

## Доклад для Вета-Гранд Гельфонд М.

Как уже упоминалось ранее, нами изучена цитотоксическая активность Фотодитазина на культурах опухолевых клеток, а также индукция цитотоксической активности сенсibilизированной фотодитазином крови и ее компонентов после лазерной фотомодификации. Если прямая световая цитотоксичность фотодитазина на опухолевые клетки является вполне понятным и объяснимым явлением, то темновая гибель опухолевых клеток после внесения в культуру сенсibilизированных фотосенсibilизатором крови и ее компонентов, облученных лазером в другом помещении, явилось неожиданным и трудно объяснимым фактом.

Суть эксперимента заключалась в следующем.

Опыт проводили в стерильных условиях в модуле "Air Lock" (США) и ламинаре «САН-R4» (Финляндия). В качестве модели была использована линия монослойных опухолевых клеток Нер-2 (карцинома ротовой полости человека) и меланомы человека. Клетки культивировали 3 пассажами на среде MEM с 10% сыворотки крупного рогатого скота и гентамицином (Биолот, Россия) при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (Jouane, Франция), а затем использовали в логарифмической фазе роста. Клетки снимали с субстрата с помощью 0,25% раствора трипсина (Биолот, Россия) и высевали в концентрации 1x10<sup>3</sup> на 100 мкл полной питательной среды в лунки 96-луночного планшета. Через 24 часа в цельную кровь, эритроциты, плазму и сыворотку крови от здоровых доноров и больных с карциномами легкого или меланомами кожи вводилась микродоза фотодитазина. Через 5-10 мин сенсibilизированная кровь или ее компоненты облучались лазером в течение 5 минут с плотностью мощности 0,005 Вт\см<sup>2</sup>. После этого в затемненном помещении модифицированные кровь и ее компоненты вносились в культуру опухолевых клеток. Ставились все необходимые контрольные опыты, отображенные на слайде. На следующие сутки оценивали жизнеспособность опухолевых клеток в культуре путем окрашивания

метиленовым синим, и производили их подсчет в камере Горяева, после чего сравнивали количество клеток, подсчитанное в опытных и контрольных лунках в триплетах.

Стопроцентная гибель опухолевых клеток отмечена при добавлении к ним фотохимиомодифицированной плазмы.

Причем, соответствие принадлежности крови и ее компонентов больным с различными нозологическими формами заболевания или здоровым донорам морфологическому типу клеток в культуре значения не имело. Данный эффект был менее выраженным при внесении в лунки планшета с культурой цельной крови или отмытых эритроцитов.

Логично было бы объяснить такой эффект цитотоксическим действием активированных клеток-эффекторов иммунного ответа. Однако нами отмечена 100% гибель клеток в культуре при внесении в нее только питательной среды с добавлением 20% эмбриональной сыворотки, где естественно клеточные эффекторы иммунного ответа отсутствовали.

После экспериментов с культурами опухолевых клеток нами проведена клиническая апробация метода химиосенсибилизированной фотомодификации циркулирующей крови на волонтерах. Отличием от обычной фотомодификации крови явилось предварительное введение в кровь микродоз фотодитазина. У всех пациентов, не получавших к этому времени никакого паллиативного лечения, имелась генерализованная форма злокачественных новообразований различных локализаций: рак легкого, рак молочной железы, рецидив гипернефроидного рака почки, рак яичников.

В половине случаев, а именно у больных раком молочной железы и раком почки, нами получен положительный клинический эффект, заключающийся в заметном улучшении общего состояния, снижении болевого синдрома, повышении работоспособности и явном замедлении

скорости прогрессирования опухолевого процесса. При асцитной форме рака яичников и раке легкого с синдромом сдавления верхней полой вены лечебного эффекта не было и отмечено дальнейшее прогрессирования заболевания.

В качестве иллюстрации приводится следующее клиническое наблюдение.

