

Предварительные результаты применения фотомодификации крови, сенсibilизированной «Фотодитазином», в лечении распространенных форм злокачественных новообразований

М.Л. Гельфонд

НИИ Онкологии им. Н.Н. Петрова Росздрава, Санкт-Петербург

Резюме. Облучение крови лазерным излучением проведено 163 больным, оперированным по поводу рака легкого, желудка, толстой кишки. Клиническая апробация метода фотомодификации циркулирующей химиосенсibilизированной крови выполнена в группе волонтеров, больных генерализованной формой злокачественных новообразований. Показано, что новая методика фотогемотерапии, после ее доработки до уровня стандартной медицинской технологии, может дополнить паллиативное лечение онкологических больных.

Ключевые слова: фотомодификация крови, фотодитазин, фотодинамическая терапия, лазерное излучение, онкология.

Ведение. При проведении фотодинамической терапии всегда облучается определенный объем крови, циркулирующей в сосудах опухоли и окружающих тканей. Поэтому в ходе изучения лечебной активности препарата «Фотодитазин», кроме оценки эффектов прямого фототоксического повреждения опухолевых клеток в культурах, определялось действие фотохимических реакций на кровь и ее компоненты.

Воздействие на циркулирующую кровь или кровь больного вне организма квантами света называют фотомодификацией крови (ФМК), или фотогемотерапией. Под влиянием оптического излучения в крови возникают структурно-функциональные и биохимические реакции. Трансфузия фотомодифицированной крови или фотомодификация циркулирующей крови индуцирует изменения нервной, эндокринной и ферментных систем организма.

Молекулы биологических систем поглощают фотоны строго определенной длины волны. Кровь является многокомпонентной системой, поэтому молекулы ее форменных элементов и плазмы поглощают фотоны с различными длинами волн. Главными мишенями оптического излучения являются аминокислоты, белки, липиды, полисахариды клеточных мембран и цитоплазмы, гемоглобин [1, 2, 5]. Длина волна 632,8 нм лежит в области одной из полос поглощения кислорода. Переходя в синглетное состояние,

кислород индуцирует в тканях окислительные процессы, далее вступают в реакцию антиоксиданты.

В целом, ФМК обладает нормализующим действием, стимулируя только те процессы, свойства и функции, которые снижены по сравнению с нормой. Если соответствующие показатели велики, то происходит их оптимизация или регистрируется отсутствие влияния.

Ярлык «биостимуляции» долго служил психологическим барьером, ограничивающим использование лазерного излучения в онкологии. Но в последнее десятилетие, сначала в экспериментальных, а затем и в клинических условиях было изучено влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на опухолевые и окружающие их нормальные ткани, оценены иммунологические, биохимические и клинические эффекты аутотрансфузий фотомодифицированной крови [3, 4, 6]. Было установлено, что лазерные воздействия не стимулируют опухолевые процессы.

Появились многочисленные сообщения об успешном применении лазерного излучения во время лучевой терапии (для снижения болевого синдрома, уменьшения тяжести первичных лучевых реакций и ускорения регенерации тканей после действия ионизирующего излучения). Все шире используют онкологи лазеротерапию для предупреждения и лечения послеоперационных осложнений, а также побочных эффектов, возникающих при химиотерапии.

Материалы и методы первого этапа исследования.

В НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова апробация методики фотомодификации крови проводилась в условиях торакального отделения, отделения реанимации и интенсивной терапии. Для облучения крови использовали гелий-неоновое и арсенид-галлиевое низкоинтенсивное лазерное излучение.

Эффективность терапии оценивали по клиническим данным, гемограмме, клинической коагулограмме и электрокоагулограмме, функциональной активности лимфоцитов в реакции бласттрансформации с фитогемагглютинином, продукции интерлейкина-2 мононуклеарами циркулирующей крови.

Облучение крови проведено 163 пациентам, оперированным по поводу рака легкого (147 чел.), рака желудка (11 чел.) и рака толстой кишки (5 чел.). В группе больных раком легкого (возраст 47-83 года) лечились 58 больных после пневмонэктомии и 89 – после резекции легкого. Число сеансов на курс лечения 2-5. В 65 случаях (при тахисистолической форме мерцательной аритмии) ФМК проводилась в комплексе с введением антиаритмических препаратов. Контрольная группа включала 127 пациентов.

Результаты. Послеоперационный период на фоне ФМК протекал без осложнений, больные отмечали быстрое улучшение общего состояния, повышение аппетита, двигательной активности. После лекарственного купирования пароксизмов тахисистолической формы мерцательной аритмии синусовый ритм стойко восстанавливался после первого сеанса облучения крови. В контрольной группе нарушения ритма сохранялись дольше (12-18 ч.), а после купирования – рецидивировали более чем у половины больных.

