу для дальнейших исследований данного способа лечения в медицине. Таким образом, это вносит свой вклад в обеспечение перехода к персонализированной медицине и высокотехнологичному здравоохранению, согласно стратегии научно-технического развития РФ.

Степень разработанности темы исследования. Фотодинамическая терапия – это относительно новый метод лечения в отечественной ветеринарии. В отечественной медицине метод ФДТ применяется с 1991 года. Данный метод является малоизученным, так как в современной литературе недостаточно данных по применению фотодинамической терапии у домашних животных, а описанные случаи в основном носят спорадический характер. Определенное влияние на изучение фотодинамической терапии животных внесли иностранные авторы, так, например, Dougherty и соавторы в 1981 году опубликовали результаты апробации метода ФДТ с производным гематопорфирина, при лечении некоторых злокачественных опухолей у собак и кошек (Dougherty T.J. et al., 1981). В 1991 году Roberts и др. применили метод ФДТ с ФС Хлор-алюминиевый сульфат фталоцианина (CASPC) для лечения спонтанных злокачественных опухолей у 10 кошек, 2 собак и 3 змей (Roberts W.G. et al., 1991). Reeds и др. апробировали метод ФДТ с феофорбидом А гексильный эфир (HPPH) для лечения ПКРК у 4 собак и 3 кошек (Reeds K.B. et al., 2004). В 2009 году Osaki и соавторы исследовали применение ФДТ с ФС производным бензопорфирина (BPD-MA) для лечения опухолей ротовой и носовой полости у 14 собак (Osaki T. et al., 2009).

Таким образом, на сегодняшний день научные работы носят спорадический характер и показывают возможность использования метода ФДТ для лечения злокачественных опухолей у животных.

В отечественной ветеринарии вклад в изучение фотодинамической терапии и спектрально-флуоресцентной диагностики внесла О. А. Кулешова, в 2010 году она изучала применение метода ФДТ для лечения доброкачественных образований ротовой полости домашних животных, а также их компьютерную спектрально-флуоресцентную диагностику в сравнении со здоровой тканью, для оценки накопления фотосенсибилизатора в опухоли (Кулешова О.А., Ягников С.А., 2010). К. Ю. Брюшковский и А. Г. Клявин в 2012 году проводили интраоперационное (в процессе операции) облучение ложа удаленной саркомы лазером длинной волны 661 нм, с предварительным введением фотодитазина (Брюшковский К. Ю., Клявин А. Г., 2012). Ю.С. Немцева изучала возможность применения фотодинамической терапии для лечения рака молочной железы у кошек (Немцева Ю.С., 2022).

Однако, до сих пор нет полноценных исследований применения фотодинамической терапии для лечения злокачественных опухолей различной локализации. В России метод ФДТ широко не применяется для лечения злокачественных опухолей животных, являясь при этом перспективным, эффективным и относительно безопасным методом лечения, альтернативным хирургии. Нет данных о объективном эффекте при различных стадиях злокачественных опухолей каждой нозологии.

Цель диссертационного исследования – теоретически обосновать и экспериментально подтвердить эффективность применения метода фотодинамической терапии для диагностики и лечения онкологических болезней с основными гистотипами и разной локализацией опухолей у домашних животных.

Достижение сформулированной цели предполагает решение следующих **исследовательских задач**:

1. Разработать и внедрить методику фотодинамической терапии сарком мягких тканей у собак и кошек.

2. Разработать и внедрить в клиническую практику метод фотодинамической терапии при раке молочной железы у собак и кошек.

3. Экспериментально обосновать методику лечения и изучить терапевтическую эффективность применения метода фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи у собак и кошек.

4. Дать характеристику методу фотодинамическая терапия для лечения злокачественных опухолей ротовой полости у собак и кошек.

5. Изучить биологическую безопасность применения метода фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин при онкологии у мелких домашних животных.

6. Внедрить в клиническую ветеринарную практику метод фотодинамическая терапия для лечения злокачественных опухолей различной локализации.

Научная новизна:

1. Научная новизна исследований подтверждена патентами: патент RU 2604412 «Фотодинамическая терапия злокачественного новообразования животного» и патент RU 2604388 «Флуоресцентная диагностика злокачественного новообразования животного».

2. Сформулированы основные положения нового научного направления в ветеринарии – флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия злокачественных опухолей у животных.

3. Впервые разработана и научно обоснована методика фотодинамической терапии сарком мягких тканей у собак и кошек.

4. Впервые изучена терапевтическая эффективность и внедрена в клиническую ветеринарную практику методика фотодинамической терапии рака молочной железы у мелких домашних животных.

5. Разработана методика фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи у мелких домашних животных с помощью полупроводниковых лазеров и фотосенсибилизатора.

6. Научно обоснована и внедрена в ветеринарную практику методика фотодинамической терапии злокачественных опухолей ротовой полости у мелких домашних животных, осуществлена оценка лечебного эффекта при саркоме, плоскоклеточном раке и меланоме ротовой полости.

7. Экспериментально подтверждена безопасность применения метода фотодинамическая терапия у мелких домашних животных, исследованы возможные побочные эффекты лазерного излучения и фотосенсибилизатора.

Теоретическая значимость работы. В диссертационном исследовании дано теоретическое обоснование, и разработаны схемы практического применения в ветеринарных клиниках нового эффективного метода лечения новообразований – фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором Фотодитазин при саркоме мягких тканей, плоскоклеточном раке кожи и ротовой полости, при базальноклеточном раке кожи, раке молочной железы и меланоме кожи и ротовой полости у мелких домашних животных.

Теоретически показана роль иммунной система, которая участвует в развитии отрицательной селекции опухолевых клеток, что позволяет опухоли сформировать соответствующий гистотип (саркома, карцинома, меланома и пр).

Данное исследование имеет значение и для медицины, как основа изучения и внедрения в практическую онкологию метода фотодинамической терапии для лечения различных нозологий злокачественных опухолей у человека.

Практическая значимость работы. Метод фотодинамическая терапия внедрен в ветеринарные клиники России («Росвет», «Велес», «Тигренок», «Ветмастер», «Солнышко», «Зоодом» и пр.) для лечения злокачественных опухолей у мелких домашних животных, в том числе, для лечения сарком мягких тканей, рака молочной железы, злокачественных опухолей кожи и ротовой полости. Показаны на практике перспективы и преимущества внедрения данного лечения в клиническую практику.

Разработанная методика включена в учебный процесс (специалитет) на кафедре «Ветеринарная медицина» ИВВСЭиАБ ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ, проводятся курсы повышения квалификации ветеринарных врачей.

Утверждены РАН, и изданы методические рекомендации «Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика новообразований у мелких домашних животных».

Методология и методы исследования. Во время научных исследований применялся комплексный подход для анализа полученных данных. Работа строилась на базе собранной теоретической и практической информации, с последующим проведением исследований. Основным методом исследования был практический эксперимент и статистическая обработка полученных экспериментальных данных. При этом проводилось многоцентровое ретроспективное исследование, работа основана на лечении большого количества больных – 289 животных с различными нозологиями, что позволяет получить объективный результат. Собакам и кошкам, больными саркомой мягких тканей, раком молочной железы, злокачественными опухолями кожи и ротовой полости, проводилась фотодинамическая терапия с применением лицензированного отечественного фотосенсибилизатора Фотодитазин (Россия, регистрационный номер ЛС-001246 от 10.02.2006), для активации ФС применяли терапевтический лазерный аппарат, для проведения ФДТ - излучающий когерентный луч света в красном диапазоне с длиной волны $662\pm\text{нм}$, сертифицированный для применения в медицине, прошедший калибровку и поверку. ФДТ проводилась по методике, которая легко воспроизводима и заключается в следующем: внутривенное введение ФС, ожидание накопления ФС в опухолевой ткани в течение 3 часов, проведение сеанса облучения опухоли лазерным лучом для активации ФС, что приводит к выделению активных форм кислорода и гибели опухолевых клеток.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты ФДТ с фотосенсибилизатором Фотодитазин при фибросаркоме у мелких домашних животных. Оценка объективного лечебного эффекта.

2. Результаты лечения методом ФДТ с фотосенсибилизатором Фотодитазин при раке молочной железы у мелких домашних животных.
3. Принципы лечения злокачественных опухолей кожи методом ФДТ с фотосенсибилизатором Фотодитазин. Оценка объективного лечебного эффекта.
4. Результаты лечения злокачественных опухолей ротовой полости методом ФДТ с фотосенсибилизатором Фотодитазин. Оценка объективного лечебного эффекта.
5. Результаты исследования безопасности применения ФДТ с фотосенсибилизатором Фотодитазин у мелких домашних животных.
6. Основные теоретические положения по результатам исследований.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность результатов диссертационной работы обусловлена совокупностью применяемых методов, применением современного сертифицированного оборудования и системной проработкой проблемы. Теоретическая часть работы базируется на известных, проверяемых данных и согласуется с экспериментальными данными, опубликованными по теме диссертации в разных областях науки. Для экспериментальной части показана воспроизводимость результатов исследования. Используются современные методы сбора и обработки информации.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 38 работ, в том числе в журналах, индексируемых ВАК 27 работ.

Структура и объем работы. Диссертационное исследование изложено на 367 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, предложений, а также списка литературы, включающего публикации отечественных и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 159 таблицами и 105 рисунками. Список литературы содержит 423 источника, в том числе 318 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – новый безвредный, не ионизирующий способ лечения злокачественных новообразований, обладающий избирательным воздействием на ткань опухоли. Сущность метода ФДТ при злокачественных новообразованиях заключается в том, что больному с опухолью вводится фотосенсибилизатор, который после накопления в опухоли активируется лазером, в результате чего выделяющийся атомарный кислород разрушает опухолевые клетки. (Филоненко Е.В., 2006).

Корни современной фотодинамической терапии уходят в Древний Египет, где более 5000 лет назад стали появляться первые ее прототипы. Это были попытки египтян использовать растения, которые могли вызывать фотореакцию в тканях под воздействием солнечного света. Этот метод лечения использовался для больных витилиго и заключался в нанесении такого состава на депигментированные участки кожных покровов с последующей инсоляцией прямыми солнечными лучами. В результате таких манипуляций на обработанных участках появлялась пигментация, похожая на солнечный загар. Эти растения являлись природными фотосенсибилизаторами, в состав которых чаще всего входили такие растения, как зверобой, пастернак и петрушка. Первые письменные упоминания о технологии проведения данной процедуры появились в 1550 году до н.э. в Эберском папирусе (El-Mofy A.M., 1968). В Древней Индии так же применяли подобные способы лечения с использованием природных фотосенсибилизаторов, содержащихся в различных растениях, которые активировались воздействием солнечного света, что описывается в священной индийской книге «Atharda Veda» (Wyss P., 2000).

Согласно древним индийским медицинским источникам использовались черные семена растений под названием Бейвечи. В состав данного растения входят

псоралены - анаэробные фотосенсибилизаторы (ФС). Упоминание о Бейвечи (*Psoralena corylifolia*) можно встретить так же в буддийской и китайской литературе. Позднее было обнаружено еще одно растение с похожими свойствами и компонентами (псоралены) под названием китайский тмин. Метод его использования описал в 13-ом столетии в Египте Ибн Эль Битан. По его словам, смесь порошка китайского тмина и меда необходимо было наносить на пораженные участки кожи, после чего больному рекомендовали нахождение на ярком солнечном свете. Такие действия приводили к активации псораленов. Происходили фотохимические реакции, способствующие реэпителизации и репигментации пораженных участков. Эти фотодинамические процессы, с использованием псораленосодержащих растений, происходили без участия кислорода (Странадко Е.Ф. 2000; Daniell MD, Hill JS. 1991).

Научный труд О. Raab, опубликованный в 1900 году, считается отправной точкой современного подхода к исследованию фотосенсибилизации. Студент-медик из Мюнхена, под руководством профессора Н.Тарейнер, открыл кислородзависимую фотодинамическую реакцию при изучении эффектов света и красителей на парамеции. В результате научных опытов он заметил активное движение парамеции в растворе акридинового кислого (красителя) в темноте и при солнечном свете, но уже без красителя (Raab O. 1908). Таким образом, ученому стало ясно, что действие солнечного света в присутствии небольших концентраций некоторых природных красителей было губительным для парамеций. Это объяснялось такими специфическими свойствами акридинового красителя, как абсорбция и флуоресценция. Абсорбция не делала свет токсичным, поэтому флуоресценция была расценена как главный повреждающий фактор в механизме гибели парамеций, так как была способна трансформировать энергию света в активную химическую реакцию (Гейниц А.В., Сорокатый А.Е., Ягулвев Д.М., Трухманов Р.С. 2007).

Стало ясно, что данное открытие возможно будет использовать в медицинских целях. Профессор Н.Тарейнер был первым, кто оценил важность научной работы О. Raab, поэтому его инициатива дала старт развитию данной

области медицины. Благодаря ему на сегодняшний день существует такой термин, как «фотодинамическое действие», который позволяет дифференцировать фотохимический процесс, применяемый в фотографии. В 1903 году в дерматологической клинике Мюнхена проводились клинические испытания по применению эозина, как фотосенсибилизатора при лечении кожных заболеваний, таких, как псориаз, герпес и рак кожи (Jesionek A, Tarpeiner V.H. 1903). Данные исследования проводились под руководством Н. Tarpeiner и А. Jesionek. Эти ученые уже в 1905 году опубликовали итоги своей работы по лечению базальноклеточного рака кожи на лице. Это стало возможным благодаря использованию новейших методов облучения солнечным и искусственным светом красителя эозина, нанесенного на пораженные участки. Большой победой стала абсолютная регрессия очагов у четырех больных, с безрецидивным периодом, сроком в один год. Первым ученым, описавшим фототоксичную способность гематопорфирина, в 1908 году стал W.H. Hausmann. Он доказал, что гематопорфирин - активный фотосенсибилизатор по отношению к парамециям и эритроцитам [Hausman W. H. 1911]. Позже им были проведены исследования на белых мышах, благодаря которым было замечено изменение реакций в тканях в прямой зависимости от количества фотосенсибилизатора и света (Бойко В.В. 2000).

Дальнейшее изучение свойств и природы фотодинамических процессов дало начало новым направлениям в медицине: «Флуоресцентная диагностика» и «Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей», которые тесно связаны между собой. В начале XX века было выявлено множество свойств злокачественных опухолей, одним из которых является их особенность накапливать в себе порфирины, которые в свою очередь флуоресцировали под действием УФ-излучения и, в том числе, при облучении в красной зоне спектра (610-630 нм). Первым ученым, описавшим данное явление, был А. Polikard, который в 1924 году на примере онкологических заболеваний у животных сделал вывод о способности к флуоресцентности эндогенных порфиринов, накопленных в опухоли. Схожую реакцию описали ученые из Берлина Н. Auler и G. Banzer в 1942 году, которые зафиксировали красную флуоресценцию в первичной опухоли и в

метастазах у крыс после подкожного и внутримышечного введения гематопорфирина (Филоненко Е.В. 2013).

Аналогичные процедуры проводились позже и на людях. В 1954 году был проведен эксперимент: онкологическим больным внутривенно вводили гематопорфирин незадолго до оперативного вмешательства (от 12 до 72 часов), в результате чего при облучении ультрафиолетовым светом во время операции проявлялась красная флуоресценция. Такая способность гематопорфирина флуоресцировать и избирательно накапливаться в опухоли дает возможность использовать это свойство при выявлении и определении границ внутренних опухолей, которые невозможно увидеть невооруженным глазом (Лапцевич Т.П., Истомин Ю.П., Чалов В.Н. 2008).

Годом начала применения в онкологии метода ФДТ признано считать 1978 год, когда были сделаны выводы о положительной динамике по результатам ФДТ у 25 больных с 113 первичными, рецидивными и метастатическими опухолями кожи, находившихся под наблюдением профессора Т. Dougherty и других (Филоненко Е.В. 2013).

В отечественной медицине метод ФДТ получил свое признание и развитие лишь в 1992 году, несмотря на многолетние экспериментальные исследования. Это было связано с появлением первого Российского фотосенсибилизатора в лекарственной форме, относящегося к группе производных гематопорфирина «Фотогем», полученного в МИТХТ им. М.В.Ломоносова профессором А.Ф. Мироновым. Спустя два года был создан препарат второго поколения, в состав которого вошел сульфинированный фталоцианин алюминия - «Фотосенс», разработанный в ГНЦ РФ «НИОПИК» членом-корреспондентом РАН профессором Г. Н. Ворожцовым, а также профессором Е. А. Лукьянцем. В 1999 г. ими же был дан старт использованию в клинической практике препарата на основе 5-аминолевулиновой кислоты, получившего название «Аласенс», а в 2002 и 2004 г. препарата, полученного с содержанием хлорина Е6 – Радахлорина (ООО «Радафарма», к.х.н. А. В. Решетников) и Фотодитазина (ООО «ВЕТА-ГРАНД», проф. Г.В. Пономарев). В МНИОИ им. П.А.Герцена экспериментальные

исследования в области ФД и ФДТ были начаты более трех десятилетий назад, в 1984 году были доложены первые результаты данных работ. В настоящее время для ФД и ФДТ на основе вышеупомянутых препаратов описаны методики, разработаны методические рекомендации, пособия и программа обучения врачей и специалистов для лечения людей (Чиссов В.И., Соколов В.В., Филоненко Е.В. 1998).

История фотодинамической терапии в отечественной клинической ветеринарии

В России (СССР) экспериментальные работы по использованию воздействия квантового генератора (лазер) на ткани животных начались с 1966 г. (Бухман Л.А., Левина Т.Н., Шелест Г.А. 1966). Применение излучения лазера для лечения животных впервые описано в 1983 году (Власенко В.М., Панько И.С., Издепский В.И. 1983).

Использование лазеров для лечения животных в XX веке осложнялось их большими размерами, высокой ценой. Подобные установки могли себе позволить институты и некоторые медицинские учреждения. Начало более широкого применения лазерного излучения в современной ветеринарной практике во многом связано с появлением относительно недорогих и компактных диодных лазеров.

Клявин А.Г. в 2005 году, в своей работе по лечению собак с новообразованиями кожи с помощью полупроводникового лазера на As-Ga (805 нм), продемонстрировал его эффективность при иссечении новообразований у мелких домашних животных и гипертермии опухолей (Клявин А.Г. 2005).

С 2007 года Кулешова О. А. проводила изучение эффективности метода ФДТ при доброкачественных новообразованиях слизистой ротовой полости собак и кошек (эозинофильная гранулема, плоскоклеточная папиллома, эпюлисы, воспаление, организуемая и грануляционная ткань), при этом были получены хорошие клинические эффекты, что выражалось в частичной и полной регрессии,

а также в хорошем косметическом эффекте (Ягников С. А., Кулешова О. А. 2007, 2008). При лечении вышеописанных доброкачественных образований полный регресс (ПР) наблюдали в 38%, частичный регресс (ЧР) в 31%, отмечены и побочные эффекты в виде гиперемии кожи у одной кошки породы сфинкс. Также до проведения ФДТ, была проведена компьютерная спектрально-флуоресцентная диагностика на установке «Спектр Кластер», определено время оптимального накопления Фотодитазина в доброкачественных опухолях ротовой полости у домашних животных, что составило 90-120 минут и величина накопления ФС в вышеописанных опухолях. (Кулешова О. А., Ягников С. А. 2009).

После этого, в 2010 году Кулешова О. А. продемонстрировала возможность проведения диагностической флуоресценции опухолей животных на примере флуоресценции экстракраниальной менингиомы левого полушария головного мозга кота на установке «Спектр Кластер», была показана разность накопления ФС в центре опухоли и на ее периферии, а также в окружающей здоровой ткани, что составило 37,6 – 20 – 7,6 (Кулешова О. А., Ягников С. А., Кемельман Е. Л., Леонова Т. А., Митрохина Н. В., Трубникова Е. А. 2010).

В 2011 году показана возможность применения метода ФДТ при комбинированном лечении неинфекционного стоматита кошек, когда проводили санацию ротовой полости, экстракцию патологических зубов и, после этого, сеанс ФДТ с предварительным введением Фотодитазина (Кулешова О. А., Ягников С. А., Митрохина Н. В. 2011).

В своей диссертационной работе Кулешова О. А., помимо описания методики ФДТ доброкачественных образований ротовой полости домашних животных, их компьютерной спектрально-флуоресцентной диагностики в сравнении со здоровой тканью, приводит интересные данные о спектрально-флуоресцентной диагностике здоровых органов брюшной полости, что было сделано впервые у мелких домашних животных (Кулешова О. А. 2012).

При применении метода ФДТ для лечения злокачественных опухолей у животных в ветеринарной практике не было достигнуто значимых успехов. В доступной литературе имеются данные о интраоперационном облучении ложа

удаленной опухоли (саркомы) лазером длинной волны 661 нм, с предварительным введением Фотодитазина 1 мг\кг за 1 час до операции (Брюшковский К. Ю., Клявин А.Г. 2012).

Таким образом, анализируя вышеизложенное, можно сделать вывод, что не было достигнуто значительных успехов в применении метода флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии при лечении именно злокачественных опухолей различной локализации у мелких домашних животных, этот вопрос был плохо изучен в ветеринарии, в отличии от медицинской практики. Вышеописанные методики были апробированы только на собаках и кошках, с применением в качестве фотосенсибилизатора только Фотодитазина, который активировали диодными лазерами с длинной волны 661-662 нм.

На основании приведенного обзора, мы пришли к выводу, что многие данные противоречивы и до конца не выяснены, поэтому мы вынуждены были заняться выяснениями ряда деталей и сделать свои выводы по изучаемым нами темам.

Характеристика препарата Фотодитазин

Фотодитазин состоит из хлорина Е6, является отечественным фотосенсибилизатором, относится к группе фотосенсибилизаторов хлоринового ряда (рисунок № 1), которые применяются для проведения ФД и ФДТ при лечении различной этиологии и локализации новообразований. Фотодитазин представляет собой жидкость темно-зеленого цвета, не имеющую запаха.

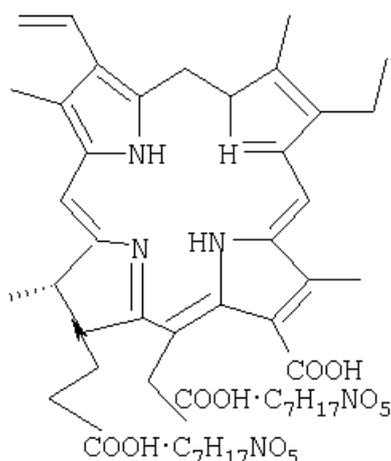


Рисунок 1 - Формула препарата Фотодитазин

Препарат обладает высокой фотодинамической активностью, имеет выраженное поглощение в красной области спектра 660 - 670 нм, но имеет небольшой период полувыведения из организма. Фотодитазин является синтетическим фотосенсибилизатором третьего поколения, предназначенным для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии, так как способен избирательно накапливаться в опухолевых клетках и может генерировать синглетный кислород. Данные процессы происходят при воздействии света с длиной волны, соответствующей пику поглощения фотосенсибилизатора: максимум поглощения «Фотодитазин» лежит на длине волны 662 нм, максимум флуоресценции 633 — 662 нм. Именно синглетный кислород и другие активные радикалы являются токсическими в отношении опухолевых клеток (McCaughan J.S., 1999).

Препарат Фотодитазин (N-диметилглюкаминовая соль хлорина Е6) имеет наибольшую скорость накопления только в областях пролиферации. В электронном спектре поглощения Фотодитазина наблюдаются пять характеристических полос поглощения с максимумами при длинах волн 400 ± 2 нм, 504 ± 2 нм, 534 ± 2 нм, 608 ± 2 нм, 662 ± 2 нм. Максимальный «пик» поглощения приходится на длину волны в 402 нм, при этом энергетические затраты на возбуждение могут быть в 3 раза меньше, чем в спектре 660 нм (рисунок № 2). Обширные клинические исследования Фотодитазина, как противоопухолевого

препарата, проводились в ведущих онкологических научных центрах: Научно-исследовательском институте онкологии им. проф. Н. Н. Петрова МЗ РФ (Санкт-Петербург), ГУ Российском онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина РАМН (Москва) и ряде других.

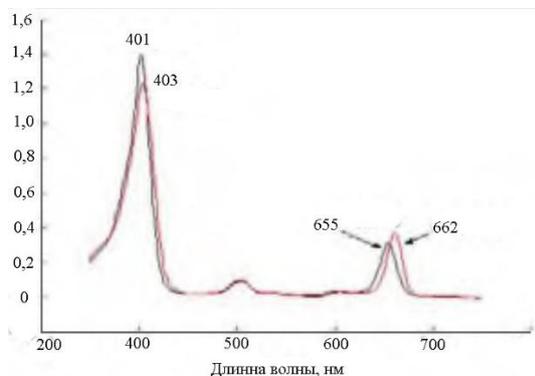


Рисунок 2 - Спектр поглощения фотосенсибилизатора Фотодитазин

Фотодитазин относится к классу низкотоксичных веществ (LD50 равно 158 мг/кг при средней терапевтической дозе 0,8 мг/кг), стабилен по составу и при хранении, не пирогенен, гистаминоподобные эффекты отсутствуют, имеет высокую тропность (быстро накапливается в опухоли при коэффициенте контрастности по отношению к окружающей нормальной ткани более 10) и выводится из организма практически полностью в течение суток (А. В. Гейниц, Р. Ф. Баум, А. М. Зарецкий, Фотодинамическая терапия в лечебной практике, ГНЦ Лазерной медицины, Москва, ООО «Вета-Гранд», Москва; ГОСТ Р 50723-94; СанПиН 5804-91).

Доказано, что «Фотодитазин» в дозах 0,5–2 мг/кг не является мутагенным и деструктивным в отношении ДНК. В настоящее время используется доза 0,8-1,0 мг/кг массы тела. Результаты исследования крови онкологических больных показали отсутствие существенных изменений биохимических показателей и клеточного состава крови, после введения препарата в рекомендуемых дозах (Вакуловская Е.Г., Шенталь В.В., 2002).

Согласно инструкции, препарат следует вводить в условиях полутемного помещения, внутривенно (в\в) капельно (30-минутная инфузия), в однократной дозе 0,8 - 1,0 мг/кг массы тела, с предварительным разведением

стерильным изотоническим раствором хлорида натрия 1:4, за 3 ч до лазерного облучения опухоли.

Инфузия препарата осуществляется под контролем специалиста с дальнейшим клиническим мониторингом состояния больного. После введения «Фотодитазин» больному не рекомендуется находиться на ярком солнечном свете в течение недели (от 4 до 7 дней), при этом искусственное освещение, как правило, угрозы для больного не представляет.

«Фотодитазин» при однократном внутривенном введении в дозах 0,8 и 1,0 мг/кг достаточно быстро распределяется между кровью и тканями. Снижение уровня препарата в сыворотке крови в течение первых суток происходит наиболее быстро, особенно первые шесть часов, а в последующие восемнадцать часов замедляется. Концентрация «Фотодитазин» в крови онкологических больных через 5 мин и 6 ч после введения составляет в среднем соответственно 9,0 и 1 мкг/мл, а через 24 ч снижается до 0,5 — 0,01 мкг/мл. Дальнейшее снижение уровней препарата происходит очень медленно, и в следовых количествах (0,1 мкг/мл и менее) он обнаруживается вплоть до 8 недель после введения.

Наиболее высокие уровни препарата «Фотодитазин» наблюдаются не только в опухолевой ткани, но и в печени, лимфоузлах, желудке, брюшине, жировой клетчатке, сердце, слизистых оболочках и коже. Однако, концентрация препарата в опухолевой ткани выше в среднем в 1,5–1,8 раза по сравнению с окружающими здоровыми тканями. При введении в указанных дозах показатели препарата «Фотодитазин» в опухоли и коже достигают максимальных значений в течение первых 1–2 суток, а затем медленно уменьшаются, продолжая определяться, по некоторым данным вплоть до 3–4 месяцев после лечения (Бойко В.В.).

«Фотодитазин» не метаболизируется в организме и выводится в неизменном виде с желчью и мочой. Кумулятивная экскреция препарата «Фотодитазин» с мочой за первые 48 ч составляет в среднем 11–14% от введенной дозы препарата. Основная часть «Фотодитазина» выводится в первые 24 ч.

Флуоресцентно-диагностическое обследование больных проводится после введения препарата «Фотодитазин» перед началом ФДТ и в процессе

последующего динамического наблюдения, а также для исследования границ опухолевого роста. Проведение сеансов ФДТ с «Фотодитазин» при облучении кожи и слизистых оболочек с высокой плотностью мощности, более 150-200 мВт-см², может вызывать болевые ощущения различной степени выраженности, от чувства жжения до резких болей в зоне облучения. Купирования болевых ощущений удается добиться при использовании анальгетиков или местных анестетиков. Болевой синдром в зоне облучения может сохраняться от нескольких до 24 часов после воздействия (Красновский А.А., Решетов, И.В., 2019).

Побочные эффекты данного препарата выражаются в усиленной фоточувствительности кожи. В результате этого пациенту необходимо строгое соблюдение светового режима. Во избежание подобных реакций и для снижения токсических проявлений, связанных с чувствительностью кожи, после введения Фотодитазина требуется:

- строгое соблюдение светового режима в первые 24 - 48 часов;
- прием антигистаминных и антиоксидантных препаратов (Вакуловская Е.Г., Шенталь В.В. 2002).

В противном случае в течение 1–2 месяцев (у людей) после введения фотосенсибилизатора возможны солнечные ожоги, сопровождающиеся гиперемией и отеком открытых кожных покровов, с их дальнейшей пигментацией (Странадко Е.Ф., 2002).

Если говорить о взаимодействии с другими веществами, то имеются данные (эксперименты *in vivo*) об отсутствии усиления токсических реакций при совместном применении препарата «Фотодитазин» и полихимиотерапии с использованием цисплатина, платидиама, 5-фторурацила и фарморубина.

Передозировка данным препаратом может выражаться в виде увеличения продолжительности периода повышенной чувствительности кожи к световому воздействию (более 2 мес). При нарушении светового режима у больных могут наблюдаться выраженные реакции в виде гиперемии и сильного отека открытых поверхностей кожи, требующие проведения гипосенсибилизирующей терапии, и развитие дерматитов различной выраженности вплоть до формирования

келоидных рубцов (Миронов А. Ф. 1996). Необходимо заметить, что у животных, ввиду наличия шерстного покрова, редко возникают поражения кожного покрова, есть данные проявления фототоксичности в виде гиперемии у кошки породы сфинкс (Кулошова О. А. 2012).

Фотодитазин выпускается во флаконах по 10 мл, содержащих 50 мг Фотодитазина. Препарат относится к списку Б. Хранить его следует в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре.

Механизм фотодинамического эффекта

Молекулярные механизмы прямого фотодинамического повреждения злокачественных клеток основаны на фотохимических реакциях двух типов (Jori G, 1990). Фотоокисление первого типа включает прямое воздействие возбужденного фотосенсибилизатора (ФС) с субстратом, что приводит к образованию переходных соединений, вступающих в реакцию с кислородом с генерацией его свободных радикалов. В реакциях второго типа происходит перенос энергии от сенсибилизатора, находящегося в возбужденном состоянии, на молекулы кислорода с образованием синглетного кислорода. Синглетный кислород, в свою очередь, образует нестабильные циклические пероксиды, легко разрушаемые в термических и ферментативных процессах. При этом формируются продукты деструкции субстрата и свободные радикалы (Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д., 2005). Результатом реакций обоих типов является генерация активных форм кислорода (АФК), таких как синглетный кислород, супероксид-ион и гидроксильный радикал (Кузнецова Н.А., Каляя О.Л., 1998; Doughrti T.J. et all, 1998). В последние годы показано, что в каскаде ФДТ – индуцированных биохимических реакций одну из ключевых ролей могут играть окислы азота (Henderson B.W et all, 1999; Korbelic M., Parcins C., et all, 2000). Однако преимущественный вклад при ФДТ вносит синглетный кислород.

Образование АФК является неотъемлемым фактором функционирования клеток организма человека и животных. В физиологических условиях образование АФК в клетках сдерживается на низком уровне системой ферментативных и неферментативных антиоксидантов (Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997). Вызываемые фотодинамической терапией нарушения баланса в системе «АФК-антиоксиданты» и преобладание продукции АФК активацией деструктивных цитотоксических процессов, объединяемых термином «оксидантный стресс». Нарботка высокотоксичных АФК является причиной повреждения субклеточных структур и нарушения жизнедеятельности живой клетки, внеклеточных структур и тканей (Doughrti T.J. et all, 1998). Интенсивность и характер цитотоксического воздействия зависит от количества генерированных АФК и от антиоксидантной активности биологического объекта (рисунок №3). Критическим фактором, определяющим результат фотодинамического воздействия, является локализация ФС внутри клетки (Bernardi P., Scorano L., at all, 1999; 43 Jori G., 1990; Lam M. et all, 2001; Minamikawa T. et all, 1999). Непосредственным результатом действия ФДТ на клетку может быть некроз, апоптоз или остановка клеточного цикла с последующим восстановлением нормальной жизнедеятельности. Результатом цитотоксического воздействия ФДТ является уменьшение числа опухолевых клеток.

Другой важный компонент гибели злокачественной опухоли заключается в фотодинамическом воздействии на сосуды опухоли и снижении васкуляризации. Как было показано с помощью флуоресцентных и радиоизотопных методов, во внеклеточном пространстве ФС накапливаются преимущественно в сосудах опухоли и периваскулярной ткани, где индуцируют генерацию высокорекреционных АФК (Bugelski P.J. et all, 1981). АФК вызывают активацию перекисного окисления липидов мембран и ферментативных систем эндотелия, играющих важную роль в повреждении эндотелиальных и других клеток сосудистой стенки (Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997). Фототоксические изменения эндотелия сосудов могут инициировать ряд событий, приводящих к полной окклюзии кровеносных сосудов опухоли (Fingar V.H. et all, 1990; Henderson

V.W. et all, 1992). Следствием фотодинамически индуцированного оксидантного стресса является гибель клеток, нарушение трофики и оксигенации ткани в результате ишемического повреждения сосудов опухоли. Эти процессы, в свою очередь, запускают механизмы воспалительных иммунных реакций.

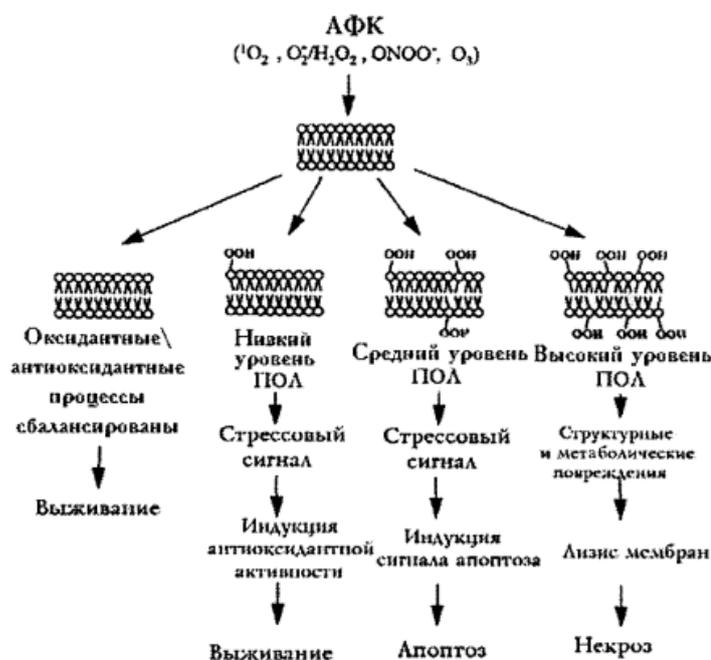


Рисунок 3 - Зависимость реакции клеток на воздействие активных форм кислорода (АФК) от интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д., 2005).

Первичное тканевое повреждение, возникающее в опухоли после проведения ФДТ, служит пусковым моментом воспаления. Далее следует активация ряда эффекторных механизмов: вторичной воспалительной альтерации тканей, сосудистой реакции (вазодилатация, стаз, тромбоз, экссудация), реакций клеток крови (хемотаксис, фагоцитоз). Воспалительная реакция повреждает ткани, главным образом, в результате нарушения системы кровоснабжения [Korbelik M., 1996]. Как было показано рядом авторов, в опухолевой ткани сразу после окончания ФДТ можно наблюдать выраженное снижение кровотока. В сосудах микроциркуляции отмечается вазоконстрикция или вазодилатация, агрегация эритроцитов, стаз кровотока в опухолевых артериолах, тромбоз венул.

Микрососудистый коллапс, наблюдаемый при ФДТ, лежит в основе опухолевой гипоксии/аноксии (Chen G. Et all, 1996; Doughrti T.J. et all, 1998; Henderson B.W. et all, 1995; Roberts D.J., Cairnduff F., 1995; de Vree W.J., Essers M.C., at all, 199). Рядом исследований показано, что пусковым механизмом сосудистых эффектов ФДТ является: изменение метаболизма и последующий некроз эндотелиальных клеток, приводящий к их сепарации (Berenbaum M.C. et all, 1996; Reed M.W., Wieman T.J., at all, 1989). Помимо эндотелия, деструктивные изменения затрагивают и другие компоненты сосудистой стенки, в частности, коллагеновые волокна экстрацеллюлярного матрикса (Гельфонд М.Л., 2007). Ведущую роль в повреждении клеток сосудов и изменении микроциркуляции при ФДТ играют медиаторы воспаления, продуцируемые, в основном, клетками миелоидного ряда (синглетный кислород, цитокины, простагландины и тромбоксаны) (Doughrti T.J., Tracker J.D., at all, 1992). Эти вещества оказывают влияние на тонус сосудов, вызывают активацию факторов свертывания крови, агрегацию тромбоцитов (Кац В.А. с соавторами, 1992; Berenbaum M.C. et all, 1986; Fingar V.H., et all, 1990; Henderson B.W., Dougherti T.J. 1992; Reed M.W., Wieman T.J., at all, 1989).

Фотоокисление липидов, белков мембран клеток, сосудов опухоли является основным и наиболее существенным нарушением, которое индуцирует ФДТ в опухолях при использовании различных ФС (Korbelik M., Krosi G., 1994). Эти деструктивные изменения вызывают активацию фосфолипаз и ускоренную деградацию поврежденных мембранных фосфолипидов (Agarwal M.L. et al, 1993). Массивное высвобождение фрагментов мембранных липидов и образование производных арахидоновой кислоты (тромбоксан, простагландины, лейкотриены) способствуют привлечению и активации клеток-эффекторов воспаления. Хемоаттрактантными свойствами обладают также формилпептиды, образующиеся в результате протеолиза белков в месте повреждения, компоненты комплемента, цитокины (IL-1, IL-6, IL-10, TNF α , G-CSF) (Cecic I., Korbelik M., 2002). Аккумуляция клеток миелоидного ряда является ключевым событием развития воспалительной реакции в ткани опухоли после ФДТ. Последовательность этапов данного процесса представлена на рисунке №4.

Первыми клетками иммунной системы, поступающими вместо локализации опухоли, являются нейтрофилы (Krosi G., Korbelik M., Dougherty, 1995). Накапливаясь в сосудах и периваскулярной области, нейтрофилы выделяют токсические продукты метаболизма кислорода и лизосомальные ферменты, индуцирующие повреждение сосудов опухоли и опухолевых клеток (Korbelik M, Cacic I., 1999; Wieman T.J. et al, 1988). Нейтрофилы усиливают процесс иммунного воспаления и модулируют активность Т- и В- клеток посредством синтеза ряда цитокинов (IL-1, IL-6, TNF α) (Cassatella M.A. 1999; Lloyd A.R., 1992; Oehler L.O., 1998). Активизированные нейтрофилы быстро разрушаются с выделением хемотаксических факторов, привлекающих другие клетки, участвующие в процессе воспаления. Вслед за протекновением в опухоль нейтрофилов, в ней повышается количество тучных клеток (Krosi G., Korbelik M., Dougherty T.J., 1995). Высвобождение содержимого гранул тучных клеток и хемоаттрактантов "погибших" нейтрофилов является сигналом для следующей волны инвазии воспалительными клетками, включая макрофаги и моноциты. В работе Bugelski P.J. с соавторами было показано, что макрофаги играют важную роль в дальнейшем развитии процесса в опухолевой ткани. Обнаружено, что клетки стромы, наиболее длительно задерживающие препарат – макрофаги. Эти данные согласуются с результатами Krosi G. (Bugelski P.J., Porter C.W., Dougherty T.J., 1981; Krosi G., Korbelik M. 1994; Krosi G. et al, 1994). Установлено, что опухоль - ассоциированные макрофаги способны накапливать в 9 раз больше порфиринов, чем клетки опухоли (Hamblin M.R., Newman E.L., 1994). Избирательное накопление красителя макрофагами, как полагают, связано с их способностью захватывать липопротеины низкой плотности, которые являются переносчиками ФС в кровеносном русле. Повышение противоопухолевой активности макрофагов после ФДТ продемонстрировано в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* (Qin B. et al, 1993; Wieman T.J. et al, 1988). Эффект ингибирования опухолевого роста достигается в результате секреции токсичных для опухолевых клеток продуктов (АФК, лизосомальных ферментов, провоспалительных цитокинов), повышения фагоцитарной и киллерной активности макрофагов.

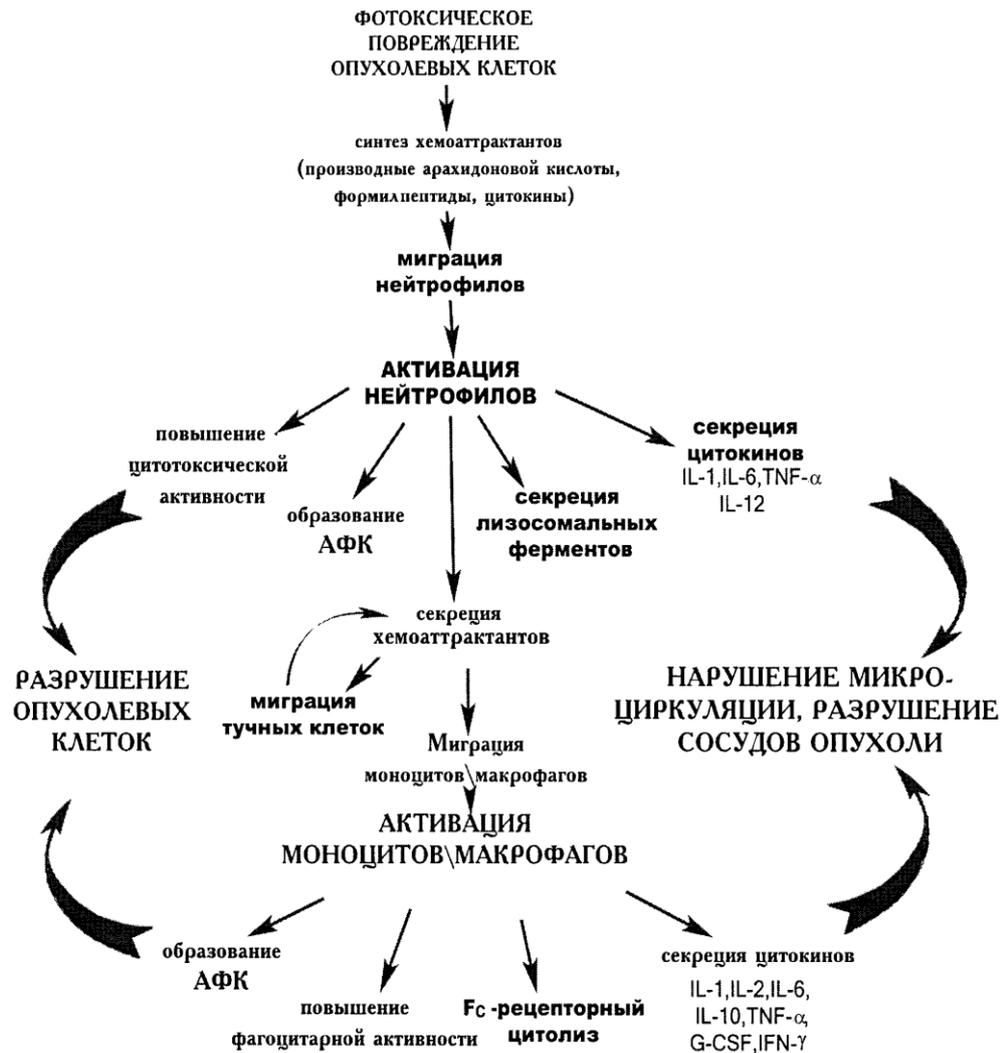


Рисунок 4 - Активация клеток миелоидного ряда и развитие воспалительной реакции после фотодинамического воздействия (Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д., 2003)

Так показано, что проведение ФДТ с мета- тетра- (гидроксиферил) хлорином вызывало повышение поглотительной способности макрофагов, синтез TNF и продукции оксидов азота, цитотоксическую активность клеток (Coutier S. et all, 1999). Облучение макрофагов в присутствии лимфоцитов приводило к увеличению их Fc-рецепторной активности (Wieman T.J. et all, 1988). Эффект зависел от дозы ФС и длительности облучения. Показано, что ФДТ с гематопорфиринами потенцировало цитотоксическую активность макрофагов *in vitro* в отношении опухолей A549 и SCCVII (Korbelik M., Krosi G., 1994). В то же время фотодинамическое воздействие вызывало лишь слабую стимуляцию активности

макрофагов в культуре нормальных клеток почки. Предполагается, что макрофаги способны распознавать в опухолевых клетках потенциально репарируемые повреждения, индуцированные ФДТ, такие, например, как специфически измененные липидные фрагменты клеточных мембран, что помогает им идентифицировать их как клетки мишени. Повышение цитотоксической активности макрофагов при ФДТ, по-видимому, носит опосредованный характер. В пользу этого свидетельствуют данные о том, что фотодинамическое воздействие *in vitro*, с использованием препарата гематопорфирина Фотоксан на высокоочищенную популяцию макрофагов, не приводило к индукции цитотоксичности макрофагов в отношении опухолевых клеток YAC-1 (Reiter I. et al, 1999). Вероятно, сигналом активации макрофагов при ФДТ является узнавание и фагоцитоз разрушенных опухолевых клеток. Развитие ФДТ - индуцированного воспаления сопровождается повышением синтеза фагоцитирующими макрофагами широкого спектра цитокинов: IL-1, IL-2, IL-10, IL-6, G-CSF, TNF- α , IFN- γ . (Coutier S. et al, 1999; Evans S. et al, 1990; Gollnick S.O. et al, 1997; Gomer C.J. et al, 1996; Herman S. et al, 1996). Известно, что эти медиаторы контролируют критически важные этапы воспалительного процесса: индуцируют прокоагулянтную активность макрофагов и эндотелиоцитов, синтез адгезивных молекул, хемоаттракцию лейкоцитов в очаг воспаления, стимулируют цитотоксичность гранулоцитов и макрофагов, усиливают фагоцитоз. Макрофагальные цитокины вовлекают в воспалительный процесс полиморфноядерные лейкоциты, эндотелиальные и другие клетки. Накопление нейтрофилов в ткани опухоли, повышение активности нейтрофилов и макрофагов, индуцированные ФДТ, существенны для получения положительных клинических результатов (Coutier S. et al, 1999; Korbelik M, Cestic I., 1999). Эти данные подтверждаются результатами исследований с использованием экспериментальных опухолевых моделей. Так установлено, что удаление циркулирующих нейтрофилов, у мышей с трансплантированными опухолями с помощью моноклональных ант-GR1, и инактивация макрофагов, препаратами силикона, уменьшает лечебный эффект ФДТ (Korbelik M, Cestic I., 1999). Таким

образом, лечебные свойства ФДТ, помимо направленного цитотоксического эффекта, являются результатом инициированным окислительным стрессом вторичной опухолюцидной активности. Вторичные эффекты включают развитие воспалительной реакции, окклюзию сосудов опухоли и индукцию цитотоксической активности клеток воспаления в отношении опухолевых клеток.

Другим важным компонентом вторичного ответа являются опухолеспецифические иммунные реакции. Интенсивное разрушение клеток при ФДТ опухоли, опосредованное описанными выше механизмами, приводит к формированию противоопухолевого иммунитета. По мнению авторов работы Doughrti T.J. et al., развитие специфической иммунной реакции включает несколько этапов. Первым этапом является активация опухоль - ассоциированных макрофагов и дендритных клеток, рекрутированных в область опухолевого узла медиаторами воспаления (рисунок №5) (Doughrti T.J. et al., 1998).

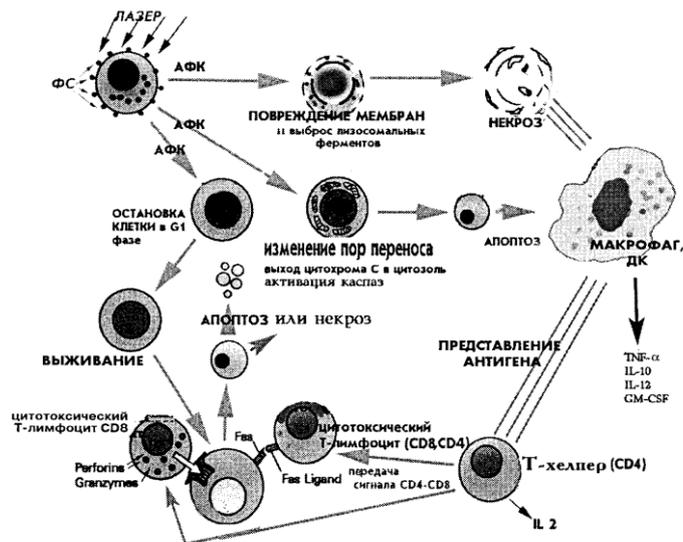


Рисунок 5 - Стадии развития специфического иммунного ответа после проведения ФДТ (Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д., 2003)

Эти клетки принимают участие в представлении иммунокомпетентным клеткам антигенов убитых или поврежденных ФДТ опухолевых клеток, а также продуктов воспалительной деструкции опухолевой ткани. Антигенпредставляющие клетки (АПК) осуществляют процессинг опухолевых антигенов и презентируют их на своих мембранах в комплексе с антигенами ГКГС.

Представление опухолевых антигенов сопровождается стимуляцией Т - хелперов, которые, в свою очередь, индуцируют процесс формирования популяции опухолевых специфических цитотоксических Т - клеток. Активированные цитотоксические Т-лимфоциты взаимодействуют с опухолевой клеткой, вызывая ее гибель посредством двух основных механизмов. При контакте CD8⁺ Т-лимфоцитов, перфорин и гранзимсодержащие гранулы этих клеток высвобождают свое содержимое в щель между цитотоксической клеткой и ее мишенью, вызывая разрушение клетки - мишени.

Второй механизм цитотоксического действия заключается в передаче сигнала апоптоза через FAS - лиганд, содержащийся на поверхности активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т- лимфоцитов. Важной особенностью ФДТ - индуцированного иммунного ответа является доминирование клеточного звена. Показано, что лизаты опухолевых клеток, обработанных ФДТ, обладают высокой иммуногенностью и активируют преимущественно Т-клеточный иммунитет (Gollnick S.O. et all, 2002). Популяции сенсibilизированных лимфоцитов имеют существенное значение для предотвращения роста опухоли, подвергнутой ФДТ. Селективная элиминация цитологических Т - клеток макрофагов и нейтрофилов, непосредственно после ФДТ, приводила к существенному снижению противоопухолевого эффекта терапии (Korbelik M, Sestic I., 1999). Аналогичные результаты наблюдались после селективной элиминации Т - хелперов. Установлено, что CD8⁺ Т - клетки необходимы для предотвращения рецидива опухоли после проведения ФДТ. Проведение ФДТ с применением бензофенотиазина ингибировало рост фибросаркомы ЕМТ-6 у 75% мышей, но не влияло на рост опухоли у Т - дефицитных мышей. Селективное удаление Т - клеток с использованием CD8⁺ антител снижало эффективность терапии (Hendrzak-Henionj.A. et all, 1999). ФДТ – индуцированный иммунитет вносит значительный вклад в отдаленные противоопухолевые эффекты фотодинамического воздействия. В работе Korbelik M. было показано, что адаптивный перенос сенсibilизированных к ЕМТ6 опухолевым клеткам спленоцитов BALB/c мышей, излеченных после ФДТ, вызывали ингибирование роста опухоли при проведении

ФДТ с использованием фотофрина. Лечебный эффект наблюдался как у мышей с острым комбинированным иммунодефицитом (*severe combined immunodeficient, SCID*), так и у иммунокомпетентных мышей линии BALB/c. Восстановление иммунодефицита у SCID мышей с EMT6 опухолью спленоцитами от иммунологически интактных BALB/c мышей не улучшало эффекта ФДТ. Селективное удаление популяции специфических Т - клеток из трансплантируемых спленоцитов показало, что основными клетками эффекторами, ответственными за лечебный эффект ФДТ, являются цитологические лимфоциты, в то время, как Т – хелперы играют роль посредников (Korbelik M., Dougherty G.J., 1998).

ФДТ индуцированная активность сенсibilизированных к опухолевым антигенам лимфоцитов не ограничивается областью воздействия и затрагивает метастазирующие опухолевые клетки. Так, у мышей с полной регрессией опухоли EMT6 после ФДТ наблюдали ингибирование роста опухоли после повторной прививки опухолевых клеток (Hendrzak-Henionj.A. et all, 1999). Проведение ФДТ в комплексе с иммунотерапией вызывало формирование противоопухолевой резистентности к вторичной прививке опухолевых клеток, увеличение времени жизни животных и уменьшение количества метастазов (Chen W.R. et all, 1997).

Ряд данных свидетельствует о важной роли, которую играют в процессе ингибирования опухолевого роста натуральные киллеры (НК). Показана активация НК - клеток после проведения ФДТ у экспериментальных животных с Meth-A саркомой (Korbelik M., Dougherty G.J., 1998). Удаление натуральных киллеров (НК) *in vivo* с помощью anti-asialo-GM1 антител значительно уменьшало эффект ФДТ с применением бензофенотиазина. Однако НК селезенки, донорами которых были мыши-опухоленосители после ФДТ, не оказывали цитотоксического эффекта в отношении EMT6 опухолевых клеток *in vitro*, что свидетельствует об опосредованном характере эффекта (Hendrzak-Henionj.A. et all, 1999).

Схематическое изображение механизмов противоопухолевых эффектов ФДТ представлено на рисунке №6. Вклад того или иного звена в формирование противоопухолевого иммунитета, как можно предполагать, зависит от типа используемого ФС и специфических особенностей опухоли.



Рисунок 6 - Основные механизмы противоопухолевого эффекта ФДТ (Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д., 2003)

Принцип метода флуоресцентной диагностики

Для флуоресцентной диагностики используются вещества, которые, наряду со способностью селективно накапливаться в патологических тканях, обладают флуоресценцией, т. е. при освещении их светом лазера одной длины волны они сами излучают свет другой длины волны. Причем, чем больше накопление этих веществ, тем больше интенсивность флуоресценции. Фотосенсибилизаторы так же обладают флуоресценцией, и по интенсивности флуоресцентного сигнала судят как о степени накопления их в опухолевой ткани, что позволяет оценить целесообразность проведения фотодинамической терапии, так и о размерах, форме опухоли и возможном ее прорастании в здоровую окружающую ткань. Степень накопления (концентрация) фотосенсибилизатора обычно определяется путем точечных измерений флуоресценции с помощью спектральной установки в тех участках ткани, которые интересуют врача, а для визуализации флуоресценции опухолевой ткани используются приборы со специальными видеокамерами,

позволяющими видеть на экране монитора флуоресцентное свечение опухоли и, соответственно, ее очертания (Соколов В.В., Странадко Е.Ф., Жаркова Н.Н.).

Методом флуоресцентной диагностики (ФД) мы можем исследовать либо собственную флуоресценцию интересующих нас участков биологической ткани, либо флуоресценцию экзогенных флуорохромов (красителей), в том числе и тех препаратов (фотосенсибилизаторов), которые используются для фотодинамической терапии. Любой из этих методов предполагает возможность проведения измерений и анализа спектральных свойств оптического сигнала, полученного от ткани (Загайнова Е. В.).

Флуоресцентная диагностика, с использованием фотосенсибилизатора Фотодитазин, проводится на любом типе аппаратуры, обеспечивающем возбуждение флуоресценции на длине волны 633 нм или 405 нм.

Средняя мощность лазерного излучения 2 мВт, плотность энергии локального лазерного облучения на поверхности тканей в процессе одного обследования 1 Дж/см², что существенно ниже уровня индуцирования необратимых фотодинамических повреждений тканей, нежелательных при диагностических исследованиях. Определяется интенсивность флуоресценции фотосенсибилизатора в опухоли и окружающей ткани как до процедуры облучения, в процессе ФДТ, так и после сеанса лечения, для контроля терапевтического воздействия. Возможно так же определять интенсивность флуоресценции фотосенсибилизатора в коже после завершения ФДТ для коррекции светового режима больного.

Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии саркомы мягких тканей

К саркомам мягких тканей (СМТ) относят злокачественные опухоли из не эпителиальных вне скелетных тканей, за исключением опухолей из ретикуло-эндотелиальной системы, глии и опорной соединительной ткани органов. К мягким

тканям конечностей и туловища принадлежат подкожная жировая клетчатка, фасции, сухожильные растяжения, рыхлая жировая межмышечная клетчатка, внутримышечные и периневральные соединительнотканые прослойки, синовиальная ткань, сосуды, а также поперечнополосатые мышцы и оболочки периферических нервов. В данную группу не включают лимфоидную ткань, кожу, паренхиматозные органы, такни ЦНС, ганглии и параганглиозные структуры. Сходство гистопатологических характеристик, закономерностей развития и клинического течения позволило отнести все типы данных опухолей в одну группу – саркомы, которые характеризуются агрессивным прорастанием в окружающие ткани и метастазированием (Шугабейкер П.Х., Малауэр М. М. 1996).

Саркомы мягких тканей – это мезенхимальные мягкотканые злокачественные опухоли наружных тканей, которые локализуются в различных областях тела животного, наиболее часто в подмышечной области, в области конечностей, спины, у кошек чаще в области холки. СМТ характеризуются инвазивным ростом в окружающие ткани, образованием псевдокапсулы, наличием за ее пределами сателлитных опухолевых очагов. По данным Ehrhart N.E. 2005 г., высокозлокачественные (низкодеферинцированные) саркомы у собак метастазируют в 40-50% случаев, в то время как метастатический потенциал сарком, с низкой или средней степенью злокачественности, составляет менее 20% (Ehrhart N.E., 2005). В публикациях Hendrick M.J. и Brooks J.J. 1994 г., метастазирование фибросарком у кошек происходит относительно редко, в 15–22% случаев (Hendrick M.J., Brooks J.J., 1994). По нашим данным, метастазирование СМТ наблюдается не более чем в 20% случаев, при этом саркомы чаще рецидивируют после нерадикального удаления и устойчивы к химиотерапии. Основным методом лечения не метастатической СМТ является хирургический.

Особый интерес представляет использование метода фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении сарком мягких тканей сложной локализации, например, саркомы ротовой, носовой полости или области с дефицитом тканей (голова, некоторые области конечностей). Данные локализации представляют сложность для хирургии, так как невозможно провести органосохранную операцию

ввиду дефицита тканей, что не позволяет полноценно удалить опухоль. Поэтому операции таких опухолей у животных, как правило, носят паллиативный характер. Метод ФДТ имеет хорошие перспективы при лечении подобных опухолей в условиях дефицита тканей, в качестве органосохраняющего метода лечения.

Классификация ВОЗ сарком мягких тканей у домашних животных

Злокачественные опухоли фиброзной ткани.

1. Фибросаркома:

- а) поствакцинальная (постинъекционная) саркома кошек;
- б) высокодифференцированная саркома верхней и нижней челюсти собак.

2. Миксосаркома.

3. Злокачественная фиброзная гистиоцитома:

- а) веретеновидно-плеоморфный клеточный тип;
- б) воспалительная;
- в) гигантоклеточная.

Злокачественные опухоли жировой ткани.

1. Липосаркома:

- а) высокодифференцированная;
- б) плеоморфная;
- в) миксоидная.

Злокачественные гладкомышечные опухоли.

1. Лейомиосаркома.

Злокачественные опухоли поперечнополосатых мышц.

1. Рабдомиосаркома.

2. Ангиосаркома вентральной брюшной стенки кошек.

Злокачественные опухоли периферических нервов.

Злокачественные опухоли оболочки периферических нервов и подкожной жировой клетчатки (нейро-фибросаркома, злокачественная шваннома).

Злокачественные опухоли синовиальных оболочек.

1. Синовиальная саркома.

Злокачественные гистиоцитарные опухоли.

1. Злокачественный гистиоцитоз.

Злокачественные неклассифицированные опухоли.

1. Гемангиоперицитома собак.

2. Злокачественная мезенхимома.

Гистологические подтипы сарком мягких тканей.

а. Фибросаркома.

б. Липосаркома.

в. Миксосаркома.

г. Злокачественная фиброзная гистиоцитома.

д. Нейрофибросаркома \ шваннома.

е. Лейомиосаркома.

ё. Рабдомиосаркома.

ж. Гемангиоперицитома.

TNM классификация сарком мягких тканей

T – размер опухоли

T₁ – размер опухоли <2 см в максимальном диаметре.

T₂ – размер опухоли 2-5 см в максимальном диаметре.

T₃ – размер опухоли >5 см в максимальном диаметре.

T₄ – опухоль инвазирует подлежащие ткани (фасции, мышцы, костную и хрящевую ткань).

N – признаки метастазирования в регионарные лимфатические узлы

N_x – признаки метастазирования не определены.

N₀ – нет признаков метастазирования в регионарные лимфатические узлы.

N₁ - есть признаки метастазирования в регионарные лимфатические узлы.

M – признаки отдаленного метастазирования

M_x - признаки отдаленного метастазирования не определены.

M_0 - нет признаков отдаленного метастазирования.

M_1 - есть признаки отдаленного метастазирования (таблица №1).

Таблица 1 - Стадирование сарком мягких тканей исходя из TNM классификации

Стадия СМТ	T	N	M
I			
IA	T ₁	N ₀	M ₀
IB	T ₂	N ₀	M ₀
II			
IIA	T ₃	N ₀	M ₀
IIB	T ₄	N ₀	M ₀
III			
IIIA	Любое T	N ₁	M ₀
IIIB	Любое T	Любая N	M ₁

Лечение сарком мягких тканей животных при помощи фотодинамической терапии

В 2003 году Ярославцева-Исаева Е. В. с соавторами провели исследования по разработке методики локального введения фотосенсибилизатора (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ), в эксперименте на саркоме М-1. В исследование было включено 39 беспородных крыс самцов с перевитой под кожу бедра саркомой М-1. В качестве ФС использовали 0,35% и 0,29% Фотодитазин (N-метилглюками-новая соль хлорина Е6), для лазерного облучения применяли аппараты «Милтон» и «Ламеда» со следующими параметрами: длина волны излучения 662 нм; выходная мощность 2 Вт и 1,5 Вт соответственно; плотность мощности применяли от 0,39 Вт/см до 0,47 Вт/см. Размер опухоли был 0,7 – 1,3 см

в большем диаметре, введение ФС в опухоль проводили в 1-2 точки. Авторы получили следующие результаты:

при использовании дозы лазерного облучения 300 Дж/см^2 и дозы ФС $1,75 \text{ мг/см}^3$ коэффициент абсолютного прироста опухоли на 21 сутки после облучения практически не отличался от данных контрольной группы, ни у одного животного не наблюдалось полной регрессии (ПР);

при использовании дозы лазерного облучения 600 Дж/см^2 и дозы ФС $1,75 \text{ мг/см}^3$ коэффициент абсолютного прироста опухоли на 21 сутки после облучения уменьшился в 4 раза по сравнению с данными контрольной группы, наблюдалась ПР опухоли у 6 из 9 животных, что составило 66,6%;

при использовании дозы лазерного облучения 600 Дж/см^2 и дозы ФС $0,36 \text{ мг/см}^3$ коэффициент абсолютного прироста опухоли на 21 сутки после облучения уменьшился в 2 раза по сравнению с данными контрольной группы, наблюдалась ПР опухоли у 5 из 10 животных, что составило 50%;

при использовании дозы лазерного облучения 900 Дж/см^2 и дозы ФС $1,44 \text{ мг/см}^3$ коэффициент абсолютного прироста опухоли на 21 сутки после облучения уменьшился в 9 раз по сравнению с данными контрольной группы, наблюдалась ПР опухоли у 6 из 10 животных, что составило 60%. Исходя из полученных данных, Ярославцева-Исаева Е. В. с соавторами сделали следующие выводы: оптимальная доза ФС вводимого локально в опухоль составляет $1,44 - 1,75 \text{ мг/см}^3$ и доза лазерного облучения 600 Дж/см^2 , ПР саркомы М-1 в данном случае достигает в 66,7 % случаев (Ярославцева-Исаева Е. В. и соавт., 2003).

В 2005 году Спиченкова И. С. провела экспериментальное исследование по применению сочетанного воздействия ФДТ и рентгенотерапии для лечения саркомы М-1. Исследования проводились на 244 самках беспородных крыс, достигших массы тела 130-230 г. Опухоль перевивали под кожу бедра. Животных брали в опыт на 8-14 сутки, когда объем опухоли достигал в среднем $0,4 \text{ см}^3$. В качестве ФС использовали Фотодитазин, который вводили внутривентриально, в дозе от 2,5 до 10 мг/кг. Перед сеансом ФДТ шерстный покров в зоне роста опухоли депилировали, за 10 мин. до облучения животных наркотизировали. Для облучения

использовали полупроводниковые лазерные аппараты «Ламеда» и «Аткус-2» (длина волны 662 нм). Для доставки лазерного излучения использовали гибкие кварцевые моноволоконные торцевые световоды диаметром 600 мкм или такие же световоды с линзой на конце. Лазерное облучение проводили перпендикулярно к поверхности опухоли. Границы поля облучения формировали с захватом здоровых тканей, не менее 2-4 мм от видимой или пальпируемой границы опухоли. Облучение проводили однократно, через 3 часа после введения ФС, одним, реже двумя полями (в зависимости от размеров и конфигурации опухоли). Плотность энергии лазерного излучения составляла от 300 до 500 Дж/см². Близкофокусную лучевую терапию проводили на рентгеновской установке РУМ-7 (и = 40 кВ, I = 15 мА, диаметр тубуса 30 мм, кожно-фокусное расстояние 75 мм) в двух режимах: на фильтре 0,15 А1, с разовой поглощенной дозой (РОД) 10 Гр (одно-, двух- и трехкратное облучение ежедневно) и на фильтре 1.44 А1 с РОД 5 Гр (четырёх-, пяти- и шестикратное облучение ежедневно). Мощность экспозиционной дозы по оси пучка измеряли с помощью дозиметра КД-114 №147 со сферической камерой. Погрешность измерений составила 10 %. Животное фиксировали на специальном планшете таким образом, чтобы опухоль была направлена перпендикулярно вверх. Исходя из проведенных исследований, сделаны следующие выводы: увеличение дозы Фотодитазина при ФДТ от 2,5 до 10 мг/кг, при плотности энергии лазерного излучения в 300 Дж/см² - повышается эффективность лечения в 2,5 раза, а увеличение плотности энергии лазерного излучения от 300 до 500 Дж/см² при дозе ФС 5 мг/кг повышает эффективность лечения в 1,8 раза (по проценту ПР опухолей). Сочетанная терапия саркомы М1 рентгенотерапией с СОД от 10 до 30 Гр при РОД 10 Гр и ФДТ (доза ФС 2,5 мг/кг, плотность энергии 300 Дж/см²), проведенная на первые сутки после рентгеновского облучения, увеличивает эффективность лечения по сравнению с самостоятельным применением этих методов, а при СОД 20 и 30 Гр позволяет получить ПР опухолей в 100% случаев. Эффективность сочетанной терапии саркомы М1 зависит от дозы ФС, последовательности применения ФДТ и рентгенотерапии, а в случае использования вначале ФДТ - от сроков проведения после нее рентгенотерапии. Оптимальным является

использование ФС в дозе 5,0 мг/кг, применение в первую очередь рентгенотерапии, или проведение ее на 1 сутки после ФДТ. Разработанный метод сочетанной ФДТ и рентгенотерапии саркомы М1 позволяет повысить эффективность лечения при снижении дозы ионизирующего излучения до 5 Гр однократно и получить ПР регрессию опухолей у всех животных в группе (Спиченкова И. С., 2005).

В 2006 году Молочков В.А. с соавторами изучали влияние плотности световой энергии на морфофункциональные показатели саркомы М-1 после ФДТ с Фотодитазином. Данные исследования показали, что в диапазоне 150-600 Дж/см² дозовые зависимости снижения пролиферативной активности опухолевых клеток по proliferating cell nuclear antigen (PCNA) носят нелинейный характер. После ФДТ с Фотодитазином в ранние сроки основным способом гибели опухолевых клеток являются прямой фотокоагуляционный некроз, обусловленный деструкцией сенсibilизированных клеточных структур, и ишемический некроз, развивающийся в результате повреждения и разрушения сосудистого русла опухоли. Также авторы сделали вывод, что уровень индуцированного апоптоза практически не зависит от подведенной плотности световой энергии (Молочков В.А. и соавт., 2006).

В 2007 году Романко Ю.С. с соавторами в эксперименте на крысах показали эффективность ФДТ саркомы М-1 с использованием ФС хлоринового ряда Фотодитазина (N-метилглюками-новая соль хлорина Е6). Эффект ФДТ с фотодитазином составил 100%, с полной резорбцией опухолей у животных, при плотности энергии 600 Дж/см². В то же время при плотности энергии 600 Дж/см², через 3 ч на коже, над и вокруг опухоли, определяется выраженный фотохимический ожог. Авторы сделали вывод, что при такой плотности энергии появляются серьезные повреждения тканей, окружающих опухоль. Поэтому применять столь высокую плотность энергии в клинической практике не рекомендуется, следует ограничиваться максимальной плотностью энергии 300 Дж/см² (Романко Ю. С. И соавт., 2007).

В 2009 году Черемисов В.В. провел исследование по изучению интраоперационной ФДТ при неорганных опухолях забрюшинного пространства,

в том числе сарком. Целью работы было улучшение непосредственных и отдаленных результатов хирургического лечения больных первичными и рецидивными неорганными опухолями забрюшинного пространства. В результате проведенных исследований Черемисов В. В. делает вывод о том, что интраоперационная ФДТ при неорганных опухолях забрюшинного пространства не вызывает интра- и послеоперационных осложнений, фотосенсибилизаторы Фотогем и Радохлорин имеют высокую тропность к ткани сарком забрюшинной локализации, что подтверждается методом локальной флюоресцентной спектроскопии. При этом он указывает, что для оценки эффективности ФДТ, в качестве метода повышения абластики при оперативных вмешательствах по поводу внеорганных злокачественных опухолей, требуется набор клинического материала и необходимы дополнительные исследования (Черемисов В. В. 2009).

В 2010 году Скугарева О. А. исследовала эффективность интерстициальной ФДТ с фотосенсибилизатором Фотолон в экспериментальных условиях. Эксперимент был выполнен на 236 половозрелых самках белых беспородных крыс. В качестве объекта исследования использовали саркому М-1, средний объем опухоли составил от 0,25 до 0,65 см³. В контрольную группу входили интактные крысы-опухоленосители, не подвергавшиеся никакому воздействию. В работе использовали ФС хлоринового ряда - Фотолон, который вводили внутривентриально в дозе 5 мг/кг за 2 часа до облучения. Источником излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Латус-0,4» (ЗАО «Полупроводниковые приборы», г. Санкт - Петербург), длина волны излучения аппарата 661 ± 1 нм, с диапазоном выходной мощности лазерного излучения от 0,01 до 0,4 Вт. Для подведения лазерного излучения использовали световоды с гибким цилиндрическим диффузором длиной 1,0 и 1,5 см (ООО «Полироник», г. Москва), оптическое волокно (кварц-полимерное) с диаметром световода 600 мкм, диаметр диффузора 900 мкм. Дозу световой энергии рассчитывали на 1,0 см длины диффузора (Е, Дж/см) по формуле: $E = t \times P$, где P - выходная мощность (Вт), t— время (сек). При отработке методики использовали следующие параметры: при установке 1 световода, с длиной диффузора 1,0 см, выходная мощность лазерного

излучения составляла 100, 200 и 300 мВт, время воздействия 10, 15, 20, 25 мин, доза лазерного излучения варьировала от 90 до 300 Дж/см. Исходя из полученных данных, автор сделал следующие выводы: оптимальными параметрами воздействия при расстоянии между диффузорами 7-8 мм являются выходная мощность 100-125 мВт; время воздействия 25 минут; доза лазерного излучения 120-150 Дж/см. При таких параметрах частота ПР опухоли составила 80-82 % и не сопровождалась существенными повреждениями окружающих здоровых тканей. В то же время, при использовании диффузора длиной 1,0 см, выходной мощности более 200 мВт и дозы лазерного излучения 240-300 Дж/см, наряду с незначительным повышением эффективности процедуры регистрируются грубые изменения окружающих здоровых тканей (Скугарева О. А., 2010).

В 2011 году Кармакова Т.А. с соавторами на модели перевивной саркомы мышей S-37 показали, что применение в терапевтических дозах противовоспалительных средств Кетонал и Контрикал после ФДТ не только снижает выраженность фотоиндуцированных местных тканевых реакций, но и в определенных режимах может потенцировать терапевтический эффект лечения как в отношении роста первичной опухоли, так и в отношении метастазирования. Наиболее существенное увеличение противоопухолевого эффекта ФДТ наблюдали при двукратном совместном введении Кетонала и Контрикала через 1 и 5 ч после светового воздействия. Исследование микрососудистого русла в зоне роста опухоли методом иммуногистохимии с антителами к эндотелию сосудов (анти-CD31) показало, что при применении Кетонала и Контрикала в указанном режиме после ФДТ дает торможение процессов неоваскуляризации в области воздействия. Авторы предположили, что потенцирование противоопухолевого эффекта ФДТ, при введении нестероидных противовоспалительных средств, может быть вызвано ингибированием медиаторов эксудативной фазы фотоиндуцированного неспецифического воспаления, обусловленной этим задержкой регенераторной пролиферации микрососудов и пролонгированной ишемией поврежденной ткани (Кармакова Т. А., Воронцова М. С., Венедиктова Ю. Б., Якубовская Р. И. 2011).

В 2011 году Смирнова З.С. с соавторами изучали противоопухолевую активность ФДТ с использованием ФС Тиосенса - тетра-3- фенилтиофталоцианин алюминия гидроксид (ЛЛЛФ), синтезированного в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», с ближним инфракрасным диапазоном. Исследование проводили на нескольких перевиваемых опухолях мышей, а именно на опухоли Эрлиха, солидном варианте лимфоцитарной лейкемии Р- 388 и саркоме 37. Работа выполнена на мышах-гибридах первого поколения BDF1 (C57 Bl/6 × DBA/2), F1 (C57 Bl/6 × CBA) и беспородных мышах, самках и самцах, массой 20–25 г. Саркому 37 прививали беспородным мышам внутримышечно в область голени. На 4–6 день после перевивки, когда объем опухолевого узла составлял 700–900 мм³, мышам вводили фотосенсибилизатор ЛЛЛФ, который разводили 5,8 мл воды для инъекций и вводили однократно внутривенно в дозе 6 мг/кг. Через 5 ч после введения проводили облучение опухоли лазером «ЛФД-730-01-БИОСПЕК» с длиной волны 720 нм и режимом облучения 400 мВт/см² в течение 20 мин.

Авторы отмечают, что наиболее чувствительными опухолями к ФДТ с ЛЛЛФ Тиосенса являются: опухоль Эрлиха, солидный вариант лимфоцитарной лейкемии Р-388 и саркома 37, на которой высокое торможение роста опухоли сочетается с излечением у 33,3% животных. При изучении эффективности ФДТ с ЛЛЛФ Тиосенса на саркоме 37 авторы отметили, что с 4 дня после лазерного облучения, торможение роста опухоли начинает постепенно расти с 32%. На 8 день после ФДТ торможение роста саркомы 37 достигает статистически достоверных значений – 52%, а максимальное торможение роста опухоли наблюдается на 31 день и составляет 94%. При этом в связи с гибелью контрольных мышей, далее проследить за динамикой торможения роста опухоли авторам не представлялось возможным. Однако в процессе наблюдения за мышами с саркомой 37 в опытной группе 2 (33,3%) из 6 мышей были излечены. Также Смирнова З.С. с соавторами делают вывод, что комбинация ФДТ с другими методами лечения, например, лучевой терапией, химиотерапией и иммунотерапией, повышает эффективность лечения и увеличивает процент случаев ПР опухолей (Смирнова З.С. и соавт., 2011).

