

3. FOTOSENSIBILIZUOTA NAVIKŲ TERAPIJA

Šviesa - nuolatinis mūsų gyvenimo palydovas, teikiantis mums šilumą ir jaukumą. Sunku įsivaizduoti, kaip gyventume, jei mus gautų visiška tamsa ir joks šviesos spindulėlis neprisiskverbtų pro juodą nakties maršką. Šviesa – tai ir informacijos šaltinis, nes regime tik šviesoje, tai ir energijos šaltinis, nes visa žemės gelmėse sukaupta naftos, anglies ir dujų energija yra ilgametis saulės darbas.

Dauguma iš mūsų niekada nesusimąsto apie šviesos įtaką gyvenimui – tai tokia neatskiriama mūsų egzistencijos dalis, seniai žinomas ir visiškai aiškus gyvenimo palydovas. Tačiau ar tikrai yra taip? Tik dvidešimtojo šimtmečio pradžioje pradėjome suprasti tikrąją šviesos prigimtį. Prieš kelis dešimtmečius įžiebėme lazerius. Pastaraisiais metais ėmėme mąstyti apie tai, kaip didelio intensyvumo lazerio šviesa, sąveikaudama su fliktuacijomis vakuume, gali kurti medžiagą. Filosofuojame apie tai, kad visatos atsiradimas yra sąlygotas didelio intensyvumo elektromagnetinės spinduliuotės sąveikos su fliktuacijomis vakuume.

Šiame skyriuje nekalbėsime apie fundamentinius šviesos tyrimus, nenagrinėsime šviesos technologijų plėtojimosi, tik kiek atidžiau pažvelgsime į šviesos sąveikos su biologiniu objektu dėsningumus ir dėl jų susiformavusio naujo navikinių susirgimų gydymo metodo – fotosensibilizuotos navikų terapijos pagrindinius aspektus ir taikymo galimybes. Kiekviena nauja idėja, atradimas ar metodas turi savo istoriją, kuri, kartais išdėstyta tik keliuose puslapiuose, atspindi ilgą žmonijos kelią į, rodos, tokių paprastų ir aiškių gamtos dėsningumų supratimą.

Be šviesos nebūtų gyvybės, bet esant tam tikroms sąlygoms šviesa gali būti pražūtinga. Fotosintezė – gyvybės žemėje pagrindas – vyksta per šviesos sąveiką su augaluose esančiu pigmentu chlorofilu. Tačiau kartu inicijuojamos ir fototoksiškos reakcijos, kurių metu susidarantis singuletinis deguonis būtų pražūtingas, jei jo neužgesintų augaluose esantys karotino pigmentai. Sutrikus porfirinų sintezei žmogaus organizme, porfirino perteklius susikaupia odoje ir dėl to ji tampa labai jautri saulės šviesai. Šis odos jautrumas atsiranda dėl fotosensibilizuotos reakcijos, kurią sukelia šviesos sužadintas odoje susikaupęs porfirinas. Kaip tik tokios reakcijos ir yra fotosensibilizuotos terapijos pagrindas: audinyje susikaupęs pigmentas - fotosensibilizatorius, sužadintas tinkamo bangos ilgio šviesos, sukelia fotochemines reakcijas, kurios baigiasi ląstelių žūtimi.

Jau senovės egiptiečiai žinojo, kad šviesa gali gydyti. Tačiau tik dvidešimtame amžiuje, atsiradus naujiems gydymo metodams – fotosensibilizuotai navikų terapijai (FNT) ir PUVA (psoralenas-ultravioletas A) terapijai – šviesa tapo visuotinai pripažintu gydymo instrumentu.

Šviesos sukeltos fotocheminės reakcijos panaudojamos dviem gydymo būdams – fototerapijai ir fotochemoterapijai. Fototerapijos metu šviesą sugeria žmogaus organizme esančios vadinamosios endogeninės molekulės. Prieš 3000 metų graikai gydymui naudojo helioterapijos metodą – deginimąsi saulės spinduliuose. Herodotas laikomas helioterapijos tėvu. Jo mokymas pabrėžia saulės spindulių naudą sveikatos stiprinimui. 18 amžiaus pabaigoje saulės spinduliais pradėta gydyti rachitą. Gydymo šviesa metodą ypač išstobulino ir suteikė jam mokslinį pagrindą danas Nilsas Finsenas (Neils Finsen), už tai 1903 metais apdovanotas Nobelio premija. Metodas dažniausiai taikomas tuberkuliozinės vilkligės (*lupus vulgaris*) gydymui, švitinimui naudojant ultravioletinę saulės spinduliuotės dalį arba dirbtinius šviesos šaltinius. 1896 metais Kopenhagoje įkurtas Finseno šviesos institutas gyvavo 100 metų.

Fotochemoterapijos metu pacientui suleidžiamas vaistas - fotosensibilizatorius ir praėjus kuriam laikui gydomas plotas apšvitinamas tokio bangos ilgio šviesa, kokią sugeria fotosensibilizatorius. Šis gydymo būdas taip pat turi ilgaamžę istoriją. Jis buvo naudojamas jau prieš 30 šimtmečių Indijoje, Egipte ir Kinijoje baltmės (*vitiligo*) gydymui. Sensibilizatoriais buvo iš augalų išskirtos medžiagos (dabar žinoma, kad jose buvo fotosensibilizatoriai psoralenai). Šiuo metu fotochemoterapija plačiai ir sėkmingai taikoma psoriazės gydymui (PUVA terapija).

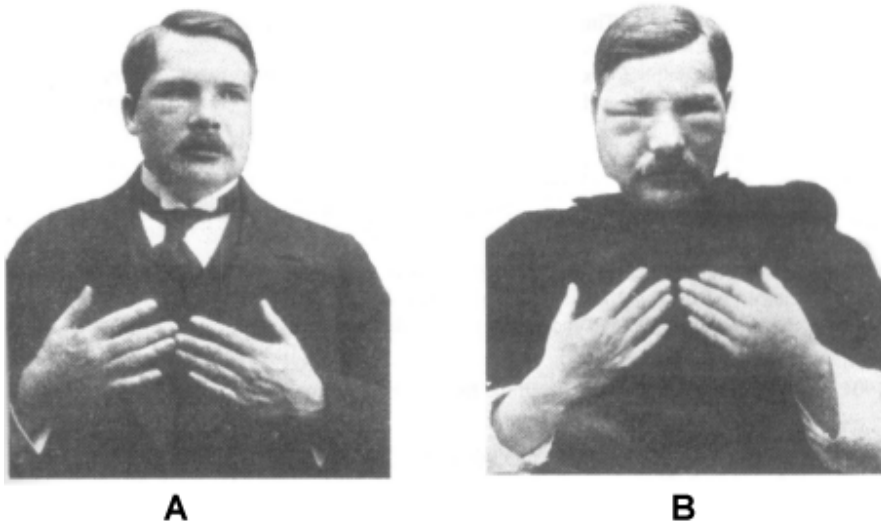
3.1. Istorinė FNT apžvalga

Nors šviesos ir fotosensibilizatorių poveikis žinomas labai seniai, mokslinio fotosensibilizacijos reakcijų tyrimo ir biomedicininio jų taikymo pradžia laikomi 1900 metai, kai Oskaras Rabas (Oscar Raab), Miuncheno farmakologijos instituto studentas, tirdamas ląstelių kultūros *paramecia* gyvybingumą, pastebėjo, kad įdėjus į kultūrą kai kurių organinių pigmentų (fotosensibilizatorių) ir apšvitinus ląsteles šviesa jos žūva. Nei pigmentai, nei šviesa atskirai ląstelių neveikė. O.Rabas suprato, kad pigmentai sugeria šviesą ir po apšvitinimo susidaro toksiškos medžiagos, dėl kurių poveikio ląstelės žūva (Raab, 1900).

Jauno studento vadovas profesorius Tapaineris (Hermann von Tappeiner) drauge su bendradarbiais išsamiai tyrė šį reiškinį keletą metų ir rezultatus paskelbė 1907 metais išleistoje knygoje (Tappeiner ir Jodlbauer, 1907). Fotosensibilizatoriaus ir šviesos sukeltą poveikį jis pavadino “fotodinaminiu”, norėdamas pabrėžti skirtumą nuo fotografinių plokštelių sensibilizacijos ir akcentuodamas, kad fotodinaminis procesas vyksta tik dalyvaujant deguoniui (Tappeiner ir Jodlbauer, 1907; Jodlbauer ir Tappeiner, 1904). Netrukus po Rabo atradimo, 1903 metais, Tapaineris drauge su Jesioneku (A. Jesionek) iš Miuncheno dermatologijos klinikos paskelbė svarbų straipsnį (Tappeiner ir Jesionek, 1903), kuriuo numatė fotochemoterapijos ateitį. Autoriai pasiūlė naudoti fotosensibilizatoriaus eozino 5% vandeninį tirpalą ir švitinimą šviesa įvairiems odos susirgimams gydyti. Straipsnyje taip pat buvo pateikti geri klinikiniai rezultatai, gauti gydant odos vėžį.