После ФМК снижался лейкоцитоз, нормализовалась лейкоцитарная формула крови, уменьшалась выраженность гиперкоагуляции (увеличивалось время свертывания крови), продукция интерлейкина-2 возрастала в два раза (с 12,7 % до 26,4 %), повышались показатели спонтанной и стимулированной бласттрансформации лимфоцитов (табл. 1).

Обсуждение результатов. Таким образом, метод ФМК является эффективным компонентом лечения онкологических больных, повышающим эффективность медикаментозной терапии, улучшающим показатели клеточного иммунитета и продукцию медиаторов иммунного ответа.

Таблица 1.

Характеристика иммуномодулирующего действия ФМК
(по результатам реакции бласттрансформации)

Бласттрансформация до ФМК			Бласттрансформация после ФМК		
Спонтанная	С митогеном	%	Спонтанная	С митогеном	%
1182,0	1117,9	99,7	2011,8	2411,3	119,9

Материалы и методы второго этапа исследования.

Фотомодификация лазерным (λ 662 нм) излучением крови, сенсibilизированной «Фотодитазином», – перспективный подход к оптимизации лечебного метода, но механизм действия фотомодификации сенсibilизированной крови мало изучен, а режим облучения часто является эмпирическим. Поэтому проведены эксперименты на линии монослойных опухолевых клеток Нер-2 (карцинома ротовой полости человека) и меланомы человека.

В стерильных условиях в модуле «Air Lock» (США) и ламинаре «CAT-R4» (Финляндия) клетки культивировали 3 пассажами на среде MEM с 10%

раствором сыворотки крупного рогатого скота и гентамицином (Биолот, Россия) при 37 °С и 5% CO₂ в CO₂-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 1x10³ на 100 мкл полной питательной среды в лунки планшета.

Через 24 часа в цельную кровь, эритроциты, плазму и сыворотку крови доноров и больных с карциномами легкого или меланомами кожи вводилась микродоза фотосенсибилизатора (ФС). Через 5-10 мин. сенсibilизированные среды облучали лазерным излучением в течение 5 минут с плотностью мощности 0,005 Вт/см². После этого в затемненном помещении модифицированную кровь и ее компоненты вносили в культуру опухолевых клеток.

На следующие сутки оценивали жизнеспособность опухолевых клеток в культуре, путем окрашивания метиленовым синим, проводили их подсчет в камере Горяева, анализировали количество клеток в «опытных» и интактных контрольных лунках.

Результаты и их обсуждение. Все опухолевые клетки погибли после добавления в культуру сенсibilизированной «Фотодитазином», облученной лазерным излучением плазмы крови (табл. 2, рис. 1). Добавление цельной крови или отмытых эритроцитов в культуру клеток, в меньшей степени способствовало гибели опухоли. От принадлежности крови и ее компонентов больным или здоровым людям цитотоксический эффект не зависел. Все опухолевые клетки погибали также при внесении в культуру питательной среды, содержащей 20% эмбриональной сыворотки. Следовательно, фотосенсибилизированная фотодитазином плазма крови и эмбриональная сыворотка оказывают *in vitro* цитотоксическое действие на культуру опухолевых клеток Нер-2 и меланомы человека. Эффект не зависит от клеточного иммунитета.

Клиническая апробация метода фотомодификации циркулирующей химиосенсибилизированной Фотодитазином крови проведена в группе волонтеров. Это были больные с генерализованной формой рака легкого, молочной железы, почки, яичников, желудка, меланомы кожи. В период клинического исследования они не получали другого лечения.

Таблица 2.

Характеристика цитотоксического действия
«Фотодитазина»

Компонент, внесенный в культуру опухолевых клеток	Количество погибших клеток, %
Фотосенсибилизатор («Фотодитазин»)	17
Фотодитазин, инактивированный лазерным излучением	0
Фотосенсибилизатор + кровь	86
Фотосенсибилизатор + кровь + лазерное излучение	97
Фотосенсибилизатор + эритроциты	38
Фотосенсибилизатор + эритроциты + лазерное излучение	53
Фотосенсибилизатор + плазма	97
Фотосенсибилизатор + плазма + лазерное излучение	100
ФС + эмбриональная сыворотка + лазерное излучение	100

В половине случаев, а именно, у больных раком легкого, желудка, молочной железы, почки, получен положительный клинический эффект. Он заключался в заметном улучшении общего состояния, снижении болевого синдрома, повышении работоспособности, снижении темпов прогрессирования опухолевого процесса. В качестве иллюстрации приводим клиническое наблюдение.

