

2. Макарычева Т.Г., Цыбусов С.Н., Коченов В.И. Патоморфоз тканей геморроидальных узлов после компрессионной криодеструкции в сочетании с глубоким адгезивным криовоздействием. // Новое в практической медицинской криологии: материалы научно-практической конференции. – Москва, 2005 – с. 17–19.
3. Черкасова О.Г., Шабалкина Е.Ю., Харитонов Ю.Я., Цыбусов С.Н., Коченов В.И. Использование мелкодисперсных железосодержащих композитов в лечении и диагностике: достижения и проблемы.//Современные технологии в медицине. – 2012– №2– с. 31–36.
4. Bruce W.R., Van Der Gaag H. A quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation in vivo. Nature 1963; 199: 79–80.
5. Caso J.R., Tsivian M., Mouraviev V. et al. Complications and postoperative events after cryosurgery for prostate cancer. Br J Urol. Int. 2012; 109 (6): 840–845.
6. Gaitanis G, Bassukas I. Intralesional bevacizumab as in-add adjuvant to immunocryosurgery for locally advanced basal cell carcinoma. J Eur. Acad. Dermatol. Venerol. 2014; 28 (8): 1117–1121.
7. Goltsev A.M., Safranchuk, O.V. Chelombitko O.V. et al. Assessment of functional activity of Ehrlich adenocarcinoma tumorstem cells after interaction with orthovanadate-based nanoparticles. Proceedings of the 4th Interdisciplinary Conference 'Biologically active materials: fundamentals and applied problems of production and application'; Novyi Svet, Crimea; 2013, p. 385–386.
8. Gupta P.B., Onder T.T., Jiang G. et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. Cell 2009; 138 (4): 645–659.
9. Hinshaw J.L., Littrup P.J., Durick N. et al. Optimizing the protocol for pulmonary cryoablation: a comparison of a dual- and triplefreeze protocol. Cardiovasc. Intervent. Radiol. 2010; 33(6): 1180–1185.
10. Joosten J.J., Muijen G.N., Wobbes T., Ruers T.J. In vivo destruction of tumor tissue by cryoablation can induce inhibition of secondary tumor growth: an experimental study. Cryobiology 2001; 42 (1): 49–58.
11. Liu J., Deng Z.S. Nano-cryosurgery: advances and challenges. J Nanosci Nanotechnol. 2009; 9 (8): 4521–4542.
12. Rao W., Bellotti A., Littrup P.J. et al. Nanoparticle-encapsulated doxorubicin enhances cryoablation of cancer stem-like cells. Technology 2014; 2: 28–35.
13. Robilotto A.T., Baust J.M., Van Buskirk R.G. et al. Temperature dependent activation of differential apoptotic pathways during cryoablation in a human prostate cancer model. Prostate Cancer Prostatic Dis 2013; 16 (1): 41–49.
14. Rosland G.V., Engelsen A.S. Novel points of attack for targeted cancer therapy. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2015; 116 (1): 9–18.
15. Sidana A. Cancer immunotherapy using tumor cryoablation. Immunotherapy 2014; 6 (1): 85–93.
16. Sugiyama Y., Saji S., Miya K. Therapeutic effect of multimodal therapy, such as cryosurgery, locoregional immunotherapy and systemic chemotherapy against far advanced breast cancer. Gan To Kagaku Ryoho 2001; 28 (11): 1616–1619.
17. Sun Z.Q., Yang Y., Liu J. In vivo experiments and numerical investigations on nanocryosurgical freezing of target tissues with large blood vessels. J Biomed Nanotechnol. 2012; 8 (1): 10–18.
18. Tarkowski R., Rzaca M. Cryosurgery in the treatment of women with breast cancer – a review. Gland Surgery 2014; 3 (2): 88–93.
19. Yu H., Burke C.T. Comparison of percutaneous ablation technologies in the treatment of malignant liver tumors. Semin Intervent Radiol 2014.
20. Zeng Y., Wodzinski D., Gao D. et al. Stress-response protein RBM3 attenuates the stem-like properties of prostate cancer cells by interfering with CD44 variant splicing. Cancer Res. 2013; 73 (13): 4123–4133.