Taip atsirado naujas vėžio gydymo metodas, vadinamas Tapainerio pasiūlytu terminu “fotodinaminė terapija”, tad jis yra tikrasis šio gydymo metodo pionierius, pačioje XX amžiaus pradžioje tiksliai išpranašavęs fotosensibilizatorių panaudojimą fotochemoterapijoje. Tolesni tyrimai patvirtino jo nuomonę, kad fotodinaminė terapija yra atskiras fotochemoterapijos atvejis, kai šviesos veikiamas fotosensibilizatorius gali sukelti ląstelių ar audinių pažeidimus tik dalyvaujant deguoniui. Nors vėliau paaiškėjo, kad kai kurios fotocheminės reakcijos šios terapijos metu gali vykti ir be deguonies, terminas “fotodinaminė terapija” tvirtai prigijo ir plačiai naudojamas iki šiol. Mes, laikydami, kad šis terminas vis dėlto nėra visiškai tikslus, vartosime kitą, mūsų nuomone, labiau atspindintį metodo esmę terminą “fotosensibilizuota navikų terapija”.

Po 1920 metų medicininėje spaudoje pasirodė keletas pranešimų apie kitų sensibilizatorių, pavyzdžiui, fluoresceino panaudojimą vėžio gydymui (Copeman ir kt., 1929). Nuo 1911 metų, kai Hausmanas (Hausmann) pirmasis pastebėjo sensibilizuojantį hematoporfirino poveikį (Hausmann, 1911), susidomėta tetrapirolinės prigimties sensibilizatoriais. Kad porfirinai veikia kaip geri fotosensibilizatoriai žmogaus organizme 1912 metais Karaliaučiuje pademonstravo vokietis F. Mejer-Betsas (F. Meyer-Betz), susileidęs sau 200 mg hematoporfirino. Jau po kelių minučių tos kūno vietos, kurios buvo apšviestos, smarkiai ištino ir buvo labai skausmingos (3.1 pav.) (Meyer-Betz, 1913).



3.1 pav. A. F.Mejer-Betsas prieš eksperimentą. B. Susileidęs 200 mg hematoporfirino ir pabuvęs saulės šviesoje (Meyer-Betz, 1913)

Jautrumas šviesai truko maždaug 2 mėnesius. Mejer-Betsas ir vokiečių chemikas Hansas Fišeris (Fischer) nustatė kai kurias porfirinų fotosensibilizacinio aktyvumo priklausomybes nuo struktūros (Fisher ir Meyer-Betz, 1912). Fišerio įnašas į porfirinų chemiją nepaprastai didelis. H. Fišeris (1881–1945), chemikas organikas ir biochemikas, Insbruko (1916–1919), Vienos (1919–1921) ir Miuncheno aukštosios technikos mokyklos (nuo 1921) vaistų chemijos profesorius, ištyrė pirolą ir jo pigmentų, esančių kraujyje, tulžyje ir augaluose, struktūrą, susintetino heminą, hematiną, bilirubiną, nustatė chlorofilo struktūrą. 1930 metais apdovanotas Nobelio premija.

Tarpukario metais du svarbūs atradimai prisidėjo prie FNT pažangos. 1924 metais buvo paskelbta, kad hematoporfirinas gerai kaupiasi navikinėse ląstelėse (Policard, 1924). Prancūzas Polikardas (Policard) pastebėjo eksperimentinių navikų savaiminę fluorescenciją ir teisingai priskyrė ją navike susikaupusiam porfirinui. Selektyvus hematoporfirino kaupimasis navikiniame audinyje ir naviko nekrozė po švitinimo kvarco lempa buvo pastebėti eksperimentuose su gyvūnais 1942 metais Vokietijoje (Auler ir Banzer, 1942). Auleris (Auler) ir Banceris (Banzer) Berlyne tyrinėjo hematoporfirino kaupimąsi navikuose ir parodė, kad jis tikrai selektyviai kaupiasi navikiniame audinyje. Jie taip pat pastebėjo, kad dėl susikaupusio hematoporfirino fluorescuojantys navikai greičiau nekrotizuoja. Taip pirmą

kartą buvo nustatytas sensibilizuojantis hematoporfirino poveikis navikams. Autoriai tikėjosi pradėti klinikinius bandymus, tačiau darbą nutraukė karas.

Po karo, 1948 metais, JAV buvo pastebėta, kad hematoporfirinas ir jo cinko kompleksas kaupiasi pelių navikuose. Sensibilizuoti navikai švytėjo raudona šviesa (Figge ir kt., 1948). Nors paskelbtas spaudoje pranešimas didesnio dėmesio nesusilaukė, tačiau darbai šioje srityje vyko. Samuelis Švarcas (Samuel Schwartz), sekdamas Figgė darbais, tyrinėjo porfirinų kaupimąsi pelių navikuose. Naudodamas tuo metu vienintelį dideliais kiekiais gaunamą porfiriną – hematoporfiriną, – jis greitai įsitikino, kad šis komercinis preparatas yra labai nešvarus ir grynas porfirinas jame tesudaro 30–65 % (Schwartz, 1992). Tačiau išvalytas hematoporfirinas blogiau kaupėsi navikuose. Daug geriau kaupėsi mišinio, iš kurio jau buvo išskirtas hematoporfirinas, liekanos. Toliau dirbant buvo kuriami nauji porfirinų preparatai, iš kurių tinkamiausias pasirodė acto ir sieros rūgštimis apdorotas mišinys, vėliau pavadintas hematoporfirino dariniu (HpD), galiausiai tapęs vaistu fotofrinu.

S. Švarcas savo rezultatų spaudoje nepaskelbė, bet paragino R. Lipsoną (Lipson) iš Majo klinikos (Mayo Clinic) JAV panaudoti HpD fluorescencinei navikų diagnostikai (Lipson ir kt., 1961). Pirmuose darbuose su šiuo junginiu buvo panaudotos tik fluorescencinės jo savybės (Gregory ir kt., 1968), tačiau vėliau Lipsonas suprato, kokias puikias terapines galimybes turi šio junginio fotosensibilizacinis poveikis, ir 1966 metais Majo klinikoje pirmą kartą buvo gydytas krūties vėžys, taikant FNT metodą (Lipson ir kt., 1967). Tačiau dar maždaug dešimtį metų HpD panaudojimas apsiribojo tik diagnozavimo tikslais ir padėjo atsirasti fluorescencinei endoskopijai (Leonard ir Beck, 1971; Profio ir kt., 1977).

Apie 1972 metus dvi mokslinės grupės, nieko nežinodamos apie viena kitos darbus ir apie Lipsono gautus rezultatus, bandė panaudoti FNT metodą su hematoporfirinu eksperimentinių gyvūnų smegenų navikams gydyti (Diamond ir kt., 1972) ir su sensibilizatoriumi fluoresceinu pienliaukės navikams gydyti (Dougherty, 1974). Šie mėginimai nebuvo labai sėkmingi, nes pirmuoju atveju pasirinktas prastas sensibilizatorius (hematoporfirinas) ir netinkamas šviesos šaltinis (balta šviesa), o antruoju – netinkamas sensibilizatorius (fluoresceinas). 1976 metais buvo paskelbta, kad gauti geri rezultatai gydant ligonį, sergantį šlapimo pūslės vėžiu, FNT metodu naudojant sensibilizatorių HpD (Kelly ir Snell, 1976). Tais pačiais metais mokslininkų grupė, susibūrusi JAV Rozvelo parko vėžio institute (Roswell Park Cancer Institute), ėmėsi išsamių tyrimų, gydyma įvairių tipų

gyvūnų navikus FNT metodu ir naudodama gerai besikaupiantį navikiniame audinyje sensibilizatorių HpD ir tinkamesnę dėl geresnės skvarbos į audinius raudoną šviesą (Dougherty ir kt., 1975). Geri rezultatai padarė pradėti intensyvius tyrimus klinikoje. Netrukus, 1978 metais, buvo paskelbti 25 ligonių su įvairių lokalizacijų navikais gydymo FNT duomenys (Dougherty ir kt., 1978). Ši grupė iki šiol yra viena aktyviausiai dirbančių šioje srityje, nors šiuo metu FNT domimasi daugelyje pasaulio šalių. 1980 metais japonai pirmieji pritaikė optinius šviesolaidžius plaučių navikams švitinti (Hayata ir kt., 1982). Susidomėjimas šiuo gydymo metodu ypač sustiprėjo, kai devintojo dešimtmečio viduryje HpD buvo chromatografiškai išgrynintas. Atskyrus monomerines frakcijas liko oligomerų mišinys, kuris pasirodė esąs daug veiksmingesnis FNT. Ši medžiaga buvo pavadinta fotofrinu ir netrukus rinkoje pasirodė vaistas fotofrinas[®] (Photofrin[®]). Nors eksperimentinėje FNT šiuo metu taikoma daug įvairių sensibilizatorių, klinikiniam gydymui kol kas leidžiamas naudoti tik fotofrinas. Jį gamina Vankuveryje (Kanada) esanti firma Quadra Logic Technologies Phototherapeutics Inc. Fotofrino analogas – fotohemas gaminamas Rusijoje ir taikomas odos, krūties, gerklų, plaučių, virškinamojo trakto navikams gydyti. Tačiau fotofrinas toli gražu ne vienintelis FNT tinkamas sensibilizatorius. Sensibilizatorių spektras nuolat plečiasi, surandami ar sintetinami nauji, kai kurie jų savo savybėmis gerokai pranoksta fotofriną. Bet kadangi nuo sensibilizatoriaus tyrimo pradžios iki jo vaistinės formos įregistravimo vidutiniškai praeina apie 10–12 metų, dėl to taip sunkiai randasi rinkoje nauji fotosensibilizatoriai.