Больная К., 36 лет. Диагноз рака левой молочной железы установлен на основании трепанобиопсии новообразования. От операции отказалась. На фоне химио- и гормонотерапии наблюдалось прогрессирование процесса. В момент включения в исследование беспокоили интенсивные боли в грудном отделе позвоночника, кашель, повышение температуры по вечерам, сильные головные боли. Общее состояние, по индексу Карновского, 40. При клинико-рентгенологическом обследовании выявлены метастазы рака в легкие, лимфоузлы средостения, головной мозг, позвоночник.

Назначена фотомодификация сенсibilизированной крови. Внутривенно струйно вводили 5 мг Фотодитазина. Через 5-10 мин. после инъекции проводили транскутанное 6-минутное облучение крови лазерным излучением. Плотность мощности излучения – 0,005 Вт/см². Сеансы выполняли 2 раза в неделю 8 месяцев. Во время сеанса больная чувствовала легкое покалывание в зоне облучения. На следующие сутки после сеанса она отмечала значительное улучшение общего состояния, повышение толерантности к физическим нагрузкам, прекращение болей в позвоночнике. Через месяц пациентка прекратила прием обезболивающих препаратов. Периодический контроль гемограммы не выявил изменений со стороны системы крови. Через 6 мес. при компьютерной томографии отмечен полный регресс метастатических образований в головном мозге. На контрольной рентгенограмме грудной клетки зарегистрировано

уменьшение размеров инфильтрата в легких (пневмонита и метастазов), медиастинальных лимфоузлов (более чем на 25 %).

Продолжительность клинической ремиссии, подтвержденная данными объективного обследования, составляет 2 года. Пациентка активно занимается спортом, водит автомашину, вернулась на работу.

У больных с асцитной формой рака яичников, раком легкого с синдромом сдавления верхней полой вены отмечено дальнейшее прогрессирования заболевания.

Выводы. Проведенные экспериментальные и клинические исследования позволяют предположить, что, помимо классической фотодинамической терапии, возможен еще один метод лечения, использующий фотосенсибилизатор, – ФМК химиосенсибилизированной крови. Его проведение показано в том больным, которым невозможно облучить патологический очаг. В ряде случаев он оказывает повреждающее действие на злокачественную опухоль.

Складывается впечатление, что в присутствии минимальных доз фотосенсибилизатора (Фотодитазина), системные эффекты ФМК значительно усиливаются. Однако, если механизм светового цитотоксического действия Фотодитазина понятен, то причина темновой гибели опухолевых клеток после внесения в культуру сенсibilизированных компонентов крови и сенсibilизированной цельной крови, облученных лазерным светом в другом помещении, не ясна. Возможно, это инициация апоптоза.

Мы считаем, что фотомодификация химиосенсибилизированной крови, после ее доработки до уровня стандартной медицинской технологии, может стать перспективным методом терапии онкологических больных, используемым как в сочетании с рутинными методами лечения, так и самостоятельно. По уровню клинической эффективности разрабатываемая технология может дополнить существующие в онкологии методы паллиативного лечения.

1. Брилли Г.Е., Беспалова Т.А., Мартынов Л.А. и др. Влияние излучения гелий-неонового лазера на стрессорные изменения гомеостаза / Лазерная и магнитная терапия в экспериментальных и клинических исследованиях: Тез. докл. Всеросс. симп. - Обнинск,1993. - С.12-14.
2. Воронина О.Ю., Каплан М.А., Степанов В.А. Нерезонансные механизмы биостимулирующего действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Физическая медицина. - 1992. - Т. 2. - №1-2. - С. 40-50.
3. Демочко В.Б., Кицманюк В.П. Внутрисосудистое лазерное облучение крови в раннем послеоперационном периоде у онкологических больных / Лазерная и магнитная терапия в экспериментальных и клинических исследованиях: Тез. докл. Всеросс. симп. - Обнинск,1993. - С. 55-56.
4. Зырянов Б.Н., Евтушенко В.А., Карпов А.Б. Лазерная терапия в онкологии / Лазерная и магнитная терапия в экспериментальных и клинических исследованиях: Тез. докл. Всеросс. симп. - Обнинск,1993. - С.56-58.
5. Илларионов В.Е. Основы лазерной терапии. - М.: Респект,1992. – 123 с.
6. Чейда А.А., Каплан М.А., Кветной И.М., Миронов А.А. О возможности сочетанного действия НИЛИ и ионизирующего излучения на опухоль: Сб. науч. тр. ИГМА. – Иваново,1997. - С. 311-313.