© Т.Г. Котова, С.Н. Цыбусов, ( 261126.79@mail.ru ), Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»,

РЕКЛАМА

ИХО Каллиграфия

Каллиграфия для всех

ИХО ул. Баррикадная 15 тел: +7-902-311-16-46 94-00-06

# ВЛИЯНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ И АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

## THE INFLUENCE OF PHOTODYNAMIC THERAPY ON ADHESIVE PROPERTIES OF ERYTHROCYTES AND THE ACTIVITY OF LEUKOCYTES IN HUMAN BLOOD CANCER

*V. Purckhvanidze  
Y. Simakov*

### Annotation

Investigated the state of the cellular elements in the peripheral blood drop from the finger using optical complex and a computer program "VideoZavr" on micropreparations type "the crushed drop" obtained from 15 patients with cervical cancer, kidney cancer, vulvar cancer, breast cancer, and 8 subjects (control group) increased adhesion of red blood cells. The cancer patients underwent photodynamic therapy, and subjects in the control group were only injected photoditazine. After photodynamic therapy, there was a reduction of the adhesion of red blood cells in the peripheral blood, and in 20 minutes is the disintegration of sludge of red blood cells by about 80 %. The revealed changes of adhesion of erythrocytes after administration of fotoditazin photodynamic therapy and contribute to the amplification of tissue respiration and improving cellular immunity. Release of leukocytes, previously clamped aggregated red blood cells allows white blood cells to reach the gaps formed plasma to increase mobility and to proceed to enhanced phagocytosis. The process of strengthening the phagocytic activity of leukocytes was observed directly in the field of view of the microscope, on the vital drug blood taken 20 minutes after photodynamic therapy. Activation of cellular immunity occurs due to the increase of phagocytosis of leukocytes and increase the motility of white blood cells.

**Keywords:** photodynamic therapy, tumor cancer, photoditazine, adhesion of erythrocytes, the activity of leukocytes.

*Пурцхванидзе Виоллета Александровна  
Гл. врач центра высоких технологий,  
"ЛазерВита", к.мед.н., г Москва  
Симаков Юрий Георгиевич  
Д.биол.н., профессор, Московский  
государственный университет  
технологий и управления  
им. К.Г. Разумовского, г. Москва*

### Аннотация

Исследовали состояние клеточных элементов в капле периферической крови из пальца с помощью оптического комплекса и компьютерной программы "VideoZavr" на микропрепаратах типа "давленная капля", полученных от 15 больных раком шейки матки, раком почки, раком вульвы, раком молочной железы, и 8 испытуемых (контрольная группа) с повышенной адгезией эритроцитов. Пациентам с раковыми заболеваниями проводили фотодинамическую терапию, а испытуемым контрольной группы вводили только фотодитазин. После ФДТ отмечается снижение адгезии эритроцитов в периферической крови, а через 20 минут происходит распад сгустка эритроцитов примерно на 80 %. Выявленные изменения адгезии эритроцитов после введения фотодитазина и проведения ФДТ способствуют усилению тканевого дыхания и повышению клеточного иммунитета. Деблокирование лейкоцитов, зажатых ранее агрегированными эритроцитами, позволяет белым клеткам крови выйти в образовавшиеся лакуны плазмы, увеличить подвижность и приступить к усиленному фагоцитозу. Процесс усиления фагоцитарной активности лейкоцитов наблюдается непосредственно в поле зрения микроскопа, на витальном препарате крови, взятой через 20 минут после проведения ФДТ. Активация клеточного иммунитета происходит за счет увеличения фагоцитоза у лейкоцитов и повышения подвижности клеток белой крови.

### Ключевые слова:

Фотодинамическая терапия, раковые опухоли, фотодитазин, адгезия эритроцитов, активность лейкоцитов.

За последнее время фотодинамическая терапия (ФДТ) с использованием фотодитазина (ФС) находит все большее применение при лечении злокачественных опухолей, и часто даже выходит на первое место среди современных методов борьбы с "болезнью века" [1–4]. Однако при проведении терапии злокачественных опухолей с помощью ФДТ некоторые вопросы остаются еще не изученными, в частности, неизвестно как влияет

ФС и воздействие лазерного излучения на образование "монетных столбиков" и сгустка эритроцитов, а самое главное как отразится проведение ФДТ и действие ФС на состоянии лейкоцитов, ответственных за клеточный иммунитет. В нашем случае выявлялось воздействие на клеточные элементы крови электромагнитного излучения от красного лазера совместно с ФС, так и отдельно действие фотодитазина, на образование монетных столби-

ков" и сладжа эритроцитов в периферической крови, взятой из пальца. Агглютинация эритроцитов, которая часто отмечается у пациентов при наличии злокачественной опухоли, может быть снижена в результате проведения ФДТ, а, возможно, такое же действие окажет только ФС без применения лазерного излучения. Это имеет большое теоретическое и практическое значение, так как образование монетных столбиков и сладжа эритроцитов воздействуют непосредственно на процессы тканевого дыхания и активность клеточного иммунитета.