Pastaruoju metu jau įregistruoti keli nauji antros kartos sensibilizatoriai, su jais atliekami klinikiniai bandymai. Antros kartos sensibilizatoriai – tai homogeninės sudėties junginiai, sugeriantys šviesą 630–800 nm srityje, sukeltys, palyginti su fotofrinu[®] (apie antros kartos sensibilizatorius - 4 sk.), daug mažesnę liekamąją jautrumą šviesai. Jau įregistruotas vaistas levulanas[®] (Levulan[®], DUSA Pharmaceuticals, Kanada). Levulanas[®] – tai 5-aminolevulino rūgštis (ALA) – endogeninio porfirino IX, hemo biosintezės tarpinio produkto, pradinis junginys (apie ALA-FNT – 7 skyriuje). Dar keli nauji fotosensibilizatoriai – benzoporfirino darinys arba verteporfinas[®] (Verteporfin[®], QLT Phototherapeutics Inc., $\lambda_{maks} = 692$ nm), liutecio teksafirinas/liuteksas/liutrinas[™] (Lutrin[™], Pharmacyclics, JAV; $\lambda_{maks} = 732$ nm), alavo etiopurpurinas/SnET2/purlitinas (Purlytin[®], Miravant, JAV; $\lambda_{maks} = 664$ nm) yra tiriami įvairiose klinikinių bandymų fazėse. Labai perspektyvus

fotosensibilizatorius tetra(m-hidroksifenil)chlorinas/temoporfinas/foskanas[®] (Foscan[®], Scotia Pharmaceuticals, Kanada; $\lambda_{\text{maks}} = 652 \text{ nm}$) šiuo metu tiriamas klinikiniuose bandymuose Europoje ir JAV galvos ir kaklo navikams gydyti.

Nuo aštuntojo dešimtmečio vidurio, kai platesniu mastu buvo pradėti eksperimentiniai ir klinikiniai FNT tyrimai, išspausdinta keliolika tūkstančių straipsnių ir išleista keliasdešimt knygų, skirtų tiek fundamentaliesiems FNT metu vykstančių procesų tyrimams, tiek klinikinio taikymo rezultatams nagrinėti. Daugelyje pasaulio šalių susidomėta nauju vėžio gydymo metodu ir įvairiose mokslo įstaigose ir klinikose susikūrė FNT problemas nagrinėjančios grupės. Vien JAV yra 61 grupė, dirbanti FNT srityje (Rowe, 1998). Per šį laikotarpį FNT metodu gydyta per 10000 ligonių, turinčių skirtingus ir įvairios lokalizacijos navikus: plaučių, krūties, stemplės, šlapimo pūslės, odos, smegenų, akių, lytinių organų. Gauti rezultatai tikrai teikia vilčių ir manoma, kad įvairiose šalyse atliekami III fazės klinikiniai bandymai įrodys šio metodo tikslingumą ir įteisins jo naudojimą (plačiau apie FNT klinikinius pasiekimus – 9 sk.). Šiuo metu FNT metodas leidžiamas naudoti klinikoje septyniose pasaulio valstybėse: Kanadoje – šlapimo pūslės ir stemplės, Olandijoje – plaučių ir stemplės, Japonijoje – plaučių, skrandžio ir stemplės, JAV – stemplės ir plaučių, Prancūzijoje – stemplės ir plaučių, Vokietijoje – plaučių ir Italijoje – stemplės ir plaučių navikų gydymui.

Lietuvoje tyrimai FNT srityje pradėti devintojo dešimtmečio viduryje, kai Vilniaus universiteto Kvantinės elektronikos katedros mokslo asistentė R. Kapočiūtė, paskatinta katedros vedėjo prof. A. Piskarsko ir Maskvos valstybinio universiteto aspiranto R. Rotomskio, bendradarbiaudama su Maskvos cheminių technologijų instituto darbuotojais, atliko ciklą eksperimentų, skirtų hematoporfirino darinių pirminių fotoprocėsų dėsningumų tyrimams. Po įtempto dvejų metų darbo 1986 m. tarptautinėje spaudoje pasirodė pirmoji kregždė – straipsnis, apibendrinantis pikosekundinės sugerties spektroskopijos metodais ištirtus pirminius fotofizikinius procesus hematoporfirino diacetato molekulėje (Gadonas ir kt., 1986). Pirmieji eksperimentai iškėlė daug daugiau problemų negu tikėtasi, darbų apimtys ėmė sparčiai plėstis, dalis jų buvo vykdoma kartu su kolegomis iš užsienio. R. Kapočiūtė kai kurias Lietuvoje kilusias idėjas sėkmingai patikrino prof. G. Ronto laboratorijoje Budapešto medicinos universiteto Biofizikos institute (Vengrija), kur 1989 metais apgynė daktaro disertaciją FNT srityje. R. Rotomskis Leideno universitete (Olandija) pratęsė hematoporfirino tipo molekulių spektroskopinius tyrimus (Rotomskis ir kt., 1989). Taigi

fundamentiniai FNT pirminių fotofizikinių ir fotocheminių procesų tyrimai Vilniaus universiteto Kvantinės elektronikos katedros (KEK) Biofotonikos grupėje sėkmingai vykdomi jau antrą dešimtmetį, pasaulinėje mokslo spaudoje paskelbtos dešimtys publikacijų, smarkiai išsiplėtė tarptautinis bendradarbiavimas, apgintos dvi daktaro (J. Rotomskienė – 1991 m ir S. Bagdonas – 2001 m) ir viena habilituoto daktaro disertacija (R. Rotomskis – 1999 m). Svarbiausios Biofotonikos grupės darbų sritys – biologiškai aktyvių pigmentų spektroskopija, pirminiai fotofizikiniai ir fotocheminiai procesai, fotosensibilizatorių fotostabilumas ir fototransformacijos tirpaluose, modelinėse sistemose ir in vivo. Glaudus bendradarbiavimas VU KEK darbuotojus sieja su VU Biochemijos ir biofizikos katedra ir Lietuvos onkologijos centru. Ši daugiadisciplininė mokslininkų grupė, dalyvaujant ir Kauno technologijos universiteto darbuotojams, 1994–2000 metais sėkmingai vykdė Valstybinio mokslo ir studijų fondo remiamą mokslo programą “Lazerinė sensibilizacija navikų terapijoje”.

1993 metais bendras fizikų ir onkologų darbas (Valuckas ir kt., 1993) Los Andžele (JAV) vykusiame Biomedicininės optikos simpoziume buvo apdovanotas Maimano premija (Maimanas – lazerių kūrimo pionierius JAV).

Didelė FNT entuziastė yra Lietuvos onkologijos centro (LOC) gydytoja L. Bloznelytė-Plėšnienė, apgynusi šioje srityje daktaro (1990) ir habilituoto daktaro (1997) disertacijas. LOC nuo 1989 iki 2000 m. FNT taikyta 316 onkologinių ligonių 760 piktybinių navikų gydymui. Dauguma gydytųjų sirgo galvos-kaklo navikais arba piktybiniais odos navikais, tarp jų ir melanoma. FNT naudojama ir paliatyviniams tikslams, kai kitų gydymo metodų galimybės išsemtos.

FNT yra puikus metodas odos vėžiui gydyti, nes kosmetinės pasekmės daug geresnės negu po chirurginio gydymo. Tačiau FNT neapsiriboja tik lengvai šviesai pasiekiamais paviršiniaisiais navikais. Gerai išstobulinta endoskopinė technika teikia galimybių panaudoti FNT ir vidaus organų navikams gydyti. FNT yra saugiausias iš vėžio gydymo metodų, taip pat gali būti naudojamas kaip paliatyvinė priemonė šalinant bronchų ar stemplės obstrukcijas (Reynolds, 1997). FNT privalumas tai, kad ji praktiškai neturi nepageidaujamo šalutinio poveikio. Vienintelis trūkumas – kurį laiką išliekantis odos jautrumas šviesai. Tačiau ir jo ateityje bus galima išvengti naudojant naujus – antros kartos – sensibilizatorius, kurie daug greičiau pasišalina iš organizmo. Su naujais sensibilizatoriais gydymą bus galima kartoti

keletą kartų per trumpus laiko intervalus ir tai atvers naujas galimybes. Antros kartos sensibilizatoriai turi tinkamesnes šviesos sugerties savybes, kurios leis panaudoti daug giliau į audinius prasiskverbiančią šviesą. Naujos švitinimo technikos ištobulinimas daug prisideda prie FNT pažangos. Diodiniai lazeriai, spinduliuojantys pakankamo intensyvumo šviesą tolimoje raudonojoje spektro srityje, leidžia naudoti naujus šioje srityje gerai sugeriančius šviesą sensibilizatorius. Tobulinama šviesolaidinė technika teikia puikių galimybių švitinti navikus vidaus organuose.

Kartu su klinikiniais eksperimentais mokslo įstaigose vykdomi fundamentiniai tyrimai padeda geriau suprasti FNT fotofizikinius, fotocheminius ir fotobiologinius vyksmus, o tai savo ruožtu tobulina šio gydymo metodą. Taigi FNT – perspektyvus, nuolat tobulėjantis gydymo metodas.

