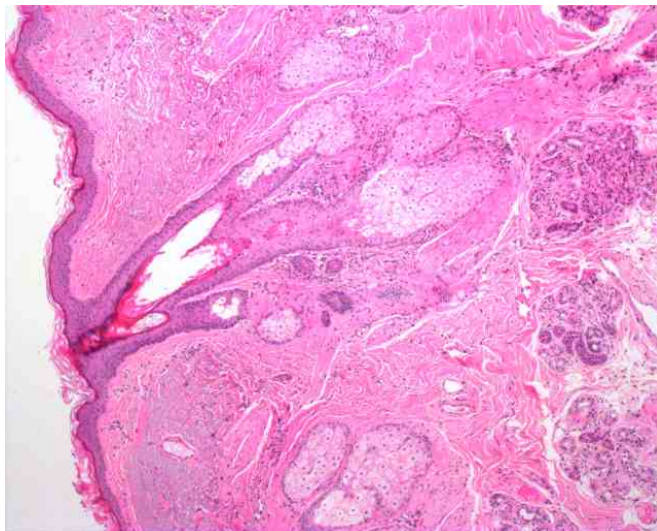


## **ŠVIESOS IR BIOLOGINIO OBJEKTO SAŲEIKA: MEDICININIAI ASPEKTAI**

*Trumpai aptariama odos sandara, šviesos poveikis odai, apžvelgiamos UV spinduliuotės sukeltos odos ligos, nagrinėjama UV spindulių įtaka odos vėžiui išsivystyti. Aprašytas fototerapijos taikymas rachitui ir naujagimių hiperbilirubinėjai gydyti. Didelė skyriaus dalis skirta fotosensibilizuotam akių ligų gydymui, skyrius baigiamas PUVA terapijos aprašymu.*

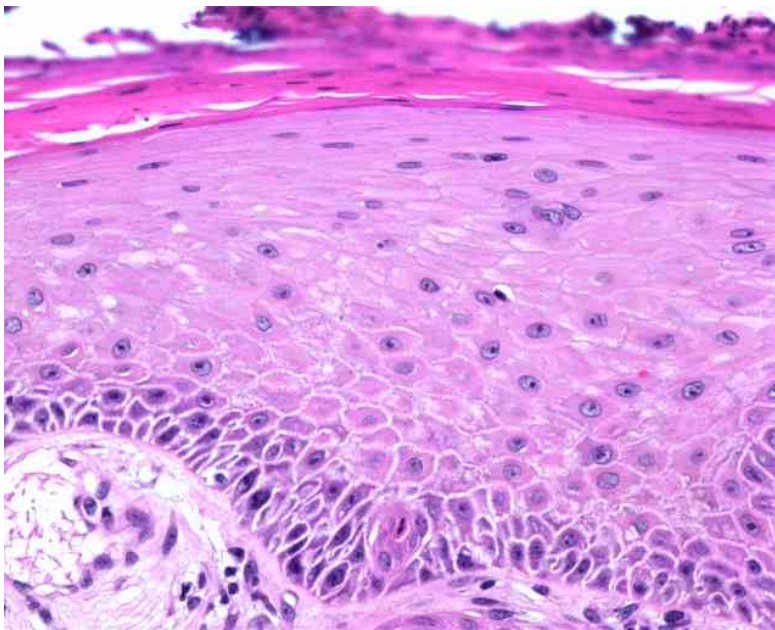
### **Ultravioletinės spinduliuotės poveikis odai**

*Odos sandara.* Oda yra kūno paviršiaus dangalas, sudarantis beveik 1/16 bendros kūno masės dalį. Ją sudaro du sluoksniai: išorinis (epitelinio audinio) ir vidinis (jungiamojo audinio). Bestuburių epitelinis sluoksnis yra vienasluoksnis, stuburinių – daugiasluoksnis, sausumos stuburinių – daugiasluoksnis ragėjantis ir vadinamas epidermiu. Jungiamojo audinio sluoksnis – derma (tikroji oda). Juos skiria bazinė arba pamatinė membrana, sudaryta iš jungiamojo audinio skaidulių ir amorfinės medžiagos. Per membraną epidermis aprūpinamas reikalingomis medžiagomis, nes epidermyje nėra kraujagyslių (9.1 ir 9.2 pav.).