Скрининг-анализ крови из пальца показывает, что при сдвиге pH крови в кислую сторону до 7,3 (норма pH-7,4) эритроциты образуют "монетные столбики". С возрастом, а также при патологических процессах, "монетные столбики" увеличиваются, помимо этого эритроциты могут слипаться и формировать сгустки, так, называемый, "сладж". Образованию сладжа, определяемому путем гемосканирования живой крови, также способствует неправильное питание, употребление с пищей различных пищевых добавок, продуктов, изготовленных из генотипифицированных объектов (ГМО) [5 – 7]. Не надо забывать, что распад клеток злокачественной опухоли, также способствует образованию токсинов, которые могут стать причиной нарушения адгезии эритроцитов, образования сладжа и снижения клеточного иммунитета, как за счет подавления метаболизма лейкоцитов, так и за счет их механического блокирования "монетными столбиками" и сладжем.

Формирование "монетных столбиков" эритроцитов и "сладжа" в крови нарушает клеточное дыхание тканей и затрудняет работу сердца (через капилляры сердцу приходится прокачивать не отдельные эритроциты, а их сгустки).

Цель данного исследования – выявить последствия воздействия ФДТ с применением фотодитазина и либо одного ФС на адгезию уже существующих в крови больных "монетных столбиков" и сладжа эритроцитов, а также проследить за активностью лейкоцитов после их разблокирования, в связи с распадом конгломератов клеток красной крови.

#### Материал и метод исследования

Анализ клеточных элементов в капле периферической крови из пальца осуществляли с помощью оптического комплекса и компьютерной программы "VideoZavr" на микропрепаратах типа "давленная капля", полученных от 15 больных раком шейки матки, раком почки, раком вульвы, раком молочной железы и 8 испытуемых с повышенной адгезией эритроцитов. Изучалась нативная кровь в живом состоянии, в течение 20 минут после изготовления препарата. Микроскопия препаратов крови

проводилась с иммерсией (ув. 15 x 100). Приготовление препаратов "давленная капля", в отличие от "мазка", позволяет сохранить в какой-то мере локализацию клеточных элементов крови и совместное распределение клеток.

*Было исследовано две группы пациентов с раковыми заболеваниями:*

**В первой группе** пациенты (15 человек) проходили лечение методом ФДТ. Концентрация фотодитазина – 0,8–1,0 мкг/кг, доза лазерного облучения – 200–400 Дж/см<sup>2</sup>. Анализ препаратов живой крови проводили до введения фотодитазина (ФС), через 20 минут после проведения ФДТ, через трое и семь суток и спустя две и четыре недели после проведения ФДТ.

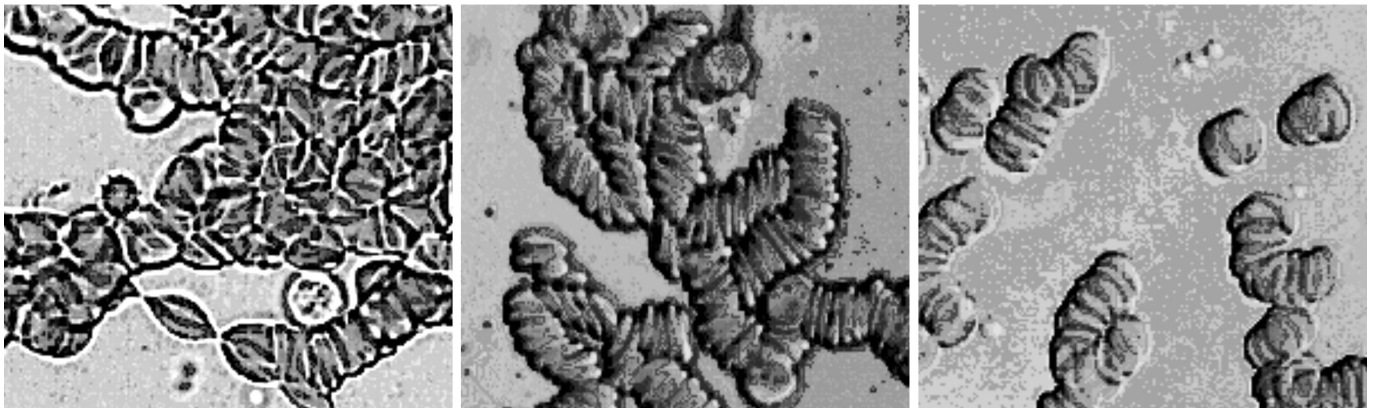
Промежуток времени между введением препарата, проведением ФДТ и исследованием крови был необходим для осуществления морфологической перестройки форменных элементов крови, которая длится примерно 20 минут.