3.2. Fotosensibilizuotos navikų terapijos principai

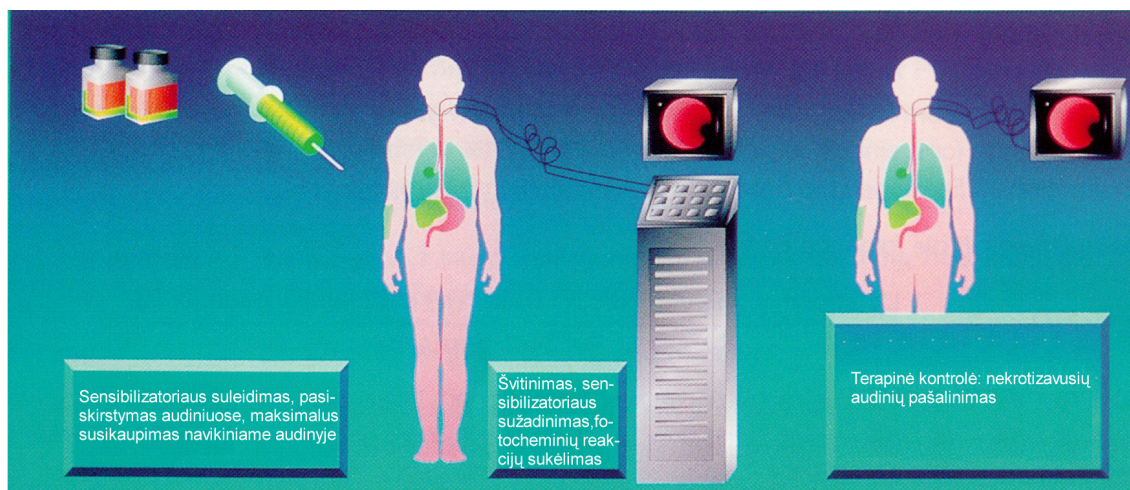
Gyvuose organizmuose vyksta įvairios fotocheminės reakcijos, kurios yra svarbios ar net esminės jų išgyvenimui. Tačiau šviesa gali būti ir pražūtinga gyvoms ląstelėms ir organizmams. Visos fotocheminės reakcijos prasideda specifiniams biologiniams pigmentams sugėrus šviesos fotonus (pirmasis fotochemijos dėsnis, kurį 1817 metais teoriškai suformulavo mūsų tėvynainis T. Grotus (Grotthus), o 1843 metais eksperimentiškai pagrindė amerikietis Dž. Dreiperis (Draper)).

T. Grotus (1785–1822) – pirmasis Lietuvos fizikas-chemikas, Paryžiaus galvaninės draugijos narys, Turino mokslo ir meno akademijos, Miuncheno mokslų akademijos narys korespondentas. 1803–1808 metais mokėsi Leipcigo universitete, Paryžiaus politechnikos mokykloje, Romos ir Neapolio universitetuose. Nuo 1808 metų gyveno Gedučiuose (Pakruojo raj.), ten ir mirė. Teoriškai paaiškinęs vandens skaidymo elektros srove procesus, 1805 metais paskelbė pirmąją elektrolizės teoriją, sukūrė šviesos sąveikos su medžiaga ir spalvų atsiradimo teoriją. Jis yra fotochemijos pradininkas: nustatė, kad tik medžiagos sugerta šviesa gali sukelti joje fotocheminę reakciją.

Ultravioletinė saulės spinduliuotės dalis yra labai pavojinga gyviems organizmams, nes šios spektrinės srities šviesą labai gerai sugeria svarbiausi ląstelių komponentai – baltymai, lipidai ir nukleorūgštys. Tiesa, tik neženkli šios spinduliuotės dalis pasiekia žemės paviršių, kadangi ją sulaiko atmosfera, o ypač – stratosferos ozono sluoksnis. Matomoji

spektro dalis gyviems organizmams nedaro jokios žalos, nes šių bangos ilgių šviesos nesugeria genetinę informaciją perduodančios molekulės. Be to, per ilgą gyvybės evoliucijos periodą gamta nuolat saulės šviesoje gyvenantiems organizmams greičiausiai sukūrė apsauginius mechanizmus. Odą nuo kenksmingų ultravioletinių spindulių poveikio iš dalies apsaugo melaninas. Tačiau, tarpininkaujant tam tikroms šviesą sugeriančioms medžiagoms – fotosensibilizatoriams, ląstelės ar organizmai tampa jautrūs šviesai ir gali žūti. Šis jautrumo šviesai didinimas vadinamas fotosensibilizavimu ir jo pasekmė – įvairūs fotofizikiniai, fotocheminiai ir fotobiologiniai vyksmai šviesos nesugeriančiame substrate.

Fotosensibilizuota navikų terapija (FNT) pagrįsta kai kurių fotosensibilizatorių savybe kauptis navikiniuose audiniuose ir, apšvitinus juos tinkamo bangos ilgio šviesa, sukelti šių audinių ląstelių pažaidas. FNT eiga apima kelis etapus (3.2 pav.): sensibilizatorius suleidžiamas į organizmą, po kelių ar keliolikos valandų (nelygu sensibilizatoriaus prigimtis) navikas apšvitinamas šviesa, kurią efektyviai sugeria fotosensibilizatoriaus molekulės, o praėjus dar kuriam laikui atliekama kontrolė ir pašalinami nekrotizavę audiniai. Šviesos sužadintas sensibilizatorius inicijuoja fotochemines reakcijas, kurių pasekmė – žalingų ląstelių veiklai produktų susidarymas ir navikinių audinių destrukcija. Tokia, atrodytų nesudėtinga, yra fotosensibilizuotos terapijos eiga. Tačiau, kad gydymas būtų sėkmingas, nuo sensibilizatoriaus suleidimo iki navikinio audinio nekrozės turi įvykti visa fiziologinių, biocheminių, fotofizikinių ir fotocheminių vyksmų seka.



3.2 pav. FNT eigos etapai

- ***Fotosensibilizatoriaus pernaša ir pasiskirstymas organizme***

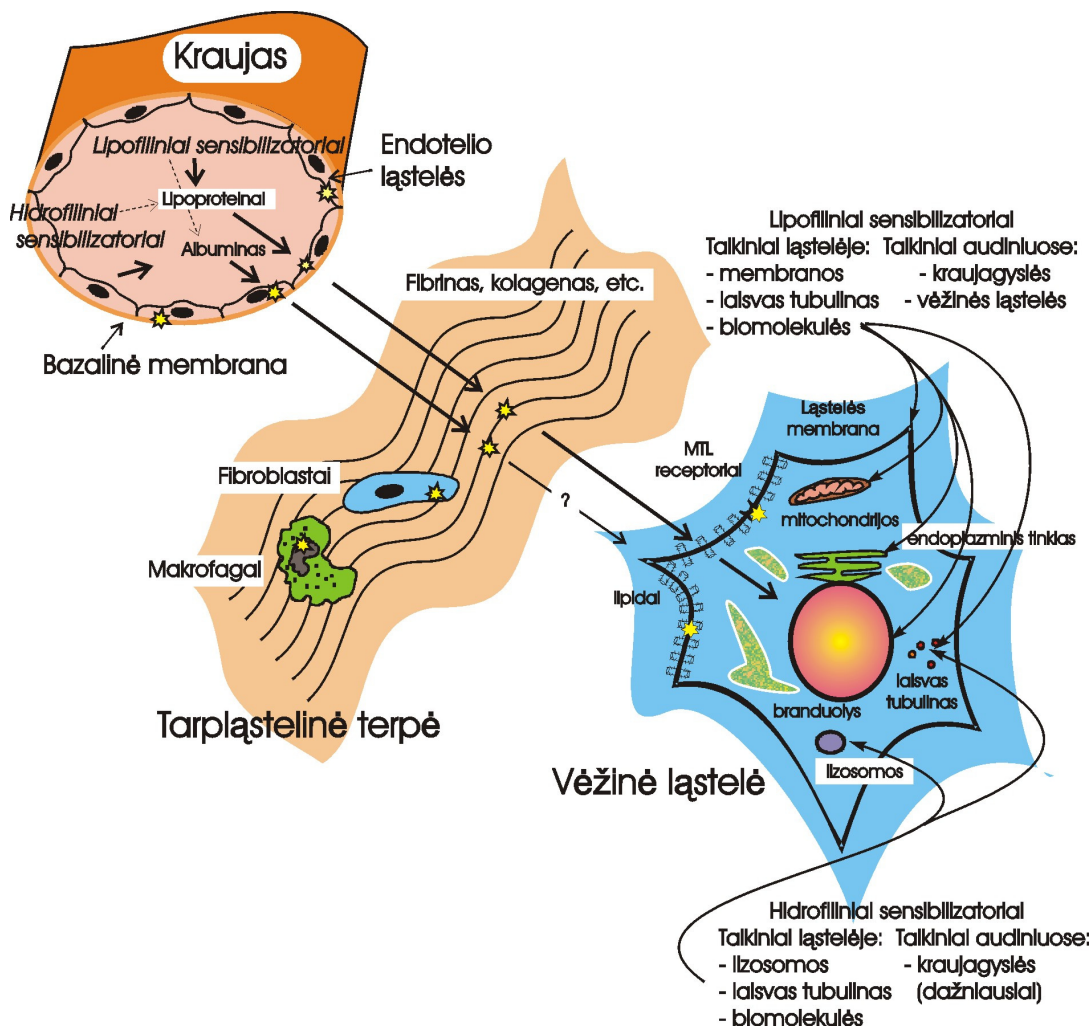
FNT metu sensibilizatorius gali būti įvedamas į organizmą keliais būdais. Dažniausiai reikiamos koncentracijos fotosensibilizatoriaus tirpalas suleidžiamas pacientui į veną. Patekęs į kraujotakos sistemą sensibilizatorius išnešiojamas po visą organizmą (3.3 pav.) ir jame pasiskirsto. Dėl navikinių audinių specifiškumo ir tam tikrų sensibilizatoriaus savybių po kurio laiko didesnis jo kiekis susikaupia navikiniame audinyje. Sensibilizatoriai gali būti lipofiliniai arba hidrofiliniai, ir tai lemia jų lokalizaciją audiniuose ir ląstelėse (3.3 pav.). FNT taikiniai būna labai įvairūs – parenkant tinkamų savybių sensibilizatorius galima sukelti pažeidimus įvairiose ląstelių organelėse.