В 2012 году Морозова Н. Б. с соавторами *in vivo* исследовали Холосенс - замещенный фталоцианиновый комплекс, в качестве фотосенсибилизатора для ФДТ злокачественных новообразований. Фотосенсибилизатор Холосенс (октакис[N-(2-гидроксиэтил)-N,N,-диметиламмонийметил] фталоцианин цинка октахлорид) — $ZnPcChol8$ синтезирован во ФГУП ГНЦ «НИОПИК». Препарат вводили животным в дозах от 0,1 до 1,0 мг/кг внутривенно. В работе использовали мышей гибридов BDF1 самок с привитыми опухолями: карцинома легкого Льюис (LLC) и меланома B16 по 10 мг опухолевой ткани на мыш; саркома 37 (S37) по $0,9 \times 10^6$ клеток на мыш и мышей линии Balb/c самок с привитой аденокарциномой толстой кишки Colo26 (C26). Для облучения использовали светодиодный источник красного света с максимумом 685 нм (плотность мощности 100 мВт/см^2 , плотность энергии 45, 90, 135 и 180 Дж/см^2), диаметр светового пятна составил 1 см, время облучения 7,5—30 мин. Интервал между введением ФС и облучением составлял 5, 15, 30 и 60 мин. Холосенс вводили животным внутривенно в дозах 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мг/кг. При этом было установлено, что Холосенс мгновенно накапливается в тканях опухолей (карцинома легкого Льюис — LLC, аденокарцинома толстой кишки Colo26 — C26, саркома 37 — S37, меланома B16 — B16) с флюоресцентной контрастностью относительно окружающей ткани от 2 до 4 усл. ед. Максимум флюоресценции в опухоли с $\lambda_{\text{max}} = 696,5 \text{ нм}$ регистрировался через 5—30 мин после введения. Холосенс обладал высокой фотоиндуцированной активностью относительно опухолей различного генеза. Авторы применяли метод ФДТ в следующем режиме: доза Холосенса 0,5—1,0 мг/кг; интервал до облучения Δt 5—30 мин; плотность энергии 90—180 Дж/см^2 . При этом были показаны хорошие результаты лечения: торможение роста опухоли составляло 81,8—98,6%, увеличение продолжительности жизни относительно контроля 49,0 - 115,3%, критерий излеченности 25,0—66,7%. Наиболее чувствительны к ФДТ с Холосенсом были опухоли: карцинома легкого Льюис - LLC, аденокарцинома толстой кишки C26 и саркома S37. Морозова Н. Б. с соавторами отметили, что Холосенс является перспективным ФС для ФДТ злокачественных новообразований, а также для антимикробной ФДТ. Авторы установили, что

опухоли C26, LLC, S37 и B16 накапливают ZnPcChol8, при этом накопление ФС зависит от времени после введения, достигая максимума во всех опухолях через 15-60 мин после введения. Противоопухолевая эффективность ФДТ с Холосенсом зависит от дозы красителя. Дозы Холосенса применяли следующие - 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мг/кг при постоянном интервале времени между введением красителя и облучением ($\Delta t = 30$ мин) и плотности энергии (90 Дж/см²).

Также авторы установили, что увеличение дозы ZnPcChol8 с 0,1 до 1,0 мг/кг приводит к увеличению торможения роста опухоли соответственно с 18,4-29,5% до 85,0-90,7% во все сроки наблюдения, которые составляли 21 день. Противоопухолевая эффективность ФДТ, с использованием ZnPcChol8 в оптимальном режиме, при всех опухолях оказалась высокой. Торможение роста опухоли во все сроки наблюдения (18 суток) составило 86,2-98,0% для LLC, 81,8-90,2% для C26, 92,1-98,6% для саркомы S37. Морозова Н. Б. с соавторами показали высокую противоопухолевую активность ФДТ с Холосенсом в отношении опухолей различного гистогенеза при использовании оптимального режима проведения ФДТ. В зависимости от природы опухоли, торможение роста опухоли составило от 51,4 до 98,6%, увеличение продолжительности жизни от 7,3 до 115,3%. Также авторами проведено сравнение использования для проведения ФДТ Фотосенса и Фталосенса, которые в эффективных режимах позволяют получить у животных с опухолью LLC следующие результаты: для Фотосенса (доза 2-5 мг/кг, интервал Δt 0,25-4 ч, плотность энергии 90-180 Дж/см²) ТРО 81,2-100%, УПЖ - 46,5-53,9%, КИ — 14,0—20,0%; для Фталосенса (доза 0,5 мг/ кг, интервал Δt 2 ч, плотность энергии 90 Дж/см) составляет 100% (Морозова Н. Б. и соавт., 2012).

В 2013 Вашакмадзе Л.А. с соавторами исследовали использование интраоперационной фотодинамической терапии (иоФДТ) при неорганных забрюшинных опухолях, с целью повышения абластики и улучшения качества лечения. В исследование было включено 9 женщин и 8 мужчин в возрасте от 39 до 69 лет, у которых обнаружены следующие опухоли: у 9 больных липосаркомы; у 4 лейомиосаркомы; у 2 гастроинтестинальная стромальная опухоль (ГИСО); у 1 нейrogenная опухоль; у 1 гемангиоперицитома. В качестве ФС у 5 больных

использовали Фотогем (8 курсов иоФДТ), у 7 – Радахлорин (8 курсов иоФДТ), у 5 – Фотодитазин (6 курсов иоФДТ). Фотосенсибилизаторы вводили внутривенно: Фотогем в дозе 2,5–3,0 мг/кг массы тела за 48 ч до операции, Радахлорин и Фотодитазин в дозе 0,5–0,7 и 0,7–1,0 мг/кг массы тела соответственно за 2–3 ч до начала резекционного этапа операции. Сеанс ФДТ проводили на ложе опухоли после ее полного удаления в пределах здоровых тканей. С помощью операционного белья моделировали поле для облучения, а также экранировали петли тонкой кишки. ФДТ проводили из одной или нескольких позиций в зависимости от площади и конфигурации поля облучения. Плотность энергии облучения составила 30 Дж/см². Время экспозиции и количество позиций рассчитывали в зависимости от заданной площади облучения. Рецидив заболевания после хирургического лечения с сеансами иоФДТ развился у 6 (35,3%) из 17 больных в сроки от 2 до 6 мес. У 3 (50%) больных из 6 развился местный рецидив заболевания через 2, 4 и 6 месяца после лечения (операция + иоФДТ). У 3 больных рецидив диагностирован через 2, 5 и 6 месяцев после лечения (операция + иоФДТ) в другой анатомической зоне брюшинного пространства, не подвергавшейся воздействию ФДТ. Таким образом, частота местного рецидивирования в группе больных с иоФДТ составила 17,6% (Вашакмадзе Л.А. и соавт., 2013).

В 2014 году Истомин Ю.П. с соавторами изучали лекарственную форму фотосенсибилизатора Фотолон для местного применения, который был разработан и внедрен в промышленное производство на РУП «Белмедпрепараты» (Минск, Республика Беларусь). В экспериментах на лабораторных животных авторы показали, что локальная аппликация мази Фотолон® и последующее фотооблучение лазером с длиной волны 665 нм приводит к разрушению тканей перевивных опухолей крыс саркомы М-1 и альвеолярного рака печени РС-1 (Истомин Ю.П. и соавт., 2014).

В 2015 году Малыгина А.И. и соавторы провели исследование фотосенсибилизаторов Амидоаминхлорина и Липосомального амидоаминхлорина (которые являются химической модификацией хлорина еб) для лечения методом ФДТ экспериментальной модели опухоли у крыс с саркомой М-1.

Фотосенсибилизаторы вводили внутривенно и через 3,5 часов проводили облучение. В опыт крыс брали на 7-9 день, когда опухоль достигала в диаметре 0,7-1,0 см³, перед ФДТ шерстный покров в области облучения депилировали. Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус2» производства ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург) с длиной волны излучения 662 ± 1 нм. Малыгина А.И. и соавторы установили, что максимальная эффективность ФДТ с Амидоаминхлорином в отношении саркомы М-1 наблюдается в дозе 2,5 мг/кг, при $E=300$ Дж/см² и $P_s=0,51$ Вт/см² лазерного излучения. При этом максимальная эффективность ФДТ с липосомальной формой Амидоаминхлорина в отношении саркомы М-1 наблюдается в дозе 1,25 мг/кг, при плотности энергии лазерного излучения 150 Дж/см² и $P_s=0,51$ Вт/см². Авторы сделали вывод, что доказано явное преимущество Липосомального амидоаминхлорина по противоопухолевой эффективности ФДТ в более малых дозах ФС и более щадящих параметрах лазерного облучения (а именно - Липосомальный амидоаминхлорин при снижении в 2 раза дозы ФС и плотности энергии лазерного излучения вызывает равный противоопухолевый эффект с Амидоаминхлорином) (Малыгина А.И. и соавт., 2015).

В 2015 году Бучарская А.Б. с соавторами изучали морфологические изменения в перевитой саркоме С45 при ФДТ с использованием нанокомпозитов на основе золотых наностержней (ЗНС), синтезированных зародышевым методом и покрытых кремниевой оболочкой, функционализированной гематопорфирином. В работе авторы использовали гелий-неоновый лазер ЛГ-5П (АО «Плазма», Россия) с длиной волны 632,8 нм, с расстоянием от торца волокна до объекта 27 мм, выходной мощностью лазера 5 мВт, плотностью мощности ~ 160 мВт/см². При достижении опухоли размером $1,0\pm 0,2$ см³ приступали к облучению. Для этого золотые наностержни вводили интратуморально 20 крысам-самцам с перевитой саркомой С45, затем в течение 30 минут опухоль облучали гелий-неоновым лазером с длиной волны 632,8 нм, через сутки у экспериментальных животных брали материал для морфологического исследования. Бучарская А. Б. с соавторами определили, что через сутки после проведения ФДТ в центре опухоли развиваются

выраженные некробиотические изменения в сочетании с резкой воспалительной реакцией, на периферии опухоли отмечались менее выраженные дистрофические изменения клеток. При этом было отмечено, что для оценки эффективности ФДТ с золотыми наноконструкциями необходим более длительный период наблюдения за морфологическими изменениями в опухоли. (Бучарская А. Б. и соавт., 2015).

В 2015 году Каплан М.А. с соавторами изучали параметры минимально эффективной дозы фотосенсибилизатора и лазерного излучения для достижения полной регрессии опухоли. Эксперимент проводили на модели опухоли саркома М-1 с применением в качестве фотосенсибилизатора Липосомального амидоаминхлорина. Исследования проведены на 102 беспородных крысах, которых брали на 7–9 день, когда опухоль достигала 0,7–1,0 см в диаметре, шерстный покров перед проведением ФДТ депилировали. В качестве ФС использовали новый Липосомальный амидоаминхлорин, который вводили внутрибрюшинно в дозе от 0,5 до 2,5 мг/кг массы тела. Животных объединили в 6 основных групп, при этом для сравнения с нелипосомальной формой Амидоаминхлорина. Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2» производства ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург) с длиной волны излучения 662 ± 1 нм, диаметр светового пятна составлял 1,5 см.

В 1 группе, при дозе ФС 1,0 мг/кг, $E = 75$ Дж/см² и $P_s = 0,34$ Вт/см² лазерного излучения на 21 сутки после ФДТ ПР наблюдалась у 25 % животных. Во 2 группе, при снижении дозы ФС до 0,5 мг/кг, но при увеличении плотности энергии лазерного излучения до 100 Дж/см² (плотность мощности оставалась 0,34 Вт/см²) на 21 сутки после ФДТ ПР наблюдалась уже у 55,6 % животных, но торможение роста опухоли (ТРО) составляло 71,4 %. В 3 группе, при увеличении дозы ФС до 0,75 мг/кг, при тех же параметрах лазерного излучения, как в группе 2 (100 Дж/см², 0,34 Вт/см²), до 10 суток после ФДТ наблюдалась ПР опухоли у всех животных в группе. На 14 сутки процент ПР опухоли снизился до 88,9 % и на 21 сутки после ФДТ ПР наблюдалась только у 55,6 % животных. При данных параметрах проведения ФДТ отмечался хороший ингибирующий эффект (торможение роста

опухоли – 96,1 % при ПР 55,6 %). В 4 группе, при увеличении дозы ФС до 1,0 мг/кг, при тех же параметрах лазерного излучения (100 Дж/см^2 , $0,34 \text{ Вт/см}^2$) до 7 сутки после ФДТ наблюдалась ПР опухоли у всех животных в группе. На 10–14 сутки после ФДТ лишь у 1 крысы отмечался рост опухоли, на 21 сутки после ФДТ рост опухоли – у 2 крыс. На данный срок исследования наблюдался значительный ингибирующий эффект (торможение роста опухоли – 96,5 % при ПР – 87,5 %). В 5 группе, при увеличении дозы ФС до 1,25 мг/кг и увеличении плотности энергии лазерного излучения до 150 Дж/см^2 , при той же плотности мощности $0,34 \text{ Вт/см}^2$ (как в предыдущих исследованиях) до 14 сутки после ФДТ наблюдалась ПР опухоли у 100% животных в группе. На 21 сутки исследования при данных параметрах проведения терапии ингибирующий эффект еще более значительный, чем в группе 4 (торможение роста опухоли – 99,0 %, ПР – 88,9 %). В 6 группе, при увеличении плотности мощности до $0,51 \text{ Вт/см}^2$ (при той же дозе ФС 1,25 мг/кг и плотности энергии 150 Дж/см^2 , как в группе 5) до 21 суток после ФДТ отмечалась ПР опухоли у всех животных. В 7 группе, при увеличении дозы ФС (нелипосомальная форма Амидоаминхлорина) до 2,5 мг/кг при той же плотности энергии и плотности мощности (150 Дж/см^2 , $0,51 \text{ Вт/см}^2$) до 21 суток после ФДТ также наблюдалась ПР опухоли у 100% животных. В 8 группе, при той же дозе ФС 2,5 мг/кг и плотности мощности $0,51 \text{ Вт/см}^2$, но при увеличении плотности энергии лазерного излучения до 300 Вт/см^2 , авторы получили тот же результат, ПР опухоли у 100% животных. Авторы пришли к выводу, что противоопухолевый эффект внутрибрюшинного введения Липосомального амидоаминхлорина до 21 суток после ФДТ получен при всех исследуемых дозах ФС (0,5; 0,75; 1,0; 1,25 и 2,5 мг/кг) и параметрах лазерного облучения (плотность энергии 100; 150; 300 Дж/см^2 и плотность мощности 0,34 и $0,51 \text{ Вт/см}^2$). При увеличении дозы ФС, плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения повышалась противоопухолевая эффективность ФДТ. Значительный ингибирующий эффект (торможение роста опухоли у 99,0% и ПР у 88,9% животных) наблюдался уже при дозе ФС 1,0 мг/кг, $E = 100 \text{ Дж/см}^2$ и $P_s = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ лазерного излучения. ПР опухоли у 100% животных до 21 суток после ФДТ отмечали при использовании

Липосомального Амидоаминхлорина в дозе ФС 1,25 мг/кг, $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ и $P_s = 0,51 \text{ Вт/см}^2$. При сравнении результатов исследования с нелипосомальной формой Амидоаминхлорина ПР опухоли достигнута лишь при дозе ФС 2,5 мг/кг, $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ и $P_s = 0,51 \text{ Дж/см}^2$ лазерного облучения, что подтверждает эффективность Липосомальной формы амидоаминхлорина. Таким образом, минимально эффективная доза ФС и параметры лазерного излучения, приводящие к ПР саркомы М-1 у 100 % животных до 21 суток исследования после ФДТ, составляли 1,25 мг/кг внутривнутрибрюшинно, плотность энергии лазерного излучения 150 Дж/см^2 , плотность мощности $0,51 \text{ Вт/см}^2$ (Каплан М.А. с соавт., 2015).

В 2016 году Соколов В.В. с соавторами изучали, на примере лазерной медицинской установки Кулон-Мед, применение высокоинтенсивного лазерного излучения в области косметологии, не онкологических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта и онкологических заболеваний. Кроме того, авторы показали существенные отличия эффективности противоопухолевых методов ФДТ при применении высокоинтенсивных лазеров непрерывного и импульсного действия, что обусловлено фундаментальными свойствами характеристик излучения лазеров – временной структурой импульсов излучения. Эта особенность излучения лазеров с непрерывным и импульсным (импульсно-периодическим) режимами работы и их сравнительное влияние на эффективность методов ФДТ, при воздействии на саркомы S-37, рассматривали на примере лазера ЛФТ-630/ 675–01-БИОСПЕК и Кулон-Мед. В соответствии с техническими характеристиками диапазон регулирования времени облучения лазера ЛФТ-630/ 675–01-БИОСПЕК составляет 1–60 мин, диапазон регулирования мощности излучения 100 - 2500 мВт, а минимальная энергия одного импульса излучения составляет 0,6 Дж при длительности фронта импульса не менее $0,5 \times 10^{-3}$ сек. Для лазера Кулон-Мед минимальное время облучения (равно длительности одного импульса) составляет 15×10^{-9} сек., максимальная пиковая мощность излучения в красном и инфракрасном диапазонах составляет $\sim 27 \text{ кВт}$, с максимальной энергией одного импульса $\sim 0,25 \text{ мДж}$, при длительности фронта импульса не более 3–5 нс. Как для лазера Кулон-Мед, так и для лазера ЛФТ-630/ 675–01-БИОСПЕК были

установлены одинаковые режимы проведения ФДТ: длина волны излучения – 670 нм; плотность мощности – 100 мВт/см²; плотность энергии – 90 Дж/см². В обоих случаях в качестве ФС использовался препарат Фотосенс. По результатам исследований Соколов В.В. и соавторы сделали несколько выводов: эффективность ФДТ при воздействии на опухоль лазерного излучения на 88% выше при использовании лазера с импульснопериодическим режимом работы, чем с непрерывным излучением, существенно (от 26 до 36%) отличается при разных режимах облучения опухоли с импульсно-периодическим режимом работы лазера. Показана высокая противоопухолевая эффективность ФДТ, на основании экспериментальных исследований, при воздействии на саркому S-37, с торможением роста опухоли до 100%, как для импульсно-периодического режима облучения, так и для режима с фракционированием доз лазерного излучения (Соколов В.В. с соавт., 2016).

В 2016 году Каплан М.А. с соавторами изучали комбинированный способ лечения злокачественных новообразований с использованием ФДТ и химиотерапии. В своей работе они представили данные об эффективности комбинированной терапии саркомы М-1 крыс с использованием ФДТ, применяя различные дозы фотосенсибилизатора Фотолон и препарата Цисплатин, а также различные схемы лечения. Наиболее эффективным было комбинированное лечение с использованием ФДТ и последующей химиотерапии с двукратным введением Цисплатина по схеме: через 2 часа после введения Фотолон, проведение ФДТ с последующим введением Цисплатина через 1 и 4 суток после неё (с общей дозой 2,5 мг/кг). В результате авторы наблюдали ПР опухоли у 88,9% животных, торможение роста опухоли составляло 99,9%. Исходя из полученных результатов, Каплан М.А. с соавторами сделали вывод, что комбинированное лечение с использованием ФДТ и Цисплатина является более эффективным по сравнению с монотерапией ФДТ и Цисплатином. Особенно отметили тот факт, что предлагаемый вариант комбинированного лечения приводит к синергическому эффекту и, кроме того, снижает повреждающее действие Цисплатина за счёт

уменьшения его дозы без ущерба для эффективности проводимого лечения (Каплан М.А., Галкин В.Н., Романко Ю.С., Дрожжина В.В., Архипова Л.М. 2016).

В 2017 году Южаков В.В. с соавторами изучали эффективность и механизм действия ФДТ с применением в качестве ФС конъюгата, содержащего две молекулы дипропоксидибактериопурпуринимида с остатком цистамина (Дисульфид-БПИ), на рост и функциональную морфологию солидной соединительнотканной перевиваемой опухоли, а также анализ эффективности воздействия на разрушение сосудов, пролиферативную активность и гибель клеток саркомы М-1. Исследование проводили на самках белых беспородных крыс с имплантированной подкожно саркомой М-1, с объемом опухолей 0,8–1,5 см³. ФС вводили крысам опытной группы внутривенно, из расчета 2,5 мг/кг. ФДТ проводили в период максимального индекса контрастности опухоль/здоровая ткань через 2,5–3 часа после введения ФС. Для лазерного облучения использовали терапевтический полупроводниковый лазер «Латус» (длина волны излучения 810 нм), плотность энергии лазерного облучения – 300 Дж/см², плотность мощности – 0,51 Вт/см². Южаков В.В. с соавторами отметили, что на фоне ФДТ с новым ФС зарегистрировано снижение коэффициента роста опухолевых узлов в 16 раз, и показали, что фотоиндуцированное противоопухолевое действие обусловлено разрушением сосудистого русла саркомы М-1, быстрым ингибированием пролиферативной активности и девитализацией опухолевых клеток. Авторы предположили, что в ранние сроки после ФДТ деструкция микроциркуляторного русла и фотоцитостатический шок опухолевых клеток с последующим развитием некроза, по-видимому, обусловлены прямым воздействием лазерного излучения на сенсibilизированные клеточные элементы паренхимы и стромы опухолей. Также авторы предположили, что, возможно, из-за недостаточно эффективной концентрации сенсibilизатора в отдельных слабо васкуляризированных участках саркомы М-1 сохраняются выжившие опухолевые клетки, которые определяют рецидивирующий рост новообразований после ФДТ.

Южаков В.В. с соавторами сделали следующее заключение: противоопухолевое действие ФДТ с Дисульфид-БПИ обусловлено разрушением

сосудистого русла, ингибированием пролиферативной активности и девитализацией опухолевых клеток путем некроза. В ранние сроки после ФДТ снижение пролиферативной активности опухолевых клеток, развитие коагуляционного некроза, а также деструкция микроциркуляторного русла, по-видимому, обусловлены прямым действием продуктов фотохимических реакций, используемого сенсibilизатора, на соответствующие внутриклеточные структуры и механизмы. В то же время, существенный вклад вносит гипоксия, которая быстро развивается в условиях не только нарушения гемодинамики, но и уменьшения уровня кислорода в процессе фотохимической реакции. Конечный результат ФДТ с Дисульфид-БПИ определяется последовательностью деструктивных и воспалительных изменений в паренхиме опухолей и окружающих тканях, а также пролиферативным потенциалом выживших после лечения опухолевых клеток. Также авторы указывают на перспективность применения нового ФС для ФДТ солидных злокачественных новообразований и возможность применения в сочетании с имеющимися ингибиторами ангиогенеза (Южаков В.В. с соав., 2017).

В 2017 году Tomohiro O. et al исследовали влияние ФДТ с Талапорфином натрия на культуре клеток плоскоклеточного рака KLN205 и саркомы Meth A. Талапорфин натрия - фотосенсibilизатор второго поколения (NPe6). Клеточные культуры инкубировали с Талапорфином натрия в дозах 0,5, 10 или 30 мкг/мл в течении 24 часов, затем их облучали лазерным излучением с плотностью мощности 0,5, 15 или 30 мВт/см², доза при этом составила 1, 5, 10 или 20 Дж/см², эффект от воздействия оценивали через 24 часа. Получены следующие данные: летальные дозы Талапорфина натрия при плотности мощности 15 мВт/см² и дозе 20 Дж/см² составили 18,6 мкг/мл для культур клеток плоскоклеточного рака (KLN205) и 5 мкг/мл для саркомы (Meth A). Это показывает, что клетки саркомы Meth A более чувствительны к ФДТ с Талапорфином натрия (Tomohiro O. et al., 2017).

В 2018 году Guilherme C. M. et al. исследовали возможность применения метода ФДТ для лечения неоперабельных остеосарком черепа и позвоночника. Исследование проводили на бестимусных мышцах линии Balb/c. Авторы отметили, что после фотодинамической терапии сцинтиграфия показала более низкое

радиофармацевтическое поглощение опухоли, при гистологических исследованиях в этих опухолях увеличивалась зона некроза. У всех животных, получавших ФДТ, объем остеоидного матрикса увеличивался, а размер опухоли уменьшался (Guilherme C. M. et al., 2018).

В клинической ветеринарии для лечения спонтанных сарком у мелких домашних животных проведены исследования: в 1981 году Dougherty TJ et al. апробировали применение метода ФДТ при лечении остеосаркомы, плоскоклеточного рака, меланомы, мастоцитомы, фибросаркомы, саркомы сальных желез и карциномы предстательной железы у собак и кошек, при воздействии лазера с длиной волны 635 нм, в качестве фотосенсибилизатора применяли производное гематопорфирина (Dougherty T.J. et al., 1981).

В 1991 году Roberts W.G. et al. использовали метод ФДТ с применением в качестве фотосенсибилизатора Хлор-алюминиевый сульфат фталоцианина (CASPs) для лечения спонтанных злокачественных опухолей у 10 кошек, 2 собак и 3 змей, у которых были обнаружены следующие опухоли: плоскоклеточный рак, мастоцитома, карцинома и саркома. Фотосенсибилизатор животным вводили из расчета 1 мг/кг за 48 часов до облучения лазерным светом с длиной волны 675 нм. Авторы отметили, что ни у одного животного в процессе лечения не наблюдалась выраженная токсичность или фотосенсибилизация кожи. При этом ответ опухолей на лечение был сопоставим с ответом на криотерапию, гипертермию или хирургическое лечение. Roberts W.G. et al наблюдали следующие результаты лечения: число ПР опухолей составило 67 % (12 из 18 больных), частичную регрессию (ЧР) наблюдали у 22% (4 из 18 больных), стабилизацию (СТ) онкологического процесса наблюдали у 11% (2 из 18 больных) (Roberts W.G., Klein M.K., Loomis M., Weldy S., Berns M.W., 1991).

В известной нам отечественной литературе лечение рутинное сарком мягких тканей методом ФДТ у животных крайне мало освещено, а в клинической ветеринарной медицине есть только 1 случай применения ФДТ в адьювантном режиме (облучение ложа удалённой саркомы). Клявин А. Г. отмечал, что в своей практике пробовал использовать метод ФДТ для интраоперационного облучения

ложа удаленной опухоли (саркома мягких тканей) с применением препарата Фотодитазин в дозе 1 мг\кг и облучение лазерным излучением с длиной волны 661 нм. При этом им была отмечена отечность операционного шва на 3 – 7 день после облучения и наличие серомы. В иностранной литературе мы не обнаружили данных о рутинном применении метода ФДТ для лечения сарком мягких тканей у животных (Клявин А. Г. 2005).

Таким образом, из литературного обзора видно, что имеется относительно много данных о лечении экспериментальных, перевиваемых штаммов сарком мышам и крысам. При этом следует учитывать, что есть отличия в биологическом поведении перевиваемых и спонтанно возникших опухолей. В клинической ветеринарии лечение методом ФДТ спонтанных сарком у мелких домашних животных освещено крайне мало.

Методы лечения сарком мягких тканей у животных

Основным методом лечения сарком мягких тканей в ветеринарии является: радикальное хирургическое лечение, с широким захватом окружающих опухоль тканей, с соблюдением правил блочности, футлярности, абластики, антиблаستيки и зональности, в противном случае происходит рецидивирование. При этом состояние здоровья больного должно позволять проведение общей анестезии для оперативного вмешательства.

Саркомы считаются устойчивыми опухолями к лучевой терапии, особенно плохо поддаются лечению большие опухоли, однако послеоперационная лучевая терапия увеличивает безрецидивный период выживания у животных с саркомой. Важно отметить, что при использовании лучевой терапии возможны побочные реакции: поражения кожи (дерматит и пр), поражения глаз, костного мозга, постлучевой некроз, мукозиты и др., таблица № 2 (McChesney et al 1989).

Таблица 2 - Относительная радиочувствительность некоторых опухолей животных

Степень радиочувствительности	Опухоль
Очень высокая чувствительность	Лимфопролиферативные болезни Миелопролиферативные болезни Трансмиссивная венерическая саркома
Высокая чувствительность	Плоскоклеточный рак Базальноклеточный рак Аденокарцинома (различные типы)
Средняя чувствительность	Мастоцитомы (различные типы) Злокачественная меланома ротовой полости
Низкая чувствительность	Фибросаркома Остеосаркома Хондросаркома Гемангиоперицитомы

Саркомы мягких тканей устойчивы к химиотерапии, однако химиотерапия относительно эффективна при лечении сарком с высоким злокачественным потенциалом (низкодифференцированные опухоли с высокой митотической активностью), эффективность при этом составляет около 20%, с использованием протокола ACOP (Доксорубин 25 мг/м², Винкристин 0,5 мг/м², Циклофосфан 250 мг/м², Преднизолон 1-2 мг/кг) (Hammer, A.S., Couto, C.G., Filippi, J. *et al.* 1991, Joanna Morris, Jane Dobson 2001).

Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии рака молочной железы

По данным статистики Всемирной организации здравоохранения рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место среди заболеваемости у женщин, как во всем мире, так и в РФ.

К сожалению, в ветеринарии нет точных статистических данных, так как в России не ведется подобная статистика и нет централизованного органа по сбору и обработке материала, в том числе имеющиеся скудные статистические данные не

находятся в свободном доступе. Статистика у животных ведется только по инфекционным заболеваниям – ежемесячно данные из всех клиник (частные и государственные) поступают в районные станции по борьбе с болезнями животных (СББЖ). При этом неоспоримым является следующий факт: опухоли молочных желез являются одной из самых распространенных патологий у собак и кошек. У собак встречается большое разнообразие гистологических типов опухолей молочных желез, и около половины из них являются доброкачественными. У кошек большинство опухолей молочных желез злокачественные и имеют агрессивное течение. Таким образом, злокачественные опухоли молочных желез являются серьезной и актуальной проблемой современной медицины и ветеринарии. Совершенствование методов диагностики и лечения позволят выявлять заболевание на ранних стадиях и увеличить продолжительность жизни больных.

Рак молочных желез – это солидное злокачественное образование, происходящее из железистой ткани молочных желез (Morris J. и Dobson J., 2001).

Классификация ВОЗ опухолей молочной железы у домашних животных (уточненная версия)

Злокачественные опухоли молочной железы.

4. Не инфильтративная форма рака молочной железы, карцинома *in situ*.
5. Сложная карцинома.
6. Простая карцинома:
 - a) тубулопапиллярная карцинома;
 - b) солидная карцинома;
 - c) анапластическая карцинома.
7. Специальные типы карцином:
 - a) ветереноклеточная карцинома;
 - b) плоскоклеточная карцинома;
 - c) слизистая (муцинозная) карцинома;

- d) карцинома жировой ткани.
- 8. Саркома:
 - a) фибросаркома;
 - b) остеосаркома;
 - c) другие виды сарком.
- 9. Карциносаркома.
- 10. Карцинома или саркома в доброкачественной опухоли.

Доброкачественные опухоли молочной железы

- 1. Аденома:
 - a) простая аденома;
 - b) сложная аденома;
 - c) базалоидная аденома.
- 2. Фиброаденома:
 - a) низкоклеточная фиброаденома;
 - b) высококлеточная фиброаденома;
- 3. Доброкачественная смешенная опухоль.
- 4. Протоковая папиллома.

TNM классификация РМЖ у собак

T – размер первичного опухолевого очага:

T₀ – первичный опухолевый очаг не определяется;

T₁ — локализованная опухоль размером до 3 см, в максимальном диаметре:

T_{1a} – подвижная опухоль относительно окружающих тканей;

T_{1b} – опухоль спаяна с кожей;

T_{1c} - опухоль спаяна с подлежащими тканями.

T₂ — локализованная опухоль размером 3-5 см, в максимальном диаметре:

T_{2a} - опухоль подвижная относительно окружающих тканей;

T_{2b} – опухоль спаяна с кожей;

T_{2c} - опухоль спаяна с подлежащими тканями.

T₃ — локализованная опухоль размером более 5 см, в максимальном диаметре:

T_{3a} - опухоль подвижная относительно окружающих тканей;

T_{3b} – опухоль спаяна с кожей;

T_{3c} - опухоль спаяна с подлежащими тканями.

T₄ — диффузная опухоль, малоподвижная относительно подлежащих тканей и прорастающая в кожные покровы, или воспалительная карцинома.

N - оценка регионарных лимфатических узлов:

N₀ — отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы;

N₁ — поражение регионарного лимфоузла со стороны опухоли молочной железы:

N_{1a} — подвижный поражённый регионарный лимфоузел;

N_{1b} — неподвижный поражённый регионарный лимфоузел.

N₂ — билатеральное поражение лимфоузлов или:

N_{2a} — подвижные поражённые регионарные лимфоузлы;

N_{2b} — неподвижные поражённые регионарные лимфоузлы.

M - наличие отдаленных метастазов:

M₀ — отсутствие метастатического поражения в отдаленных органах;

M₁ — наличие отдаленных метастазов, в том числе в отдаленные лимфатические узлы.

Индексы T и N можно оценить при помощи физикального осмотра (методом пальпации), индекс M оценивается клинически и методами визуальной диагностики (радиографические исследования, УЗИ, МРТ) (Owen, 1980).

TNM классификация РМЖ у кошек

T – размер первичного опухолевого очага:

T₀ – первичный опухолевый очаг не определяется;

T₁ — опухоль размером до 1 см, в максимальном диаметре:

T_{1a} - опухоль подвижная относительно окружающих тканей;

T_{1b} – опухоль спаяна с кожей;

T_{1c} - опухоль спаяна с подлежащими тканями, с мышцами.

T₂ — опухоль размером 1-3 см, в максимальном диаметре:

T_{2a} - опухоль подвижная относительно окружающих тканей;

T_{2b} – опухоль спаяна с кожей;

T_{2c} - опухоль спаяна с подлежащими тканями.

T₃ — опухоль размером более 3 см, в максимальном диаметре:

T_{3a} - опухоль подвижная относительно окружающих тканей;

T_{3b} – опухоль спаяна с кожей;

T_{3c} - опухоль спаяна с подлежащими тканями;

T₄ — диффузная опухоль, малоподвижная относительно подлежащих тканей и прорастающая в кожные покровы, или воспалительная карцинома.

N - оценка регионарных лимфатических узлов:

N₀ — отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы.

N₁ — поражение регионарного лимфоузла со стороны опухоли молочной железы:

N_{1a} — подвижный поражённый регионарный лимфоузел;

N_{1b} — неподвижный поражённый регионарный лимфоузел.

N_2 — билатеральное поражение регионарных лимфоузлов:

N_{1a} — подвижные поражённые регионарные лимфоузлы;

N_{1b} — неподвижный поражённые регионарные лимфоузлы.

M - наличие отдаленных метастазов:

M_0 — отсутствие метастатического поражения в отдаленных органах;

M_1 — наличие отдаленных метастазов, в том числе в отдаленные лимфатические узлы (таблица №3).

Таблица 3 - Стадирование рака молочной железы собак и кошек, исходя из TNM, по классификации ВОЗ

Стадия РМЖ	T	N	M
I	T _{1a, b} или c	$N_0(-)$ $N_{1a}(-)$ $N_{2a}(-)$	M_0
II	T ₀ T _{1a,b,c} T _{2 a,b,c}	$N_1(+)$ $N_1(+)$ $N_0(+)$ или $N_1(+)$	M_0
III	Любое T ₃ Любое T	Любое N Любое N ₂	M_0
IV	Любое T	Любое N	M_1

(-) – гистологически отрицательный (негативные); (+) – гистологически положительный (позитивные).

Лечение рака молочной железы при помощи фотодинамической терапии

При экспериментальном изучении влияния ФДТ на карциномы, в качестве тест объекта используют перевиваемую карциному Эрлиха, изначальным материалом для которой послужил спонтанный рак молочной железы, по гистологическому строению это недифференцированная опухоль, утратившая эпителиальное строение.

В 2004 г. Каплан М.А с соавторами выполнили экспериментальную работу с фотосенсибилизатором Фотодитазином. Исследование проводилось на беспородных крысах, которым подкожно в область бедра прививали РМЖ. Фотодитазин вводился внутривенно в дозировке 5-10 мг/кг, мощность облучения составила 200-300 Дж/см². Использовались два режима проведения ФДТ. Первый режим: введение 10 мг/кг препарата при дозе энергии 200 Дж/см². Второй режим: введение 5 мг/кг препарата при дозе энергии 300 Дж/см². В обоих случаях была выявлена полная регрессия опухоли (Каплан М.А., 2004, с. 8-15).

В 2006 г. Кортава М.В. с соавторами провели оценку эффективности раствора Фотосенса и стерически стабилизированной лекарственной липосомальной формы (ССЛЛФФ) в ФТД с длиной волны лазерного облучения от 671 до 687 нм. В данном исследовании мышам-гибридам первого поколения подкожно в область бедра прививали аденокарциному молочной железы Са 755 (по 0,1 мл 500 тыс. опухолевых клеток в среде 199). ФС (водный раствор Фотосенса и/или ССЛЛФФ) вводили животным однократно внутривенно в дозе 2 мг/кг на 5-й день после прививки. После введения ФС, облучение проводилось через 5 часов, с длиной волны 671 нм; 678 нм и 687 нм, мощность облучения составляла 100 мВт/см² и время облучения 15 мин. Поглощение Фотосенса в опухолях оценивали с помощью метода диффузного рассеивания. Эффективность ФДТ определялась по торможению роста опухоли на разных этапах наблюдения (Кортава, 2006). По приведенным данным эффективность Фотосенса (водного раствора и/или ССЛЛФФ) при длине волны 671 нм: торможение роста опухоли равнялось 63% и 50% соответственно, при длине волны 687 нм торможение роста опухоли равнялось 34% и 47%, а при длине волны 678 нм эффективность Фотосенса снижалась до 23%. По мнению автора, это могло быть обусловлено экранированием более глубоких слоев опухоли сенсibilизированными ее слоями, расположенными ближе к облучаемой поверхности. Причины снижения эффективности облучения при длине волны 678 нм не до конца понятны и нуждаются в уточнении данных, возможно, опухоли большой толщины демонстрируют сильное поглощение ФС в верхних слоях, лежащих под кожей, энергия облучения более удаленных от облучаемой

поверхности опухолевых слоев оказывается недостаточной, рост опухоли продолжается, а лечебный эффект снижается (Кортава М.В., 2006, с. 64-67).

В 2006 г. Якубовская Р.И. и соавторы опубликовали статью, в которой изучили противоопухолевую эффективность нового препарата Фталосенса в фотодинамической терапии на различных клеточных линиях и моделях опухолей различного гистогенеза, а также его влияние на антиметастатическую активность опухоли. В результате исследования эффективности препарата Фталосенс на животных с опухолями различного генеза, была выявлена высокая фотоиндуцированная активность препарата, определены оптимальные условия для проведения фотодинамической терапии, а именно Фталосенс вводился в дозе 0,5 мг/кг, доза облучения составляла 270 Дж/см². По результатам исследования была определена высокая противоопухолевая активность Фталосенса, так как торможение роста опухоли составляло от 86 до 100% (Якубовская Р.И., 2006, с. 26-32).

В 2006 году Соловьёва А.Б. с соавторами изучали использование фотосенсибилизаторов (Фотодитазин и Димегин) в комплексах с некоторыми амфифильными полимерами, при внутривенном способе введения для повышения концентрации ФС в новообразованиях. Тестирование фототоксического эффекта проводили на двух линиях опухолевых клеток, обладающих различной пролиферативной активностью и лекарственной чувствительностью: аденокарцинома молочной железы человека HBL-100 (ЛАК-фаза 22-24 часа) и карцинома яичника человека Skov-3 (ЛАК-фаза 26-30 часов). Авторы показали, что подобные комплексы ФС увеличивают фотоцитостатическую активность препаратов в 15-20 раз по сравнению со свободной формой ФС, отмечая, что механизм активации фотоцитотоксичности фотодинамических агентов амфифильными полимерами пока остается неясным, однако проведенные эксперименты показали, что роль амфифильных полимеров не сводится к облегчению транспорта через липидные мембраны ФС, активирующих при фотовозбуждении молекулярный кислород до синглетного состояния. Авторы предполагают, что сорбция амфифильных полимеров на межклеточных границах

приводит к блокировке биохимических процессов окисления-восстановления, способствуя гибели клеток при «запуске» процессов окисления клеточных фрагментов синглетным кислородом, генерируемым при фотовозбуждении ФС (Соловьёва А.Б. с соавторами, 2006).

Белый Ю.А. с соавторами в 2008 году привели данные по клиническому опыту лечения метастаза РМЖ в сосудистую оболочку глаза методом транспупиллярной фотодинамической терапии, в качестве фотосенсибилизатора использовали производное Хлорина е6. Больной с диагнозом метастатическая опухоль сосудистой оболочки правого глаза субмакулярной локализации была проведена транспупиллярная ФДТ. Результаты лечения оценивали методами флуоресцентной ангиографии, серошкального В-сканирования, цветового доплеровского картирования, оптической когерентной томографии. В результате лечения, полная регрессия хориоидального метастаза с прилеганием вторичной экссудативной отслойки сетчатки отмечалась к трем месяцам после ФДТ. Офтальмоскопически на месте облученного метастатического очага наблюдалось формирование плоского хориоретинального рубца с неравномерной пигментацией. На флуоресцентной ангиографии определялась неоднородная умеренно-выраженная флуоресценция без тенденции к нарастанию интенсивности. По данным серошкального В-сканирования проминенции в проекции облученной опухоли не выявлено, в режиме цветового доплеровского картирования соответственно месту расположения опухоли определялся аваскулярный очаг, по данным оптической когерентной томографии толщина сетчатки в фовеальной зоне уменьшилась с 240 до 150 мкм. Острота зрения на пролеченный глаз соответствовала исходной. Таким образом, авторы получили первый положительный клинический опыт применения ФДТ с препаратом хлоринового ряда («Фотодитазин») в лечении метастаза рака молочной железы в сосудистую оболочку глаза (Белый Ю.А. с соавт. 2008).

В 2011 году Кулаев М.Т и соавторы привели данные лечения больных с внутрикожными метастазами рака молочной железы. В качестве фотосенсибилизатора применяли отечественный фотосенсибилизатор второго

поколения Фотосенс, в дозе 0,3-0,8 мг\кг. Первый сеанс ФДТ проводили через 24 часа после введения препарата, интервал между последующими сеансами составлял 24–48 часов. Плотность мощности лазерного излучения составила 100–300 мВт/см², световая доза одного сеанса облучения 80–300 Дж/см². Количество сеансов варьировало от 3 до 10. Авторы получили следующие результаты: больные переносили введение ФС без аллергических явлений. У больных с внутрикожными метастазами рака молочной железы через 1 месяц после ФДТ выявлено: у 7 больных (32%) зарегистрирован полный эффект, у 9 (41%) – частичный, у 4 (18%) отмечена стабилизация процесса и у 2 (9%) – прогрессирование заболевания. Через 2 месяца у 7 (32%) больных был подтверждён полный эффект, у 8 (36,4%) – частичный, у 4 (18%) – стабилизация процесса и у 3 (13,6%) больных отмечено прогрессирование заболевания, характеризующееся появлением новых метастатических очагов (Кулаев М.Т. и соавторы 2011).

В 2012 году Филоненко Е. В. привела данные по ФДТ с использованием отечественных фотосенсибилизаторов (Фотогем, Фотосенс, Радахлорин, Фотодитазин и Аласенс-индуцированный ППХ) для лечения больных со злокачественными первичными, рецидивными и метастатическими опухолями кожи, в том числе - внутрикожными метастазами рака молочной железы.

По данным автора, в результате лечения больных с внутрикожными метастазами рака молочной железы полная регрессия опухоли наблюдалась в 41 % случаев, частичная регрессия – в 36 %, стабилизация – в 23 %. Период наблюдения за больными составил от 1 до 12 лет. Срок безрецидивного наблюдения составлял до 6 лет. Больным с частичной регрессией опухоли проводились повторные курсы ФДТ. Рецидив в сроки от 1 года до 3 лет диагностирован у 4 % больных, для лечения рецидива всем больным были выполнены повторные курсы ФДТ с полным эффектом.

У 8 пациенток с узловыми подкожными метастазами рака молочной железы метод ФДТ применялся в сочетании с лазерной гипертермией, в результате лечения полная регрессия опухолевых узлов достигнута у 25 % больных, частичная регрессия - у 75 % (Филоненко Е. В., 2012).

Пак Д.Д. и соавторы в 2013 году изучали эффективность интраоперационной фотодинамической терапии с препаратом Фотосенс, как этап комбинированной противоопухолевой терапии у больных раком молочной железы IIIВ и IIIС стадий. Отдаленные результаты лечения оценены у двух групп больных: 1-я – после проведения радикальной расширенной мастэктомии в комбинации с химиотерапией, лучевой терапией и химиогормонотерапией (138 больных), 2-я – с добавлением к аналогичному лечению интраоперационной ФДТ (36 больных). Больным, получавшим ФДТ, препарат Фотосенс вводили однократно внутривенно капельно в дозе 0,3 мг/ кг за 2 ч до начала операции. Облучение операционного поля осуществляли однократно (световая доза 30 Дж/см²), отдельно облучая подключично-подмышечную и прилегающую зоны (световая доза 50 Дж/см²). Результаты показали, что применение интраоперационной ФДТ способствовало улучшению показателей безрецидивной выживаемости больных раком молочной железы: в группе с применением ФДТ средняя безрецидивная выживаемость пациенток составила 44,9±3,4 мес, в группе больных без ФДТ – 35,3±2,1 мес. Авторы делают вывод, что метод интраоперационной ФДТ при лечении местно-распространенного рака молочной железы может успешно применяться в целях девитализации раковых клеток раневой поверхности и профилактики интраоперационной диссеминации опухоли и послеоперационного рецидивирования (Пак Д. Д. и соавторы 2013).

В 2013 Зайцев А.М. и соавторы привели данные по комбинированному лечению больных с метастатическим поражением головного мозга рака молочной железы с применением интраоперационной флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. Было показано, что комбинированное лечение внутримозговых метастазов, включающее хирургическое удаление метастаза с интраоперационной флюоресцентной диагностикой и фотодинамической терапией ложа удаленной опухоли с последующей лучевой терапией, является высокоэффективным методом лечения внутримозговых метастазов, особенно в функциональнозначимых зонах головного мозга, где нет возможности

радикального хирургического удаления опухоли без создания грубого неврологического дефицита (Зайцев А.М. и соавт., 2013).

В 2014 году Каплан М.А. и соавторы привели результаты использования фотодинамической терапии у больных с опухолями различной локализации (с регионарными или отдаленными метастазами), в том числе у больных раком молочной железы. Шестьдесят три пациента находились в процессе комбинированного или комплексного лечения, 13 пациентам системная ФДТ проводилась как монотерапия. В результате лечения, стабилизация процесса в виде отсутствия новых очагов опухоли наблюдалась у 65% больных раком молочной железы в течение 3-6 лет после лечения. Авторы показали, что применение ФДТ у людей позволяет улучшить результаты лечения и качество жизни больных с метастазами злокачественных новообразований (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

Каплан М.А. и соавторы в 2014 году описали опыт клинического применения фотодинамической терапии в ФГБУ МРНЦ МЗ РФ. Авторами приведены результаты лечения первичных, ранее не леченных злокачественных опухолей различной локализации, в том числе внутрикожных метастазов рака молочной железы у 108 больных. ФДТ проводили с применением фотосенсибилизаторов Фотосенс (2,0 мг/кг), Фотолон (0,9-2,5 мг/кг) и Фотодитазин (0,7-0,8 мг/кг). Доза лазерного облучения составила 100-600 Дж/см². Проведение ФДТ внутрикожных метастазов рака молочной железы позволило достичь объективного лечебного эффекта (ПР+ЧР+СТ) в 98% (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

В 2016 году Гельфонд М.Л. и соавторы изучали возможности применения неоадьювантной, интраоперационной и адьювантной фотодинамической терапии в комбинированном лечении метастазов рака молочной железы. Фотодинамической терапии подверглось 8 женщин с обширным метастатическим поражением кожи и мягких тканей передней грудной стенки после выполненной ранее мастэктомии и адьювантного химиолучевого лечения. Во всех случаях в процессе предшествующего лечения развилась химиорезистентность опухолевого процесса. В качестве фотосенсибилизатора больным вводился Радахлорин в дозе 0,8–1,2 мг/кг веса за 2 часа до сеанса ФДТ. Всего проведено 16 сеансов ФДТ. Облучали с

помощью матричного излучателя на сверхъярких светодиодах «ЛатусМаска» (ЗАО «Полупроводниковые приборы», СанктПетербург). Доза света зависела от объема метастатических образований и глубины поражения кожи и варьировала от 250 до 400 Дж/см². В трех случаях из восьми ФДТ привела к полному регрессу метастатических образований в коже. У 4 больных достигнут частичный регресс, что потребовало проведения повторных сеансов, и у 1 женщины на месте пораженных участков тканей грудной стенки сформировались обширные поля некроза, после чего она выбыла из-под наблюдения. В одном случае ФДТ проводилась на открытую операционную рану, а в последующем на послеоперационный рубец. Медиана безрецидивной выживаемости в данном случае составила 1,2 года (Гельфонд М.Л. и соавторы, 2016).

Ногайцева Е.С. и Никонов С.Д. в 2019 году изучали возможность применения фотодинамической терапии при диффузной мастопатии для вторичной профилактики рака молочной железы. Исследование проводили на 36 женщинах в возрасте от 25 до 45 лет с диагностированной фибронокистозной болезнью молочных желез. В качестве фотосенсибилизатора использовали лекарственный препарат Фотосенс, в дозе 2,5 мг на каждую молочную железу, с последующей ФДТ (через 24 или 48 часа после введения) путем световой обработки обеих молочных желез дистантным непрерывным монопозиционным облучением светодиодным источником с длиной волны 650-675 нм, при плотности дозы энергии от 1 до 3 Дж/см² и продолжительности процедуры 5–10 минут. Кратность процедур составляла 1 раз в неделю в течение 4–6 недель. Для контроля распределения и накопления фотосенсибилизатора в молочных железах использовали аппарат флюоресцентной диагностики «Флуовизор». В группе женщин, получавших ФДТ, зарегистрировано полное исчезновение клинических жалоб в 93 % случаев. По данным дополнительных методов обследования, через 3 месяца после проведения терапии у 75 % наблюдалось уменьшение в размерах кист или полное склеивание их капсулы, и регистрировались признаки лечебного патоморфоза при сравнительном цитологическом исследовании (Ногайцева Е.С., Никонов С.Д. 2019).

При изучении литературных источников мы не обнаружили данных о использовании ФДТ для лечения рака молочной железы у мелких домашних животных.

Особый интерес представляет использование метода фотодинамическая терапия при лечении рака молочной железы больным, находящимся в высокой группе анестезиологического риска, и при опухолях резистентных к химиотерапевтическому лечению. Метод фотодинамическая терапия имеет хорошие перспективы при лечении подобных опухолей, в том числе в качестве органосохраняющего, таргетного метода лечения.

Методы лечения рака молочной железы у животных

Основными методами лечения у людей РМЖ являются: хирургическое лечение, химиотерапия, таргетная терапия, антиэстроген терапия и дистанционная лучевая терапия (ДЛТ). Главным радикальным методом лечения РМЖ у людей является оперативное лечение, которое, в зависимости от стадии заболевания, гистологического строения опухоли, генетических особенностей опухоли, требует добавление адьювантной или неадьювантной химиотерапии, таргетной терапии или ДЛТ. К сожалению, в ветеринарии не отработаны строгие показания к подобному комбинированному лечению РМЖ.

Хирургическое лечение РМЖ на данный момент является основным методом лечения в ветеринарии, при условии резектабельности опухоли, отсутствия у больных анестезиологического риска и метастазирования. При проведении оперативного удаления РМЖ хирург руководствуется правилами абластики, антиблаستيки, футлярности, зональности и блочности. Если опухоль не резектабельная, то возможно проведение неадьювантной химиотерапии или лучевой терапии с последующим ее удалением при хорошем ответе (Якунина М.Н. 2014).

В ветеринарии для лечения домашних животных метод ДЛТ применяется относительно редко. ДЛТ используют для лечения РМЖ в качестве альтернативы

хирургическому удалению в комбинации с химиотерапией. Облучение у животных проводят под наркозом РОД 4-5 Гр, 2 раза в неделю, до достижения СОД 40-50 Гр, если лучевая терапия используется как основной метод лечения, то до СОД 70-80 Гр (Якунина М.Н. 2014).

При наличии метастазирования химиотерапия является, на данный момент, единственным методом лечения, который способен продлить жизнь у больных животных. Основные протоколы для лечения РМЖ у животных: АСОР (Доксорубицин 25 мг/м², Винкристин 0,5 мг/м², Циклофосфан 250 мг/м², Преднизолон 1-2 мг/кг), АС (Доксорубицин 25 мг/м², Циклофосфан 250 мг/м²), АСФ (Доксорубицин 25 мг/м², Циклофосфан 250 мг/м², 5-фторурацил 150 мг/м²), а также схемы с доцетакселом – ТА (Доксорубицин 20 мг/м², Таксотер 20 мг/м²). Наиболее эффективна полихимиотерапия, но и ее токсичность выше, чаще встречается лейкопения, нейтропения, анемия, тромбоцитопения, мукозиты (тошнота, рвота, диарея). (Якунина М.Н. 2014, Hammer, A.S., Couto, S.G., Filppi, J. *et al.* 1991, Joanna Morris, Jane Dobson 2001).

Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии опухолей кожи

Одной из ведущих локализаций в общей структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в ветеринарии (как и в медицине) является кожа. Кожа - это самый большой орган в организме у животных и человека, в том числе больше всего опухолей поражает кожу. По данным разных авторов опухоли кожи у животных встречаются 25,5% – 40% случаев от всех заболеваний кожи (Pakhrin B, Kang MS, Bae IH, et al 2007, Miller MA, Nelson SL, Turk JR, et al 1991, Carpenter JL, Andrews LK, Holzworth J 1987). При этом процент злокачественных из всех опухолей кожи составляет от 20% до 40 % (Priester WA 1973, MacVean DW, Monlux AW, Anderson PS Jr, et al 1978). По данным Dorn CR et al частота встречаемости опухолей кожи у собак составляет 150,4 особи на 100000 собак, а у

кошек частота встречаемости опухолей кожи составляет 51,7 особи на 100000 кошек (Dorn CR, Taylor DO, Schneider R, et al 1968).

Классификация ВОЗ опухолей кожи у домашних животных

Эпителиальные опухоли

1. Папиллома
2. Базальноклеточная опухоль (базальноклеточный рак кожи (БКРК))
3. Плоскоклеточный рак кожи
4. Опухоли придатков кожи:
 - a) Опухоли сальных желез:
 - аденома сальной железы;
 - эпителиома сальной железы;
 - аденокарцинома сальной железы.
 - b) Опухоли перианальных желез:
 - аденома перианальных желез;
 - аденокарцинома перианальных желез.
 - c) Опухоли потовых желез:
 - аденома потовых желез;
 - аденокарцинома потовых желез.
 - d) Опухоли волосяных фолликулов:
 - пиломатриксома;
 - трихоэпителиома.
 - e) Внутритрожная ороговевающая эпителиома.

Мезенхимальные опухоли

1. Опухоли фиброзной ткани:
 - фиброма;
 - фибросаркома;

- гемангиоперициома собак.
- 2. Опухоли жировой ткани:
 - липома;
 - липосаркома.
- 3. Опухоли из кровеносных сосудов:
 - гемангиома;
 - гемангиосаркома.

Меланоцитарные опухоли

1. Доброкачественная меланома
2. Злокачественная меланома

Опухоли из тучных клеток

1. Низкодифференцированная мастоцитома
2. Среднедифференцированная мастоцитома
3. Высокотифференцированная мастоцитома

Лимфоидные новообразования кожи

5. Плазмоцитома
6. Первичная Т-клеточная лимфома кожи
7. Эпителiotропная лимфома
8. Гистиоцитарная лимфома
9. Лимфоматоидный гранулематоз

Гистиоцитарные и гранулематозные заболевания кожи

1. Гистиоцитома кожи собак
2. Гистиоцитоз кожи
3. Асептический пиогранулематозные или гранулемные дерматозы

TNM Классификация ВОЗ опухолей кожи у домашних животных (за исключением лимфомы и мастоцитомы)

TNM Классификация опухолей кожи у домашних животных приведена в таблицах №4, 5, 6.

Таблица 4 - TNM Классификация ВОЗ опухолей кожи у домашних животных -
Т – размер первичного опухолевого очага

T _{is}	не инвазивная карцинома, рак на месте (carcinoma in situ)
T ₀	первичный опухолевый очаг не определяется
T ₁	локализованная опухоль размером до 2 см, в максимальном диаметре, поверхностная или экзофитная
T ₂	опухоль размером 2-5 см, в максимальном диаметре или с минимальной инвазией независимо от размера
T ₃	опухоль размером более 5 см, в максимальном диаметре или с инвазией в подкожную клетчатку независимо от размера
T ₄	опухоль, инвазирующая подлежащие структуры – фасции, мышцы, кости или хрящи

В случае, если у пациента присутствует несколько одинаковых в гистологическом отношении опухолей, то выбирается опухоль с наибольшей Т и дополнительно в скобках указывается количество остальных опухолей. В случае, если у пациента присутствует несколько разных в гистологическом отношении опухолей, то каждая из них классифицируется отдельно.

Признаки наличия метастазирования в регионарные лимфатические узлы в классификации TNM отмечается литерой – N, таблица 5. Индексы Т и N можно оценить при помощи физикального осмотра (методом пальпации),

Таблица 5 - TNM Классификация ВОЗ опухолей кожи у домашних животных N
- оценка регионарных лимфатических узлов

N ₀	отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы
N ₁	поражение регионарного, ипсилатерального лимфоузла, лимфоузел подвижный
N _{1a}	подвижный регионарный лимфоузел, не считается, что он содержит раковые клетки
N _{1b}	подвижный регионарный лимфоузел с признаками метастазирования
N ₂	билатеральное или контралатеральное поражение лимфоузлов, лимфоузлы подвижные
N _{2a}	подвижный лимфоузел без признаков метастазирования
N _{2b}	подвижный лимфоузел с признаками метастазирования
N ₃	неподвижный лимфоузел, спаянный с окружающими тканями

Признаки наличия метастазирования в отдаленные органы в классификации TNM отмечается литерой – M, таблица 6.

Таблица 6 - TNM Классификация ВОЗ опухолей кожи у домашних животных M
- наличие отдаленных метастазов

M ₀	отсутствие признаков отдаленного метастазирования
M ₁	наличие отдаленных метастазов

Индекс M оценивается клинически и методами визуальной диагностики (радиографические исследования, УЗИ, МРТ). И по полученной информации можно точно определить клиническую стадию онкологического процесса (Owen, 1980).

В ветеринарии в настоящее время стадирование, основанное на TNM классификации, отсутствует, далее приводится медицинское стадирование опухолей кожи (таблица №7).

Таблица 7 - Стадирование опухолей кожи исходя из TNM, по классификации Всемирной организации здравоохранения

Стадия	T	N	M
0	T0	N ₀	M ₀
I	T1	N ₀	M ₀
II	T ₂	N ₀	M ₀
	T ₃	N ₀	
III	T ₄	N ₀	M ₀
	Любое T	N ₁	M ₀
IV	Любое T	Любое N	M ₁

Фотодинамическая терапия базальноклеточной опухоли кожи

Базальноклеточная опухоль кожи (базальноклеточный рак) – это эпителиальная опухоль кожи без эпидермальной или придатковой дифференцировки клеток с местно дистрибуирующим ростом. Опухоли представляют собой одиночные твердые, как правило хорошо очерченные образования, которые локализуются в дерме или подкожной клетчатке. Некоторые опухоли могут иметь изъязвление на своей поверхности, а также содержать обильное количество пигмента меланина (особенно у кошек).

Базальноклеточная опухоль кожи (БКОК) - это относительно распространенная злокачественная опухоль кожи у собак и кошек, которая поражает животных среднего (в возрасте 6-10 лет) и старшего возраста (старше 10 лет). По литературным данным на долю БКО приходится 4% у собак и 14% у кошек [Bostock, 1986], по исследованию Goldschmidt и Shofer БКО у собак встречается с частотой 11%, у кошек 34%, при этом у кошек отмечается более доброкачественное течение данной патологии (Goldschmidt, Shofer, 1992).

Успешное применение метода фотодинамической терапии для лечения базальноклеточного рака кожи (БКРК) у людей началось с начала 20 века, тогда открыватель фотодинамического эффекта Н. Tareiner и его коллега доктор А.

Jesionek, в 1905 году опубликовали итоги своей работы по лечению базальноклеточного рака кожи на лице. Это стало возможным благодаря использованию новейших методов облучения солнечным и искусственным светом красителя эозина, нанесенного на пораженные участки. Большой победой стала абсолютная регрессия очагов у четырех больных с безрецидивным периодом сроком в один год (Jesionek A., Tarpeiner V.H., 1903).

В 2004 году Tanabe S. с соавторами изучили флуоресценцию и возможность применения для фотодинамической терапии гидрофильного фотосенсибилизатора PAD-S31 (имеет два пика абсорбции на длинах волн 406 и 665 нм) для лечения злокачественных опухолей у животных: у двух собак с мастоцитомой и у одной кошки с базальноклеточной опухолью кожи. Фотосенсибилизатор вводили животным внутривенно в дозе 15 мг/кг, затем проводили облучение опухоли лазером с длиной волны 670 нм, плотность мощности составляла 150 мВт/см², плотность энергии суммарная доза 150 Дж/см². После лечения у всех больных наблюдали полную регрессию опухоли. Авторы отметили, что ФДТ является перспективным методом лечения в ветеринарной практике (Tanabe S. et al., 2004).

В 2006 г. в своей диссертационной работе Вакуловская Е. Г. проводит клинические исследования проведения ФДТ с Радахлорином и Фотодитазином. Эксперименты показали, что данный метод является эффективным при лечении больных БКР кожи T1-2 и некоторых рецидивов БКР кожи с хорошим косметическим эффектом. Также автор указывает, что терапевтический эффект лечения местнораспространенных опухолей и рецидивов заболевания БКР снижен при терапии Радохлорином, по сравнению с ФДТ с Фотосенсом. При применении Радахлорина полная регрессия отмечена в 70,0 % случаев, а при применении Фотосенса – в 85,1% случаев (Вакуловская Е.Г., 2006).

В 2008 году Странадко Е.Ф. и соавторы опубликовали статью, в которой разработали и апробировали физико-химические параметры ФДТ с ФС Фотодитазином при лечении базальноклеточного рака кожи. В 93% случаев была достигнута полная резорбция опухолей, в 7% - частичная. По результатам исследования, для поверхностных очагов наиболее оптимальная доза - от 100 до

200 Дж/см², для солидных образований – от 200 до 300 Дж/см², а для язвенных и экзофитных форм опухолей - от 300 до 500 Дж/см². Так же авторы отмечают, что данный метод очень удобен при опухолях с труднодоступной локализацией (угол глаза, нос, веки).

В 2010 г. Ярославцева-Исаева Е.В. и соавторы провели оценку эффективности различных методик ФДТ с ФС Фотолон у больных с первичным БКРК с опухолями более 5 см. Фотолон использовали в дозировке 0,8-1,5 мг/кг массы тела, плотность мощности лазерного излучения составляла 0,3-0,5 Вт/см², длина волны 661±1 нм, а доза лазерного облучения 200-400 Дж/см².

По результатам исследования ПР при БКРК стадия - Т3, была выявлена в 84% случаев, ЧР – 16%, рецидивы отмечены в 28,6% случаев. У больных с БКРК Т4 наблюдалась только частичная регрессия (Ярославцева-Исаева Е.В. и соавторы 2010).

В 2010 год Колбина М.С. в своей диссертационной работе провела оценку эффективности фотодинамической терапии при аппликационном нанесении ФС Фотодитазина у больных БКРК, которая проводилась в несколько этапов:

1. разметка полей облучения;
2. нанесение ФС на очаг поражения в затемненном помещении с наложением повязки, полиэтиленовой пищевой пленки, и фиксацией пластырем. Время экспозиции от 10 до 40 минут, в зависимости от опухолевого процесса;
3. снятие повязки и проведение лазерного облучения.

Автор отмечает, что при первичном БКРК наилучшая эффективность зарегистрирована при использовании доз Фотодитазина 0,20-0,25 мл/см², а при рецидивном БКРК 0,25-0,30 мл/см². Оптимальные дозы светового воздействия при первичном БКРК составляли для поверхностной формы опухоли 150-200 Дж/см², 300-400 Дж/см² для опухолевидной формы высотой 1 мм, а при рецидивном БКРК 200-250 Дж/см² и 350-450 Дж/см² соответственно.

При первичном процессе ПР составила 91,1%, а при рецидиве – 68%, ЧР – 8,9% и 32% соответственно (Колбина М.С., 2011)

В 2012 году Филоненко Е. В. привела данные по использованию ФДТ с использованием отечественных фотосенсибилизаторов (Фотогем, Фотосенс, Радахлорин, Фотодитазин и Аласенс-индуцированный ППХ) для лечения 538 больных со злокачественными первичными, рецидивными и метастатическими опухолями кожи, а именно: первичный рак кожи стадии Т1-П, рак кожи стадии Т3-4, поверхностно рецидивный базальноклеточный рак кожи стадии Т1-П. По данным автора, в результате лечения полная регрессия опухолевых очагов при раке кожи стадии Т1 составила 100%, при Т2 – 91%, при поверхностных рецидивных опухолях – 96%. У 33 больных с диагнозом рак кожи стадии Т3-4 полная регрессия опухоли наблюдалась в 61 % случаев, частичная регрессия – в 22%, ограниченная регрессия – в 17%. Период наблюдения за больными составил от 1 года до 12 лет. Срок безрецидивного наблюдения составил 6 лет. Больным с частичной регрессией опухоли проводились повторные курсы ФДТ. Рецидив в сроки от 1 года до 3 лет диагностирован у 4% больных, для лечения рецидива всем больным были выполнены повторные курсы ФДТ с полным эффектом.

В качестве паллиативного лечения у 38 инкурабельных больных с рецидивами рака кожи метод ФДТ показал эффективность для достижения гемостатического, противовоспалительного эффекта и уменьшения экзофитной части опухоли. Стабилизация опухолевого процесса наблюдалась у 28 % больных. Максимальный срок наблюдения – 3,5 года (Филоненко Е. В. 2012).

В 2013 году Волгин В.Н. и соавторы провели сравнительные исследования БКРК и выявили большой спектр возможностей в применении ФДТ. Был получен положительный результат при лечении первичного и рецидивного рака кожи, в том числе опухолей неудобных локализаций, резистентных к ранее проводимым методам традиционной терапии. Показана была возможность применения ФДТ в комплексе с другими методами лечения, также определено, что ФДТ значительно превосходит другие виды лечения по косметическому результату.

Уникальной особенностью при проведении ФДТ является некроз и апоптоз опухолевых тканей с сохранением коллагеновых структур, которые являются основным каркасом для заживления, что обеспечивает хорошие косметические

результаты после лечения ФДТ. Это является важным для больных с опухолями на открытых участках тела и на лице. Однако, авторы отмечают снижение эффективности лечения при глубоких опухолях, а также при рецидивах.

В 2013 году Каплан М.А. и соавторы использовали фотодинамическую терапию для лечения базальноклеточного рака кожи с использованием фотосенсибилизатора Фотолон. Исследование проводилось на больных с первичным БКРК (Т1-4), а также на больных с рецидивом БКРК. Для проведения фотодинамической терапии ФС Фотолон брали в дозировке от 1,1 до 1,6 мг/кг, с дозой световой энергии от 100 до 600 Дж/см². По результатам исследования, у больных с первичным БКРК в 97% случаев зарегистрирована полная регрессия, в 3% случаев – частичная регрессия. Рецидив после проведения ФДТ в стадиях Т1-2 отмечался в 3,4-4,9% случаев, в стадиях Т3-4 – в 37,7% случаев. У больных с рецидивом БКРК повторный рецидив был диагностирован у 31,5% больных.

Каплан М.А. и соавторы в 2014 году описали опыт клинического применения фотодинамической терапии в ФГБУ МРНЦ МЗ РФ. Авторами приведены результаты лечения первичных, ранее не леченных злокачественных опухолей различной локализации, в том числе БКРК у 156 больных. ФДТ проводили с применением фотосенсибилизаторов Фотосенс (2,0 мг/кг), Фотолон (0,9-2,5 мг/кг) и Фотодитазин (0,7-0,8 мг/кг). Доза лазерного облучения составила 100-600 Дж/см². После ФДТ, ранее не леченного БКРК, полная регрессия опухолевых очагов была зарегистрирована у 96,8% пациентов, частичная регрессия - у 3,2%; после ФДТ рецидивного БКРК - у 76,4% и 23,6% соответственно (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

В 2016 г. Матвеева О. В. и соавторы провели исследование по результатам лечения 60 больных БКРК (Т1-3), в «Московском областном научно-исследовательском клиническом институте им. М.Ф. Владимирского» и в «Московском областном кожно-венерологическом диспансере». У 93,3% больных диагностированы солитарные новообразования, у 6,7% пациентов – множественные опухоли. Возраст пациентов варьировал от 31 до 80 лет (мужчин 24, женщин – 36). Распространённость патологического процесса была следующей:

T1 – 38 (59,4%), T2 – 23 (35,9%), T3 – 3 (4,7%) больных. ФДТ проводили с использованием Радахлорина и источника светового излучения «ЛАМИ» (Россия), длина волны излучения 662 нм, плотность энергии излучения – 200-300 Дж/см², плотность мощности – 0,141-0,39 Вт/см², интервал от введения фотосенсибилизатора до облучения составлял 10-15 мин. Отмечена хорошая переносимость терапии всеми пациентами (Матвеева, 2016). После терапии фиксировали: изменение окраски очага в виде гиперемии с последующим побледнением кожных покровов, побеление участка кожи вокруг опухоли до 1 см, геморрагической экссудацией из повреждённой опухоли, за счёт нарушения кровообращения с отёком. Отеки были сильнее при лицевой локализации опухоли и самостоятельно рассасывались на 3-4 день от начала лечения. В 69% случаев полное разрушение опухоли с некрозом наступало в течение 1-5 мин после ФДТ. В 31,0% случаев некроз наблюдался через сутки после лечения. Уже спустя 1 неделю после начала ФДТ образовывалась плотная геморрагическая корка, которая самостоятельно удалялась через 1-2 месяца, оставляя бледно-розовый рубец, не спаянный с подлежащими тканями. Таким образом, ФДТ у 100% больных закончилась полным регрессом, что было подтверждено гистологическими исследованиями.

В 2018 году Бычкова Л.В. в радиологическом отделении ГБУ РО «Онкодиспансер» Таганрог провела оценку эффективности использования фотодинамической терапии при БКРК и его рецидиве после лучевого и хирургического лечения. В качестве ФС были применены Радохлорин в дозировках 1,2 мг/кг и 1,5 мг/кг и ФС местного применения РадаГель. Плотность энергии облучения составляла 300 Дж/см². По результатам исследования полная регрессия наблюдалась в 82,7% случаев, частичная регрессия – 13,8%, стабилизация в 3,4%.

Волгин В.Н. в своей диссертационной работе поставил цель: разработать оптимальные режимы проведения фотодинамической терапии с различными фотосенсибилизаторами для лечения БКРК. В качестве ФС применились: Фотогем, Фотосенс, Фотодитазин, Фоскан, Фотолон. Дозы этих ФС как для первичного, так и для рецидивного процесса применились одинаковые 0,05 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0

мг/кг соответственно. При использовании Фотодитазина и Фотосенса для лечения рецидивного процесса дозировку повышали в 1,5-2 раза. Дозу световой энергии при различных клинических формах БКРК использовали минимальную (при поверхностной форме опухоли), среднюю (при нодулярной форме с высотой опухоли до 3 мм), максимальную (при нодулярной форме с высотой опухоли 3 мм и более, пигментной и склеродермоподобной). Для рецидивного процесса дозы световой энергии увеличивали на 50-100 Дж/см². Проведенные исследования свидетельствуют о высокой терапевтической эффективности ФДТ при применении всех ФС. Полная резорбция при первичном БКРК составила 77,4-95,3% случаев, при рецидивном БКРК – 88,1-92,8% случаев, у остальных зарегистрирована частичная резорбция.

В России нет данных о применении ФДТ для лечения базальноклеточных опухолей у животных, в зарубежной литературе описан один случай применения ФДТ для лечения БКОК у животных. Это свидетельствует о актуальности темы исследования.

Методы лечения базальноклеточной опухоли кожи у животных

Хирургические операции на данный момент - основной метод лечения БКОК в ветеринарии, удаление опухолей проводят с широким захватом тканей, при условии резектабельности опухоли и отсутствия у пациента анестезиологического риска. Есть литературные данные в которых сообщается, что при невозможности проведения операции возможно проведение лучевой терапии. Данных о эффективности различных схем химиотерапии для лечения БКРК в ветеринарии нет (Couto C.G. et al., 1991, Morris J., Dobson J., 2001).

Фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака кожи

Плоскоклеточный рак кожи – эпителиальная опухоль из клеток кожных покровов, характеризуется инвазивным ростом в подлежащие и окружающие ткани, способна к метастазированию, чаще в региональные лимфатические узлы. Является одной из наиболее распространённых опухолей кожи у мелких домашних животных, чаще всего болеют старые животные.

Отдельной TNM классификации и стадирования ПКРК у животных нет, поэтому ПКРК стадируется по TNM классификации опухолей кожи, см классификацию ВОЗ опухолей кожи у домашних животных и таблицу 4, 5, 6, 7.

В клинической ветеринарии для лечения плоскоклеточного рака кожи у мелких домашних животных проведены исследования: в 1981 году Dougherty T.J. апробировал применение метода ФДТ при лечении остеосаркомы, плоскоклеточного рака, меланомы, мастоцитомы, фибросаркомы, саркомы сальных желез и карциномы предстательной железы у собак и кошек, при воздействии лазера с длиной волны 635 нм, в качестве фотосенсибилизатора применяли производное Гематопорфирина (Dougherty T.J., Thoma R.E., Boyle D.G., Weishaupt K.R., 1981).

В 2004 году Reeds K.B., Ridgway T.D., Higbee R.G., Lucroy M.D. апробировали метод фотодинамическая терапия с использованием некогерентного лазерного облучения для лечения плоскоклеточного рака кожи у четырех собак и трех кошек, в качестве фотосенсибилизатора использовали Феофорбида А гексиловый эфир (HPPH), вводимый внутривенно в дозе 0,15 мг/кг МТ, за 1 час до облучения. Опухоли облучали некогерентным светом с длиной волны 665 нм. При этом плотность мощности лазерного облучения составила 50 мВт/см², а плотность энергии 100 Дж/см². Из 9 пролеченных животных у 8 наблюдали полную регрессию опухолей. Авторы делают вывод, что ФДТ с некогерентным лазерным светом может быть хорошей альтернативой использованию когерентного лазерного излучения (Reeds K.B. et al., 2004).

В 2011 году Кулаев М.Т. и соавторы привели данные лечения больных людей с различным опухолевым поражением кожи, в том числе с раком кожи. В качестве фотосенсибилизатора применяли отечественный фотосенсибилизатор второго поколения «Фотосенс», в дозе 0,3-08 мг\кг. Первый сеанс ФДТ проводили через 24 часа после введения препарата, интервал между последующими сеансами составлял 24–48 часов. Плотность мощности лазерного излучения составила 100–300 мВт/см², световая доза одного сеанса облучения – 80–300 Дж/см². Количество сеансов варьировало от 3 до 10. Авторы получили следующие результаты: больные переносили введение ФС хорошо, аллергических явлений не наблюдалось. У больных раком кожи через 1 месяц после проведения ФДТ полный эффект, выражающийся в полной эпителизации опухолевого очага, наблюдался у 28 (76%) больных раком кожи, частичный эффект у 6 (16%) больных, и у 3 (8%) больных зафиксирована стабилизация. Через 2 месяца полный эффект был подтверждён у 28 (76%) больных, частичный – у 7 (19%) и у 2 (5%) больных – стабилизация (Кулаев М.Т. и соавторы, 2011).

В 2012 году Филоненко Е. В. привела данные по ФДТ с использованием отечественных фотосенсибилизаторов (Фотогем, Фотосенс, Радахлорин, Фотодитазин и Аласенс-индуцированный ППХ) для лечения 538 больных со злокачественными первичными, рецидивными и метастатическими опухолями кожи, а именно: первичный рак кожи стадии T1-T2N0M0, рак кожи стадии T3-4N0M0.

По данным автора, в результате лечения полная регрессия опухолевых очагов при раке кожи стадии T1N0M0 составила 100 %, при T2N0M0 – 91 %, при поверхностных рецидивных опухолях – 96 %. У 33 больных с диагнозом рак кожи стадии T3-4N0M0 полная регрессия опухоли наблюдалась в 61 % случаев, частичная регрессия – в 22 %, ограниченная регрессия – в 17 %. Период наблюдения за больными составил от 1 до 12 лет. Срок безрецидивного наблюдения составлял до 6 лет. Больным с частичной регрессией опухоли проводились повторные курсы ФДТ.

Рецидив в сроки от 1 года до 3 лет диагностирован у 4 % больных, для лечения рецидива всем больным были выполнены повторные курсы ФДТ с полным эффектом.

В качестве паллиативного лечения у 38 инкурабельных больных с рецидивами рака кожи метод ФДТ показал эффективность для достижения гемостатического, противовоспалительного эффекта и уменьшения экзофитной части опухоли. Стабилизация опухолевого процесса произошла у 28 % больных. Максимальный срок наблюдения – 3,5 года (Филоненко Е. В., 2012).