**Вторая контрольная группа** (8 человек) объединяла пациентов с нарушением адгезии эритроцитов, но без злокачественных образований. Им вводился только фотодитазин с тех же концентрациях, что и при проведении ФДТ, а скрининговый анализ крови из пальца проводился в те же сроки, как у испытуемых первой группы.

Учитывая большое морфологическое разнообразие "монетных столбиков" и сладжа из-за изменения адгезии эритроцитов в крови больных под влиянием фотодитазина при проведении ФДТ нам удалось провести только полуквантитативный анализ полученных результатов. Однако такой анализ позволяет ответить на вопрос – положительное или отрицательное воздействие на клеточные элементы крови оказывает ФДТ и применяемый при этом фотосенсибилизатор (ФС).

#### Результаты исследования

В результате экспрессного анализа капли живой крови до начала эксперимента, как у пациентов контрольной группы без проведения ФДТ, так и у больных со злокачественными опухолями, отмечена повышенная адгезия эритроцитов, которая выражается либо в образовании сладжа, либо "монетных столбиков". У больных со злокачественными образованиями у 10 человек наблюдался сладж эритроцитов (**рис. 1 а**), у остальных отмечено наличие "монетных столбиков". В контрольной группе преобладали пациенты, в крови которых отмечены большие и малые (от 2 до 10 клеток) "монетные столбики", и только у трех человек найден сладж эритроцитов (**рис. 1 в**).

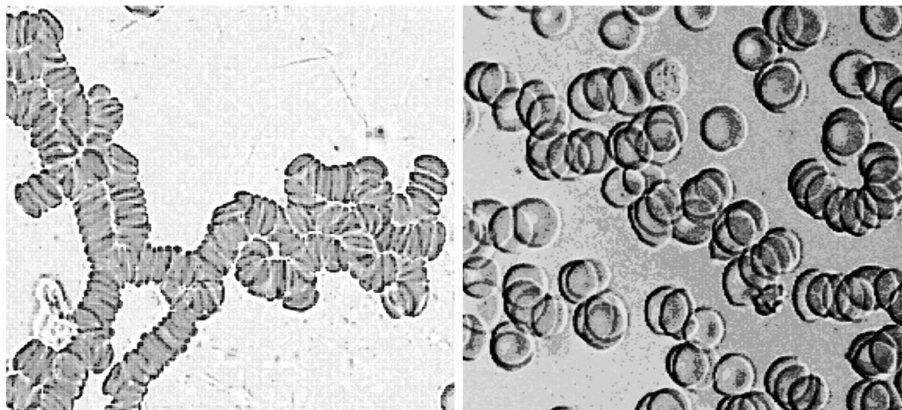


а

б

в

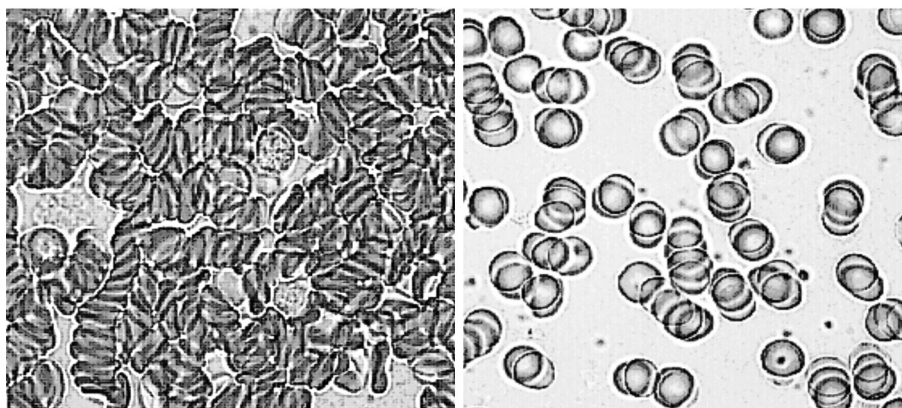
Рисунок. 1 - Различная степень агрегации эритроцитов в периферической крови у исследуемых пациентов: а - сладж, лейкоцит заблокирован агрегировавшими эритроцитами; б - длинные "монетные столбики"; в - короткие монетные столбики.