Fotosensibilizatoriaus tirpalas gali būti suleidžiamas į sritinę kraujagyslę – arteriją. Gydant kai kuriuos galvos–kaklo navikus naudojamas šis sensibilizatoriaus įvedimo būdas (Bloznelytė ir Čepulis, 1995). Jis patogesnis tuo, kad nesukelia viso kūno jautrumo šviesai.

Sensibilizatorių į organizmą galima įvesti ir *per os*. Šiuo atveju jo migraciją ir pasiskirstymą sąlygoja virškinamojo trakto veikla ir sensibilizatoriaus rezorbcija jame. Šie du pagrindiniai sensibilizatoriaus įvedimo būdai taikomi atsižvelgiant į naviko lokalizaciją organizme. Suprantama, kad virškinamojo trakto navikams gydyti tinkamesnis yra *per os* būdas. Kai navikas yra gerai kraujui aprūpinamoje organizmo srityje, labiau tinka intraveninis būdas. Išoriniams navikams gydyti naudojamos ant odos tepamos emulsijos, kurių sudėtyje yra sensibilizatoriaus. Sensibilizatoriai per odą įsiskverbia į organizmą ir selektyviai susikaupia navikiniame darinyje. Gydant kvėpavimo takų, burnos ertmės, bronchų ir plaučių navikus naudojamas aerozolio pavidalo sensibilizatorius.

- ***Fotosensibilizatoriaus susikaupimas/išsilaikymas navike***

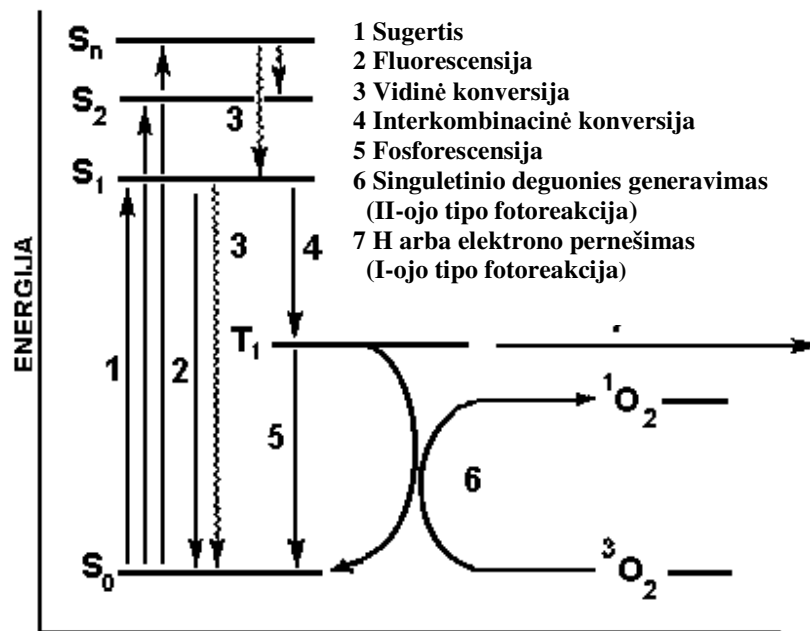
Selektyvus sensibilizatoriaus susikaupimas navikiniame audinyje yra vienas iš pagrindinių veiksnių, sąlygojančių naviko suardymą minimaliai pažeidžiant sveikus audinius. Todėl šis gydymo metodas kelia vis didėjančią susidomėjimą. Tiek chirurginis, tiek chemoterapinis bei spindulinis navikinių susirgimų gydymo metodai nėra pakankamai selektyvūs, dažnai pašalinamas ar sunaikinamas ne visas navikas ir tik iš dalies pristabdomas navikinių darinių formavimasis. Dėl to kai kuriais atvejais atsiranda antriniai navikai – recidyvai. Be to, spindulinis gydymo metodas visada susijęs su rizika pažeisti sveikus audinius ar inicijuoti kitokį organizmui žalingą poveikį. Cheminių preparatų poveikis irgi labai priklauso nuo atskiro individo, organizme vykstančių metabolinių procesų, todėl ne



3.3 pav. Sensibilizatorių pernaša, kaupimasis bei galimi taikiniai audiniuose ir ląstelėse visada pasiseka parinkti tinkamas priešnavikinių vaistų dozes ir pasiekti teigiamą jų poveikį. Selektivus fotosensibilizatorių kaupimasis navikiniuose audiniuose, pastebėtas XX amžiaus pradžioje, vis dar yra nedaug į priekį pažengusioje tyrimų stadijoje ir daugiausia remiasi empiriniais stebėjimais, todėl šioje knygoje plačiau šios problemos nenagrinėsime, tik tolesniuose skyriuose pateiksime kai kurių fotosensibilizatorių farmakokinetines savybes, nes nuo jų priklauso laiko trukmė tarp sensibilizatoriaus suleidimo ir švitinimo – švitinama tada, kai sensibilizatoriaus kiekio sveikame ir navikiniame audinyje kontrastas yra maksimalus.

- **Fotosensibilizatoriaus fotosužadınimas**

Patekusios į organizmą fotosensibilizatoriaus molekulės yra neaktyvios ir negali inicijuoti



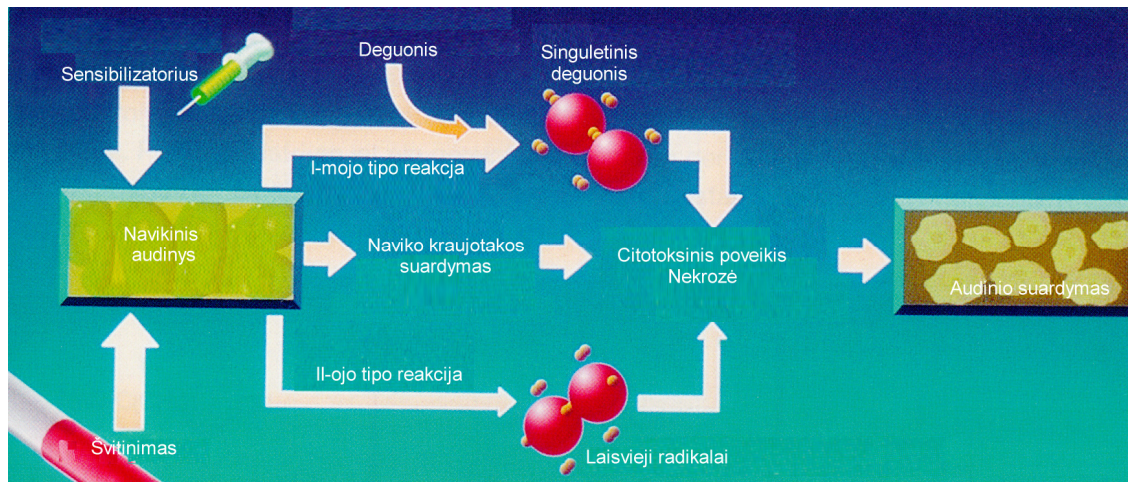
3.4 pav. Jablonskio diagrama, parodanti elektroninius šuolius sužadintoje fotosensibilizatoriaus molekulėje

fotocheminių vyksmų. Tokias molekules apšvitinus tinkamo bangos ilgio šviesa, įvyksta fotosužadinimas, t.y. molekulės peršoka į sužadintą didesnės energijos būseną (3.4 pav.). Būdamas sužadintoje singuletinėje būsenoje, fotosensibilizatorius, matyt, nedalyvauja sensibilizacijos vyksme, nes šios būsenos gyvavimo trukmė per trumpa (1–100 ns), kad sužadinta fotosensibilizatoriaus molekulė galėtų perduoti sugertos šviesos energiją aplinkos molekulėms. Tačiau iš sužadintos singuletinės būsenos sensibilizatoriaus molekulės interkombinacinės konversijos keliu gali peršokti į tripletinę būseną, kurios gyvavimo trukmė yra ilgesnė (net iki kelių milisekundžių). Šioje būsenoje sensibilizatorius jau gali inicijuoti fotocheminius procesus, sukeliančius vėlesnę ląstelės žūtį.

Sensibilizatoriaus molekulės sugebėjimas peršokti į tripletinę būseną yra apibūdinamas tripleto kvantiniu našumu, kuris efektyviam sensibilizatoriui turėtų būti artimas vienetui.

- *Sužadinimo energijos pernaša biomolekulėms, chemiškai aktyviųjų tarpinių darinių generavimas*

Sąveikaujant sužadintam sensibilizatoriui su audinio biomolekulėmis, galimi du



3.5 pav FNT veikimo schema

pagrindiniai reakcijų tipai (3.5 pav.). Pirmojo tipo reakcijose sensibilizatorius tiesiogiai sąveikauja su biomolekule. Tos sąveikos metu vyksta elektrono arba vandenilio atomo pernaša ir susidaro laisvieji radikalai,. Antrojo tipo reakcijose sužadintoje tripletinėje būsenoje esantis sensibilizatorius sąveikauja su audinių molekuliniumi deguonimi, perduodamas jam sužadavimo energiją (plačiau apie reakcijų mechanizmus – 5 skyriuje).