**9.1 pav.** Žmogaus odos sandara

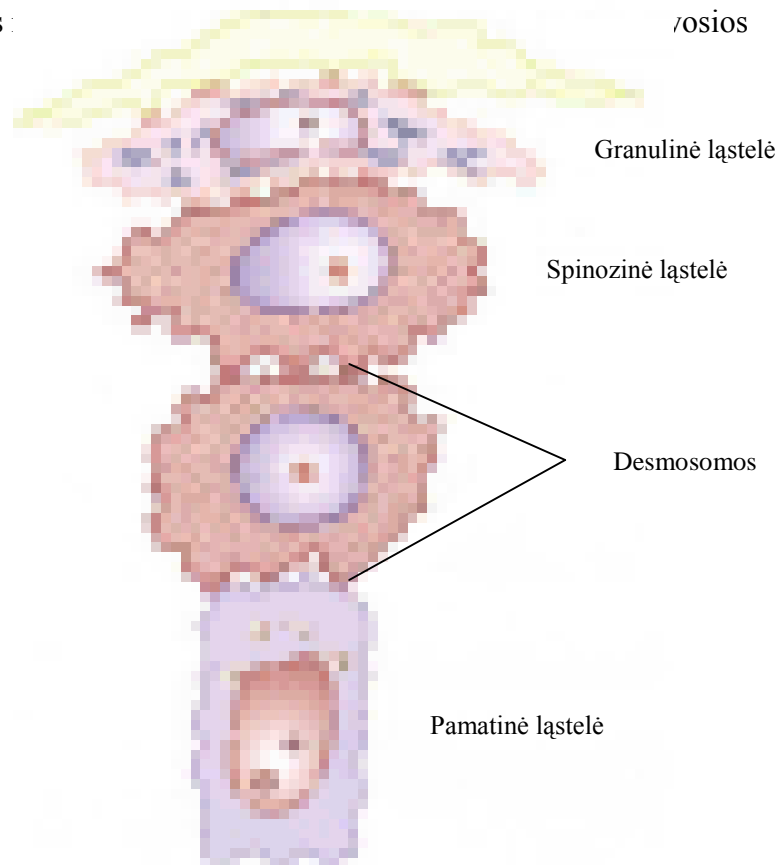
Epidermis yra ploniausias odos sluoksnis, kurio storis vokų srityje yra 0,03 mm, o padų – iki 1,5 mm. Didėjant amžiui dėl atrofinių pokyčių šis odos sluoksnis plonėja. Epidermis yra metaboliškai aktyvus daugiasluoksnis (4–5 sluoksniai) plokščiasis ragėjantis epitelis, sudarytas mažiausiai iš 4 skirtingų tipų ląstelių: keratinocitų, melanocitų, Langerhanso ir Merkelio ląstelių. Pamatinis sluoksnis yra iš prizminių ląstelių ir melanocitų, dygliuotasis – iš daugiakampių ląstelių keratinocitų, grūdėtasis – iš menkai suragėjusių ląstelių, kurių citoplazmoje yra fibrilinio baltymo keratohialino grūdelių; blizgantysis – iš labiau suragėjusių plokščiųjų ląstelių, kurių citoplazmoje yra eleidino, t. y. baltyminės medžiagos, susidaranti iš keratohialino; šio sluoksnio yra tik storioje odoje – padų, delnų. Ir penktasis – raginis sluoksnis yra sudarytas iš raginių žvynelių, pilnų keratino, kuris daro odos paviršių atsparesnį išorės veiksniams. Šio sluoksnio ląstelės nuolat nusilupa, sąlygodamos nuolatinį odos atsinaujinimą (9.2 pav.).



**9.2 pav.** Žmogaus epidermio sandara

Vyraujanti odos ląstelių populiacija yra keratinocitai, atsirandantys dalijantis pamatiniame epidermio sluoksnyje kamieninėms keratinocitų ląstelėms. Bręsdami keratinocitai tolsta nuo dermos ir per 4 savaites, pereidami 4 brendimo stadijas, tampa visiškai diferencijuotomis raginio sluoksnio ląstelėmis (9.3 pav.). Epidermio sluoksniai yra skirstomi atsižvelgiant į keratinocitų brendimo stadiją. Pagrindinė keratinocitų

funkcija – barjerinė. Diferencijuoti keratinocitai sintetina keratinus, kurie sudaro tarpląstelinės rišamosios

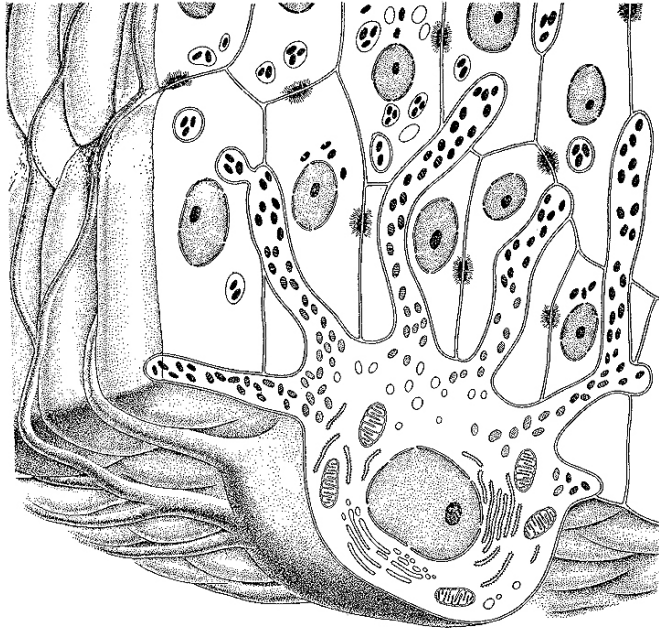


**9.3 pav.** Keratinocitų brendimo stadijos

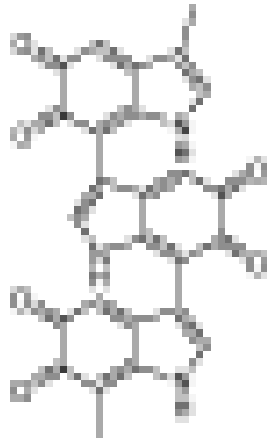
riebiosios rūgštys, įvairūs lipidai, keletas hidrolizinių fermentų, pavyzdžiui, lipazės, rūgštinės fosfatazės, patekusios tarp ląstelių, jas tarpusavyje suriša bei formuoja pralaidumo barjerą. Pralaidumo barjeras atlieka svarbų vaidmenį palaikant vandens ir elektrolitų pusiausvyrą, apsaugant organizmą nuo išorėje esančių alergenų bei mikroorganizmų.

Melanocitai yra pigmentą melaniną sintetinančios ląstelės, išsidėsčiusios pamatiniame sluoksnyje (9.4 pav.). Melaninas yra ilgagrandis polimeras, sudarytas iš indolil-5,6-chinono vienetų (9.5 pav.). Melanino sintezės schema pateikiama 9.6 paveiksle. Melaninas, esantis melanosome, melanocitų ataugomis patenka į keratinocitus (9.7 pav.). Keratinocituose melanosomos lokalizuojasi virš branduolio. Vienas melanocitas