а

б

Рисунок. 2 - Уменьшение адгезии эритроцитов через 20 минут после проведения ФДТ при различной агглютинации клеток перед началом лечения: а - "Монетные столбики" получившиеся из сладжа эритроцитов; б - Короткие "монетные столбики" и отдельные эритроциты у пациентов, имевших до ФДТ длинные "монетные столбики".



а

б

Рисунок. 3 - Состояние крови после проведения фотомодификации (ФМ) у пациента со сладжем эритроцитов а - Сладж эритроцитов до фотомодификации (лейкоциты блокированы) б - Значительная часть свободных эритроцитов у того же больного через 20 минут после проведения фотомодификации с ФС.

При проведении ФДТ с фотодитазином через 20 мин в крови исчезает сладж эритроцитов, и появляются монетные столбики, которые указывают на снижение адгезии эритроцитов (Рис. 2 а). У больных, в крови которых содержались "монетные столбики" эритроцитов, отмечается также снижение адгезии эритроцитов. В каждом столбике остается по 5 – 10 клеток, – это также признак уменьшения адгезии эритроцитов в периферической крови (Рис. 2 б). Через 3 и 7 суток после ФДТ можно наблюдать большую часть эритроцитов в виде "монетных столбиков" и отдельных клеток. В сравнительном плане мы утверждаем, что при проведении ФДТ, когда происходит воздействие лазером на кровь, содержащую ФС, наблюдаются процессы сходные с проведением фотомодификации (лазерное излучение крови с применением ФС). Нами показано, что в некоторых случаях сладж после фотомодификации может распадаться до отдельных эритроцитов (Рис. 3). Однако, проводить фотомодификацию крови после ФДТ мы не советуем. Так как может наблюдаться парадоксальный эффект, снижения адгезии эритроцитов не происходит, а в некоторых случаях образуются даже сладж.

Следовательно, при проведении ФДТ, когда излучение лазера направлено на сосуды опухоли, адгезия эритроцитов уменьшается не столь интенсивно, как при проведении фотомодификации, но стимулировать этот процесс за счет проведения фотомодификации после ФДТ мы не рекомендуем.

После проведения ФДТ на препаратах крови видны лакуны, в которых находятся деблокированные лейкоциты. На рис. 2 а внизу левой части находится активировавшийся лейкоцит, выпустивший псевдоподию для начала движения и фагоцитоза.

Все это указывает на возрастание клеточного иммунитета.

Через 3 и 7 суток после ФДТ большая часть эритроцитов находилась в виде коротких "монетных столбиков" и отдельных клеток, а далее через три и четыре недели происходит некоторое увеличение адгезии эритроцитов. В препаратах крови почти не сохранилось отдельных эритроцитов, но "монетные столбики" сохраняют свою редукцию по сравнению с теми, какими они были до проведения ФДТ. Основные параметры изменения адгезии эритроцитов и изменения активности лейкоцитов после проведения ФДТ представлены в **таблице**.

Таким образом, только одно введение ФС способствует уменьшению адгезии эритроцитов (по сладжу) на 30 %. В то же время проведение ФДТ с фотодитазином уменьшает сладж эритроцитов примерно на 80 %. Соответственно, резко возрастает доля свободных лейкоцитов из-за разрушения сладжа и редукции "монетных столбиков". После деблокирования лейкоцитов, клетки белой крови начинают передвигаться и усиливают фагоцитоз.

Все перечисленное выше указывает на то, что ФДТ благоприятно влияет на клеточную адгезию эритроцитов, и в какой-то мере оказывает сходное действие, которое наблюдается при проведении транскутантной фотомодификации или надвенного лазерного облучения крови (НЛОК) [8].

После проведения ФДТ у всех пациентов с изменением адгезии эритроцитов, структура крови становится сходной по реологии с кровью здоровых людей [9,10]. Такое состояние эритроцитов сохраняется до нескольких

**Таблица**

Изменения адгезии эритроцитов и активности лейкоцитов после ФДТ (количество пациентов).