Каплан М.А. и соавторы в 2014 году описали опыт клинического применения фотодинамической терапии (ФДТ) в ФГБУ МРНЦ МЗ РФ. Авторами приведены результаты лечения первичных, ранее не леченных злокачественных опухолей различной локализации, в том числе плоскоклеточного рака кожи (ПКРК) - у 24 больных, рецидивы или продолженный рост ПКРК - у 27. ФДТ проводили с применением фотосенсибилизаторов Фотосенс (2,0 мг/кг), Фотолон (0,9-2,5 мг/кг), и Фотодитазин (0,7-0,8 мг/кг). Доза лазерного облучения составила 100-600 Дж/см². После ФДТ больных с ранее не леченым ПКРК ПР была получена у 91,7% пациентов, ЧР - у 8,3%. При лечении рецидивов ПКРК ПР была получена в 59,3% наблюдений, ЧР - в 33,3%, отсутствие эффекта - в 7,4% (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

В 2017 году Tomohiro O. с соавторами исследовали влияние ФДТ с Талапорфином натрия на культуре клеток плоскоклеточного рака KLN205. Талапорфин натрия - фотосенсибилизатор второго поколения (NPe6). Клеточные культуры инкубировали с Талапорфином натрия в дозах 0,5, 10 или 30 мкг/мл в течении 24 часов, затем их облучали лазерным излучением с плотностью мощности 0,5, 15 или 30 мВт/см², доза при этом составила 1, 5, 10 или 20 Дж/см², эффект от воздействия оценивали через 24 часа. Получены следующие данные: летальные дозы Талапорфина натрия при плотности мощности 15 мВт/см² и дозе 20 Дж/см² составили 18,6 мкг/мл для культур клеток плоскоклеточного рака (KLN205) (Tomohiro O., Yuki K., Hiroshi I., Shinji K., 2017).

Таким образом, из литературного обзора видно, что в России нет данных о применении ФДТ для лечения плоскоклеточного рака кожи у животных, в зарубежной литературе описаны спорадические случаи применения ФДТ для лечения ПКРК у животных. Также мало данных о лечении ПКРК у людей. Это свидетельствует о актуальности темы исследования.

Методы лечения плоскоклеточного рака кожи у животных

Основными методами лечения у людей ПКРК являются хирургическое лечение и дистанционная лучевая терапия (ДЛТ). Главным радикальным методом лечения ПКРК у людей является оперативное лечение. К сожалению, в ветеринарии не отработаны строгие показания к подобному комбинированному лечению ПКРК.

Терапией выбора в настоящее время для животных является хирургическое иссечение опухоли с широким захватом окружающих здоровых тканей, при условии резектабельности опухоли и отсутствия у пациента анестезиологического риска.

В ветеринарии для лечения домашних животных метод ДЛТ применяется относительно редко. ДЛТ используют для лечения ПКРК в качестве альтернативы хирургическому удалению или в адьювантном режиме.

Carolyn J. Henry и Mary Lynn Higginbotham отмечают низкую чувствительность ПКРК к системной химиотерапии. Данных о эффективности различных схем химиотерапии для лечения ПКРК в ветеринарии нет (Couto, S.G., Filppi, J. *et al.* 1991, Joanna Morris, Jane Dobson 2001).

Фотодинамическая терапия меланомы кожи

Меланома кожи – это опухоль нейроэктодермального происхождения, которая развивается в следствии злокачественного перерождения меланоцитов и

меланобластов. Меланоциты кожи располагаются на базальной мембране среди элементов росткового слоя эпителия и являются производными нейроэктодермального гребешка, из которого их предшественники мигрируют в кожу и другие ткани на ранних сроках внутриутробного развития.

Для стадирования TNM и по стадиям заболевания меланомой кожи в ветеринарии используется рекомендации ВОЗ для опухолей кожи (см. таблицу 8, 9), в отличие от медицинской классификации, где стадирование лучше отражает особенность опухолевого процесса и позволяет точнее прогнозировать патологию, применять лечение и оценивать его эффективность. Переработанная версия стадирования и классификации AJCC, включающая стадирование «сторожевого» узла, является единственной признанной международной классификацией. AJCC (Американский объединенный онкологический комитет) включает в себя максимальную толщину опухоли в миллиметрах (по Бреслоу), уровень инвазии опухоли в дерму, предложенный Кларком в 1969 году (Clark I-V), присутствие изъязвлений, наличие и выраженность признаков регрессии, расстояние до краев резекции.

Различают 5 уровней инвазии по Кларку:

I уровень – неинвазивная опухоль, ограниченная эпидермисом;

II уровень – опухолевые клетки располагаются в сосочковом слое дермы;

III уровень - опухолевые клетки находятся между сосочковым и сетчатым слоем;

IV уровень - опухолевые клетки обнаруживают в сетчатом слое дермы;

V уровень - опухолевые клетки обнаруживают в подкожной жировой клетчатке (Ганцев Ш. Х., 2006).

Таблица 8 - Стадирование меланомы по классификации AJCC

Стадия	Первичная опухоль (pT)	Метастазы в регионарные лимфатические узлы (N)	Отдаленные метастазы (M)
0	Опухоль in situ	Нет	Нет
IA	≤ 1,0 мм, без изъязвления	Нет	Нет
IB	≤ 1,0 мм, с изъязвлением или уровнем инвазии по Clark IV или V 1,01-2,0 мм, без изъязвления	Нет	Нет
IIA	1,01-2,0 мм, с изъязвлением 2,01-4,0 мм, без изъязвления	Нет	Нет
IIB	2,01-4,0 мм, с изъязвлением > 4,0 мм, без изъязвления	Нет	Нет
IIC	> 4,0 мм, с изъязвлением	Нет	Нет
IIIA	Любая толщина опухоли, без изъязвления	Микрометастазы	Нет
IIIB	Любая толщина опухоли, с изъязвлением Любая толщина опухоли, без изъязвления Любая толщина опухоли±изъязвление	Микрометастазы До трех макрометастазов Только метастазы в «сторожевой» узел и/или транзиторные метастазы	Нет
IIIC	Любая толщина опухоли, с изъязвлением Любая толщина опухоли±изъязвление	До трех макрометастазов	Нет
IV	Любая T	4 и более макрометастазов, или поражение лимфатических узлов, выходящее за пределы капсулы, или метастазы в «сторожевой» узел и/или транзиторные метастазы с вовлечением л\у	Отдаленные метастазы

Диагноз ставится после выполнения полной эксцизионной биопсии опухолевого образования с отступом от края опухоли и последующим морфологическим исследованием материала (Тюляндин С. А. и соавт. 2010).

TNM классификация меланомы кожи

Степень распространения первичной опухоли (T) классифицируется после иссечения новообразования, патоморфологически (pT).

pT – первичная опухоль:

pTX – недостаточно данных для оценки pT первичной опухоли

pT0 - первичная опухоль не определяется

pTis – меланома in situ (I уровень инвазии по Clark), атипичная меланоцитарная гиперплазия, выраженная меланотическая дисплазия, неинвазивная злокачественная опухоль.

pT1 – опухоль ≤ 1 мм в толщину:

pT1a – уровень инвазии по Clark II или III, без изъязвлений.

pT1b – уровень инвазии по Clark IV или V, или с изъязвлением.

pT2 – опухоль > 1 мм, но ≤ 2 мм в толщину.

pT2a – без изъязвлений.

pT2b – с изъязвлением.

pT3 – опухоль > 2 мм, но ≤ 4 мм в толщину.

pT3a – без изъязвлений.

pT3b – с изъязвлением.

pT4 – опухоль > 4 мм в толщину.

N – признаки поражения регионарных лимфатических узлов

N_x – не достаточно данных для оценки состояния регионарных лимфатических узлов.

N_0 – нет признаков метастазирования в регионарные лимфатические узлы.

N_1 - метастазы в одном регионарном лимфатическом узле.

N_{1a} – определяются только микроскопически.

N_{1b} – определяются макроскопически (клинически).

N_2 - метастазы в двух или трех лимфатических узлах или лимфатических сосудах.

N_{2a} – определяются только микроскопически.

N_{2b} – определяются макроскопически (клинически).

N_{2c} – сателлиты или транзиторные метастазы без метастазов в регионарные ЛУ.

N_3 - метастазы в четырех и более лимфатических узлах (ЛУ) или конгломерат ЛУ, или сателлиты, или транзиторные метастазы с метастазами в регионарных ЛУ.

N_{2a} – определяются только микроскопически.

N_{2b} – определяются макроскопически (клинически).

Примечание – сателлиты (опухолевые гнезда или узлы) макроскопически или микроскопически располагаются на расстоянии менее 2 см от первичной опухоли. Транзиторные метастазы вовлекают кожу или подкожную клетчатку на расстоянии более 2 см от края опухоли, они относятся к регионарным лимфатическим узлам.

М – признаки отдаленного метастазирования

M_x - не достаточно данных для определения отдаленных метастазов.

M_0 - нет признаков отдаленного метастазирования.

M_1 - имеются отдаленные метастазы.

M_{1a} - метастазы в коже или подкожной клетчатке, или в лимфатическом узлах(е), за пределами регионарной зоны.

M_{1b} - метастазы в легкие.

M_{1c} – другие локализации или любой другой орган с повышением уровня лактатдегидрогеназы сыворотки (ЛДГ).

Таблица 9 - Группировка по стадиям меланомы кожи

Стадия	T	N	M
Стадия 0	pT	N0	M0
Стадия I	pT1	N0	M0
Стадия IA	pT1a	N0	M0
Стадия IB	pT1b pT2a	N0	M0
Стадия IIА	pT2b pT3a	N0	M0
Стадия IIВ	pT3b pT4a	N0	M0
Стадия IIС	pT4b	N0	M0
Стадия III	Любая pT	N1, N2, N3	M0
Стадия IIIА	pT1a- pT4a	N1a, N2a	M0
Стадия IIIВ	pT1a- pT4a pT1b- pT4b	N1b, N2b, N2c N1, N2a, N2c	M0
Стадия IIIС	pT1b- pT4b Любая pT	N3	M0
Стадия IV	Любая pT	Любая N	M1

В 2011 году Кулаев М.Т. и соавторы привели данные лечения больных людей с внутрикожными метастазами меланомы кожи. В качестве фотосенсибилизатора применяли отечественный фотосенсибилизатор второго поколения Фотосенс, в дозе 0,3-08 мг\кг. Первый сеанс ФДТ проводили через 24 часа после введения препарата, интервал между последующими сеансами составлял 24–48 часов. Плотность мощности лазерного излучения составила 100–300 мВт/см², световая доза одного сеанса облучения – 80–300 Дж/см². Количество сеансов варьировало от 3 до 10. Авторы получили следующие результаты: больные переносили введение ФС без аллергических явлений. Через 1 месяц после ФДТ у больных с внутрикожными метастазами меланомы кожи, при проведении клинического осмотра с последующим цитологическим исследованием соскоба с пролеченных метастатических очагов, было отмечено у 25% зарегистрирован полный эффект, у 25% – частичный, у 42% – стабилизация и у 8% отмечено прогрессирование

заболевания. Через 2 месяца полный эффект был подтверждён у 25% пациентов, у 25% – частичный эффект, у 33% – стабилизация и у 17% больных наблюдались признаки прогрессирования заболевания (Кулаев М.Т. и соавторы, 2011).

В 2014 году Каплан М.А. и соавторы привели результаты использования фотодинамической терапии у больных с опухолями различной локализации, в том числе с диссеминированной меланомой кожи. 63 больных находились в процессе комбинированного или комплексного лечения, 13 больных системная ФДТ проводилась как монотерапия. В результате лечения, стабилизация процесса наблюдалась у 47% больных с диссеминированной меланомой в течение 6-10 месяцев после лечения (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

Каплан М.А. и соавторы в 2014 году описали опыт клинического применения фотодинамической терапии в ФГБУ МРНЦ МЗ РФ. Авторами приведены результаты лечения первичных, ранее не леченных злокачественных опухолей различной локализации, в том числе - внутрикожные метастазы меланомы (62 больных). ФДТ проводили с применением фотосенсибилизаторов Фотосенс 2,0 мг/кг, Фотолон 0,9-2,5 мг/кг и Фотодитазин 0,7-0,8 мг/кг. Доза лазерного облучения составила 100-600 Дж/см². Проведение ФДТ внутрикожных метастазов меланомы позволило достичь лечебного эффекта (ПР+ЧР+СТ) в 95 % случаев (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

В 2016 году Гельфонд М.Л. и соавторы изучали возможности применения неoadьювантной и интраоперационной фотодинамической терапии в комбинированном лечении меланомы кожи. Облучение проводили с помощью матричного излучателя на сверхъярких светодиодах «ЛатусМаска» (ЗАО «Полупроводниковые приборы», СанктПетербург). Было пролечено 86 больных локализованной меланомой кожи, которые за 2 дня до хирургического лечения подвергались ФДТ с препаратом Фотодитазин (регистрационный номер №249188) в дозе 0,8–1,0 мг/кг, который вводился внутривенно капельно в течение 30 мин в 200 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Через 2 часа после инфузии фотосенсибилизатора проводили флуоресцентное картирование накопления фотосенсибилизатора в опухоли, а затем ее лазерное облучение (662 нм, 400 Дж)

Интраоперационная ФДТ с препаратом Фотодитазин или Радахлорин проведена 100 больным. У 85 пациентов сеанс ФДТ выполнен сразу же после удаления первичной опухоли (облучалось ложе удаленной опухоли), а у 15 больных после лимфодиссекции (паховобедренная – 6, аксиллярная – 9). Всем пациентам, подвергшимся неoadъювантной ФДТ, проводилось исследование периферической крови для оценки содержания основных субпопуляций лимфоцитов до и после операции.

При анализе уровня общей и безрецидивной выживаемости по методу Каплана–Мейера в сравниваемых группах установлено, что в группе больных меланомой кожи, получивших неoadъювантную фотодинамическую терапию, эти показатели были значительно выше, чем в контрольной группе. Анализ отдаленных результатов у больных, получавших ФДТ в процессе хирургического вмешательства, показал, что выживаемость в группе с интраоперационной ФДТ выше, чем в контрольной. Прогрессирование заболевания отмечено только у 4 из 85 больных в виде регионарного лимфогенного метастазирования. При проведении неoadъювантной ФДТ выявлено статистически значимое повышение активации Т- и В-клеточного звена иммунной системы (Гельфонд М.Л. и соавторы, 2016).

Методы лечения меланомы кожи у животных

Основными методами лечения меланомы кожи у людей являются: хирургическое лечение, химиотерапия, таргетная терапия и иммунотерапия.

В ветеринарии основным методом лечения меланомы кожи является хирургическое лечение, особенно при обнаружении на раннем этапе онкологического процесса и без признаков метастазирования. При этом широкое иссечение в пределах здоровой ткани или ампутация (при опухоли на конечности) дает хороший прогноз лечения. При неполном иссечении, например, в условиях недостатка тканей, меланома рецидивирует (Liptak J.M. et al., 2005).

ДЛТ также используется при лечении меланомы, как самостоятельный вид лечения, так и в комбинации с терапией или хирургией. Меланома относится к опухолям устойчивым к облучению, поэтому клинический эффект достигается за счет увеличения дозы в каждой фракции (Khan N. et al., 2011). Средняя медиана жизни у собак, облученных на установке с источником излучения Кобальт 60 составила 7,9 месяцев (Bateman et al., 1994). У кошек средняя продолжительность жизни при облученных на установке с источником излучения Кобальт 60 составила 146 дней (4,86 мес) (Farrelly et al., 2004).

Для лечения меланомы применяют химиотерапию на основе препаратов: Цисплатин, Карбоплатин и Декарбазин, общий показатель ответов на лечения химиотерапией Карбоплатином составляет 28% (Rassnick K.M., Ruslander D.M., Cotter S.M., et al., 2001).

Средняя продолжительность жизни при применении Цисплатина и Пироксикама для лечения собак с меланомой составила 119 дней (Boria P.A., Murry D.J., Bennett P.F., et al., 2004). По данным некоторых авторов использование Мелфалана, Декарбазина или Доксорубицина в монорежиме не дало значимых результатов у животных (Page R.L., Thrall D.E., Dewhirst M.W., et al., 1991, Murphy S., Hayes A.M., Blackwood L., et al., 2005).

Меланома относится к опухолям, чувствительным к иммунотерапии. В качестве иммунотерапии меланомы применяют Ронколейкин, Полиоксидоний, Интерлейкины и пр. Так же используются аутологические клеточные противоопухолевые вакцины, аллогенные клеточные противоопухолевые вакцины, дендритные клеточные противоопухолевые вакцины, колониестимулирующие факторы (ГМ-КСФ), факторы некроза опухоли (ФНО а) и пр. По данным некоторых авторов применение вакцины существенно продлевает жизнь животным с меланомой, медиана жизни составляет более 908 дней, при этом 795 животных имеют 1 летнюю выживаемость, 63% животных двух летнюю выживаемость (Alexander A.N. et al., 2006, Hogge G.S. et al., 1999, Macewen E.G., et al., 1999, Bianco S.R., et al., 2003, Gyorffy S., et al., 2005, Helfand S.C., et al., 1994, Thamm D.H. et al., 2010, Gil-Cardeza M.L. et al., 2010).

Краткая характеристика и обзор литературных данных по применению фотодинамической терапии для лечения опухолей ротовой полости

В 2007 году Кулешова О. А. проводила изучение эффективности метода ФДТ при доброкачественных новообразованиях слизистой ротовой полости собак и кошек (эозинофильная гранулема, плоскоклеточная папиллома, эпулисы, воспаление, организуемая и грануляционная ткань), при этом были получены хорошие клинические эффекты, что выразалось в частичной и полной регрессии, а также в хорошем косметическом эффекте (Ягников С. А., Кулешова О. А. 2007, 2008). При лечении вышеописанных доброкачественных образований полный регресс (ПР) наблюдали в 38%, частичный регресс (ЧР) в 31%, отмечены и побочные эффекты, в виде гиперемии кожи у одной кошки породы сфинкс. Также до проведения ФДТ, была проведена компьютерная спектрально-флуоресцентная диагностика на установке «Спектр Кластер», определено время оптимального накопления Фотодитазина в доброкачественных опухолях ротовой полости у домашних животных (90-120 минут) и величина накопления ФС в вышеописанных патологиях (Кулешова О. А., Ягников С. А., 2009).

В 2009 году Osaki T., Takagi S., Hoshino Y., Okumura M., Kadosawa T., Fujinaga T. исследовали применения фотодинамической терапии для лечения опухолей ротовой и носовой полости у 14 собак, с применением в качестве фотосенсибилизатора производного Бензопорфирина (BPD-MA). Фотосенсибилизатор вводили внутривенно в дозе 0,5 мг/кг и через 15 минут опухоль облучали лазерным светом с длиной волны 690 нм. При этом 71% собак с опухолями полости рта прожили более года, 57% собак с опухолями носовой полости прожили более года. Таким образом, авторы делают вывод, что ФДТ - эффективный метод лечения опухолей ротовой и носовой полости у животных (Osaki T., Takagi S., Hoshino Y., Okumura M., Kadosawa T., Fujinaga T., 2009).

В 2011 году показана возможность применения метода ФДТ при комбинированном лечении неинфекционного стоматита кошек, когда проводили

санацию ротовой полости, экстракцию патологических зубов и после этого сеанс ФДТ с предварительным введением фотодитазина (Кулешова О. А., Ягников С. А., Митрохина Н. В., 2011).

В 2011 году Кулаев М.Т. и соавторы привели данные лечения больных людей с раком нижней губы и раком гортани. В качестве фотосенсибилизатора применяли отечественный фотосенсибилизатор второго поколения «Фотосенс», в дозе 0,3-08 мг\кг. Первый сеанс ФДТ проводили через 24 часа после введения препарата, интервал между последующими сеансами составлял 24–48 часов. Плотность мощности лазерного излучения составила 100–300 мВт/см², световая доза одного сеанса облучения – 80–300 Дж/см². Количество сеансов варьировало от 3 до 10. Авторы получили следующие результаты: больные переносили введение ФС хорошо, аллергических явлений не наблюдалось. Через 1 месяц после ФДТ у больных раком нижней губы полный эффект наблюдался у 23 (68%) больных, частичный эффект был отмечен у 8 (23%) и у 3 больных (9%) зафиксирована стабилизация. Через 2 месяца полный эффект был подтверждён у 23 (68%) больных, частичный – у 9 (26%) и у 2 больных (6%) отмечена стабилизация процесса.

При обследовании больных раком гортани через 1 месяц после ФДТ выявлено, что у 4 (36,3%) больных зарегистрирован полный эффект, у 4 (36,3%) – частичный, у 3 (27,3%) пациентов отмечена стабилизация процесса. Через 2 месяца после лечения все эффекты были подтверждены (Кулаев М.Т. и соавторы, 2011).

В своей диссертационной работе Кулешова О. А., помимо описания методики ФДТ доброкачественных образований ротовой полости домашних животных, их компьютерной спектрально-флуоресцентной диагностики, в сравнении со здоровой тканью, приводит интересные данные о спектрально-флуоресцентные диагностики здоровых органов брюшной полости (Кулешова О. А., 2012).

Каплан М.А. и соавторы в 2014 году описали опыт клинического применения фотодинамической терапии (ФДТ) в ФГБУ МРНЦ МЗ РФ. Авторами приведены результаты лечения рецидивов или продолженного роста рака губы у 13 больных.

ФДТ проводили с применением фотосенсибилизаторов Фотосенс (2,0 мг/кг), Фотолон (0,9-2,5 мг/кг) и Фотодитазин (0,7-0,8 мг/кг). Доза лазерного облучения составила 100-600 Дж/см². ПР после ФДТ, ранее не леченного рака губы, была зарегистрирована у 86,0% больных, ЧР - у 14,0%. При лечении рецидивного рака губы число ПР составило 69,2%, ЧР - 30,8% (Каплан М.А. и соавторы, 2014).

Классификация ВОЗ опухолей ротовой полости у домашних животных

Опухоли десен или зубов:

Доброкачественные:

1. папиллома;
2. одонтогенная фиброма (остеогенный или фиброзный эпюлис);
3. одонтома;
4. амелобластома;
5. акантоматозный эпюлис.

Злокачественные:

1. плоскоклеточный рак;
2. злокачественная меланома;
3. фибросаркома;
4. другие виды сарком;
5. эпителиотропная лимфома;
6. плазмоцитома.

Опухоли верхней или нижней челюсти:

1. фибросаркома;
2. остеосаркома.

Опухоли языка:

1. рабдомиосаркома;
2. плоскоклеточный рак;
3. гранулярноклеточная (зернистоклеточная) миобластома.

Опухоли миндалин:

1. лимфома;
2. плоскоклеточный рак.

Опухоли слюнных желез:

1. смешенная опухоль слюнных желез;
2. аденокарцинома.

Опухоли щек и губ:

1. мастоцитомы;
2. плоскоклеточный рак;
3. плазмоцитомы;
4. меланома;
5. эпителиотропная лимфома.

TNM Классификация ВОЗ опухолей ротовой полости у домашних животных

Классификация ВОЗ первичного опухолевого очага (Т) при опухолях ротовой полости у домашних животных приведена в таблице №10.

Таблица 10 - TNM Классификация ВОЗ опухолей ротовой полости у домашних животных - Т – размер первичного опухолевого очага

T _{is}	не инвазивная карцинома, рак на месте (carcinoma in situ)
T ₀	первичный опухолевый очаг не определяется
T ₁ T _{1a} T _{1b}	локализованная опухоль размером до 2 см, в максимальном диаметре. - без признаков инвазии в кость. - с инвазией в кость.
T ₂ T _{2a} T _{2b}	опухоль размером 2-4 см, в максимальном диаметре. - без признаков инвазии в кость. - с инвазией в кость.
T ₃ T _{3a} T _{3b}	опухоль размером более 4 см, в максимальном диаметре. - без признаков инвазии в кость. - с инвазией в кость.

Оценка регионарных лимфатических узлов (N) при опухолях ротовой полости у домашних животных приведена в таблице №11.

Таблица 11 - TNM Классификация ВОЗ опухолей ротовой полости у домашних животных N - оценка регионарных лимфатических узлов

N ₀	отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы
N ₁	поражение регионарного, ипсилатерального лимфоузла, лимфоузел подвижный
N _{1a}	подвижный регионарный лимфоузел, не считается, что он содержит раковые клетки
N _{1b}	подвижный регионарный лимфоузел с признаками метастазирования
N ₂	билатеральное или контралатеральное поражение лимфоузлов, лимфоузлы подвижные
N _{2a}	подвижный лимфоузел без признаков метастазирования
N _{2b}	подвижный лимфоузел с признаками метастазирования
N ₃	неподвижный лимфоузел, спаянный с окружающими тканями

(-) гистологически отрицательный, (+) гистологически положительный

Оценка наличия отдаленных метастазов (M) при опухолях ротовой полости у домашних животных приведена в таблице №12.

Таблица 12 - TNM Классификация ВОЗ опухолей ротовой полости у домашних животных M - наличие отдаленных метастазов.

M ₀	отсутствие признаков отдаленного метастазирования
M ₁	наличие отдаленных метастазов

Исходя из данных, полученных при диагностики онкологического больного, можно поставить стадию онкологического процесса по классификации ВОЗ, таблица №13.

Таблица 13 - Стадирование опухолей ротовой полости исходя из TNM

Стадия	T	N	M
I	T ₁	N ₀ N _{1a} N _{2a}	M ₀
II	T ₂	N ₀ N _{1a} N _{2a}	M ₀
III	T ₃ Любое T	N ₀ N _{1a} N _{2a} N _{1b}	M ₀
IV	Любое T Любое T	Любое N ₃ или N _{2b} Любое N	M ₀ M ₁

Фотодинамическая терапия саркомы ротовой полости

В результате анализа литературных данных, не было обнаружено сведений о применении в отечественной ветеринарии метода ФДТ для лечения саркомы ротовой полости. Таким образом, изучение применения ФДТ в качестве нового метода для лечения саркомы ротовой полости является актуальной задачей.

Саркома ротовой полости – в гистологическом отношении чаще всего представлена фибросаркомой, статистически по частоте встречаемости стоит на третьем месте у собак и на втором месте у кошек (частота встречаемости около 20% от всех опухолей ротовой полости) (Hoyt R.F., Withrow S.J. 1984, Stebbins K.E. et al., 1989). Определенную сложность саркомы ротовой полости представляют для гистологической диагностики, опухоль морфологически может иметь признаки доброкачественного процесса, а клинически проявлять выраженный злокачественный рост (Ciekot P.A. et al., 1994). Фибросаркома ротовой полости проявляет агрессивный рост с инвазией в окружающие ткани, при этом частота метастазирования в регионарные лимфатические узлы и легкие достигает 30% (Théon A.P. et al., 1997).

TNM классификация саркомы ротовой полости

Отдельно TNM классификации и стадирования саркомы ротовой полости в ветеринарии нет (в отличие от медицины), поэтому используется общая TNM классификация и стадирование при опухолях ротовой полости у животных, таблица №11, №12, №13.

Методы лечения саркомы ротовой полости у животных

Основным методом лечения фибросаркомы ротовой полости у животных является хирургическое удаление с широким захватом тканей (при отсутствии метастазирования), при поражении челюсти применяют радикальную операцию – мандибулоэктомию или максилэктомию. При этом средняя медиана жизни у животных с резекцией нижней челюсти (мандибулэктомией) составила 11 месяцев у 59% и 1 год у 50% больных, а у животных с резекцией верхней челюсти (максилэктомию) однолетняя выживаемость достигает 40% случаев (Kosovsky J.K. et al., 1991, Wallace J. et al., 1992).

Фибросаркомы относятся к опухолям с низкой чувствительностью к лучевой терапии. Поэтому ДЛТ в ветеринарии возможно применять в адьювантном режиме. По данным Thrall D.E. средняя продолжительность жизни у собак с применением лучевой терапии составила 7 месяцев (Thrall D.E., 1981).

Саркома ротовой полости малочувствительна к химиотерапии, поэтому данный метод лечения не является терапией выбора при саркоме ротовой полости.

Выявлена зависимость размера опухоли и средней медианы времени до прогрессирования заболевания при лечении фибросаркомы: при T1 медиана составляет 31 месяц, при T2 и T3 медиана 7 месяцев (Théon A.P. et al., 1997).

Фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака ротовой полости

В результате анализа литературных данных не было обнаружено сведений о применении в отечественной ветеринарии метода ФДТ для лечения плоскоклеточного рака ротовой полости.

Таким образом, изучение применения ФДТ в качестве нового метода для лечения плоскоклеточного рака ротовой полости является актуальной задачей.

Плоскоклеточный рак ротовой полости по частоте встречаемости у кошек является самой распространенной опухолью ротовой полости (около 70% случаев), у собак занимает второе место по встречаемости (17-25% от всех опухолей ротовой полости) (Liptak J.M. et al., 2007). Отмечено, что у кошек использование противоблошиных ошейников и употребление ими консервированной пищи, особенно содержащих тунец, повышает риск развития плоскоклеточного рака ротовой полости в 3,5 раза, а воздействие дыма в 2 раза (Bertone E.R. et al., 2003). Опухоль характеризуется местно деструктивным ростом, часто инвазирует в кости (особенно у кошек). Плоскоклеточный рак ротовой полости считается опухолью с относительно низким метастатическим потенциалом, частота метастазирования в регионарные лимфатические узлы достигает 10 %, а отдаленное метастазирование в легкие 3-36% случаев (Liptak J.M. et al., 2007). По данным Théon A.P. et al частота метастазирования у собак (кроме опухолей, поражающих глотку и миндалины) составляет не более 20%, при этом отмечается, что опухоль, поражающая язык, имеет больший метастатический потенциал (Théon A.P. et al., 1997). Плоскоклеточный рак глотки и миндалин имеет более агрессивное течение (часто происходит рецидивирование) и более выраженный метастатический потенциал: метастазирование в регионарные лимфатические узлы достигает 77% случаев, отдаленное метастазирование 42-63% случаев (Clarke B.S. et al., 2011).

TNM классификация плоскоклеточного рака ротовой полости

Отдельно TNM классификации и стадирования плоскоклеточного рака ротовой полости в ветеринарии нет (в отличие от медицины), поэтому используется общая TNM классификация и стадирование при опухолях ротовой полости у животных, таблица №11, №12, №13.

В медицине применяется классификация, где стадирование лучше отражает особенность опухолевого процесса и позволяет точнее прогнозировать патологию, применять лечение и оценивать его эффективность.

Методы лечения плоскоклеточного рака ротовой полости у животных

Методом лечения плоскоклеточного рака ротовой полости у животных является хирургическое удаление с широким захватом тканей (при отсутствии метастазирования), с захватом здоровой ткани на 2 см от опухоли. В качестве радикального лечения проводится резекция нижней или верхней челюсти (мандибулэктомия или максилэктомия). При резекции нижней челюсти медиана выживаемости составила 19-26 месяцев, однолетняя выживаемость составила 91%. При резекции верхней челюсти медиана выживаемости составила 10-19 месяцев, однолетняя выживаемость составила 29-57% (Grier С.К., Mayer M.N., 2007).

При невозможности радикальной операции и для улучшения безрецидивного периода возможно применение ДЛТ, как в адьювантном, так и в неoadьювантном режиме. Также имеются данные о том, что при применении ДЛТ в монорежиме время выживаемости собак составляет 12-14 месяцев (Grier С.К., Mayer M.N., 2007).

Плоскоклеточный рак ротовой полости малочувствителен к химиотерапии, которую используют при метастазировании опухоли, в качестве основного

препарата применяют препараты платины. Так же используются нестероидные противовоспалительные препараты для ингибирования ЦОГ-2.

Фотодинамическая терапия меланомы ротовой полости

В результате анализа литературных данных не было обнаружено сведений о применении в отечественной ветеринарии метода ФДТ для лечения меланомы ротовой полости. Таким образом, изучение применения ФДТ в качестве нового метода для лечения меланомы ротовой полости является актуальной задачей. Меланома ротовой полости – это опухоль нейроэктодермального происхождения, образующаяся из перерождения меланоцитов и меланобластов. В отличие от меланомы кожи, меланома ротовой полости проявляет более агрессивное течение, отмечается более выраженный местно инвазирующий рост, в том числе за счет отсутствия базального слоя в слизистой оболочке ротовой полости. Меланома ротовой полости чаще метастазирует в регионарные лимфатические узлы и в отдаленные органы. У кошек встречается редко, чаще у собак. У собак меланома ротовой полости встречается в 30-40% от всех злокачественных опухолей ротовой полости, при этом более предрасположены собаки средних и мелких пород, а также животные с темной пигментацией слизистой ротовой полости (Ramos-Vara J.A. et al., 2000). Меланома ротовой полости представляет определенную сложность для диагностики ввиду того, что 1\3 опухолей бывают безпигментные, поэтому их можно спутать с саркомами, для верификации используется ИГХ с окрашиванием материала при помощи Мелан-А (Bergman P.J., 2007; Liptak J.M. et al., 2007).

TNM классификация меланомы ротовой полости

Отдельно TNM классификации и стадирования меланомы ротовой полости в ветеринарии нет (в отличие от медицины), поэтому используется общая TNM

классификация и стадирование при опухолях ротовой полости у животных, таблица 11, 12, 13.

В медицине используют классификацию, где стадирование лучше отражает особенность опухолевого процесса и позволяет точнее прогнозировать патологию, применять лечение и оценивать его эффективность. В клинических рекомендациях «Меланома кожи и слизистых оболочек.» утвержденных Министерством здравоохранения РФ в 2019 году приводится стадирование меланомы верхних дыхательных и пищеварительных путей по системе UICC (союз по международному противораковому контролю) 8 пересмотр за 2017 год, данная TNM классификация приводится ниже.

Для процедуры стадирования меланомы гистологическое подтверждение обязательно. Оценку состояния лимфатических узлов для установления стадии выполняют при помощи клинического осмотра и инструментальных исследований.

T – отражает распространенность первичной опухоли

Tx – недостаточно данных для оценки первичной опухоли (включая случаи спонтанной регрессии опухоли, а также ошибки при хирургическом удалении опухоли).

T0 – отсутствие первичной опухоли.

Tis – критерий не применим.

T1 – критерий не применим.

T2 – критерий не применим.

T3 – опухоль ограничена только эпителием и/или подслизистым слоем (болезнь слизистой оболочки).

T4a – опухоль прорастает в подлежащие мягкие ткани, хрящ, кость или прилежащую кожу.

T4b – опухоль прорастает в любую из следующих структур: головной мозг, твердая мозговая оболочка, основание черепа, черепно-мозговые нервы основания черепа (IX, X, XI, XII), жевательную клетчатку, превертебральную клетчатку, средостение.

Примечание: меланома слизистых является агрессивной опухолью, потому критерии T1 и T2 пропущены, как и стадия I и II.

N – признаки поражения регионарных лимфатических узлов

N_x – недостаточно данных для оценки регионарных лимфатических узлов

N₀ – поражения регионарных лимфатических узлов нет

N₁ – наличие метастазов в регионарных лимфоузлах

M – отсутствие или наличие признаков отдаленного метастазирования

M_x - не достаточно данных для определения отдаленных метастазов.

M₀ - нет признаков отдаленного метастазирования.

M₁ - наличие отдаленных метастазов.

Исходя из данных, полученных при диагностике больного с меланомой ротовой полости, можно поставить стадию онкологического процесса, таблица №14.

Таблица 14 - Группировка по стадиям меланомы слизистых оболочек верхних отделов дыхательных и пищеварительных путей

Стадия	T	N	M
III	T3	N0	M0
IVA	T4a	N1	M0
IVB	T3, T4a	Любая	M0
IVC	Любая	Любая	M1

Методы лечения меланомы ротовой полости у животных

Основным методом лечения меланомы ротовой полости у животных является хирургическое удаление с широким захватом тканей (при отсутствии метастазирования).

Также возможно применение ДЛТ как в адьювантном, так и в неоадьювантном режиме. Применяются гипофракционированные протоколы – каждую неделю 6-9 Гр., до достижения суммарной дозы 24-36 Гр (McCartan L., Argyle D., 2012).

Хирургическое лечение и лучевая терапия позволяют локально контролировать рост опухоли. Меланомы ротовой полости относительно малочувствительна к химиотерапии. Основные препараты, используемые для системной химиотерапии: препараты платины, Мелфалан, Декарбазин. Сумарный объективный ответ при этом менее 30% (Liptak J.M. et al., 2007). Меланома относительно чувствительна к иммунотерапии, в качестве лечения применяется БЦЖ, Ронколейкин, Полиоксидоний и иммуностимуляторы, а также специальная вакцина от меланомы (DNA вакцина). Выраженная экспрессия ЦОГ-2 в меланоме ротовой полости позволила применять нестероидные противовоспалительные препараты для лечения этой опухоли. По данным Bergman P.J. при комплексном лечении меланомы I стадии, с использованием оперативного лечения, ДЛТ и химиотерапией, медиана выживания собак составляет 12-14 месяцев, при этом смертность обусловлена метастатической болезнью (Bergman P.J., 2007).

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследований

Настоящая работа выполнена на кафедре «Ветеринарная медицина» Института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» в период с 2014 по 2024 годы.

Экспериментальная часть работы выполнена в учебной ветеринарной клинике Института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности ФГБОУ ВО «МГУПП» (в настоящее время ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»), в ветеринарных клиниках города Москвы и Московской области: «Велес», «Тигренок», «Росвет», «Ветмастер» с 2014 по 2023 г.

За период наблюдений было исследовано 2485 животных (собак и кошек) с различными онкологическими заболеваниями. Для эксперимента было отобрано 289 животных с новообразованиями различного генеза. Из них: кошки – 166 (57,4% от общего числа) особей в возрасте от 6 до 22 лет (средний возраст – 12,6 лет), собаки – 123 (42,6% от общего числа) особей в возрасте от 7 до 16 лет (средний возраст – 10,6 лет). Из этих животных были сформированы опытные группы в зависимости от характера новообразований.

Численность больных животных, как и их возраст по каждой нозологической группе варьировал, поэтому более подробная характеристика группы дана в соответствующем разделе.

Для решения поставленных задач в исследование были включены животные со следующими нозологическими формами злокачественных заболеваний:

1. саркома мягких тканей;
2. рак молочной железы;

Опухоли кожи:

3. базальноклеточный рак кожи;
4. плоскоклеточный рак кожи;
5. меланомой кожи;

Опухоли ротовой полости:

6. саркома ротовой полости;
7. плоскоклеточный рак ротовой полости.
8. меланомой ротовой полости.

2.1 Характеристика группы животных с саркомой мягких тканей

С саркомами мягких тканей в исследование были включены мелкие домашние животные, всего в группе 77 животных, из них: кошки – 49 особей в возрасте от 6 до 16 лет (средний возраст – $12,77 \pm 1,55$ лет), собаки – 28 особей в возрасте от 7 до 14 лет (средний возраст – $9,86 \pm 1,22$ лет). Животные в группе получали готовые рационы сухого и влажного корма.

Распределение собак с саркомой мягких тканей по половому признаку представлено в таблице №15.

Таблица 15 - Распределение собак с саркомой мягких тканей по половому признаку (28 особей)

Пол	Количество
Кобель	9 (32,1%)
Сука	19 (67,9%)

Исходя из данных таблицы 15, можно сделать вывод, что среди собак, проходивших лечение, саркомы мягких тканей чаще встречаются у сук (67,9%), чем у кобелей (32,1%).

Распределение кошек с саркомой мягких тканей по половому признаку представлено в таблице №16.

Таблица 16 - Распределение кошек с саркомой мягких тканей по половому признаку (49 особей)

Пол	Количество
Кот	25 (51%)
Кошка	24 (49%)

Исходя из данных таблицы 16, можно сделать вывод, что среди кошек, проходивших лечение, саркомы мягких тканей примерно с одинаковой частотой встречаются как у котиков (51%), так и у кошек (49%).

В соответствии с международной классификацией Owen (1980) у собак и кошек были выявлены 3 стадии саркомы мягких тканей.

У собак I стадия заболевания отмечалась у 8 (28,57%) особей, II стадия – у 12 (42,86 %) особей, III стадия – у 7 (25%) особей. А также, у 1 особи (3,57%) выявлена инвазия опухоли в подлежащие мышцы. У кошек I стадия заболевания отмечалась у 1 (4,085%) особи, II стадия – у 27 (55,1%), III стадия – у 7 (14,28%) особей. А также, у 13 особей (26,53%) выявлена инвазия опухоли в подлежащие мышцы.

Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия саркомы мягких тканей представлена в таблице №17.

Таблица 17 - Характеристика первой группы животных применения ФДТ
(порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 49 особи	Абиссинская 5 (10,2%) Мейн-кун 2 (4%) Метис 22 (44,9%) Невская маскарадная 4 (8,2%) Персидская 3 (6,1%) Сибирская 7 (14,4%) Сфинкс 1 (2%) Шотландская вислоухая 5 (10,2%)	3-8 лет – 2 (4%) 8-12 лет – 30 (61,2%) Старше 12 лет – 17 (34,8%)
Собаки, 28 особей	Доберман 1 (3,6%) Дог 2 (7,1%) Лабрадор 6 (21,4%) Лайка 2 (7,1%) Метис 6 (21,5%) Немецкая овчарка 3 (10,7%) Пит бультерьер 1 (3,6%) Ротвейлер 2 (7,1%) Спаниель 1 (3,6%) Стаффордширский терьер 3 (10,7%) Той терьер 1 (3,6%)	3-8 лет – 4 (14,2%) 8-12 лет – 19 (67,9%) Старше 12 лет – 5 (17,9%)

На основании оценки таблицы №17 у кошек наиболее часто саркомы в породном отношении встречались у метисов – 22 (44,9%) особи, сибирской породы – 7 (14,4%) особей, шотландской вислоухой и абиссинской – по 5 (10,2%) особей соответственно; в возрастном отношении заболевание чаще выявлено в возрастной группе 8-12 лет – 30 (61,2%) особей, и старше 12 лет – 17 (34,8%) особей, таким образом, фибросаркомы чаще всего встречаются у кошек в возрасте старше 8 лет.

У собак в породном отношении чаще всего саркомы встречались у метисов – 6 (21,5%) особей, лабрадоров – 6 (21,4%) особей, и у немецких овчарок – 3 (10,7%) особи; в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе 8-12 лет – 19 (67,9%) особей, и старше 12 лет – 5 (17,9%) особей, что также подтверждает риск возникновения сарком в старшей возрастной группе.

Всем больным в группе применения ФДТ проводилась морфологическая верификация сарком мягких тканей, которая представлена в таблице №18.

Таблица 18 - Характеристика по гистологическому строению саркомы мягких тканей в группе применения ФДТ в монорежиме (кошки 49 особи, собаки 28 особей)

Гистологические типы	Кошки	Собаки
Фибросаркома	49 (100%)	28 (100%)

2.2 Характеристика группы животных с раком молочной железы

В исследование были включены мелкие домашние животные, больные раком молочной железы, всего в группе 61 животное, из них: кошки – 36 особей, в возрасте от 9 до 22 лет (средний возраст – $13,65 \pm 2,03$ лет), собаки – 25 особей, в возрасте от 8 до 13 лет (средний возраст – $9,44 \pm 1,1$ лет).

По половому признаку все собаки представлены суками – 25 (100%) особей.

По половому признаку все кошки представлены кошками – 36 (100%) особей. В нашей практике встречались единичные случаи аденокарциномы молочной железы у котиков, но данные животные лечились только хирургически.

В соответствии с международной классификацией Owen (1980) у собак и кошек были выявлены 3 стадии рака молочной железы, таблицы №19.

Таблица 19 - Распределение по стадиям рака молочной железы и по группам лечения у собак

Стадия РМЖ	Собаки, 25 особей	Кошки, 36 особей
I	9 (36%)	3 (8,3%)
II	10 (40%)	13 (36,1%)
III	6 (24%)	20 (55,6%)

Исходя из таблицы №19 у 25 собак: I стадия РМЖ отмечалась у 9 (36%) особей, II стадия – у 10 (40%) особей, III стадия – у 6 (24%) особей. У 36 кошек - I

стадия заболевания отмечалась у 3 (8,3%) особей, II стадия – у 13 (36,1%), III стадия – у 20 (55,6%) особей.

Распределение по породе и возрасту, животных в группе ФДТ рака молочной железы, представлено в таблице № 20.

Таблица 20 - Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия рака молочной железы

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 36 особь	Шотландская вислоухая 4 (11%) Метис 25 (69,4%) Невская маскарадная 1 (2,8%) Абиссинская 1 (2,8%) Сибирская 2 (5,6%) Сфинкс 1 (2,8%) Сиамская 2 (5,6%)	8-12 лет – 13 (36,1%) Старше 12 лет – 23 (63,9%)
Собаки, 25 особей	Йоркширский терьер 4 (16%) Лабрадор 2 (8%) Лайка 1 (4%) Метис 6 (24%) Немецкая овчарка 1 (4%) Такса 4 (16%) Французский бульдог 2 (8%) Спаниель 1 (4%) Пудель 2 (8%) Той терьер 1 (4%) Ши-тцу 1 (4%)	8-12 лет – 22 (88%) Старше 12 лет – 3 (12%)

Анализируя данные таблицы видно, что кошки в породном отношении представлены: шотландская вислоухая – 4 (11%), метис – 25 (69,4%), невская маскарадная – 1 (2,8%), абиссинская – 1 (2,8%), сибирская – 2 (5,6%), сфинкс – 1 (2,8%), сиамская – 2 (5,6%). Собаки в породном отношении представлены: йоркширский терьер – 4 (16%), лабрадор – 2 (8%), лайка – 1 (4%), метис – 6 (24%), немецкая овчарка – 1 (4%), такса – 4 (16%), французский бульдог – 2 (8%), спаниель – 1 (4%), пудель – 2 (8%), той терьер – 1 (4%), ши-тцу – 1 (4%).

На основании оценки таблицы №20 видно, что наиболее часто у кошек рак молочной железы в породном отношении встречался у метисов – 25 (69,4%) особей,

и шотландской вислоухой – 4 (11%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще выявлено в возрастной группе старше 12 лет – 23 (63,9%) особи, таким образом РМЖ чаще всего встречаются у кошек в возрасте старше 8 лет.

У собак в породном отношении чаще всего РМЖ встречался у метисов – 6 (24%), йоркширских терьеров – 4 (16%) и у такс – 4 (16%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе 8-12 лет – 22 (88%) особи, что также подтверждает риск возникновения рака молочной железы в старшей возрастной группе.

Всем больным в группе применения ФДТ рака молочной железы проведена морфологическая верификация опухолей, которая представлена в таблице №21.

Таблица 21 - Характеристика по гистологическому строению рака молочной железы в группе применения ФДТ
(кошки – 36 особь, собаки – 25 особей)

Гистологические типы	Кошки	Собаки
Солидная карцинома	10 (27,8%)	10 (40%)
Тубулярная аденокарцинома	17 (47,3%)	6 (24%)
Папиллярная аденокарцинома	6 (16,6%)	5 (20%)
Тубулопапиллярная аденокарцинома	3 (8,3%)	–
Анапластическая карцинома	–	3 (12%)
Злокачественная смешенная опухоль	–	1 (4%)

Исходя из данных таблицы №21 - у кошек чаще встречалась тубулярная аденокарцинома – в 17 (47,3%), а у собак солидная карцинома в 10 (40%) случаях.

2.3 Характеристика группы животных с злокачественными опухолями кожи

В группу мелких домашних животных, больных злокачественными опухолями кожи входило 56 животных, из них: кошки – 22 особи, собаки – 34 особи. В данную группу включены больные со следующими новообразованиями:

- ✓ базальноклеточная опухоль кожи;
- ✓ плоскоклеточный рак кожи;
- ✓ меланома кожи.

2.3.1 Характеристика группы животных с базальноклеточной опухолью кожи

С базальноклеточной опухолью кожи (БКОК) в исследование были включены 35 животных, из них: кошки – 19 особей, в возрасте от 9 до 20 лет (средний возраст – $13,2 \pm 2,4$ года), собаки – 16 особей, в возрасте от 8 до 13 лет (средний возраст – $10 \pm 1,39$ лет).

Распределение собак, больных базальноклеточной опухолью кожи, по половому признаку представлено в таблице №22.

Таблица 22 - Распределение собак, больных базальноклеточной опухолью кожи, по половому признаку (16 особей)

Пол	Количество
Кобель	9 (56,25%)
Сука	7 (43,75%)

По данным таблицы №22 можно сделать вывод, что среди собак, проходивших лечение, не выражена половая предрасположенность к БКОК.

Распределение кошек, больных базальноклеточной опухолью кожи, по половому признаку представлено в таблице №23.

Таблица 23 - Распределение кошек, больных базальноклеточной опухолью кожи, по половому признаку (19 особей)

Пол	Количество
Кот	8 (42,1%)
Кошка	11 (57,9%)

Исходя из данных таблицы № 23, можно сделать вывод, что среди кошек, проходивших лечение, БКОК чаще встречался у кошек (57,9%), чем у котиков (42,1%).

Кошкам и собакам в качестве лечения БКОК проводилась ФДТ, распределение животных по стадиям болезни БКОК представлено в таблице №24.

Таблица 24 - Распределение по стадиям болезни БКОК у собак и кошек

Стадия	Собаки, 16 особей	Кошки, 19 особей
T1	4 (25%)	11 (57,9%)
T2	4 (25%)	8 (42,1%)
T3	8 (50%)	

ФДТ проводилась у 16 собак, из них T1N0M0 заболевания отмечалась у 4 (25%) особей, T2N0M0 – у 4 (25%) особей, T3N0M0 – у 8 (50%) особей. ФДТ БКОК проводилась у 19 кошек, из них T1N0M0 заболевания отмечалась у 11 (57,9%) особей, T2N0M0 – у 8 (42,1%) особей.

Распределение по породам и возрасту группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия базальноклеточной опухоли кожи, представлена в таблице 25.

Таблица 25 - Характеристика группы применения ФДТ базальноклеточной опухоли кожи (порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 19 особей	Метис 11 (57,9%) Тайская 1 (5,3%) Сибирская 3 (15,8%) Курильский бобтейл 1 (5,3%) Сфинкс 1 (5,3%) Шотландская вислоухая 2 (10,5%)	8-12 лет – 6 (31,6%) Старше 12 лет – 13 (68,4%)
Собаки, 16 особей	Доберман 1 (6,25%) Йоркширский терьер 2 (12,5%) Такса 1 (6,25%) Метис 3 (18,75%) Пудель 3 (18,75%) Лабрадор 2 (12,5%) Китайская хохлатая 1 (6,25%) Стаффордширский терьер 2 (12,5%) Немецкая овчарки 1 (6,25%)	8-12 лет – 14 (87,5%) Старше 12 лет – 2 (12,5%)

По данным таблицы №25 ФДТ базальноклеточной опухоли проводилась 19 кошкам, которые в породном отношении были представлены: метис – 11 (57,9%), тайская – 1 (5,3%), сибирская – 3 (15,8%), курильский бобтейл – 1 (5,3%), сфинкс – 1 (5,3%), шотландская вислоухая – 2 (10,5%) особи. Собаки в породном отношении были представлены: доберман – 1 (6,7%), йоркширский терьер – 2 (13,3%), такса – 1 (6,7%), метис – 3 (20%), пудель – 3 (20%), лабрадор – 2 (13,3%), китайская хохлатая – 1 (6,7%), стаффордширский терьер – 2 (13,3%) особи. У кошек и собак данная патология чаще встречалась у метисов в 57,9% и 20% соответственно. БКОК встречалась у кошек в возрасте старше 12 лет в 68,4%, а у собак в возрастной группе от 8 до 12 лет в 87,5% случаев. Что подтверждает риск возникновения БКОК в старшей возрастной группе.

Всем больным в группе ФДТ базальноклеточной опухоли кожи проведена морфологическая верификация опухолей, которая представлена в таблице 26.

Таблица 26 - Характеристика по гистологическому строению в группе ФДТ базальноклеточной опухоли кожи (кошки – 19 особей, собаки – 16 особей)

Гистологические типы	Кошки	Собаки
Базальноклеточная опухоль кожи	19 (100%)	16 (100%)

2.3.2 Характеристика группы животных с плоскоклеточным раком кожи

С плоскоклеточным раком кожи (ПКРК) в исследование были включены мелкие домашние животные: собаки – 14 особей, в возрасте от 9 до 16 лет (средний возраст – 11,2±1,8 лет).

По половому признаку собаки, больные плоскоклеточным раком кожи, распределялись следующим образом: кобелей – 4 (28,6%) особи, сук – 10 (71,4%) особей. Таким образом, среди собак, проходивших лечение, ПКРК чаще встречался у сук (71,4%), чем у кобелей (28,6%).

Собакам в качестве лечения ПКРК проводилась ФДТ, распределение животных по стадиям болезни представлено в таблице №27.

Таблица 27 - Распределение по стадиям болезни ПКРК у собак

Стадия	Собаки, 14 особей
I	10 (71.4%)
II	4 (28.6%)

Характеристика собак с ПКРК, которым проводилась фотодинамическая терапия, представлена в таблице №28. ФДТ плоскоклеточного рака проводилась десяти собакам, из них: ротвейлер – 1 (10%), метис – 3 (30%), пудель – 2 (20%), лабрадор – 2 (20%), йоркширский терьер 1 (10%), ши-тцу 1 (10%).

Таблица 28 - Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака кожи в монорежиме (порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Собаки, 14 особей	Метис 5 (35,7%) Пудель 3 (21,4%) Лабрадор 3 (21,4%) Ротвейлер 2 (14,3%) Вест хайлент терьер 1 (7,2%)	8-12 лет – 8 (57,1%) Старше 12 лет – 6 (42,9%)

Всем больным в группе применения ФДТ плоскоклеточного рака кожи диагноз подтвержден морфологически: у 14 (100%) особей собак опухоли были представлены плоскоклеточным раком кожи.

У собак в породном отношении ПКРК чаще всего встречался: у метисов – 5 (35,7%) особей, у пуделей и лабрадоров по 3 (21,4%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе 8-12 лет – 8 (57,1%) особей, что также подтверждает риск возникновения ПКРК в старшей возрастной группе.

2.3.3 Характеристика группы животных с меланомой кожи

В группу с меланомой кожи были включены 7 животных: кошки – 3 особи, в возрасте от 11 до 15 лет (средний возраст – $12,6 \pm 1,7$ лет), собаки – 4 особи, в возрасте от 9 до 12 лет (средний возраст – $10,5 \pm 1,1$ лет).

По половому признаку собаки с меланомой кожи распределялись следующим образом: кобелей – 1 (25%), сук – 3 (75%) особи. Таким образом, среди собак, проходивших лечение, меланома кожи чаще встречалась у сук (75%), чем у кобелей (25%).

По половому признаку кошки с меланомой кожи распределялись следующим образом: котов – 1 (33,3%) особь, кошек – 2 (66,7%) особи. Можно сделать вывод,

что среди кошек, проходивших лечение, меланома кожи чаще встречалась у кошек (66,7%), чем у котов (33,3%).

Кошкам и собакам в качестве лечения меланомы кожи проводилась ФДТ, распределение по стадиям заболевания приведено в таблице №29.

Таблица 29 - Распределение по стадиям меланомы кожи у собак

Стадия	Собаки, 4 особи	Кошки, 3 особи
I	-	3 (100%)
II	4 (100%)	-

Распределение по породам и возрастным группам животных, которым проводилась фотодинамическая терапия меланомы кожи, представлена в таблице №30. Все кошки были породы метис – 3 особи (100%), в возрасте от 11 до 15 лет. Собаки подразделялись на следующие породы: кокер спаниель – 1 (25%), лабрадор – 2 (50%), ротвейлер – 1 (25%), в возрасте от 9 до 12 лет.

Таблица 30 - Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия меланомы кожи в монорежиме (порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 3 особи	Метис 3 (100%)	8-12 лет – 1 (33,3%)
		Старше 12 лет – 2 (66,7%)
Собаки, 4 особи	Кокер спаниель 1 (25%)	8-12 лет – 4 (100%)
	Лабрадор 2 (50%)	
	Ротвейлер 1 (25%)	

Всем больным проводилась морфологическая верификация опухоли: у кошек 3 (100%) и собак 4 (100%) опухоли были представлены меланомой кожи.

На основании оценки групп животных, проходивших лечение, можно сделать вывод, что наиболее часто у кошек меланома кожи в породном отношении встречалась у метисов – 3 (100%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще выявлено в возрастной группе старше 12 лет – 2 (66,7%) особи. У собак в породном

отношении меланомы кожи, в группе, проходивших ФДТ, чаще всего встречалась у лабрадоров – 2 (50%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в группе 8-12 лет – 4 (100%) особи.

2.4 Характеристика группы животных с злокачественными опухолями ротовой полости

В группу мелких домашних животных, больных злокачественными опухолями ротовой полости входило всего 95 особей, из них: кошки – 59 особей, собаки – 36 особей. В данную группу включены больные со следующими опухолями:

- ✓ саркома ротовой полости;
- ✓ плоскоклеточный рак ротовой полости;
- ✓ меланома ротовой полости.

2.4.1 Характеристика группы животных с саркомой ротовой полости

С саркомой ротовой полости в исследование были включены мелкие домашние животные в количестве 21 особи: собаки – 5 особей, в возрасте от 9 до 12 лет (средний возраст – $10,6 \pm 1,14$ лет), кошки – 16 особей, в возрасте от 9 до 12 лет (средний возраст – $11,5 \pm 2,4$ лет) и 5 особей, в возрасте старше 12 лет (средний возраст – 13,7 лет).

По половому признаку собаки с саркомой ротовой полости распределялись следующим образом: кобелей – 4 (80%) особи, сук – 1 (20%) особь. Можно сделать вывод, что среди собак, проходивших лечение, саркома ротовой полости чаще встречалась у кобелей (80%), чем у сук (20%).

По половому признаку кошки, проходившие фотодинамическую терапию саркомы ротовой полости, распределялись следующим образом: котов – 7 (43,8%)

особей, кошек – 9 (56,3%) особей. Таким образом, можно сделать вывод, что среди кошек, проходивших лечение, не обнаружено четкого полового диморфизма, хотя в этой группе саркома ротовой полости несколько чаще встречалась у кошек (56,3%).

Кошкам и собакам в качестве лечения саркомы ротовой полости проводилась ФДТ, распределение по стадиям болезни приведено в таблице №31.

Таблица 31 - Распределение по стадиям саркомы ротовой полости у собак

Стадия	TNM	Собаки, 5 особей	Кошки, 16 особей
I	T1aN0M0	-	4 (25%)
II	T2aN0M0	5 (100%)	12 (75%)

Распределение по породам и возрастным группам животных, которым проводилась фотодинамическая терапия саркомы ротовой полости, представлена в таблице №32. По породам кошки распределялись следующим образом: метис – 10 (62,5%), сфинкс – 4 (25%), мейн-кун – 2 (12,5%), в возрасте от 9 до 14 лет. Распределение собак по породам: китайская хохлатая – 1 (20%), левретка – 1 (20%), такса – 2 (40%), шпиц – 1 (20%), в возрасте от 8 до 13 лет.

Таблица 32 - Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия саркомы ротовой полости в монорежиме

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 16 особей	Метис 10 (62,5%) Сфинкс 4 (25%) Мейн-кун 2 (12,5),	8-12 лет – 11 (68,8%) Старше 12 лет – 5 (31,2%)
Собаки, 5 особей	Китайская хохлатая 1 (20%) Левретка 1 (20%) Такса 2 (40%) Шпиц 1 (20%)	8-12 лет – 5 (100%)

Всем больным в группе применения ФДТ диагноз саркома был подтвержден морфологически.

На основании оценки групп животных, проходивших лечение, наиболее часто у кошек саркома ротовой полости в породном отношении, встречалась у метисов – 11 (62,5%) особей и сфинксов – 4 (25%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще выявлено в возрастной группе от 8 до 12 лет – 11 (68,8%) особей, таким образом саркома ротовой полости чаще всего встречается у кошек в возрасте 8-12 лет.

У собак в породном отношении саркома ротовой полости чаще всего встречалась: у таксы – 2 (40%) особи, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе 8-12 лет – 5 (100%) особей, что также подтверждает риск возникновения саркомы ротовой полости в старшей возрастной группе.

2.4.2 Характеристика группы животных с плоскоклеточным раком ротовой полости

С плоскоклеточным раком (ПКР) ротовой полости в исследование были включены мелкие домашние животные, в количестве 64 особи, из них: собаки – 21 (32,8% от общего числа), кошки 43 (61,2% от общего числа). При этом 11 (52,4%) собак, имели поражение слизистой ротовой полости и 10 (47,6%) собак имели поражение языка. Таким образом, собаки, которым проводилась ФДТ, были разделены на две группы: первая группа – собаки с ПКР языка, вторая группа – собаки с ПКР слизистой ротовой полости. Средний возраст собак $10,6 \pm 0,89$ лет.

Кошки с ПКР ротовой полости имели следующее деление по локализации процесса: 31 (72,1% от общего числа кошек) особь имела поражение слизистой ротовой полости и 12 (27,9% от общего числа кошек) особей имели поражение языка. Таким образом, кошки, которым проводилась ФДТ, были разделены на две

группы: первая группа – кошки с ПКР языка, вторая группа – кошки с ПКР слизистой ротовой полости. Средний возраст кошек $13,92 \pm 2,16$ лет.

По половому признаку собаки в первой группе распределялись следующим образом: кобелей – 4 (40%), сук – 6 (60%) особей. Можно сделать вывод, что среди собак 1 группы, проходивших лечение ФДТ, ПКР языка чаще встречался у сук (60%), чем у кобелей (40%).

По половому признаку собаки во второй группе распределялись следующим образом: кобелей – 6 (54,5%), сук – 5 (45,5%) особей. Таким образом, среди собак 2 группы, проходивших лечение с ПКР слизистой ротовой полости, не обнаруживалось выраженной половой предрасположенности.

По половому признаку кошки в первой группе распределялись следующим образом: котов – 6 (50%), кошек – 6 (50%) особей. Можно сделать вывод, что среди кошек 1 группы, проходивших лечение ПКР языка, не обнаруживалось выраженной половой предрасположенности.

По половому признаку кошки во второй группе распределялись следующим образом: котов – 10 (32,3%) особей, кошек – 21 (67,7%) особь. Можно сделать вывод, что среди кошек 2 группы, проходивших лечение, ПКР слизистой ротовой полости чаще встречался у кошек (67,7%), чем у котов (32,3%).

Распределение по стадиям болезни животных приведено в таблицах №33 и 34.

Таблица 33 - Распределение по стадиям плоскоклеточного рака ротовой полости и языка у собак

Плоскоклеточный рак языка	
Стадия	Собаки, 10 особей
I	4 (40%)
II	2 (20%)
III	4 (40%)
Плоскоклеточный рак слизистой ротовой полости	
Стадия	Собаки, 11 особей
I	6 (54,5%)
II	3 (27,3%)
III	2 (18,2%)

Таблица 34 - Распределение по стадиям плоскоклеточного рака слизистой ротовой полости и языка у кошек

Плоскоклеточный рак языка	
Стадия	Кошки, 12 особей
I	6 (50%)
II	6 (50%)
Плоскоклеточный рак слизистой ротовой полости	
Стадия	Кошки, 31 особей
I	12 (38,7%)
II	19 (61,3%)

Распределение по породам и возрастным группам животных, которым проводилась фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака языка, представлена в таблице №35. Собаки подразделялись на следующие породы: метис – 6 (60%) особей, пудель, спаниель, боксер, французкий бульдог по 1 (10%) особи соответственно, в возрасте от 9 до 12 лет. Кошки подразделялись на породы: метис

– 9 (75%), мейн-кун – 2 (16,7%), сибирская – 1 (8,3%) особь, в возрасте от 8 до 17 лет.

Таблица 35 - Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака языка (порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 12 особей	Метис 9 (75%)	8-12 лет – 3 (25%)
	Мейн-кун 2 (16,7%)	Старше 12 лет – 9 (75%)
	Сибирская 1 (8,3%)	
Собаки, 10 особи	Метис 6 (60%)	8-12 лет – 5 (50%)
	Пудель 1 (10%)	Старше 12 лет – 5 (50%)
	Спаниель 1 (10%)	
	Боксер 1 (10%)	
	Французский бульдог 1 (10%)	

Распределение по породам и возрастным группам животных, которым проводилась фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака слизистой ротовой полости, представлена в таблице №36. Собаки подразделялись на следующие породы: метис – 7 (63,6%) особей, пудель, тибетский терьер, стаффордширский терьер, китайская хохлатая по 1 (9,1%) особи соответственно, в возрасте от 10 до 14 лет. Кошки подразделялись на породы: метис – 18 (58,1%), сфинкс – 7 (22,6%), невская маскарадная – 3 (9,6%), мейн-кун – 1 (3,2%), сибирская – 2 (6,5%) особи, в возрасте от 8 до 17 лет.

Таблица 36 - Характеристика группы животных, которым проводилась фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака слизистой ротовой полости (порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Кошки, 31 особей	Метис 18 (58,1%)	8-12 лет – 15 (48,4%)
	Сфинкс 7 (22,6%)	Старше 12 лет – 16 (51,6%)
	Невская маскарадная 3 (9,6%)	
	Мейн-кун 1 (3,2%)	
	Сибирская 2 (6,5%)	
Собаки, 11 особей	Метис 7 особи (63,6%)	8-12 лет – 9 (81,8%)
	Пудель 1 (9,1%)	Старше 12 лет – 2 (18,2%)
	Тибетский терьер 1 (9,1%)	
	Стаффордширский терьер 1 (9,1%)	
	Китайская хохлатая 1 (9,1%)	

Всем больным в группе ФДТ ПКР ротовой полости диагноз плоскоклеточный рак, был подтвержден морфологически.

На основании оценки групп животных, проходивших лечение, плоскоклеточный рак слизистой ротовой полости у кошек в породном отношении чаще всего встречался у метисов – 18 (58,1%) особей, в возрастном отношении заболевание несколько чаще наблюдалось в возрастной группе старше 12 лет – 16 (51,6%).

Плоскоклеточный рак языка у кошек, также чаще всего встречался у метисов – 9 (75%) особей, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе старше 12 лет – 9 (75%) особей, что подтверждает риск возникновения плоскоклеточного рака языка в старшей возрастной группе.

У собак в породном отношении плоскоклеточный рак слизистой ротовой полости чаще всего встречались у метисов – 7 (63,6%) особей, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе 8-12 лет – 9 (81,8%) особей.

Плоскоклеточный рак языка, также чаще всего встречался у метисов – 6 (60%) особей, в возрастном отношении заболевание наблюдалось как в возрастной группе 8-12 лет – 5 (50%) особей, так и в возрастной группе старше 12 лет – 5 (50%) особей, что также подтверждает риск возникновения плоскоклеточного рака языка в старшей возрастной группе.

2.4.3 Характеристика группы животных с меланомой ротовой полости

С меланомой ротовой полости в исследование были включены мелкие домашние животные: собаки – 10 особей, в возрасте от 9 до 12 лет (средний возраст $10,1 \pm 1,05$ лет).

По половому признаку собаки распределялись следующим образом: кобелей – 4 (40%) особи, сук – 6 (60%) особей. Можно сделать вывод, что среди собак, проходивших лечение, меланома ротовой полости чаще встречалась у сук (60%), чем у кобелей (40%).

Собакам в качестве лечения меланомы ротовой полости проводилась ФДТ. Таким образом, была одна группа животных, включающая в себя 10 особей. Распределение по стадиям болезни животных согласно международной классификации Owen (1980), приведено в таблице №37.

Таблица 37 - Распределение по стадиям меланомы слизистой ротовой полости у собак

Стадия	Собаки, 10 особей
II	4 (40%)
III	6 (60%)

Исходя из данных таблицы №37 заболевание на II стадии отмечалось у 4 (40%) животных, заболевание на III стадии отмечалось у 6 (60%) собак.

Распределение по породам и возрастным группам животных, которым проводилась фотодинамическая терапия меланомы ротовой полости, представлена в таблице №38. Собаки подразделялись на следующие породы: йоркширский терьер – 2 (40%) особи, боксер – 1 (20%), метис – 1 (20%), шелти – 1 (20%), в возрасте от 9 до 12 лет. Критерием для применения ФДТ служил отказ владельцев от хирургического лечения и химиотерапии.

Таблица 38 - Характеристика группы собак, которым проводилась фотодинамическая терапия меланомы слизистой ротовой полости (порода, возраст)

Животные	Порода	Возраст
Собаки, 10 особей	Йоркширский терьер 1 (10%)	8-12 лет – 10 (100%)
	Боксер 1 (10%)	
	Метис 2 (20%)	
	Шелти 1 (10%)	
	Немецкая овчарка 2 (20%)	
	Пудель 2 (20%)	
	Шпиц 1 (10%)	

Всем больным в группе применения диагноз – меланома, был подтвержден морфологически.

У собак, в группе проходивших ФДТ, меланома ротовой полости в породном отношении чаще всего встречалась у метисов, пуделей и овчарок – по 2 (20%) особи соответственно, в возрастном отношении заболевание чаще наблюдалось в возрастной группе 8-12 лет – 10 (100%) особей.

2.5 Методика осмотра животных с онкологическими заболеваниями

Осмотр животных начинали со сбора анамнеза жизни, выясняли условия содержания и кормления, сроки вакцинации, наличие сопутствующих или перенесенных ранее инфекционных, неинфекционных или хирургических заболеваний. Затем изучали анамнез болезни, выясняли давность симптомов, наличие онкологических болезней в родословной, время обнаружения опухоли, темп ее роста и особенности течения болезни со слов владельца животного.

Затем проводили клиническое обследование больного животного, которое включало в себя визуальный осмотр, пальпацию, аускультацию, измерение температуры тела, частоты пульса и дыхания по общепринятым методикам. Определяли габитус – поза, движения животного, масса, телосложение, упитанность, конституция и др.

Визуально устанавливали цвет видимых слизистых оболочек, пигментацию, наличие повреждений, отечность, наличие сыпи и кровоизлияний, чувствительность.

Исследование поверхностных лимфатических узлов проводилось при помощи пальпации, определяли форму лимфатических узлов, их консистенцию, подвижность, наличие болезненности, отечности.

Осмотром и пальпацией определяли степень развития, целостность, тонус мышц, болезненность и изменение чувствительности. Так же исследовали подвижность суставов, наличие патологии суставов и костей. Особое внимание обращали на болезненность при активных и пассивных движениях суставов.

Сердечно-сосудистую систему исследовали при помощи осмотра, пальпации и аускультации (определяли характер тонов сердца, наличие аритмий, эндокардиальных и экстракардиальных шумов).

Информацию о состоянии пищеварительной системы в основном получали при сборе анамнеза (аппетит, наличие жажды, рвоты, частоты дефекаций, а также консистенция и цвет каловых масс). При осмотре обращали внимание на запах из

ротовой полости, состояние языка, десен, зубов, глотки. Визуально осматривали живот, пальпацией определяли напряжение брюшных стенок, наличие припухлостей, повышение чувствительности, болезненность.

При наличии видимой опухоли определяли ее локализацию, форму, размер, характер роста, консистенцию, подвижность относительно окружающих тканей, наличие сопутствующего воспаления, состояние лимфатических узлов.

2.6 Методика исследования крови животных с онкологическими заболеваниями

Пробы крови у больных животных отбирали для гематологического и биохимического исследования. Кровь для лабораторного анализа брали у собак и кошек натошак, выдерживая их предварительно на 8-10 часовой голодной диете, из наружной вены предплечья (*v. Cephalica lateralis*).

Кровь для гематологического исследования отбирали в пробирку с К₃ЭДТА (трехкалиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты), аккуратно перемешивая материал с антикоагулянтом, и до исследования хранили в холодильнике (при температуре +4° С).

Гематологические исследования крови включали исследование определение количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, тромбоциты, скорости оседания эритроцитов. Анализ проводили на гематологическом анализаторе PCE90 vet (НТИ, США), полуавтоматическом счетчике форменных элементов крови – счётчик лабораторный С-5 и в капиллярах Панченкова. Определение СОЭ проводили стандартным методом по Панченкову. Выведение логотраммы выполняли путем подсчета лейкоцитов в тонких мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза или Дифф-Квик, по общепринятой методике. Исследование на гематологическом анализаторе PCE90 vet (НТИ, США) происходило методом проточной цитометрии, который заключается в пропускании

суспензии клеток через узкую апертуру анализатора с последующим учетом и определением типа клеток.

Кровь для биохимического исследования отбирали в пробирку с активатором свертывания и специальным гелем, выдерживали ее 15 минут в темноте при комнатной температуре, затем центрифугировали для получения сыворотки (3000 об/минуту 10 минут), после чего материал до исследования хранили в холодильнике (при температуре +4° С).

Исследование биохимических показателей крови проводили на полуавтоматическом анализаторе BioChem SA и на автоматическом анализаторе BioSystems A15. Использовали реагенты компании BioSystems (Испания), согласно инструкции по применению (Медведева М.А., 2009).

При проведении биохимического исследования в сыворотке крови определяли следующие показатели по общепринятым методикам:

- ✓ методом по конечной точке определяли: общий белок, альбумин, глюкозу, билирубин общий и прямой;
- ✓ кинетическим методом определяли: АСТ (аспартатаминотрансфераза), АЛТ (аланинаминотрансфераза), ГГТ (гаммаглутамилтрансфераза), ЛДГ (лактатдегидрогеназа), щелочную фосфотазу, креатинин, мочевины, амилазу.

2.7 Методика проведения инструментальных методов диагностики животных с онкологическими заболеваниями: ультразвукового и рентгенологического исследования

Ультразвуковое и рентгенологическое исследование проводили с целью уточнения стадии онкологического процесса и для исключения отдаленного метастазирования опухоли.

Для проведения ультразвукового исследования использовали сканер Chisson Sonotouch 60 (Chison Medical Imaging, Китай), с возможностью проведения исследования в режиме цветного доплеровского картирования и энергетического

доплера, а также импульсно-волнового и постоянно-волнового доплера. Для исследования собак и кошек мы использовали мультислотные датчики: линейный с частотой 5-10 МГц, микроконвексный 5-10 МГц, конвексный 3,5-5 МГц и кардиологический фазированный 5-7 МГц. Перед проведением УЗИ животные выдерживались на голодной диете в течении 10-12 часов, затем им проводили исследование по общепринятой методике, с целью исключения метастазирования и диагностики возможных сопутствующих патологий. Особое внимание уделяли УЗИ печени, как наиболее часто встречаемой метастатической ниши (Иванов В.В., 2005).

Рентгенологическое исследование осуществлялось для исключения отдаленного метастазирования в легкие и для обнаружения возможных сопутствующих патологий. Рентген проводили на аппарате EcoTron EPX (рентгеновский моноблок, Ecotron, Корея), с использованием цифровой многократной кассеты и оцифровщика снимков EcoRay ecoCR. Рентгенографию легких проводили в двух взаимно перпендикулярных проекциях: в правой или левой боковой и в дорсо-вентральной. Таким образом, мы получали боковой и прямой снимок легких, для точного исследования всех долей легких.

2.8 Методика проведения биопсии животных с онкологическими заболеваниями

Биопсию новообразований проводили с целью постановки окончательного диагноза и для определения лечебного патоморфоза. Отбор материала проводили стандартными методами: для цитологического исследования отбор проб осуществлялся при помощи метода тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ), для гистологического исследования применяли методики инцизионной, Панч или трепан биопсии.

Перед проведением тонкоигольной аспирационной биопсии место пункции обрабатывали антисептиком, опухоль фиксировали левой рукой и вводили в нее

иглу (G 21-23) на шприце объемом 10 мл, затем поршень шприца оттягивали минимум на половину объема, для аспирации в канал иглы клеток новообразования, дополнительно осуществляя несколько возвратно-поступательных движений иглой в опухоли. После чего шприц отключали от иглы и извлекали иглу, затем шприц снова надевали на иглу и аккуратно выдавливали содержимое иглы на обезжиренное предметное стекло. Опорожнив иглу, биоматериал бережно распределяли по поверхности предметного стекла тонким слоем и высушивали при комнатной температуре.

Инцизионная биопсия заключалась в заборе небольшого фрагмента опухолевой ткани при помощи хирургических инструментов (скальпель, ножницы и пинцет), после выбора оптимальной зоны на периферии опухоли, ткань объемом до 1 см³ подрезали скальпелем или ножницами, затем удерживая пинцетом биоптат отрезали полностью. Инцизионную биопсию проводили для всех видов опухоли кроме меланомы.

Панч биопсию проводили при помощи специального инструмента Dermo punch (SteryLab, Италия), для чего опухоль фиксировали рукой и, вращая инструмент вокруг своей оси то в одну, то в другую сторону, срезали часть опухолевой ткани. Данную методику использовали в основном при биопсии опухолей на слизистой ротовой полости, кроме меланомы.

Трепан биопсию применяли при биопсии сарком и некоторых опухолей молочной железы, для проведения отбора проб использовали специальную иглу системы True-core (Angiotech, США) диаметром G14 или G16, перед прокалыванием опухоли иглу взводили, приводя ее в рабочее состояние, затем опухоль фиксировали рукой и прокалывали опухоль, проводя иглу в интересующую зону новообразования, после чего нажимали на кнопку для выдвижения стилета и еще одно нажатие – для срабатывания гильотины иглы, что позволяло срезать столбик ткани диаметром около 1-1,5 мм и длиной 15 мм. Потом иглу извлекали из образования и бережно снимали биоптат со стилета иглы True-core.

После проведения отбора проб для гистологического исследования по вышеописанным методикам биоптат помещали в 10% раствор формалина в соотношении 1:10.