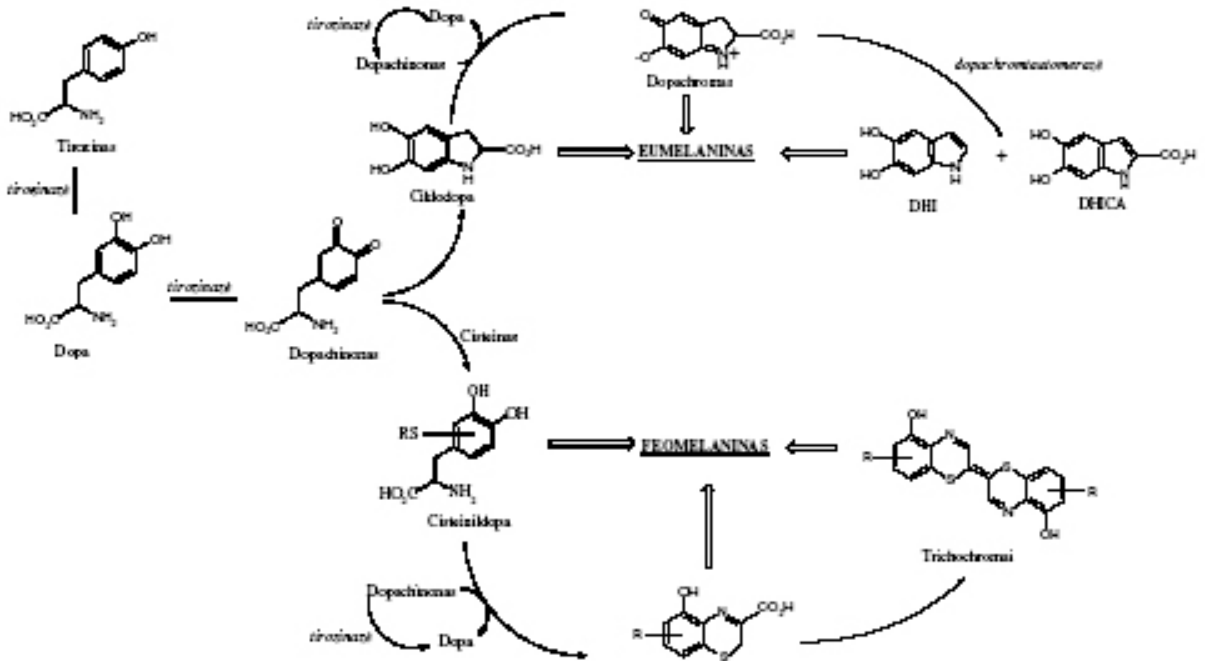
aprūpina melaninu apie dešimt keratinocitų. Melanosome esantis melaninas absorbuoja UV spindulius ir taip apsaugo branduolio DNR nuo žalingo UV poveikio.



**9.4 pav.** Melanocitas, esantis pamatiniame epidermio sluoksnyje



**9.5 pav.** Melanino cheminė sandara

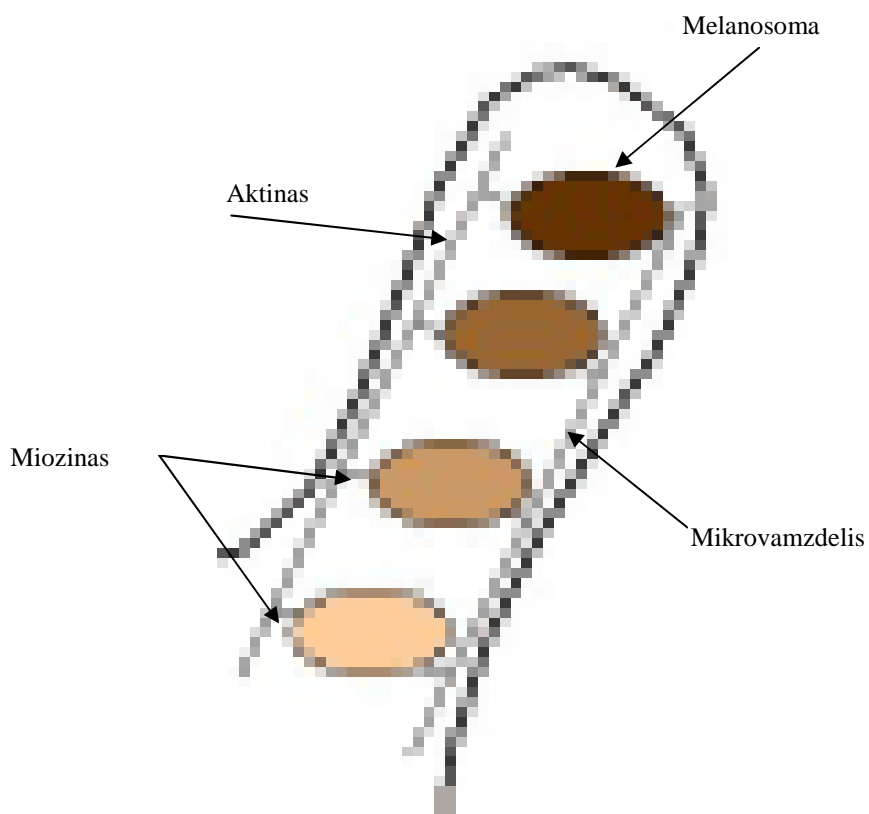


9.6 pav. Melanino sintezė

Langerhanso salelės atkeliauja iš kaulų čiulpų ir didžiausiais kiekiais yra išsidėsčiusios virš pamatinio epidermio sluoksnio. Tai ląstelės, užtikrinančios imuninę odos funkciją. Merkelio ląstelės išsidėsčiusios pamatiniame epidermio sluoksnyje. Šios ląstelės dalyvauja perduodant nervinį impulsą nervinėms skaiduloms ir atlieka ląstelėje jutimo funkciją.