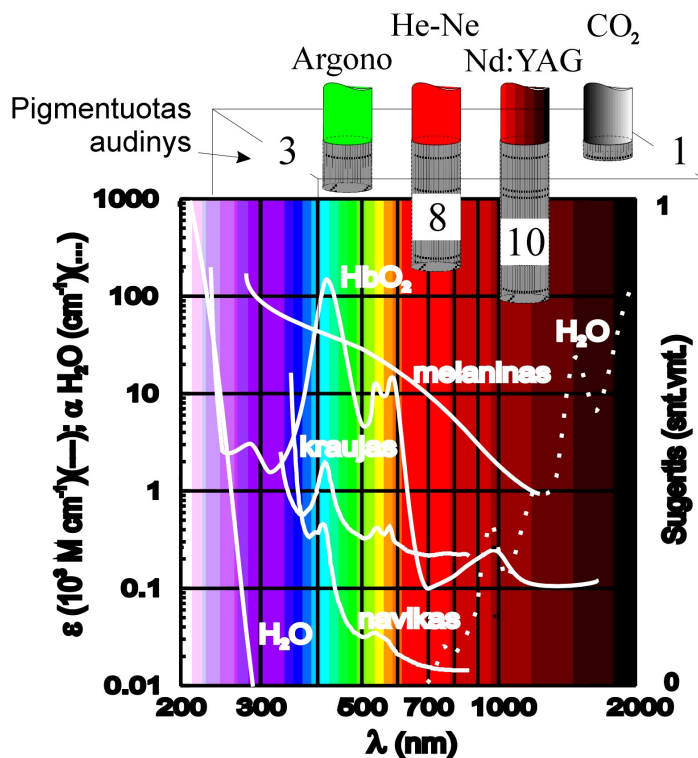
- ***Biomolekulių fotooksidacija***

Dėl sužadavimo energijos pernašos susidarę laisvieji radikalai yra labai aktyvūs ir inicijuoja biomolekulių oksidacijos reakcijas, sukeliančias vėlesnę ląstelių žūtį. Sužadinta deguonies molekulė taip pat yra chemiškai labai aktyvi, oksiduoja biomolekules ir taip sutrikdo ląstelių metabolizmą bei sukelia ląstelių žūtį. Daugelis fotosensibilizatorių gali generuoti tiek laisvus radikalus, tiek ir aktyvias deguonies formas. Tačiau į klausimą, kas vis dėlto sukelia ląstelės žūtį, dar neatsakyta. Vyrauja nuomonė, kad porfirinų fototoksinis poveikis biomolekulėms FNT metu yra sąlygotas aktyvių deguonies formų, generuojamų fotosensibilizavimo metu.

- ***Funkciniai ir struktūriniai pokyčiai, ląstelių pažaidos/žūtis ir naviko nekrozė***

Jei oksiduotos biomolekulės buvo labai svarbios ląstelių gyvybinei veiklai ir reparaciniai mechanizmai nesugeba atgaminti normalios jų būklės – sutrinka ląstelėse vykstančios reakcijos, prasideda funkciniai ir struktūriniai pokyčiai, paleidžiami ląstelės susinaikinimo mechanizmai ir jos žūsta apoptozės būdu arba įvyksta naviko nekrozė.

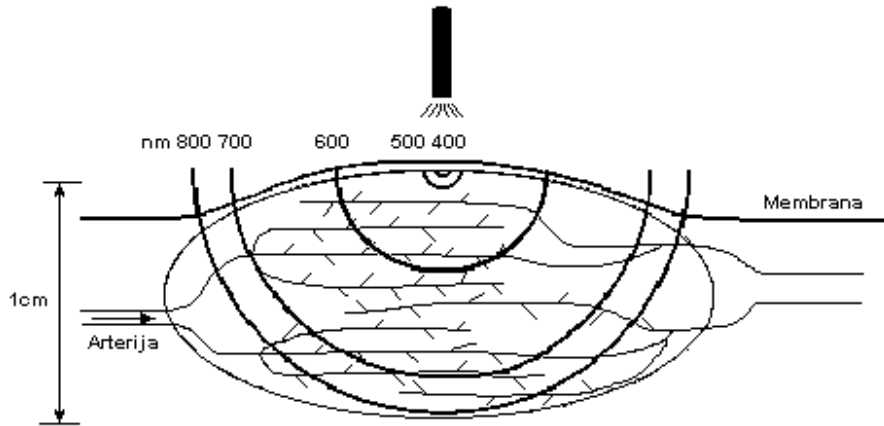
Lazerinės spinduliuotės įsiskverbimo gylis, mm



3.6 pav. Vandens, hemoglobino (HbO₂), kraujo, melanino ir navikinio audinio sugerties, sklaidos ir atspindžio spektrai. Įvairių lazerių spinduliuotės įsiskverbimo gylis į pigmentuotą audinį

Šviesą sugeria ne tik fotosensibilizatorius, bet ir pats švitinamas audinys (3.6 pav.). Audinio sugertį nulemia šviesą sugeriančios medžiagos (vanduo, pigmentai, hemoglobinas, baltymai, lipidai ir t.t.). Daugelis organinių molekulių ir vanduo smarkiai sugeria šviesą ultravioletinėje (UV) spektro srityje. Nukleorūgštys ir baltymai turi intensyvią sugerties juostą 240–290 nm intervale, o infraraudonuosius spindulius gerai sugeria vanduo. Todėl būtina ieškoti tokios spektro srities, kurioje audinys sugertų mažiausiai šviesos, o fotosensibilizatorius toje spektro srityje turėtų intensyvią sugerties juostą. Tuomet padidėja galimybė toje spektro srityje sužadinti daugiau sensibilizatoriaus molekulių, drauge paveikti gilesnius navikinio audinio sluoksnius ir padidinti FNT efektyvumą. Kadangi hemoglobino sugertis smarkiai susilpnėja, kai $\lambda > 550 \text{ nm}$ (3.7 pav.), šviesos skvarbumo į audinius gylis padvigubėja didėjant bangos ilgiui nuo 550 iki 630 nm. Ilgesnės šviesos bangos (iki 700 nm)

įsiskverbia į audinius dar dvigubai giliau. Dar ilgesnių bangų skvarbumo gylis padidėja jau tik 10% (Sternberg ir kt., 1998) (3.7 pav.).



3.7 pav. Įvairių bangos ilgių šviesos prasiskverbimo į audinį gylis

Taigi audinys silpniausiai sugeria šviesą 650–1000 nm spektro srityje. Ši sritis vadinama “fototerapiniu langu”, nes tokių bangos ilgių šviesa į audinius prasiskverbia giliausiai (audinys yra skaidriausias šviesai). 3.7 paveiksle parodytas anglies dioksido (CO₂), argono jonų, He-Ne ir kietakūnio Nd:YAG lazerių spinduliuotės santykinis įsiskverbimo į audinį gylis. CO₂ lazerio bangos ilgis 10,6 μm. Audinys visiškai sugeria šią šviesą, tik nedidelė jos dalis pasiekia gilesnius audinio sluoksnius. Argono jonų lazerio bangos ilgis yra 514 nm, šis lazeris taip pat nėra labai tinkamas FNT, nes toje srityje šviesą gerai sugeria hemoglobinas ir audinių pigmentai. Tokio bangos ilgio spinduliuotę galima panaudoti tik labai plonų ir paviršinių navikinių darinių gydymui, kai ypač svarbu apsaugoti gilesnius sveikų audinių sluoksnius. He-Ne (λ -630 nm) ir Nd:YAG (λ -1064 nm) lazeriai spinduliuoja šviesą “fototerapinio lango” srityje, todėl jų spinduliuotės įsiskverbimo gylis yra didesnis negu CO₂ bei argono jonų lazerių. Taigi labai svarbu, kad fotosensibilizatoriai turėtų stiprią šviesos sugertį audinių optinio pralaidumo srityje (λ >600 nm). Tačiau pageidautina, kad jie neturėtų intensyvių sugerties juostų regimosios šviesos intervale nuo 350 iki 600 nm, nes tuomet liekamasis odos jautrumas šviesai būtų mažesnis.

Nors porfirininės prigimties fotosensibilizatoriai, tokie kaip fotofrinas, šiuo metu yra bene vieninteliai klinikinėje praktikoje taikomi sensibilizatoriai, jų fotofizikinės ir fotocheminės savybės nėra optimalios FNT požiūriu. Nehomogeniška fotofrino cheminė

sudėtis apsunkina jo elgsenos kontrolę *in vivo*. Jis blogai pasišalina iš organizmo, todėl 1–2 mėnesius po gydymo išlieka padidėjęs jautrumas šviesai, ligonis turi vengti tiesioginių saulės spindulių. Šių sensibilizatorių šviesos sugertis “fototerapinio lango” srityje (ties 630 nm) gana silpna. Dėl to mažėja fotosužadavimo tikimybė ir terapiniam efektui pasiekti reikia didelių fotosensibilizatoriaus dozių.