2.9 Методика проведения морфологического исследования (цитология и гистология)

Препараты для цитологического исследования готовили по общепринятой методике и окрашивали по методу Дифф Квик (Полозюк О.Н., Ушакова Т.М., 2019; Медведева М.А., 2009).

1. фиксация мазка в фиксаторе Диф-Квик (Раствор №1) или в 95% спирту;
2. просушивание на воздухе;
3. окрашивание в растворе эозинофильного красителя (Раствор №2) 15-20 секунд;
4. промывание препарата для удаления остатков эозинофильного красителя;
5. окрашивание в растворе базофильного красителя (Раствор №3) 20-30 секунд;
6. промывание препарата для удаления остатков базофильного красителя;
7. высушивание на воздухе.

Гистологическое исследование материала приводили по общепринятой методике. Биоптат размером до 1 см³ фиксировали в 10% растворе формалина в течение 2 дней при комнатной температуре. Затем его промывали в проточной воде и подвергали обезвоживанию в этаноле возрастающей концентрации, выдерживая в каждом растворе по 1,5-2 часа. После чего препараты заливали в парафиновую среду (Гистомикс). Проводку и заключение в парафиновую среду приводили на аппарате гистологической проводки карусельного типа HistoMaster 2052 (Formafix, Германия). Затем готовили парафиновые блоки, которые нарезали на роторном микротоме Accu-cut SRM 200 (Sakura, Япония). Срезы толщиной 5-7 мкм

окрашивали стандартным методом гематоксилин-эозином по Ван-Гизону (Aughey E., Fredric L. Frye, 2001).

Полученные по вышеописанным методикам препараты исследовали под микроскопом Motic 1806 led, вначале при увеличении x100, x200, а затем переводили объектив на x400 и при необходимости на x1000 (с иммерсией) (Сирак А.Г. и соавт., 2017).

2.10 Методика проведения анестезиологического пособия при проведении фотодинамической терапии

В некоторых случаях требовалась седация животным для проведения сеанса ФДТ (при проявлении агрессии или сильного беспокойства, а также при облучении в труднодоступных местах, например, в области глотки). Общая седация проводилась по общепринятой методике с комбинированным внутривенным или внутримышечным введением следующих препаратов:

- Золетил в дозе 0,2-0,5 мг/кг;
- Ксилазин в дозе 0,5-2 мг/кг;
- Ветранквил в дозе 0,02-0,05 мл/кг;
- Пропофол 20% в дозе 3-5 мг/кг в час.

Данные препараты использовались в различных комбинациях, которые определял ветеринарный врач в каждом конкретном случае, исходя из особенностей организма и наличия сопутствующих патологий у животного.

2.11 Проведение флуоресцентной диагностики

Флуоресцентная диагностика (ФД) больным животным проводилась с целью диагностики границ опухоли и для контроля проведения ФДТ. Животное фиксировалось в удобном положении, при необходимости проводилась седация.

Для проведения флуоресцентной диагностики было использовано светодиодное видеофлуоресцентное устройство ЭлоМед (ЭлоМед, Россия).

Данное устройство включает в себя мощный источник света, состоящий из скопления светодиодов, излучающих в красном диапазоне спектра; встроенную видеокамеру со специальными фильтрами и дополнительные светодиоды подсветки. Схема проведения ФД представлена на рисунке №7.

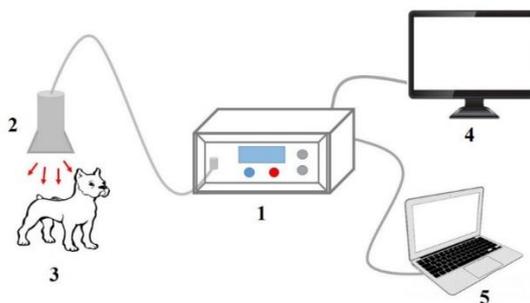


Рисунок 7 – Схематическое изображение проведения флуоресцентной диагностики: 1 – блок управления. 2 – источник света с видеокамерой. 3 – больной. 4 – монитор. 5 – ноутбук.

Светодиоды располагались так, что свет фокусировался в пятно красного цвета, диаметром около 8-10 см. При попадании данного пятна на опухолевую ткань, происходило возбуждение флуоресценции препарата. Видеокамера регистрировала флуоресцентное изображение биологической ткани и передавала его в блок управления, где определялась флуоресцентная контрастность на границе опухоль/нормальная ткань. Видеоизображение выводилось на монитор. Данное устройство мы подключаем к компьютеру (ноутбук) через соответствующую интерфейсную плату, что позволяло получить изображение в цифровом виде, также это позволяло вести запись изображений больных до введения ФС и после введения ФС (рисунок №8).

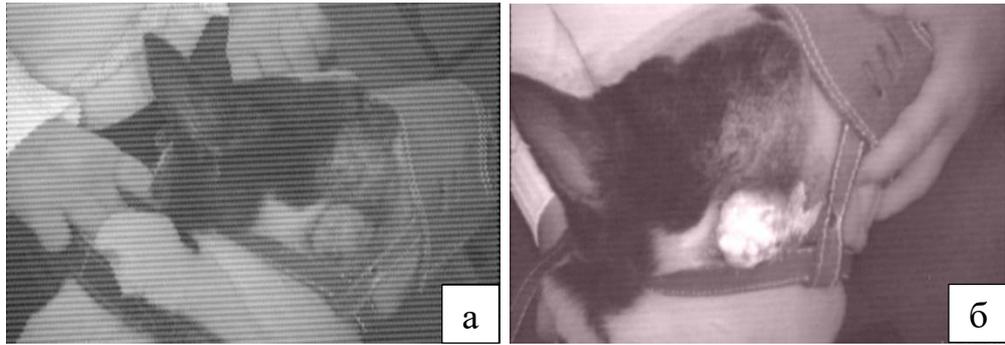


Рисунок 8 – Флуоресцентная диагностика базальноклеточной опухоли кожи у собаки: а - до введения Фотодитазина, б - через 3 ч. после введения Фотодитазина

Приемный сигнал оцифровывался, передавался в память компьютера и изображался на дисплее монитора и компьютера в реальном масштабе времени, определялись флуоресцентные границы опухоли, а также оценивалась интенсивность флуоресценции в опухоли и здоровых тканях.

2.12 Методика проведения фотодинамической терапии опухолей

Для облучения животных использовали лазерный аппарат АЛХТ ЭЛОМЕД (ЭлоМед, Россия), источником лазерного излучения в котором были диоды, мощность прибора варьировала от 0,1 до 1,5 Вт, с изменением шага 0,1 Вт и таймером от 0 до 60 минут, с шагом в 1 секунду. К лазерному аппарату возможно было подключать различные оптоволоконные кварцевые световоды. В нашей работе мы использовали следующие световоды: световод для наружного облучения, световод с прямым торцом и световод с микролинзой (Рисунок №9).

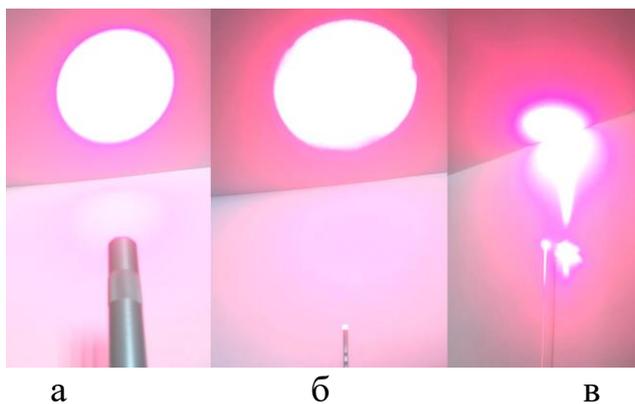


Рисунок 9 – Световоды для наружного облучения опухолей
 а – световод для наружного облучения; б – световод с прямым торцом;
 в – световод с микролинзой

Методика фотодинамической терапии состояла из двух этапов. На первом этапе больному животному в качестве фотосенсибилизатора применялся препарат Фотодитазин, который вводили внутривенно капельно в дозе 1 мг/кг в установленный по вышеописанной методике внутривенный катетер, предварительно разведя фотосенсибилизатор в растворе Натрия хлорида 0,9% в соотношении 1:10 – 1:20, за 3 часа до начала облучения опухоли, введение осуществлялось с применением капельной системы или шприцевого насоса SinoMDT SN50C6 в течение 20-30 минут. Затем пациент в течение трех часов находился в затемненном помещении, для того чтобы Фотодитазин максимально накопился в опухолевой ткани, и не было спонтанной активации препарата.

На втором этапе, после накопления фотосенсибилизатора в опухоли, проводили ее облучение при помощи диодного лазерного генератора, излучающего длину волны 660 ± 2 нм мощностью 1,5 Вт. При наружном облучении использовали световод с насадкой для наружного облучения, в которую установлена специальная фокусирующая линза для наружного облучения опухолей. Для облучения в ротовой полости использовали световод с прямым торцом или с микролинзой, позволяющей лучше провести облучение в ротовой полости.

При проведении фотодинамической терапии животному придавали удобное положение, таким образом, чтобы опухоль была хорошо видна, и к ней был свободный доступ. Световод для наружного облучения расположили так, чтобы

лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и проводили облучение выбранной зоны таким образом, чтобы захватить окружающую опухоль ткань на 1-0,5 см, в зависимости от локализации патологического процесса (с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги). Если поле облучения в диаметре было более 2 см, то облучение проводили несколькими перекрываемыми полями диаметром 2 см каждое.

При необходимости животному проводилась седация (Золетил в дозе 0,2 - 0,5 мг/кг, Ксилазин 0,5 - 2 мг/кг, Ветранквил 0,02 – 0,05 мл/кг, Пропрофол 20% 3-5 мг/кг в час). После облучения животным с седацией проводили капельную инфузию солевыми растворами (Натрия хлорид 0,9% в дозе 3-5 мл/кг, Трисоль 3-5 мл/кг, Глюкоза 5% 3-5 мл/кг), поддерживающими препаратами (Мексидол-вет 5% в дозе 10 мг/кг, Фуросемид 1 мг/кг), оксигенотерапия (Армед 3L, в режиме работы 2-3 литра в минуту 30-60 минут), после стабилизации состояния, животное возвращалось владельцу.

При фотодинамической терапии опухолей мы применяли следующие дозы облучения:

- Саркома мягких тканей – 300-600 Дж/см²;
- Рак молочной железы – 300-450 Дж/см²;
- Базальноклеточный рак кожи – 300-400 Дж/см²;
- Плоскоклеточный рак кожи – 300-400 Дж/см²;
- Меланома кожи – 400-450 Дж/см²;
- Саркома ротовой полости – 400-450 Дж/см²;
- Плоскоклеточный рак ротовой полости – 350-450 Дж/см²;
- Меланома ротовой полости – 400-450 Дж/см².

2.13 Критерии оценки эффективности лечения

Для оценки эффективности лечения применяется методика Всемирной организации здравоохранения (WHO Handbook for Reporting Results of Cancer

Treatment. Geneva, 1979), при которой измеряется два максимальных взаимно перпендикулярных размера опухоли до и после лечения и вычисляется их произведение. При исчезновении опухоли говорится о полной регрессии (ПР), при уменьшении произведения двух размеров более, чем на 50% – о частичной регрессии (ЧР), при уменьшении менее, чем на 50% или увеличении до 25% – стабилизации (СТ), увеличении более 25% или появлении новых очагов – прогрессирование заболевания (ПРГ), смотри таблицу №39.

Таблица 39 - Оценка эффективности лечения опухолей согласно Всемирной организации здравоохранения

Эффект	Характеристика
Полная регрессия (ПР)	Полное исчезновение признаков опухоли во всех известных очагах при двух последовательных идентичных исследованиях и при отсутствии проявления новых метастазов на срок не менее 4 недель.
Частичная регрессия (ЧР)	Уменьшение опухолевых очагов на 50% и более от их исходных размеров при отсутствии появления новых на срок не менее 4 недель при условии отсутствии проявления новых метастазов или прогрессирования старых.
Стабилизация (СТ)	Уменьшение опухолевых образований менее чем на 50% или увеличение его не более чем на 25%.
Прогрессирование заболевания (ПРГ)	Увеличение одного из измеряемых очагов более чем на 25% или появление новых опухолевых очагов.

Для оценки эффективности проведенного лечения нами рассчитывался объективный эффект, который включает в себя случаи полной и частичной регрессии опухоли ($ОЭ=ПР+ЧР$). А также возможно учитывать лечебный эффект, который включает в себя случаи полной, частичной регрессии опухоли и стабилизацию процесса ($ЛЭ=ПР+ЧР+СТ$).

Глава 3

ОБОСНОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

В настоящее время нет единого мнения о механизмах и причинах возникновения злокачественных опухолей, поэтому проблема их возникновения пока не решена в современной онкологии. Существует более двадцати теорий канцерогенеза, например, теория химического и физического канцерогенеза, инфекционная теория, теория гормонального канцерогенеза, теория недостаточности иммунного надзора антигенным составом внутренней среды организма (Ф. Бернета), мутационная теория, полиэтиологическая теория и др. (Петров Н. Н., 1961).

Исходя из результатов наших исследований и научных литературных данных, наиболее близка к истине и наиболее полноценно описывает возникновение злокачественных опухолей - полиэтиологическая теория. Данная теория является интегральной и объединяет в себе компоненты приведенных выше теорий, так как есть большое разнообразие злокачественных опухолей и к их возникновению может приводить сочетанное воздействие канцерогенных факторов, при которых эффект воздействия суммируется и усиливается. Как считают Soto, Sonnenschein и Мищенко П.В. в результате этих воздействий в ДНК клетки накапливаются мутации одного или нескольких генов, приводящие к возникновению и синтезу дефектных белков, что в конечном итоге приводит к иммортализации, нарушению кариотипа, отсутствию репликативного старения, безудержному росту и самодостаточности в росте индуцирующих сигналах клетки, в следствии чего развивается злокачественная опухоль (Soto, Sonnenschein, 2014, Мищенко П.В., 2015).

По нашим наблюдениям, в естественных условиях при возникновении спонтанных опухолей на организм воздействует множество факторов с преобладанием одного или нескольких канцерогенных воздействий. Это нарушение работы иммунной системы и противоопухолевого иммунного надзора,

влияние инфекционных составляющих, например, вируса лейкемии у кошек, в результате действия которого возникает лимфома, так же нарушение в работе других систем, например, нервной – в случае сильного и длительного стресса, что приводит к снижению резистентности иммунной системы, нарушению эндокринной системы, например, по нашим наблюдениям, совпадающим с данными Якуниной М.Н, Калишьян М.С., Трещалиной Е.М., у собак с частыми гормональными нарушениями, клиническими проявлениями которых являются ложные беременности, нерегулярные циклы, отсутствие течки, аномально длинные или короткие течки, возникают кисты яичников и чаще наблюдается вероятность развития злокачественных новообразований молочной железы. В том числе важная роль принадлежит провоцирующим факторам (особенно на фоне нарушений в работе нервной, иммунной и эндокринной систем) – хроническим инфекциям, воспалительным процессам, травмам (мы наблюдали возникновение остеосаркомы в области остеосинтеза после перелома конечности) (Калишьян М.С., Якунина М.Н., Трещалина Е.М., 2009, Якунина М.Н., 2014, Carolyn, J. H., Mary Lynn H., 2009, Gilbertson S.R. et al., 1983, Sartin E.A. et al., 1992, Morris J., Dobson J., 2001).

Таким образом, на наш взгляд, существенной предпосылкой к возникновению опухолевых клеток является нарушение нервной, иммунной и эндокринной системы организма, которые обеспечивают функционирование всех основных органов и поддерживают постоянство внутренней среды. Вследствие чего, такой организм становится наиболее чувствительный к вышеописанным канцерогенным воздействиям.

Патогенез опухолевого роста

По нашему мнению, Петров Н.Н. и Ганцев Ш.Х. оказались правы, утверждая, что процесс образования опухоли имеет несколько стадий: инициация (индукция), промоция, деление трансформированной клетки и рост опухолевой колонии (Петров Н. Н., 1961, Ганцев Ш.Х., 2006).

На стадии инициации изменения в хромосомах, мутации и другие нарушения генотипа клетки, создают предпосылки к опухолевой мутации. После чего

наступает стадия промоции, в это время в клетки протоонкогены превращаются в онкогены, возникает атипия клетки. В стадии инициации и промоции (эти этапы обратимы) действуют канцерогенные факторы, а дальнейшая трансформация может уже проходить без их воздействия (Напалков Н. П. 1989, Ганцев Ш.Х. 2006, Новицкий В.В. 2009, Циган В.Н., 2018).

По нашему мнению, если клетка в стадию инициации и промоции претерпела выраженные изменения генотипа и, как следствие, фенотипа, не подверглась уничтожению со стороны иммунной системы, то начинается стадия деления трансформированной клетки, которая проходит без роста индуцирующих сигналов, таким образом, опухолевые клетки самодостаточны в рост стимулирующих сигналах и не зависят от организма. Нарушение генотипа закрепляется в дочерних клетках, и формируется колония опухолевых клеток. В дальнейшем нарушаются механизмы апоптоза, репарации ДНК, дифференцировки клетки и происходит аутоstimуляция деления. Изменяются биохимические свойства клеток, метаболизм, в опухолевых клетках гликолиз преобладает над окислительными процессами. В процессе анаэробного гликолиза накапливаются его метаболиты (например, молочная кислота), на поверхности клетки меняется набор рецепторов, увеличивается количество рецепторов стимулирующих рост клеток (например, эпидермальный фактор роста, сосудистый фактор роста и пр.). Как считает Ганцев Ш.Х. все это приводит к предраковому состоянию и раку (Ганцев Ш.Х., 2006).

В дальнейшем происходит рост опухолевой колонии, за счет накопления и усиления генетических нарушений, опухоль меняет свои биологические свойства, становится более агрессивной, происходит малигнизация (Петрова Н. Н., 1961, Ганцев Ш.Х., 2006, Новицкий В.В., 2009).

В нашем исследовании мы обратили внимание на то, что при устранении воздействия канцерогена, возникшая опухоль продолжает свое развитие, например, при дисгормональных нарушениях у самок, при возникновении аденомы и карциномы молочной железы, овариогистерэктомия за частую не решает проблему, на этапе деления и роста опухоль продолжает расти. Таким образом, если запущен каскад механизмов опухолевого роста, то опухоль может продолжить

развитие в отсутствие различных канцерогенов (Moulton, J.E. et al., 1970, Morris J., Dobson J., 2001, Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., 2001, Якунина М.Н., 2014).

Способы лечения опухолей.

В настоящее время в онкологии существует несколько основных методов лечения злокачественных опухолей (которые применяются как самостоятельно, так и в комбинации): хирургический, дистанционная лучевая терапия (ДЛТ), химиотерапия, таргетная терапия и иммунотерапия, при помощи которых больные могут быть полностью излечены. Эффективность лечения зависит от гистологической структуры, стадии развития, локализации, степени злокачественности, индивидуальных особенностей новообразования и общего состояния организма (Allstadt S.D., 2012, Carolyn J. H., 2009, Liptak J.M., Withrow S.J., 2007).

Следует отметить, что у вышеприведённых методов есть определённые ограничения, противопоказания или побочные эффекты. Так, например, хирургический – это основной и наиболее часто используемый метод лечения, который позволяет полностью избавиться пациента от первичного объёма опухоли, однако существуют анестезиологические риски, например, противопоказания к наркозу у кардиологических или гериатрических пациентов; большие объёмы операции или сложная локализация опухоли, что повышает риск рецидива и делает недоступным применение этого метода ряду больных.

ДЛТ ограничена чувствительностью к лучевой терапии, распространённостью процесса, имеет постлучевые осложнения. При применении химиотерапии высок риск возникновения интоксикации, миелосупрессии, т.к. под воздействие попадают здоровые клетки костного мозга организма. Может развиваться лекарственная устойчивость опухоли к цитотоксическим препаратам, так же есть опухоли устойчивые к химиотерапевтическому воздействию (Якунина М.Н., 2006, Шимширт А.А. с соавт., 2008, Dobson J.M., Gorman N.T., 1993, Morris J., Dobson J., 2001, Dobson J.M., 1999).

Таргетная (целенаправленная) терапия ограничена набором генов, экспрессирующихся в злокачественной опухоли, в ветеринарии относительно не широко применяется. Иммунотерапия - направлена на блокаду рецепторов резистентности к иммунному ответу на поверхности клеток опухоли и может быть ограничена отсутствием данных рецепторов и имеет аутоиммунные осложнения.

Таким образом, большинство способов лечения злокачественных новообразований в основном приводят к сильным нарушениям в жизнедеятельности клетки, что в конечном итоге приводит к ее гибели, что сочетается с цитотоксическим воздействием на здоровые клетки организма. Исходя из этого, важной задачей современной ветеринарной и медицинской онкологии является поиск новых методов лечения, которые безопасны для организма, направлены преимущественно на злокачественные клетки и не имеют побочных эффектов. Одним из таких способов является фотодинамическая терапия, которая сочетает в себе химическое и физическое воздействие для достижения не только локального лечебного эффекта, но и малоизученных системных эффектов. ФДТ возможно проводить амбулаторно, многократно повторять (в отличие от лучевой терапии, химиотерапии или наркоза при операциях), комбинировать с другими методами лечения. Процедура ФДТ безболезненна, так же наблюдается хороший косметический эффект, за счет сохранения структуры коллагеновых волокон в тканях, что способствует образованию оптимального эластичного рубца, отсутствует токсичность и мутагенность.

По нашему мнению, преимущества ФДТ следующие:

- ✓ лечебный сеанс возможно проводить без наркоза;
- ✓ эффективное лечение опухолей сложной локализации;
- ✓ осуществление органосохраняющего лечения;
- ✓ амбулаторное лечение больных;
- ✓ лазерное излучение и фотосенсибилизатор не токсичны для организма;
- ✓ под цитотоксическое воздействие попадают преимущественно злокачественные клетки;
- ✓ отсутствуют резистентности опухолевых клеток к ФДТ.

Так же есть данные об эффективности ФДТ при лечении радиорезистентных опухолей (Странадко Е.Ф., Малова Т.И., 2014, Капинус В.Н., Каплан М.А., 2016, Странадко Е.Ф. с соавт., 2017).

При этом эффективность ФДТ различных опухолей у животных до конца не изучена, но на наш взгляд у данного метода есть потенциал широкого терапевтического воздействия на различные опухоли, в том числе химио- и радиорезистентные.

По данным многочисленных клинических исследований, проведённых в ведущих научно-практических центрах стран Европы, Азии и Америки, данный метод лечения продемонстрировал хорошую переносимость и высокую противоопухолевую эффективность в лечении ряда предопухолевых заболеваний и злокачественных новообразований у людей и животных (Agarwal M.L 1993, Barr H. et al. 1987, Beck E.R. et al. 1991, 1992, Roberts W.G., Klein M.K., Loomis M. et al. 1991, Bethea D. 1999, Carolyn J. H. 2009, Cheli R. et al 1987, Cyman J.A. et al. 1993, Frazier D.L., Barnhill M.A., Vdinh T. et al. 1992, Stell A.J., Langmack K., Dobson J.M. 1999, Gloi A.M., Beck E. 2003, Hahn K. A., Panjehpour M., Legenore A.M. 1998, Jacobs T.M., Rosen G.M. 2000, Lucroy M.D., Magne M.L., Peavy G.M. et al. 1996, Peaston A.E., Leach M.W., Higgins R.J. 1993, Peavy G.M., Krasieva T.B., Tromberg B.J. et al. 1991, Mange M.L., Rodrigues C.A., Autgy S.A. et al. 1997, Magne M.L. 1998, McCaw D.L., Pope E.R., Payne J.T. et al. 2000, Stell A.J., Dobson J.M., Langmack K. 2001, Lucroy M.D. 2002, Okamoto Y., Ogura K., Okamura Y., Ishii H. et al. 2005, Buchholz J. 2003, 2005, 2007, Reeds K.B., Ridgway T.D., Higbee R.G., Lucroy M.D. 2004, Osaki T., Takagi S., Hoshino Y., Okumura M. et al. 2009, Hamblin M.R., Sabino C.P. 2016 и пр. Cairnour F. 1996, Cheli R. 1984, Chen W.R. 1997, Dougherty T.J. 1993, 1998, Fijan S., Honigsmann H., Ortel B. 1995, Hayata Y., Kato H., Konaka C. et al. 1982, Wyss P., Schwarz V., Dobler-Girdziunaite D. et al. 2001, Betz Ch.S. et al. 2012, Tomohiro O., Kawase Y., Hiroshi I., Kishimoto S., Ikuta S. 2017, Guilherme C.M., Ana M.A., Mafalda L. et al. 2018 и пр.)

Теории накопления ФС в опухоли

В настоящее время известно более тысячи веществ, обладающих фотосенсибилизирующими свойствами, и всего лишь несколько были относительно хорошо изучены.

По литературным данным ФС проникает в опухолевые клетки как активным, так и пассивным путем. Пассивный путь – идет за счет диффузии препарата, активный – за счет фагоцитоза препарата (рецепторно-опосредованный эндоцитоз), так же препарат воздействует на рецепторы эпидермального фактора роста. Важная роль в доставке ФС к клеткам опухоли принадлежит липопротеидам (особенно низкомолекулярной фракции) плазмы крови, наибольшее количество таких рецепторов имеют опухолевые клетки и эндотелий сосудов. Имеются данные о том, что Хлорин еб (действующее вещество ФС Фотодитазин) в клетках опухоли накапливается преимущественно в митохондриях. Но до конца механизмы накопления ФС в опухолях не изучены (Гельфонд М.Л., 2007, Мачинская Е.А., Иванова-Радкевич В.И., 2013).

Тем не менее, до сих пор остается много не ясных вопросов в том числе: на какие структуры опухолевой клетки прежде всего воздействует фотодинамический эффект, есть ли различия накопления ФС в разных типах опухоли.

Чтобы ответить на вышеприведенные вопросы мы провели ряд исследований:

Нами была проведена электронная микроскопия тубулярной аденокарциномы молочной железы кошки и меланомы ротовой полости собаки до и после ФДТ. Через 30 минут после проведения сеанса облучения было обнаружено, что в обоих случаях разрушилась клеточная стенка опухолей. Это говорит о том, что в данных случаях цитотоксическое действие преимущественно направленно на разрушение клеточной стенки (рисунок №10)

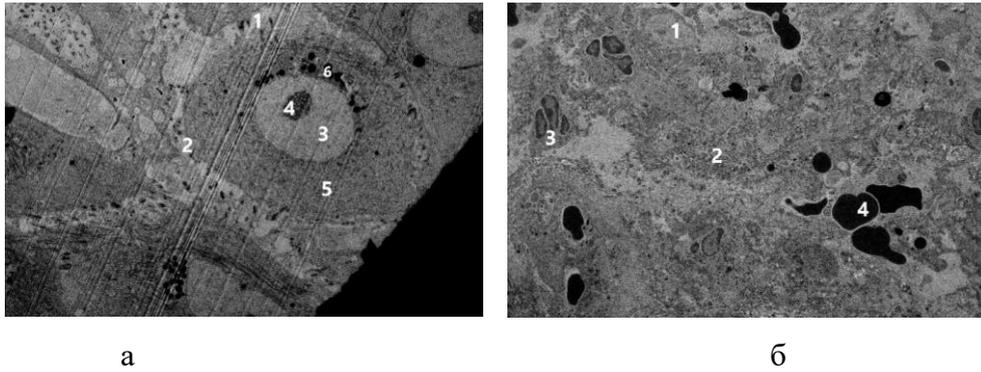


Рисунок 10 - Клетка аденокарциномы молочной железы кошки (окраска цитратом свинца, ув. х 3000) а – до ФДТ, б – через 30 минут после ФДТ: 1 – десмосомы; 2 - клеточная стенка; 3 – ядро; 4 – нуклеула; 5 – цитоплазма; 6 - артефакт окраски.

Через 30 минут после ФДТ в образцах тканей мы обнаружили скопление клеточного детрита, повышение количества коллагеновых волокон, отсутствие десмосом, а также наличие свободно расположенных клеточных органелл – ядра, митохондрии, рибосомы, комплекс Гольджи, вакуоли. Без клеточной стенки (Давыдов Е. В. и соавт., 2021).

Нами были проведены исследования по изучению накопления ФС Фотодитазин в фибросаркоме у кошек и плоскоклеточном раке языка у собак. Мы сделали флуоресцентную микроскопию гистосрезов приготовленных на замораживающем микротоме, полученных от биоптатов опухоли через 2-2,5 часа после введения Фотодитазина (рисунок №11).

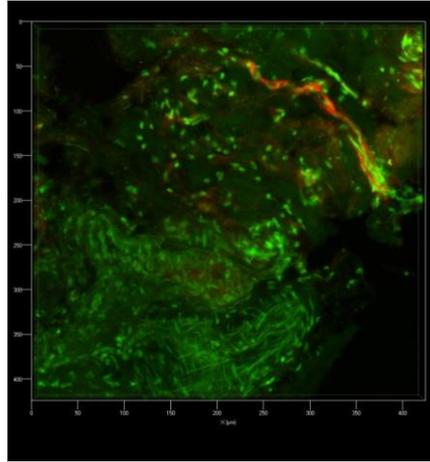


Рисунок 11 - Флуоресцентное изображение биоптата фибросаркомы кошки, 1 - область накопления ФС светится красно-оранжевым, ув x 200

При исследовании фибросаркомы, оказалось, что Фотодитазин преимущественно накапливается в клетках, расположенных на периферии опухоли, и значительно накапливается в стенках опухолевых сосудов.

При изучении плоскоклеточного рака языка собаки, через два часа после введения Фотодитазина, он накопился в ткани опухоли, при этом наибольшее накопление наблюдалось в злокачественных клетках, локализованных на периферии опухоли. Так же в опухолевой ткани видны диффузно расположенные клетки иммунной системы (рисунок №12)

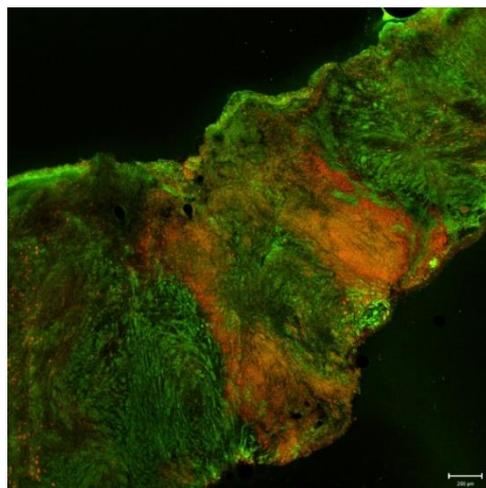


Рисунок 12 - Флуоресцентное изображение биоптата плоскоклеточного рака языка собаки, 1 - область накопления ФС, ув x 200

Таким образом нами показано, что цитотоксический эффект при фотодинамической терапии в опухолевой клетке начинается с разрушения клеточной стенки клетки опухоли. Фотодитазин в фибросаркоме накапливается преимущественно в стенках опухолевых сосудов и при фотодинамической терапии наиболее вероятно, что цитотоксический эффект проявляется не только за счет воздействия на опухолевые клетки, но также существенная роль принадлежит разрушению сосудов опухоли и нарушению питания злокачественных клеток. А в ткани плоскоклеточного рака ротовой полости Фотодитазин накапливается преимущественно в самих клетках, и повреждение опухоли идет в основном за счет разрушения злокачественных клеток новообразования.

На наш взгляд, такое накопление фотосенсибилизатора на основе Хлорина еб в стенках сосудов фибросаркомы у кошек может быть связано с особенностью канцерогенеза, по всей видимости, у этого вида опухоли более выражен патологический ангиогенез. Возможно, стенки сосудов сильно изменяются и их клетки подвергаются метаплазии, имеют атипию, за счет этого ФС накапливается в сосудах. А в ткани плоскоклеточного рака ротовой полости сосуды более близки по строению к нормальным, относительно фибросаркомы, поэтому ФС накапливается в клетках опухоли.

В то же время фибросаркома может иметь менее агрессивные по биологическому поведению клетки, в отличие от плоскоклеточного рака, таким образом, клетки ПКР активнее делятся, и в них быстрее проходят обменные процессы, в результате чего ФС накапливается больше в клетках опухоли, чем в сосудах. А в клетках фибросаркомы метаболизм ниже, чем в клетках ПКР, видимо поэтому ФС выражено накапливается в сосудах.

На основании положений основных теорий канцерогенеза можно сделать вывод, что в основе возникновения злокачественного новообразования лежит мутация клетки, вызываемая различными эндогенными и экзогенными факторами. Одним из свойств злокачественной клетки является неконтролируемый рост и пролиферация, что сопровождается усиленным метаболизмом злокачественной клетки по сравнению со здоровой клеткой. Данное агрессивное существование

злокачественной клетки, по нашему мнению, способствует накоплению фотосенсибилизатора в повышенном количестве по сравнению со здоровой клеткой, что позволяет использовать метод ФДТ с высоким целенаправленным эффектом, низкой токсичностью и ярко выраженным косметическим эффектом.

Предложенный нами таргетный и безопасный метод лечения можно комбинировать с другими методами терапии, в отличие от некоторых других способов лечения (не всегда можно комбинировать химиотерапию, лучевую терапию, хирургию и пр., так как есть побочные эффекты), что дает возможность разработке эффективных схем комбинированного лечения опухолей.

Таким образом:

- 1) ФДТ действует на клеточную стенку опухолевых клеток, разрушая ее и мембраны органелл;
- 2) ФДТ не обладает видоспецифическим действием у животных, то есть одинаково эффективно воздействует на опухоли у разных видов животных;
- 3) наблюдается особенность накопления фотосенсибилизатора в опухолях разного генеза.

Мы считаем, что прежде всего нарушение работы противоопухолевого иммунного надзора может оказать основное действие на прогрессию развития опухолевого процесса. Влияние инфекционных составляющих, появление очагов воспаления, которые неизбежно возникают в результате жизнедеятельности организма, их негативное воздействие на клетки органов и тканей было бы подавлено за счет иммунных механизмов организма. Физические и химические факторы в данной ситуации можно не учитывать. Потому что если они в пределах физиологической нормы, то они не могут провоцировать развитие опухоли, а факторы, действующие в экспериментальных или неестественных условиях (например, при чрезвычайной ситуации), не учитываются. Мы рассматриваем развитие спонтанных опухолей в физиологических условиях.

Одним из основных факторов в полиорганной патологии является нарушение контроля над ростом опухолевых клеток со стороны иммунной системы. В 1909 году П. Эрлих продемонстрировал роль иммунных клеток в предотвращении неоплазии. В последствии была разработана теория иммунонадзора за опухолями, когда Томас и Беррет предположили, что иммунная система распознает неоантигены на опухолевых клетках и пытается устранить их с помощью сложных гуморальных и клеточных механизмов (Burnet M., 1957; Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., 2016; Хаитов Р.М., Кадагидзе З.Г., 2018). Были проведены сложные эксперименты, которые показали значение противоопухолевых механизмов в профилактике рака (Thomas L., Lawrence H., 1959). Вскоре появилась теория, в которой поэтапная роль иммунной системы при онкологии классифицировалась в три фазы: элиминации, равновесия и уклонения. Элиминация состоит в полном уничтожении опухоли иммунитетом хозяина. Если происходит недостаточная элиминация, следует фаза равновесия, когда иммунная система может сдерживать опухоль, но не уничтожить ее полностью. Наконец, наступает фаза уклонения, при которой иммунная система действует без таких механизмов, как высвобождение противоопухолевых цитокинов, а также происходит потеря экспрессии апоптотических сигналов и т.д. После фазы уклонения опухоли становятся клинически обнаруживаемыми (Dunn G. P., Old L. J., Schreiber R.D., 2004; Волков Н.М., 2022).

Появляются незрелые, слабо дифференцированные клетки, которые обладают быстрым ростом, и иммунная система не вырабатывает адекватный ответ (злокачественные клетки избегают иммунного ответа).

По нашему мнению, при возникновении мутации в клетке и после ее малигнизации на образовавшиеся опухолевые клетки начинает действовать иммунитет организма. При этом опухолевые клетки, избегая воздействия иммунного надзора, пытаются изменить иммунитет (что происходит легче если есть нарушения в иммунной системе). Иммунная система убивает или задерживает рост одних опухолевых клеток, в то время как на другие клоны опухолевых клеток не воздействует, позволяя и помогая им развиваться. Таким образом, возникает

отрицательная селекция – подавление одних и стимуляция к росту других злокачественных клеток, рисунок №13. Злокачественная опухоль начинает производить те клоны опухолевых клеток, против которых не вырабатываются АТ, идет отрицательный селективный отбор – данные клетки начинают развиваться (а другие задерживаются организмом), и тогда опухоль формируется по соответствующему гистотипу (саркома, карцинома, мастоцитомы и пр). Гистогенез формируется после того, как опухоль столкнулась с иммунной системой, и продолжает развиваться тот пул опухолевых клеток, на которые не действует иммунная система конкретного больного животного, и это приводит к формированию опухоли определенной гистологической структуры. За счёт этого процесса происходит формирование определенного вида опухоли при участии защитных сил организма. Иммунная система «направляет» развитие опухоли в определенном направлении. Она же, в какой-то степени, обеспечивает формирование высокопатогенной опухоли.

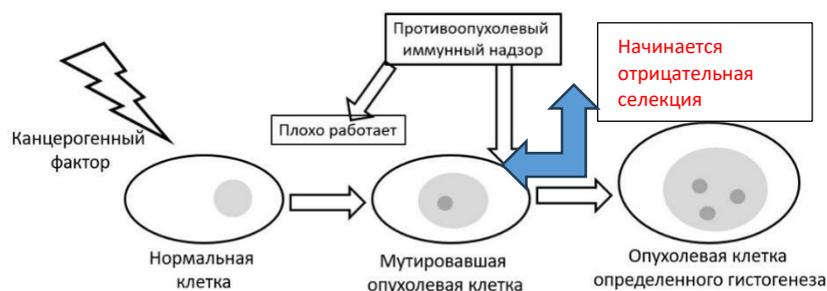


Рисунок 13 - Возникновение опухолевых клеток. Формирование гистотипа опухоли

Таким образом, АТ организма одни рецепторы опухолевых клеток распознают, а некоторые не распознают. В этом случае иммунная система не в состоянии предотвратить развитие опухолевых клеток, более того с помощью иммунной системы осуществляется отрицательный селективный отбор, и появляются эффективно развивающиеся незрелые клетки. Однако, когда мы вводим ФС, он накапливается в том числе в тех клетках, на которые не действует иммунная система (которые избегают иммунного надзора), в этом случае мы дополняем механизмы не эффективного воздействия организма хозяина на онкологическое состояние клеток при помощи фотодинамической терапии.

После лизиса опухолевых клеток – иммунная система организма распознает внутренние структуры и разрушает компоненты опухолевых клеток, воздействуя на органеллы структурно-функциональной единицы всех живых организмов. Таким образом, снимается защита опухолевой клетки от действия иммунной системы, и возникает вторичное действие иммунной системы уже против составных компонентов опухолевых клеток, рисунок №14.

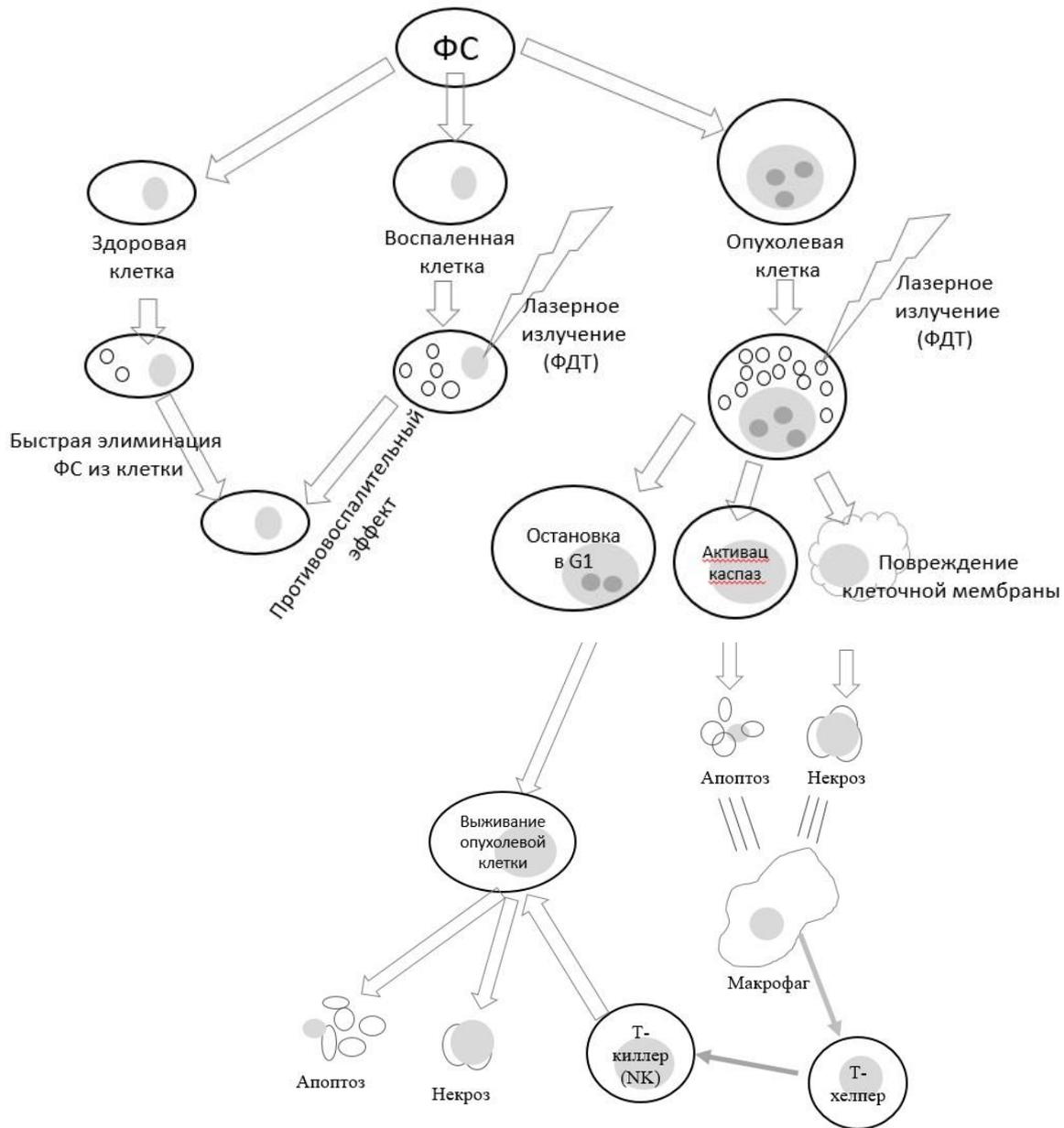


Рисунок 14 - Активация неспецифического и специфического звена иммунного ответа, при воздействии ФДТ на клетки в различных физиологических и патологических состояниях

По нашему мнению, возникновение, развитие и ФДТ опухолей представлена следующим образом:

1. процесс формирования опухоли проходит следующие этапы: нормальная клетка – повреждение – малигнизация - фаза элиминации - фаза равновесия - фаза уклонения - отрицательная селекция – развитие опухоли, формирование определенного гистотипа;
2. в развитии опухоли и формировании гистогенеза основная роль принадлежит процессу отрицательной селекции клеток со стороны иммунной системы хозяина. Скорость патогенетического процесса, морфология патологических клеток зависит от состояния иммунной системы конкретного организма, в конкретный период времени. Это негативное явление выражается в формировании совокупности процессов, приводящих к образованию патологических тканей в ходе индивидуального развития – гистотипа опухоли;
3. фотосенсибилизатор наиболее активно действует на клетки с высоким метаболизмом;
4. фотосенсибилизатор по-разному накапливается в разных опухолях (например, в фибросаркоме фотодитазин накапливается в основном в стенках опухолевых сосудов, а при ПКР ротовой полости в опухолевых клетках), что связано с особенностью развития, происхождением опухоли и ее метаболизмом;
5. фотосенсибилизатор разрушает клеточную стенку, убирает нераспознанные иммунной системой антигенные рецепторы и, таким образом, снимает режим уклонения от иммунной системы, прекращая отрицательную селекцию клеток. Возникает вторичное действие иммунной системы против составных компонентов опухолевых клеток.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении саркомы мягких тканей

В исследование включены больные с саркомой мягких тканей I–III стадий, не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования.

Для постановки окончательного диагноза применялось гистологическое исследование опухолей, окрашенных гематоксилин-эозином, рисунок №15.

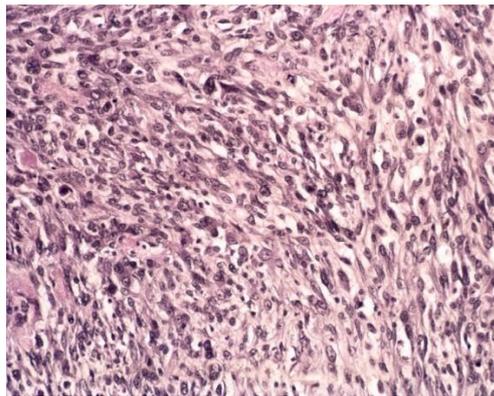


Рисунок 15 – Микроскопическое исследование гистологического материала кошки с диагнозом – фибросаркома, до начала лечения, окраска гематоксилин-эозин, ув. x400

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения (через 10-14 дней) для оценки эффекта фотодинамической терапии и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №16.

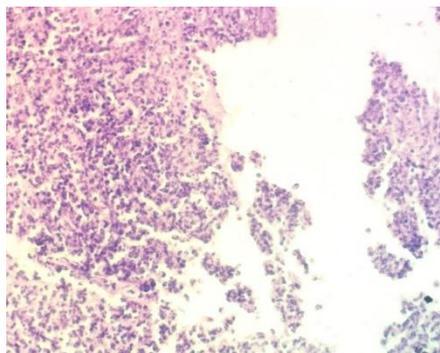


Рисунок 16 – Лечебный патоморфоз опухоли – фибросаркома кошки, после фотодинамической терапии, окраска гематоксилин-эозин, ув. х400

На первом этапе больным вводили фотосенсибилизатор Фотодитазин, доза фотосенсибилизатора составляла 1 мг/кг и вводилась за 3 часа до облучения, время введения составляло 20–30 минут. При необходимости животным проводилась седация (Золетил в дозе 0,2 – 0,5 мг/кг, Ксилазин 0,5–2 мг/кг, Ветранквил 0,02–0,05 мл/кг). После облучения животным с седацией проводили капельную инфузию солевыми растворами (Натрия хлорид 0,9% в дозе 3–5 мл/кг, Трисоль 3–5 мл/кг, Глюкоза 5% 3–5 мл/кг), поддерживающими препаратами (Мексидол-вет 5% в дозе 10 мг/кг, Фуросемид 1 мг/кг), оксигенотерапия (Армед 3L, в режиме работы 2 литра в минуту 30–60 минут), после стабилизации состояния, животное возвращалось владельцу.

Фотодинамическую терапию проводили по приведенной выше методике.

Непосредственно после ФДТ наблюдалось: побледнение или потемнение тканей опухоли и изменение сосудистого рисунка. В течение 2–5 дней после ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с увеличением в объеме до 1,5 раз вследствие активации фотосенсибилизатора, рисунок №17.



Рисунок 17 – Отек опухолевой ткани – Собака Л., саркома мягких тканей T_{1b} N₀M₀ на второй день после фотодинамической терапии

Через 5–12 дней после фотодинамической терапии опухоль уменьшалась и подвергалась деструкции, на месте опухолевой ткани наблюдался некроз, образование гнойного экссудата, рисунок №18.



Рисунок 18 – Некроз опухоли с образованием гнойного экссудата – кошка М, саркома мягких тканей T_{2b} N₀M₀ деструкция опухоли после фотодинамической терапии

При необходимости проводилась некротомия области деструкции, в случае обширного некроза опухоли, с целью усиления эпителизации или очищения раневой поверхности, перед повторным проведением сеанса фотодинамической терапии, рисунок №19.



Рисунок 19 – Проведение некротомии опухоли после фотодинамической терапии
– кошка Р, саркома мягких тканей T_{2b} N₀M₀

При фотодинамической терапии саркома мягких тканей полностью подвергалась деструкции через 12–14 дней, заживление раны проходило вторичным натяжением, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и антибактериальными мазями.

При саркоме мягких тканей количество курсов составило от 1 до 8 (среднее количество курсов лечения составило 3).

4.1.1 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при саркоме мягких тканей

Проанализировано 77 животных с саркомами мягких тканей: 28 собак и 49 кошек, морфологическая характеристика представлена в таблица №40. Средний возраст пациентов составил $11,47 \pm 2,02$ года.

Таблица 40 – Распределение саркомы мягких тканей по морфологическому типу опухоли

Вид животного	n	%	Морфологический тип опухоли
Собаки	28	36,4%	Фибросаркома (n=25) 89,3% Рабдомиосаркома (n=2) 7,1% Липосаркома (n=1) 3,6%
Кошки	49	63,6%	Постинъекционная саркома 100%

В соответствие с классификацией Owen (1980) 49,3% пациентов классифицированы как IB стадия с максимальным диаметром от 2-5 см и 20,7%, как ПА с диаметром более 5 см, и в 16,8% выявлены инвазивные опухоли, соответствующие T4. T1 при диаметре опухоли до 2 см диагностированы только в 12,8%. Признаки инвазии опухоли в подлежащие ткани выявлены у 13 пациентов. Ни у одного пациента не выявлено метастазирования в ЛУ, а также не выявлены отдаленные метастазы, таблица №41.

Средняя площадь опухоли до начала лечения составляла 20 см², при T1 в среднем 3,46±0,8 см², при T2 - 14,78±6,71 см² и при T3 - 38,23 ±13,98 см².

Таблица 41 – Распределение животных с саркомами мягких тканей по стадиям

Стадия процесса		Т первичная опухоль		Н регионарные ЛУ	М отдаленные метастазы
IA	12,89%	T1	10	0	0
IB	49,35 %	T2	38	0	0
ПА	19,48 %	T3	15	0	0
ПВ	18,18%	T4	14	-	-

ФДТ проводили тремя курсами с интервалом 10-14 дней с фотосенсибилизатором Фотодитазин, длина волны лазерного излучения 660±2 нм.

Объективный эффект лечения в группе животных с саркомой мягких тканей составил 89,6% при ПР у 77,92%, ЧР у 11,69%, стабилизации у 9,09%, таблица №42.

Таблица 42 – Эффективность лечения при саркомы мягких тканей собак и кошек

Количество пациентов	Эффективность лечения в группе с саркомой мягкой тканей				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогрессирование
%	89,6%	77,92%	11,69%	9,09%	1,29%
n	77	60	9	7	1

Рецидив отмечен у 32,47% (n=25 из 77). Рецидив зарегистрирован, у 10 животных после достижения ПР, у 9-и - после ЧР и у 6-и на фоне стабилизации. Медиана безрецидивного периода (МБП) составила 213,5 дней.

При этом медиана времени до прогрессирования у пациентов, получивших рецидив, коррелировала с полученным ранее эффектом, так при достижении полной регрессии МБП равнялась 573 дням, а при частичной регрессии – МБП составляла 197 дней, и более быстрый рецидив отмечен при стабилизации - МБП = 146,5 дней.

Медиана продолжительности жизни в группе больных саркомой мягких тканей составила 676 дней, годовая выживаемость достигнута у 85,7% животных и 2-х летняя выживаемость – у 48%, таблица №43. МБП в группе = 627 дней, при этом 72,73% пациентов не имели рецидив в течении 1 года и 40,26% в течении 2 лет.

Таблица 43 - Общая продолжительности жизни в группе животных с саркомой мягких тканей

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	676	100%	100%	84,42%	68,83%	48,05%
		n=77	n=77	n=65	n=53	n=37
МБП, дни	627	98,7%	87,01%	72,73%	61,04%	40,26%
		n=76	n=67	n=56	n=47	n=31

Группа кошек с постинъекционной фибросаркомой.

Проанализировано 49 кошек с постинъекционной фибросаркомой. Средний возраст кошек составил $12,77 \pm 1,55$ лет, средняя площадь опухоли - $22,5 \text{ см}^2$ (от 3 и до 180 см^2).

Локализация опухоли: область холки n=18, область спины n=24, боковая часть тела n=4, область крестца n=1, область бедра n=2. Инвазия была у 13 кошек.

В соответствии с международной классификацией Owen (1980) 4,085% (n=2) кошек имели маленькие опухоли до 2 см и их классифицировали как T1, у 55,1% (n=27) выявлена T2 стадия (2-5 см), у 14,28% (n=7) – T3 и инвазивные опухоли с поражением подлежащих мышц в 26,53% (n=13)

Объективный эффект зафиксирован у 87,75% кошек, за счет ПР у 75,5% и ЧР - 12,24% животных, таблица №44.

Таблица 44 – Эффективность лечения в группе кошек, прошедших ФДТ фибросаркомы

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогрессирование
%	87,75	75,51	12,24	10,20	2,04
n	43	37	6	5	1

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. При опухолях менее 2 см и от 2 до 5 см полная регрессия опухоли достигалась в 100%, при опухолях более 5 см чаще регистрировали ЧР в 57,4%, а ПР отмечена в 42,66% и при инвазивных опухолях ПР не более 38,46%, таблица №45.

Таблица 45 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от стадии T фибросаркомы кошек

Эффективность лечения	T1 (n=2)	T2 (n=27)	T3 (n=7)	T4 (n=13)
ПР	100% (n=2)	100% (n=27)	42,66% (n=3)	38,46% (n=5)
ЧР	-	-	57,4 % (n=4)	15,38% (n=2)
СТ	-	-	-	38,46% (n=5)
Прогрессирование	-	-	-	7,69% (n=1)

Рецидив в группе отмечен у 34,69% (n=17). Наблюдается зависимость возникновения рецидива от размера первичной опухоли. При опухолях более 5 см и инвазивных, возникновение рецидива составило 85,71% и 76,93% соответственно, а при опухолях 2-5 см, не более чем в 3,7% и не отмечено при опухолях до 2 см. Рецидив существенно не зависел от раннее полученного ответа на ФДТ, хотя чаще зарегистрирован при ЧР, таблица №46.

Таблица 46 – Рецидив опухоли на фоне ФДТ у кошек

Эффективность лечения	Рецидив, %			
	T1	T2	T3	T4
Рецидив в группе %	0	3,70% (n=1)	85,71% (n=6)	76,93% (n=10)
ПР	-	3,7%	28,57%	15,38%
ЧР	-	-	57,14%	23,07%
СТ	-	-	-	38,46%

У животных с рецидивом, МБП составила 213 дней. При оценке зависимости продолжительности медианы безрецидивного периода от лечебного эффекта у кошек выявлена прямая корреляция между полученным эффектом и скоростью рецидивирования опухоли, таблица №47. Так при получении ПР опухоли время развития рецидива в 3 раза дольше, чем при получении ЧР опухоли.

Таблица 47 – Зависимость МБП от лечебного эффекта у кошек

Эффективность лечения	Медиана безрецидивного периода, дни			
	T1	T2	T3	T4
ПР	-	334 дней	605 дней	449,5 дней
ЧР	-	-	213 дней	130 дней
СТ	-	-	-	144 дней

Медиана продолжительности жизни составила 698 дней. Выживаемость в течении одного года - 83,67%, двух лет – 51,02%. Медиана без рецидивной выживаемость – 640 дней, 69% кошек не имели признаков рецидива в течении 1 года и 40,8 % в течении 2 лет, таблица №48.

Таблица 48 - Общая продолжительности жизни в группе кошек, прошедших ФДТ

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	698	100%	100%	83,67%	69,38%	51,02%
		n=77	n=49	n=49	n=41	n=34
МБП, дни	640	97,96%	81,63%	69,39%	63,26%	40,82%
		n=76	n=48	n=40	n=34	n=31

Анализ продолжительности жизни животных, получивших рецидив, выявил двукратное увеличение МПЖ у животных без рецидива в сравнении с пациентами, получившими рецидив, таблица №49.

Таблица 49 – Сравнение медианы продолжительности жизни в зависимости от рецидива у кошек, прошедших ФДТ

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом	МПЖ без рецидива
МПЖ в группе	388	861,5
T1	-	929
T2	930	948
T3	611	640
T4	147	298

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии СМТ у кошек = 0,466 ($p > 0,05$), при сравнении I и III стадии СМТ у кошек = 0,28 ($p > 0,05$), а при сравнении I и IV стадии СМТ у кошек = 0,02 ($p < 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии СМТ у кошек = 0,933 ($p > 0,05$), при сравнении I и III стадии СМТ у

кошек = 0,629 ($p > 0,05$), а при сравнении I и IV стадии СМТ у кошек = 0,012 ($p < 0,05$).

Группа собак с саркомой мягких тканей

Всего в данной группе 28 собак. Средний возраст $9,86 \pm 1,22$ лет, средняя площадь опухоли - $17,97 \pm 21,65$ см² (от 2,25 и до 110 см²).

Локализация опухоли: область тела / спины $n=14$, передняя лапа $n=8$, задняя лапа $n=6$. Инвазия была отмечена у 1 собаки с фибросаркомой.

В соответствие с международной классификацией 28,57% ($n=8$) классифицировали как T1 (максимальный диаметр до 2 см), у 42,86% ($n=12$) выявлена T2 стадия (2-5 см), у 25% ($n=7$) – T3 (при диаметре более 5 см) и инвазивные опухоли с поражением подлежащих мышц в 3,57% ($n=1$)

Объективный эффект зарегистрирован у 92,86% за счет ПР у 75,5% и ЧР 12,24%, таблица №50.

Таблица 50 – Эффективность лечения в группе собак, прошедших ФДТ сарком мягких тканей

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	92,86	82,14	10,71	7,14	-
n	43	23	3	2	0

При оценке зависимости продолжительности медианы безрецидивного периода от лечебного эффекта у собак выявлена прямая корреляция между полученным эффектом и скоростью рецидивирования опухоли.

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли, таблица №51.

Таблица 51 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера фибросаркомы собак

Эффективность лечения	T1 (n=8)	T2 (n=12)	T3 (n=7)	T4 (n=1)
ПР	100% (n=8)	91,66% (n=11)	57,14% (n=4)	
ЧР	-	8,33% (n=1)	14,28% (n=1)	100% (n=1)
СТ	-	-	28,57% (n=2)	

У собак рецидив отмечен в 28,57% (n=8). МБП у этих пациентов составила 215,5 дней. Частота развития рецидива болезни так же зависела от первичного размера опухоли: при размере опухолевого узла до 2 см в диаметре не отмечено признаков рецидива, в то время как при опухоли от 2 до 5 см, рецидив диагностирован в 25% случаев, а при опухолях более 5 см в 57,14%. При этом, возникновение рецидива не коррелировало с ранее полученным эффектом при проведении ФДТ, таблица №52.

Таблица 52 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ у собак

Эффективность лечения	Рецидив %			
	T1	T2	T3	T4
Рецидив в группе %	0	25%	57,14%	100%
ПР	-	16,66%	42,8%	-
ЧР	-	8,33%	14,28%	100%
СТ	-	-	14,28%	-

Оценка зависимости скорости рецидивирования от эффективности лечения показала, что продолжительность медианы безрецидивного периода прямо коррелирует с полученным эффектом лечения и не зависит от стадии процесса. Так,

при достижении полной регрессии опухоли в независимости от стадии болезни МБП составила 687,5 дня, при ЧР - 201 дней и при стабилизации болезни - 196 дня, таблица №53.

Таблица 53 – Зависимость МБП от лечебного эффекта у собак

Эффективность лечения	Медиана безрецидивного периода, дни				
	Общая	T1	T2	T3	T4
ПР	687,5	573,5	573	687,5	-
ЧР	201	-	127	197	205
СТ	196	-	-	196	-

Медиана продолжительности жизни (МПЖ) составила 611 дней. Выживаемость в течении одного года - 89,28%, полутра лет – 75%, двух лет – 42,86%. Медиана без рецидивной выживаемость – 573,5 дней, 78,57% собак не имели признаков рецидива в течении 1 года и 39,28% в течении 2 лет, таблица №54.

Таблица 54 - Общая продолжительности жизни в группе собак, прошедших ФДТ сарком мягких тканей

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	611	100%	100%	89,28%	75%	42,86%
		n=28	n=28	n=25	n=21	n=12
МБП, дни	573,5	100%	96,43%	78,57%	57,14%	39,28%
		n=28	n=27	n=22	n=16	n=11

Анализ продолжительности жизни животных, получивших рецидив, не выявил существенного отличия в сравнении с животными без рецидива, таблица №55.

Таблица 55 – Сравнение медианы продолжительности жизни в зависимости от рецидива у собак, прошедших ФДТ

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дней	МПЖ без рецидива, дней
МПЖ в группе	539	614,5
T1	-	573,5
T2	300	676,5
T3	539	821
T4	737	-

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии СМТ у собак = 0,279 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии СМТ у собак = 0,622 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии СМТ у собак = 0,416 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии СМТ у собак = 0,206 ($p > 0,05$).

4.1.2 Клинический случай лечения саркомы мягких тканей методом фотодинамическая терапия

Больная – кошка, Л. Клинический диагноз: саркома мягких тканей, T_{1a}N₀M₀, цитология (тонкоигольная биопсия): фибросаркома. Возраст 8 лет, порода – шотландская вислоухая, масса тела 3,4 кг. В августе 2015 года владельцы обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в области спины.

Клинический осмотр до начала лечения: обнаружена плотная, бугристая опухоль в области спины (поясница), образование подвижно относительно подлежащих тканей, регионарные лимфоузлы не пальпируются, размеры опухоли 2,5 x 4 см, локализуется подкожно (рисунок №20).

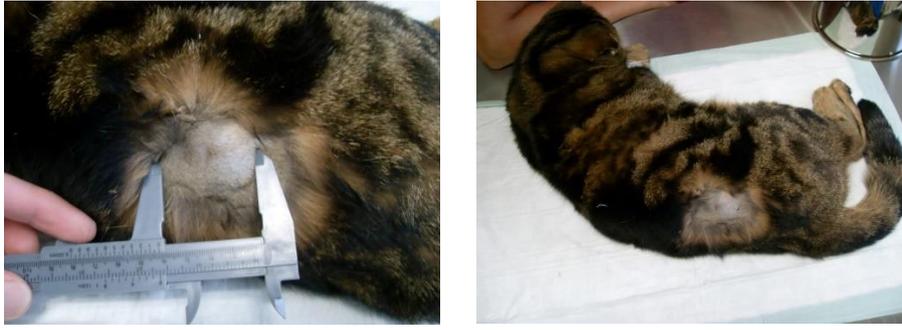


Рисунок 20 – Клинический осмотр опухоли – кошка Л, саркома мягких тканей T_{1a} N₀M₀ перед началом лечения

Гистологический диагноз: фибросаркома.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе отмечается небольшое снижение уровня гемоглобина – 78 г/л (при норме 80–150 г/л), таблица №56.

Таблица 56 – Гематологические показатели крови кошки Л.

Параметр		Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	11,6	10,5	5,0-17
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	7,9	8,2	6.1-11.9
Гемоглобин	HGB	г\л	78	71	80-150
Гематокрит	HCT	%	33,5	29,2	33-45
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	355	221	175-600
СОЭ		мм\ч	10	7	2-12
Базофилы	BASO	%	0	0	0
Эозинофилы	EOS	%	2	1	0-4
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	3	6	0 - 3
Сегментоядерные	SEGS	%	71	75	35 – 72
Лимфоциты	LYMP	%	22	18	20 - 55
Моноциты	MONO	%	2	0	1 - 5

В биохимическом анализе крови обнаружено небольшое повышение уровня глюкозы 6,9 ммоль/л (при норме 3,3 – 6,3 ммоль/л), повышение уровня креатинина в 1,5 раза (ВГН – верхних границ нормы) – 263 нмоль/л (при норме 70-165 нмоль/л), повышение уровня мочевины – 18,3 ммоль/л (при норме 5,4 – 12,1 ммоль/л), повышение уровня АЛТ в 1,9 раза (ВГН – верхних границ нормы) – 96,3 Ед/л (при норме 8 – 55 Ед/л) и небольшое повышение уровня ЛДГ – 271 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений до и после лечения, таблица №57.

Таблица 57 – Биохимические показатели крови кошки Л.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Глюкоза	ммоль/л	6,9	10,2	3,3 – 6,3
Креатинин	нмоль/л	263	242,4	70-165
Мочевина	ммоль/л	18,3	17,52	5,4 – 12,1
АСТ	Ед/Л	39,1	29,59	9-45
АЛТ	Ед/Л	96,3	101,2	8 – 55
Белок общий	г/Л	65,6	58,99	54-77
ЛДГ	Ед/Л	271	197,0	35-250
Амилаза	Ед/Л	314	170,9	500-1200
Щелочная фосфатаза	Ед/Л	34,8	20,96	5-55
Билирубин прямой	ммоль/Л	0,3	0,1	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/Л	5,1	3,2	2,0 – 10,0
ГГТ	Ед/Л	1,9	2,5	0 - 8

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Проведение ФДТ: больной установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica) по общепринятой методике. Далее при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 введен Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 3,4 мг или 0,7 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 20 минут. Далее в течение 3 часов животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

При проведении облучения животному придали удобное положение на животе, спиной вверх. Область опухоли депилировали. Световод для наружного облучения расположили таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и провели облучение выбранной зоны. Диаметр светового пятна при этом составил 5 см, с захватом окружающей опухоль здоровой ткани с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги. Доза лазерного излучения составила 400 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 2 Вт, плотность мощности 0,1 Вт/см². После облучения кожа в области воздействия изменила цвет, была несколько гиперемирована. Больная отпущена домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 4 дня после ФДТ: самочувствие среднее, животное умеренно активно, T=39,0°C, аппетит сохранен, определялась болезненность в области расположения опухоли, назначено НПВС: Превикокс в дозе 17 мг (5 мг/кг) 1 раз в день, 5 дней.

Клинический осмотр через 9 дней после ФДТ: самочувствие среднее, животное умеренно активно, T=39,1°C, аппетит сохранен, болезненность в области расположения опухоли снизилась. При осмотре обнаружено отторжение опухоли с покрывавшей ее кожей. Отмечено уменьшение опухоли на 30–40% – частичная регрессия (ЧР). При этом в небольшом количестве присутствовал серозный экссудат, в ране отмечено наличие фибрина (рисунок №21). Назначено промывание

раны Хлоргексидином с последующим нанесением мази Диоксидин или Левомиколь.



Рисунок 21 – Экссудат и отложение фибрина при частичном регрессе опухоли у кошки Л, осмотр через 9 дней после фотодинамической терапии

Клинический осмотр через 20 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,9^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен. При осмотре обнаружено полное отсутствие опухолевых масс – полная регрессия (ПР), при этом в небольшом количестве присутствовал серозный экссудат, в ране отмечено наличие фибрина, присутствие признаков эпителизации и заживления раны по вторичному натяжению (рисунок №22).



Рисунок 22 – Ранозаживление по вторичному натяжению – кошка Л. через 20 дней после фотодинамической терапии

Клинический осмотр через 5 недель после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,7^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен. При осмотре обнаружено полное отсутствие опухолевых масс – полная регрессия (ПР) (рисунок №23).



Рисунок 23 – полная регрессия опухоли у кошки Л. через 3 недели после фотодинамической терапии

При этом заживление кожного дефекта шло по вторичному натяжению. С образованием эластичного рубца. Визуальных и пальпаторных признаков опухоли не обнаружено, болезненность отсутствует.

4.2 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении рака молочной железы

В исследование включены больные с РМЖ I–III стадии, не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования.

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашенных гематоксилин-эозином, рисунок №24.

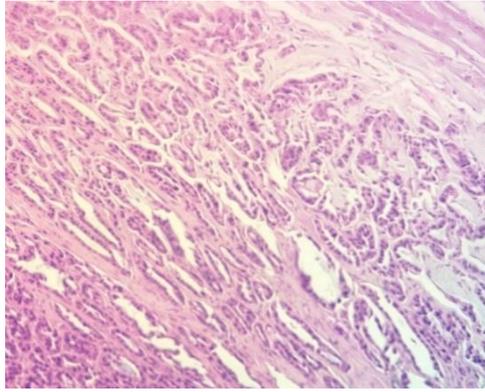


Рисунок 24 – Микроскопическое исследование гистологического материала – умеренно дифференцированная тубулярная аденокарцинома молочной железы у кошки до начала лечения, окраска гематоксилин-эозин, ув. х400

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения (через 8–14 дней) для оценки эффективности и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №25.

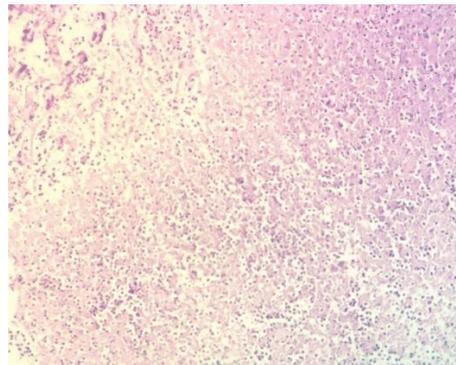


Рисунок 25 – Лечебный патоморфоз опухоли – некротическая ткань с гнойным воспалением, полный патоморфоз (умеренно дифференцированной тубулярной аденокарциномы молочной железы у кошки) после лечения, окраска гематоксилин-эозин, ув. х400

На первом этапе больным животным вводили фотосенсибилизатор Фотодитазин, доза фотосенсибилизатора составляла 1 мг/кг и вводилась за 3 часа до облучения, время введения составляло 20–30 минут. При необходимости животным проводилась седация (Золетил в дозе 0,2 – 0,5 мг/кг, Ксилазин 0,5 – 2

мг/кг, Ветранквил 0,02 – 0,05 мл/кг, Пропрофол 20% 3 – 5 мг/кг в час). Далее проводился сеанс фотодинамической терапии (рисунок №26).



Рисунок 26 – Проведение фотодинамической терапии – собака М., рак молочной железы T_{2b}N₀M₀

После облучения животным с седацией проводили капельную инфузию солевыми растворами (Натрия хлорид 0,9% в дозе 3–5 мл/кг, Трисоль 3–5 мл/кг, Глюкоза 5% 3–5 мл/кг), поддерживающими препаратами (Мексидол-вет 5% в дозе 10 мг/кг, Фуросемид 1 мг/кг), оксигенотерапия (Армед 3L, в режиме работы 2 литра в минуту 30–60 минут), после стабилизации состояния, животное возвращалось владельцу.

Непосредственно после фотодинамической терапии наблюдалось: побледнение или гиперемия опухоли, изменение рисунка на мозаичный, рисунок №27.



Рисунок 27 – Гиперемия опухоли после фотодинамической терапии – кошка В., рак молочной железы T_{3b} N₀M₀

В последствии, через 2–5 часов наблюдали потемнение тканей опухоли. В течение 2–4 дней после фотодинамической терапии наблюдался выраженный отек опухоли с увеличением в объеме до 1,5 раз вследствие фотодинамического эффекта, рисунок №28.



Рисунок 28 – Отек опухолевой ткани после фотодинамической терапии – собака В., рак молочной железы T_{3b} N₀M₀

Через 6–12 дней после фотодинамической терапии опухоль уменьшалась и подвергалась деструкции, на месте опухолевой ткани наблюдался некроз, образование гнойного экссудата, рисунок №29.



Рисунок 29 – Некроз опухоли с образованием гнойного экссудата – кошка М., рак молочной железы T_{2b} N₀M₀
деструкция опухоли после фотодинамической терапии

При необходимости проводилась некротомия области распада опухоли, в случае обширного ее некроза, с целью улучшения эпителизации или очищения раневой поверхности, перед повторным проведением сеанса фотодинамической терапии, так как некротические массы могут экранировать подлежащие ткани от лазерного излучения.

При ФДТ рак молочной железы полностью подвергся деструкции через 10–15 дней, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и антибактериальными мазями или присыпками с антибиотиком.

Ранозаживление проходило вторичным натяжением, после полного отторжения опухоли на ее месте сформировался эластичный рубец (рисунок №30).



Рисунок 30 – Ранозаживление с образованием эластичного рубца после полного отторжения опухоли – собака Д., рак молочной железы T_{2b} N₀M₀

При раке молочной железы количество курсов составило от 1 до 7 (среднее количество курсов лечения составило 3).

4.2.1 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при раке молочной железы

Проанализировано 61 животных с раком молочной железы: 25 собак и 36 кошек, таблица №58. Средний возраст пациентов составил $11,31 \pm 2,65$ лет, у кошек $13,65 \pm 2,03$ года, а у собак $9,44 \pm 1,1$ года.

Таблица 58 – Распределение животных с раком молочной железы по стадиям

Вид животного	n	%	Стадия процесса		
			I	II	III
Собаки	25	41%	n=4	n=11	n=10
Кошки	36	59%	n=3	n=13	n=20

В соответствие с классификацией Owen (1980) - у 11,5% пациентов диагностировали I стадию болезни, с максимальным диаметром опухоли до 1,8 см; у 39,3% диагностирована II стадия, с диаметром опухоли до 4,5 см и в 49,2% случаев диагностировали III стадию рака молочной железы с диаметром более 5 см.

ФДТ проводили тремя курсами с интервалом 10-14 дней с фотосенсибилизатором Фотодитазин, длина волны лазерного излучения 660 ± 2 нм.

Средняя площадь опухоли до начала лечения составляла $10,99 \pm 9,9$ см².

Объективный эффект лечения в группе составил 88,52%: при ПР у 55,7%, ЧР более чем на 50% - у 32,7% и стабилизации у 11,4% животных, таблица №59.

Таблица 59 – Эффективность лечения рака молочной железы собак и кошек

Количество пациентов	Эффективность лечения в группе				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогрессирование
%	88,52%	55,74%	32,78%	11,47%	-
n	54	34	20	7	-

Рецидив зарегистрирован у 21,3% (n=13 из 61): у двух животных после достижения ПР, у шести - после ЧР и у пяти на фоне стабилизации. У этих пациентов МБП равна 161 день.

При этом медиана без рецидивного периода коррелировала с полученным ранее эффектом, так при достижении ПР МБП = 478, а при частичной регрессии – МБП = 177 дней, и более быстрый рецидив отмечен при стабилизации МБП = 133 дня.

Медиана продолжительности жизни в группе составила МПЖ = 611 дней, годовая выживаемость достигнута у 86,8% животных и 2 летняя выживаемость – у 36% пациентов. МБП в группе составила 527 дней, 1 год без рецидива прожили 77% животных и 2 года - 31%, таблица №60.

Таблица 60 - Общая продолжительности жизни в группе животных с раком молочной железы

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	611	100%	100%	86,89%	55,74%	36,07%
		n=61	n=61	n=53	n=34	n=22
МБП, дни	527	100%	86,89%	77,05%	44,26%	31,15%
		n=61	n=53	n=47	n=27	n=19

Группа кошек с раком молочной железы

Проанализировано 36 кошек с раком молочной железы. Средний возраст кошек составил $13,65 \pm 2,03$ лет, средняя площадь опухоли - $6,9 \pm 5,0$ см² (от 0,4 и до 16,5 см²).

В соответствие с международной классификацией Owen (1980) - 8,33% кошек (n=3) относились к I стадии, при максимальном диаметре опухоли до 1 см (средняя площадь = $0,49 \pm 0,19$ см²), 13 кошек - ко II стадии, при среднем диаметре опухоли - 2,5 см (средняя площадь $2,25 \pm 0,77$ см²) и у 20 кошек диагностирована III стадия

болезни, при размере более 2,5 см (средняя площадь опухоли - $10,8 \pm 3,23$ см²). На момент лечения отдаленных метастазов не выявлено, таблица №61.

Таблица 61 – Распределение по стадиям рака молочной железы у кошек

Стадия процесса		Т первичная опухоль		Н регионарные ЛУ	М отдаленные метастазы
I	8,33%	T1	3	0	0
II	33,33%	T2	12	0	0
III	58,33%	T3	21	1	0
IV	0	0	0	0	0

После 3 курсов ФДТ объективный эффект составил 91,66 %: за счет ПР у 58,3%, ЧР - 33,3% и стабилизации у 8,3% пациентов, таблица №62.

Таблица 62 – Эффективность лечения в группе кошек, прошедших ФДТ рака молочной железы

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогрессирование
%	91,66%	58,3%	33,33%	8,33%	-
n	33	21	12	3	-

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Так при опухолях до 2,5 см ПР достигнута у 100% пациентов. При опухолях более 2,5 см отмечена преимущественно ЧР в 57%, а полная регрессия только в 28,5% случаев, таблица №63.

Таблица 63 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера рака молочной железы у кошек

Эффективность лечения	T1 (n=3)	T2 (n=12)	T3 (n=21)
ПР	100% (n=3)	100% (n=12)	28,57% (n=6)
ЧР	-	-	57,14% (n=12)
СТ	-	-	14,28% (n=3)

Рецидив отмечен у 19,44% (n=7) кошек. МБП = 161 день, при этом у 1 кошки с прогрессированием в легкие и у 1 кошки диагностированы отдаленные метастазы без рецидива опухоли. 4 кошки получили повторное лечение (три – 3 курса и одна – 2 курса ФДТ). Рецидив коррелировал со стадией процесса. При I и II стадиях не отмечено рецидива, при III стадии у 33,3% пациентов зарегистрирован рецидив. На фоне лечения, при СТ процесса рецидивировало 14,3% кошек, при ПР и ЧР – 9,5%, таблица №64.