Epidermį nuo dermos skiria pamatinė membrana. Dermos pagrindą sudaro amorfinė medžiaga, sudaryta iš proteoglikanų ir gliukozoaminoglikanų, elastino ir kolageno skaidulos. Yra du dermos sluoksniai: spenelinis ir tinklinis. Paviršinis spenelinis sluoksnis ribojasi su pamatine membrana; jame esančių skaidulų kiekis yra mažesnis nei žemiau esančiame dermos tinkliniame sluoksnyje. Tarp skaidulų amorfinėje medžiagoje yra kraujagyslių, limfagyslių, nervų galūnėlių, plaukų folikulų, prakaito bei riebalinių liaukų, lygiųjų raumenų (9.8 pav.). Derma yra organizmo skysčių depas.

*Odos priedai.* Plaukų yra beveik visoje odoje; plaukų nėra tik delnuose, paduose, lūpoje ir varpos galvutėje. Plaukų folikulai yra epitelio paviršiuje ir tik vietomis siekia



9.7 pav. Melanocitas

giliuosius dermos sluoksnius. Kiekvienas plaukas turi su folikulu susietą riebalinę liauką, plauką pašiaušiantį raumenį ir kai kuriose srityse apokritinę prakaito liauką.

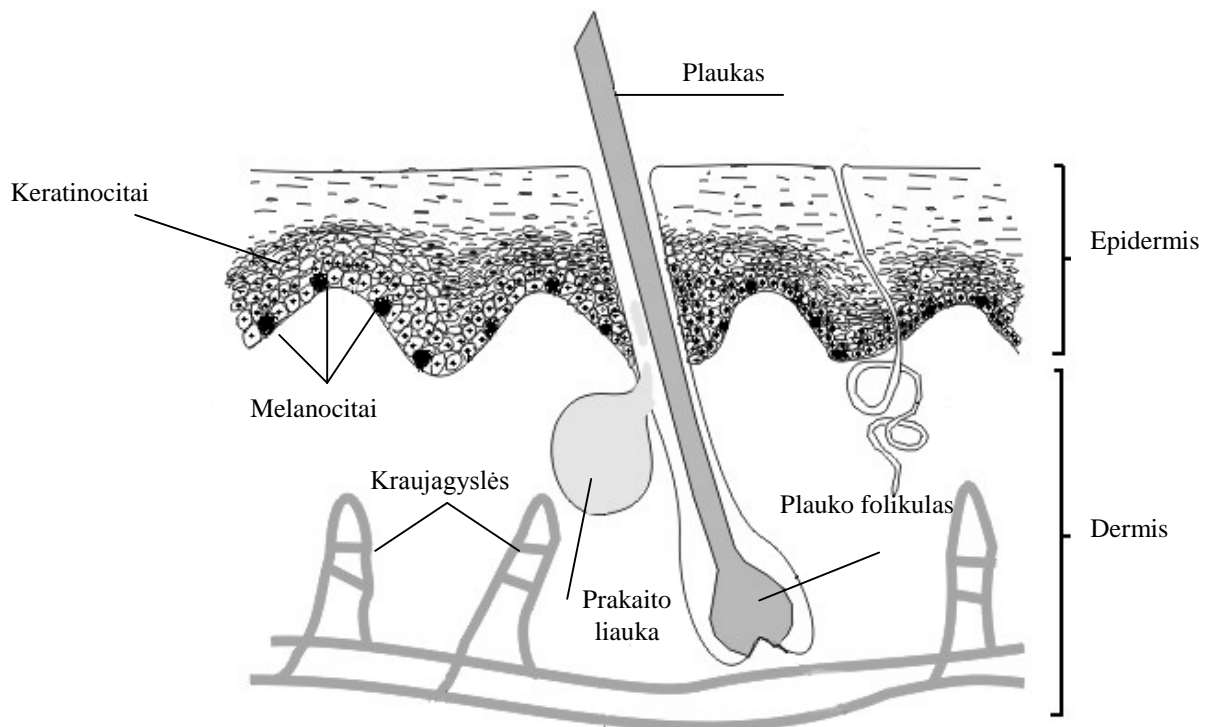
Riebalinė liauka yra lipidus gaminanti epitelinė struktūra, kurių daugiausia yra veido, krūtinės bei nugaros odoje. Riebalinių liaukų ištekamieji latakai atsiveria į plaukų folikulus jų sąsmaukos srityje, o tose vietose, kur plaukų nėra, – tiesiai į odos paviršių. Riebalinių liaukų išskiriamas sekretas yra įvairių lipidų (trigliceridai, skvalenas, cholesterolis ir jo esteriai ir kt.) mišinys. Riebalinių liaukų veiklą aktyvina androgenai.

Prakaito liaukos yra ekrininės ir apokrininės. Ekrininės liaukos dalyvauja termoreliacijoje, jų veiklą aktyvina acetilcholinai. Kartu su prakaitu iš organizmo yra išskiriamos organinės ir neorganinės medžiagos (šlapalas, amoniakas, kalio ir natrio druskos, fosfatai ir kt.). Apokrininės liaukos kaupiasi pažastyse, apie krūtų spenelius, apie bambą perianalinėje srityje, lytiniuose organuose. Šios liaukos išskiria neturintį kvapo į

pieną panašų sekretą. Bakterijos paverčia šį sekretą nemalonaus kvapo sekretu. Šių liaukų veiklą reguliuoja androgenai.

Nago plokštelė yra sudaryta iš specializuotų, besidauginančių, po ponagine raukšle esančių ląstelių. Nago storis yra nuo 0,5 iki 0,7 mm. Nago plokštelės atlieka apsauginę funkciją.