Fotosensibilizatorių geba sugerti šviesą taip pat gerokai priklauso nuo molekulių tarpusavio sąveikų ir sąveikų su aplinkos biomolekulėmis. Tad nagrinėjant FNT efektyvumą būtina atsižvelgti į sensibilizatorių spektrinių savybių pokyčius dėl skirtingų aplinkos parametrų bei terpės pH. Aišku, kad ir sensibilizatorių lokalizacija įvairiose ląstelės organelėse vienaip ar kitaip gali lemti FNT efektyvumą.

Fotosensibilizatorių interkombinacinė konversija ir aktyvių tarpinių darinių susidarymas – kitas FNT vyksmų žingsnis. Jo metu generuojami aktyvūs dariniai, pradedantys destrukcijos procesą navikiniuose audiniuose. Pirmoje FNT stadijoje efektyvumą sąlygojo tik nesužadintų fotosensibilizatoriaus molekulių farmakokinetinės savybės, antroje – paties sensibilizatoriaus spektrinės savybės bei jų pokyčiai dėl sąveikos su aplinkos molekulėmis, o trečioje stadijoje efektyvumą lemia sužadavimo energijos perdavimas aplinkoje esančioms molekulėms bei dviejų molekulių tarpusavio sąveiką nulemiantys veiksniai. Kaip minėta, vienas iš pagrindinių FNT efektyvumą trečioje stadijoje lemiančių elementų yra singuletinis deguonis, apie kurį plačiau kalbama 5 skyriuje.

Vėlesnės FNT poveikio stadijos daugiausia priklauso nuo navikinio audinio histogenezės ir biocheminio metabolizmo ciklų ląstelėse, tad šioje monografijoje vargu ar pasisektų argumentuotai apibendrinti tuos procesus, tuo labiau kad jie dažniausiai specifiškai atskiram navikų tipui. Tam tektų atskirai nagrinėti naviko tipą (jų šiuo metu priskaičiuojama per šimtą) atsižvelgiant į kiekvieno jų specifiškumą, o šios problemos jau peržengia knygoje nagrinėjamų klausimų ribas.

Literatūra

Auler H., G. Banzer (1942) Untersuchungen uber die Rolle der Porphyrine bei geschwulstkranken Menschen und Tieren. Z.Krebsforsch., 53, 65-68.

Bloznelytė L., V. Čepulis (1995) Intraarterinis fotodinaminis burnos gleivinės ir ryklės navikų gydymas. Medicina, 31, 227-230.

Copeman S.M., F. Coke, C. Goulesbrough (1929) "Activated" (irradiated fluorescein in the treatment of cancer. *Brit.Med.J.*, 2, 233.

Diamond I., S.G. Granelli, A.F. McDonagh, S. Nielsen, C.B. Wilson, R. Jaenicke (1972) Photodynamic therapy of malignant tumours. *Lancet*, 2, 1175-1177.

Dougherty T.J.(1974) Activated dyes as anti-tumour agents. *J.Natl.Cancer Inst.*, 51, 1333-1336.

Dougherty T.J., G.B. Grindey, K.R. Weishaupt, D.G. Boyle (1975) Photoradiation therapy II. Cure of animal tumours with haematoporphyrin and light. *J.Natl. Cancer Inst.*, 55, 115-121.

Dougherty T.J., J.E. Kaufman, A. Goldfarb, K.R. Weishaupt, D.G. Boyle, A. Mittelman (1978) Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumours. *Cancer Res.*, 38, 2628-2635.

Figge F.H., G.S. Weiland, L.A. Manganiello (1948) Cancer detection and therapy. Affinity of neoplastic, embrionic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 68, 640-641.

Fisher H., F. Meyer-Betz (1912) Formation of porphyrins. *Z Physiol.Chem.*, 82, 96-108.

Gadonas R., R. Kapočičūtė, V. Krasauskas, A. Piskarskas, R. Rotomskis (1986) Singlet-singlet and triplet-triplet absorption of hematoporphyrin diacetate, *Chem.Phys.Lett.*, 129, 603-606.

Gregory Jr H.G., E.O. Horger, J.L. Ward (1968) Hematoporphyrin derivative fluorescence in malignant neoplasms. *Ann.Surg*, 167, 820.

Hausmann W. (1911) Die sensibilisierende Wirkung des hematoporphyrins. *Biochem.Z.*, 30, 276-316.

Hayata Y., H. Kato, C. Konaka, J. Ono, N. Takizawa (1982) Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. *Chest*, 81, 269-277.

Jodlbauer A., H.v. Tappeiner (1904) On the participation of oxygen in the photodynamic effect of fluorescencet substances. *Munch.Med.Wochenschr.*, 52, 1139-1141.

Kelly J.F., M.E. Snell (1976) Haematoporphyrin derivative: a possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. *J.Urol.*, 115, 150.

Leonard J.R., W. Beck (1971) Hematoporphyrin derivative fluorescence: an aid to

diagnosis of malignant neoplasms. *Laryngoscope*, 81, 365-368.

Lipson R.L., E.J. Baldes, A.M. Olsen (1961) The use of a derivative of haematoporphyrin in tumour detection. *J. Natl. Cancer Inst.*, 26, 1-11.

Lipson R.L., M.J. Gray, E.J. Baldes (1967) Haematoporphyrin derivative for detection and management of cancer. *Cancer*, 20, 2255-2257.

Meyer-Betz F.(1913) Untersuchungen uber die Biologische (photodynamische) Wirkung des hamatoporphyrins und anderer Derivative des Blut und Gallenfarbstoffs. *Dtsch. Arch.Klin.Med.*, 112, 476-503.

Policard A.(1924) Etudes sur les aspects offerts par des tumeur experimentales examinee a la lumiere de woods. *C.R. Soc.Biol.*, 91, 1423-1428.

Profio A.E, D.R. Dorion, G.C. Huth (1977) Fluorescence bronchoscope for lung tumor localization. *IEEE Trans.Nucl.Sci.*, NS24, 521-524.

Raab O. (1900) Uber die Wirkung fluorescierender Stoffe auf Infusorien. *Z.Biol.*, 39, 524-546.

Reynolds T.(1997) Photodynamic therapy expands its horizons. *J.Natl.Canc.Inst.*, 89, 112-114.

Rotomskis R., E.J.van de Meent, T.J. Aartsma, A.J. Hoff (1989) Fluorescence spectra of hematoporphyrin and hematoporphyrin-diacetate aggregates in buffer solution. *J.Photochem.Photobiol., B:Biol.*, 3, 369-377.

Rowe P.M.(1998) Photodynamic therapy begins to shine. *The Lancet*, 351, 1496.
Schwartz S. (1992) Historical Perspective. In: *Photodynamic therapy. Basic principles and clinical application*. Eds.:B.W.Henderson, T.J.Dougherty, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, 1-8.

Sharman W.M., C.M. Allen, J.E.van Lier (1999) Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *DDT*, 4, 507-517.

Sternberg E.D., D. Dolphin, C. Bruckner (1998) Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, 54, 4151-4202.

Tappeiner H.v., A. Jesionek (1903) Therapeutische Versuche mit fluorescierender Stoffen. *Munch.Med.Wochenschr.*, 47, 2042-2044.

Tappeiner H.v., A. Jodlbauer (1904) Ueber wirkung der photodynamischen (fluorescierenden) Stoffe auf Protozoan und Enzyme. *Dtsch.Arch.Klin.Med.*, 80, 427-487.

Tappeiner H.v., A. Jodlbauer (1907) Die sensibilisierende fluoreszierender Substanzen. Gesammelte Untersuchungen uber die photodynamische Erscheinung, F.C.W. Vogel, Leipzig.

Valuckas K.P., J. Didžiapetrienė, V. Atkocius, L. Gričiute, L. Luksiene, L. Zaleckaite, R. Rotomskis, V. Smilgevicius (1993) Laser, gamma irradiation, and chemotherapy in treatment of malignant tumors sensitized by porphyrins. In: Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy II, T.J. Dougherty (ed.). Proc.SPIE 1881, 76-83.

SUMMARY

3. PHOTOSENSITIZED TUMOUR THERAPY

Light has been employed in the treatment of disease since antiquity. It was used in ancient Egypt, India and China to treat skin diseases, such as psoriasis or vitiligo, as well as rickets. The famous Greek physician, Herodotus, is regarded as the father of heliotherapy. He emphasized the importance of sun exposure for the restoration of health. Modern phototherapy was commenced by Niels Finsen finding that sunlight, or light from carbon arc with a heat filter could be used to treat *lupus vulgaris*, a tubercular condition of the skin (Bonnet, 1999). This discovery was received with acclamation: a Medical Light Institute was set up in Copenhagen, and named after him, and he was awarded the Nobel Prize in 1903 for his work on phototherapy. Phototherapy refers to use of light in the treatment of disease. The processes involved are photochemical ones, involving electronic excitation of molecules in the irradiated tissue.

Photochemotherapy is a subdivision of phototherapy where the treatment involves a combination of the administration of a photosensitizing agent following by the action of light on tissues in which the agent is localized.

History of photosensitized tumour therapy. At the turn of the 20th century, Raab described light activation of a dye and its lethal effect on bacteria (Raab, 1900). Von Tappainer in 1904 discovered that oxygen was essential for the process and introduced the term “photodynamic action” (Tappeiner and Jodlbauer, 1904). This is the fundamental

photobiological process involved in photodynamic therapy: it thus requires oxygen, a photosensitizer, and visible light. We in this book will use the term “photosensitized tumour therapy” (PTT) as more precise definition of the phenomenon.