Таблица 64 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ

Эффективность лечения	Рецидив %		
	T1	T2	T3
Рецидив в группе %	0	0	33,33% (n=7)
ПР	-	-	9,52% (n=2)
ЧР	-	-	9,52% (n=2)
СТ	-	-	14,28% (n=3)

Скорость развития рецидива так же зависела от полученного результата лечения, при достижении ПР безрецидивный период был 2 раза длиннее чем при ЧР и в 5 раз больше при СТ опухоли, таблица №65.

Таблица 65 – Зависимость МБП от лечебного эффекта у кошек

Эффективность лечения	Медиана безрецидивного периода, дни	
	Общая	ТЗ
ПР	311	478
ЧР	189	201,5
СТ	-	119

Медиана продолжительности жизни составила 624 дня. Выживаемость в течении одного года отмечена у 88,8% пациентов, двух летняя выживаемость - у 22 % кошек. МБП в группе составила 533,5 дней, при этом 83% не имело рецидивов в течении года и 27,2 % в течении двух лет, таблица №66.

Таблица 66 - Общая продолжительности жизни в группе кошек, прошедших ФДТ при РМЖ

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	624	100%	100%	88,88%	58,33%	33,33%
		n=36	n=36	n=32	n=21	n=12
МБП, дни	533,5	100%	88,88%	83,33%	47,22%	27,77%
		n=36	n=32	n=30	n=17	n=10

Анализ продолжительности жизни животных, получивших рецидив, не коррелировал с продолжительностью жизни между пациентами с рецидивом и без рецидива, однако зависел от стадии болезни. При I стадии МПЖ в 1,36 раз дольше чем при II и III стадии, увеличение на III стадии МПЖ кошек с рецидивом, по всей видимости, связано с повторным курсом ФДТ, таблица №67.

Таблица 67 – Сравнение медианы продолжительности жизни в зависимости от рецидива у кошек, прошедших ФДТ РМЖ

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дней	МПЖ без рецидива, дней
МПЖ в группе	644	623
T1	-	808
T2	-	592
T3	644	572,5

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии РМЖ у кошек = 0,22 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии РМЖ у кошек = 0,168 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии РМЖ у кошек = 0,22 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии РМЖ у кошек = 0,188 ($p > 0,05$).

Группа собак с раком молочной железы

Всего в данной группе проводили лечение 25 собакам. Средний возраст $9,44 \pm 1,17$ лет, средняя площадь опухоли - $16,9 \pm 12,08$ см² (от 0,5 до 38,4 см²).

Согласно международной классификации Owen (1980) 9 собак относились к I стадии РМЖ, при максимальном диаметре опухоли до 3 см (медиана площади - 1,6 см²), 10 собак ко II стадии, при среднем диаметре от 3 до 5 см (средняя площадь опухоли - 8,13 см²) и 6 собак – III стадия, при размере более 5 см (средняя площадь опухоли - 31,34 см²) на момент лечения отдаленных метастазов не выявлено, таблица №68.

Таблица 68 – Распределение по стадиям рака молочной железы у собак

Стадия процесса		Т первичная опухоль		N – регионарные ЛУ	M – отдаленные метастазы
I	37,58%	T1	9	0	0
II	41,66%	T2	10	0	0
III	25%	T3	6	0	0

Объективный эффект отмечен у 84% собак: за счет ПР у 52% и ЧР 32%,
таблица №69.

Таблица 69 – Эффективность лечения в группе собак, прошедших ФДТ рака
молочной железы

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	84%	52%	32%	16%	-
n	21	13	8	4	-

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Так при I стадии (диаметр опухоли до 3 см) ПР достигнута у 100% пациентов, при опухолях II стадии, размером от 3 до 5 см, выявлена частичная регрессия в 60% и полная в 40%. При III стадии (диаметр опухоли более 5 см) ФДТ не привела к полной регрессии и только в 33,3% отмечена частичная регрессия, таблица №70.

Таблица 70 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера рака
молочной железы у собак

Эффективность лечения	T1 (n=9)	T2 (n=10)	T3 (n=6)
ПР	100% (n=9)	40% (n=4)	-
ЧР	-	60% (n=6)	33,33% (n=2)
СТ	-	-	66,66% (n=4)

Рецидив отмечен у 24% собак (n=6). МБП составила 154,5 дней, при этом четверем собакам проводили повторную ФДТ с достижением ПР. Рецидив зависел от стадии процесса: при I стадии - не выявлен, а при II и III стадии составил 30% и 50% соответственно. Рецидив напрямую зависел от полученного эффекта. При ПР не отмечен, а при ЧР в 30% при II и в 16,7% при III стадии, таблица №71.

Таблица 71 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ

Эффективность лечения	Рецидив %		
	T1	T2	T3
Рецидив в группе %	0	30% (n=3)	50% (n=3)
ПР	-	-	-
ЧР	-	30% (n=3)	16,66% (n=1)
СТ	-	-	33,33% (n=2)

Анализ зависимости скорости рецидивирования от эффективности лечения показал, что скорость развития рецидива так же зависела от полученного результата лечения и от стадии болезни. При достижении ПР безрецидивный период был в 2 раза длиннее (611 дней), чем при ЧР (324 дня), и в 3 раз больше при СТ опухоли (228 дней), таблица №72.

Таблица 72 – Скорость развития рецидива РМЖ в зависимости от полученного эффекта у собак

Эффективность лечения	Медиана безрецидивного периода, дни			
	Общая	T1	T2	T3
ПР	611	-	-	-
ЧР	324	-	192	162
СТ	228	-	-	137

Медиана продолжительности жизни составила 571 день. Выживаемость в течении одного года отмечена у 84% пациентов, двух летняя выживаемость - у 40% собак. Медиана безрецидивного периода составила 516 дней, при этом 68% пациентов не имело рецидивов в течении года и 36% в течении двух лет, таблица №73.

Таблица 73 - Общая продолжительности жизни в группе собак, прошедших ФДТ при РМЖ

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	571	100%	100%	84%	56%	40%
		n=25	n=25	n=21	n=14	n=10
МБП, дни	516	100%	84%	68%	40%	36%
		n=25	n=21	n=17	n=10	n=9

Анализ медианы продолжительности жизни животных, получивших рецидив, не выявил существенного отличия в сравнении с животными без рецидива, таблица №74. По всей видимости, это связано с тем, что в случае рецидива пациентам проводили повторный курс ФДТ, за исключением животных с Т3 (размер опухоли более 5 см), среди которых отмечено более чем двух кратное снижение времени жизни пациентов с рецидивом по сравнению с пациентами без рецидива.

Таблица 74 – Сравнение медианы продолжительности жизни в зависимости от рецидива у собак, прошедших ФДТ РМЖ

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дней	МПЖ без рецидива, дней
МПЖ в группе	557	611
T1	-	819
T2	586	535
T3	350	846

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии РМЖ у собак = 0,613 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии РМЖ у собак = 0,989 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии РМЖ у собак = 0,185 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии РМЖ у собак = 0,536 ($p > 0,05$).

4.2.2 Клинический случай лечения рака молочной железы с использованием метода фотодинамическая терапия

Больное животное – кошка, К. Клинический диагноз: рак молочной железы, T_{2b}N₀M₀, цитология (тонкоигольная биопсия): карцинома молочной железы. Возраст 13 лет, порода – метис, масса тела – 3,3 кг. В декабре 2015 года владельцы обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в области молочной железы.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена плотная, бугристая опухоль молочной железы, спаянная с кожей и соском, который выражено гиперплазирован и плотный по консистенции, образование подвижно относительно подлежащих тканей, регионарные лимфоузлы не пальпируются, размеры опухоли 2 х 3 см, на соседнем нижнем пакете также имеется новообразование молочной железы, плотное, диаметром 1 см, подвижное относительно подлежащих тканей, температура тела 38,7°C (рисунок №31).

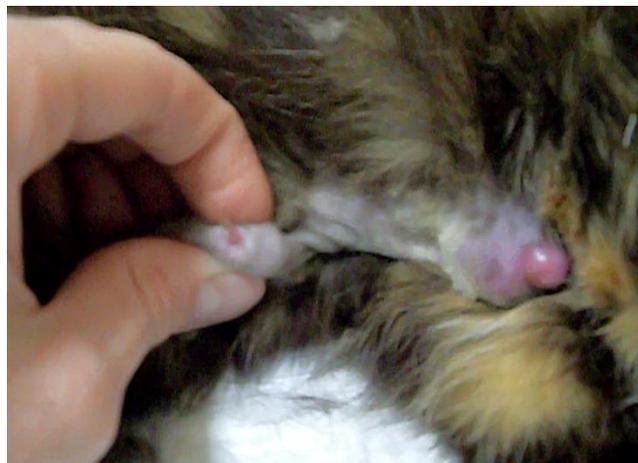


Рисунок 31 – Клинический осмотр – кошка К., рак молочной железы

T_{2b}N₀M₀

Гистологическое исследование: Умеренно дифференцированная тубулярная аденокарцинома молочной железы.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ отмечается повышение уровня гемоглобина – 173 г/л (при норме 80–150 г/л), гематокрита – 46,9 % (при норме 33–45 %), СОЭ – 19 мм/ч (при норме 2–12 мм/ч). В биохимическом анализе крови обнаружено повышение уровня Амилазы – 1442 Ед/л (при норме 500–1200 Ед/л) и повышение уровня ЛДГ – 264 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений (таблица №75).

Таблица 75 – Гематологические показатели крови кошки К.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек	
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	7,7	10,5	5,0-17
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	10,25	9,87	6,1-11,9
Гемоглобин	HGB	г\л	173	164	80-150
Гематокрит	HCT	%	46,9	44,6	33-45
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	295	183	175-600
СОЭ		мм\ч	19	15	2-12
Базофилы	BASO	%	0	0	0
Эозинофилы	EOS	%	2	3	0-4
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	3	4	0 – 3
Сегментоядерные	SEGS	%	61	75	35 – 72
Лимфоциты	LYMP	%	32	16	20 – 55
Моноциты	MONO	%	2	2	1 – 5

В гематологическом анализе после фотодинамической терапии отмечается повышение уровня гемоглобина – 164 г/л (при норме 80–150 г/л), гематокрита – 46,9 % (при норме 33–45 %), СОЭ – 15 мм/ч (при норме 2–12 мм/ч). В лейкоцитарной формуле отмечено повышение уровня палочкоядерных нейтрофилов – 4% (при норме 0–3 %) и сегментоядерных нейтрофилов – 75% (при

норме 35–72 %), а также снижение уровня лимфоцитов – 16% (при норме 20–55 %), в биохимическом анализе крови обнаружено повышение уровня Амилазы – 1586 Ед/л (при норме 500–1200 Ед/л) и повышение уровня ЛДГ – 295 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений, таблица №76.

Таблица 76 – Биохимические показатели крови кошки К.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Глюкоза	ммоль/л	6,6	6,2	3,3 – 6,3
Креатинин	нмоль/л	130	147	70-165
Мочевина	ммоль/л	4,8	6,5	5,4 – 12,1
АСТ	Ед/л	24	37	9-45
АЛТ	Ед/л	44	35,5	8 – 55
Белок общий	г/л	56	72,3	54-77
ЛДГ	Ед/л	264	295	35-250
Амилаза	Ед/л	1442	1586	500-1200
Щелочная фосфатаза	Ед/л	49	31	5-55
Билирубин прямой	ммоль/л	2,9	1,6	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	6,4	5,4	2,0 – 10,0
ГГТ	Ед/л	1,0	2,0	0 – 8

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Проведение ФДТ: больному установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике. Далее при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 вводили Фотодитазин внутривенно,

разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида, из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 3,3 мг или 0,7 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 20 минут. Далее 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

С целью визуализации границ опухоли и оценки интенсивности накопления фотосенсибилизатора перед сеансом ФДТ проводили флуоресцентную диагностику новообразования (рисунок №32). Опухоль визуализируется по белому свечению накопившегося в ней фотосенсибилизатора.



Рисунок 32 – Флуоресцентная диагностика новообразования – кошка К., рак молочной железы T_{2b} N₀M₀

Далее животному придали удобное положение на боку, так, чтобы была хорошая визуализация опухоли. И провели фотодинамическую терапию, при этом световод для наружного облучения располагали таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и провели облучение выбранной зоны (рисунок №33). Диаметр светового пятна при этом составил 1,5 см, облучение проводили тремя взаимно перекрываемыми полями, с захватом окружающей опухоль здоровой ткани с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги.



Рисунок 33 – Фотодинамическая терапия – облучение опухоли кошки К., рак молочной железы T_{2b}N₀M₀

Доза лазерного излучения составила 350 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,2 Вт, плотность мощности – 0,7 Вт/см².

Опухоль, которая располагалась ниже, диаметром 1 см, была облучена лазерным лучом диаметром 2 см. Доза лазерного излучения составила 350 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,5 Вт, плотность мощности – 0,5 Вт/см².

После облучения кожа в области воздействия изменила цвет – стала гиперемирована. Больная отпущена домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, T=39,1°C, аппетит умеренный, имеется небольшая болезненность в области расположения опухоли, опухоль отечна и немного увеличена.

Клинический осмотр через 8 дней после ФДТ: самочувствие среднее, животное умеренно активно, T=39,0°C, аппетит сохранен, болезненность в области расположения опухоли снизилась. При осмотре обнаружено отторжение опухоли с покрывавшей ее кожей, появилась эрозивная поверхность, ткань опухоли гиперемирована. Отмечено уменьшение опухоли на 40–50% – частичная регрессия (ЧР). При этом в небольшом количестве присутствовал кровянисто-серозный

экссудат, в ране отмечено наличие фибрина (рисунок №34). Вторая опухоль диаметром 1 см существенно уменьшилась в размерах, на ее месте обнаружена эрозивная поверхность. Назначено промывание ран Хлоргексидином с последующим нанесением мази Диоксидин или Синтамицин.



Рисунок 34 – Экссудат и отложение фибрина при частичном регрессе опухоли – кошка К., рак молочной железы через 8 дней после ФДТ

Через 13 дней после первой ФДТ провели второй сеанс ФДТ: методика проведения и дозы препаратов были аналогичные первому сеансу.

Больная отпущена домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 2 дня после второго сеанса ФДТ: самочувствие среднее, животное умеренно активно, $T=39,3^{\circ}\text{C}$, аппетит умеренный, имеется небольшая болезненность в области расположения опухоли, опухоль отечна, происходит активная экссудация. Назначено промывание раны Хлоргексидином с последующим нанесением порошка Баниацин.

Клинический осмотр через 10 дней после второго сеанса ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, $T=38,9^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, болезненность в области расположения опухоли снизилась. При осмотре обнаружено, что опухоль существенно уменьшилась в размерах, экссудация отсутствует, на поверхности

имеется струп. Назначено промывание раны Хлоргексидином с последующим нанесением мази Диоксидин или Левомиколь.

Клинический осмотр через 16 дней после второго сеанса ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,9^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен. При осмотре обнаружен сухой струп на месте опухолевой ткани диаметром 1 см, незначительно выступающий над кожей (рисунок №35).



Рисунок 35 – Сухой струп на месте опухолевой ткани – кошка К. через 16 дней после второго сеанса ФДТ

Клинический осмотр через 25 дней после второго сеанса ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,7^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший. При осмотре обнаружено полное отсутствие опухолевых масс, отмечена полная регрессия (ПР) (рисунок №36).



Рисунок 36 – Полная регрессия рака молочной железы – кошка К. через 25 дней после второго сеанса фотодинамической терапии

При этом заживление кожного дефекта шло по вторичному натяжению, с полным заживлением, на месте опухолевой ткани образовалась эластичная рубцовая ткань. Визуальных и пальпаторных признаков опухоли не обнаружено, болезненность отсутствует.

4.3 Результаты применения фотодинамической терапии при лечении злокачественных опухолей кожи животных

Всего с опухолями кожи было пролечено 56 животных, таблица №77, из них:

1. Базальноклеточная опухоль кожи - 35 (16 собак, 19 кошек).
2. Меланома кожи – 7 (4 собак, 3 кошки).
3. Плоскоклеточный рак кожи -14 собак.

Таблица 77 – Распределение опухолей кожи по морфологическому типу

Вид животного	n	%	Морфологический тип опухоли
Собаки	34	60,7%	Базальноклеточная опухоль кожи – 47,06% (n=16) Меланома кожи – 11,76% (n=4) Плоскоклеточный рак кожи – 41,18% (n=14)
Кошки	22	39,3%	Базальноклеточная опухоль кожи – 86,36% (n=19) Меланома кожи – 13,64% (n=3)

Средний возраст пациентов, в группе больных опухолями кожи, составил $11,59 \pm 2,32$ года. Количество сеансов ФДТ составило от одного до трех, среднее количество – 3 курса, таблица №78.

Таблица 78 – Распределение животных в группе с опухолями кожи

Стадия процесса		Т первичная опухоль		Н регионарные ЛУ	М отдаленные метастазы
I	50%	T1	28	0	0
II	33,93%	T2	19	0	0
III	16,07%	T3	9	1	0
IV	-	T4	-	-	-

Объективный эффект (ОЭ) достигнут у 94,64% пациентов с опухолями, локализованными на коже, среди которых отмечали полную регрессию (ПР) в 76,78%, частичную регрессию (ЧР) в 17,86% и стабилизацию процесса в 5,36% случаев, таблица №79 и рисунок №37.

Таблица 79 – Эффективность лечения в группе собак и кошек с опухолями кожи

Количество пациентов	Эффективность лечения в группе с опухолями кожи				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогрессирование
%	94,64%	76,78%	17,86%	5,36%	-
n	53	43	10	3	-



Рисунок 37 - График эффективности ФДТ в группе животных с опухолью кожи

У 19,64% (n=11) пациентов в группе больных опухолями кожи развился рецидив, медиана безрецидивного периода составила 219 дней. Медиана

продолжительности жизни составила 927,5 дня, при этом выживаемость в течении трех месяцев зарегистрирована у 100% пациентов (n=56), шести месяцев у 92,86% (n=52), одного года у 83,93% (n=47) и двух лет у 60,7% животных (n=34), таблица №80.

Таблица 80 - Общая продолжительности жизни животных в группе с опухолями кожи

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	927,5	100%	92,86%	83,93%	75%	60,7%
		n=56	n=52	n=47	n=42	n=34
МБП, дни	219	100%	81,82%	63,64%	45,45%	36,4%
		n=11	n=9	n=7	n=5	n=4

4.3.1.1 Результаты применения фотодинамической терапии при лечении базальноклеточной опухоли кожи животных

В исследование включены животные с базальноклеточной опухолью (базальноклеточный рак) кожи T1, T2, T3, рисунок №38.



Рисунок 38 – Базальноклеточная опухоль кожи у собаки В., T₃

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашивание Гематоксилин-Эозином, рисунок №39.

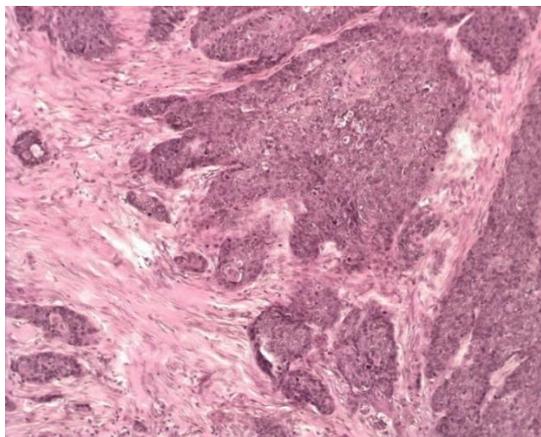


Рисунок 39 – Микроскопическое исследование гистологического материала собаки с диагнозом базальноклеточная опухоль кожи до начала лечения, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x400

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения через 7–14 дней для оценки эффективности и определения степени лечебного патоморфоза, рисунок №40.

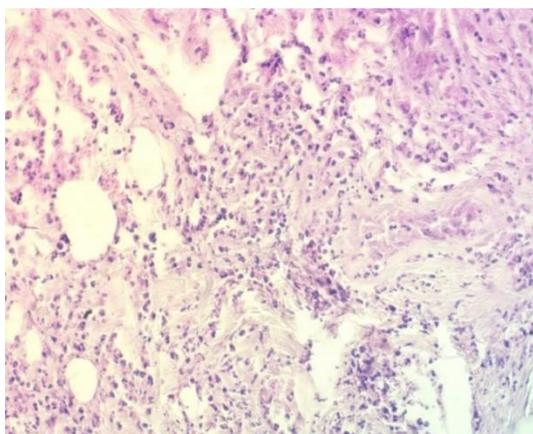


Рисунок 40 – Лечебный патоморфоз опухоли – базальноклеточный рак кожи собаки после лечения методом ФДТ, окраска Гематоксилин-Эозином, ув. x400

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин проводилась по вышеописанной методике, рисунок №41.



Рисунок 41 – Проведение фотодинамической терапии – собака В., базальноклеточная опухоль кожи T₂

Непосредственно после фотодинамической терапии наблюдалось побледнение или небольшая гиперемия тканей опухоли и изменение сосудистого рисунка. В течение 1–4 дней после ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с увеличением опухоли в объеме до 1,5 раз вследствие фотодинамического эффекта.

Через 5–12 дней после фотодинамической терапии опухоль уменьшалась и подвергалась деструкции, на месте опухолевой ткани наблюдался некроз, образование гнойного экссудата или сухой струпа (что случалось реже).

При необходимости проводилась некротомия области деструкции, в случае обширного некроза опухоли, с целью усиления эпителизации и очищения раневой поверхности, перед повторным проведением сеанса фотодинамической терапии.

При фотодинамической терапии в монорежиме опухоль полностью подвергалась деструкции через 2–3 недели, рисунок №42. Заживление раны проходило вторичным натяжением, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и антибактериальными мазями (Диоксицидиновая, Синтамициновая и пр.).



Рисунок 42 – Полная деструкция опухоли – кошка Б., базальноклеточная опухоль кожи T₂, через 3 недели после фотодинамической терапии

При БКОК количество курсов составило от 1 до 7 (ср. количество курсов - 3).

4.3.1.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при базальноклеточной опухоли кожи

Всего в данной группе 35 животных: 19 кошек и 16 собак. Средняя площадь базальноклеточной опухоли кожи (БКОК) у кошек составляла $2,13 \pm 1,5$ см², у собак - $15,8 \pm 11,12$ см².

По классификации Owen (1980) 42,86% (n=15) пациентов классифицированы как T₁, с максимальным диаметром до 2 см. У 34,29% (n=12) - T₂, с диаметром более от 2 до 5 см и в 22,86% (n=8) – T₃, с диаметром опухоли более 5 см.

Объективный эффект (ОЭ) в группе БКОК составил 97%, за счет ПР у 88,5% и ЧР у 8,6% животных, таблица № 81.

Таблица 81 – Эффективность лечения в группе животных, прошедших ФДТ при БКОК

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	97,14%	88,57%	8,57%	2,86%	0
n	34	31	3	1	0

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Так, при опухолях до 5 см при T1 и T2 (I и II стадии) полная регрессия опухоли достигнута у 100% пациентов, а при опухолях более 5 см полная регрессия отмечена только в 50%, таблица № 82.

Таблица 82 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера БКОК у собак и кошек

Эффективность лечения	T1 (n=15)	T2 (n=12)	T3 (n=8)
ПР	100% (n=15)	100% (n=12)	50% (n=4)
ЧР	-		37,5% (n=3)
СТ	-		12,5% (n=1)

Рецидив развился у 11,43% пациентов (n=4, у собак). Время до рецидива у этих пациентов в средней составило 258 дней. При этом рецидив зарегистрирован только при опухолях более 5 см, не получивших полный ответ на лечение, таблица №83.

Таблица 83 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ при БКОК

Эффективность лечения	Рецидив %		
	T1	T2	T3
Рецидив в группе %	0	0	11,43% (n=4)
ПР	-	-	0
ЧР	-	-	8,57% (n=3)
СТ	-	-	2,86% (n=1)

Оценка зависимости скорости развития рецидива от эффективности лечения не выявил разницы во времени развития рецидива при ЧР (МБП= 239 дня) и СТ (МБП=254 дня).

Медиана продолжительности жизни составила 1000 дней, а медиана безрецидивного периода 971 дней. Выживаемость в течении одного года - 97,14%, полутра лет – 91,43%, двух лет – 77,14%, таблица №84.

Таблица 84 - Общая продолжительности жизни в группе собак и кошек, прошедших ФДТ при базалиоме

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	1000	100%	100%	97,14%	91,43%	77,14%
		n=35	n=35	n=34	n=32	n=27
МБП, дни	971	100%	100%	85,71%	82,86%	68,57%
		n=35	n=35	n=30	n=29	n=24

Анализ продолжительности жизни животных, получивших рецидив и без него, не выявил различий в этих группах, МПЖ=1030 дней у пациентов без рецидива и МПЖ=899,5 дней с рецидивом.

Анализ видовой специфичности лечения выявил различия между эффективностью у собак и кошек на основании частоты ПР, составившей 75% у собак и 100% у кошек. Кроме того, у собак выявлено 25% рецидивов, таблица № 85.

Таблица 85 – Сравнение эффективности ФДТ при базалиоме у собак и кошек

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив	МБП при рецидиве, дни
Собаки	93,75% (n=15)	75% (n=12)	18,75% (n=3)	25% (n=4)	246,5
Кошки	100% (n=19)	100 % (n=19)	-	-	-

Подобный эффект наиболее вероятно связан с более крупным размером опухолей у собак где у 50% пациентов была стадия Т3.

При этом не выявлена разница в продолжительности жизни у собак и кошек при ФДТ БКОК, таблица № 86.

Таблица 86 – Сравнение МБП и МПЖ при ФДТ базалиомы у собак и кошек

Вид животного	МБП, дней	МПЖ, дней	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
Собаки	1034,5	1077	100%	100%	87,5%	75%
Кошки	913	913	100%	100%	94,74%	78,95%

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии БКОК у собак = 0,189 (> 0,05), а при сравнении I и III стадии БКОК у собак = 0,36 (> 0,05). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии БКОК у собак = 0,189 (> 0,05), а при сравнении I и III стадии БКОК у собак = 0,97 (> 0,05).

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии БКОК у кошек = 0,087 (> 0,05). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии БКОК у кошек = 0,087 (> 0,05).

Таким образом, Фотодинамическая терапия высокоэффективна при базальноклеточной опухоли кожи, при этом количество сеансов ФДТ прямо пропорционально размеру опухоли. В случае рецидива БКОК повторное лечение фотодинамической терапией имеет хорошие результаты и приводит к полной регрессии.

4.3.1.3 Клинический случай лечения базальноклеточной опухоли кожи у собаки с использованием метода фотодинамическая терапия

Больное животное – собака В. Клинический диагноз: опухоль кожи, Т₃, цитология (тонкоигольная биопсия): базальноклеточная опухоль кожи. Возраст 11 лет, порода – американский стаффордширский терьер, масса тела – 27 кг. В ноябре

2015 года владельцы обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в области правой скулы.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена плотная, бугристая опухоль кожи, спаянная с кожей и подлежащей клетчаткой, размеры опухоли – 5х6 см, T₃, опухоль с обширной эрозивной поверхностью, наблюдается обильная экссудация, температура тела = 38,5°C. (рисунок №43).



Рисунок 43 – Клинический осмотр – Собака В., базальноклеточная опухоль кожи T₃

Гистологическое исследование: базальноклеточный рак кожи (рисунок №44).

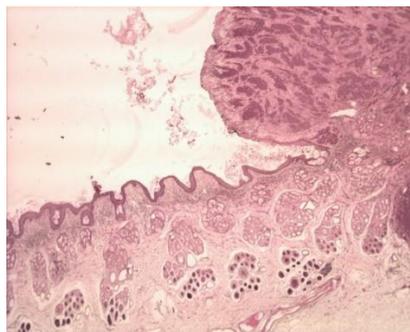


Рисунок 44 – Гистологическое исследование – Собака В., базальноклеточный рак кожи T₃, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x100

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ отмечается повышение уровня СОЭ – 16 мм/ч

(при норме 1–6 мм/ч), в лейкоцитарной формуле отмечается повышение палочкоядерных нейтрофилов – 4% (при норме 0–3 %), сегментоядерных нейтрофилов – 78% (при норме 60–70%). В гематологическом анализе после лечения все показатели находятся на уровне нормальных значений (таблица №87).

Таблица 87 – Гематологические показатели крови собаки В.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Лейкоциты WBC	10 ⁹ /л	14,6	9,5	6,0-16,0
Эритроциты RBC	10 ¹² /л	7,2	7,4	5,6-8,0
Гемоглобин HGB	г\л	156	162	120-180
Гематокрит HCT	%	41,3	47,6	38-55
Тромбоциты PLT	10 ⁹ / л	455	413	160-550
СОЭ	мм\ч	16	5	1-6
Базофилы BASO	%	0	0	0-1
Эозинофилы EOS	%	2	3	0-5
Миелоциты MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты META	%	0	0	0
Палочкоядерные BAND	%	4	2	0 – 3
Сегментоядерные SEGS	%	78	68	60-70
Лимфоциты LYMP	%	12	21	12-30
Моноциты MONO	%	4	6	2-7

В биохимическом анализе крови обнаружено повышение уровня АЛТ – 86 Ед/л (при норме 10–58 Ед/л) и повышение уровня ЛДГ – 321 Ед/л (при норме 23–220 Ед/л), повышение уровня ЩФ – 79 Ед/л (при норме 10–70 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений до и после лечения, таблица 88.

Таблица 88 – Биохимические показатели крови собаки В.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Глюкоза	ммоль/л	5,5	5,2	3,5 – 6,5
Креатинин	нмоль/л	78	69	26 -128
Мочевина	ммоль/л	7,3	7,0	3,5 – 9,2
АСТ	Ед/л	36	31	8 - 42
АЛТ	Ед/л	79	56	10 - 58
Белок общий	г/л	70,0	68,5	55 - 75
ЛДГ	Ед/л	321	246	23 - 220
Амилаза	Ед/л	988	853	300-1500
Щелочная фосфатаза	Ед/л	79	66,1	10 - 70
Билирубин прямой	ммоль/л	1,1	0,9	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	5,8	5,4	2,0 - 13,5
ГГТ	Ед/л	5,0	3,0	0 – 8

Проведение ФДТ: больному установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

Далее, при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 ввели Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида, из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 27 мг или 5,4 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

С целью визуализации границ опухоли и оценки интенсивности накопления фотосенсибилизатора перед проведением сеанса ФДТ проводили флуоресцентную диагностику новообразования (рисунок №45).



а

б

Рисунок 45 - Проведение флуоресцентной диагностики собаки В.,
 базальноклеточный рак кожи Т₃

а) до введения фотосенсибилизатора; б) через 2,5 часа после введения фотосенсибилизатора (видно белое свечение области накопления в опухоли)

Далее животному придали удобное положение на животе или на левом боку, так, чтобы была хорошая визуализация опухоли. Световод для наружного облучения расположили таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и провели облучение выбранной зоны. Диаметр светового пятна при этом составил 2 см, облучение проводили семью взаимно перекрываемыми полями, с захватом окружающей опухоль здоровой ткани с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги (рисунок №46).



Рисунок 46 – Проведение фотодинамической терапии собаке В.,
 базальноклеточный рак кожи Т₃

Доза лазерного излучения составила 350 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,5 Вт, плотность мощности – 0,48 Вт/см².

После облучения опухоль изменила цвет: появилась небольшая гиперемия. Больной отпущен домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 4 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, T=38,8°C, аппетит умеренный, имеется небольшая болезненность в области расположения опухоли, опухоль отечна и немного увеличена, отмечается небольшой зуд, экссудация несколько усилилась. Назначено Фирококсиб 135 мг 1 р в день 4-5 дней, обработка опухоли хлоргексидином и нанесение мази диоксидиновой 2 раза в день.

Клинический осмотр через 10 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, T=38,5°C, аппетит сохранен, болезненность в области расположения опухоли снизилась. При осмотре обнаружено отторжение опухоли, ткань опухоли бледная. В ране отмечено наличие небольшого количества кровянисто-серозного экссудата.

Клинический осмотр через 15 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, T=38,5°C, аппетит сохранен, болезненность в области расположения опухоли практически отсутствует. Отмечен частичный регресс – уменьшение опухоли на 20–25%.

Впоследствии данному больному было проведено еще 4 курса фотодинамической терапии по вышеописанной методике, после второго курса была отмечена частичная регрессия опухоли – уменьшение размеров на 40–50% (рисунок №47).



Рисунок 47 – Частичная регрессия опухоли у собаки В., базальноклеточный рак кожи T₃ после фотодинамической терапии

После пятого сеанса достигнут полный регресс новообразования. На месте опухолевых масс образовался дефект кожи, который зажил по вторичному натяжению, с образованием эластичного рубца. Визуальных и пальпаторных признаков опухоли не обнаружено, болезненность отсутствует. Регионарные лимфоузлы не увеличены, рисунок №48.

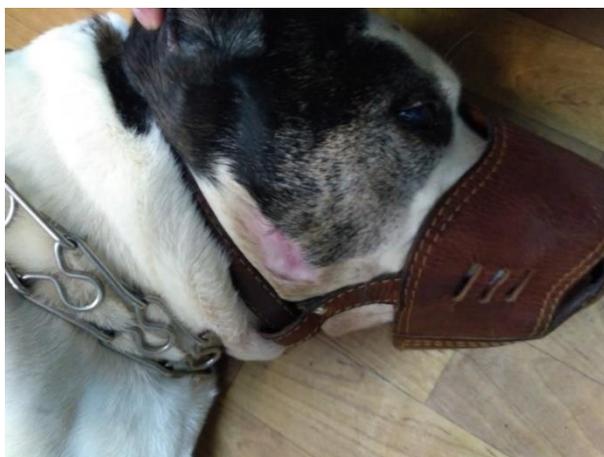


Рисунок 48 – Полный регресс базальноклеточного рака кожи у собаки В.

4.3.2.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия для лечения плоскоклеточного рака кожи

В исследование включены больные с ПКРК T1N0M0 и T2N0M0, не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования.

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашивание Гематоксилин-Эозином, рисунок №49.

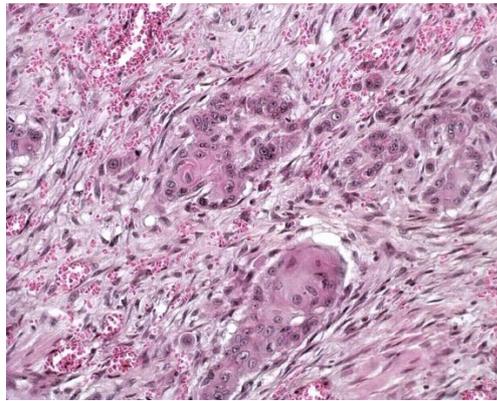


Рисунок 49 – Плоскоклеточный рак кожи собаки, окрашивание Гематоксилин-Эозин, x400

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения (через 7–14 дней) для оценки эффективности и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №50.

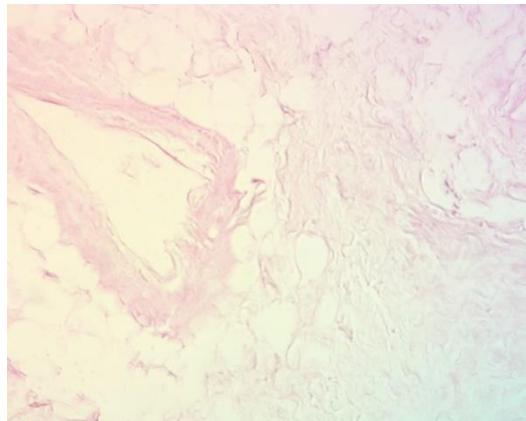


Рисунок 50 – Плоскоклеточный рак кожи собаки, после лечения методом фотодинамическая терапия, окраска Гематоксилин-Эозином, ув. x200

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин проводилась по вышеописанной методике, рисунок №51.



Рисунок 51 – Плоскоклеточный рак кожи, проведение фотодинамической терапии

Непосредственно после ФДТ наблюдалось: небольшая гиперемия тканей опухоли и изменение сосудистого рисунка. В течение 2–5 дней после ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с увеличением в объеме до 1,5 раз вследствие фотодинамического эффекта.

В течение 5–14 дней после ФДТ опухоль уменьшалась и подвергалась деструкции, на месте опухолевой ткани наблюдался некроз, образование гнойного экссудата или сухой струпа.

В случае необходимости проведения повторного сеанса ФДТ, при наличии экссудации, фибрина или гноя поверхность опухоли промывали Хлоргексидином для очищения поверхности, фибрин снимали пинцетом.

При ФДТ в монорежиме процессы деструкции опухоли полностью заканчивались через 10–15 дней, заживление раны проходило вторичным натяжением, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и антибактериальными мазями (Диоксициноловая, Синтамициноловая и пр.) или Баниацин.

При плоскоклеточном раке кожи количество курсов составило от 2 до 4 (среднее количество курсов – 3).

Далее рассматривается эффективность метода ФДТ относительно плоскоклеточного рака кожи у собак.

4.3.2.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии плоскоклеточного рака кожи

Всего в данной группе 14 животных (n=14). Средняя площадь ПКРК у собак составляла $5,24 \pm 6,6$ см².

По классификации Owen (1980) у 71,43% (n=10) пациентов диагностировали I стадию болезни, у 28,57% (n=4) - II стадию.

Объективный эффект (ОЭ) в группе ПКРК составил 92,86%, за счет ПР у 64,28% и ЧР у 28,57% собак, таблица № 89.

Таблица 89 – Эффективность лечения ПКРК собак, методом ФДТ

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	92,8%	64,28	28,57%	7,14%	0
n	13	9	4	1	

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Наибольший эффект отмечен при опухолях до 2 см – среди которых полная регрессия достигнута в 88,9% случаев. При опухолях 2-5 см получали преимущественно частичную регрессию (75%), а полная регрессия только в 25% случаев, таблица № 90.

Таблица 90 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера ПКРК у собак

Эффективность лечения	T1 (n=9)	T2 (n=4)	T3 (n=1)
ПР	88,88% (n=8)	25% (n=1)	-
ЧР	11,11% (n=1)	75% (n=3)	100% (n=1)
СТ	-	-	-

Рецидив возникал в 21,43% случаев (n=3), медиана времени до прогрессирования у этих пациентов составила – 110 дней. В основном рецидивировали опухоли более 2 см, при 2-5 см в диаметре – в 50% и при опухолях более 5 см - в 100% случаев, таблица № 91.

Таблица 91 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ

Эффективность лечения	Рецидив %		
	T1	T2	T3
Рецидив в группе %	0	50% (n=2)	100% (n=1)
ПР	0	0	0
ЧР	0	50% (n=2)	100% (n=1)

Отмечена корреляция времени до рецидивов от размера опухоли, так при T3 рецидив произошёл через 136 дней, а при T2 у 1 пациента через 110 дней и у второго через 1257 дней.

Медиана продолжительности жизни и медиана безрецидивного периода составила – 343,5 дней. выживаемость в течении: одного года - 50 %, двух лет – 35,7%, таблица № 92.

Таблица 92 - Общая продолжительности жизни в группе собак, прошедших ФДТ при ПКРК

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	343,5	100%	71,43%	50%	42,86%	35,71%
		n=14	n=10	n=7	n=6	n=5
МБП, дни	343,5	92,86%	71,43%	50%	42,86%	28,57%
		n=13	n=10	n=7	n=6	n=4

У пациентов без рецидива отмечена более долгая продолжительность жизни (МПЖ=343,5 дней), чем у пациентов с рецидивом (МПЖ=136 дней).

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии ПКРК у собак = 0,698 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии ПКРК у собак = 0,5 ($p > 0,05$).

Таким образом, полученные результаты показывают, что ФДТ при плоскоклеточной карциноме кожи эффективна при опухолях до 2 см, то есть на II стадии и относительно малоэффективна при опухолях более 5 см.

4.3.2.3 Клинический случай лечения плоскоклеточного рака кожи животных с использованием фотодинамической терапии

Больное животное – собака, Д. Клинический диагноз: рак кожи T₁N₀M₀, цитология (тонкоигольная биопсия): плоскоклеточный рак кожи. Возраст 16 лет, порода – пудель, масса тела – 9,6 кг. В мае 2014 года владельцы обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование кожи правого верхнего века.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена плотная, бугристая опухоль кожи верхнего века, образование неподвижно относительно подлежащих тканей, регионарные лимфоузлы не пальпируются, размеры опухоли

1,2x0,8 см, на поверхности опухоли эрозивные изменения, наблюдается экссудация, температура тела = 38,8°C. (рисунок №52).



Рисунок 52 – Опухоль кожи с эрозией и экссудацией у собаки Д.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Гистологическое исследование: плоскоклеточный рак кожи.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ отмечается повышение уровня СОЭ – 11 мм/ч (при норме 1–6 мм/ч), в лейкоцитарной формуле повышение сегментоядерных нейтрофилов – 72% (при норме 60–70%). В гематологическом анализе после лечения отмечалось повышение уровня СОЭ – 8 мм/ч (при норме 1–6 мм/ч), остальные показатели находились в пределах нормальных значений (таблица №93).

Таблица 93 – Гематологические показатели крови собаки Д.

Параметр		Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	7,5	7,1	6,0-16,0
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	6,8	6,3	5,6-8,0
Гемоглобин	HGB	г\л	138	131	120-180
Гематокрит	HCT	%	40,3	40,1	38-55
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	265	293	160-550
СОЭ		мм\ч	11	8	1-6
Базофилы	BASO	%	1	0	0-1
Эозинофилы	EOS	%	5	2	0-5
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	2	1	0 – 3
Сегментоядерные	SEGS	%	72	65	60-70
Лимфоциты	LYMP	%	15	29	12-30
Моноциты	MONO	%	5	3	2-7

В биохимическом анализе крови до проведения ФДТ обнаружено повышение уровня креатинина – 141 Ед/л (при норме 26–128 нмоль/л), уровня мочевины – 10,6 Ед/л (при норме 3,5–9,2 ммоль/л), АЛТ – 115 Ед/л (при норме 10–58 Ед/л) и повышение ЛДГ – 356 Ед/л (при норме 23–220 Ед/л), повышение уровня ЩФ 89 Ед/л (при норме 10–70 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений, таблица №94.

Таблица 94 – Биохимические показатели крови собаки Д.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Глюкоза	ммоль/л	5,9	5,0	3,5 – 6,5
Креатинин	нмоль/л	141	136	26 -128
Мочевина	ммоль/л	10,6	10,5	3,5 – 9,2
АСТ	Ед/л	40	33	8 - 42
АЛТ	Ед/л	115	97	10 - 58
Белок общий	г/л	75,0	73,2	55 - 75
ЛДГ	Ед/л	356	288	23 - 220
Амилаза	Ед/л	1322	1405	300-1500
Щелочная фосфатаза	Ед/л	89	94	10 - 70
Билирубин прямой	ммоль/л	3,6	1,9	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	7,3	5,1	2,0 - 13,5
ГГТ	Ед/л	8,0	3,0	0 – 8

В биохимическом анализе крови после проведения ФДТ обнаружено повышение уровня креатинина – 136 Ед/л (при норме 26–128 нмоль/л), уровня мочевины – 10,5 Ед/л (при норме 3,5–9,2 ммоль/л), уровня АЛТ – 97 Ед/л (при норме 10–58 Ед/л) и повышение уровня ЛДГ – 288 Ед/л (при норме 23–220 Ед/л), повышение уровня ЩФ – 94 Ед/л (при норме 10–70 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений ($p > 0,05$).

Проведение фотодинамической терапии: больной установили периферический внутривенный катетер 20G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

После чего при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 внутривенно ввели Фотодитазин в разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида, из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 27 мг или 5,4 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

Животному придавали удобное положение на животе, на левом боку или сидя, так, чтобы была хорошая визуализация опухоли. Световод для наружного облучения располагали таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли. Диаметр светового пятна при этом составил 1,5 см, облучение проводили одним полем, с захватом окружающей опухоль здоровую ткани с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги. Доза лазерного излучения составила 350 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,5 Вт, плотность мощности – 0,55 Вт/см². После облучения опухоль изменила цвет – появилась небольшая гиперемия. Больная отпущена домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, T=38,7°C, аппетит умеренный, опухоль отечна и немного увеличена, отмечается небольшой зуд, усиление экссудации, рисунок №53. Назначено: обработка опухоли Хлоргексидином и нанесение Тетрациклиновой мази 3 раза в день.



Рисунок 53 – Клинический осмотр собаки Д., отек опухоли (плоскоклеточный рак кожи верхнего века T₁N₀M₀ после первого курса фотодинамической терапии)

Клинический осмотр через 8 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен. При осмотре обнаружено отторжение опухоли, ткань опухоли гиперемирована, в ране наличие небольшого количества кровянисто-серозного экссудата.

Клинический осмотр через 13 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен. Отмечен частичный регресс – уменьшение опухоли на 40–50%.

Через 2 дня данному больному был проведен второй курс фотодинамической терапии по вышеописанной методике.

Клинический осмотр через 4 дня после второго сеанса ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, $T=38,5^{\circ}\text{C}$, аппетит умеренный, опухоль несколько отечна и немного увеличилась, отмечается усиление экссудации. Назначено: обработка опухоли Хлоргексидином и применение Тетрациклиновой мази 3 раза в день.

Клинический осмотр через 9 дней после второго сеанса ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,7^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен. При осмотре обнаружено отторжение опухоли, на ее месте отложение фибрина, в ране наличие небольшого количества кровянисто-серозного экссудата (рисунок №54).



Рисунок 54 – Отложение фибрина и экссудат при отторжении опухоли у собаки Д., ПКРК верхнего века $T_1N_0M_0$ после второго курса фотодинамической терапии

Клинический осмотр через 12 дней после второго сеанса ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, отмечен полный регресс опухоли.

В последствии больная Д. была осмотрена через 10 мес. в состоянии тяжелого истощения (не связанного с онкологическим процессом). Признаков рецидива плоскоклеточного рака кожи верхнего века не обнаружено, отмечена полная регрессия опухоли (рисунок №55).



Рисунок 55 – Полная регрессия опухоли у собаки Д.

4.3.3.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении меланомы кожи у животных

В исследование включены животные с меланомой кожи $T_1N_0M_0$, $T_2N_0M_0$, рисунок №56, не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования.



Рисунок 56 – Меланома кожи у собаки Д, $T_2N_0M_0$

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашивание Гематоксилин-Эозином, рисунок №57.

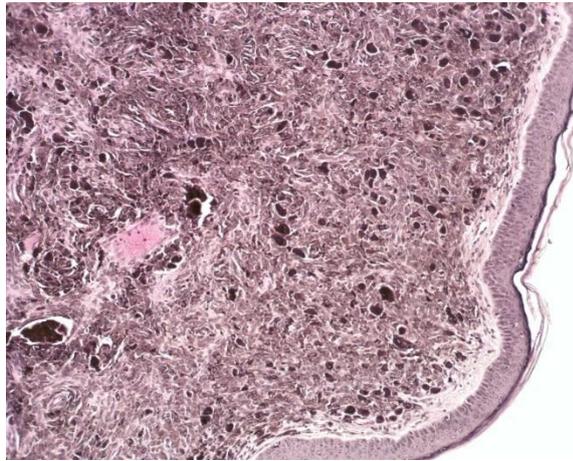


Рисунок 57 – Меланома кожи до начала лечения, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x200

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения (через 10–17 дней) для оценки эффективности и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №58.

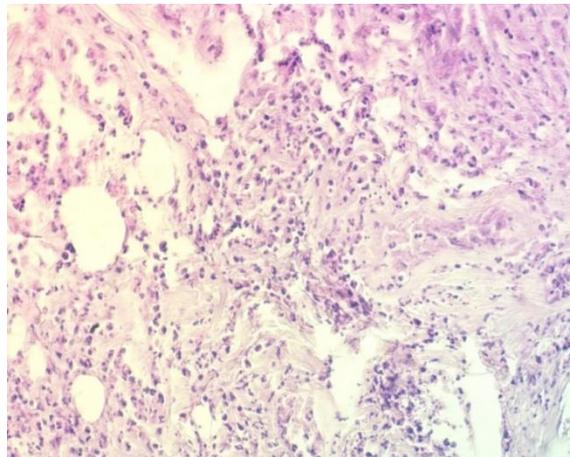


Рисунок 58 – Меланома кожи, после лечения методом ФДТ, окраска Гематоксилин-Эозином, x200

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин проводилась по вышеописанной методике, рисунок №59.



Рисунок 59 – Проведение фотодинамической терапии кошке М., меланома кожи, $T_1N_0M_0$

Непосредственно после ФДТ наблюдалось потемнение тканей опухоли. В течение 2–5 дней после ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с увеличением в объеме до 1,5 раз, иногда усиление экссудации вследствие фотодинамического эффекта на ткань опухоли, рисунок №60.



Рисунок 60 – Развитие фотодинамического эффекта на ткань опухоли собаки Д., меланома кожи $T_2N_0M_0$

Через 8–14 дней после фотодинамической терапии опухоль уменьшалась и подвергалась деструкции, на месте опухолевой ткани наблюдался некроз, гнойные выделения, экссудат, отмечали частичный регресс, рисунок №61.



Рисунок 61 – Частичный регресс опухоли у кошки М. после фотодинамической терапии, меланома кожи T₁N₀M₀

При необходимости проводилась некротомия области деструкции, в случае обширного некроза опухоли, с целью усиления эпителизации или очищения раневой поверхности, перед повторным проведением сеанса ФДТ.

При фотодинамической терапии опухоль подвергалась деструкции, процессы отторжения некротической ткани завершались через 12–16 дней, заживление раны проходило вторичным натяжением, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и антибактериальными мазями (Диоксидиновая, Синтамициновая и пр.).

При меланоме кожи количество курсов составило от 3 до 6 (среднее количество курсов лечения – 3).

Далее рассматривается эффективность метода фотодинамической терапии относительно меланомы кожи у собак и кошек.

4.3.3.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии меланомы кожи

Всего в данной группе 7 животных (n=7). У кошек средняя площадь опухоли равна $0,4 \pm 0,075$ см², у собак средняя площадь опухоли составляла $6,28 \pm 2,22$ см².

По классификации Owen (1980) у 42,86% - 3 пациента (кошки) диагностировали I стадию болезни, а у 57,14% - 4 пациента (все собаки) - II стадию.

Объективный эффект в группе животных, прошедших ФДТ при меланоме кожи, составил 92,7%, за счет ПР у 42,8% и ЧР у 42,8% пациентов, таблица № 95.

Таблица 95 - Эффективность лечения методом фотодинамическая терапия меланомы кожи собак и кошек

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	92,71%	42,86%	42,86%	14,28%	-
n	6	3	3	1	-

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Наибольший эффект отмечен при опухолях до 2 см – у 100% пациентов отмечена полная регрессия опухоли, а при опухолях более 2 см – наблюдали только частичную регрессию - у 75% и без эффекта – у 25% пациентов, таблица № 96.

Таблица 96 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера опухоли в группе животных с меланомой

Эффективность лечения	T1 (n=3)	T2 (n=4)
ПР	100% (n=3)	0
ЧР	-	75% (n=3)
СТ	-	25% (n=1)

Рецидив возникал в 57,14% случаях (n=4), медиана времени до прогрессирования у этих пациентов составляла – 207,5 дней. Рецидив отмечен у пациентов с T2 в 100% случаях при ЧР и СТ, при этом время до рецидива не зависело от полученного эффекта, таблица № 97.

Таблица 97 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ

Эффективность лечения	Рецидив %	
	T1	T2
Рецидив в группе %	0	100% (n=4)
ЧР	0	75% (n=3)
СТ	0	25% (n=1)

Медиана продолжительности жизни при меланоме составляла 585 дней, а медиана безрецидивного периода составляла – 219 дней. Выживаемость в течении: шести месяцев – 100%, одного года - 71%, полутра лет – 57%, двух лет – 42,8%, таблица № 98.

Таблица 98 - Общая продолжительности жизни в группе животных с меланомой кожи, прошедших ФДТ

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	585	100%	100%	71,43%	57,14%	42,86%
		n=7	n=7	n=5	n=4	n=3
МБП, дни	219	100	85,71%	42,86%	42,86%	42,86%
		n=7	n=6	n=3	n=3	n=3

При этом продолжительность жизни напрямую связана с эффективностью лечения и рецидивом, у животных с рецидивом МПЖ почти в 5 раз ниже (МПЖ 356 дней), чем у пациентов без рецидива (МПЖ=1471 день).

Анализ видовой специфичности лечения показал, что у кошек эффективность лечения значительно выше, чем у собак при частоте ПР 100%, а также 5 кратным увеличением продолжительности жизни, это связано с тем, что у кошек проведено

лечение опухолей I стадии, при средней площади опухоли $0,4 \pm 0,07 \text{ см}^2$, а у собак при II стадии процесса, со средней площадью опухоли $6,3 \pm 2,2 \text{ см}^2$, таблица № 99.

Таблица 99 – Сравнение эффективности ФДТ меланомы кожи кошек и собак

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив, дни	МБП при рецидиве, дни	МПЖ, дни
Собаки	75%	-	75%	100	207,5	356
Кошки	100%	100 %	-	-	1471	1471

4.3.3.3 Клинический случай фотодинамической терапии меланомы кожи животного

Больное животное – кошка М. Клинический диагноз: меланома кожи уха, $T_1N_0M_0$. Возраст 15 лет, порода – метис, масса тела – 3,3 кг. Обратились в апреле 2019 года в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в области правого уха.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена плотная опухоль кожи темного цвета, спаянная с кожей, регионарные лимфоузлы не пальпируются, размеры опухоли $0,6 \times 0,7 \text{ см}$, температура тела $=38,8^\circ\text{C}$. (рисунок №62).



Рисунок 62 – Клинический осмотр кошки М., меланома кожи $T_1N_0M_0$

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Гистологическое исследование: меланома кожи.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ все показатели были в пределах нормальных значений. В гематологическом анализе после лечения все показатели находились на уровне нормальных значений (таблица №100).

Таблица 100 – Гематологические показатели крови кошки М.

Параметр		Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	9,8	10,5	5,0-17
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	6,8	6,5	6,1-11,9
Гемоглобин	HGB	г\л	105	112	80-150
Гематокрит	HCT	%	43,5	44,1	33-45
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	369	351	175-600
СОЭ		мм\ч	9	10	2-12
Базофилы	BASO	%	1	0	0
Эозинофилы	EOS	%	3	2	0-4
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	2	1	0 – 3
Сегментоядерные	SEGS	%	56	58	35 – 72
Лимфоциты	LYMP	%	33	35	20 – 55
Моноциты	MONO	%	5	4	1 – 5

В биохимическом анализе крови до проведения лечения обнаружено повышение уровня АЛТ – 74 Ед/л (при норме 8–55 Ед/л) и ЛДГ – 436 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), повышение уровня ЩФ в крови – 84 Ед/л (при норме 5–55

Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений. После проведения ФДТ также обнаружено повышение уровня АЛТ – 63 Ед/л (при норме 8–55 Ед/л) и ЛДГ – 369 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), повышение уровня ЩФ – 91 Ед/л (при норме 5–55 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений, таблица №101.

Таблица 101 – Биохимические показатели крови кошки М.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Глюкоза	ммоль/л	5,1	4,8	3,3 – 6,3
Креатинин	нмоль/л	146	151	70-165
Мочевина	ммоль/л	9,9	9,3	5,4 – 12,1
АСТ	Ед/л	38	41	9-45
АЛТ	Ед/л	74	63	8 – 55
Белок общий	г/л	74	70,3	54-77
ЛДГ	Ед/л	436	369	35-250
Амилаза	Ед/л	1028	1151	500-1200
Щелочная фосфатаза	Ед/л	84	91	5-55
Билирубин прямой	ммоль/л	2,3	1,5	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	4,9	5,3	2,0 – 10,0
ГГТ	Ед/л	6,6	5,8	0 – 8

В случае с данным больным решено было взять биопсию, и сразу после этого проведена ФДТ на опухоль.

Проведение ФДТ: больному установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

Далее при помощи инфузomата SinoMDT SN50C6 вводили Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида, из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 3,5 мг или 0,7 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

Далее животному придавали удобное положение на животе, так, чтобы был хороший доступ к опухоли. Световод для наружного облучения располагали таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и проводили облучение выбранной зоны. Диаметр светового пятна при этом составил 1 см, с захватом окружающей опухоль здоровой ткани с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги (рисунок №63).

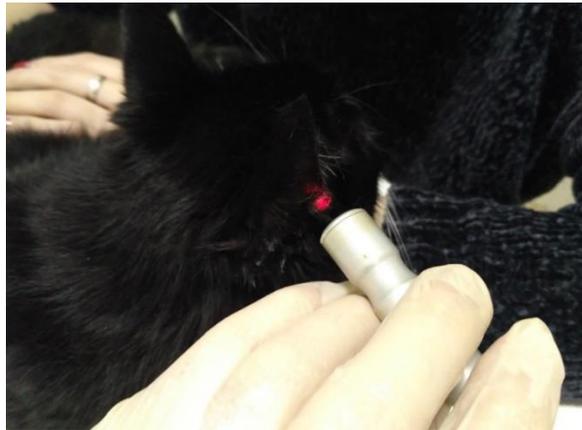


Рисунок 63 – Проведение фотодинамической терапии кошке М., меланомы кожи $T_1N_0M_0$

Доза лазерного излучения составила 450 Дж/см^2 , выходная мощность лазерного излучения – 1,0 Вт, плотность мощности – $1,27 \text{ Вт/см}^2$.

После облучения опухоль изменила цвет, стала более темной, рисунок №64. Животное возвращено владельцу с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.



Рисунок 64 – Изменение цвета опухоли кошки М. после фотодинамической терапии, меланомы кожи $T_1N_0M_0$

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,9^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший, болезненность в области расположения опухоли отсутствует, опухоль не увеличена, экссудация отсутствует, опухоль покрыта сухим струпом.

Клинический осмотр через 10 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший. При осмотре обнаружена частичная регрессия опухоли. На месте отторжения опухоли не отмечено наличие экссудата.

Клинический осмотр через 20 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,4^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, обнаружена частичная регрессия опухоли. Признаков прогрессии не наблюдалось. Регионарные лимфатические узлы без изменений, рисунок №65.



Рисунок 65 – Частичная регрессия опухоли у кошки М. после фотодинамической терапии

Через 4 недели после ФДТ, больному был проведен второй курс ФДТ по вышеописанной методике.

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,6^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший, болезненность в области расположения опухоли отсутствует, опухоль не увеличена, экссудация отсутствует, опухоль покрыта сухим струпом.

Клинический осмотр через 8 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,5^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший. При осмотре обнаружена частичная регрессия опухоли. На месте отторжения опухоли не отмечено наличие экссудата.

Клинический осмотр через 16 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший, обнаружена полная регрессия опухоли, рисунок №66. Регионарные лимфатические узлы без изменений. Больное животное впоследствии наблюдалось в течение 13 месяцев без признаков рецидивирования опухоли.

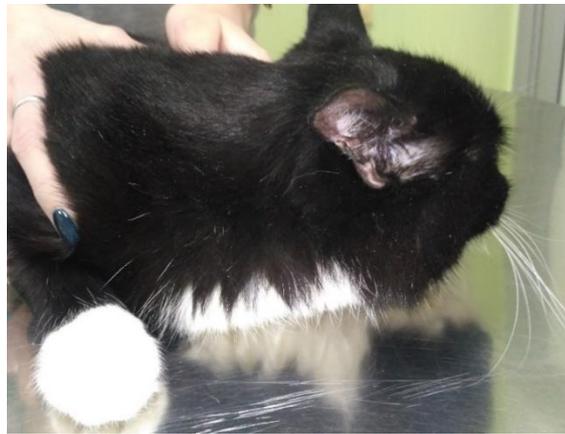


Рисунок 66 – Полная регрессия меланомы кожи у кошки М.

4.4 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении злокачественных опухолей ротовой полости у животных

Всего с опухолями ротовой полости было пролечено 95 животных: 59 кошек и 36 собак, таблица №102.

Таблица 102 – Распределение опухолей ротовой полости по морфологическому типу

Вид животного	n	%	Морфологический тип опухоли		
			Фибросаркома ротовой полости	Плоскоклеточный рак ротовой полости	Меланома ротовой полости
Собаки	36	37,9%	13,9% (n=5)	58,33% (n=21)	27,77% (n=10)
Кошки	59	62,1%	27,12% (n=16)	72,88% (n=43)	-

Средний возраст животных составил $11,7 \pm 2,42$ года. Количество сеансов ФДТ составило от одного до трех, среднее количество – 3 курса, таблица №103.

Таблица 103 – Распределение животных в группе с опухолями ротовой полости

Стадия процесса		Т первичная опухоль		Н регионарные ЛУ	М отдаленные метастазы
I	33,68%	T1	32	0	0
II	49,47%	T2	47	0	0
III	15,78%	T3	15	0	0
IV	1,05%	T4	1	0	1

Объективный эффект (ОЭ) достигнут у 93,68% пациентов с опухолями ротовой полости, среди которых отмечали полную регрессию (ПР) в 48,42%, частичную регрессию (ЧР) в 45,26% и стабилизацию процесса в 6,32% случаев, таблица №104.

Таблица 104 – Эффективность лечения собак и кошек в группе с опухолями ротовой полости

Количество пациентов	Эффективность лечения в группе			
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ
%	93,68%	48,42%	45,26%	6,32%
n	98	46	43	6

Рецидив отмечен у 30,53% (n=29 из 95), на фоне ПР у 4 (13,8%) пациентов, ЧР у 19 (65,5%) и 6 (20,7%) пациентов на фоне СТ. МБП в группе составила 447 дней, при этом время до прогрессирования у животных с рецидивом составило 215 дней.

Медиана времени до прогрессирования у пациентов, получивших рецидив, коррелировала с полученным ранее эффектом, так при достижении полной регрессии МБП составила 273 дня, а при частичной регрессии – МБП составляла 203 дней, и рецидив при стабилизации - МБП = 183 дней.

Медиана продолжительности жизни в группе составила 506 дней, годовая выживаемость достигнута у 75,79% животных и 2 летняя выживаемость – у 24,21%, таблица №105.

Таблица 105 - Общая продолжительности жизни животных в группе с опухолями ротовой полости

	МБП, дни	МПЖ, дни	Выживаемость, %				
			3 мес	6 мес	1 год	1,5 года	2 года
%	447	506	100%	96,84%	75,79%	42,11%	24,21%
n	-	-	95	92	72	40	23

4.4.1.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия для лечения саркомы ротовой полости у животных

В исследование включены больные с саркомой ротовой полости I и II стадии заболевания – T1aN0M0, T2aN0M0 (рисунок №67), не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования.



Рисунок 67 – Саркома ротовой полости собаки у собаки Г., T_{2a}N₀M₀

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашивание Гематоксилин-Эозином, рисунок №68.

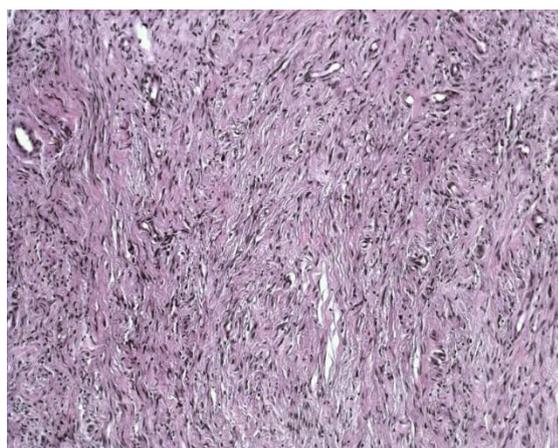


Рисунок 68 – Саркома ротовой полости собаки до начала лечения, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x200

Повторное гистологическое исследование проводили после лечения через 8–12 дней после фотодинамической терапии для оценки эффективности и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №69.

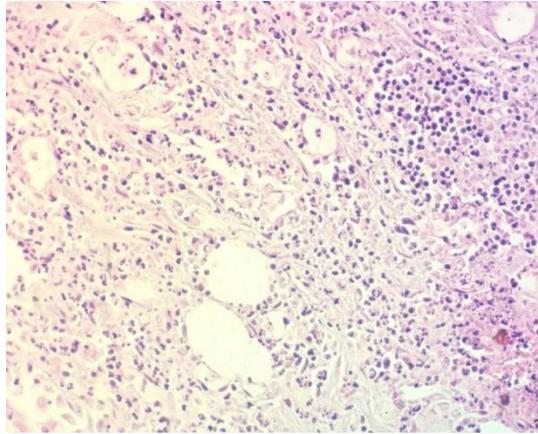


Рисунок 69 – Лечебный патоморфоз опухоли – саркома ротовой полости собаки после лечения методом фотодинамическая терапия, окраска Гематоксилин-Эозином, ув. x200

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин проводилась по вышеописанной методике, рисунок №70.



Рисунок 70 – Проведение фотодинамической терапии кошке Э., саркома ротовой полости, T_{1a}N₀M₀

Непосредственно после ФДТ наблюдалось изменение поверхности опухоли, некоторое побледнение и появление мозаичного рисунка. В течение 2–4 дней после

ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с небольшим увеличением в объеме вследствие фотодинамического эффекта.

Через 8–14 дней после ФДТ опухоль подвергалась деструкции, на её месте наблюдался некроз, образование гнойного экссудата.

При необходимости проводилась некротомия области деструкции, в случае обширного некроза опухоли, с целью улучшения регенерации тканей и очищения раневой поверхности, перед повторным проведением сеанса ФДТ.

При ФДТ в монорежиме опухоль подвергалась частичной деструкции через 12–15 дней, процессы разложения опухоли завершались, и было возможно проводить следующий сеанс ФДТ, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и применялся гель Метрогил дента.

При саркоме ротовой полости у собак количество курсов составило от 2 до 6 (среднее количество курсов 3). У кошек количество курсов составило от 2 до 5 (среднее количество курсов 3).

Далее рассматривается эффективность метода ФДТ относительно саркомы ротовой полости у собак и кошек.

4.4.1.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при саркоме ротовой полости

Всего в группе 21 пациент: 5 собак и 16 кошек. Средний возраст составил $11,09 \pm 1,8$ лет: у собак $10,6 \pm 1,14$ лет и у кошек $11,5 \pm 2,4$ года. Средняя площадь опухоли - $5,04 \pm 2,7$ см² (от 0,6 до 10,08 см²).

В соответствие с международной классификацией Owen (1980) – у 19,05% (n=4) животных выявлена I стадия (T1 – опухоль размером до 2 см), и у 80,95% (n=17) – II стадия (T2 - диаметр опухоли от 2 до 4 см). При этом не выявлено признаков инвазии или метастазирования опухолей. Опухоли локализовались на нижней челюсти и в углу рта.

Объективный эффект зарегистрирован у 95% за счет ПР у 38%, ЧР у 57% пациентов, таблица №106.

Таблица 106 – Эффективность лечения в группе животных, прошедших ФДТ фибросаркомы ротовой полости

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	95,24%	38,09%	57,14%	4,76%	-
n	20	8	12	1	0

Эффективность лечения зависела от размера опухоли, так при опухоли до 2 см в диаметре - ПР отмечена в 100% случаев, а при размере от 2 до 4 см выявлена преимущественно ЧР в 70%, а ПР только у 29% пациентов, таблица №107.

Таблица 107 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера опухоли в группе животных с фибросаркомой ротовой полости

Эффективность лечения	T1 (n=4)	T2 (n=17)
ПР	100% (n=4)	29,41% (n=5)
ЧР	-	70,59% (n=12)
СТ	-	5,88% (n=1)

Рецидив развился у 42,86% пациентов (n=9). Медиана времени до рецидива этих пациентов составила 306 дней.

Частота развития рецидива напрямую зависела от размера опухоли. Так, при опухолях от 2 до 4 см рецидив отмечен у 52% пациентов, которые преимущественно получили ЧР опухоли. И не отмечен при опухолях до 2 см в диаметре, таблица №108.

Таблица 108 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ

Эффективность лечения	Рецидив % и количество	
	T1 (n=4)	T2 (n=17)
Рецидив в группе %	0	52,94% (n=9)
При ПР	-	11,76% (n=2)
При ЧР	-	47,058% (n=8)
При СТ	-	5,88% (n=1)

Следует отметить, что скорость рецидива не выражено зависела от эффективности лечения. Так при ЧР и СТ рецидив возникал раньше, чем при ПР в 28,7% и 37,6% случаев соответственно, таблица №109.

Таблица 109 – Зависимость скорости развития рецидива от полученного эффекта, в группе животных с фибросаркомой ротовой полости

Эффективность лечения	МБП, дни		
	Общая	T1	T2
ПР	421	-	421
ЧР	327	-	327
СТ	306	-	306

Медиана продолжительности жизни составила 698 дней, а медиана безрецидивного периода 403 дня. Выживаемость в течении одного года – 81% и в течении двух лет - 43%, таблица №110.

Таблица 110 - Общая продолжительности жизни в группе животных, прошедших ФДТ при фибросаркоме ротовой полости

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	698	100%	100%	80,95%	57,14%	42,86%
		n=21	n=21	n=17	n=12	n=9
МБП, дни	403	100%	95,24%	52,38%	42,86%	33,33%
		n=21	n=20	n=11	n=9	n=7

Анализ продолжительности жизни показал, что продолжительность жизни животных, получивших рецидив в 2 раза меньше, чем у животных без рецидива (510 дней против 928 дней соответственно), и не различается при опухолях размером от 2 до 4 см, что связано с тем, что именно в этой группе и есть рецидив, таблица №111.

Таблица 111 - Сравнение продолжительности жизни в группе животных, прошедших ФДТ фибросарком ротовой полости с рецидивом и без

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дни	МПЖ без рецидива, дни
МПЖ в группе	510	928
T1	-	1477
T2	510	629

Сравнительный видовой анализ показал большую эффективность ФДТ. Отмечена сходная эффективность при фибросаркомах ротовой полости у кошек и собак (ОЭ=93,75% и 100% соответственно), однако у кошек отмечено 2 кратное увеличении процента рецидива по сравнению с собаками (50% против 20% соответственно), что, по всей видимости, указывает на большую агрессивность фибросарком у кошек, таблица №112.

Таблица 112 – Сравнение эффективности ФДТ при фибросаркоме ротовой полости у собак и кошек

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив	МБП при рецидиве, дни
Собаки	100% (n=5)	40 % (n=2)	60% (n=3)	20% (n=1)	226
Кошки	93,75% (n=15)	37,55% (n=6)	56,25% (n=9)	50% (n=8)	316,5

При этом не выявлено различий МБП у собак и кошек, но выявлено 2 кратное увеличение МПЖ у кошек, относительно собак (719 против 403 дней). Следует отметить, что те кошки, которые прожили более 1,5 лет после ПР опухоли - умерли по причинам, не связанным с онкологией, таблица №113.

Таблица 113 – Сравнение МБП и МПЖ при ФДТ фибросаркомы ротовой полости у собак и кошек

Вид животного	МБП, дней	МПЖ, дней	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
Собаки	403	403	100%	80 %	40 %	40 %
Кошки	410	719	100%	81,26%	62,5%	43,75%

4.4.1.3 Клинический случай фотодинамической терапии саркомы ротовой полости животного

Больное животное – кошка, Ф. Возраст 9 лет, порода – мейн-кун, масса тела – 3,9 кг. Обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в ротовой полости, саливацию и снижение аппетита. Клинический диагноз: опухоль ротовой полости.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена плотная опухоль верхнего неба розового цвета, неподвижная относительно подлежащих тканей, регионарные лимфоузлы не пальпируются, размеры опухоли – 2,8x3,6 см, T₂N₀M₀, температура тела – 38,9°C. (рисунок №71).



Рисунок 71 – Клинический осмотр кошки Ф., саркома ротовой полости T₂N₀M₀

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Гистологическое исследование: саркома мягких тканей.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ отмечается повышение уровня СОЭ – 21 мм/ч (при норме 2–12 мм/ч), в лейкоцитарной формуле отмечается повышение сегментоядерных нейтрофилов – 76% (при норме 35–72%) и снижение лимфоцитов – 17% (при норме 20–55%), остальные показатели находятся на уровне нормальных значений. В гематологическом анализе после ФДТ отмечается повышение уровня СОЭ – 14 мм/ч (при норме 2–12 мм/ч), остальные показатели находятся на уровне нормальных значений (таблица №114).

Таблица 114 – Гематологические показатели крови кошки Ф.

Параметр		Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	12,7	9,1	5,0-17
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	7,4	7,8	6.1-11.9
Гемоглобин	HGB	г\л	106	108	80-150
Гематокрит	HCT	%	35,1	36,0	33-45
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	453	412	175-600
СОЭ		мм\ч	21	14	2-12
Базофилы	BASO	%	0	0	0
Эозинофилы	EOS	%	1	1	0-4
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	3	1	0 - 3
Сегментоядерные	SEGS	%	76	69	35 – 72
Лимфоциты	LYMP	%	17	25	20 - 55
Моноциты	MONO	%	3	4	1 - 5

В биохимическом анализе крови до ФДТ обнаружено повышение уровня ЛДГ 279 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), в биохимическом анализе крови после проведения ФДТ обнаружено повышение уровня ЛДГ – 254 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений до и после лечения, таблица №115.

Таблица 115 – Биохимические показатели крови кошки Ф.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Глюкоза	ммоль/л	6,2	5,9	3,3 – 6,3
Креатинин	нмоль/л	131	134	70-165
Мочевина	ммоль/л	8,3	7,5	5,4 – 12,1
АСТ	Ед/л	33,6	39,0	9-45
АЛТ	Ед/л	48,9	41,2	8 – 55
Белок общий	г/л	75,3	72,1	54-77
ЛДГ	Ед/л	279	254	35-250
Амилаза	Ед/л	814	629	500-1200
Щелочная фосфатаза	Ед/л	38,0	46,2	5-55
Билирубин прямой	ммоль/л	1,1	1,6	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	4,4	5,2	2,0 – 10,0
ГГТ	Ед/л	3,0	2,0	0 - 8

Проведение ФДТ: больному установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

Далее при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 ввели Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 3,9 мг или 0,8 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего в течение 3 часов животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

Далее животному сделали седацию, придали удобное положение раскрыли ротовую полость, провели облучение. Световод для наружного облучения расположили таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли. Диаметр светового пятна при этом составил 2,5 см, (рисунок №72).



Рисунок 72 – Проведение фотодинамической терапии кошки Ф., саркома ротовой полости T₂N₀M₀

Доза лазерного излучения составила 400 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,5 Вт, плотность мощности – 300 Вт/см².

После облучения опухоль изменила цвет – стала красного цвета. Больная отпущена домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 2 дня после ФДТ: самочувствие плохое, животное неактивно, T=39,6°C, аппетит плохой, опухоль некротизировалась, обильные гнойные выделения, гиперсаливация. Назначено: Флексопрофен 0,25 мл в/м, Синулокс 0,3 мл в/м, промывание ротовой полости Мирамистин и нанесение Метрогил дента.

Клинический осмотр через 10 дней после ФДТ: самочувствие удовлетворительное, животное умеренно активно, T=39,3°C, аппетит удовлетворительный. При осмотре обнаружено частичная регрессия опухоли, рисунок №73. На месте отторжения опухоли отмечено наличие гноя.



Рисунок 73 – Частичная регрессия опухоли у кошки Ф. после фотодинамической терапии

Клинический осмотр через 21 день после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, обнаружена полная регрессия опухоли, рисунок №74. На месте опухоли – дефект слизистой верхнего неба (скальпированная рана до кости). Признаков прогрессии не наблюдалось. Регионарные лимфатические узлы без изменений.



Рисунок 74 – Полная регрессия опухоли у кошки Ф. после фотодинамической терапии

4.4.2.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении плоскоклеточного рака ротовой полости животных

В исследование включены собаки с плоскоклеточным раком слизистой ротовой полости и плоскоклеточным раком языка, на I, II и III стадии заболевания ($T1aN0M0$, $T2aN0M0$ и $T3aN0M0$), рисунок №75 и 76.



Рисунок 75 – Плоскоклеточный рак слизистой ротовой полости, $T_{3a}N_0M_0$ у собаки



Рисунок 76 – Собака Л., плоскоклеточный рак языка, $T_{3a}N_0M_0$

В исследование включены кошки с плоскоклеточным раком слизистой ротовой полости и языка, не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования. В группу вошло 43 кошки с I и II стадией заболевания ($T1N0M0$ и $T2N0M0$ соответственно), рисунок №77.



Рисунок 77 – Плоскоклеточный рак языка у кошки $T_{1a}N_0M_0$

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашивание Гематоксилин-Эозином, рисунок №78.

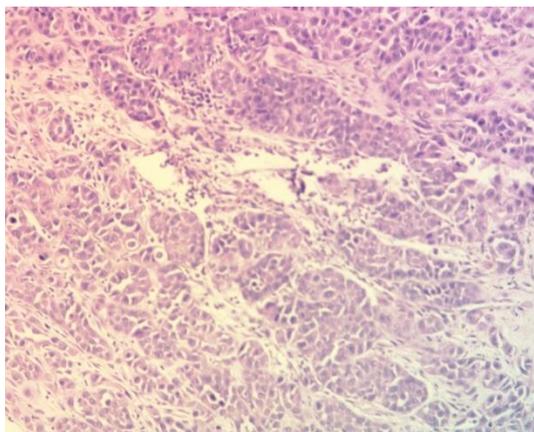


Рисунок 78 – Плоскоклеточный рак ротовой полости до начала лечения, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x200

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения (через 8–12 дней) для оценки эффективности и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №79.