9.8 pav. Odos sandaros schema





***Elektromagnetinės spinduliuotės poveikis odai.*** Elektromagnetinė spinduliuotė, pasiekusi žmogaus odą, gali atsispindėti nuo odos raginio sluoksnio paviršiaus – toks jos poveikis odai nėra reikšmingas. Jei elektromagnetinė spinduliuotė, pasiekusi odą ir nežymiai pakeitusi kryptį prasiskverbia į minėtą sluoksnį, tada galima jos sąveika su odos raginiame sluoksnyje esančiomis „melanino dulkėmis“, kurios iš dalies ar visai sugeria spinduliuotę arba ją išsklaido. Ilgabangė UV spinduliuotė (ilgesnė nei 320 nm) gali prasiskverbti per raginį epidermio sluoksnį, pasiekti pamatinę membraną, po to – dermą. Čia spinduliuotė sklaido kolageno skaidulos, o sugeria hemaglobinas ir bilirubinas. Epidermio pamatinį sluoksnį, kuris nuo odos paviršiaus yra nutolęs vidutiniškai per 70 μm, pasiekia 2–10 % UVB (290 – 320 nm) ir 20 % UVA (320 – 400 nm) spinduliuotės. UVC (100 – 290 nm) ruožo spinduliuotę sugeria audiniai, todėl jų prasiskverbimo gylis nėra ženklus.

Vienaląsčių ir daugialąsčių atsakas į UV poveikį yra skirtingas: daugialąsčiuose vyrauja apoptozės mechanizmai, vienaląsčiuose – išgyvenamumo mechanizmai, kuriuos lydi didelė somatinių mutacijų rizika.

Paveikus UV, ląstelėje konstatuojami biocheminiai bei morfologiniai pokyčiai: pakinta lizosomų membranos, susidaro lipidų peroksidai, inaktyvinami ląstelės fermentai, mažiau sintetinama nukleorūgščių bei baltymų, pakinta ląstelių branduoliai, išryškėja melanocitų dendritai, sustorėja epidermis, jame mažėja Langerhanso ląstelių. UV aktyvina ir daugybės genų raišką. Tos raiškos kelias priklauso nuo UV spinduliuotės bangos ilgio. UVA spinduliuotė generuoja aktyviasias deguonies formas, formuojasi oksidacinis stresas. UVB spinduliuotė aktyvina signalų perdavimo kelius ląstelėje. UVB spinduliuotė, kaip ir UVA, taip pat generuoja aktyviasias deguonies formas, tačiau pagal poveikį genų aktyvacijai yra artimesnė UVC spinduliuotei. UVB spinduliuotė gali aktyvinti raišką baltymų, tarp kurių yra imunomoduliacinių citokinų. Šiandien jau esama įrodymais pagrįstų duomenų, kad fotoimunologinius efektus gali sukelti ir UVA spinduliuotė. Šiuo atveju taip pat gali būti „įjungti“ oksidacinių pažaidų mechanizmai, kadangi antigenų raiška, kurią indukuoja UVA spinduliuotė, gali būti nuslopinta glutationu, pasižyminčiu antioksidacinėmis savybėmis. Laisvasis azoto oksido radikalas taip pat gali tarpininkauti UVA spinduliuotės sukeltam imuniniam atsakui, kadangi azoto oksido slopikliai apsaugo nuo Langerhanso ląstelių išnykimo epidermyje. Svarbu

pažymėti, kad UVA sukeliama imunomoduliaciniai efektai yra labiau laikini, palyginti su UVB spinduliuotės poveikiu, mažiau kenksmingas tolesnis UVA spinduliuotės poveikis. Ir dar – tam tikromis sąlygomis UVA spinduliuotė gali apsaugoti ląsteles nuo UVB spinduliuotės. Šis efektas, manoma, yra sąlygojamas IFN- $\gamma$  raiškos.

Žmogaus odos spalva priklauso nuo joje esančio pigmento melanino. Melanocitų kiekis įvairių rasių žmonių odoje yra beveik vienodas, o odos spalva priklauso nuo melanino kiekio bei jo sintezės intensyvumo melanocituose.

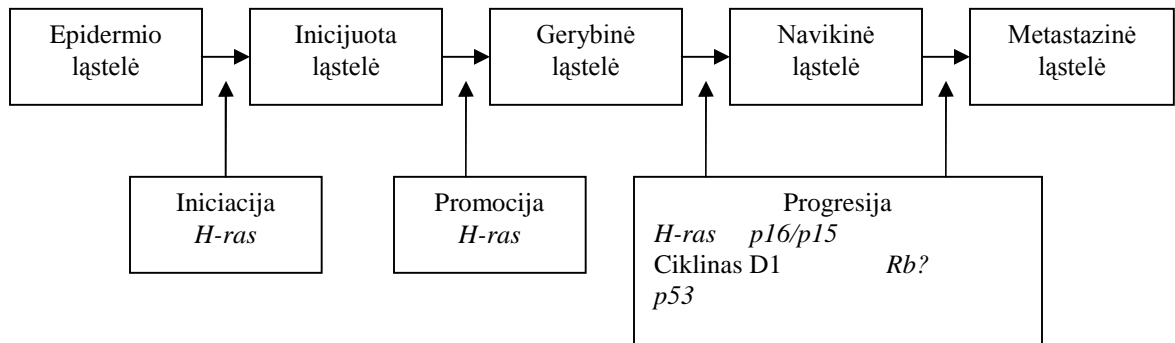
Oda pagal atsaką į pirmą dvidešimties minučių ekspoziciją vasaros saulei yra skirstoma į 6 tipus: 4 baltos ir 2 juodos odos tipai: I-ojo tipo oda parausta, bet neįdega; II-ojo tipo – neparaušta, bet įdega; II-asis ir III-asis yra tarpiniai tipai.

UV spinduliuotė sukelia fototoksines reakcijas, kurios pasireiškia odos paraudimu (eritema). Eritemą sukelia eikozanoidai, vazoaktyvūs mediatoriai (arachidono rūgštis ir prostaglandinai), neuropeptidai. Paprastai eritemą sukelia UVB spinduliuotė, tačiau, esant 1000 kartų didesnei ekspozicijai, lengvą eritemą gali sukelti ir UVA spinduliuotė. UV spinduliuotės sąlygojamas IL-1 ir TNF- $\alpha$  citokinų raiškos padidėjimas sukelia uždegiminiuosius vyksmus.