Подгруппа с онкологическими заболеваниями	Описание состояния агрегации эритроцитов	Пациенты с агрегирован клетками до воздействия	Пациенты с агрегирован. Эритроцит. после воздействия
Проведение ФДТ с ФС фотодитазин (Выборка 15 чел.)	"Монетные столбики" 5 -10 клеток	2 (+)	5 (+)
	Длинные "монетные столбики" с фрактальным распределением	3 (+ -)	8 (+)
	Сладж и почти сладж (иногда видны "монетные столбики")	10 (-)	2 (-)
Контрольная подгруппа только введение фотодитазина (выборка 8 человек)	"Монетные столбики" 5 -10 клеток	2 (+)	5 (+)
	Длинные "монетные столбики" с фрактальным распределением	3 (+ -)	2 (+ -)
	Сладж и почти сладж (просматриваются монетные столбики)	3 (-)	1 (-)
	Лейкоциты блокированы (-); лейкоциты свободны (+)		

суток и более, а затем может происходить постепенное увеличение адгезии, в зависимости от выздоровления человека и его биологических особенностей.

#### Заключение

Фотосенсибилизатор фотодитазин, при введении до ФДТ, либо при внутривенном введении без применения лазера, частично способствует уменьшению адгезии эритроцитов. После ФДТ, продолжается снижение адгезии эритроцитов в периферической крови, и через 20 минут происходит распад сладжа эритроцитов примерно на 80 %. Выявленные изменения адгезии эритроцитов после введения фотодитазина и проведения ФДТ спо-

собствуют усилению тканевого дыхания и повышению клеточного иммунитета за счет деблокирования лейкоцитов.

Деблокирование лейкоцитов, зажатых ранее агрегированными эритроцитами, позволяет белым клеткам крови выйти в образовавшиеся лакуны плазмы, увеличить подвижность и приступить к усиленному фагоцитозу. Процесс усиления фагоцитарной активности лейкоцитов наблюдается непосредственно в поле зрения микроскопа, на витальном препарате крови, взятой через 20 минут после проведения ФДТ. Активация клеточного иммунитета происходит за счет увеличения фагоцитоза лейкоцитов и повышения подвижности клеток белой крови.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов В.В. Использование фотодинамической терапии в отечественной онкологии (обзор литературы). Исследования и практика в медицине. № 4, т. 2, 2015. С. 98 – 105.
2. Dolmans D.E., Fukumura D., Jain R.K. Photodynamic therapy of cancer // Nature Rev. Cancer – 2003. – Vol. 3. – P. 380–7.
3. Purtskhvanidze V.A., Stranadko E.Ph., Astakhov V.I., Radaev A.A. Experience of Out-Patient Skin Cancer Treatment by means of Photodynamic Therapy with Chlorine Derivatives.// 1st Conference of the European Platform for Photodynamic Medicine., 2008, p. 43– 45.
4. Пурцхванидзе В.А., Симаков Ю.Г. Влияние фотодитазина при проведении фотодинамической терапии злокачественных опухолей на агрегацию эритроцитов периферической крови. Российский биотерапевтический журнал, № 1, т. 15, 2016. С 92 – 93.
5. Макарова Г.А., Муравьев С.А., Суплов С.Н. Гемосканирование, как ориентировочный метод оценки процессов аутолиза крови// Клиническая лабораторная диагностика, №9, 2007. С.79 – 80.
6. Басина М.Г, Городцкий Б.В Симаков Ю.Г., Шапов В.Б. Влияние аутогемопрепарата человека из БАТ Жань-гу на агрегацию эритроцитов в крови человека и на регенерацию тканей у лабораторных рыб// Объединенный научный журнал, № 271 2012, С. 48 –54.
7. Боженов Ю.Г. Шипова Е.И. Функциональное гемосканирование. М.: Кафедра профилактической и восстановительной медицины Российского государственного медицинского университета 2009. 36 с.
8. Марченко, Александр Васильевич. Внутрисосудистая фотомодификация крови в хирургии и смежных областях : автореферат дис. ... доктора медицинских наук : 14.00.27 Санкт–Петербург, 1999 – 43 с.
9. Chen B., Pogue B.W., Goodwin I.A. et al. Blood flow dynamics after photodynamic therapy. with verteporfin in the RIF-1 tumor. Radiat. Res. 2003; 160 452–454.
10. Wilson P.W.F., Grandy S.M. The metabolic syndrome: practical guide to origins and treatment: part I. Circulation. 2003. 108: 1422–1425.

© В.А. Пурцхванидзе, Ю.Г. Симаков, ( usimakov@yandex.ru ), Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики».