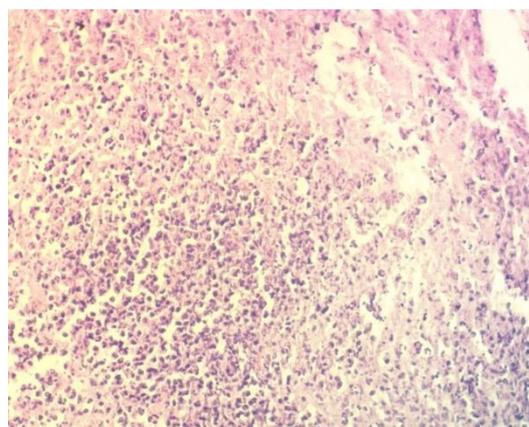


Рисунок 79 – Некротическая ткань – плоскоклеточный рак ротовой полости после фотодинамической терапии, окрашивание Гематоксилин-эозином, ув. x200

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин проводилась по вышеописанной методике, рисунок №80.



Рисунок 80 – Проведение фотодинамической терапии кошки К. с плоскоклеточным раком ротовой полости $T_1N_0M_0$

Непосредственно после ФДТ наблюдалось изменение поверхности опухоли в виде умеренной гиперемии тканей. В течение 2–4 дней после ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с относительно небольшим увеличением в объеме вследствие фотодинамического эффекта.

Через 7–12 дней после ФДТ опухоль подвергалась деструкции, с дальнейшим некрозом, образованием гноя, экссудата и отложением фибрина.

При необходимости проводилась некротомия области деструкции, в случае обширного некроза опухоли, с целью улучшения регенерации тканей и очищения раневой поверхности, в том числе удаление фибрина, перед повторным проведением сеанса ФДТ.

При ФДТ в монорежиме опухоль подвергалась частичной деструкции и через 12–17 дней процессы разложения опухоли завершались, и было возможно проводить следующий сеанс ФДТ, при этом область деструкции обрабатывалась Хлоргексидином и применялся гель Метрогил дента.

При плоскоклеточном раке слизистой ротовой полости и ПКР языка у собак количество курсов составило от 2 до 8 (среднее количество 3). У кошек количество курсов составило от 2 до 7 (среднее количество 3).

Далее рассматривается эффективность метода ФДТ относительно плоскоклеточного рака ротовой полости у собак и кошек.

4.4.2.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при плоскоклеточном раке слизистой ротовой полости

Всего в группе 42 пациента, 11 собак и 31 кошка. Средний возраст собак $10,6 \pm 0,89$ лет и кошек $13,92 \pm 2,16$ лет. Средняя площадь опухоли - $3,96 \pm 3,11$ см² (от 0,4 и до 11,52 см²).

В соответствие с международной классификацией Owen (1980) – у 42,85% (n=18) пациентов диагностировали I стадию болезни (T1- максимальный диаметр опухоли до 2 см), у 45,24 % (n=19) выявлена II стадия (T2 максимальный диаметр опухоли от 2 до 4 см), а у 11,9% (n=5) – III стадия (при диаметре более 4 см - T3). У кошек и собак опухоль локализовалась в основном в области нижней челюсти.

Объективный эффект зарегистрирован у 100% за счет ПР у 54,76% и ЧР у 45,24 %, прогрессирование болезни не выявлено, таблица №116.

Таблица 116 – Эффективность лечения в группе животных, прошедших ФДТ ПКР слизистой ротовой полости

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	100%	54,76%	45,24%	0	0
n	42	23	19	0	0

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Так, при опухолях до 2 см в диаметре ПР достигнута у 77% пациентов, а при размере от 2 до 4 см - в 47% случаях, при опухолях более 4 см ПР не регистрировали, таблица №117.

Таблица 117 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера ПКР слизистой ротовой полости у собак и кошек

Эффективность лечения	T1 (n=18)	T2 (n=19)	T3 (n=5)
ПР	77,77 % (n=14)	47,36% (n=9)	-
ЧР	22,22% (n=4)	52,63% (n=10)	100% (n=5)

Рецидив развился у 16,66% пациентов (n=7). Медиана времени до рецидива этих пациентов составила 203 дня.

Частота развития рецидива болезни так же зависела от первичного размера опухоли: при размере опухолевого узла до 2 см в диаметре рецидив отмечен в 5,5%, а при опухоли от 2 до 4 см - в 21% случаев. При опухолях более 4 см – в 50%. Рецидив не коррелировал с ранее полученным эффектом при проведении ФДТ, таблица № 118.

Таблица 118 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ при ПКР слизистой ротовой полости

Эффективность лечения	Рецидив %		
	T1	T2	T3
Рецидив в группе %	5,55% (n=1)	21,05% (n=4)	50% (n=2)
ПР	0	5,26% (n=1)	0
ЧР	5,55% (n=1)	15,78% (n=3)	50% (n=2)

Оценка зависимости скорости рецидива от эффективности лечения показала, что при полной регрессии рецидив развивается в течении 206 дней, а при частичной, в среднем, в течении 163 дней, что не коррелировало со стадией болезни, таблица № 119.

Таблица 119 – Зависимость скорости развития рецидива в зависимости от полученного эффекта, в группе животных с ПКР слизистой ротовой полости

Эффективность лечения	МБП, дни			
	Общая	T1	T2	T3
ПР	206	-	206	-
ЧР	187	111	262	163

Медиана продолжительности жизни составила 486 дней, а медиана безрецидивного периода 460 дней. Выживаемость в течении одного года – у 85,7%, двух лет – у 23,8% пациентов, таблица № 120.

Таблица 120 - Общая продолжительности жизни в группе собак и кошек, прошедших ФДТ при ПКР слизистой ротовой полости

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	486	100%	100%	85,71%	42,85%	23,8%
		n=42	n=42	n=36	n=18	n=10
МБП, дни	460	100%	95,24%	76,11%	35,71%	21,42%
		n=42	n=40	n=32	n=15	n=9

Анализ продолжительности жизни животных, получивших рецидив, не коррелировал с продолжительностью жизни между пациентами без рецидива и со стадией болезни. Таким образом, не выявлено существенных различий в этих группах, таблица № 121.

Таблица 121 - Сравнение продолжительности жизни в группе животных, прошедших ФДТ ПКР слизистой ротовой полости с рецидивом и без

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дни	МПЖ без рецидива, дни
МПЖ в группе	506	379
T1	624	626,5
T2	389,5	427
T3	343	469

Сравнительный видовой анализ показал большую эффективность ФДТ при плоскоклеточной карциноме в области челюсти при двукратном увеличении ПР у собак (81,8%) по сравнению с кошками (45,2%), при этом частота рецидивов практически одинаковая у обоих видов животных, таблица № 122.

Таблица 122 – Сравнение эффективности ФДТ при ПКР слизистой ротовой полости у собак и кошек

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив	МБП при рецидиве, дни
Собаки	100% (n=11)	81,81% (n=9)	18,18% (n=2)	18,18% (n=2)	163
Кошки	100% (n=31)	45,16% (n=14)	54,84% (n=17)	16,13% (n=5)	206

Кроме того, не выявлена разница МПЖ у кошек и собак, но отдаленные результаты показывают, что 1,5 летняя выживаемость в 1,5 раза выше у кошек, таблица № 123. Следует отметить, что кошки, прожившие более 1,5 лет после ФДТ без рецидива, умирали по причинам, не связанным с онкологией.

Таблица 123 – Сравнение МБП и МПЖ при ФДТ ПКР слизистой ротовой полости у собак и кошек

Вид животного	МБП, дней	МПЖ, дней	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
Собаки	403	403	100%	72,72%	27,27%	18,2%
Кошки	476	506	96,77%	90,32%	48,38%	25,8%

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости у собак = 0,058 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии ПКР слизистой ротовой полости у собак = 0,153 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости у собак = 0,058 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадии ПКР слизистой ротовой полости у собак = 0,229 ($p > 0,05$).

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости у кошек = 0,052 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости у кошек = 0,047 ($p < 0,05$).

Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при плоскоклеточном раке языка

Всего в группе 22 пациента: 10 собак и 12 кошек. Средний возраст собак $9,33 \pm 1,1$ года, кошек - $13,2 \pm 2,5$ года. Средняя площадь опухоли - $5,3 \pm 6,95$ см² (от 0,4 и до 23 см²).

В соответствие с международной классификацией Owen (1980) 45,45% (n=10) классифицировали как I стадия (T1 - максимальный диаметр опухоли до 2 см), у 36,36% (n=8) выявлена II стадия (T2 - максимальный диаметр опухоли от 2 до 4 см), у 18,18 % (n=4) – III стадия (T3 - при диаметре более 4 см).

Объективный эффект зарегистрирован у 100%: за счет ПР у 68% и ЧР 31,8%, таблица №124.

Таблица 124 – Эффективность лечения в группе животных, прошедших
ФДТ плоскоклеточного рака языка

Количество пациентов	Эффективность лечения в группе				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	100%	68,18%	31,81%	0	0
n	22	15	7	0	0

Эффективность лечения непосредственно коррелировала с размером опухоли. Так, при опухолях диаметром до 2 см ПР достигнута у 90% пациентов, при размере от 2 до 4 см – ПР в 62,5%, а при опухолях более 4 см в диаметре – ПР только 25% случаев, таблица №125.

Таблица 125 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера
опухоли в группе животных с ПКР языка

Эффективность лечения	T1 (n=10)	T2 (n=8)	T3 (n=4)
ПР	90% (n=9)	62,5% (n=5)	25% (n=1)
ЧР	10% (n=1)	37,5% (n=3)	75% (n=3)
СТ	-	-	-

Рецидив развился у 31,8% пациентов (n=7). МБП у пациентов, получивших рецидив, составила 199 дней.

Частота развития рецидива болезни так же зависела от первичного размера опухоли: при размере опухолевого узла до 2 см в диаметре рецидив отмечен в 10%, при опухоли от 2 до 4 см в 50% случаях, при опухолях более 4 см в диаметре – в 75% случаях. Рецидив не коррелировал с ранее полученным эффектом при проведении ФДТ, таблица №126.

Таблица 126 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ, в группе животных с ПКР языка

Эффективность лечения	Рецидив %		
	T1	T2	T3
Рецидив в группе %	10% (n=1)	50% (n=4)	50% (n=2)
ПР	10% (n=1)	25% (n=1)	0
ЧР	0	75% (n=3)	50% (n=2)

Оценка зависимости скорости рецидивирования от эффективности лечения показала, что при полной регрессии рецидив развивается в течении и 311 дней, а при частичной, в среднем, в течении 189 дней, что не коррелировало со стадией болезни, таблица №127.

Таблица 127 – Зависимость скорости развития рецидива от полученного эффекта, в группе животных с ПКР языка

Эффективность лечения	МБП, дни			
	Общая	T1	T2	T3
ПР	311	240	382	-
ЧР	189	-	173	195

Медиана продолжительности жизни составила 526 дней, а медиана безрецидивного периода 500 дней. Выживаемость в течении одного года – у 68,18% пациентов, двух лет – у 27,27%, таблица № 128.

Таблица 128 - Общая продолжительности жизни в группе животных, прошедших ФДТ ПКР языка

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)				
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
МПЖ, дни	526,5	100%	100%	68,18%	36,36%	27,27%
		n=22	n=22	n=15	n=8	n=6
МБП, дни	500	100%	90,90%	63,64%	0	0
		n=22	n=20	n=14	n=0	n=0

Анализ продолжительности жизни животных показал отсутствие корреляции в продолжительности жизни между пациентами с рецидивом и без рецидива, коррелируемую со стадией болезни, таблица № 129.

Таблица 129 - Сравнение продолжительности жизни в группе животных, прошедших ФДТ ПКР языка с рецидивом и без

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дней	МПЖ без рецидива, дней
МПЖ в группе	546	324
T1	521	656
T2	336	497
T3	293,5	561

Сравнительный анализ не выявил разницы в эффективности лечения между кошками и собаками. И в выживаемости, однако, у кошек в 2 раза чаще диагностировали - рецидив 40% против 20% у собак, таблица № 130.

Таблица 130 – Сравнение эффективности ФДТ при ПКР языка у собак и кошек

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив	МБП при рецидиве, дни
Собаки	100% (n=10)	70% (n=7)	30% (n=3)	20% (n=2)	195
Кошки	100% (n=12)	66,66% (n=8)	33,33% (n=4)	41,66% (n=5)	199

Существенной разницы в МБП и МПЖ у собак и кошек не выявлено, таблица № 131.

Таблица 131 – Сравнение МБП и МПЖ при ФДТ ПКР языка у собак и кошек

Вид животного	МБП, дней	МПЖ, дней	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
Собаки	486,5	486,5	100%	60%	30%	30%
Кошки	500	539	100%	75%	41,66%	25%

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадиях ПКР языка у собак = 0,818 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадиях ПКР языка у собак = 0,499 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадиях ПКР языка у собак = 0,818 ($p > 0,05$), а при сравнении I и III стадиях ПКР языка у собак = 0,594 ($p > 0,05$).

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадиях ПКР языка у кошек = 0,518 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадиях ПКР языка у кошек = 0,563 ($p > 0,05$).

4.4.2.4 Клинический случай фотодинамической терапии плоскоклеточного рака слизистой ротовой полости

Больное животное – кошка, А. Клинический диагноз: рак ротовой полости T_{2a}N₀M₀. Возраст – 8 лет, порода – сфинкс, масса тела – 3,5 кг. Обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в ротовой полости.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена опухоль слизистой ротовой полости красного цвета, которая поражает левую нижнюю губу и десну нижней челюсти слева, регионарные лимфоузлы не пальпируются, размеры опухоли 2,5x1,0 см, температура тела =38,4°C. (рисунок №81).



Рисунок 81 – Клинический осмотр кошки А., плоскоклеточный рак ротовой ротовой полости, T_{2a}N₀M₀

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Гистологическое исследование: плоскоклеточный рак.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ в лейкоцитарной формуле отмечается повышение палочкоядерных нейтрофилов – 5% (при норме 0–3%). В гематологическом анализе после лечения отмечается повышение сегментоядерных нейтрофилов – 74% (при норме 35–72%), остальные показатели находились на уровне нормальных значений (таблица №132).

Таблица 132 – Гематологические показатели крови кошки А.

Параметр		Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	12,2	11,0	5,0-17
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	10,04	9,8	6.1-11.9
Гемоглобин	HGB	г\л	143	138	80-150
Гематокрит	HCT	%	39,4	41,1	33-45
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	192	266	175-600
СОЭ		мм\ч	1	2	2-12
Базофилы	BASO	%	0	0	0
Эозинофилы	EOS	%	4	1	0-4
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	5	3	0 – 3
Сегментоядерные	SEGS	%	47	73	35 – 72
Лимфоциты	LYMP	%	42	22	20 – 55
Моноциты	MONO	%	2	1	1 – 5

В биохимическом анализе крови до проведения ФДТ обнаружено понижение уровня глюкозы – 2,6 ммоль/л (при норме 3,3–6,6 Ед/л), повышение ЛДГ крови – 337 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), после проведения ФДТ обнаружено повышение уровня ЛДГ – 384 Ед/л (при норме 35–250 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений до и после лечения, таблица №133.

Таблица 133 – Биохимические показатели крови кошки А.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Глюкоза	ммоль/л	2,6	4,1	3,3 – 6,3
Креатинин	нмоль/л	102	98	70-165
Мочевина	ммоль/л	9,7	10,3	5,4 – 12,1
АСТ	Ед/л	24,4	31,6	9-45
АЛТ	Ед/л	19,3	28,5	8 – 55
Белок общий	г/л	65,1	63,9	54-77
ЛДГ	Ед/л	337	384	35-250
Амилаза	Ед/л	986	1084	500-1200
Щелочная фосфатаза	Ед/л	47,0	54,3	5-55
Билирубин прямой	ммоль/л	0,7	0,9	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	3,8	4,4	2,0 – 10,0
ГГТ	Ед/л	3,6	3,0	0 – 8

Проведение фотодинамической терапии: больному установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

Далее при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 ввели Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 3,5 мг или 0,7 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

Далее животное седировали, придавали удобное положение на боку, так, чтобы был хороший доступ к опухоли. Световод для наружного облучения расположили таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и проводили облучение выбранной зоны. Диаметр светового пятна при

этом составил 1,5 см с захватом окружающей опухоль здоровой ткани, облучение проводили двумя перекрывающимися полями (рисунок №82).



Рисунок 82 – Проведение фотодинамической терапии кошки А. с плоскоклеточным раком ротовой полости, T_{2a}N₀M₀

Доза лазерного излучения составила 450 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,0 Вт, плотность мощности – 550 Вт/см².

После облучения опухоль изменила цвет – стала интенсивно красного цвета. Больной отпущен домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, T=38,6°C, аппетит хороший, болезненность в области расположения опухоли отсутствует, опухоль не увеличена, обнаружено образование гноя на поверхности опухоли, отмечается деструкция опухоли, рисунок №83. Назначено промывание ротовой полости Мирамистином, нанесение на слизистую Метрогил дента.



Рисунок 83 – Деструкция опухоли у кошки А. с плоскоклеточным раком ротовой полости, T_{2a}N₀M₀

Клинический осмотр через 9 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,5^{\circ}\text{C}$, аппетит хороший. При осмотре обнаружена частичная регрессия опухоли. На месте отторжения опухоли наблюдалось небольшое скопление некротических масс, рисунок №84.



Рисунок 84 – Частичная регрессия, отторжения опухоли у кошки А. с плоскоклеточным раком ротовой полости, $T_{2a}N_0M_0$

Клинический осмотр через 16 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, $T=38,8^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, обнаружена частичная регрессия опухоли, рисунок №85. Регионарные лимфатические узлы – без изменений.



Рисунок 85 – Частичная регрессия, отторжения опухоли у кошки А. через 16 дней после фотодинамической терапии

4.4.2.5 Клинический случай фотодинамической терапии плоскоклеточного рака языка

Больное животное – собака, Л. Клинический диагноз: рак языка T_{3a}N₀M₀. Возраст – 10 лет, порода – французский бульдог, масса тела – 9 кг. Обратились в ветеринарную клинику с жалобой на новообразование в ротовой полости.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружено тотальное поражение языка, отмечалась гиперемия, гиперплазия и бугристость языка, отмечалось наличие умеренного кровотечения и гиперсаливации, признаки воспаления, а также нарушены движения языком, регионарные лимфоузлы немного увеличены (подчелюстные лимфатические узлы), температура тела = 38,8°C (рисунок №86).



Рисунок 86 – Клинический осмотр собаки Л., плоскоклеточный рак языка,
T_{3a}N₀M₀

Гистологическое исследование: плоскоклеточный рак.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ отмечается повышение уровня лейкоцитов $21 \times 10^9/\text{л}$ (при норме $6,0\text{--}16 \times 10^9/\text{л}$), в лейкоцитарной формуле повышение сегментоядерных нейтрофилов – 80% (при норме 60–70%). В гематологическом анализе после лечения отмечалось повышение уровня лейкоцитов $17 \times 10^9/\text{л}$ (при норме $6,0\text{--}16 \times 10^9/\text{л}$), в лейкоцитарной формуле повышение сегментоядерных нейтрофилов – 76% (при норме 60–70%), остальные показатели находились в пределах нормальных значений (таблица №134).

Таблица 134 – Гематологические показатели крови собаки Л.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы (Ref. range) для собак	
Лейкоциты	WBC	10 ⁹ /л	21	17	6,0-16,0
Эритроциты	RBC	10 ¹² /л	7,5	7,6	5,6-8,0
Гемоглобин	HGB	г\л	180	176	120-180
Гематокрит	HCT	%	54,7	52,3	38-55
Тромбоциты	PLT	10 ⁹ / л	495	523	160-550
СОЭ		мм\ч	3	4	1-6
Базофилы	BASO	%	0	0	0-1
Эозинофилы	EOS	%	0	0	0-5
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	0	1	0 – 3
Сегментоядерные	SEGS	%	80	76	60-70
Лимфоциты	LYMP	%	17	19	12-30
Моноциты	MONO	%	3	4	2-7

В биохимическом анализе крови до проведения ФДТ обнаружено повышение уровня креатинина – 148,5 Ед/л (при норме 26–128 нмоль/л), уровня мочевины – 13,6 Ед/л (при норме 3,5–9,2 ммоль/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений, таблица №135.

Таблица 135 – Биохимические показатели крови собаки Л.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы (Ref. range) для собак
Глюкоза	ммоль/л	6,1	5,8	3,5 – 6,5
Креатинин	нмоль/л	148,5	151	26 -128
Мочевина	ммоль/л	13,6	13,2	3,5 – 9,2
АСТ	Ед/л	17,3	28	8 - 42
АЛТ	Ед/л	46,5	53,3	10 - 58
Белок общий	г/л	53,7	61,8	55 - 75
ЛДГ	Ед/л	191,1	186	23 - 220

Амилаза	Ед/л	950	1087	300-1500
Щелочная фосфатаза	Ед/л	62,9	66,1	10 - 70
Билирубин прямой	ммоль/л	1,3	1,5	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	3,7	5,6	2,0 - 13,5
ГГТ	Ед/л	3,5	2	0 – 8

В биохимическом анализе крови после проведения ФДТ обнаружено повышение уровня креатинина – 151 Ед/л (при норме 26–128 нмоль/л), уровня мочевины – 13,2 Ед/л (при норме 3,5–9,2 ммоль/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Проведение ФДТ: больному установили периферический внутривенный катетер 20G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

Далее при помощи капельницы введено: Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% Натрия хлорида из расчета 1 мг/кг, индивидуальная доза составила 9 мг или 1,8 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

Далее животное седировали, придавали удобное положение на боку, так, чтобы был хороший доступ к опухоли. Фотодинамическую терапию проводили по описанной выше методике (рисунок №87).



Рисунок 87 – Проведение фотодинамической терапии собаке Л. с плоскоклеточным раком языка, T_{3a}N₀M₀

Доза лазерного излучения составила 400 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,0 Вт, плотность мощности – 250 мВт/см².

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, T=38,8°C, аппетит умеренный, болезненность в области расположения опухоли отсутствует, отмечалась небольшая отечность языка. Назначено: промывание Мирамистином и нанесение на слизистую Метрогил дента.

Клинический осмотр через 20 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное активно, T=38,4°C, аппетит хороший, подвижность языка улучшилась, уменьшились признаки гиперсаливации, кровотечение отсутствует. При осмотре обнаружена частичная регрессия опухоли, рисунок №88.



Рисунок 88 – Частичная регрессия опухоли у собаки с плоскоклеточным раком языка, T_{3a}N₀M₀

В дальнейшем этой собаке было сделано 10 курсов ФДТ, животное умерло через 2 года от почечной недостаточности, без выраженных признаков прогрессии опухолевого роста.

4.4.3.1 Результаты применения метода фотодинамическая терапия при лечении меланомы ротовой полости у животных

В исследование включены больные с меланомой ротовой полости II стадии T2aN0M0 и III стадии: T3aN0M0, T3bN0M0, не имеющие регионарных метастазов в лимфатические узлы и отдаленного метастазирования, рисунок №89. А также больной с IV стадией T2aN3M0 имеющий регионарный метастаз в лимфатический узел.



Рисунок 89 – Меланома слизистой ротовой полости T₂N₀M₀ у собаки

Для постановки окончательного диагноза применяли гистологическое исследование опухоли, окрашивание Гематоксилин-Эозином, рисунок №90.

При увеличенном лимфатическом узле биопсия проводилась из лимфатического узла с целью не травмировать опухоль. В случае, если не было увеличенного лимфатического узла, забор материала для морфологического

исследования проводили непосредственно перед проведением фотодинамической терапии.

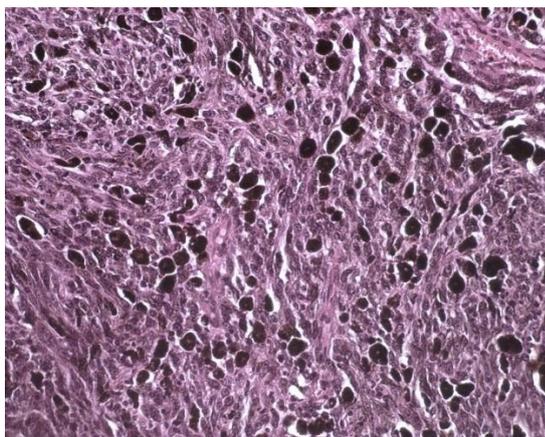


Рисунок 90 – Меланома ротовой полости до начала лечения, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x200

Повторно гистологическое исследование проводили после лечения (через 12–18 дней) для оценки эффективности и установки степени лечебного патоморфоза, рисунок №91.

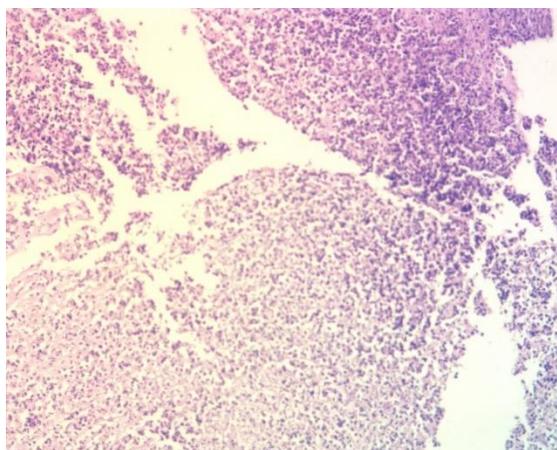


Рисунок 91 – Меланома ротовой полости после фотодинамической терапии, окрашивание Гематоксилин-Эозином, ув. x100

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором Фотодитазин проводилась по вышеописанной методике. Процедуру лечения больным с меланомой ротовой полости проводили под общей седацией, в виду того, что необходимо открытие ротовой полости для полноценного доступа к опухоли и

проведения ФДТ. Седирование больных животных проводили по вышеописанной методике.

При проведении ФДТ животному придали удобное положение, открыв ротовую полость, в том числе с применением роторасширителей, так, чтобы опухоль была хорошо видна, и к ней был свободный доступ. Световод для наружного облучения или световод с микролинзой располагали так, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и проводили облучение выбранной зоны, рисунок №92.



Рисунок 92 – Проведение сеанса фотодинамической терапии собаке с меланомой ротовой полости T₂N₀M₀

Непосредственно после ФДТ видимых изменений не наблюдалось. В течение 3–7 дней после ФДТ наблюдался отек тканей опухоли с увеличением в объеме вследствие фотодинамического эффекта.

Через 10–16 дней после ФДТ опухоль подвергалась деструкции, в этом месте наблюдался некроз, гнойные выделения, экссудат, рисунок №93.



Рисунок 93 – Деструкция опухоли после ФДТ (меланомы ротовой полости $T_3N_0M_0$ у собаки, на фото видно кратерообразное углубление на месте отторгнутой опухоли)

При необходимости проводилась некротомия области деструкции, в случае обширного некроза опухоли, с целью усиления эпителизации или очищения раневой поверхности, перед повторным проведением сеанса ФДТ.

При ФДТ опухоль подвергалась частичной деструкции, через 13–20 дней процессы разложения опухоли завершались, и было возможно проводить следующий сеанс ФДТ, при этом область деструкции обрабатывалась Мирамистином или Хлоргексидином и антибактериальными мазями (Диоксидиновая, Синтамициновая и пр.).

При меланоме ротовой полости количество курсов составило от 2 до 6 (среднее количество курсов 3).

Далее рассматривается эффективность метода ФДТ относительно меланомы ротовой полости у собак.

4.4.3.2 Оценка эффективности применения фотодинамической терапии при меланоме ротовой полости

Всего в группе 10 собак с меланомой слизистой ротовой полости. Средний возраст собак $12 \pm 0,89$ лет, при средней площади опухоли - $11,31 \pm 6,8$ см² (от 4 до 22,54 см²).

В соответствие с международной классификацией Owen (1980) у 40% (n=4) собак выявлена T2 стадия (размер опухоли от 2 до 4 см), и у 60% (n=6) – T3 (при диаметре более 4 см), при этом у 1 собаки отмечено лимфогенное метастазирование. Опухоли локализовались в области нижней челюсти.

Объективный эффект зарегистрирован у 50% за счет ЧР у 50%, и прогрессирование отмечено у 10%, таблица №136.

Таблица 136 – Эффективность лечения в группе собак, прошедших ФДТ меланомы

Количество пациентов	Эффективность лечения в группах				
	ОЭ	ПР	ЧР	СТ	Прогресс
%	50%	0	50%	40%	10
n	5	0	5	4	1

Эффективность лечения не зависела от размера опухоли на основании % ЧР, однако при опухолях больше 4 см у 16% отмечено прогрессирование, таблица №137.

Таблица 137 – Корреляция эффективности ФДТ в зависимости от размера меланомы ротовой полости у собак

Эффективность лечения	T2 (n=4)	T3 (n=6)
ЧР	75% (n=3)	66,66% (n=4)
СТ	25% (n=1)	16,66% (n=1)
Прогрессирование	-	16,66% (n=1)

Рецидив развился у 60% пациентов (n=6). Медиана времени до рецидива этих пациентов составила 202,5 дней.

Частота развития рецидива болезни не зависела от размера первичной опухоли или ранее полученного результата лечения, таблица №138.

Таблица 138 – Зависимость рецидивирования от размера первичной опухоли и эффективности ФДТ

Эффективность лечения	Рецидив %	
	T2 (n=4)	T3 (n=6)
Рецидив в группе %	50% (n=2)	66,67% (n=4)
При ПР	25% (n=1)	33,33% (n=2)
При ЧР	25% (n=1)	16,66% (n=1)
При прогрессировании	-	16,66% (n=1)

При оценке зависимости продолжительности медианы безрецидивного периода от лечебного эффекта у собак не выявлена корреляция между полученным эффектом и скоростью рецидивирования опухоли. Таким образом, скорость рецидива не зависела от эффективности лечения. При этом замечено, что при размере опухоли до 4 см, в случае ПР время до рецидива в 2-3 (до 10) раза дольше, чем при ЧР и ПРОГ, таблица №139.

Таблица 139 – Зависимость скорости развития рецидива от полученного эффекта, в группе собак с меланомой ротовой полости

Эффективность лечения	МБП, дни		
	Общая	T2	T3
ПР	222	707	44
ЧР	182	74	290
ПРОГ	183	-	183

Медиана продолжительности жизни составила 315 дней, а медиана безрецидивного периода 256 дней. Выживаемость в течении одного года – 50%, полутра лет – 20%, таблица № 140.

Таблица 140 - Общая продолжительности жизни в группе собак, прошедших ФДТ меланомы

Выживаемость		Выживаемость % и количество животных (n)			
		3 мес.	6 мес.	1 год	1,5 года
МПЖ, дни	315	100%	70%	50%	20%
		n=10	n=7	n=5	n=2
МБП, дни	256	80%	70%	20%	20%
		n=8	n=7	n=2	n=2

Анализ продолжительности жизни животных, не выявил корреляцию у пациентов, получивших рецидив и без него. Однако собаки с III стадией жили незначительно меньше, чем собаки со II стадией, таблица № 141.

Таблица 141 - Сравнение продолжительности жизни в группе собак, прошедших ФДТ меланомы ротовой полости с рецидивом и без

Стадия болезни	МПЖ с рецидивом, дни	МПЖ без рецидива, дни
МПЖ в группе	269	363,5
T2	419	297
T3	363,5	241

Тест Фишера при сравнении МБП при I и II стадии меланомы ротовой полости у собак = 0,397 ($p > 0,05$). Тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии меланомы ротовой полости у собак = 0,331 ($p > 0,05$).

4.4.3.3 Клинический случай фотодинамической терапии меланомы ротовой полости животного

Больное животное – собака, Ш. Клинический диагноз: меланома ротовой полости $T_2N_0M_0$, с поражением в области десны и верхнего неба, опухоль пигментирована, размером 1,4х2,2 см. Возраст – 12 лет, порода – шпиц, масса тела – 3,1 кг. Обратились в ветеринарную клинику с жалобой на снижение аппетита и новообразование в области ротовой полости.

Клинический осмотр до начала лечения: при осмотре обнаружена плотная бугристая опухоль слизистой верхнего неба и десны верхней челюсти слева, темного цвета, неподвижная относительно окружающих тканей, регионарные лимфоузлы не пальпируются, температура тела = 39,0 °С. (рисунок №94).



Рисунок 94 – Клинический осмотр собаки Ш., меланома ротовой полости $T_2N_0M_0$

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Рентгенологическое исследование легких в прямой дорсо-вентральной и боковой правой латеральной проекции: признаков отдаленного метастазирования не обнаружено.

Гистологическое исследование: меланома.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови: в гематологическом анализе до ФДТ отмечается повышение уровня лейкоцитов – $16,7 \times 10^9/\text{л}$ (при норме $6,0\text{--}16,0 \times 10^9/\text{л}$), повышение СОЭ – 23 мм/ч (при норме 1–6

мм/ч), в лейкоцитарной формуле отмечается повышение сегментоядерных нейтрофилов – 80% (при норме 60–70 %). В гематологическом анализе после ФДТ отмечается повышение уровня лейкоцитов – $17,9 \times 10^9/\text{л}$ (при норме 6,0–16,0 $\times 10^9/\text{л}$), повышение СОЭ – 26 мм/ч (при норме 1–6 мм/ч), в лейкоцитарной формуле отмечается повышение сегментоядерных нейтрофилов – 82% (при норме 60–70 %) и снижение уровня лимфоцитов – 10% (при норме 12–30%) (таблица №142).

Таблица 142 – Гематологические показатели крови – Собака Ш.

Параметр		Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Лейкоциты	WBC	$10^9/\text{л}$	16,7	17,9	6,0-16,0
Эритроциты	RBC	$10^{12}/\text{л}$	6,1	6,5	5,6-8,0
Гемоглобин	HGB	г\л	125	134	120-180
Гематокрит	HCT	%	38,9	38,6	38-55
Тромбоциты	PLT	$10^9/\text{л}$	386	355	160-550
СОЭ		мм\ч	23	26	1-6
Базофилы	BASO	%	0	0	0-1
Эозинофилы	EOS	%	2	1	0-5
Миелоциты	MYELO	%	0	0	0
Метамиелоциты	META	%	0	0	0
Палочкоядерные	BAND	%	2	4	0 – 3
Сегментоядерные	SEGS	%	80	82	60-70
Лимфоциты	LYMP	%	13	10	12-30
Моноциты	MONO	%	3	3	2-7

В биохимическом анализе крови до ФДТ обнаружено повышение уровня АЛТ – 73 Ед/л (при норме 10–58 Ед/л), повышение общего белка – 77 г/л (при норме 55–75 г/л), повышение ЩФ – 101 Ед/л (при норме 10–70 Ед/л) и повышение ЛДГ – 596 Ед/л (при норме 23–220 Ед/л), остальные показатели находились в пределах

нормальных значений. В биохимическом анализе крови после ФДТ обнаружено повышение уровня АЛТ – 59 Ед/л (при норме 10 – 58 Ед/л), повышение ЩФ – 84 Ед/л (при норме 10–70 Ед/л) и повышение ЛДГ – 581 Ед/л (при норме 23–220 Ед/л), остальные показатели находились в пределах нормальных значений и после лечения, таблица №143.

Таблица 143 – Биохимические показатели крови – Собака Ш.

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Глюкоза	ммоль/л	4,6	5,1	3,5 – 6,5
Креатинин	нмоль/л	96	105	26 -128
Мочевина	ммоль/л	7,8	7,2	3,5 – 9,2
АСТ	Ед/л	41	38	8 - 42
АЛТ	Ед/л	73	59	10 - 58
Белок общий	г/л	77	75	55 - 75
ЛДГ	Ед/л	596	581	23 - 220
Амилаза	Ед/л	1432	1311	300-1500
Щелочная фосфатаза	Ед/л	101	84	10 - 70
Билирубин прямой	ммоль/л	2,2	2,5	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	6,3	6,9	2,0 - 13,5
ГГТ	Ед/л	8,0	6,6	0 – 8

В случае с данным больным решено было взять биопсию и сразу после этого провести ФДТ опухоли.

Проведение ФДТ: больному установили периферический внутривенный катетер 22G в вену предплечья (v. cephalica), по общепринятой методике.

Далее при помощи инфузомата SinoMDT SN50C6 ввели Фотодитазин внутривенно, разведение 1:20 на 0,9% натрия хлорида, из расчета 1 мг/кг,

индивидуальная доза составила 3,1 мг или 0,6 мл раствора Фотодитазина, инфузия проводилась в течение 30 минут. После чего 3 часа животное наблюдалось с целью полного накопления препарата в ткани опухоли.

Далее животному проведена седация по вышеописанной методике, придано положение на правом боку, для обеспечения хорошего доступа к опухоли использовали роторасширитель. Световод для наружного облучения расположили таким образом, чтобы лазерный луч был направлен перпендикулярно опухоли, и проведено облучение выбранной зоны. Диаметр светового пятна при этом составил 2 см с захватом окружающей опухоль здоровой ткани с целью облучить возможные микроскопические сателлитные опухолевые очаги (рисунок №95).



Рисунок 95 – Проведение фотодинамической терапии собаке Ш. (меланома ротовой полости, T₂N₀M₀)

Доза лазерного излучения составила 400 Дж/см², выходная мощность лазерного излучения – 1,5 Вт, плотность мощности – 0,45 Вт/см².

После облучения опухоль изменила цвет – стала еще более темной. Больная отпущена домой с условием соблюдения светового режима в течение 48 часов.

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, T=39,3°C, аппетит снижен, опухоль не увеличена, экссудация отсутствует, опухоль отечна.

Клинический осмотр через 8 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, T=39,2°C, аппетит снижен. При осмотре выявлена

стабилизация опухоли. На месте деструкции опухоли отмечено наличие гноя и фибрина, рисунок №96.



Рисунок 96 – Деструкция опухоли у собаки Ш. после фотодинамической терапии

Клинический осмотр через 16 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, $T=38,4^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, улучшился, отмечена стабилизация опухоли. Признаков прогрессии не наблюдалось. Регионарные лимфатические узлы без изменений.

Через 5 недель после ФДТ, больному был проведен второй курс ФДТ по вышеописанной методике.

Клинический осмотр через 3 дня после ФДТ: самочувствие среднее, животное умеренно активно, $T=39,1^{\circ}\text{C}$, аппетит снижен, опухоль не увеличена, экссудация отсутствует, опухоль отечна.

Клинический осмотр через 10 дней после ФДТ: самочувствие хорошее, животное умеренно активно, $T=39,4^{\circ}\text{C}$, аппетит снижен. При осмотре отмечена стабилизация опухолевого процесса. В области отторжения опухоли отмечено наличие гноя и фибрина.

Клинический осмотр через 18 дней после ФДТ: самочувствие среднее, животное умеренно активно, $T=39,1^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранен, отмечена стабилизация опухоли. Признаков прогрессии не наблюдалось. Регионарные лимфатические узлы без изменений. В дальнейшем владельцы животного отказались от лечения.

4.5 Результаты изучения безопасности применения метода фотодинамическая терапия у животных

Для изучения безопасности применения метода ФДТ с фотосенсибилизатором Фотодитазин (Россия, регистрационный номер ЛС-001246 от 10.02.2006) у животных мы провели следующие исследования:

1. Биологическая проба на 289-и экспериментальных животных, при внутривенном введении фотосенсибилизатора Фотодитазин, изучение непосредственных побочных реакций.

2. Изучение отсроченных побочных реакций в течение периода выведения фотосенсибилизатора Фотодитазин.

3. Проведение гематологических и биохимических исследований проб крови собак и кошек до и после проведения фотодинамической терапии.

4. Облучение кожных покровов и слизистой оболочки ротовой полости у экспериментальных животных лазерным излучением с длиной волны 660 ± 2 нм, в дозе до 1000 Дж, без введения фотосенсибилизатора.

Проведение биологической пробы. Из 289 пролеченных нами животных (166 кошек и 123 собаки), которым в качестве фотосенсибилизатора вводился Фотодитазин, только у трех животных мы обнаружили побочную реакцию на введение препарата в виде аллергической реакции. Подобные реакции возникли у кошки породы метис и у двух собак породы такса (в анамнезе – аллергики). Аллергическая реакция у этих животных развивалась в течение 30 минут после внутривенного введения фотосенсибилизатора Фотодитазин и проявлялась появлением зуда, отеками в области морды – отеками губ и вокруг глаз, гиперемией кожи головы, учащением дыхания и проявлением беспокойства животного. Данная реакция хорошо и быстро купировалась внутривенным введением препарата димедрол (в дозе 1 мг/кг МТ) или преднизолон (в дозе 1 мг/кг МТ), все симптомы при этом проходили в течение 15–20 минут.

Таким образом, частота возникновения побочных реакций на фотосенсибилизатор Фотодитазин по нашим данным составляет не более 1 %, а именно – 1,0 %.

Изучение отсроченных побочных реакций. После введения фотосенсибилизатора Фотодитазин в организм пациента наиболее частым побочным эффектом у людей является повышение фоточувствительности (светочувствительности), которое выражается в гиперемии или ожогах открытых частей тела, на которые попадает солнечный свет (при этом происходит спонтанная активация фотосенсибилизатора в тканях, что приводит к фотодинамическому эффекту), поэтому необходимо соблюдать световой режим и избегать прямых солнечных лучей в течение периода выведения фотосенсибилизатора из организма (для Фотодитазина этот период равен 48 часам). У животных в отличие от людей шерстный покров хорошо защищает кожу от инсоляции, незащищенными остаются носовое зеркало, глаза, ушная раковина и у некоторых – кончик хвоста. Также в группе повышенного риска – животные без шерстного покрова. При соблюдении соответствующего светового режима нами не было отмечено подобных побочных реакций ни у одного из пролеченных животных.

Исследование показателей крови. При проведении исследований у экспериментальных животных мы проводили отбор проб крови у 96 кошек и 73 собак до фотодинамической терапии и через двое суток после лечения, с целью определить возможное влияние терапии на состав крови пациентов (таблицы № 144, 145, 146, 147). Отбор проб крови проводился по стандартной методике, натошак, в две пробирки для гематологического и биохимического исследования крови.

Таблица 144 – Гематологические показатели крови 96 кошек до и после фотодинамической терапии

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для кошек
Лейкоциты	10 ⁹ /л	8,9±0,66	10,5±0,89	5,0-17
Эритроциты	10 ¹² /л	8,4±0,28	8,33±0,25	6.1-11.9
Гемоглобин	г\л	119,2±6,5	117,11±7,31	80-150
Гематокрит	%	38,7±1,09	38,72±1,38	33-45
Тромбоциты	10 ⁹ / л	298,1±24,8	272,67±23,7	175-600
СОЭ	мм\ч	12,0±1,4	11,0±0,97	2-12
Базофилы	%	0,11±0,08	0	0
Эозинофилы	%	2,0±0,34	1,44±0,2	0-4
Миелоциты	%	0	0	0
Метамиелоциты	%	0	0	0
Палочкоядерные	%	3,2±0,42	3,44±0,44	0 – 3
Сегментоядерные	%	63,9±2,45	70,6±1,32	35 – 72
Лимфоциты	%	27,7±2,31	21,8±1,44	20 – 55
Моноциты	%	3,1±0,42	2,8±0,42	1 – 5

Исходя из данных таблиц № 144 и 145, при исследовании гематологических показателей видно, что наиболее значимые отклонения у кошек обнаружены среди следующих параметров: уровень лейкоцитов после облучения возрос на 18% (с 8,9±0,66 до 10,5±0,89 x10⁹/л), в лейкоцитарной формуле уровень эозинофилов снизился на 28% (с 2,0±0,34% до 1,44±0,2%), уровень сегментоядерных нейтрофилов возрос на 11% (с 63,9±2,45% до 70,6±1,32%), процентное содержание лимфоцитов снизилось на 21% (с 27,7±2,31% до 21,8±1,44%); у собак существенных отклонений в параметрах гематологического исследования крови до

и после ФДТ не выявлено. Следует отметить, что все показатели находились в пределах нормальных значений для данного вида животных.

Таблица 145 – Гематологические показатели крови 73 собак до и после фотодинамической терапии

Параметр	Ед. измерения	До лечения	После лечения	Значения нормы для собак
Лейкоциты	10 ⁹ /л	10,8±1,08	10,4±1,05	6,0-16,0
Эритроциты	10 ¹² /л	6,7±0,15	6,7±0,15	5,6-8,0
Гемоглобин	г\л	137,5±2,98	139±3,22	120-180
Гематокрит	%	41,6±0,51	42,6±0,87	38-55
Тромбоциты	10 ⁹ / л	287,8±18,25	382,5±13,65	160-550
СОЭ	мм\ч	13,3±1,46	12,0±2,01	1-6
Базофилы	%	0,3±0,14	0,3±0,14	0-1
Эозинофилы	%	2,5±0,38	2,3±0,28	0-5
Миелоциты	%	0	0	0
Метамиелоциты	%	0	0	0
Палочкоядерные	%	2,0±0,28	2,2±0,27	0 – 3
Сегментоядерные	%	73,8±0,89	73,2±1,68	60-70
Лимфоциты	%	18,5±1,12	18,7±1,89	12-30
Моноциты	%	2,8±0,41	3,3±0,38	2-7

На наш взгляд, изменение гематологических показателей связано с разрушением опухолевых клеток и, как следствие, возникновением местной воспалительной реакции тканей, что является ожидаемым для данного вида лечения и говорит о закономерной реакции организма.

Таблица 146 – Биохимические показатели крови кошек до и после фотодинамической терапии

Параметр	Ед. измерения	До ФДТ	После ФДТ	Значения нормы для кошек
Глюкоза	ммоль/л	5,4±0,29	6,1±0,4	3,3 – 6,3
Креатинин	нмоль/л	142,9±10,9	141,2±9,54	70-165
Мочевина	ммоль/л	9,6±0,88	9,5±0,84	5,4 – 12,1
АСТ	Ед/л	28,8±2,02	31,5±2,06	9-45
АЛТ	Ед/л	55,2±4,92	51,4±6,11	8 – 55
Белок общий	г/л	66,6±1,6	67,9±1,7	54-77
ЛДГ	Ед/л	281,1±16,43	285,0±14,2	35-250
Амилаза	Ед/л	1013,4±82,37	1018,1±117,1	500-1200
Щелочная фосфатаза	Ед/л	47,9±3,51	48,5±4,65	5-55
Билирубин прямой	ммоль/л	1,5±0,22	1,2±0,11	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	5,1±0,24	5,0±0,38	2,0 – 10,0
ГГТ	Ед/л	3,2±0,35	2,6±0,41	0 - 8

Анализируя данные, приведенные в таблицах 109 и 110, видно, что наиболее значимые отклонения биохимических параметров крови кошек обнаружены у следующих показателей: на 13% возрос уровень глюкозы после облучения (с 5,4±0,29 до 6,1±0,4 ммоль/л), на 19% снизился уровень ГГТ после облучения (с 3,2±0,35 до 2,6±0,41 Ед/л); у собак на 12,7% снизился уровень АЛТ после облучения (с 74,2±6,18 до 64,8±4,5 Ед/л), на 10,2% снизился уровень щелочной фосфатазы после облучения (с 78,5±5,14 до 70,5±4,77 Ед/л), на 32,8% снизился уровень ГГТ после облучения (с 5,8±0,59 до 3,9±0,42Ед/л). Несмотря на эти

изменения, все показатели биохимического состава крови находились в пределах нормальных значений для данного вида животных.

Таблица 147 – Биохимические показатели крови собак до и после фотодинамической терапии

Параметр	Ед. измерения	До ФДТ	После ФДТ	Значения нормы для собак
Глюкоза	ммоль/л	5,5±0,16	5,2±0,08	3,5 – 6,5
Креатинин	нмоль/л	112,2±7,51	116,2±7,7	26 -128
Мочевина	ммоль/л	8,4±0,34	8,4±0,38	3,5 – 9,2
АСТ	Ед/л	45±1,97	43,7±3,43	8 - 42
АЛТ	Ед/л	74,2±6,18	64,8±4,5	10 - 58
Белок общий	г/л	71,5±1,24	70,6±1,7	55 - 75
ЛДГ	Ед/л	399,7±28,16	373±32,51	23 - 220
Амилаза	Ед/л	1107,8±64,13	1075,8±65,65	300-1500
Щелочная фосфатаза	Ед/л	78,5±5,14	70,5±4,77	10 - 70
Билирубин прямой	ммоль/л	1,9±0,27	1,6±0,18	0,0 – 5,5
Билирубин общий	ммоль/л	6,2±0,17	5,6±0,19	2,0 - 13,5
ГГТ	Ед/л	5,8±0,59	3,9±0,42	0 – 8

Проведя статистический анализ полученных данных, мы получили значение $p>0,05$, что показывает отсутствие выраженных различий в параметрах крови до и после фотодинамической терапии, таким образом, нет значимого влияния данного метода лечения на гематологические и биохимические показатели крови у собак и кошек.

Следует отметить, что препарат Фотодитазин применялся нами онкологическим больным, которые, в том числе, имели сопутствующие патологии: патологии почек, гепатобиллиарной системы, поджелудочной железы, эндокринной системы, сердечно-сосудистой системы и прочие. В основном это были: хроническая болезнь почек, панкреатит, гипотиреоз, гепатоз, эндокардиоз митрального клапана и гипертрофия левого предсердия и пр. В том числе, большинство пациентов были возрастные. У всех этих пациентов нами не было обнаружено отрицательного влияния фотосенсибилизатора Фотодитазин на течение сопутствующих болезней и на картину крови.

Облучение лазером без введения фотосенсибилизатора. Для исследования влияния только лазерного излучения на ткани животных мы проводили облучение кожи и слизистой оболочки ротовой полости экспериментальных животных (рисунок №97) при помощи диодного лазера, генерирующего лазерный луч с длиной волны 660 ± 2 нм (который используется для проведения фотодинамической терапии), дозы облучения составляли 300, 500, 600, 800, 900, 1000 и 1500 Дж\см². После облучения наблюдение осуществлялось в течение 8 часов. Оценка эффекта проводилась визуально и пальпаторно.

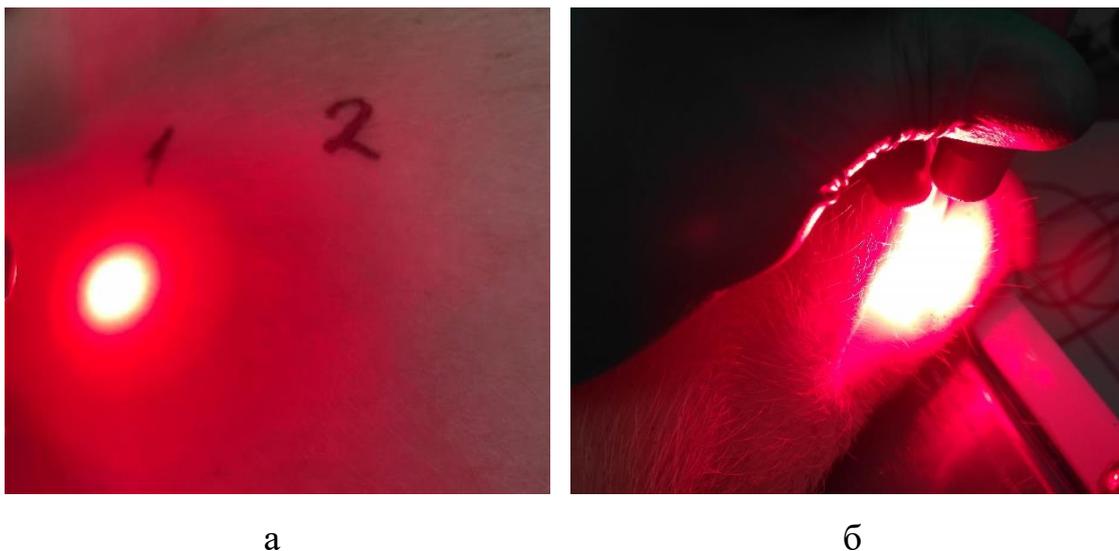


Рисунок 97 – Облучение лазерным излучением ($\lambda=660\pm 2$ нм) кожи (а) и слизистой ротовой полости (б) экспериментального животного

При облучении кожных покровов и слизистой ротовой полости животных только лазерным излучением с длиной волны 660 ± 2 нм (без введения фотосенсибилизатора), мы не обнаружили какого-либо повреждающего действия при использовании терапевтических доз лазерного излучения (рисунок №98).

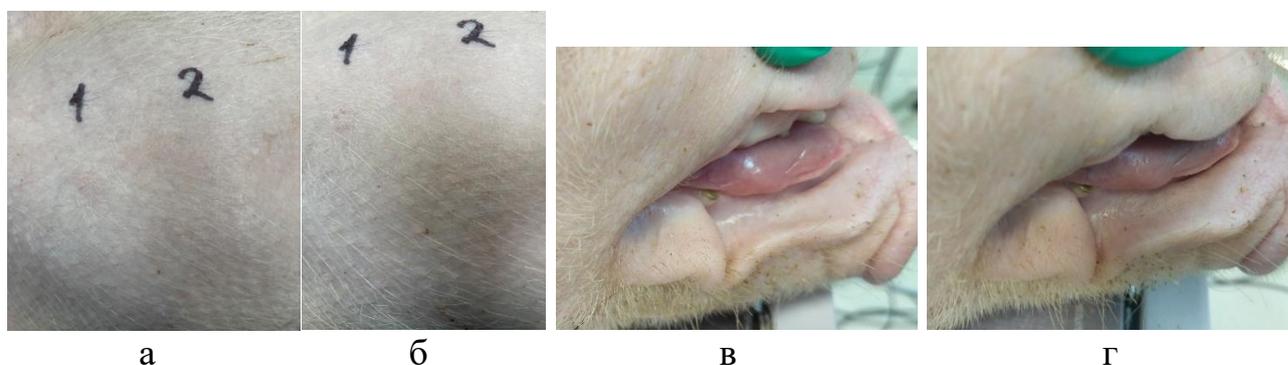


Рисунок 98 – Участки кожи и слизистой ротовой полости

экспериментального животного до (а, в) и после (б, г) облучения лазерным излучением с длиной волны 660 ± 2 нм, под цифрой 1 – область кожи подверглась облучению, под цифрой 2 – кожа не подвергалась облучению

По данным литературы гипертермия опухоли достигается локальным нагревом ее ткани в пределах $42-47^\circ\text{C}$. Поэтому температура при фотодинамической терапии не должна превышать 42°C (гипертермический порог), рисунок №99 (Александров, Н.Н., с соавт., 1980, Николаева А. А., 2002, Улащик В.С., 2014).

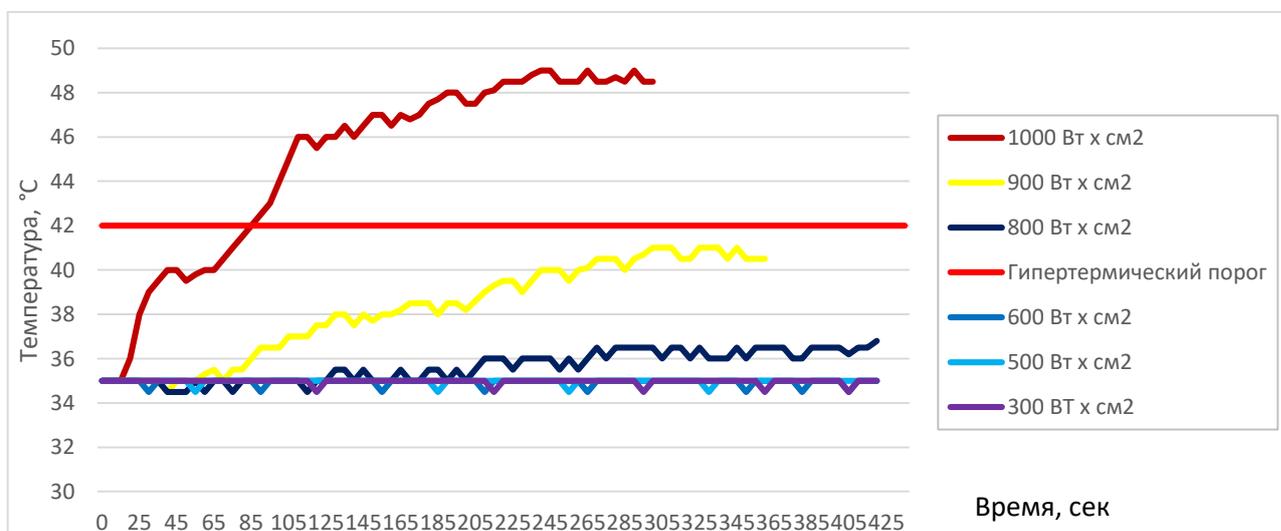


Рисунок 99 - График изменения температуры на слизистой ротовой полости при различной дозе лазерного излучения

Исходя из графика на рисунке №99, при облучении слизистой ротовой полости локальное повышение температуры выше 42°C , наблюдается при плотности мощности лазерного излучения $1000 \text{ Вт} \times \text{см}^2$, при $900 \text{ Вт} \times \text{см}^2$ локальная температура приближается к гипертермической.

По данным диаграммы на рисунке №100, при облучении кожи видно, что локальное повышение температуры выше 42°C , наблюдается при плотности мощности лазерного излучения $1500, 1000$ и $900 \text{ Вт} \times \text{см}^2$.

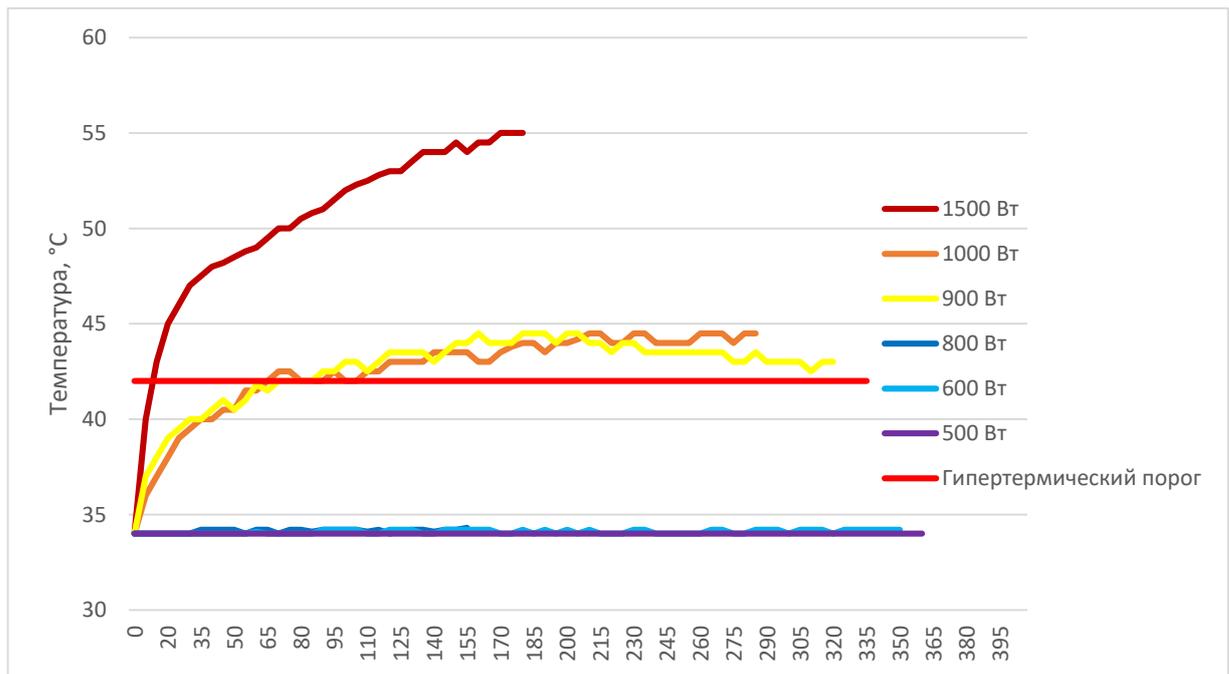


Рисунок 100 - График изменения температуры на коже при различном лазерном воздействии

Таким образом, использование дозы лазерного излучения до 800 Вт включительно и плотности мощности до $800 \text{ Вт} \times \text{см}^2$ позволяет избежать локальной гипертермии тканей. Данные режимы мы и применяли для фотодинамической терапии.

Исходя из того, что побочная реакция в виде аллергии на внутривенное введение Фотодитазина наблюдалась у $1,0\%$ животных, отсроченных побочных реакций на Фотодитазин в виде фототоксичности не выявлено, изменение гематологических и биохимических показателей крови находится в пределах нормальных значений для вида, а только лазерное излучение с длиной волны

660±2 нм не оказывает повреждающего воздействия на кожу и слизистую оболочку ротовой полости экспериментальных животных, мы можем сделать вывод, что препарат Фотодитазин и лазерное излучение (в дозе до 1000 Дж/см²) не оказывают выраженного негативного влияния на организм животных, таким образом компоненты метода фотодинамической терапии являются безопасными. А повреждающее действие возникает в результате фотодинамического эффекта при облучении лазерным излучением ткани, накопившей фотосенсибилизатор в достаточном количестве.

Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании разработана и изучена эффективность нового направления лечения в ветеринарной медицине – фотодинамическая терапия злокачественных опухолей у животных. Для терапевтического воздействия использовали фотосенсибилизатор Фотодитазин и источник лазерного излучения с длиной волны 660 ± 2 нм. Следует отметить, что данный метод лечения впервые был применен для лечения злокачественных опухолей у животных в России.

Несмотря на успехи в диагностике и лечении злокачественных опухолей, остается несколько важных задач в онкологии животных и человека, в том числе:

- разработка и внедрение новых эффективных методов лечения онкологических заболеваний;
- разработка методов, являющихся альтернативными лучевой терапии, что позволит избежать побочных эффектов, характерных для лучевой терапии;
- исследование эффективных методов, являющихся альтернативой оперативному лечению, которые возможно проводить больным группы риска (с выраженными хроническими патологиями, гериатричным больным, больным с противопоказанием к наркозу);
- разработка эффективных методов лечения опухолей сложной локализации в условиях дефицита тканей, когда невозможно провести полноценное хирургическое лечение (например, область головы, шеи, конечностей);
- исследование эффективных таргетных методов лечения опухолей, которые минимально травмируют здоровую ткань.

Все эти задачи возможно решить с внедрением в клиническую ветеринарную практику нового направления в науке – метода фотодинамической терапии.

ФДТ является методом, который позволяет эффективно лечить новообразования различного происхождения. Суть его заключается в цитотоксическом действии активных форм кислорода на опухолевые клетки, которые образуются в результате фотодинамического эффекта, при облучении

тканей, накопивших фотосенсибилизатор. Таким образом, данный метод можно отнести к локальным методам лечения новообразований.

В настоящей работе доказана эффективность ФДТ, как нового направления лечения злокачественных опухолей у животных.

Данное исследование проводилось на мелких домашних животных, со спонтанно возникшими в течение жизни злокачественными опухолями, всего 289 особей, из них: кошек – 166 особей; собак – 123 особей.

Мы рассмотрели применение фотодинамической терапии на следующих видах злокачественных опухолей: опухоли кожи - в данную группу включили базальноклеточную опухоль, плоскоклеточный рак и меланому; рак молочной железы; саркома мягких тканей, а именно – фибросаркома; опухоли ротовой полости - в данную группу включили плоскоклеточный рак, фибросаркому, меланому.

Фотодинамическая терапия рака молочной железы собак и кошек (сравнительная эффективность)

Сравнение стадий рака молочной железы у собак и кошек приведено в таблице X. Как видно из таблицы №148 у кошек преимущественно отмечена II и III стадия РМЖ, а у собак в основном I и II стадии рака молочной железы.

Таблица 148 – Сравнение стадии рака молочной железы у кошек и собак

Вид животного	I стадия	II стадия	III стадия
Кошки (36)	8,33% (n=3)	33,33% (n=12)	58,34% (n=21)
Собаки (25)	36% (n=9)	40 % (n=10)	24% (n=6)

Сравнительный анализ не выявил разницы в эффективности лечения между кошками и собаками, таблица №149.

Таблица 149 – Сравнение эффективности ФДТ рака молочной железы кошек и собак

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив	МБП при рецидиве, дней
Кошки	91,66%	58,3%	33,33%	19,4%	161
Собаки	84%	52%	32%	24%	154,5

Оценка 3 кусов ФДТ показала сходную эффективность у собак и кошек. ОЭ на лечении отмечен у 91,66% кошек и у 84% собак, за счет относительно схожей частоты полных регрессий - 58,3% и 52% соответственно, рисунок №101.

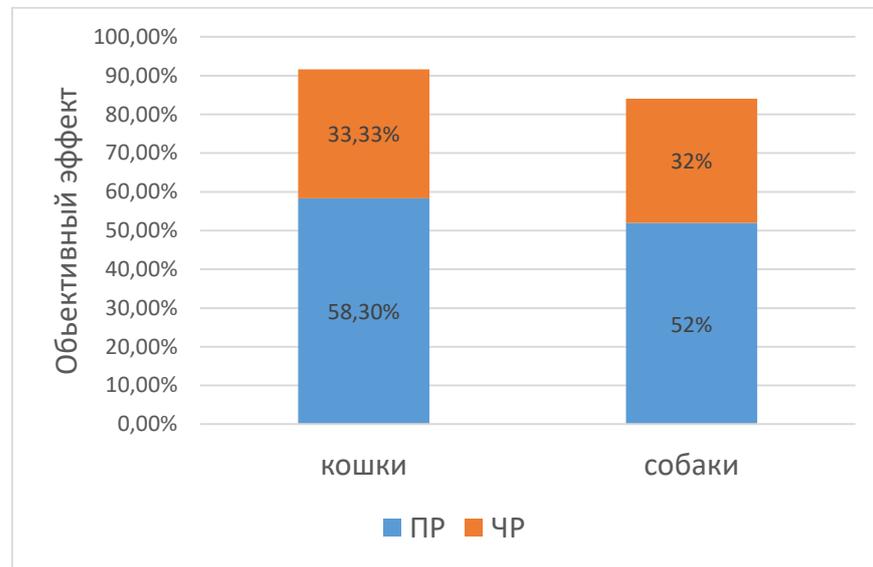


Рисунок № 101 – график зависимости эффективности лечения рака молочной собак и кошек.

Также схож процент животных, не имеющих ответ на лечение - у собак 32% и 33,33% у кошек. Отмечено схожее количество рецидивов на уровне 19,4% у кошек и 24% у собак при аналогичной продолжительности безрецидивного периода 161 и 154,5 дней соответственно и медиане продолжительности жизни 624 и 571 день соответственно. При этом годовая и двухлетняя выживаемость у кошек была относительно дольше, чем у собак, кошки в 58,33%, а собаки в 40% случаях переживали двух летний интервал, таблицы № 150.

Таблица 150 – Сравнение МБП и МПЖ при ФДТ рака молочной железы собак и кошек

Вид животного	МБП, дней	МПЖ, дней	6 мес	1 год	1,5 г	2 года
Собаки	516	571	100%	84%	56%	40%
Кошки	533,5	624	100%	100%	88,88%	58,33%

При изучении литературных источников мы не обнаружили данных о использовании ФДТ для лечения рака молочной железы у мелких домашних животных. Считаем свои данные полученными впервые.

Таким образом, результатами наших исследований показано, что рак молочной железы (без признаков регионарного и отдаленного метастазирования) хорошо поддается лечению методом ФДТ, на основании того, что объективный ответ составил: у собак 84% (за счет ПР 52% и ЧР 32%), у кошек 91,66% (за счет ПР 58,3% и ЧР 33,33%). МПЖ у собак составила 571 день, у кошек – 624 дня. МБП у собак составила 516 дней, у кошек – 533,5 дня. В группе животных с РМЖ 84% собак и 100% кошек переживали годичный интервал.

Однако этот эффект коррелирует со стадией болезни, так при I и II стадиях РМЖ мы имеем объективный эффект равный 100% у собак и кошек, при III стадии ОЭ у собак составлял 33,33% (за счет только 33,33% ЧР), у кошек составлял 85,71% (за счет 28,57% ПР и 57,14% ЧР). Таким образом, при III стадии РМЖ ФДТ практически в три раза эффективнее у кошек, чем у собак. При III стадии РМЖ, в том числе, отмечается хорошая продолжительность жизни животных: МПЖ у собак - 571 день, у кошек – 624 дня; МБП – у собак 516 дней, у кошек – 533,5 дней. Рецидив у кошек происходил при III стадии РМЖ в 33,33% случаях, у собак рецидивирование было в 30% случаях при II стадии (наблюдалось ЧР в 30%) и в 50% при III стадии РМЖ (наблюдалось ЧР в 16,66% и СТ в 33,33%). Что говорит о необходимости проведения большего количества курсов ФДТ у данных групп пациентов, в виду большего размера опухолей.

По данным Скрипник В.И. эффективность хирургического лечения рака молочной железы у собак составляет 72,7% (Скрипник В.И., 2017). Медиана

продолжительности жизни при хирургическом лечении у кошек при I-II стадии РМЖ составляет до 24 месяцев (до 720 дней), а при III стадии РМЖ – до 4 месяцев (до 120 дней) (Фомичева Д.В., 2010).

На основании приведенных выше данных можно говорить о том, что показаниями для фотодинамической терапии является рак молочной железы I и II стадии у кошек и собак. Однако этот метод лечения можно рассматривать в качестве альтернативы хирургического метода, но не комплексного лечения.

Фотодинамическая терапия опухолей кожи собак и кошек (сравнительная эффективность)

Исходя из результатов наших исследований, видно, что опухоли кожи хорошо поддаются лечению методом ФДТ, так объективный эффект достигнут у 94,64% животных в данной группе. Среди которых отмечали полную регрессию в 76,78%, частичную регрессию в 17,86% и стабилизация процесса в 5,36% случаев. МБП составила 219 дней, МПЖ - 927,5 дня.

В клинической ветеринарии для лечения опухолей кожи у мелких домашних животных проведены исследования: в 1981 году Dougherty T.J. апробировал применение метода ФДТ при лечении остеосаркомы, плоскоклеточного рака, меланомы, мастоцитомы, фибросаркомы, саркомы сальных желез и карциномы предстательной железы у собак и кошек, при воздействии лазера с длиной волны 635 нм, в качестве фотосенсибилизатора применяли производное Гематопорфирина (Dougherty T.J., Thoma R.E., Boyle D.G., Weishaupt K.R., 1981).

В 2004 году Reeds K.B., Ridgway T.D., Higbee R.G., Lucroy M.D. апробировали метод фотодинамическая терапия для лечения плоскоклеточного рака кожи у четырех собак и трех кошек, в качестве фотосенсибилизатора использовали Феофорбида А гексильный эфир (HPPH). Из 9 пролеченных животных у 8 наблюдали полную регрессию опухолей (Reeds K.B., Ridgway T.D., Higbee R.G., Lucroy M.D., 2004).

По данным Reeds K.B. и соавт. полный ответ при опухолях кожи пролеченных ФДТ у собак (n=4) и кошек (n=4) был достигнут в 88,8% случаях (Reeds K.B., Ridgway T.D., Higbee R.G., Lucroy M.D., 2004). В 2004 году Tanabe S. в своей работе упомянул о ФДТ одной кошки с БКО кожи, после лечения у которой наблюдали полную регрессию (Tanabe S. et al., 2004). Magne et al., используя в качестве ФС пиррофеофорбид-альфа-гексировый эфир (HPPH-23), получил объективный эффект при плоскоклеточном раке кожи у кошек = 61%, состоящий из ПР в 49% и ЧР в 12% случаях (Magne et al., 1997), в то время как Bexfield N.H. et al., при ФДТ ПКР кожи у кошек, достигли ОЭ=96%, ПР в 85% и ЧР в 11% случаях, с медианой безрецидивного периода 157 дней (Bexfield N.H., Stell A.J., Gear R.N., Dobson J.M., 2008). Таким образом, эффективность лечения методом ФДТ опухолей кожи, полученная нами, сопоставима с данными других авторов.

При анализе эффективности от полученного результата показано, что ФДТ проявила высокую эффективность при БКО кожи лимитированную размером опухоли, так у собак, где 50% опухолей классифицированы как Т3 полная регрессия опухоли отмечена в 75%, а у кошек, при опухолях, классифицируемых в 42% как Т2 и 58% как Т1 полная регрессия отмечена в 100% случаях. Выявленный 25% рецидив обусловлен большими размерами опухоли и отмечен только у собак с Т3 стадией. При этом, возникновение рецидива не сказывается на МПЖ и выживаемости пациентов, 2 летняя выживаемость у собак и кошек составляет 75% и 78% соответственно.

Меньшую эффективность отмечают при ПКР кожи у собак, ПР у 64,28% и рецидив у 21% собак. Однако анализ продолжительности жизни показывает снижение МБП и МПЖ: продолжительности жизни в 3 раза меньше, чем у пациентов с БКО кожи, при 1,5 летней выживаемости у 42,86% и 2 летней у 35,71% собак.

Относительно низкая эффективность отмечена при 3 курсах ФДТ меланомы кожи собак. Так, у собак со II стадией меланомы кожи ОЭ=75%, за счет только ЧР, при этом рецидив отмечался в 100% случаях. В отличие от кошек, у которых при I стадии меланомы кожи ОЭ=100%, за счет только ПР. Более высокая эффективность

лечения меланомы кожи кошек относительно собак, по всей видимости, связана с размером опухоли, которая у кошек, в среднем была в 16 раз меньше, чем у собак ($0,4 \pm 0,075$ см² и $6,28 \pm 2,22$ см² соответственно). Медиана продолжительности жизни и безрецидивного периода у кошек больше, чем у собак в 4 и 7 раз соответственно, таблица № 151.

Таблица 151 – Сравнение эффективности лечения опухолей кожи

Морфологический тип опухоли/вид животного	Эффективность лечения				Время до рецидива (медиана, дни)
	ПР	ЧР	СТ	Рецидив	
БКО кожи собак	75%	18,75	3	25%	246,5
БКО кожи кошек	100 %	-	-	-	-
ПКР кожи собак	64,28	28,57%	7,14%	21,43%	110
Меланома кожи собак	-	75%	25%	100%	207,5
Меланома кожи кошек	100%	-	-	-	-

Как видно из таблицы №151 лучше всего поддается фотодинамической терапии БКО и меланома кошек (ОЭ=100%), что скорее всего связано с небольшими размерами новообразований, БКО собак также хорошо поддается лечению данным методом (ОЭ=93,75%). ПКР собак лечится несколько хуже, но тем не менее с хорошим эффектом (ОЭ=92,85%), рисунок № 102.

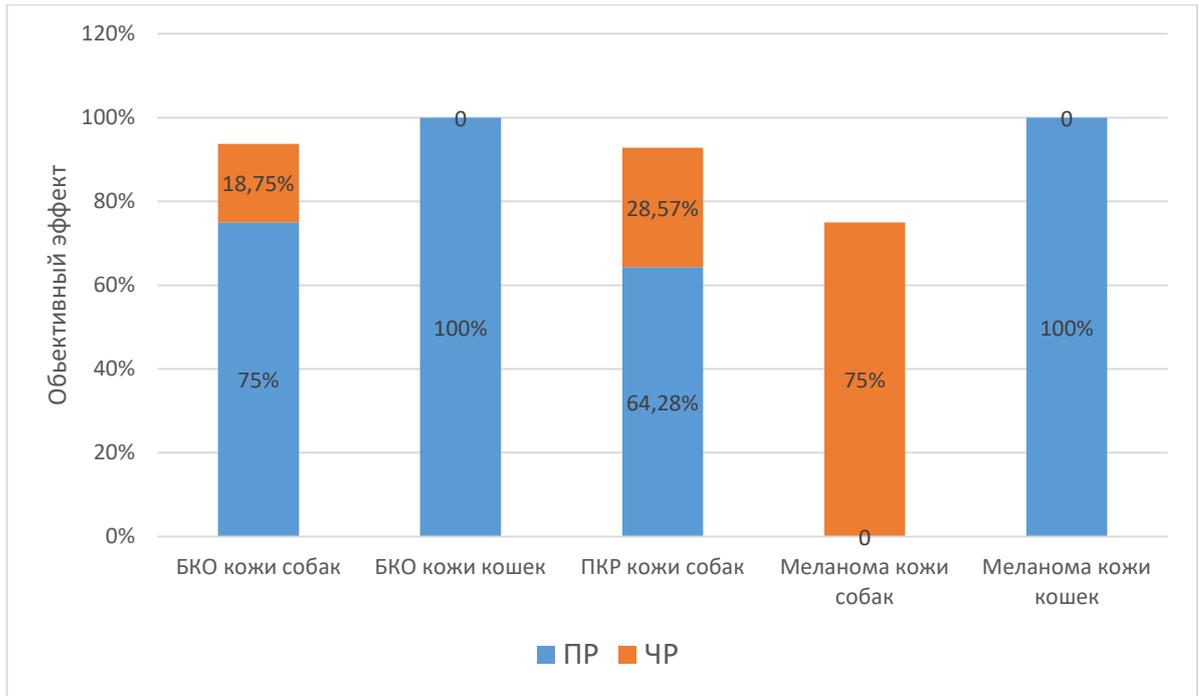


Рисунок № 102 – график зависимости эффективности лечения рака молочной собак и кошек.