Lėtinis UVB spinduliuotės poveikis sukelia ženklius pokyčius odoje: oda raukšlėjasi, glemba, atsiranda hipopigmentinių ar hiperpigmentinių dėmių, išsiplečia kraujagyslės. Melanocitų skaičius odoje lieka nepakitęs, bet kinta jų dydis, pasiskirstymas, keičiasi tirozinazės (už odos pigmentaciją atsakingo fermento) koncentracija. Dėl ilgo buvimo saulėje vyksta fotosenėjimas: keičiasi kolageno ir elastino struktūra bei odos optinės savybės, kinta melanino pasiskirstymas.

UVB spinduliuotės indukuota pigmentacija atsiranda praėjus 3–5 dienoms nuo spinduliuotės pradžios ir maksimali yra 7-tą dieną. Jei UV spinduliuotė yra intensyvi, t. y. daugiau nei 3 minimalios eriteminės dozės, odos raginis sluoksnis su didele dalimi pigmento nusilupa 10–15-tą dieną. Minimali eriteminė dozė ispanams yra 2,5 karto, o negroidams 10–15 kartų didesnė, palyginti su kaukazinio tipo žmonėmis (baltaodžiai). Baltaodžiams saulės ekspozicijos metu yra būdinga melanino kaita. UV spinduliuotė, esant 350 nm bangos ilgiui, sukelia trumpalaikį paraudimą – fotooksiduojantis melanino pirmtakams sintetinamas tam tikras melanino kiekis ir greitai susidaro užtvara saulės įdegiui.

UV-B spinduliuotė sukelia protoonkogenų ir genų slopiklių mutacijas, inicijuoja oksidacines pažaidas ląstelėje, sukeldama oksidacinį stresą, bei pažeidžia ląstelinį imunitetą. 9.9 paveiksle pateikta supaprastinta odos kancerogenezės schema.



**9.9 pav.** Odos kancerogenezės schema

UVC spinduliuotė taip pat yra mutageniška, tačiau, matyt, mažiau pavojinga (išskyrus 254 nm ilgio bangas), nes UVC spinduliai gerai filtruojami suragėjusio epitelio sluoksnio.

UVA spinduliai taip pat gali būti kenksmingi, sukeldami odos ląstelėse oksidacinį stresą bei inicijuodami lokalią bei sisteminę imunosupresiją. Eksperimentuojant su gyvūnais gauta duomenų, kad UVA spinduliai gali stimuliuoti kitų kancerogeninių veiksnių įtaką. Nustatyta, panaudojus žuvų modelį, kad UVC spindulių efektyvumas inicijuoti melanomą yra didesnis, negu indukuoti odos eritemą žmonėms ar nemelanominį odos vėžį pelėms. Aprašyta, kad gydant žvynelinę ligą psoraleno deriniu su UVA spinduliuote, stimuliuojamas odos plokščialąstelinio vėžio atsiradimas bei didėja reliatyvi rizika susirgti melanoma.

UV spinduliuotės sąlygojamuose kancerogenezės mechanizmuose svarbų vaidmenį vaidina DNR reparacijos sutrikimai. Tai patvirtina klinikiniai atvejai, liudijantys, kad sergantys įgimtomis ligomis – *xeroderma pigmentosum*, Bloomo sindromo asmenys, kurių yra sutrikusi DNR reparacija, ypač jautrūs UV spinduliuotei.

Ir epidemiologinių, ir eksperimentų tyrimų su gyvūnais, ir *in vitro* tyrimų rezultatai liudija, kad kancerogeninis UV spinduliuotės poveikis odai tiesiogiai proporcingas

spinduliuotės dozei. Eksperimentinių tyrimų, panaudojant imunodeficitines peles, rezultatai rodo, kad, didėjant UV spinduliuotės dozei, navikai atsiranda greičiau ir jų gausiau, tačiau 2 kartus didesnė dozė nebūtinai bus 2 kartus veiksmingesnė. Naviko indukcijos kinetikos tyrimai rodo, kad naviko atsiradimo bei augimo greitį riboja daugelis veiksnių, tarp jų ir adaptaciniai organizmo mechanizmai, galintys keisti atsaką į spinduliuotės poveikį. Nėra žinoma, ar UV spinduliuotė gali inicijuoti kancerogenezę kituose organuose. Kadangi UV spinduliuotės skvarba yra nedidelė, toks poveikis mažai tikėtinas.

### **Pigmentinė kseroderma ir porfirijos**

Pigmentinė kseroderma (*xeroderma pigmentosum*) – tai paveldėta kserodermatozė, kuri atsiranda esant sumažėjusiam atsparumui UV spinduliuotei (9.10 pav.). Veikiant UVA ir UVB spinduliuotei epidermio ląstelėse nevyksta DNR reparacija. Asmenys, kurie linkę sirgti pigmentine kseroderma, priklauso didelei rizikos susirgti odos piktybiniais navikais grupei. Odoje atsiranda ikivėžinių pokyčių, kurie vėliau lemia plokščialąstelinio vėžio ar melanomos formavimąsi.



**9.10 pav.** Pigmentinė kseroderma

Vėlyvoji odos porfirija (*porphyria cutanea tarda*) – tai įgytas ar paveldėtas porfirinų sintezės sutrikimas kepenyse, pasireiškiantis pūslelių ar pūslių susidarymu atvirose kūno vietose. Pūslės yra išsidėsčiusios po epidermiu (9.11 pav.).

Varijuojančioji porfirija (*porphyria variegata*) – tai paveldima porfirinų sintezės sutrikimo liga, kuriai būdingas odos pažeidimas, identiškas vėlyvajai odos porfirijai. Pūslės formuojasi po epidermiu (9.12 pav.).



**9.11 pav.** Vėlyvoji odos porfirija



**9.12 pav.** Varijuojančioji porfirija

### **Fototerapijos taikymo galimybės**

**Rachitas.** XX amžiaus pradžioje rachitas (gr. *rachitis* - stuburas) buvo svarbi sveikatos priežiūros sistemos problema ir Europoje, ir Šiaurės Amerikoje. Buvo spėjama, kad šios vaikų ligos priežastis yra saulės šviesos stygius, paveldimumas, infekcija,

nevisavertė mityba ar fizinio aktyvumo stoka. Šiandien aišku, kad rachitu susergama dėl vitamino D trūkumo arba dėl UV spindulių stokos (9.13 pav.).