Больная К. 36 лет. Ранее подвергалась комбинированному лечению по поводу рака левой молочной железы. На фоне проводимой химио- и гормонотерапии отмечено прогрессирование процесса. Беспокоят интенсивные боли в грудном отделе позвоночника, кашель, повышение температуры по вечерам, сильные головные боли. Общее состояние по индексу Карновского 40. При клинико-рентгенологическом обследовании установлены метастазы рака правой молочной железы в легких, лимфоузлах средостения, головном мозге, позвоночнике. С учетом неэффективности паллиативной терапии, начата сенсibilизированная фотомодификация крови. Внутривенно струйно вводилось 5мг фотодитазина. Через 5-10 мин после инъекции проводилась чрезкожная лазерная фотомодификация крови в течение 6 минут. Зоной облучения служила ушная раковина. Плотность мощности лазерного излучения составляла  $0,005 \text{ Вт/см}^2$ . Сеансы фотомодификации крови проводилась дважды в неделю в течение 8 месяцев. Во время сеанса больная отмечала легкое покалывание в зоне облучения. На следующие сутки наступало значительное субъективное улучшение общего состояния, повышение толерантности к физическим нагрузкам, прекращение болей в позвоночнике. Уже через месяц пациентка полностью отказалась от приема анальгетиков. Регулярно проводился контроль за показателями периферической крови, не выявлявший никаких патологических сдвигов.

К концу первого полугодия при КТ головного мозга отмечен полный регресс метастатических изменений.

При рентгенографии легких выявлен значительный регресс явлений обтурационной

пневмонии, более чем на 25% уменьшились размеры медиастинальных лимфоузлов и метастазов в легочной паренхиме.

Пациентка стала активно заниматься спортом, водит автомашину, вернулась на работу. К настоящему времени клиническая ремиссия, подтверждаемая данными инструментального обследования составляет 2 года. ФМК крови в настоящее время не проводится.

В настоящее время сенсibilизированную фотомодификацию крови получают 6 больных с генерализацией опухолевых процессов различных локализаций: кардиоэзофагеальный рак, рак молочной железы, рак яичников, рак легкого.

В настоящее время полная клиническая ремиссия получена у 1 больной в течение 4 лет.

У больного с кардиоэзофагеальным раком отмечено уменьшение размеров опухоли с 5 до 3см. Ликвидирован асцит. Индекс Карновского 90%.

Таким образом, в наших предварительных экспериментальных и клинических исследованиях было показано следующее.

1. Фотосенсibilизированная с помощью фотодитазина плазма крови и эмбриональная сыворотка оказывают цитотоксическое действие на опухолевые клетки в культурах.
2. Полученный цитотоксический эффект *in vitro* не зависит от активации клеток-эффекторов иммунного ответа.
3. У больных с генерализованной формой злокачественных новообразований при фотомодификации циркулирующей крови с использованием фотодитазина в ряде случаев получен регресс злокачественных опухолей.

Наш первый экспериментальный и клинический опыт позволяет предположить, что, помимо классической реализации процедуры фотодинамической терапии, существует еще один путь ее проведения. При этом нет необходимости доставки света непосредственно к опухоли, что иногда и технически невыполнимо. Благодаря системным, цитотоксическим эффектам сенсibilизированной фотомодифицированной крови, в ряде случаев вполне достижимо ее повреждающее воздействие на злокачественную опухоль, возможно путем инициации апоптоза. Это существенно расширяет сферу применения ФДТ.

В случае проведения полномасштабных экспериментальных работ по изучению механизма цитотоксического действия фотомодифицированной крови, указанная методика при

ее доработке до уровня стандартной медицинской технологии, может стать новым перспективным методом терапии онкологических больных, используемым как в сочетании с рутинными методами лечения онкологических заболеваний, так и самостоятельно. По уровню клинической эффективности разрабатываемая технология может дополнить существующие в онкологии методы паллиативного лечения.