Относительно хуже всего реагирует на лечение меланома кожи собак, рецидив при которой возникал в 100% случаев (ОЭ=75%, за счет только ЧР). Зависимость МПЖ и МБП от морфологического типа опухоли представлена в таблице №152.

Таблица 152 – Сравнение выживаемости в зависимости от морфологического типа опухоли кожи

Морфологический тип опухоли/вид животного	Эффективность лечения					
	МБП, дня	МПЖ, дни	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
БКО кожи собак	1034,5	1077	100%	87,5%	75%	75%
БКО кожи кошек	913	913	94,74%	94,74%	78,95%	78,94%
ПКР кожи собак	343,5	343,5	71,43%	50%	42,86%	35,71%
Меланома собак	207,5	356	57,14%	28,57%	14,28%	0
Меланома кошек	1471	1471	42,85%	42,85%	42,85%	42,85%

Данные таблицы №152 говорят о том, что наибольшее время жизни наблюдается при БКО у собак и кошек (МПЖ= 1077 и 913 дней соответственно), и у кошек с меланомой кожи (МПЖ=1471 день), при этом 75% собак и 78,94% кошек

при БКО проживают более двух лет, в то время, как кошки с меланомой кожи переживают двух летний порог в 42,85% случаях. Среднее время жизни у собак с меланомой и ПКР кожи практически одинаковое (356 и 343,5 дня соответственно), однако ни одна собака с меланомой кожи не переживает двух летний порог, в то время, как 35,71% собак с ПКР кожи живут более двух лет. Исходя из этого, при БКО кожи наблюдается наибольшая отдаленная выживаемость, в отличие от ПКР и меланомы кожи.

Таким образом, ФДТ показана и может быть рекомендована для лечения базальноклеточной опухоли кожи собак и кошек. Однако этот эффект коррелирует со стадией болезни и с морфологическим типом опухоли, так при БКО мы имеем практически всегда хороший эффект с хорошей продолжительностью жизни, в отличие от меланомы кожи у собак, при которой наблюдается ОЭ-75%, за счет только частичной регрессии, продолжительность жизни 356 дней, рецидив развивается 100%, в среднем через 207,5 дней. При этом следует учесть, что при базальноклеточной опухоли кожи размером более 5 см в диаметре, для лучшей эффективности необходимо применять более чем 3 курса ФДТ.

Так же можно рекомендовать ФДТ в качестве самостоятельного метода лечения плоскоклеточного рака кожи собак при I и II стадии. И при I стадии меланомы кожи у кошек.

Фотодинамическая терапия фибросаркомы собак и кошек (сравнительная эффективность)

Анализируя данные наших исследований, видно, что фибросаркома хорошо поддается фотодинамической терапии: объективный эффект в группе животных с саркомой мягких тканей составил 89,6% (при ПР у 77,92%, ЧР у 11,69% и стабилизации у 9,09%). МБП составила 213,5 дней, МПЖ - 676 дней. Dougherty TJ et all. в 1981 году апробировали ФДТ для лечения фибросаркомы у собак и кошек, (Dougherty T.J. et al., 1981). Roberts W.G. et all. в 1991 году докладывали о единичных случаях лечения сарком собак и кошек (Roberts W.G., Klein M.K., Loomis M., Weldy S., Berns M.W., 1991). Таким образом, мы не обнаружили

полноценных исследований на статистически достаточном количестве животных с расчетом объективного эффекта, МПЖ, МБП и пр.

Сравнительный анализ стадии процесса показал, что в отличии от собак, кошки чаще поступали на прием с местно-распространёнными и инвазивными опухолями, а у собак диагностированы чаще опухоли на I стадии болезни, и только в одном случае отмечена инвазия опухоли в подлежащие ткани, таблица № 153. У собак чаще регистрировали I, II и III стадии болезни (28,75%, 42,86% и 25% соответственно), в то время, как у кошек чаще отмечали II и IV стадии болезни (55,1% и 26,53% соответственно).

Таблица 153 – Сравнение стадии сарком у кошек и собак

Вид животного	T1	T2	T3	T4
Кошки (49)	4,085% (n=2)	55,1% (n=27)	14,28% (n=7)	26,53% (n=13)
Собаки (28)	28,57% (n=8)	42,86 % (n=12)	25% (n=7)	3,57% (n=1)

Эффективность 3 курсов ФДТ показала сходную эффективность у обоих видов животных. ОЭ на лечении отмечен у 87,75% кошек и у 92,86% собак, за счет схожей частоты полных регрессий - 75,5% и 82,14% соответственно. Также схож процент животных, не имеющих ответ на лечение - у собак 7,14% и 10,2% у кошек, при этом у 2,04 % отмечено прогрессирование болезни. Так, отмечено схожее количество рецидивов на уровне 34,7% у кошек и 28,7% у собак при аналогичной продолжительности безрецидивного периода 640 и 673,5 дней соответственно и медиане продолжительности жизни 698 и 611 дней соответственно, таблицы № 154, 155.

Таблица 154 – Сравнение эффективности ФДТ сарком мягких тканей кошек и собак

Вид животного	ОЭ	ПР	ЧР	Рецидив	МБП при рецидиве, дней
Кошки	87,75%	75,51%	12,24%	34,69 %	213
Собаки	92,86%	82,14%	10,71%	28,57 %	215,5

Среднее время жизни составило 611 дней у собак и 698 дней у кошек, при этом около половины пациентов пережило двух летний временной интервал (42,86% собак и 51,02% кошек).

Таблица 155 – Сравнение МБП и МПЖ при ФДТ сарком мягких тканей собак и кошек

Вид животного	МБП, дней	МПЖ, дней	6 мес	1 год	1,5 года	2 года
Собаки	573,5	611	100%	89,28%	75%	42,86%
Кошки	640	698	100%	83,67%	69,38%	51,02%

Анализ эффективности лечения показал, что основным прогностическим критерием ответа на лечение являлся размер первичного опухолевого очага - ≤ 5 см, при котором можно ожидать большую частоту полной регрессии опухоли после 3 курсов ФДТ у кошек 100% против, около, 40% при опухолях более 5 см. И у собак 91,6% против 57% при опухолях более 5 см. Кроме того, при стадии T1-2 мы наблюдали низкий процент рецидива у кошек - 3,7% против, около, 80% при опухолях более 5 см. И у собак – 25% против, около, 60% при опухолях более 5 см. И более длинный безрецидивный период в случае развития рецидива. Также выявлена прямая корреляция продолжительности безрецидивного периода от эффективности лечения. Полученные результаты не завесили от вида животного, таблица №156.

Таблица 156 – Сравнение эффективности ФДТ сарком мягких тканей кошек и собак

Критерий	Размера первичного опухолевого очага			
	T1	T2	T3	T4
	Кошки			
ПР	100%	100%	42,66%	38,46%
ЧР	-	-	57,4 %	15,38%
СТ	-	-	-	38,46%
Рецидив	0	3,70%	85,71%	76,93%
МБП	929	631,5	225,5	146,5
МПЖ	929	930	640	255
	Собаки			
ПР	100%	91,66%	57,14%	-
ЧР	-	8,33%	14,28%	100%
СТ	-	-	28,57%	-
Рецидив	0	25%	57,14%	100%
МБП	573,5	226	339,5	205
МПЖ	573,5	676,5	639	737

Следует отметить, что у собак с фибросаркомой инвазирующей подлежащие ткани (T4) объективный ответ реализуется только за счет частичной регрессии у пациентов в 100% случаях, рисунок №103. Рецидив при этом развивался в 100% случаях.

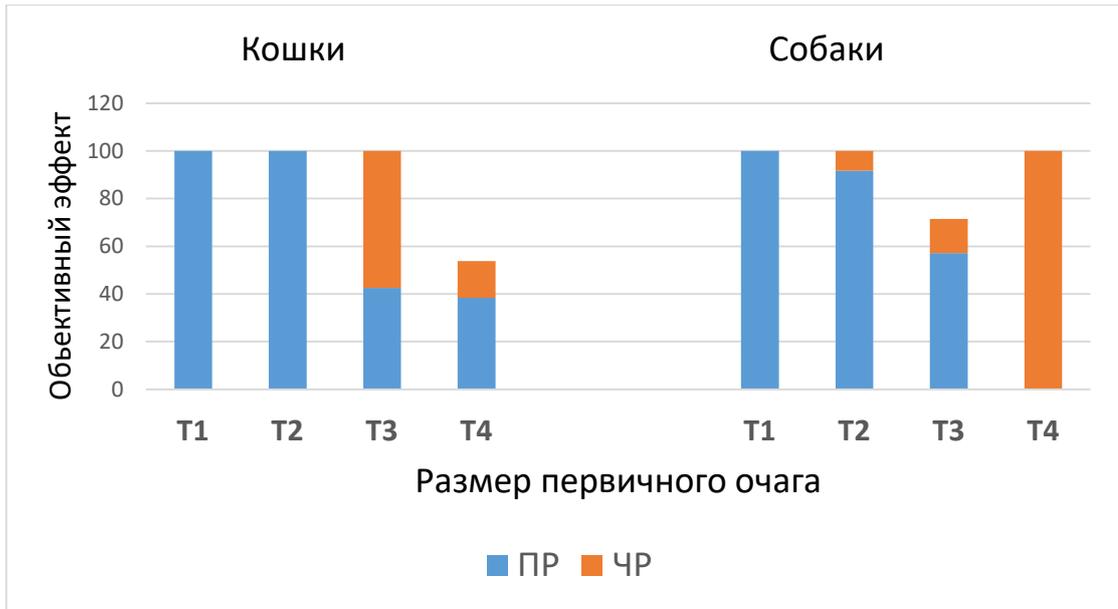


Рисунок 103 – график зависимости эффекта лечения фибросаркомы в зависимости от размера первичного опухолевого очага.

Полученные результаты говорят о том, что медиана безрецидивного периода напрямую коррелирует с эффектом лечения после проведения фотодинамической терапии. Так, у собак при полной регрессии опухоли медиана безрецидивного периода составляет 687 дней, а при стабилизации всего 196 дней, а у кошек при полной регрессии опухоли медиана без рецидивного периода составляет 573 дня, а при стабилизации всего 144 дня, рисунок №104.

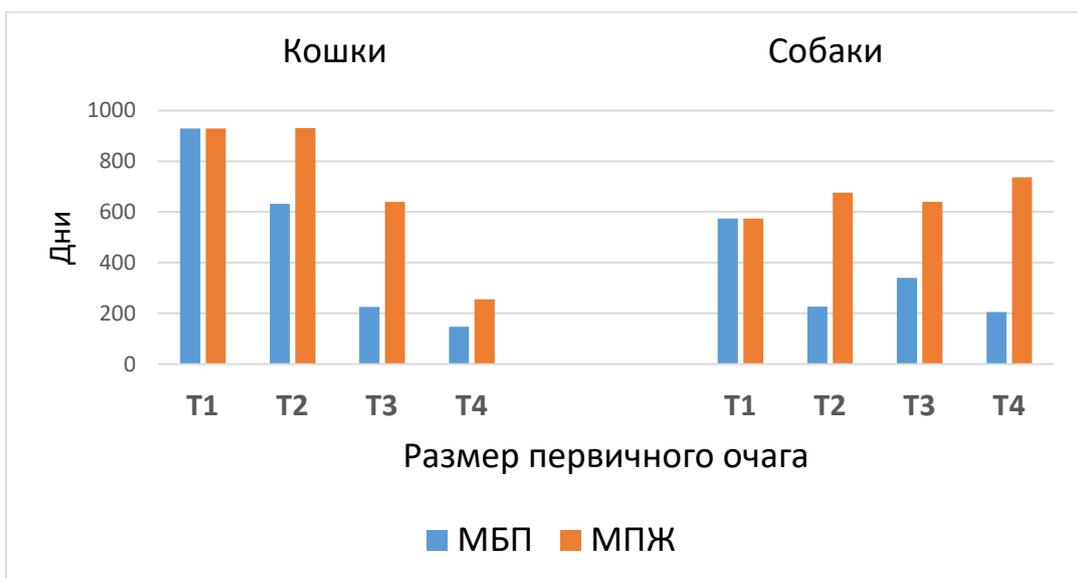


Рисунок 104 – график зависимости МБП и МПЖ собак и кошек при фибросаркоме в зависимости от размера первичного опухолевого очага

При этом анализ продолжительности жизни показывает, что выживаемость пациентов, получивших фотодинамическую терапию, не зависит от полученного результата лечения и не зависит от медианы продолжительности без рецидивной выживаемости, таблица №157.

Таблица 157 – Сравнение эффективности ФДТ сарком мягких тканей собак и кошек в зависимости от размера первичного очага

Размер первичной опухоли	МБП, дни		МПЖ, дни	
	Собаки	Кошки	Собаки	Кошки
T1	573,5	929	573,5	929
T2	226	631,5	676,5	930
T3	339,5	225,5	639	640
T4	205	146,5	737	255

Таким образом, на основании полученных результатов можно говорить о том, что фотодинамическая терапия эффективна при лечении сарком мягких тканей у собак и у кошек. Но лимитирована по объёму первичной опухоли, которая составляет не более 5 см и может быть показана для лечения этой патологии в качестве альтернативного метода лечения хирургической, либо лучевой терапии. Важным прогностическим критерием является достижение полной регрессии опухоли, при которой наблюдается минимальное количество рецидивов при длительном безрецидивном периоде.

Фотодинамическая терапия опухолей ротовой полости собак и кошек (сравнительная эффективность)

По данным наших исследований видно, что опухоли ротовой полости относительно хорошо поддаются лечению методом ФДТ, так объективный эффект в данной группе достигнут у 93,68% животных. Среди которых, отмечали полную регрессию (ПР) в 48,42%, частичную регрессию (ЧР) в 45,26% и стабилизацию

процесса в 6,32% случаев. МБП составила 447 дней, МПЖ - 506 дней. При этом 75,79% животных прожили более года, а 24,21% более двух лет.

При анализе литературных данных мы обнаружили информацию о ФДТ фибросаркомы и ПКР ротовой полости у мелких домашних животных:

Кулешова О.А. проводила изучение эффективности метода ФДТ с фотодитазином в качестве ФС при доброкачественных новообразованиях слизистой ротовой полости собак и кошек (эозинофильная гранулема, плоскоклеточная папиллома, эпюлисы, воспаление, организуемая и грануляционная ткань), при этом объективный эффект составил 69%, который состоял из полной регрессии в 38% и частичной регрессии в 31% случаях, отмечены и побочные эффекты, в виде гиперемии кожи у одной кошки породы сфинкс (Ягников С. А., Кулешова О. А. 2007, 2008).

В 2009 году Osaki T., Takagi S., Hoshino Y., Okumura M., Kadosawa T., Fujinaga T. применяли фотодинамическую терапию для лечения опухолей ротовой и носовой полости у 14 собак. При этом 71% собак с опухолями полости рта прожили более года, 57% собак с опухолями носовой полости прожили более года. (Osaki T., Takagi S., Hoshino Y., Okumura M., Kadosawa T., Fujinaga T., 2009). При проведении ФДТ с ФС хлоринового ряда (глюкозо-конъюгированный хлорин еб) трем собакам с меланомой ротовой полости получен ОЭ=33,33%, при ПР – 33,33%, стабилизации 33,33% и прогрессировании в 33,33% случаях (Osaki T. et al., 2023).

При хирургическом удалении медиана продолжительности жизни у собак составила: с ПКР ротовой полости от 3,5 до 19,2 месяцев (105-576 дней), однолетняя выживаемость от 57% до 84%; с фибросаркомой 9,5 до 12,2 (285-366 дней) однолетняя выживаемость от 50% (Schwarz P. D. et all, 1991a, 1998b, Wallace J. et all 1992, White R. A., 1991, Straw R. C. et all, 1996). Средняя продолжительность жизни при лучевой терапии злокачественной меланомы ротовой полости составляет 7 месяцев (210 дней) (Blackwood L. и Dobson J. M., 1996).

По данным Kosovsky J.K. и Wallace J. при хирургическом лечении фибросаркомы средняя медиана жизни у животных с резекцией нижней челюсти (мандибулэктомией) составила 11 месяцев (330 дней), период в 1 год переживают

50% больных, а у животных с резекцией верхней челюсти (максилэктомия) однолетняя выживаемость достигает 40% случаев (Kosovsky J.K. et al., 1991; Wallace J. et al., 1992).

Фибросаркомы относятся к опухолям с низкой чувствительностью к лучевой терапии. Поэтому ДЛТ в ветеринарии возможно применять в адьювантном режиме. По данным Thrall D.E. средняя продолжительность жизни у собак с применением лучевой терапии составила 7 месяцев (210 дней) (Thrall D.E., 1981).

При резекции нижней челюсти для лечения плоскоклеточного рака медиана выживаемости составила 19-26 месяцев, однолетняя выживаемость составила 91% пациентов. При резекции верхней челюсти медиана выживаемости составила 10-19 месяцев (300-570 дней), однолетняя выживаемость составила 29-57% (Grier C.K., Mayer M.N., 2007).

При применении ДЛТ для лечения ПКР ротовой полости продолжительность жизни собак составляет 12-14 месяцев (360-420 дней) (Grier C.K., Mayer M.N., 2007).

По данным Bergman P.J., при комплексном лечении меланомы I стадии, с использованием оперативного лечения, ДЛТ и химиотерапией, медиана выживания собак составляет 12-14 месяцев (360-420 дней), при этом смертность обусловлена метастатической болезнью (Bergman P.J., 2007).

При анализе эффективности от полученного результата показано, что при опухолях в области ротовой полости ФДТ наиболее эффективна при плоскоклеточной карциноме (ПКК) ротовой полости. Эффективность зависит от локализации опухоли и вида животного. Так, при ПКК в области слизистой максимальный эффект у собак до 82% случаев при ПР и более низкий эффект у кошек при частоте ПР до 45,16%, при этом отмечена схожая частота рецидива у кошек и собак до 18,18% и 16,13 % соответственно. При локализации ПКК в области языка отмечен схожий объективный эффект у кошек и собак 66,66% и 70% соответственно, однако у кошек зарегистрировано значительно большее количество рецидива 41,66 % против 20% у собак.

При анализе эффективности ФДТ при фибросаркоме ротовой полости не выявлено видовой специфичности, частота ПР составила 40% у собак и 37,55% у кошек, однако у собак отмечено 2 кратное увеличение процента рецидива до 50% против 20% у кошек.

Наименьшую эффективность ФДТ наблюдали при меланоме, где не отмечено полной регрессии опухоли, а частичная составила только 50%, при 60% рецидиве, таблица №158.

Таблица 158 – Сравнение эффективности лечения опухолей ротовой полости

Морфологический тип опухоли/вид животного	Эффективность лечения				Время до рецидива (медиана, дни)
	ПР	ЧР	СТ	Рецидив	
ПКР языка собак	70 %	30%	0	20%	195
ПКР языка кошек	66,66%	33,34%	0	41,66 %	199
ПКР ротовой полости кошек	45,16%	54,84%	0	16,13 %	206
ПКР ротовой полости собак	81,82 %	18,18%	0	18,18%	163
Меланома собак	0	50%	40	60 %	202,5
Фибросаркома ротовой полости собак	40 %	60%	0	20%	226
Фибросаркома ротовой полости кошек	37,55%	56,25%	6,25%	50%	316,5

Как видно из таблицы №158 из опухолей ротовой полости лучше всего поддается фотодинамической терапии, с ОЭ=100%, у собак - ПКР языка и слизистой ротовой полости, фибросаркома, у кошек – ПКР слизистой ротовой полости (рисунок №105), рецидив при этом развивался в 20%, 18,18%, 20% и 16,13% случаях соответственно. Хуже всего поддается лечению ФДТ меланома ротовой полости собак (ОЭ=50%, за счет только ЧР), при рецидиве в 60% случаях. Время до рецидива почти одинаково при всех опухолях, за исключением фибросаркомы ротовой полости у кошек и собак, при которой этот период практически в 1,5 раза дольше, чем при остальных новообразованиях.

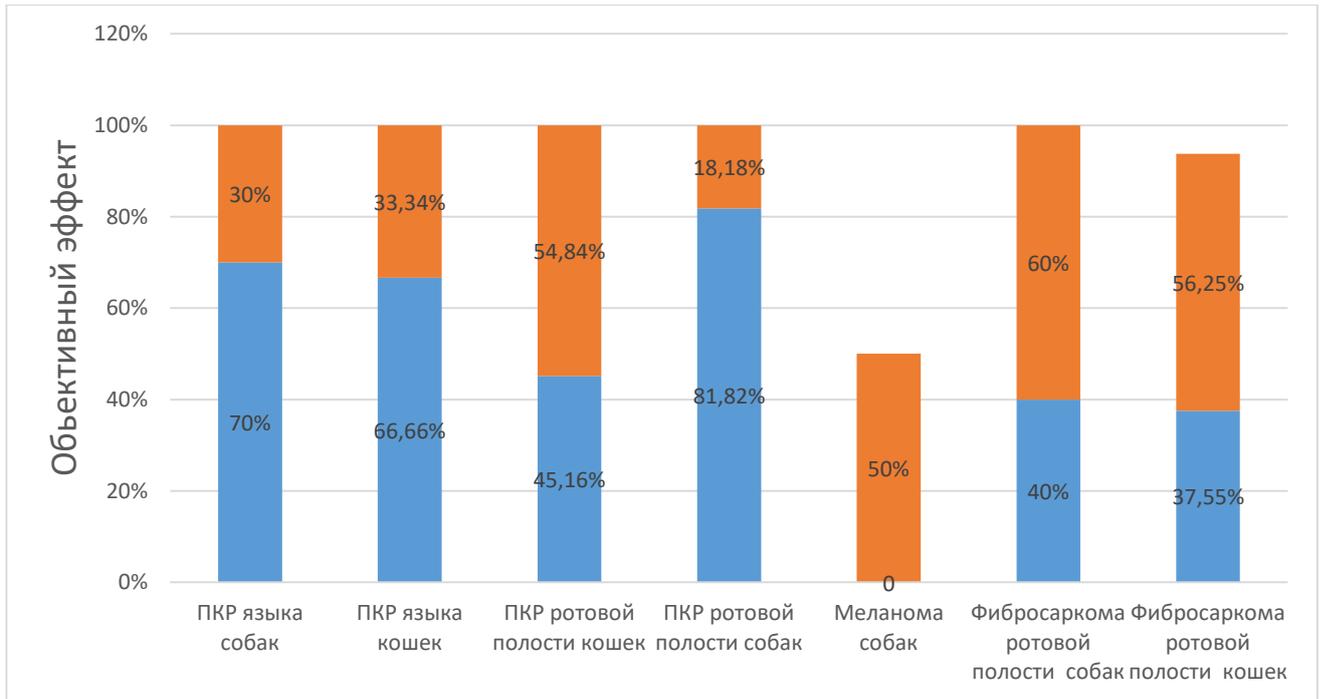


Рисунок 105 – эффективность лечения опухолей ротовой полости собак и кошек

Анализируя отдаленные результаты лечения, мы не выявили существенных отличий в МБП и МПЖ в группе животных с опухолями ротовой полости. За исключением кошек с фибросаркомой ротовой полости, у которых МПЖ практически в 2 раза (719 дней) больше, чем у других животных в группе. А также почти в 2 раза чаще при фибросаркоме ротовой полости кошки и собаки переживают двух годичный порог - в 43,75% и 40% случаев соответственно, таблица №159.

Таблица 159 – Сравнение выживаемости в зависимости от морфологического типа опухолей ротовой полости

Морфологический тип опухоли/вид животного	Эффективность лечения					
	МБП, дня	МПЖ, дни	6 мес.	1 год	1,5 года	2 года
ПКР языка кошек	500	539	100%	75%	41,66%	25%
ПКР языка собак	486,5	486,5	100%	60%	30%	30%
ПКР ротовой полости кошек	476	506	96,77%	90,32%	48,38%	25,8%
ПКР ротовой полости собак	403	403	100%	72,72%	27,27%	18,18%

Меланома ротовой полости собак	460	486	100%	85,71%	42,85%	23,80%
Фибросаркома ротовой полости кошек	410	719	100%	81,26 %	62,5%	43,75%
Фибросаркома ротовой полости собак	403	403	100%	80 %	40 %	40%

Следует отметить, что лечение РМЖ, сарком мягких тканей, БКОК, ПКРК и меланомы кожи животных методом ФДТ сопровождалось незначительными побочными эффектам: повышением температуры тела на 0,1–0,4°C, умеренным воспалением в области воздействия, слабо выраженным лейкоцитозом, незначительным болевым синдромом. Выраженное влияние ФДТ на гематологические показатели отсутствовало, а также не было обнаружено какого-либо влияния на сопутствующую патологию, то есть ухудшение общего состояния, равно как и прогрессирование сопутствующей патологии на фоне лечения ФДТ. При соблюдении светового режима фототоксичность также отсутствовала.

Представленные данные характеризуют применение метода ФДТ для лечения РМЖ, сарком мягких тканей, БКОК и ПКРК как высокоэффективную противоопухолевую терапию со слабо выраженными побочными эффектами, которые связаны с некрозом опухоли и воспалением в области воздействия.

Сравнивая с данными других авторов, можно сказать, что полученные нами результаты ФДТ злокачественных опухолей ротовой полости сопоставимы с результатами оперативного лечения, но однолетняя выживаемость при ФДТ практически в 2 раза выше, так однолетняя выживаемость при хирургическом лечении фибросаркомы - 40-50%, плоскоклеточного рака - 29-57%, а при ФДТ 80% - 81,26% и 72,72% - 90,3% соответственно. Несмотря на относительно низкие показатели эффективности лечения меланомы ротовой полости методом ФДТ, мы получили медиану времени жизни в 2 раза большую, чем при лучевой терапии меланомы ротовой полости – 16,2 месяца против 7 месяцев.

При сравнении МБП при I, II и III стадии РМЖ собак и кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I, II и III стадии РМЖ собак и кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются.

При сравнении МБП при I, II и III стадии СМТ собак и I, II, III, IV стадии СМТ кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I, II и III стадии СМТ собак и I, II, III стадии СМТ кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются. А при сравнении I и IV стадии СМТ у кошек тест Фишера = $0,012$ ($p < 0,05$). Таким образом, тест Фишера показывает, что существует статистически значимые различия между МПЖ при I и IV стадии СМТ у кошек, что говорит о существенных отличиях этих двух групп по продолжительности жизни.

При сравнении МБП при I, II, III стадии БКОК у собак и I, II стадии БКОК кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I, II, III стадии БКОК у собак и I, II стадии БКОК кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются.

При сравнении МБП при I, II стадии ПКРК у собак тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода

существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I, II, III стадии ПКРК у собак тест Фишера был $\geq 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются.

При сравнении МБП при I и II стадии меланомы ротовой полости у собак тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I и II стадии меланомы ротовой полости у собак тест Фишера был $\geq 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются.

При сравнении МБП при I, II, III стадии ПКР слизистой ротовой полости у собак и I, II стадии ПКР слизистой ротовой полости кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I, II, III стадии ПКР слизистой ротовой полости у собак тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются. А тест Фишера при сравнении МПЖ при I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости у кошек = 0,047 ($p < 0,05$). Таким образом, тест Фишера показывает, что существует статистически значимые различия между МПЖ при I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости у кошек, что говорит о существенных отличиях этих двух групп по продолжительности жизни.

При сравнении МБП при I, II стадии ПКР языка у собак и кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически значимых различий в МБП у этих животных, таким образом эти пациенты по времени безрецидивного периода существенно не отличаются. При сравнении МПЖ при I, II стадии ПКР языка у собак и кошек тест Фишера был $> 0,05$, что говорит об отсутствии статистически

значимых различий в МПЖ у этих животных, таким образом эти пациенты по времени продолжительности жизни существенно не отличаются.

Наибольшая эффективность проведенной нами ФДТ наблюдается при базально клеточной опухоли кожи, объективный эффект в данной группе составил 97%, за счет ПР у 88,5% и ЧР у 8,6%. Существенных видовых особенностей в эффективности лечения замечено не было (ОЭ у собак - 93,75%, у кошек 100%). Так же выраженный объективный эффект наблюдается в группе ПКРК, составил 92,86%, за счет ПР у 64,28% и ЧР у 28,57% собак. В том числе высокий объективный эффект в группе животных, прошедших ФДТ при меланоме кожи, который составил 92,7%, за счет ПР у 42,8% и ЧР у 42,8%. При этом у кошек эффективность лечения меланомы кожи несколько выше, чем у собак (ОЭ = 100% и 75% соответственно).

Несколько меньший объективный эффект наблюдается в группе животных с саркомой мягких тканей - 89,6% при ПР у 77,92%, ЧР у 11,69% и стабилизации у 9,09% животных. Существенных видовых особенностей в эффективности лечения замечено не было (ОЭ у собак - 92,86%, у кошек 87,75%).

Наблюдается выраженный объективный эффект при ФДТ ПКР языка и слизистой ротовой полости по 100%, однако относительно низкий процент полных регрессий - ПР у 68%, ЧР 31,8% и ПР у 54,76%, ЧР 45,24% соответственно. Существенных видовых особенностей в эффективности лечения замечено не было (ОЭ у собак и кошек ПКР языка и слизистой ротовой полости по 100%).

При фибросаркоме ротовой полости зарегистрирован хороший объективный эффект - 95%, но относительно низкий процент полных регрессий - ПР у 38%, ЧР у 57% пациентов. Существенных видовых особенностей в эффективности лечения замечено не было (ОЭ у собак - 100%, у кошек 93,75%).

Хороший объективный эффект при ФДТ в группе РМЖ - 88,52% при ПР у 55,7%, ЧР более чем на 50% - у 32,7% и стабилизации у 11,4% животных. Существенных видовых особенностей в эффективности лечения замечено не было (ОЭ у собак - 84%, у кошек 91,66%).

Относительно низкий объективный эффект наблюдается в группе животных с меланомой слизистой ротовой полости - 50% за счет только ЧР у 50%. Таким образом, при меланоме ротовой полости наблюдается наименьшая эффективность при лечении методом ФДТ относительно лечения в других группах.

На основании полученных результатов, мы увидели, что данный метод показан для лечения поверхностно локализованных опухолей. Таким образом, метод фотодинамической терапии может быть рекомендован в качестве локального способа лечения опухолей кожи (за исключением меланомы кожи собак, при которой объективный эффект равен 75% за счет только ЧР, МПЖ составила 356 дней, а МБП – 207,5 дней), I, II и III стадии рака молочной железы у собак и кошек, саркомы мягких тканей и опухолей ротовой полости. За исключением меланомы ротовой полости собак, при которой объективный эффект ФДТ составляет 50%, только за счет ЧР, МПЖ равна 315 дней, а МБП – 256 дней. Что по всей видимости связано как с биологией опухолевого роста, с агрессивностью опухоли, так и с наличием гранул меланина в цитоплазме клеток меланомы, которые могут задерживать и экранировать лазерное излучение, вследствие чего не происходит должной активации фотосенсибилизатора.

Показаниями для фотодинамической терапии при опухолях ротовой полости являются I и II стадии ПКР слизистой ротовой полости, языка и фибросаркома ротовой полости. Но лимитировано по объёму первичной опухоли, которая составляет не более 4 см. ФДТ может быть показана для лечения этих патологий в качестве альтернативы хирургическому лечению и лучевой терапии.

Особенно следует отметить эффективность использования ФДТ для лечения опухолей сложной локализации, таких как, например, саркома и ПКР ротовой полости. Относительно высокая эффективность ФДТ при данных патологиях позволяет рекомендовать данный метод, как альтернативу другим методам лечения, таким как хирургия, лучевая и химиотерапия.

На наш взгляд, перспективными направлениями развития фотодинамической терапии в ветеринарии будут следующие:

- разработка и внедрение в клиническую ветеринарную практику методов фотодинамической терапии опухолей грудной и брюшной полости, в том числе, в интраоперационном режиме;
- применение ФДТ при эндоскопических исследованиях с целью малоинвазивного лечения новообразований пищевода, желудка, кишечника, носовой полости, слухового прохода и мочевого пузыря;
- разработка и апробация использования новых фотосенсибилизаторов с большим квантовым выходом синглетного кислорода, а также фотосенсибилизаторов, которые можно активировать с использованием длин волн в ближнем инфракрасном диапазоне, что повысит глубину лечебного воздействия. Одним из таких перспективных фотосенсибилизаторов в ветеринарии и медицине является Бактериохлорин, для его активации применяют лазеры с длиной волны 760–780 нм;
- расширение области применения ФДТ, в частности, для лечения воспалительных процессов, в гнойной хирургии, стоматологии, дерматологии, офтальмологии.

Таким образом, фотодинамическая терапия является эффективным и безопасным методом локального лечения злокачественных опухолей различных локализаций у мелких домашних животных, в том числе опухолей сложной локализации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов исследования сделаны следующие выводы:

1. Разработаны новые эффективные режимы применения фотодинамической терапии злокачественных опухолей у мелких домашних животных различного генеза, а также опухолей сложной локализации. Данная методика успешно внедрена в клиническую ветеринарную практику и используется для лечения новообразований у животных в ветеринарных клиниках России.

2. Разработана новая высокоэффективная методика фотодинамической терапии фибросарком у мелких домашних животных. В группе животных с саркомой мягких тканей объективный эффект составил 89,6% при ПР у 77,92%, ЧР у 11,69% животных. При этом: МПЖ = 676 дней, МБП = 573 дня.

3. Метод фотодинамической терапии показал высокую эффективность при лечении рака молочной железы у мелких домашних животных. Объективный эффект лечения в группе составил 88,52% при ПР у 55,7%, ЧР у 32,7% животных. При этом: МПЖ = 611 дней, МБП = 527 дней.

4. Разработаны эффективные методики фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи (меланомы, базальноклеточного и плоскоклеточного рака) у мелких домашних животных. Объективный эффект в данной группе достигнут у 94,64% животных, при ПР у 76,78% и ЧР у 17,86%. При этом: МПЖ = 927,5 дней, МБП = 219 дней.

5. Разработаны высокоэффективные методики органосохраняющего способа лечения опухолей ротовой полости (саркомы, меланомы и плоскоклеточного рака) у мелких домашних животных при помощи фотодинамической терапии. Объективный эффект, в данной группе, равен 93,68%, за счет ПР=48,42% и ЧР=45,26%. При этом: МПЖ = 506 дней, МБП = 447 дней.

6. При применении фотодинамической терапии отмечены побочные эффекты, в виде аллергической реакции, на введение фотосенсибилизатора Фотодитазин с частотой 1,0%. Показано, что лазерное излучение в дозах до 900 Дж не оказывает негативного влияния на кожу и слизистые животных, таким образом подтверждено, что фотодинамический эффект у животных происходит только при облучении лазером тканей организма, которому предварительно введен фотосенсибилизатор. Приведенные сведения доказывают безопасность применения ФДТ у мелких домашних животных.

7. Теоретические положения: развитие отрицательной селекции происходит в результате действия иммунной системы на определенный пул онкологических клеток, в то время как другой пул (с иначе измененными рецепторами клетки) не подвергается действию, продолжает развиваться, дает рост опухоли и в результате отрицательной селекции формируется определенный гистотип.

8. Теоретические положения: терапевтический эффект ФДТ обусловлен изменением структуры рецептора и снятием защиты опухолевой клетки от действия иммунного надзора. Таким образом, выраженный терапевтический эффект складывается из восстановления полноценного воздействия иммунной системы и прямого цитотоксического действия активных форм кислорода.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Методика фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики новообразований у мелких домашних животных (Утв. Руководителем секции зоотехнии и ветеринарии Отделения сельскохозяйственных наук РАН Калашниковым В.В. 20.04.2021 г.).

2. Методика фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики рака молочной железы у мелких домашних животных (Утв. Директором Института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых Производств» Уша Б. В. 12.11.2021 г.).

3. Фотодинамическая терапия злокачественного новообразования животного. Давыдов Е.В. // Патент на изобретение RU 2604412 С2, 10.12.2016. Заявка № 2015116337/15А от 29.04.2015.

4. Флюоресцентная диагностика злокачественного новообразования животного. Давыдов Е. В., Коробов С. С. // Патент на изобретение RU 2604388, 10.12.2016. Заявка № 2015116336/14А от 29.04.2015.

5. При фотодинамической терапии опухолей у мелких домашних животных рекомендуются следующие дозы облучения: саркома мягких тканей – 300-600 Дж/см²; рак молочной железы – 300-450 Дж/см²; базальноклеточный рак кожи – 300-400 Дж/см²; плоскоклеточный рак кожи – 300-400 Дж/см²; меланома кожи – 400-450 Дж/см²; саркома ротовой полости – 400-450 Дж/см²; плоскоклеточный рак ротовой полости – 350-450 Дж/см²; меланома ротовой полости – 400-450 Дж/см².

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

БКР – базальноклеточный рак

БКРК – базальноклеточный рак кожи

ОМЖ – опухоль молочной железы

ОЭ – объективный эффект

ПКР – плоскоклеточный рак

ПКРК – плоскоклеточный рак кожи

ПР – полная регрессия

ПРОГ - прогрессирование

РМЖ – рак молочной железы

СМТ – саркома мягких тканей

Ср. - среднее

СТ – стабилизация

ФД – флуоресцентная диагностика

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФС – фотосенсибилизатор

ЧР – частичная регрессия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров, Н.Н. Применение гипертермии и гипергликемии при лечении злокачественных опухолей / Н.Н. Александров, Н.Е. Савченко. С.З. Фрадкин, Э.А. Жаврид // М.: Медицина. - 1980. - 256 с.
2. Белый, Ю.А. Фотодинамическая терапия с производным хлорина Е6 в лечении метастаза рака молочной железы в сосудистую оболочку глаза (клинический случай) / Ю.А. Белый, А.В. Терещенко, П.Л. Володин, М.А. Каплан // Офтальмология. – 2008. – Т.5. – № 1. – С. 64-68.
3. Бойко, В.В. Экспериментальная и клиническая апробация метода фотодинамической терапии опухолей / В.В. Бойко // Экспериментальная онкология. – 2000. – Т. 22. – С. 351-352.
4. Борисов, В.А. Биоуправляемая фотодинамическая терапия и реабилитация онкологических пациентов / В.А. Борисов, С.Л. Загускин // Онкохирургия – 2009. – Т. 1. – № 2. – С. 87.
5. Борисов, В.А. Избирательная Хронофототерапия как перспективный метод для ускоренного восстановления иммунологических нарушений у тяжелых онкологических больных и улучшения их клинического состояния / В.А. Борисов, О.А. Гусева // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12. – № 2. – С. 12-12а.
6. Борисов, В.А. Изменение показателей иммунного статуса у пациентов с онкологическими заболеваниями после проведения избирательной хронофототерапии / В.А. Борисов, О.А. Гусева, С.С. Григорян // Национальная конференция «Аллергология и клиническая иммунология – междисциплинарные проблемы». – Москва. – 2008.
7. Борисов, В.А. Особенности реабилитации онкологических больных сочетанием фотодинамической терапии и биохронотерапии / В.А. Борисов // Доклад на Втором Междисциплинарном конгрессе по проблеме рака молочной железы. – Берлин. – 2006.

8. Борисов, В.А. Применение избирательной хронофототерапии с хлорином Еб у больных с злокачественными новообразованиями в области головы и шеи: особенности клеточного иммунитета / В.А. Борисов, О.А. Гусева, С.С. Григорян // Журнал Онкохирургия. – 2009. – Том 1. – № 2.
9. Борисов, В.А. Реабилитация онкологических больных методом избирательной хронофототерапии / В.А. Борисов // Международный конгресс в Берлине. – 2007.
10. Брюшковский, К.Ю. Наш опыт лечения сарком мягких тканей / К. Ю. Брюшковский, А.Г. Клявин // VetPharma – 2012. – № 6 (11). – С. 47 – 51.
11. Бучарская, А.Б. Морфологические изменения перевитой саркомы с45 при фотодинамической терапии с использованием нанокompозитов на основе золотых наностержней / А.Б. Бучарская, Э.А. Генина, А.Н. Башкатов, Г.С. Терентюк, Н.А. Наволоки, Г.Н. Маслякова, Н.Г. Хлебцов, Б.Н. Хлебцов, В.В. Тучин // Саратов Известия саратовского университета. Новая серия. Серия: физика. – 2015. – Т. 15. – № 4. – С. 22-27.
12. Вакуловская, Е.Г. Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика у больных раком кожи головы и шеи / Вакуловская Е.Г., Шенталь В.В. // Матер. 6-й ежегодной Росс. Онкол. конф., г. Масква, 2002. – с. 44-45
13. Васильев, Н.Е. Иммунологические аспекты фотодинамической терапии / Н.Е. Васильев, Г.М. Сысоева, Е.Д. Даниленко // Медицинская Иммунология. – 2003. – Т. 5. – №5-6. – С. 507-518.
14. Вашакмадзе, Л.А. Интраоперационная фотодинамическая терапия при неорганных забрюшинных опухолях / Л.А. Вашакмадзе, Е.В. Филоненко, В.В. Черемисов, В.М. Хомяков // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – М., 2013. – № 2 – С. 8-12.
15. Волков, Н.М. Иммунологические аспекты биологии опухолей / Н.М. Волков // Практическая онкология. – М., 2022. - Т. 23 № 2. с. 63-71.
16. Ганцев, Ш.Х. Онкология: учеб. для студентов мед. Вузов. 2-е изд., испр. и доп. / Ш.Х. Ганцев / Москва: Мед. информ. агентство (МИА), 2006. - 488 с.: ил.

17. Гейниц, А.В. Фотодинамическая терапия в лечебной практике. / А.В. Гейниц, Р.Ф. Баум, А.М. Зарецкий // Лечащий врач. – 2005. – № 2. – С. 74-75.
18. Гельфонд, М.Л. Неoadьювантная, интраоперационная и адьювантная фотодинамическая терапия в комбинированном лечении некоторых нозологических форм злокачественных новообразований / М.Л. Гельфонд, Г.И. Гафтон, В.В. Анисимов [и др.]. // Актуальные проблемы лазерной медицины. Сборник научных трудов. под редакцией Н.Н. Петрищева. – СПб.: Международный общественный Фонд культуры и образования. – 2016. – С. 81-95.
19. Гельфонд, М.Л. Фотодинамическая терапия в онкологии / М.Л. Гельфонд // Практическая онкология. – 2007. – Т. 8. – № 4. – С. 204-210.
20. Глазунова, Л.А. Сравнительная эффективность различных приемов при лечении новообразований молочной железы у собак и кошек / Л.А. Глазунова, А.В. Конева / Современные проблемы науки и образования. – 2014. - №6. – с. 18-24.
21. Давыдов, Е.В. Изучение ультраструктурных изменений в клетках рака молочной железы кошек при фотодинамической терапии / Е.В. Давыдов, Б.В. Уша, Т.О. Марюшина, Ю.С. Немцева // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2021. - № 4 (52) - С. 40-42.
22. Давыдов, М.И. Поддерживающая терапия в онкологии / М.И. Давыдов, А.В. Снеговой // Газета Российского общества клинической онкологии. – 2015. – № 10-11. – С. 3-6.
23. Дилекова, О.В. Статистико-клинические данные новообразований молочной железы у плотоядных / О.В. Дилекова, В.В. Митенко / Морфология. – 2020. – Т. 157. - №2-3. – с. 69.
24. Дилекова, О.В. Экспрессия онкомаркёрного белка b23 в опухолевых клетках молочной железы у плотоядных / О.В. Дилекова, В.В. Митенко / Гены и Клетки. - 2022. - Т. 17. - № 3. - с. 73-74.
25. Зайцев, А.М. Комбинированное лечение (фдт и длт) метастатического поражения головного мозга при раке молочной железы / А.М. Зайцев, М.И. Куржупов, И.В. Решетов, Е.В. Филоненко // Онкохирургия. – 2013. – Т. 5. – № 3. – С. 35-38.

26. Иванов, В.В. Клиническое ультразвуковое исследование органов брюшной и грудной полости у собак и кошек / В.В. Иванов. – М.: Аквариум-Принт, 2005. — 176 с.
27. Истомин, Ю.П. Фотодинамическая терапия с локальной аппликацией фотосенсибилизатора фотолон®. Экспериментальные исследования / Ю.П. Истомин, Т.В. Трухачева, Д.А. Церковский [и др.]. // Евразийский онкологический журнал. – 2014. – №1 (01). – С. 94-107.
28. Ишенбаева, С. Н. Диагностика спонтанных опухолей собак (статистический и патоморфологический анализ): автореферат дис. ... кандидата ветеринарных наук: 06.02.01 / Ишенбаева Светлана Нарынбековна. – Бешкек, 2016. - 20 с.
29. Кадагидзе, З.Г. Иммунная система и рак / З.Г. Кадагидзе, А.И. Черткова // Практическая онкология. – М., 2016. - Т. 17. - № 2. - с. 62-73.
30. Капинус, В.Н. Фотодинамическая терапия рецидива базально-клеточного рака кожи после лучевой терапии / Капинус В.Н., Каплан М.А. // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2016. - №5(5). - с. 51-54
31. Каплан, М.А. Комбинированная фотодинамическая терапия саркомы М-1 в сочетании с химиотерапией / М.А. Каплан, В.Н. Галкин, Ю.С. Романко [и др.]. // Радиация и риск (бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2016. – Т.25. – №4. – С. 90-99.
32. Каплан, М.А. Системная фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотолон в лечении онкологических больных с регионарными и отдаленными метастазами / М.А. Каплан, А.М. Шубина, И.А. Замулаева [и др.]. // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2014. – Т. 3. – №4. – С. 18 - 23.
33. Каплан, М.А. Фотодинамическая терапия: развитие метода и применение в клинической практике ФГБУ МРНЦ МЗ РФ / М.А. Каплан, В.Н. Капинус, Е.В. Ярославцева-Исаева [и др.]. // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2014. – Т. 3. – №1. – С. 8-14.

34. Каплан, М.А. Фотосенсибилизатор липосомальный амидоаминхлорин для фотодинамической терапии саркомы m-1 крыс / М.А. Каплан, А.И. Малыгина, Г.В. Пономарев [и др] // Российский биотерапевтический журнал. – М., 2015. – Т. 14. – № 3. – С. 55-62.
35. Кармакова, Т.А. Влияние противовоспалительной терапии на эффекты фотодинамического воздействия в эксперименте / Т.А. Кармакова, М.С. Воронцова, Ю.Б. Венедиктова, Р.И. Якубовская // Российский онкологический журнал. – 2011. – № 1. – С. 20-26.
36. Кац, В.А. Фотодинамическая терапия / В.А. Кац, Г.Д. Литвин, Ш.П. Назаров, Г.Г. Ряжский, Е.Ф. Странадко, А.С. Якубов, А.Т. Градюшко, А.В. Иванов // Вопросы онкологии. – 1992. – Т. 38. – № 12. – С. 1403-1412.
37. Калишьян, М.С. Сравнительный анализ спонтанных злокачественных опухолей молочной железы у собак и человека (подходы к неоадьювантной химиотерапии). Часть 1 / М.С. Калишьян, М.Н. Якунина, Е.М. Трещалина // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – М., 2009. - № 2 - с. 41-44.
38. Калишьян, М.С. Сравнительный анализ спонтанных злокачественных опухолей молочной железы у собак и человека (подходы к неоадьювантной химиотерапии). Часть 2 / М.С. Калишьян, М.Н. Якунина, Е.М. Трещалина // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – М., 2009. - № 3 – с. 42-43
39. Клявин, А.Г. Лечение собак с новообразованиями кожи с помощью полупроводникового лазера на AS-GA.: Диссертация ... канд. вет. наук / Клявин Алексей Георгиевич. – Москва, 2012. – 119 с.
40. Коган, Е.А. Морфо- и патогенез повреждений злокачественных опухолей при фотодинамической терапии / Е.А. Коган, А.А. Невольских, А.А. Жаркова., В.Б. Лощенов // Архив патологии. – 1993. – № 6. – С. 73-76.
41. Кудинова, Н.В. Фотодинамическая терапия опухолей: иммунологический аспект лечения / Н.В. Кудинова, Т.Т. Березов // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9. – № 1. – С. 69 - 76.

42. Кузнецова, Н.А. Фотокаталитическая генерация активных форм кислорода в биологических средах в методе фотодинамической терапии / Н.А. Кузнецова, О.Л. Калия // Российский химический журнал. – 1998. – Т. 42. – № 5. – С. 155-171.

43. Кулаев, М.Т. Десятилетний опыт применения метода фотодинамической диагностики и фотодинамической терапии в республике Мордовии / М.Т. Кулаев, Г.Г. Мельцаев, С.В. Евстифеев, [и др.]. // Поволжский онкологический вестник. – 2011. – № 1. – С. 37-39.

44. Кушлинский, Н.Е. Современные возможности молекулярно-биохимических методов оценки биологического «поведения» рака молочной железы / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн // Вестн. РАМН. – М., 2001 - № 9. – с. 65-70.

45. Кулешова, О.А. Возможности применения метода фотодинамической терапии при спонтанных новообразованиях различной локализации у собак и кошек / О.А. Кулешова, С.А. Ягников // Материалы XVII Московского международного ветеринарного конгресса. – Москва, 2009. – С. 61-63.

46. Кулешова, О.А. Клинико-морфологическое обоснование фотодинамической терапии у собак и кошек.: Диссертация ... канд. вет. наук / Кулешова Оксана Александровна. – Москва, 2012. – 147 с.

47. Кулешова, О.А. Первый опыт применения метода фотодинамической терапии при хроническом гингиво-стоматите у кошек / О.А. Кулешова, С.А. Ягнико, Н.В. Митрохина // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2011. – № 3 – С. 33 – 37.

48. Кулешова, О.А. Применение метода фотодинамической терапии при опухолевых и воспалительных новообразованиях слизистой ротовой полости и кожи у мелких домашних животных / О.А. Кулешова, С.А. Ягников // Тезисы I Всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии. – Москва, 2010. – С. 102-104.

49. Кулешова, О.А. Применение фотодинамической терапии при воспалительных и опухолевых процессах органов ротовой полости / О.А. Кулешова, С.А. Ягников // Ветеринарный доктор. – 2010. – № 2. – С. 11-13.

50. Кулешова, О.А. Результаты применения метода фотодинамической терапии при новообразованиях слизистой ротовой полости у собак и кошек / О.А. Кулешова, С.А. Ягников // Мир ветеринарии. – Украина, 2011. – № 3. – С. 36-40.

51. Кулешова, О.А. Фотодинамическая терапия новообразований различной локализации у собак и кошек / О.А. Кулешова, С.А. Ягников // Материалы V Всероссийской конференции по вопросам онкологии и анестезиологии мелких домашних животных. – М., 2009. – С. 44-46.

52. Кулешова, О.А. Клинический случай оперативного лечения внутричерепной менингиомы у кошки / О.А. Кулешова, С.А. Ягнико, Е.Л. Кемельман [и др] // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2010. – № 3 – С. 29-36.

53. Кушлинский, Н.Е. Современные возможности молекулярно-биохимических методов оценки биологического «поведения» рака молочной железы / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн // Вестн. РАМН. – 2001. № 9. – с. 65-70.

54. Лощенов, В.Б. Физические основы флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии/ В.Б. Лощенов, А.А. Стратоников // Сборник трудов МИФИ. – 2000. —Т. 4. — С. 53-54.

55. Малыгина, А.И. Сравнительный анализ противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами амидоаминхлорин и липосомальный амидоаминхлорин на экспериментальной модели опухоли (саркома м-1) крыс / А.И. Малыгина, А.А. Михайловская, Г.В. Пономарев [и др] // Радиация и риск (бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра). – М., 2015. – Т. 24. – № 1. – С. 85-95.

56. Мачинская, Е.А. Обзор механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов различной химической структуры в опухолевой ткани / Е.А. Мачинская, В.И. Иванова-Радкевич// Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – М., 2013 – Т 2 - № 4 – с. 28-32

57. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. / М. А. Медведева. – Аквариум-Принт, 2009. – 416 с.
58. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс при воспалении / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков // Успехи современной биологии. – Т. 117. – № 2. – С. 155-171.
59. Мищенко, П.В. Противоопухолевый потенциал гемопоэтических стволовых клеток на модели экспериментальной глиобластомы: автореферат дис. ... кандидата биологических наук. 2015: 03.03.04
60. Моисеенко, В.М. Практические рекомендации по лекарственному лечению злокачественных опухолей (RUSSCO) / под редакцией: В.М. Моисеенко. – Москва, Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии», 2015. – 456 с.
61. Молочков, В.А. Противоопухолевая эффективность фотодинамической терапии с фотодитазином при действии различной плотности лазерной энергии в эксперименте / В.А. Молочков, Ю.С. Романко, Т.Е. Сухова [и др] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – М., 2006. – № 1. – С. 67 – 72.
62. Морозова, Н.Б. Фотоиндуцированная активность *in vivo* положительно заряженного фталоцианина цинка, предназначенного для фотодинамической терапии злокачественных новообразований / Н.Б. Морозова, Р.И. Якубовская, В.И. Чиссов [и др] // Российский онкологический журнал. – М., 2012. – № 1. – С. 23-28.
63. Напалков, Н. П. Общая онкология: Руководство для врачей / Н. П. Напалков и др.; Под ред. Н. П. Напалкова // Ленинград: Медицина. - 1989. - 646 с.: ил.
64. Немцева, Ю.С. Фотодинамическая терапия рака молочной железы у кошек Диссертация... канд. ветеринарных наук: 06.02.01 / Немцева Юлия Сергеевна. – М., 2022. – 161 с.
65. Николаева, А. А. Гипертермия онкологических новообразований / А. А. Николаева, И. С. Манак, А. М. Лисенкова // Лазерная и оптико-электронная техника: сб. науч. ст. Вып. 7. – Минск: БГУ, 2002. – С. 173-218.

66. Новицкий, В.В. Патологическая физиология: учебник: в 2 т. / под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой // - 4-е изд., перераб. и доп. - ГЭОТАР-Медиа, 2009. - Т. 2. - 640 с.: ил.
67. Ногайцева, Е.С. Применение светодиодной фотодинамической терапии для вторичной профилактики рака молочной железы / Е.С. Ногайцева, С.Д. Никонов; под редакцией Н.М. Пасман, М.Ю. Денисова // Научные материалы конгресса, программа и каталог IV Международного конгресса. – Новосибирск, 2019. – С. 131-135.
68. Пак, Д.Д. Интраоперационная фотодинамическая терапия больных местнораспространенным раком молочной железы ШВ и ШС стадий / Д.Д. Пак, Е.В. Филоненко, Э.К. Сарибекян // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – М., 2013. – Т. 2. – № 1. – С. 25-30.
69. Петров, Н. Н. Руководство по общей онкологии (в кратком изложении для студентов-медиков и врачей всех специальностей) / Под ред. проф. Н. Н. Петрова// Акад. мед. наук СССР. - 2-е изд., доп. - Ленинград: Медгиз. Ленингр. отделение, 1961. - 376 с.
70. Полозюк, О.Н. Гематология: учебное пособие / О.Н. Полозюк, Т.М. Ушакова; Донской ГАУ. – Персиановский: Донской ГАУ, 2019. – 159 с.
71. Понятов, М.П. Анализ распространенности неопластических заболеваний тонкого отдела кишечника у собак и кошек в условиях мегаполиса / М.П. Понятов, Н.А. Татарникова, С.В. Волков, К.А. Сидорова / Пермский аграрный вестник. – 2023. - №1 (41). – с. 147-153.
72. Решетов, И.В. Современные аспекты фотодинамической терапии актинического кератоза / И.В. Решетов, А.С. Фатьянова, Ю.В. Бабаева, М.М. Гафаров, К. В. Огданская, Т.Е. Сухова, С.В. Коренев, М.В. Денисенко, Ю.С. Романко // Biomedical photonics, 2019. - Т. 8. - № 2. – с. 25-30.
73. Родионов, М.В. Оптимальный режим фракционирования при лучевой терапии опухолей полости носа у собак / М.В. Родионов, А.Л. Кузнецова, Л.В. Голуб, Е.А. Корнюшенков// Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2015. - №2. – С. 6-8. ISSN: 1815-1450

74. Родионов, М.В. Лучевая терапия остеохондродисплазии у шотландских вислоухих кошек / М.В.Родионов, М.А. Шиндина, О.С. Елизарова // Российский ветеринарный журнал. – 2019. - №4. – С. 5-8. ISSN: 2500-4379
75. Романко, Ю.С. Зависимость противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии саркомы m-1 с использованием фотодитазина (хлорин еб) от плотности световой энергии / Ю.С. Романко, В.В. Попучиев, В.А. Молочков [и др] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – М., 2007. – № 6. – С. 55-59.
76. Сирак, А.Г. Цитология: учеб. пособие для студентов медицинских вузов. / А.Г. Сирак, Г.Л. Радцева, Е.И. Пашнева [и др.]. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2017. – 88 с.
77. Скрипник, В. И. Хирургическое лечение опухоли молочной железы у сук / В. И. Скрипник / Известия сельскохозяйственной науки Тавриды.- 2017. - №12. - с. 100-108.
78. Скугарева, О.А. Интерстициальная фотодинамическая терапия злокачественных новообразований с фотосенсибилизатором «фотолон» в эксперименте и клинике: Диссертация... канд. медицинских наук: 14.01.13 / Скугарева Ольга Александровна. – Обнинск, 2005. – 133 с.
79. Смирнова, З.С. Противоопухолевая активность фотодинамической терапии с липосомальной лекарственной формой тиосенса на перевиваемых опухолях мышей / З.С. Смирнова, Е.В. Санарова, Л.М. Борисова [и др.]. // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10. – № 4. – С. 56-60.
80. Соколов, В.В. Оценка лечебной эффективности высокоинтенсивного импульсно-периодического лазерного излучения (экспериментальные и клинические данные) / В.В. Соколов, А.Д. Каприн, А.А.Панкратов [и др.]. // Исследования и практика в медицине. – 2016. – Т. 3. – № 3. – С. 83-90.
81. Соловьёва, А.Б. Влияние амфифильных полимеров на цитотоксическую эффективность фотосенсибилизаторов в сеансах фотодинамической терапии / А.Б. Соловьёва, Н.Н. Глаголев, Ю.И. Кирюхин [и др] // Альманах клинической медицины. – М., 2006. –№ 12. – С. 33.

82. Спиченкова, И.С. Сочетанная фотодинамическая и рентгенотерапия саркомы М-1: Автореферат диссертации... канд. медицинских наук: 14.00.19 / Спиченкова Ирина Сергеевна. – Обнинск, 2005. – 119 с.
83. Странадко, Е.Ф. Фотодинамическая терапия первичного и рецидивного рака кожи "неудобных" локализаций / Е.Ф. Странадко, Т.И. Малова, В.Н. Волгин, М.В. Рябов // Российский биотерапевтический журнал. - М., 2017. – Т. 16. - №5. – с.74-75.
84. Странадко, Е.Ф. Возможности ФДТ в лечении распространенного первичного и упорно рецидивирующего рака кожи / Е.Ф. Странадко, Т.И. Малова // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – М., 2014 – Т.3. - №1. – с. 51-52.
85. Талалакина, А.В. Рекомендации к лучевой терапии у животных при различных заболеваниях / А.В. Талалакина, Р.Р. Гурина // Сборник статей XIII Международной научно-практической конференции: Инновационные процессы в сельском хозяйстве. М. – 2021. – С.56-59.
86. Татарникова, Н.А. Лимфопролиферативные заболевания мелких домашних животных / Н.А. Татарникова, О.В. Кочетова, Е.С. Шульга / Ветеринарная патология. - 2018. - № 3 (65). - с. 5.
87. Татарникова, Н.А. Мониторинг опухолей молочной железы у кошек в городе Перми / Н.А. Татарникова, Д.В. Черепанов, О.В. Новикова (Кочетова), И.Е. Иванова / Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022. - Т. 251. - №3. – с. 271-274.
88. Татарникова, Н.А. Морфофункциональные особенности новообразований молочных желез у сук различных пород / Н.А. Татарникова, К.А. Сидорова, О.В. Кочетова, Т.А. Юрина / Известия нижевожского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2023. - №3 (71). – с. 306-314.
89. Тюляндин, С.А. Минимальные клинические рекомендации Европейского Общества Медицинской Онкологии (ESMO) / Ред. рус. перев.: проф. С. А. Тюляндин, к.м.н. Д. А. Носов; проф. Н. И. Переводчикова. – М.: Издательская группа РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 2010. – 436 с.

90. Улащик, В.С. Локальная гипертермия в онкологии: использование магнитного поля, лазерного излучения, ультразвука / В.С. Улащик // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2014. - №91(2). – с. 48-57.
91. Филоненко, Е.В. Физические методы в лечении больных раком кожи / Е. В. Филоненко // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – М., 2012. – № 2. – С. 100-105.
92. Филоненко, Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия в онкологии: Диссертация... канд. медицинских наук: 14.00.14 / Филоненко, Елена Вячеславовна. – М., 2006. – 235 с.
93. Фомичева, Д. В. Хирургическое лечение и послеоперационная химиотерапия опухолей молочных желез у кошек: Автореферат диссертации... канд. ветеринарных наук: 06.02.04 / Фомичева Дарья Владимировна. – Москва, 2010, - 112 с.
94. Хаитов, Р.М. Иммуитет и рак / Р.М.Хаитов, З.Г. Кадагидзе // Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». - М., 2018 - 256 с.
95. Цыган, В. Н. Патофизиология. Клиническая патофизиология: учебник для курсантов и студентов военно-медицинских вузов: в 2 т. / под ред. проф. В. Н. Цыгана // - Санкт-Петербург: СпецЛит, 2018. - Т. 1: Патофизиология. — 430 с. ил.
96. Шимширт, А.А. Коррекция миелодепрессии у собак после химиотерапевтического лечения / А.А. Шимширт, А.Л. Кузнецова, О.В. Соловьева, М.Н. Якунина // Российский ветеринарный журнал. М., 2008. - № 2 – С. 18-20.
97. Шикунова, И.А. Новые медицинские лазерно-волоконные приборы и инструменты на основе профилированных кристаллов сапфира / И.А. Шикунова, В.Н. Курлов, Д.О. Стрюков, В.Б. Лощенов // Актуальные проблемы физики конденсированного состояния. – Екатеринбург, 2015. – С. 31-46.
98. Южаков, В.В. Морфологические изменения перевитой саркомы с45 при фотодинамической терапии с использованием нанокompозитов на основе золотых наностержней / В.В. Южаков, Ю.С. Романко, М.А. Каплан // Альманах клинической медицины. – М., 2017. – Т. 45. – № 4. – С. 333-347.

99. Ягников, С.А. Фотодинамическая терапия в ветеринарной практике / С.А. Ягников, О.А. Кулешова, Я.А. Кулешова, Е.А. Корнюшенков // Российский биотерапевтический журнал. – 2008. – Т. 7. – № 4. – С. 67-71.
100. Ягников, С.А. Фотодинамическая терапия при новообразованиях различной локализации у собак и кошек / С.А. Ягников, О.А. Кулешова // Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции. – М., 2009. – С. 46-47.
101. Якубовская, Р.И. Фотоиндуцированная противоопухолевая активность препарата фталосенса у животных с опухолями различного гистогенеза / Р.И. Якубовская, Н.Б. Морозова, А.А. Панкратов [и др] // Российский онкологический журнал: Научно-практический журнал. – 2006. – № 3. – С. 26-32.
102. Якунина, М.Н. Опухоли молочной железы собак и кошек / М.Н. Якунина; издание второе, исправленное. – М.: «Onebook.ru», 2014. – 164 с.
103. Якунина, М.Н. Лимфома (лимфосаркома) / М.Н. Якунина // Ветеринария. - 2016. - № 4. - с. 77.
104. Якунина, М.Н. Таксотер и доксорубицин в неoadъювантной химиотерапии диффузного и инфильтративно-отечного рака молочной железы собак. Предварительные результаты / М.Н. Якунина, Я.В. Вишневская, Е.М. Трещалина / Российский биотерапевтический журнал. - 2012. - Т. 9. - № 3. - с. 61.
105. Ягников, С.А. Опухоли грудной стенки у собак и кошек и их лечение путем радикального иссечения / С.А. Ягников, Л.С. Барсегян, Я.А. Ягникова, О.А. Кулешова, Ф.А. Кузнецова, Р.Д. Будаев, С.Г. Рамазанов / Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2016. - №4. - с. 15-21.
106. Agarwal, M.L. Phospholipase activation triggers apoptosis in photosensitized mouse lymphoma / M.L. Agarwal, H.E. Larkin, S.I. Zaidi, et al // Cancer Res. – 1993. – V. 53(24). – P.5897-5902.
107. Alexander, A.N. Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma / A.N. Alexander, M.K. Huelsmeyer, A. Mitzey, et al // Cancer Immunol Immunother. – 2006. – V. 55 – № 4. – P. 433–442.

108. Allison, B.A. Evidence for low-density lipoprotein receptor-mediated uptake of benzoporphyrin derivative / B.A. Allison, P.H. Pritchard, J.G. Levy // *Br. J. Cancer*. – 1994. – V. 69. – P. 833–839.
109. Allison, B.A. Low density lipoprotein as a delivery vehicle in various applications of photodynamic therapy / B.A. Allison, P.H. Pritchard, Y.N. Hsiang, et al // *Clin Invest Med*. – 1993. – V. 16.
110. Allman, R. Effect of photodynamic therapy in combination with ionizing radiation on human squamous cell carcinoma cell lines of the head and neck / R. Allman, P. Cowburn, M. Mason // *Br. J. Cancer*. – 2000. – V. 83. – P. 655–661.
111. Allstadt, S.D. Outcome in dogs with surgically resected oral fibrosarcoma (1997-2008) / S.D. Allstadt, Johns S.M., J. Ortega, A. Zwingenberger // *Vet Comp Oncol*. – 2012. – Vol. 10. – № 1. – P. 33-43.
112. Andrejevic-Blant, S. In vivo fluence rate effect in photodynamic therapy of early cancers with tetra (m-hydroxyphenyl) chlorin / S. Andrejevic-Blant, A. Woodtli, G. Wagnie`res, et al // *Photochem Photobiol*. – 1996. – V. 64. – P. 963–968.
113. Aughey, E. Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates / E. Aughey, Fredric L. Frye. // Manson Publishing/The Veterinary Press. – 2001. – 296 p.
114. Bailey, W.S. Parasites and cancer—sarcoma in dogs associated with *Spirocerca lupi* / W.S. Bailey // *Ann NY Acad Sci*. – 1963. – V. 180. – P. 890.
115. Barr, H. Photodynamic therapy in the normal rat colon with phthalocyanine sensitization / H. Barr, C.J. Tralau, A.J. MacRobert, et al // *Br. J. Cancer*. – 1987 – V. 56. – P. 111–118.
116. Barrett, A.J. The effect of tissue and cellular pH on the selective biodistribution of porphyrins-type photochemotherapeutic agents: a volumetric titration study / A.J. Barrett, J.C. Kennedy, R.A. Jones, et al // *J. Photochem Photobiol B*. – 1990. – V. 6. – P. 309–323.
117. Bateman, K.E. 0–7-21 radiation therapy for the treatment of canine oral melanoma / K.E. Bateman, P.A. Catton, P.W. Pennock, et al // *J Vet Intern Med*. – 1994. – V. 8. – № 4. – P. 267–272.

118. Beck, E.R. Control of canine squamous cell carcinomas by photodynamic therapy / E.R. Beck, R.W. Dunstan, F.W. Hetzel // *Ann Vet Canc Soc Conf.* – 1991 – P. 1–2.
119. Beck, E.R. Response and toxicity of photodynamic therapy for canine bladder carcinoma / E.R. Beck, R.W. Dunstan // *Proc Int Conf Photodyn Ther and Med Laser.* – Italy, Milan. – April, 1992.
120. Bellnier, D.A. Murine pharmacokinetics and antitumor efficacy of the photodynamic sensitizer 2- [1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-1 (HPPH) / D.A. Bellnier // *J Photochem Photobiol.* – 1993. – V. 20. – P. 55–61.
121. Bellnier, D.A. Photosensitization and split-dose recovery in cultured human urinary bladder carcinoma cells containing nonexchangeable hematoporphyrin derivative / D.A. Bellnier, C.W. Lin // *Cancer Res.* – 1985. – V. 45 – P. 2507–2511.
122. Ben-Hur, E. Effect of light fluence rate on mammalian cells photosensitization by chloroaluminium phthalocyanine tetrasulphonate / E. Ben-Hur, R. Kol, E. Riklis, et al // *Int. J. Radiat Biol.* – 1987. – V. 51. – P. 467–76.
123. Berenbaum, M.C. Cerebral photosensitization by hematoporphyrin derivative. Evidence for an endothelial site of action / M.C. Berenbaum, G.W. Hall, A.D. Hoyes // *Brit. J. Cancer.* – 1986. – V. 53. – № 1. – P. 81-89.
124. Bergin, I.L. Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma / I.L. Bergin, R.C. Smedley, D.G. Esplin, et al // *Vet Pathol.* – 2011. – V. 48. – № 1 – P. 41-53.
125. Bergman, P.J. Canine oral melanoma / P.J. Bergman // *Clin Tech Small Anim Pract.* – 2007. – V. 22. – № 2. – P. 55-60.
126. Bernardi, P. Mitochondria and cell death. Mechanistic aspects and methodological issues / P. Bernardi, L. Scorano, R. Colonna, et al // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – V. 264. – № 3. – P. 687-701.
127. Berns, M.W. In vitro cellular effects of hematoporphyrin derivative / M.W. Berns, A. Dahlman, F.M. Johnson, et al // *Cancer Res.* – 1982. – V. 42 – P. 2325–2329.

128. Bertone, E.R. Environmental and lifestyle risk factors for oral squamous cell carcinoma in domestic cats / E.R. Bertone, L.A. Snyder, A.S. Moore, et al // *J Vet Intern Med.* – 2003. – V. 17. – P. 557.
129. Bethea, D. Psoralen photobiology and photochemotherapy: 50 years of science and medicine / D. Bethea, B. Fullmer, S. Syed, et al // *J Dermatol Sci.* – 1999. – V. 19. – P. 78–88.
130. Betz, Ch.S. Long-Term Outcomes Following Foscan-PDT of basal cell carcinomas / Ch.S. Betz, W. Raushning, E.Ph. Stranadko, M.V. Riabov, V.N. Volgin, V. Albrecht, N.E. Nifantiev, et al. // *Lasers in surgery and medicine.* - 2012. - Vol. 44. - P. 533-540.
131. Bexfield, N.H. Photodynamictherapy of superficial nasal planum squamous cell carcinoma in cats: 55 cases / N.H. Bexfield, A.J. Stell, R.N. Gear, J.M. Dobson / *Journal of Veterinary Internal Medicine.* – 2008. - №22(6). – p. 1385-1389.
132. Bianco, S.R. Enhancing antimelanoma immune responses through apoptosis / S.R. Bianco, J. Sun, S.P. Fosmire, et al // *Cancer Gene Therapy.* – 2003. – V. 10 (9). – P. 726–736.
133. Blackwood, L. Radiotherapy of oral malignant melanomas in dogs / L. Blackwood, J. M. Dobson / *J. Am. Vet. Med. Assoc.* – 1996. - №209. – p. 98–102.
134. Bogaerts, J. Individual patient data analysis to assess modifications to the RECIST criteria / J. Bogaerts, R. Ford, D. Sargent, et al // *Eur J Cancer.* – 2009. – V. 45, – P. 248–260.
135. Boria, P.A. Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs / P.A. Boria, D.J. Murry, P.F. Bennett, et al // *J Am Vet Med Assoc.* – 2004. – V. 224. – № 3. – P. 388–394.
136. Bown, S.G. New techniques in laser therapy / S.G. Bown // *Br Med J.* – 1998. – V. 316. – P. 754–757.
137. Brasseur, N. Water-soluble aluminum phthalocyanine-polymer conjugates for PDT: Photodynamic activities and pharmacokinetics in tumour-bearing mice / N.

Brasseur, R. Ouellet, C. La Madeleine, J.E. van Lier // *Br J Cancer*. – 1999. – V. 80. – № 10. – P. 1533–1541.

138. Breslow, N.A. A generalized Kriskall-Wallis test for comparing k samples subject to unequal censorship / N.A. Breslow // *Biometrika*. – 1970. – V. 57. – P. 579–594.

139. Brodey, R.S. The use of naturally occurring cancer in domestic animals for research into human: General considerations and review of canine skeletal osteosarcoma / R.S. Brodey // *Yale J Biol Med*. – 1979. – V. 52 – P. 345–361.

140. Brown, S. Pharmacokinetics of Photofrin in man, in Spinelli R, Dal Fante M, Marchessini R (eds) / S. Brown, D.I. Vernon, J.A. Holroy, et all // *Photodynamic Therapy and Biomedical Lasers*. – Amsterdam, Elsevier. – 1992. – P. 475–479.

141. Buchholz, J. Optimizing photodynamic therapy: In vivo pharmacokinetics of liposomal meta-(tetrahydroxyphenyl) chlorin in feline squamous cell carcinoma / J. Buchholz, B. Kaser-Hotz, T. Khan, et all // *Clin Cancer Res*. – 2005. – V. 11. – P. 7538–7544.

142. Buchholz, J. Photodynamic therapy of feline cutaneous squamous cell carcinoma using a newly developed liposomal photosensitizer: Preliminary results concerning drug safety and efficacy / J. Buchholz, M. Wergin, H. Walt, et all // *J Vet Intern Med*. – 2007. – P. 770-775.

143. Buchholz, J. Photodynamic therapy of feline squamous cell carcinoma and various canine tumours / J. Buchholz, H. Walt, J. Fidel, et all // *Kleintierpraxis*. – 2003. – V. 48. – P. 405–418.

144. Buchholz, J. Veterinary photodynamic therapy: a review / J. Buchholz, H. Walt / *Photodiagnosis Photodyn Ther*. – 2013. - № 10(4). – P. 342-7.

145. Bugelski, P.J. Autoradiographic distribution of hematoporphyrin derivatie in normal and tumor tissue of the mouse / P.J. Bugelski, C.W. Porter, T.J. Dougherty // *Cancer Res*. – 1981. – V. 183. – № 1. – P. 43-51.

146. Burnet, M. Cancer - a biological approach: I. The processes of control. II. The significance of somatic mutation / M. Burnet // *BrItish Medical Journal*. – 1957. - № 1(5022). - P. 779 - 786

147. Cairnour, F. Superficial photodynamic therapy with topical 5aminolaevulinic acid for superficial primary and secondary skin cancer / F. Cairnour, M. R. Stringer, E. J. Huoson, et all // *British Journal of Cancer*. – 1996. – V. 69. – P. 605-608.
148. Calzavara-Pimon, P. G. Repetitive photodynamic therapy with topical delta-aminolaevulinic acid as an appropriate approach for the routine treatment of superficial non-melanoma skin tumours / P. G. Calzavara-Pimon // *Journal of Photochemistry and Pbotobiology, B: Biology*. – 1995. – V. 29. – P. 53-57.
149. Campbell, G.A. Tissue levels, histologic changes and plasma pharmacokinetics of meta-Tetra (hydroxyphenyl) chlorin (mTHPC) in the cat / G.A. Campbell, K.E. Bartels, C. Arnold, et all // *Lasers Med Sci*. – 2002. – V. 17. – P. 79–85.
150. Carlisle, C. H. Response of squamous cell carcinoma of the nose of the cat to treatment with X rays / C. H. Carlisle, S. Goulo // *Veterinary Radiology*. – 1982. – V. 23. – P. 186-192.
151. Carolyn, J. H. Cancer management in small animal practice / J. H. Carolyn, H. Mary Lynn. – 2009. – 201 p.
152. Carsten, R.E. Correlations between acute radiation scores and pain scores in canine radiation patients with cancer of the forelimb / R.E. Carsten, P.W. Hellyer, A.M. Bachand, S.M. LaRue// *Vet Anaesth Analg*. – 2008. –Vol. 35. – P. 355–362.
153. Cassatella, M.A. Neutrophil-derived proteins: sellingcytokines by the pound / M.A. Cassatella // *Adv. Immunol*. – 1999. – V. 73. – P. 369-509.
154. Cecic, I. Mediators of peripheral blood neutrophilia induced by photodynamic therapy of solid tumors / I. Cecic, M. Korbelik // *Cancer Lett*. – 2002. – V. 153 – P. 43-51.
155. Cheli, R. Hematoporphyrin derivative photochemotherapy of spontaneous tumors: clinical results with optimized drug dose / R. Cheli, F. Addis, C.M. Mortellaro, et all // *Cancer Lett*. – 1984. – V. 23. – P. 61–66.
156. Cheli, R. Photodynamic therapy of spontaneous animal tumors using the active component of hematoporphyrin derivative (DHE) as photosensitizing drug:

Clinical results / R. Cheli, F. Addis, C.M. Mortellaro, et al // *Cancer Lett.* – 1987. – V. 38. – P. 101–105.

157. Chen W.R. Laser-photosensitizer assisted immunotherapy: a novel modality for cancer treatment / W.R. Chen, R.L. Adams, R. Carubelli, R.E. Nordquist // *Cancer Lett.* – 1997. – V. 115. – P. 25-30.