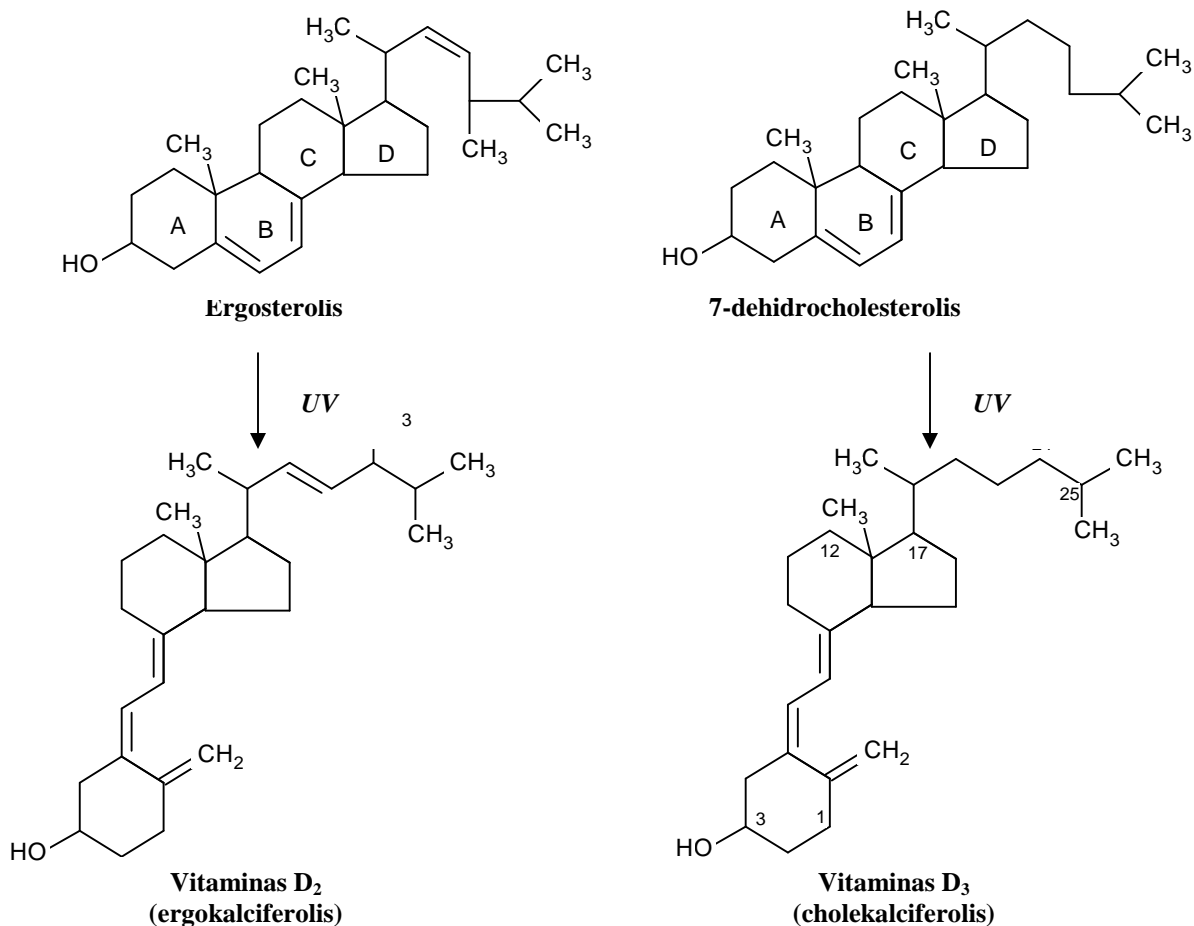


**9.13 pav.** Sergančiojo rachitu pavyzdys.

Vitaminas D – grupė sterolių, reguliuojančių kalcio ir fosforo apykaitą: vitaminas D<sub>2</sub> – ergokalciferolis; vitaminas D<sub>3</sub> – cholekalciferolis ir kt.

Vitaminas D<sub>2</sub> (ergokalciferolis) susidaro iš provitamino ergosterolio veikiant UV spinduliuotei. Ergosterolis buvo išskirtas iš mielių. Vitaminas D<sub>3</sub> susidaro iš provitamino 7-dehidrocholesterolio žmogaus ir gyvūnų odoje veikiant UV spinduliuotei (9.15 pav.).

Didžioji žmogui reikalingo vitamino D dalis susidaro odoje iš 7-dehidrocholesterolio (vitamino D<sub>3</sub> provitamino) nefermentinės reakcijos metu veikiant UV spinduliuotei. Tik nedidelė šio vitamino dalis gaunama su maistu (pavyzdžiui, galvijų riebalais, kiaušinio tryniu, žuvų kepenimis, saulėgražų, alyvuogių aliejumi ir kt.).