In 1911 Hausmann in Vienna performed the first studies of the biological effect of hematoporphyrin (Hausmann, 1911). He described skin reactions in mice exposed to light after hematoporphyrin administration. The first report of human photosensitization by porphyrins was in 1913 by Friedrich Meyer-Betz (Meyer-Betz, 1913). In order to determine whether the same effects could be induced in humans as well as mice, he injected himself with 200 mg of hematoporphyrin and subsequently noticed prolonged pain and swelling in light-exposed areas (Fig.3.1. A. F.Meyer-Betz before his self experiment, B. After injection of 0.2 g hematoporphyrin and exposition to sun light (Meyer-Betz, 1913)).

The first report of fluorescent porphyrin localization in a malignant tumour appeared in 1924, when Polycard observed the characteristic red fluorescence of hematoporphyrin in an experimental rat sarcoma illuminated with ultraviolet light (Policard, 1924). In 1942 Auler and Banzer described the localization and fluorescence of exogenously administered porphyrins in malignant tumours (Auler and Banzer, 1942).

The modern era of PTT began with studies by Lipson and Schwartz at the Mayo clinic (USA) in 1960. They observed that injection of crude preparations of hematoporphyrin led to fluorescence of neoplastic lesions. The emphasis was on diagnosis, leading to the development of fluorescence endoscopy (Lipson et al., 1961; Lipson et al., 1967). This remains an important aspect, which continues to be subject to new investigations. Using experimental animal studies they went on to show that hematoporphyrin derivative (HpD) was more effective in tumour localization and differentiation from normal tissues than crude hematoporphyrin.

In 1975 Dougherty (Dougherty et al., 1975) reported successful PTT of induced and transplanted tumours in mice and rats. The first extensive clinical trials involved 25 patients with cutaneous or subcutaneous malignant lesions. In 1983, Dougherty demonstrated that crude hematoporphyrin contains a range of different porphyrins and, when converted to HpD by acetylation, further porphyrins are produced. Further analytical studies (Kessel et al., 1987; Dougherty, 1987) suggested that the active component of HpD comprised a mixture of porphyrin rings, between 5 and 8, linked by a number of ether and ester bonds. Partial

purification of the most active of these oligomers lead to drug Photofrin, 90-95% of which is active component (Dougherty and Marcus, 1992).

Photofrin[®] is marketed by QLT PhotoTherapeutics (Vancouver, Canada) and has been accepted in the clinic in several countries for the treatment of early- and late-stage lung cancer, superficial and advanced esophageal cancer, bladder cancer, superficial and early-stage gastric cancers, early stage cervical cancer and cervical dysplasia. In addition, Photofrin is being investigated as a possible therapy against Kaposi's sarcoma, cancers of the head and neck, brain, intestine, lung, breast and skin, as well as urinary, bladder, abdominal and thoracic cancers. All of these conditions are being investigated in clinical trials with mostly promising results.

Derivations of Photofrin are also being used. For example, Photoheme is produced in Russia and has been accepted for wide range of clinical uses including skin, breast, oropharyngeal, lung, larynx and gastrointestinal cancers.

Although Photofrin is the most commonly used photosensitizer it has significant disadvantages. Therefore, major effort has been invested in the development of new sensitizers. In particular, there was a need for new compounds that absorbed light at longer wavelengths to assist tissue penetration, greater PTT efficiency, selective tissue localization and self-limiting minor skin photosensitivity. The use of 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced endogenous photosensitizers is a novel method currently being investigated for PTT (Kennedy et al., 1990). Marketed by DUSA Pharmaceuticals (Canada) under the name Levulan[®], ALA is the closest compound to being accepted into clinic. QLT PhotoTherapeutics has carried out extensive work on the second-generation photosensitizer Verteporfin (benzo-porphyrin-derivative monoacid ring A). Tin etiopurpurin or Purlytin[®] (Miravant Medical Technologies, Santa Barbara, CA, USA) is being used in clinical trials. Very promising second generation photosensitizer tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin (Foscan[®], Scotia Pharmaceuticals, Canada) is undergoing clinical testing in recurrent head and neck cancers in Europe and US.

Over the past 10 years the use of PTT in the treatment of benign and malignant lesions has increased dramatically. The first health agency approval for PTT was granted for Photofrin in Canada in 1993 for use in bladder cancer. Indeed, Photofrin is now licensed in many countries for the treatment of cancers of lung,

bladder, cervix and esophagus.

In Lithuania first in the field of PTT were initiated in 1985. At present problems related to PTT are solved in Vilnius University and Lithuanian Oncology Center. Groups in these institutions are concentrated on *in vitro* and *in vivo* spectroscopy of biologically active pigments, spectroscopy of photosensitizers in model systems, photostability and phototransformations of photosensitizers. PTT has been used in the Clinics of Lithuanian Oncology Center since 1989. In the period 1989-2000 total 316 patients with 760 lesions were treated here.

PTT is a potentially effective and safe treatment approach for superficial cancers and selected benign conditions. It does appear also to be suitable for the early diagnosis. Over the next few years some of the second generation photosensitizers may be expected to receive regulatory approval. With improved performance, it seems likely that the treatment will gradually be generally accepted.

Principles of photosensitized tumour therapy. PTT is a medical treatment which employs the combination of light and photosensitizer to bring about a cytotoxic or modifying effect to cancerous tissue. It derives great promise from dual-selective mode of action: a photosensitizer of negligible dark toxicity is introduced into the body and accumulates preferentially in rapidly dividing cells. When the drug reaches an appropriate ratio of accumulation in diseased *versus* healthy tissue, a carefully regulated light dose is shone onto the diseased tissue (Fig.3.2. Stages in photosensitized tumour therapy). Light activates the drug and elicits the toxic action. The amount of light needs to be large enough to cause the desired response in the tissue, but small enough to spare the surrounding healthy tissue from extensive damage.

Upon illumination, the photosensitizer is excited from the ground state (S_0) to the first excited singlet state (S_1), followed by conversion to the triplet state (T_1) via intersystem crossing (Fig.3.4. Jablonski diagram for a typical photosensitizer). The longer lifetime of the triplet state enables the interaction of the excited photosensitizer with the surrounding molecules, and it is generally accepted that the generation of cytotoxic species produced during PTT occurs whilst in this state.

The excited triplet state can react in two ways, defined as type I and type II mechanisms (Fig.3.5. Scheme of PTT action). A type I mechanism involves hydrogen-atom abstraction or electron-transfer reactions

between the excited state of the sensitizer and a substrate, to yield free radicals and radical ions. These free radical species are generally highly reactive and can cause irreparable biological damage. A type II mechanism results from an energy transfer between the excited triplet state of the sensitizer and the ground state molecular oxygen, generating the first excited state of oxygen, singlet oxygen. This species is extremely reactive and can interact with a large number of biological substrates, inducing oxidative damage and ultimately cell death. Singlet oxygen is generally accepted as the major damaging species in PTT (Weishaupt et al., 1976).

The longest wavelength of absorption of Photofrin is at 630 nm. At this wavelength effective light penetration through tissue is limited due to endogenous chromophores, mainly hemoglobin, and light scattering (Fig.3.6. Absorption, scattering and reflection spectra of water, hemoglobin, blood, melanin and cancerous tissue. Depth of the penetration of different laser light into tissue). Hemoglobin has significant absorption near 425, 544 and 577 nm, necessitating illumination of tissue at wavelengths >600 nm to ensure significant penetration. At wavelengths >1200 nm, light absorption by water molecules becomes substantial. For wavelengths >850-900 nm, the photons may not have sufficient energy to participate in a photochemical reaction. Therefore, the wavelength range between 600 and 800 nm has been determined as the practical “therapeutic window” for clinical PTT. Therefore it is desirable that the sensitizer has a strong absorption in the red part of the visible, since this is the part of the spectrum that tissue transmits most effectively.

References

- Auler H., G. Banzer (1942) 53, 65-68.
- Bonnett R. (1999) Rev.Contemp.Pharmacother., 10, 1-17.
- Dougherty T.J. (1987) Photochem.Photobiol., 45, 879-889.
- Dougherty T.J., G.B. Grindey, K.R. Weishaupt, D.G. Boyle (1975) J.Natl. Cancer Inst., 55, 115-121.
- Dougherty T.J., S.L. Marcus (1992) Eur.J.Cancer, 28A, 1734-1742.
- Hausmann W. (1911) Biochem. Z., 30, 276-316.
- Kennedy J.C., R.H. Pottier, D.C. Pross (1990) J.Photochem.Photobiol. B:Biol., 6,143-148.

- Kessel D., P. Thompson, B. Musselman, C.K. Chang (1987) *Photochem.Photobiol.*, 46, 563-568.
- Lipson R.L., E.J. Baldes, A.M. Olsen (1961) *J. Natl. Cancer Inst.*, 26, 1-11.
- Lipson R.L., M.J. Gray, E.J. Baldes (1967) *Cancer*, 20, 2255-2257.
- Meyer-Betz F.(1913) *Dtsch. Arch.Klin.Med.*, 112, 476-503.
- Policard A.(1924) *C.R. Soc.Biol.*, 91, 1423-1428.
- Raab O. (1900) *Z.Biol.*, 39, 524-546.
- Tappeiner H.v., A. Jodlbauer (1904) *Dtsch.Arch.Klin.Med.*, 80, 427-487.
- Weishaupt K.R., C.J. Gomer, T.J. Dougherty (1976) *Cancer Research*, 36, 2326-2329.