158. Chen, G. Tumor oxygenation changes post-photodynamic therapy / G. Chen, H. Chen, F.W. Hetzel // *Photochem Photobiol.* – 1996. – V. 63. – № 1. – P. 128-131.

159. Chen, W.R. Laser-photosensitizer assisted immunotherapy: a novel modality for cancer treatment / W.R. Chen, R.L. Adams, R. Carubelli, R.E. Nordquist // *Cancer Lett.* – 1997. – V. 115. – P. 25-30.

160. Ciekot, P.A. Histologically low grade yet biologically high grade fibrosarcomas of the mandible and maxilla of 25 dogs (1982-1991) / P.A. Ciekot, B.E. Powers, S.J. Withrow, et al // *J Am Vet Med Assoc.* – 1994. – V. 204. – P. 610.

161. Clarke, R. E. Cryosurgical treatment of feline cutaneous squamous cell carcinomas / R. E. Clarke // *Australian Veterinary Practitioner.* – 1991. – V. 21. – P. 148-153.

162. Cole, W.H. Need for immunologic stimulators during immunosuppression produced by major cancer surgery / W.H. Cole, L. Humphrey // *Ann Surg.* – 1985. – V. 202. – P. 9–20.

163. Cotchin, E. Comparative oncology: the veterinary contribution / E. Cotchin // *Proc Roy Soc Med.* – 1976. – V. 69. – P. 649–656.

164. Coutier, S. Foscan (mTHPC) photosensitized macrophage activation: enhancement of phagocytosis, nitric oxide release and tumor necrosis factor-alpha-mediated cytolytic activity / S. Coutier, L. Bezdetnaya, S. Marchal, et al // *J. Cancer.* – 1999. – V. 51. – № 1. – P. 37-42.

165. Cowled, P.A. Potentiation of photodynamic therapy with hematoporphyrin derivatives by glucocorticoids / P.A. Cowled, L. Mackenzie, I.J. Forbes // *Cancer Lett.* – 1985. – V. 29. – P. 107–114.

166. Curnow, A. Light dose fractionation to enhance photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid in the normal rat colon / A. Curnow, B.W. McIlroy, M.J. Postle-Hacon // *Photochem Photobiol.* – 1999. – V. 69 – P. 71–76.
167. Curnow, A. Oxygen monitoring during 5-aminolaevulinic acid induced photodynamic therapy in normal rat colon. Comparison of continuous and fractionated light regimes / A. Curnow, J.C. Haller, S.G. Bown // *J Photochem Photobiol B.* – 2000. – V. 58. – P. 149–55.
168. Cyman, J.A. Phase II/III trial of PDT for canine oral squamous cell carcinomas / J.A. Cyman, C. Young, E.R. Beck // *Proc 13th Ann Vet Canc Soc Conf.* – 1993. – P. 116–117.
169. De Bruijn, H.S. Improvement of systemic 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in vivo using light fractionation with a 75-minute interval / H.S. de Bruijn, N. van der Veen, D.J. Robinson, W.M. Star // *Cancer Res.* – 1999. – V. 59 – P. 901–904.
170. De Vree, W.J. Evidence for an important role of neutrophils in the efficacy of photodynamic therapy in vivo / W.J. de Vree, M.C. Essers C, H.S. de Bruijn, et al. // *Cancer Res.* – 1996. – V. 56. – P. 2908–2911.
171. De Vree, W.J. Role of interleukin 1 and granulocyte-colony-stimulating factor in photofrin-based photodynamic therapy of rat rhabdomyosarcoma tumors / W.J. de Vree, M.C. Essers, J. F. Koster, et al // *Cancer Res.* – 1997. – V. 57. – № 13. – P. 2555-2558.
172. Dittadi, R. Validation of blood collection procedures for the determination of circulating vascular endothelial factor (VEGF) in different blood compartments / R. Dittadi, S. Meo, F. Fabris, et al. // *Int J Biol Markers.* – 2001. – V. 16. – P. 87–96.
173. Divaris, D.X.G. Phototoxic damage to sebaceous glands and hair follicles of mice following systemic administration of 5-aminolevulinic acid correlates with localized protoporphyrin IX fluorescence / D.X.G. Divaris, J.C. Kennedy, R.H. Pomer // *American Journal of Pathology.* – 1990. – V. 136. – P. 891-897.
174. Dobson, J.M. Principles of Cancer Therapy. In: *Textbook of Small Animal Medicine* (ed. J.K. Dunn), pp. / J.M. Dobson // W.B. Saunders, London. - 1999. - 1028 p.

175. Dorn, C.R. Epidemiology of canine and feline tumours / C.R. Dorn // Journal of the American Animal Hospital Association. – 1976. – V. 12 – P. 307-312.
176. Dorn, C.R. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County / C.R. Dorn, D.O. Taylor, R. Schneider, et al // Journal of the National Cancer Institute. – 1968. – V. 40. – P. 307–318.
177. Dougherty, T.J. Activated dyes as antitumor agents / T.J. Dougherty // J. Natl. Canc. Inst. – 1974. – V. 52. – P. 133–136.
178. Dougherty, T.J. Cutaneous phototoxicity occurrences in patients receiving Photofrin / T.J. Dougherty, M.T. Cooper, T.S. Mang // Lasers Med Surg. – 1990. – V. 10. – P. 485–488.
179. Dougherty, T.J. Effect of immunization with genetically-modified tumor cells on tumor recurrence following photodynamic therapy / T.J. Dougherty, J.D. Tracker, et al. // Lasers Med. Sci. – 1992. – V. 7. – P. 226-234.
180. Dougherty, T.J. Photodynamic therapy / T.J. Dougherty // Photochem Photobiol. – 1993. – V. 58. – P. 895–900.
181. Dougherty, T.J. Photodynamic therapy / T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, et al. // J. Natl. Cancer Inst. – 1998. – V. 90. – № 12. – P. 889-905.
182. Dougherty, T.J. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors / T.J. Dougherty, J.E. Kaufman, A. Goldfarb, et al. // Cancer Res. – 1978. – V. 38. – P. 2628–2635.
183. Dougherty, T.J. Effect of immunization with genetically-modified tumor cells on tumor recurrence following photodynamic therapy / T.J. Dougherty, J.D. Tracker, et al // Lasers Med Sci. – 1992. – V. 7. – P. 226-234.
184. Dougherty, T.J., Weishaupt interstitial photoradiation therapy for primary solid tumors in pet cats and dogs / T.J. Dougherty, E.T. Richard, G. B. Donn, R. Kenneth // Cancer research. - 1981. - № 41. – p. 401-404
185. Dunn, G.P. The three Es of cancer immunoeediting / G. P. Dunn, L. J. Old, R.D. Schreiber // Annu Rev Immunol. – 2004. – T. 22. – P. 329–60.

186. Ehrhart, N.E. Soft-tissue sarcomas in dogs: a review / N.E. Ehrhart // *J Am Anim Hosp Assoc.* – 2005. – V. 41. – P. 241.
187. Eisenhauer, E.A. Response assessment in solid tumours (RECIST): version 1.1 and supporting Papers. / E.A. Eisenhauer, P. Therasse, J. Bogaerts // *European Journal of Cancer.* – 2009. – V. 45. – № 2. – P. 225–231.
188. Eisenhauer, E.A. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1) / E.A. Eisenhauer, P. Therasse, J. Bogaerts // *European Journal of Cancer.* – 2009. – V. 45. – № 1 – P. 228-247.
189. Elizabeth Aughey. *Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates* / Elizabeth Aughey, Fredric L. Frye // CRC Press. – p. 296.
190. Evans, S. Effect of photodynamic therapy on tumor necrosis factor production by murine macrophages / S. Evans, W. Matthews, R. Perry, et al // *Journal of the National Cancer Institute.* – 1990. – V. 82. – № 1. – P. 34-39.
191. Evensen, J.F. Photodynamic therapy of C3H tumours in mice: effect of drug/light dose fractionation and misonidazole / J.F. Evensen, J. Moan // *Lasers Med Sci.* – 1988. – V. 3 – P. 1–6.
192. Farrelly, J. Hypofractionated radiation therapy of oral melanoma in five cats / J. Farrelly, D.L. Denman, A.E. Hohenhaus, et al // *Vet Radiol Ultrasound.* – 2004. – V. 45. – № 1. – P. 91–93.
193. Fiani, N. Clinicopathologic characterization of odontogenic tumors and focal fibrous hyperplasia in dogs: 152 cases (1995-2005) / N. Fiani, F.J.M. Verstraete, P.H. Kass, et al. // *J Am Vet Med Assoc.* – 2011. – V. 238. – № 4. – P. 495-500.
194. Fidel, J. Treatment of oral squamous cell carcinoma with accelerated radiation therapy and concomitant carboplatin in cats / J. Fidel, J. Lyons, C. Tripp, R. Houston, B. Wheeler, A. Ruiz // *J Vet Int Med.* – 2011. – V. 25. – №. 3. – P. 504-510.
195. Fidel, J.L. Proton irradiation of feline nasal planum squamous cell carcinomas using an accelerated protocol / J.L. Fidel, E. Egger, H. Blattmann, et al. // *Vet Radiol Ultrasound.* – 2001. – V. 42. – P. 569–575.

196. Figge, F.H. Cancer detection and therapy: affinity of neoplastic embryonic and traumatized tissue for metalloporphyrins / F.H. Figge, G.S. Weiland, L.O. Mangianello // *Proc Soc Exp Biol Med.* – 1948. – V. 68 – P. 181–188.
197. Fijan, S. Photodynamic therapy of epithelial skin tumours using delta-aminolaevulinic acid and desferrioxamine / S. Fijan., H. Honigsmann, B. Ortel // *British Journal of Dermatology.* – 1995. – V. 133. – P. 282-288.
198. Fingar, V.H. Mechanistic studies of PDT-induced vascular damage: Evidence that eicosanoids mediate this process / V.H. Fingar, T.J. Wieman, K.W. Doak // *Int J Radiat Biol.* – 1991. – V. 60 – P. 303–309.
199. Fingar, V.H. Role of thromboxane and prostacyclin release on photodynamic therapy-induced tumor destruction / V.H. Fingar, T.J. Wieman, K.W. Doak // *Cancer Res.* – 1990. – V. 50. – № 9. – P. 2599-2603.
200. Finocchiaro, L.M. Cytokine-enhanced vaccine and suicide gene therapy as surgery adjuvant treatments for spontaneous canine melanoma / L.M. Finocchiaro, G.C. Glikin // *Gene Ther.* – 2008. – V. 15(4). – P. 267–276.
201. Finocchiaro, L.M. Suicide gene and cytokines combined nonviral gene therapy for spontaneous canine melanoma / L.M. Finocchiaro, G.L. Fiszman, A.L. Karara, et al // *Cancer Gene Ther.* – 2008. – V. 15 (3). – P. 165–172.
202. Fisher, A.M. Clinical and preclinical photodynamic therapy / A.M. Fisher, A.L. Murphree, C.J. Gomer // *Lasers in Surg & Med.* – 1995. – V. 17. – P. 2–31.
203. Fitzpatrick, C.L. Intrinsic radiosensitivity for canine acanthomatous ameloblastoma / C.L. Fitzpatrick, J.P. Farese, R.J. Milner, et al // *J Am Anim Hosp Assoc.* – 2010. – V. 46. – № 2. – P. 91-96.
204. Foster, T.H. Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy / T.H. Foster, R.S. Murant, R.G. Bryant // *Radiat Res.* – 1991. – V. 126. – P. 296–303.
205. Frazier, D.L. Comparative pharmacokinetics of the photosensitizers tin ethyl etiopurpurin in dogs and rats / D.L. Frazier, M.A. Barnhill, T. Vdinh, et al // *J Vet Pharmacol Ther.* – 1992. – V. 15. – P. 275–281.

206. Freitas, I. Lipid accumulation: the common feature to photosensitizer retaining normal and malignant tissues / I. Freitas // *J Photochem Photobiol B.* – 1990. – V. 7. – P. 359–361.
207. Gibson, S.L. Effects of various photoirradiation regimens on antitumor efficacy of photodynamic therapy for R3230AC mammary carcinomas / S.L. Gibson, K.R. Meid, S. Murant, et al. // *Cancer Res.* – 1990. – V. 50. – P. 7236–7241.
208. Gil-Cardeza, M.L. Suicide gene therapy on spontaneous canine melanoma: correlations between in vivo tumors and their derived multicell spheroids in vitro / M.L. Gil-Cardeza, M.S. Villaverde, G.L. Fiszman, et al // *Gene Ther.* – 2010. – V. 17 (1). – P. 26–36.
209. Gillette, E.L. Spontaneous neoplasm as models for therapeutics agents, in Fidler IJ, White RJ (eds:) *Design of Models for Testing Cancer Therapeutics Agents* / E.L. Gillette // Van Nostrand Reinhold. – 1982. – P. 185–192.
210. Giullio, J. Tumor photosensitizers: Selectivity and efficiency of photodynamic therapy / J. Giullio // *J Photochem Photobiol B.* – 1996. – V. 36 – P. 87–93.
211. Gloi, A.M. Biodistribution of three photosensitizers in dogs with spontaneous tumors / A.M. Gloi, E. Beck // *Veterinary therapy.* – 2003. – P. 115-165.
212. Gollnick, S.O. Altered expression of interleukin 6 and interleukin 10 as a result of photodynamic therapy in vivo / S.O. Gollnick, X. Liu, B. Owczarczak, et al // *Cancer Res.* – 1997. – V. 57. – № 18. – P. 3904-3909.
213. Gollnick, S.O. Generation of effective antitumor vaccines using photodynamic therapy / S.O. Gollnick, L. Vaughan, B.W. Henderson // *Cancer Res.* – 2002. – V. 62. – № 6. – P. 1604-1605.
214. Gomer, C.J. Cellular targets and molecular responses associated with photodynamic therapy / C.J. Gomer, M. Luna, A. Ferrario // *J. Clin. Laser Med. Surg.* – 1996. – V. 14. – № 5. – P. 315-321.
215. Gomer, C.J. Comparison of mutagenicity and induction of sister chromatid exchange in Chinese hamster cells exposed to hematoporphyrin derivative

photoirradiation, ionizing radiation, or ultraviolet radiation / C.J. Gomer, N. Rucker, A. Banerjee, W.F. Benedict // *Cancer Research*. – 1983. – V. 43 – P. 2622-2627.

216. Gomer, J.D. Determination [³H] and [¹⁴C] Hematoporphyrin derivative distribution in malignant and normal tissue / J.D. Gomer, T.J. Dougherty // *Cancer Res.* – 1979. – V. 39 – P. 146–151.

217. Grier, C.K. Radiation therapy of canine nontonsillar squamous cell carcinoma / C.K. Grier, M.N. Mayer // *Can Vet J - Revue Vétérinaire Canadienne*. – 2007. – V. 48. – № 11. – P. 1189-1191.

218. Grier, R.L. Hyper thermic treatment of superficial tumors in cats and dogs / R.L. Grier, W.G. Brewer, G.H. Theilen // *J Am Vet Med Assoc*. – 1980. – V. 177. – P. 227–233.

219. Guilherme, C.M. A new therapeutic proposal for inoperable osteosarcoma: Photodynamic therapy / C.M. Guilherme, M.A. Ana, L. Mafalda, et al. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2018. – T. 21. – P. 79-85.

220. Gyorffy, S. Bone marrowderived dendritic cell vaccination of dogs with naturally occurring melanoma by using human gp100 antigen / S. Gyorffy, J.C. Rodriguez-Lecompte, J.P. Woods, et al // *J. Vet Intern Med*. – 2005. – V. 19 (1). – P. 56–63.

221. Hahn, K. A. Photodynamic therapy response in cats with cutaneous squamous cell carcinoma as a function of fluence / K. A. Hahn, M. Panjehpour, A.M. Legenore // *Veterinary Dermatology*. – 1998. – V. 9 – P. 37.

222. Hamblin, M.R. On the mechanism of the tumourlocalising effect in photodynamic therapy / M.R. Hamblin, E.L. Newman // *J. Photochem Photobiol B*. – 1994. – V. 23. – № 1. – P. 3-8.

223. 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.

224. Hammer, A.S. Efficacy and toxicity of VAC chemotherapy (vincristine, doxorubicin and cyclophosphamide) in dogs with haemangiosarcoma / A.S. Hammer,

C.G. Couto, J. Filppi, et al. // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. – 1991. – V. 5. – P. 160–166.

225. Harada, M. The vascular response to photodynamic therapy with ATX-SIONa(II) in the normal rat colon / M. Harada, J. Woodhams, A.J. MacRobert, et al. // *J Photochem Photobiol*. – 2005. – P. 223-230.

226. Hayata, Y. Hematoporphyrin derivative and laser photoirradiation in the treatment of lung cancer / Y. Hayata, H. Kato, C. Konaka, et al. // *Chest*. – 1982. – V. 81 – P. 269–277.

227. Helfand, S.C. Induction of lymphokineactivated killer (LAK) activity in canine lymphocytes with low dose human recombinant interleukin-2 in vitro / S.C. Helfand, S.A. Soergel, J.F. Modiano, et al // *Cancer Biother*. – 1994. – V. 9 (3). – P. 237–244.

228. Henderson, B.W. How does photodynamic therapy work? / B.W. Henderson, T.J. Dougherty // *J. Photochem Photobiol B*. – 1992 – V. 55. – № 1. – P. 145-157.

229. Henderson, B.W. Photosensitization of murine tumor, vasculature and skin by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin / B.W. Henderson, L.A. Vaughn, D.A. Bellnier, et al // *Photochem Photobiol*. – 1995. – V. 62. – № 4. – P. 780-789.

230. Henderson, B.W. Potentiation of photodynamic therapy antitumor activity mice by nitric oxide synthase inhibition is fluence rate dependent / B.W. Henderson, T.M. Stnik-Busch, L.A. Vaughn // *J. Photochem Photobiol B*. – 1999 – V 69. – № 1. – P. 64-71.

231. Henderson, B.W. The role of vascular photodamage in photodynamic therapy / B.W. Henderson, V.H. Fingar // *Photochem Photobiol*. – 1994. – V. 59. – P. 1–2.

232. Hendrzak-Henionj, A. Role of the immune system in mediating the antitumor effect of benzophenothiazine photodynamic therapy / A. Hendrzak-Henionj, T.L. Knisely, L. Cincotta, et al // *Photochem Photobiol*. – 1999. – V. 69. – №5. – P. 575-581.

233. Heon, A.P. Prognostic factors associated with radio- therapy of squamous cell carcinoma of the nasal plane in cats / A.P. Heon, B.R. Maoewell, V.I. Shearn, J.E.

Moulton // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 1995. –V. 206. – P. 991-996.

234. Herman, S. Photofrin II induces cytokine secretion by mouse spleen cells and human peripheral mononuclear cells / S. Herman, Y. Kalechman, U. Gafter, et al // *Immunopharmacology*. – 1996. – V. 31. – № 2-3. – P. 195-204.

235. Hernandez, L.A. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury / L.A. Hernandez, M.B. Grisham, B. Twohig // *The American journal of physiology*. – 1987. – V. 253. – № 3. – P. 699-703.

236. Hoboken, N.J. TNM classification of malignant tumours. / N.J. Hoboken, J. Wiley// Eighth Edition. Oxford, UK, Inc. – 2017.

237. Hogge, G.S. Preclinical development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected melanoma cell vaccine using established canine cell lines and normal dogs / G.S. Hogge, J.K. Burkholder, J. Culp, et al // *Cancer Gene Therapy*. – 1999. – P. 26-36.

238. Hua, Z. Effectiveness of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin as a photosensitizer for photodynamic therapy in vivo / Z. Hua, S.L. Gibson, T.H. Foster, R. Hilf, et al // *Cancer Res*. – 1995. –V. 55. – P. 1723–1731.

239. Jacobs, T.M. Photodynamic therapy as a treatment for esophageal squamous cell carcinoma in a dog / T.M. Jacobs, G.M. Rosen // *Journal of the American Animal Hospital Association*. – 2000. – P. 257-261.

240. Jensen, D.M. Comparison of low-power yag laser and bicap tumor probe for palliation of esophageal cancer strictures / D.M. Jensen, G. Machicado, G. Randall // *Gastroenterol*. – 1988.

241. Jesionek, A. Zer Behandlung der Hautcarcinomit mit fluorescierenden stoffen / A. Jesionek, V.H. Tappeiner // *Muench Med Wochenshr*. – 1903.

242. Jori G. Tumour photosensitizers: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy / G. Jori // *J. Photochem. Photobiol., B: Biol*. – 1996. – V. 36. – № .2. – P. 87-93.

243. Jori, G. Photosensitized processes in vitro: proposed phototherapeutic applications / G. Jori // *Photochem Photobiol*. – 1990. – V. 52. – № 2. – P. 41-43.

244. Kaplan, E.L. Non-parametric estimation from incomplete observation / E.L. Kaplan, P. Meier // *J Am Statistical Assoc.* – 1958. – V. 54. – № 282. – P. 457–481.
245. Kelleher, D.K. Enhanced effects of aminolaevulinic acid-based photodynamic therapy through local hyperthermia in rat tumours / D.K. Kelleher, J. Bastian, O. Thews et al // *Br J Cancer.* – 2003. – V. 89. – P. 405–411.
246. Keller, S.M. Photodynamic therapy. Biology and clinical application / S.M. Keller // *Chest Surg Clin N Am.* – 1995. – V. 5. – P. 121–37.
247. Kelley, J.F. Hematoporphyrin derivative: a possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder / J.F. Kelley, M.E. Snell. // *J Urol.* – 1976. – V. 115 – P. 150–151.
248. Kessel D., Chou, T-H.: Tumor localization components of the porphyrin preparation hematoporphyrin derivative / D. Kessel, T-H. Chou // *Cancer Res.* – 1983. – Vol. 43 – P. 1991–1999.
249. Kessel, D. Structure and determinants of localization in photodynamic therapy of neoplastic diseases. / D. Kessel / Boca Raton (FL): CRC Press. – 1990. – Vol. 2. – P. 1–14.
250. Khan, N. The evolving role of radiation therapy in the management of malignant melanoma / N. Khan, M.K. Khan, A. Almasan et al. // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics – ASTRO.* – 2011. – Vol. 80. – № 3. – P. 645–654.
251. King, G.K. The effect of acemannan immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcomas. / G.K. King, K. M Yates, P.G. Greenlee et al. // *J Am Anim Hosp Assoc.* – 1995. – Vol. 31. – № 5. – P. 439-447.
252. Klein, M.K. Recent advances in photodynamic therapy / M.K. Klein. W.G. Roberts // *Comp Cont Ed.* – 1993. – Vol. 15. – P. 809–817.
253. Korbelic, M. Nitric oxide production by tumor tissue: impact on the response to photodynamic therapy / M. Korbelic, C. Parcins, H. Shibuya, et all // *British Journal of Cancer.* – 2000. – V. 82. – № 11. – P. 1835-1843.

254. Korbelick, M. Cellular levels of photosensitizers in tumor: The role of proximity to the blood supply / M. Korbelick, G. Krosl // *British Journal of Cancer*. – 1994. – Vol. 70. – № 4. – P. 604–610.
255. Korbelik, M. Contribution of myeloid and lymphoid host cells to the curative outcome of mouse sarcoma treatment by photodynamic therapy / M. Korbelik, I. Cecic // *Cancer Lett*. – 1999. – V. 137 – № 1. – P. 91-98.
256. Korbelik, M. Distribution of Photofrin between tumor cells and tumor associated macrophages / M. Korbelik, G. Krosol, P.L. Olive, et al. // *British Journal of Cancer*. – 1991. – Vol. 64. – P. 508–512.
257. Korbelik, M. Enhanced macrophage cytotoxicity against tumor cells treated with photodynamic therapy / M. Korbelik, G. Krosl // *Photochem Photobiol*. – 1994. – V. 60. – P. 497-502.
258. Korbelik, M. Induction of tumor immunity by photodynamic therapy / M. Korbelik // *J. Clin Laser Med Surg*. – 1996. – V. 137. – № 1. – P. 91-98.
259. Korbelik, M. Photodynamic therapy-mediated immune response against subcutaneous mouse tumors / M. Korbelik, G.J. Dougherty // *Cancer Res*. – 1998. – V. 59. – № 8. – P. 1941-1946.
260. Korbelik, M. Photofrin uptake by murine macrophages / M. Korbelik, G. Krosol, D.J. Chaplin // *Cancer Res*. – 1991. – Vol. 51. – P. 2251–2255.
261. Kosovsky, J.K. Results of partial mandibulectomy for the treatment of oral tumors in 142 dogs/ J.K. Kosovsky, D.T. Matthiesen, S.M. Marretta, et al. // *Vet Surg*. – 1991. – Vol. 20 (6). – P. 397-401.
262. Kostenich, G.A. Photodynamic therapy with chlorin e6. A morphologic study of tumor damage efficiency in experiment / G.A. Kostenich, I.N. Zhuravkin, A.V. Furmanchuk, E.A. Zhavrid // *J Photochem Photobiol B*. – 1991. – Vol. 11. – №3-4. – P. 307–318.
263. Krosl, G. Induction of immune cell infiltration into murine SCCVII tumor by photofrin-based photodynamic therapy / G. Krosl, M. Korbelik, G.J. Dougherty // *British Journal of Cancer*. – 1995. – V. 71. – № 3. – P. 549-555.

264. Krosi, G. Potentiation of photodynamic therapy by immunotherapy: the effect of schizophyllan (SPG) / G. Krosi, M. Korbelik // *Cancer Lett.* – 1994. – V. 84. – № 1. – P. 43-49.
265. Kurlov, V.N. Sapphire: Properties, growth and applications/ V.N. Kurlov// *Encyclopedia of Materials: Science and Technology.* Pergamon: Elsevier Science Ltd. – 2001. – P. 8259-8265.
266. Kurzman, I.D. New developments in cancer therapy. In: Withrow S.J., MacEwen E.G., eds. / I.D. Kurzman, E.T. Keller, E.G. MacEwen // *Small animal clinical oncology.* Philadelphia: WB Saunders. – 1996. – P. 155–157.
267. LaDue, T. Toxicity criteria of the veterinary radiation therapy oncology group / T. LaDue, M.K. Klein // *Vet Rad Ultrasound.* – 2001. - №42(5). – P. 475.
268. Lam, M. Photodynamic therapy-induced apoptosis in epidermoid carcinoma cells. Reactive oxygen species and mitochondrial inner membrane permeabilization / M. Lam, N. Oleinick, A. Nieminen // *J. Biol Chem.* – 2001. – V. 276. – № 50. – P. 47379-47386.
269. Lana, S.E. Feline cutaneous squamous cell carcinoma of the nasal planum and the pinnae: 61 cases / S.E. Lana, G.K. Ogilvie, S.J. Withrow, et al. // *J Am Anim Hosp Assoc.* – 1997. – Vol. 33. – P. 329–332.
270. Lascelles, D. Principles of oncological surgery / D. Lascelles, D. White // *Practice.* – 1999. - Vol. - P. 163.
271. Leuing, M. Evaluation of photodynamic therapy-induced heating of hamster melanoma and its effect on local tumor irradiation/ M. Leuing, A. Leuing, P. Lankes, et al. // *Int J Hypertherm.* –1994. – Vol. 10. – P. 297–306.
272. Leveckis, J. The effect of aminolaevulinic acid-induced, protoporphyrin IX-mediated photodynamic therapy on the cremaster muscle microcirculation in vivo/ J. Leveckis, N.J. Brown, M.W.R. Reed // *Br J Cancer.* – 1995. – Vol. 72. – P. 1113–1119.
273. Lewis, J.J. Soft tissue sarcomas. / J.J. Lewis, M.F. Brennan// *Curr Probl Surg.* –Vol. 33. – № 10. – P. 817–872.
274. Lightdale, C.J. Photodynamic therapy with porfimer sodium versus thermal ablation therapy with Nd: YAG laser for palliation of esophageal cancer: a multicenter

randomized trial/ C.J. Lightdale, S.K. Hejer, N.F. Marcon, et al// *Gastrointestinal Endoscopy*. – 1995. –Vol. 42. – P. 507–512.

275. Lilge, L. Solubilization technique for photosensitizer quantification in ex-vivo tissue samples/ L. Lilge, C. O'Carrol, B.C. Wilson. // *J Photochem Photobiol B*. – 1997. – Vol. 65. – №. 4. – P. 701–706.

276. Liptak, J.M. Oral Tumors. In: Withrow, SJ and Vail, DM eds. / J.M. Liptak, S.J. Withrow// *Small Animal Clinical Oncology* 4th ed. St Louis, Missouri: Saunders Elsevier. – 2007. – P. 455-510.

277. Liptak, J.M. Partial foot amputation in 11 dogs. / J.M. Liptak, W.S. Dernell, S.A. Rizzo, et al. // *J Am Anim Hosp Assoc*. – Vol. 41. – № 1. – P. 47–55.

278. Lloyd, A.R. Poly's lament: the neglected role of the polymorphonuclear neutrophil in the afferent limb of the immune response / A.R. Lloyd, J.J. Oppenheim // *Immunol Today*. – 1992. – V. 13. – № 5. – P. 169-172.

279. Lucroy, M.D. Photodynamic therapy for companion animals with cancer / M.D. Lucroy // *Vet. Clin. Small Anim*. – 2002. – P. 693.

280. Lucroy, M.D. Photodynamic therapy in veterinary medicine: current status and implications for application in human disease / M.D. Lucroy, M.L. Magne, G.M. Peavy, et al. // *J Clin Laser Med Surg*. – 1996. – Vol. 14. – P. 305–310.

281. Lucroy, M.D. Preclinical study in cats of the pro-photosensitizer 5-aminolevulinic acid/ M.D. Lucroy, B.F. Edwards, G.M. Peavy, et al.// *Am J Vet Res*. – 1999. – Vol. 60. – P. 1364–1370.

282. Lucroy, M.D. Veterinary photodynamic therapy. / M.D. Lucroy, B.F. Edwards, B.R. Madewell // *J Am Vet Med Assoc*. –2000. – Vol. 11. – P. 745–751.

283. Lynch, D.H. Immunologic effects of peritoneal photodynamic treatment / D.H. Lynch, S. Haddad, C.J. Jolles, et al. // *Proc. SPIE 1065, Photodynamic Therapy: Mechanisms*. – 1989. – P. 55–65.

284. Macewen, E.G. Adjuvant therapy for melanoma in dogs: results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor / E.G. Macewen, I.D. Kurzman, D.M. Vail, et al // *Clin Cancer Res*. – 2000. – V. 5 (12). – P. 58.

285. MacVean, D.W. Frequency of canine and feline tumors in a defined population / D.W. MacVean, A.W. Monlux, P.S. Anderson, et al // *Vet Pathol.* – 1978. – V. 15. – № 6. – P. 700–715.
286. Magne, M.L. Oncological applications of endoscopy. / M.L. Magne// *Vet Clin N Am Sm Anim Pract.* – 1995. – Vol. 25. – № 1. – P. 171–172.
287. Magne, M.L. Photodynamic therapy of facial squamous cell carcinoma in cats using a new photosensitizer / M.L. Mange, C.A. Rodrigues, S.A. Autgy et al. // *Laser Surgery Med.* – 1997. – P. 202-209.
288. Magne, M.L. Photodynamic therapy. In: Morrison WB, ed. *Cancer in dogs and cats, medical and surgical management* / M.L. Magne // Baltimore: Williams and Wilkins. –1998. – P. 469–476.
289. Mantel, N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration/ N. Mantel// *Cancer Chemother Rep.* – 1966. – Vol. 50. – P. 163–170.
290. Marcacci, A. Sur l'action des alcaloides dans les regne vegetal et animal. / A. marcacci// *Arch Ital Biol.* – 1888. – Vol. 9. – P. 2–4.
291. Marcon, N.F. Photodynamic therapy and cancer of the esophagus /N.F. Marcon// *Sem Oncol.* – 1994. – Vol. 21. – P. 20–23.
292. Martin, C.K. Tannehill-Gregg SH, Wolfe TD, et al: Bone-invasive oral squamous cell carcinoma in cats: pathology and expression of parathyroid hormone-related protein / C.K. Martin// *Vet Pathol.* – 2011. – Vol. 48. – P. 302.
293. Matthews, W. In vitro photodynamic therapy of human lung cancer: investigation of dose-rate effects / W. Matthews, J. Cook, J.B. Mitchell, et al// *Cancer Res.* – 1989. –Vol. 49. – P. 1718–1721.
294. Mayer, M.N. Radiation therapy for oral tumors: Canine acanthomatous ameloblastoma / M.N. Mayer, J.M. Anthony// *Can Vet J - Revue Vétérinaire Canadienne.* – 2007. – Vol. 48. – № 1. – P. 99-101.
295. Mayer, S. Stratospheric ozone depletion and animal health / S. Mayer// *Vet Rec.* – 1992. – Vol. 131. –P. 120–122.

296. McCartan, L. Oral neoplasia – an overview / L. McCartan, D.J. Argyle // *Veterinary Focus*. – 2012. – Vol. 22. – № 3.
297. McCaughan, Jr J. S. Photodynamic therapy: a review / J. S. McCaughan, Jr // *Drugs Aging*. – 1999. – Vol. 15. – P. 49–68.
298. McCaw, D.L. Treatment of canine oral squamous cell carcinomas with photodynamic therapy / D.L. McCaw, E.R. Pope, J.T. Payne, et al. // *Br J Cancer*. – 2000. – Vol. 82. – P. 1297–1299.
299. McChesney, S. Radiotherapy of soft tissuesarcomas in dogs. / S. McChesney, S.J. Withrow, E.W. Gillette, B.E. Powers, M.W. Dewhirst // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 1989. – Vol. 194. – P. 60–63.
300. McEntee, M.C. Veterinary radiation therapy: review and current / M.C. McEntee // *J Am Anim Hosp Assoc*. – 2006. - №. 42. – P. 94.
301. McLlroy, B.W. Spatial measurement of oxygen levels during photodynamic therapy using time-resolved optical spectroscopy / B.W. McLlroy, A. Curnow, G. Buonaccorsi, M.A. Scott, S.G. Bown, A.J. MacRobert // *J Photochem Photobiol B*. – 1998. – Vol. 43. – P. 47–55.
302. Melzer, K. Ki67 reactivity in nasal and periocular squamous cell carcinomas in cats treated with electron beam radiation therapy / K. Melzer, F. Guscetti, C. Rohrer Bley, et al. // *J Vet Intern Med*. – 2006. – Vol. 20. – P. 676–681.
303. Messmann, H. Enhancement of photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid-induced porphyrin photosensitisation in normal rat colon by threshold and light fractionation studies/ H. Messmann, P. Milkvy, G. Buonaccorsi, C.L. Davies, et al. // *Br J Cancer*. –1995. – Vol.72. – P. 589–594.
304. Miller, M.A. Cutaneous neoplasia in 340 cats / M.A. Miller, S.L. Nelson, J.R. Turk, et all // *Vet Pathol*. – 1991. – V. 28. – P. 89–395.
305. Minamikawa, T. Chloromethyl-X-rosamine (Mito Tract Red) photosensitises mitochondria and apoptosis in intact human cells / T. Minamikawa, A. Sriratana // *J. Cell Sci*. – 1999. – V. 112. – № 14. – P. 2419-2430.
306. Misdorp, W. Prognostic factors in canine mammary cancer/ W. Misdorp, A.A. Hart // *J Nat Cancer Inst*. – 1976. – Vol. 56. – P. 779–786.

307. Mlkvy, P. Distribution and photodynamic effects of meso-tetrahydroxyphenylchlorin (mTHPC) in the pancreas and adjacent tissues in the Syrian golden hamster / P. Mlkvy, H. Messmann, M. Pauer, J.C.M. Stewart, C.E. Millson, A.J. MacRobert et al. // *Br J Cancer* 1996. – Vol. 73. – P. 1473–1479.
308. Mlkvy, P. Photodynamic therapy of a transplanted pancreatic cancer model using meta-tetrahydroxyphenylchlorin (mTHPC) / H. Messmann, A.J. MacRobert, M. Pauer, V.R. Sams, C.L. Davies, et al // *Br J Cancer*. – 1997. – Vol. 76. – P. 713–718.
309. Moore, A.S. Recent advances in chemotherapy for nonlymphoid malignant neoplasms / A.S. Moore // *Comp Cont Ed*. – 1993. – Vol. 15. – P. 1039–1050.
310. Moore, A.S. Treatment choices for oral cancer in cats; What is possible? What is reasonable? / A.S. Moore// *J Fel Med Surg*. – 2009. – Vol. 11. – № 1. – P. 23-31.
311. Morris, J. *Small Animal Oncology* / J. Morris, J. Dobson // Blackwell Science. – 2001. – P. 75-77.
312. Moulton, J.E. *Canine Mammary Tumors* / J.E. Moulton, D.O.N. Taylor, C.R. Dorn, A.C. Andersen // *Path. Vet*. – 1970. - №7. – p. 289-320.
313. Murphy, S. Oral malignant melanoma: the effect of coarse fractionation radiotherapy alone or with adjuvant carboplatin therapy/ S. Murphy, A.M. Hayes, L. Blackwood, et al. // *Vet Comp Oncol*. – 2005. – Vol. 3. – № 4. – P. 222–229.
314. Murray, R.L. The use of rim excision as a treatment for canine acanthomatous ameloblastoma / R.L. Murray, M.L. Aitken, S.D. Gottfried // *J Am Anim Hosp Assoc*. – 2010. – Vol. 46. – № 2. – P. 91-96.
315. Musser, D.A. The binding of tumor localizing porphyrins to a fibrin matrix and their effects following photoirradiation / D.A. Musser, J.M. Wagner, F.J. Weber, et al // *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. –1980. – Vol. 28. – P. 505–525.
316. Narayan, S. Palliation of esophageal carcinoma. Laser and photodynamic therapy / S. Narayan, M.V. Sivak Jr // *Chest Surg Clin N Am*. – 1994. – Vol. 4. – P. 347–367.
317. Ng, C.S. Thoracotomy is associated with significantly more profound suppression in lymphocytes and natural killer cells than video-assisted thoracic surgery

following major lung resections for cancer / C.S. Ng // *Journal of Investigative Surgery*. – 2005. – V. 18. – P. 81–85.

318. North, J. Photodynamic inactivation of retrovirus by benzoporphyrin derivative: a feline leukemia virus model / J. North, S. Freeman, J. Overbaugh, et al. // *Transfusion* 1992. – Vol. 32, P. 121–128.

319. Ochsner, M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours / M. Ochsner // *J Photochem Photobiol B*. – 1997. – Vol. 39. – P. 1–8.

320. Oehler, L.O. Neutrophil granulocyte-committed cells can be driven to acquire dendritic cell characteristics / L.O. Oehler, W.F. Majdic, J. Pickl, et al // *Journal of Experimental Medicine*. – 1998. – V. 187. – P. 1019-1028.

321. Ogata, M. Clinical applications of laser therapy in dogs and cats/ M. Ogata // *Journal of Veterinary Medicine*. – 1990. – P. 239-242.

322. Okamoto, Y. Canine hemangiopericytoma treated by combination of surgical resection and photodynamic therapy with novel photosensitizer, PAD-S31 / Y. Okamoto, K. Ogura, Y. Okamura, H. Ishii, et al. // *Jap J Vet Anesth Surg*. – 2005. – Vol. 36. – P. 69–73.

323. Oleinick, N.L. The photobiology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanisms / N.L. Oleinick, H.H. Evans // *Radiat Res*. – 1998. – Vol. 150. – P. 146–156.

324. Osaki, T. Efficacy of antivasular photodynamic therapy using benzoporphyrin derivative monoacid ring A (BPD-MA) in 14 dogs with oral and nasal tumors / T. Osaki, S. Takagi, Y. Hoshino, M. Okumura, et al. // *J Vet Med Sci*. – 2009. – Vol. 71. – P. 125–132.

325. Osaki, T. Vascular-targeted photodynamic therapy with glucose-conjugated chlorin e6 for dogs with spontaneously occurring tumour / T. Osaki, S. Hibino, Y. Murahata, T. Amaha, I. Yokoe, M. Yamashita, A. Nomoto, S. Yano, M. Tanaka, H. Kataoka, Y. Okamoto / *Vet Med Sci*. – 2023. - №Nov;9(6). – p. 2534-2541.

326. Overholt, B.F. Laser and photodynamic therapy of esophageal cancer / B.F. Overholt// *Sem Surg Oncol*. – 1992. – Vol. 8. – № 4. – P. 191–203.

327. Owen L.N. TNM Classification of Tumours in Domestic Animals / L.N. Owen// Geneva: WHO, 1980.
328. Page, R.L. Phase I study of melphalan alone and melphalan plus whole body hyperthermia in dogs with malignant melanoma / R.L. Page, D.E. Thrall, M.W. Dewhirst, et al. // *Int J Hyperthermia*. – 1991. – Vol. 7. – № 4. – P. 559–566.
329. Pakhrin, B. Retrospective study of canine cutaneous tumors in Korea / B. Pakhrin, M.S. Kang, I.H. Bae, et al. // *J Vet Sci*. – 2007. – Vol. 8. – P. 229–236.
330. Pandey R.K., et al. Structure/activity relationships among photosensitizers related to pheophorbides and bacteriopheophorbides / R.K. Pandey, et al./ *Bioorg Med Chem Lett*. –1992. –Vol. 2. – P. 491– 496.
331. Pass H.I., Delaney T.F. Photodynamic therapy. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. / H.I. Pass, T.F. Delaney // *Cancer: principles and practice of oncology*. Philadelphia: JB Lippincott. – 1993. – P. 2687–2700.
332. Pass, H.I. Photodynamic therapy in oncology: Mechanisms and clinical use / H.I. Pass// *J Natl Cancer Inst*. – 1993. – Vol. 85. – P. 443–456.
333. Peaston, A.E. Photodynamic therapy for nasal and aural squamous cell carcinoma in cats / A.E. Peaston, M.W. Leach, R.J. Higgins // *J Am Vet Med Assoc*. – 1993. – Vol. 202. – P. 1261–1265.
334. Peaston, A.E. Photodynamic therapy of squamous cell carcinoma using chloraluminum sulfonated phthalocyanine as photosensitizer: a pilot study in 30 cats / A.E. Peaston, M.W. Leach, R.J. Higgins, et al. // *Proc 13th Ann Vet Canc Soc Conf*. – 1993. – Vol. 51. – P. 2.
335. Peavy, G.M. Variation in the distribution of a phthalocyanine photosensitizer in naturally occurring tumors of animals / G.M. Peavy, T.B. Krasieva, B.J. Tromberg, et al. // *J Photochem Photobiol B*. –1991. – Vol. 27. – P. 271–277.
336. Peng, Q. 5Amino- levulinic acid-based photodynamic therapy. / Q. Peng, T. Warloe, K. Berg, J. Moan, et al. // *Clinical research and future challenges. Cancer*. – 1997. – Vol. 79. – P. 2282-2308.
337. Peng, Q. Uptake, localization, and photodynamic effect of mesotetrahydroxyphenylporphine and its corresponding chlorin in normal and tumor

tissues of mice bearing mammary carcinoma / Q. Peng., J. Moan, L.W. Ma, J.M. Nesland // *Cancer Res.* – 1995. – Vol. 55. – P. 2620–2626.

338. Perlroth, M. G. The porphyrias. Section 9V. In: *Scientific American Medicine*. Eds E. Rubenstein and D. D. Federman / M.G Perlroth // *Scientific American*, New York. – 1988. – P. 1-9.

339. Petermann, U. Lasertherapie in der Veterinärmedizin / U. Petermann // *Vet. Impulse.* – 1998. – P. 12-13.

340. Pires, I. COX-1 and COX-2 expression in canine cutaneous, oral and ocular melanocytic tumors. / I. Pires, A. Garcia, J. Prada, et al. // *J Comp Pathol.* – 2010. – Vol. 143. – №2-3. – P. 142-149.

341. Priester, W.A. Skin tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian colleges of veterinary medicine / W.A. Priester // *J Natl Cancer Inst.* – 1973. – Vol. 50. – P. 457–466.

342. Qin, B. Enhanced skin allograft survival after photodynamic therapy. Association with lymphocyte inactivation and macrophage stimulation / B. Qin, S.H. Selman, K.M. Payne, et al // *Transplantation.* – 1993. – V. 56. – № 6. – P. 1481-1486.

343. Qnneoy, J.C. Endogenous protoporphyrin IX. a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy / J.C. Qnneoy, R.H. Poitier // *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 14. – 1992. – P. 275-292.

344. Raab, O. Ueber die Wirkung fluoreszierenden Stoffe auf Infusorien. / O. Raab // *Z Biol.* – 1908. – Vol. 39. – P. 524–526.

345. Ramos-Vara, J.A. Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases / J.A. Ramos-Vara, M.E Beissenherz, M.A. Miller, et al. // *Vet Pathol.* – 2000. – Vol. 37. – № 6. – P. 597-608.

346. Rassnick, K.M. Use of carboplatin for treatment of dogs with malignant melanoma: 27 cases (1989-2000) / K.M. Rassnick, D.M. Ruslander, S.M. Cotter, et al. // *J Am Vet Med Assoc.* – 2001. – Vol. 218. – №9. – P. 1444–1448.

347. Reddi, E. Liposome or LDL-administered Zinc (II)-phthalocyanine as a photodynamic agent for tumors. Pharmacokinetic properties and phototherapeutic

efficiency / E. Reddi, C. Zhou, R. Biolo, et al. // *Br J Cancer*. – 1990. – Vol. 61. – P. 407–411.

348. Reddi, E. Pharmacokinetics with Zn(II)-phthalocyanine in tumor bearing mice. / E. Reddi, G. Lo Castro, R. Biolo, G. Jori // *Br J Cancer* – 1987. – Vol. 56. – P. 597–600.

349. Redmond, R.W. Spatially resolved cellular responses to singlet oxygen. / Redmond R.W., Kochevar I.E. // *Photochem. Photobiol.* 82 – 2006 – P. 1178–1186, <http://dx.doi.org/10.1562/2006-04-14-IR-874>.

350. Reed, M.W. A comparison of the effect of photodynamic therapy on normal and tumor blood vessel in the rat microcirculation / M.W. Reed, T.J. Wieman, D.A. Schuschke, et al // *Radiat. Res.* – 1989. – V. 119. – № 3. – P. 542-552.

351. Reed, M.W.R. The microvascular effects of photodynamic therapy: Evidence for a possible role of cyclooxygenase products / M.W.R. Reed, T.J. Wieman, K.W. Doak, et al. // *Photochem Photobiol.* – 1989. – Vol. 50. – P. 419–423.

352. Reeds, K.B. Non-coherent light for photodynamic therapy of superficial tumours in animals / K.B. Reeds, T.D. Ridgway, R.G. Higbee, M.D. Lucroy // *Vet Comp Oncol.* – 2004. – Vol. 2. – P. 157–163.

353. Reiter, I. Activation of macrophage tumoricidal activity by photodynamic treatment in vitro-indirect activation of macrophages by photodynamically killed tumor cells / I. Reiter, G. Schwamberger, B. Krammer // *J. Photochem Photobiol.* – 1999. – V. 50. – № 2-3. – P. 99-107.

354. Ricks, A. P. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other non-steroidal antiinflammatory drugs / A.P. Ricks, K.M. Lunoy, S.B. Seibel // *American Journal of Veterinary Research*. – 1998. – Vol. 59. – P. 1441-1446.

355. Ridgeway, R.L. Clinical and radiographic signs in primary and metastatic esophageal neoplasms of the dog / R.L. Ridgeway, P.F. Suter // *J Am Vet Med Assoc.* – 1979. – Vol. 174. – P. 700–704.

356. Roberts, D.J. Photodynamic therapy of primary skin cancer: a review / D.J. Roberts, F. Cairnduff // *Br. J. Surg.* – 1995. – V. 48. – № 6. – P. 360-370.

357. Roberts, W.G. Photodynamic therapy of spontaneous cancers in felines, canines, and snakes with chloro-aluminum sulphonated phthalocyanine / W.G. Roberts, M.K. Klein, M. Loomis, et al. // *J Natl Cancer Inst.* – 1991. – V. 83. – P. 18–23.
358. Robinson, D.J. Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching during ALA-mediated photodynamic therapy of UVB-induced tumors in hairless mouse skin / D.J. Robinson, H.S. de Bruijn, N. van der Veen, M.R. Stringer, S.B. Brown, W.M. Star// *Photochem Photobiol.* – 1999. – Vol. 69. – P. 61–70.
359. Rogers, K.S. Feline cutaneous squamous cell carcinoma of the nasal planum and the pinnae: 61 cases / K.S. Rogers // *Journal of the American Animal Hospital Association.* – 1997. – P. 324-332.
360. Salisbury, S.K. Maxillectomy and mandibulectomy /S.K. Salisbury// In *Textbook of Small Animal Surgery*, ed. D. Slatter, 2nd edition. – 1993. – P. 521–530.
361. Sasnouski, S. Investigation of Foscan interactions with plasma proteins / S. Sasnouski, V. Zorin, I. Khludeyev, M.A. D'Hallewin, F. Guillemin, L. Bezdetnaya// *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2005. – Vol. 1725. – P. 394–402.
362. Schmitz L., Oster-Schmid C., Stockfleth E. Nonmelanoma skin cancer – from actinic keratosis to cutaneous squamous cell carcinoma // *Journal der Deutschen Dermatologischen.* – 2018. – P. 1002–1013.
363. Schwarz, P. D. Mandibular resection as a treatment for oral cancer in 81 dogs / P. D. Schwarz, S. J. Withrow, C. R. Curtis, B. E. Powers, R. C. Straw / *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* – 1991a.- №27. – p. 601–610.
364. Schwarz, P. D. Partial maxillary resection as a treatment for oral cancer in 61 dogs / P. D. Schwarz, S. J. Withrow, C. R. Curtis, B. E. Powers, R. C. Straw / *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* - 1991b. - №27. – p. 617–624.
365. Schwartz, S. Historical perspective. In: Dougherty TJ, Henderson BW, editors / S. Schwartz, J.W. Winkleman, R.L. Lipson // *Photodynamic therapy*. New York: Marcel Dekker. – 1992. – P. 1–15.
366. Schweitzer, C. Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen / Schweitzer C., Schmidt R. // *Chem. Rev.* 103. – 2003 – P. 1685–1757, <http://dx.doi.org/10.1021/cr010371d>.

367. Selman, S.H. Blood flow in transplantable bladder tumors treated with hematoporphyrin derivative and light / S.H. Selman, M. Kreimer-Birnbaum, J. E. Klaunig, et al // *Cancer. Res.* – 1984. – V. 44. – № 5. – P. 1924-1927.
368. Sibelle, A. Long-term survival after photodynamic therapy for esophageal cancer / A. Sibelle, R. Lambert, J.C. Souquet, G. Sabben, F. Descos // *Gastroenterol.* – 1995. – Vol. 108. – P. 337–344.
369. Sitnik, T.M. Reduction of tumour oxygenation during and after photodynamic therapy in vivo: effects of fluence rate. / T.M. Sitnik, J.A Hampton, B.W. Henderson // *Br J Cancer.* – 1998. – Vol. 77. – P. 1386–1394.
370. Skinner, K.A. Soft tissue sarcoma nodal metastases: Biologic significance and therapeutic considerations / K.A. Skinner, F.R. Eilber // *Surg Oncol Clin N Am.* – 1996. – Vol. 5. – № 1. – P. 121–127.
371. Skovsen, E. Lifetime and diffusion of singlet oxygen in a cell. / Skovsen E., Snyder J.W., Lambert J.D.C., Ogilby P.R. // *J. Phys. Chem. B* 109 – 2005 – P. 8570–8573, <http://dx.doi.org/10.1021/jp051163i>.
372. Soderstrom, M.J. Principles of surgical oncology / M.J. Soderstrom, S.D. Gilson // *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* – 1995. - №25. – P. 97.
373. Stables, G. I. Large patches of Bowen's disease treated by topical aminolaevulinic acid photodynamic therapy / G.I. Stables, M.R. Stringer, D.J. Robinson, D.V. Ash // *British Journal of Dermatology.* – 1997. – Vol. 136. – P. 957-960.
374. Star, W.M. Light dosimetry in vivo / W.M. Star // *Phys Med Biol.* – 1997. – Vol. 42. – P. 63–87.
375. Stebbins, K.E. Goldschmidt MH: Feline oral neoplasia: a ten-year survey / K.E. Stebbins, C.C. Morse // *Vet Pathol.* – 1989. – Vol. 26. – P. 121.
376. Stell, A.J. Photodynamic therapy of feline superficial squamous cell carcinoma using topic 5-aminolaevulinic acid / A.J. Stell, J.M. Dobson, K. Langmack K. // *J Small Anim Pract.* – 2001. – P. 164-169.
377. Stell, A.J. Treatment of superficial squamous cell carcinoma of the nasal planum in cats using photodynamic therapy / A.J. Stell, K. Langmack, J.M. Dobson // *Proceedings of BSAVA Congress.* – 1999. – P. 314.

378. Straw, R. C. Canine mandibular osteosarcoma: 51 cases (1980–1992) / R. C. Straw, B. E. Powers, J. Klausner, R. A. Henderson, W. B. Morrison, D. L. McCaw, H. J. Harvey, R. M. Jacobs, R. J. Berg / *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* - 1996. - № 32. – p. 257–262.
379. Svaasand, L.O. Photodynamic and photothermia response of malignant tumors. / *L.O. Svaasand Med Phys.* –1985. – Vol. 12. – P. 455–461.
380. Szeimes, R.M. Wavelength dependency of photodynamic therapy effects after sensitization with 5 aminolevulinic acid in vitro and in vivo / R.M. Szeimes, C. Aeels, C. Fritsch, S. Wrer, P. Steinbach, et al.// *Journal of Investigative Dermatology.* – 1995. – Vol. 105. – P. 672-677.
381. Tams, T.R. Esophageal neoplasia and periesophageal masses. In: Tams TR, ed. *Handbook of small animal gastroenterology.* / T.R. Tams// Philadelphia: WB Saunders. – 1996. – P. 211–214.
382. Tanabe, S. Fluorescence detection of a new photosensitizer, PAD-S31, in tumour tissues and its use as a photodynamic treatment for skin tumours in dogs and a cat: a preliminary report / S. Tanabe, M. Yamamaguchi, M. Iijima, S. Nakajima, I. Sakata // *Vet J.* – 2004. – Vol. 167. – P. 286–293.
383. Thamm, D.H. Preclinical investigation of PEGylated tumor necrosis factor alpha in dogs with spontaneous tumors: phase I evaluation / D.H. Thamm, I.D. Kurzman, M.A. Clark, et al // *Clin Cancer Res.* – 2010. – V. 16 (5). – P. 1498–1508.
384. Theon, A.P. Analysis of prognostic factors and patterns of failure in dogs with malignant oral tumors treated with megavoltage irradiation / A.P. Theon, C. Rodriguez, B.R. Madewell // *J Am Vet Med Assoc.* – 1997. – Vol. – 210. – P. 778.
385. Theon, A.P. Prognostic factors associated with radiotherapy of squamous cell carcinoma of the nasal plane in cats / A.P. Theon, B.R. Madewell, V.I. Shearn, et al.// *J Am Vet Med Assoc.* – 1995. – Vol. 206. – P. 991–996.
386. Thoma, R.E. Phototherapy: a promising cancer therapy / R.E. Thoma, R.M. Stein, K.R. Weishaupt, T.J. Dougherty // *Vet Med (Sm Anim Clin).* –1983. – P. 1693–1699.

387. Thrall, D.E. Orthovoltage radiotherapy of oral fibrosarcomas in dogs / D.E. Thrall // *J Am Vet Med Assoc.* – 1981. – Vol. 172. – P.159-162.
388. Thomas, L. Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states / L. Thomas, H. Lawrence // Hoeber-Harper, New York. – 1959. – pp. 529–532.
389. Tomohiro, O. Effects of photodynamic therapy with talaporfin sodium on squamous cell carcinoma and sarcoma cells / O. Tomohiro, Y. Kawase, I. Hiroshi, S. Kishimoto, S. Ikuta// *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* – 2017. – Vol. 18. – P. 213-220.
390. Tsutsui, H. Optimisation of illumination for photodynamic therapy with mTHPC on normal colon and a transplantable tumour in rats / H. Tsutsui, A.J. MacRobert, A. Curnow, A. Rogowska, G. Buonaccorsi, H. Kato, S.G. Bown // *Lasers Med Sci.* – 2002. – P. 101-109.
391. Turrel, J. Radiation therapy and hyperthermia. In: Holzworth J, ed. «Diseases of the Cat.» /J. Turrel // *J Philadelphia: Saunders.* – 1987. – P. 606–618.
392. Ui, H. Photodynamic therapy of nonmelanoma skin cancer with topical aminolevulinic acid: a clinical and histologic study / H. Ui, S. Salasche, T. Ariz, N. Kollias, et al. // *Archives of Dermatology.* – 1995. – Vol. 131. – P. 737-738.
393. USDA licenses DNA vaccine for treatment of melanoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* – 2010. – Vol. 236. – № 5. – P. 495.
394. van der Veen N. Fluorescence imaging and photodynamic therapy with mTHPC and Photofrin in a rat skin-fold observation chamber model. In: Horrobin DF (ed) *New Approaches to Cancer Treatment – Unsaturated Lipids and Photodynamic Therapy* / N. van der Veen, E. van Leengoed, W. Star // London: Churchill Communications Europe. – 1994. – P. 121–132.
395. van der Veen N. In vivo fluorescence kinetics and photodynamic therapy using 5-aminolaevulinic acid-induced porphyrin: increased damage after multiple irradiations / N. van der Veen, E. van Leengoed, W. Star // *Br J Cancer.* – 1994. – Vol. 70. – P. 867–872.

396. van Geel I.P. Influence of fractionation and fluence rate in photodynamic therapy with Photofrin or mTHPC / I.P. van Geel, H. Oppelaar, J.P. Marijnissen, et al.// *Radiat Res.* –1996. – Vol. 145. – P. 602–609.
397. van Jillegersberg R. Current status of photodynamic therapy in oncology. / R. van Jillegersberg, W.J. Kort, J.H. Wilson // *Drugs.* –1994. – Vol. 48. – P. 510–527.
398. Vanberg, K. Photodynamic therapy of non-melanoma malignant tumours of the skin using topical delta-amino levulinic acid sensitization and laser irradiation / K. Vanberg, T. Anoersson, D. Killanoer, I. Wang, U. Stenram, et al.// *British Journal of Dermatologyl.* –1994. –Vol. 30. –P. 743-751.
399. Withrow, S. J. Tumours of the skin and sub cutaneous tissues. / In: *Small Animal Clinical Oncology*, 2nd edn. Eds S. J. Withrow and E. G. MacEwen. W. // Saunders. Philadelphia. – 1996. – P. 173-176.
400. Voan, J. Choice of the proper wavelength for photochemotherapy / J. Voan, V. Iani, L.W. Ma // *Proceedings of SPIE (International Society for Optical Engineering).* – 1996. –Vol. 2625. – P. 544-549.
401. Von Euler, H. Efficient adenovector CD40 ligand immunotherapy of canine malignant melanoma/ H. von Euler, A. Sadeghi, B. Carlsson, et al // *J. Immunother.* – 2008. – V. 31 (4). – P. 377–384.
402. Wallace, J. Hemimaxillectomy for the treatment of oral tumors in 69 dogs / J. Wallace, D.T. Matthiesen, A.K. Patnaik // *Vet Surg.* – 1992. – Vol. 21. – P. 337-341.
403. Wan, S. Transmittance of nonionizing radiation in human tissues / S. Wan, J.A. Parrish, R.R. Anderson, M. Madden // *Photochem Photobiol.* – 1981. – Vol. 34. – P. 679–681.
404. Watanabe, M. Laser treatment in small animals Lasers, wounds and inflammation. Part 1. / M. Watanabe // *Journal of Veterinary Medicine.* – 1996. – P. 417-419.
405. Watanabe, M. Laser treatment in small animals. Lasers, wounds and inflammation. Part 2. / M. Watanabe // *Journal of Veterinary Medicine.* – 1996. – P. 513-516.

406. Weishaupt, K.R. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photo-inactivation of a murine tumor / K.R. Weishaupt, C.K. Gomer, T.J. Dougherty // *Cancer Res.* – 1976. – Vol. 36. – P. 2326–2329.
407. Wergin, M.C. The influence of fractionated radiation therapy on plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration in dogs with spontaneous tumors and its impact on outcome / M.C. Wergin, M. Roos, N. Inteeworn, et al. // *Radiother Oncol.* – 2006. – Vol. 79. – P. 239–244.
408. WHO Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. Geneva, – 1979. – P 45.
409. Wieman, T.J. Effect of photodynamic therapy on blood flow in normal and tumor vessels / T.J. Wieman, T.S. Mang, V.H. Fingar, et al // *Surgery.* – 1988. – V. 104. – № 3. – P. 512-517.
410. Wieman, T.J. Effect of photodynamic therapy on blood flow in normal and tumor vessels / T.J. Wieman, T.S. Mang, V.H. Fingar, T.G. Hill, et al. // *Surgery.* – 1988. – Vol. 104. – № 3. – P. 512-517.
411. Wile, A.G. Laser photoradiation therapy of cancer following hematoporphyrin sensitization / A. G. Wile, A. Dahlman, R.G. Burns, et al. // *Lasers Surg Med.* – 1982. – Vol. 2. – P. 163–168.
412. Wilson, B.C. Chromatographic analysis and tissue distribution of radiocopper-labeled haematoporphyrin derivatives / B.C. Wilson, G. Firnau, W.P. Jeeves, et al. // *Lasers Med Sci.* – 1988. – Vol. 3. – P. 71–80.
413. Wilson, B.C. In vivo and post mortem measurements of the attenuation spectra of light in mammalian tissues / B.C. Wilson, W.P. Jeeves, D.M. Lowe // *Photochem Photobiol.* – 1985. – Vol. 42. – P. 153–158.
414. Wilson, B.C. The determination of light fluence distributions in photodynamic therapy. In: Kessel D, editor *Photodynamic therapy of neoplastic diseases* / B.C. Wilson, M.S. Patterson // Boca Raton (FL): CRC Press. – 1990. – P. 129–145.
415. Withrow, S.J. Esophageal cancer. In: Withrow S.J., MacEwen E.G., eds. *Small animal clinical oncology.* / S.J. Withrow // Philadelphia: WB Saunders. – 1996. – P. 241–243.

416. Withrow, S.J. Resection of the nasal planum in nine cats and five dogs / S.J. Withrow, R.C. Straw // *Journal of the American Animal Hospital Association* –1990. – Vol. 26. – P. 219–222.
417. Withrow, S.J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: Withrow S.J., MacEwen E.G., eds. *Small Animal Clinical Oncology*, 3rd ed. / S.J. Withrow// Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company. – 2001. – P. 233–260.
418. White, R. A. Mandibulectomy and maxillectomy in the dog: Long term survival in 100 cases / R. A. White / *J. Small Anim. Pract.* – 1991. - №32. – p. 69–74.
419. Wu, Y.S.L. Plasma vascular endothelial growth factor is useful in assessing progression of breast cancer post-surgery and during adjuvant treatment / Y.S.L. Wu, R. Chillar, J.V. Vadgama // *Int J Oncol.* – 2002. – Vol. 20, – P. 509–516.
420. Wyss, P. Photodynamic therapy of locoregional breast cancer recurrences using a chlorin-type photosensitizer / P. Wyss, V. Schwarz, D. Dobler-Girdziunaite, et al. // *Int J Cancer.* – 2001. – Vol. 93. – P. 720–724.
421. Yeishaupt, K.R. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photo-inactivation of a murine tumour. / K.R. Yeishaupt, C.J. Gomer, T.J. Dougherpi. *Cancer Research.* – 1976. – Vol. 36. – P. 2326-2329.
422. Yolf, P. Topical photodynamic therapy with endogenous porphyrins after application of 5-aminolevulinic acid / P. Yolf, E. Rieger, H. Kerl // *Journal of the American Academy of Dermatology.* – 1993. – Vol. 28. – P. 17-21.
423. Zeina, B. Killing of cutaneous microbial species by photodynamic therapy / B. Zeina, J. Greenman, W.M. Purcell, B. Das // *Br J Dermatol.* – 2001. – Vol. 144. – P. 274–278.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УДК: 619:616-0006

Методические рекомендации разработаны канд. вет. наук Е.В. Давыдовым, акад. РАН, д-р вет. наук, проф. Б.В. Уша (Институт ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности ФГБОУ ВО МГУПП), акад. РАН д-р биол. наук, проф. В.И. Дорожкиным (ВНИИВСГЭ-филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

В документе представлены рекомендации по фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностике новообразований у мелких домашних животных.

Фотодинамическая терапия - новый высокотехнологичный способ лечения новообразований различного происхождения и локализации, эффективный как в отношении доброкачественных, так и злокачественных образований. Флуоресцентная диагностика - инновационный способ визуализации флуоресценции фотосенсибилизатора, который накопился в опухолевой ткани. Определены показания к проведению фотодинамической терапии, приведены способы введения фотосенсибилизаторов, особенности проведения флуоресцентной диагностики и общие принципы фотодинамической терапии. Также даны рекомендации по организации кабинета фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики при ветеринарных клиниках.

Методические рекомендации предназначены для студентов ветеринарных вузов, ветеринарных врачей общей практики, онкологов, хирургов и научных сотрудников. Приведенные данные можно использовать как в учебном процессе при подготовке ветеринарных специалистов, так и в клинической деятельности ветеринарного врача.

Рецензенты: акад. РАН, д-р вет. наук, проф. С.В. Шабунин (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»),
д.м.н, проф. В.И. Тельпухов (кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии Первый МГМУ имени И.М. Сеченова)

Методические рекомендации «Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика новообразований у мелких домашних животных» рассмотрены и одобрены научно-методической комиссией ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (протокол № 2 от 16 марта 2021 г.) и Учёным советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (протокол № 2 от 8 апреля 2021 г.)

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2604412

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ
ЖИВОТНОГО**

Патентообладатель(ли): *Давыдов Евгений Владимирович (RU)*

Автор(ы): *Давыдов Евгений Владимирович (RU)*

Заявка № 2015116337

Приоритет изобретения 29 апреля 2015 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 16 ноября 2016 г.

Срок действия патента истекает 29 апреля 2035 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ПИЩЕВЫХ
ПРОИЗВОДСТВ»
(ФГБОУ ВО «МГУПП»)

Институт ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и
агробезопасности

Кафедра ветеринарной медицины

«УТВЕРЖДАЮ»
директор Института ветеринарии,
ветеринарно-санитарной
экспертизы и агробезопасности
ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет
пищевых производств
д.в.н., профессор, академик РАН

 Б.В. Уша

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ
ДИАГНОСТИКА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МЕЛКИХ
ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

Методические рекомендации

Москва – 2021 г.

УДК 619:618.19-002

Методические рекомендации разработаны ст. преп. Немцева Ю.С., к.в.н Е.В Давыдовым, д.в.н. проф., академик РАН Б.В. Уша, асп. Серегина А.П. (Институт Ветеринарии, Ветеринарно-Санитарной Экспертизы и Агробезопасности ФГБОУ ВО МГУПП).

Фотодинамическая терапия новый высокотехнологичный способ лечения новообразований различного происхождения и локализации. Данный метод эффективен как в отношении доброкачественных, так и злокачественных образований. Флуоресцентная диагностика - инновационный способ визуализации флуоресценции фотосенсибилизатора, который накопился в опухолевой ткани. В методических рекомендациях отражены современные данные по проведению фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики опухолей молочной железы у мелких домашних животных. Определены показания к проведению фотодинамической терапии при опухолях молочной железы.

Методические рекомендации предназначены для широкого круга студентов и специалистов, а именно для: студентов ветеринарных ВУЗов, ветеринарных врачей общей практики, онкологов, хирургов и научных сотрудников. Приведенные данные можно использовать как в учебном процессе при подготовки ветеринарных специалистов, так и в клинической деятельности ветеринарного врача.

Рецензенты:

д.в.н., профессор кафедры «Ветеринарная медицина» ФГБОУ ВО МГУПП,
В.И. Луцай

д.м.н, профессор кафедры «Оперативная хирургия и топографическая анатомия»
Первый МГМУ имени И. М. Сеченова, В. И. Тельпухов

Методические рекомендации «Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика рака молочной железы у мелких домашних животных» рассмотрены и одобрены на заседании кафедры «Ветеринарная медицина» ИВВСЭиАБ (ФГБОУ ВО «МГУПП») протокол № 4 от «23» октября 2021 года, на заседании совета института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности (ИВВСЭиАБ) ФГБОУ ВО «МГУПП протокол № 5 от «12» ноября 2021 года.

Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика рака молочной железы у мелких домашних животных: методические рекомендации / сост. Ю.С. Немцева, Е.В. Давыдов, Б.В. Уша, А.П. Серегина // - М.: МГУПП, - 2021. – 26 с.

© Институт Ветеринарии, Ветеринарно-Санитарной Экспертизы и Агробезопасности
ФГБОУ ВО МГУПП, 2021

УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО ВЕТСТАР

подпись и печать

« 05 » февраля 2024 г.

АКТ

о внедрении (использовании) результатов
докторской диссертационной работы
Давыдова Евгения Владимировича



Комиссия в составе:

Председатель: Иванов Вадим Витальевич, доктор ветеринарных наук

Члены комиссии: Афанасьев Александр Владимирович, кандидат ветеринарных наук,
Усманов Ренат Алиуллинович – кандидат ветеринарных наук

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича «Теоретическое и экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии спонтанных злокачественных опухолей в ветеринарной медицине» представленной на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, внедрены и использованы в деятельности ветеринарной клиники «Солнышко», Казань (ООО «ВЕТСТАР»), при разработке способа лечения опухолей у животных в виде нового метода – Фотодинамическая терапия.

Результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича:

1. Разработаны показания для фотодинамическая терапия у животных.
2. Для сарком мягких тканей, рака молочной железы и опухолей кожи получены данные о эффективности лечения: объективный ответ, общая выживаемость, безрецидивный период, медиана продолжительности жизни.
3. Разработаны рекомендации по лечению методом фотодинамическая терапия опухолей кожи и рака молочной железы.
4. Изучены особенности накопления фотосенсибилизатора в фибросаркоме.

Заключение: применение в клинической ветеринарии результатов данных исследований позволяет существенно повысить эффективность лечения животным с злокачественными опухолями кожи, раком молочной железы, саркомой, а также опухолями ротовой полости. Следует отметить, что данный метод возможно применять животным, которым противопоказаны другие методы лечения, в том числе имеющим сопутствующие хронические болезни.

Председатель комиссии:

директор ветеринарной клиники «Солнышко», ветврач, д.в.н _____ Иванов В.В.

Члены комиссии:

Ветврач, к.в.н _____

Афанасьев А.В.

Ветврач, к.в.н _____

Усманов Р.А.



АКТ

о внедрении результатов докторской диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича

Комиссия в составе:

Председатель: Панов Р. Н.

Члены комиссии: Михеева Е.С., Чернова С. И

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича «Теоретическое и экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии спонтанных злокачественных опухолей в ветеринарной медицине» представленной на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, внедрены и использованы в деятельности ветеринарной клиники «Мальш» (ИП Панов Р.Н.), при разработке нового способа лечения опухолей у животных – фотодинамическая терапия в виде (примеры объектов внедрения).

Результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича:

1. Разработан алгоритм применение фотодинамической терапии опухолей у животных.
2. Определены показания к выбору дозы и объема лечения опухолей ротовой полости.
3. Получены экспериментальные данные по эффективности лечения: объективный ответ, общая выживаемость, безрецидивный период, медиана продолжительности жизни
4. Разработаны рекомендации по лечению методом фотодинамическая терапия саркомы мягких тканей, рака молочной железы опухолей кожи и ротовой полости.

Заключение: Использование указанных результатов позволяет повысить эффективность лечения злокачественных опухолей у мелких домашних животных. Особенно следует отметить эффективность фотодинамической терапии при опухолях сложной локализации: голова, шея, конечности, ротовая полость. Применение данного целенаправленного способа лечения позволяет сохранить анатомическую целостность организма.

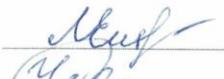
Председатель комиссии:

Индивидуальный предприниматель


Панов Р.Н.

Члены комиссии:

Ветеринарный врач


Михеева Е. С.

Ветеринарный врач


Чернова С. И.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Присягина Д.Б.

организации
ИИП Присягина
подпись и печать

« 15 » 23 2024 г.

АКТ
о внедрении (использовании) результатов
докторской диссертационной работы
Давыдова Евгения Владимировича

Комиссия в составе:

Председатель: Присягина Д.Б.

Члены комиссии: Каленская Т.С., Леденцова Е.С.

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича «Теоретическое и экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии спонтанных злокачественных опухолей в ветеринарной медицине» представленной на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, внедрены и использованы в деятельности ветеринарной клиники «Зоодом» (ИИП Присягина), при разработке нового способа лечения опухолей у животных – фотодинамическая терапия в виде (примеры объектов внедрения).

Результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича:

- 1) Разработан алгоритм рациональной персонифицированной фотодинамической терапии опухолей у животных.
- 2) Получены новые сведения о эффективности применения фотодинамической терапии у мелких домашних животных: объективный ответ (частичная и полная регрессии и стабилизация), медиана продолжительности жизни, безрецидивный период, общая выживаемость.
- 3) Разработаны рекомендации по лечению методом фотодинамическая терапия опухолей у животных и оснащению кабинета ФДТ.

Заключение: Использование полученных в процессе выполнения диссертационной работы результатов исследований позволит более эффективно лечить злокачественные опухоли у домашних животных. Проводить эффективное лечение, пациентам которым противопоказан наркоз, возрастным пациентам, а также имеющим различные хронические заболевания (ХБП, гепатоз, панкреатит, кардиопатии и пр.). Данный метод является альтернативой хирургическому лечению, лучевой терапии и криодеструкции.

Председатель комиссии:

директор ветеринарной клиники «ЗООДОМ»

Члены комиссии:

Ветеринарный врач

Ветеринарный врач

 Присягина Д.Б.

 Каленская Т.С.

 Леденцова Е.С.

УТВЕРЖДАЮ



Руководитель организации

Горová Т.Б.

АКТ

о внедрении (использовании) результатов

докторской диссертационной работы

Давыдова Евгения Владимировича

Комиссия в составе:

председатель Горová Т.Б.

члены комиссии: Бондарева О.Н., к. в. н. Шавырин Д.И.

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича «Теоретическое и экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии спонтанных злокачественных опухолей в ветеринарной медицине» представленной на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, внедрены в лечебный процесс в ветеринарной клинике «Веттал» (ИП Горová Т.Б.), в виде методики Фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи, ротовой полости, фибросарком и рака молочной железы у собак и кошек.

Результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича:

1. получены новые сведения о распределении фотосенсибилизатора Фотодитазин в плоскоклеточном раке ротовой полости собаки.
2. разработана методика фотодинамической терапии злокачественных опухолей у собак и кошек.
3. получены экспериментальные данные по эффективности фотодинамической терапии у собак и кошек.

Заключение: Использование указанных результатов позволяет повысить эффективность лечения опухолей у собак и кошек, также возможно лечить пациентов, которым противопоказан наркоз или химиотерапия, особенно важно отметить эффективное лечение опухолей сложной локализации, с сохранением анатомической целостности организма.

Председатель комиссии:

директор ветеринарной клиники «Веттал»

Горová Т.Б.

Члены комиссии:

Ветеринарный врач-хирург

Бондарева О.Н.

Ветеринарный врач, канд. вет. наук

Шавырин Д.И.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель организации

Галков В.В.

« 21 » 12 2023 г.



АКТ

о внедрении (использовании) результатов

докторской диссертационной работы

Давыдова Евгения Владимировича

Комиссия в составе:

председатель Галков В.В.

члены комиссии: Гусева О. В., Шабунин Н. А.

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича «Теоретическое и экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии спонтанных злокачественных опухолей в ветеринарной медицине» представленной на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, внедрены в деятельность ветеринарной клиники «Ветмастер» (ООО «Патрик»), в виде нового способа лечения злокачественных опухолей сложной локализации (опухоли ротовой полости, головы и конечностей) – фотодинамическая терапия.

Результаты диссертационной работы Давыдова Евгения Владимировича:

1. Получены новые сведения о эффективности лечения (объективный ответ, общая выживаемость, безрецидивный период) опухолей у собак и кошек методом фотодинамическая терапия.
2. Сформулированы показания к выбору лечения методом фотодинамическая терапия.
3. Разработаны рекомендации по лечению методом фотодинамическая терапия опухолей ротовой полости.

Заключение: Применение результатов диссертационной работы в практической ветеринарной деятельности позволяет эффективно лечить опухоли сложной локализации, избегать калечащих операций. А также проводить эффективное лечение гериатричным пациентам или тем, у кого есть противопоказания к наркозу.

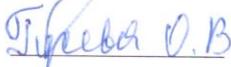
Председатель комиссии:

директор ветеринарной клиники «Ветмастер»

 Галков В.В.

Члены комиссии:

Заведующий хирургическим отделением
вет. клиники «Ветмастер», ветеринарный врач
Заведующий терапевтическим отделением,
вет. клиники «Ветмастер», ветеринарный врач

 Шабунин Н. А.
 Гусева О. В.