**9.20 pav.** Vitaminai D<sub>2</sub> ir D<sub>3</sub> ir jų provitaminai.

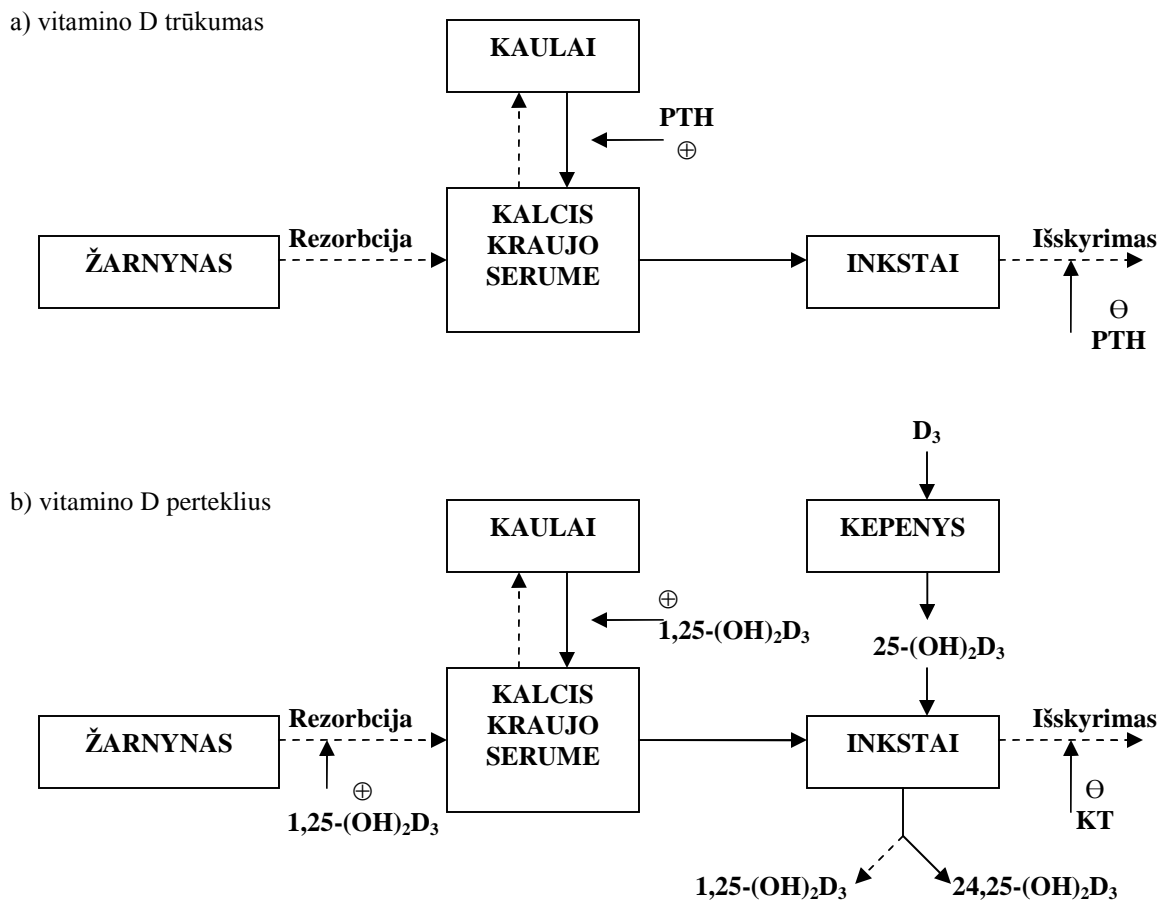
Oda yra provitamino D<sub>3</sub> (7-dehydrocholesterolio) sintezės vieta, pradinio fotoprodukto provitamino D<sub>3</sub> depo bei lėtos terminės konversijos į vitaminą D<sub>3</sub> vieta. Didžiausia 7-dehydrocholesterolio koncentracija būna epidermio Malpigijaus sluoksnyje (dažniausiai šis terminas naudojamas branduolinių ląstelių sluoksniui pažymėti) ir 7-dehydrocholesterolio pėdsakų yra raginiame odos sluoksnyje. UVB spinduliuotė sukelia epidermio 7-dehydrocholesterolio fotocheminę konversiją į provitaminą D<sub>3</sub>. Susidaręs provitaminas D<sub>3</sub> izomerizuojasi į vitaminą D<sub>3</sub>. Fotocheminės reakcijos greitis priklauso nuo odos temperatūros.

Nei vitaminas D<sub>2</sub> (ergokalciferolis), nei D<sub>3</sub> (cholecalciferolis) nėra aktyvūs. Biologiškai aktyviausia vitamino D forma yra 1,25-dihidroksicholecalciferolis-1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (kalcitriolis). 1,25-dihidroksicholecalciferolis susidaro dviem etapais: kepenyse



ir inkstuose katalizuojant fermentams hidroksilazėms (monooksigenazėms). Abiejose hidroksilinimo reakcijose dalyvauja citochromas P450, NADPH,  $Mg^{2+}$  ir molekulinis deguonis. Šios aktyvios formos susidarymą reguliuoja prieskydinių liaukų hormonas – paratiroidinas (parathormonas, PTH).

Kalcitriolis, paratiroidinas ir kalcitoninas (skydliaukės hormonas) reguliuoja kalcio bei fosfatų homeostazę (9.21 pav.). Pagrindiniai kalcitriolio taikiniai yra plonosios žarnos, kaulinio audinio ir inkstų kanalėlių ląstelės. Žarnyno gleivinės ląstelėse kalcitriolis indukuoja baltymų – kalcį sujungiančio baltymo (CaSB)-kalbindino,  $Ca^{2+}$  - ATP-azės ir kitų, dalyvaujančių pernešant kalcio ir fosforo jonus pro žarnyno gleivinę – sintezę ir padeda išlaikyti pastovią kalcio jonų ir fosfatų koncentraciją kraujyje, kuri būtina kaulams formotis ir atsinaujinti. Inkstuose kalcitriolis indukuoja  $Ca^{2+}$  reabsorbciją distaliniuose inkstų kanalėliuose, o fosfatų – proksimaliniuose, t. y. veikia priešingai nei parathormonas, kuris stimuliuoja fosfatų pasišalinimą su šlapimu. Kauluose kalcitriolis stimuliuoja kalcį prijungiančių baltymų – osteokalcino, osteonektino ir kt. – sintezę. Kalcitriolis veikia osteoblastų ir osteoklastų pirmtakus (kamienines ląsteles) ir pagreitina šių nesubrendusių kaulų ląstelių diferenciaciją į osteoblastus ir osteoklastus bei didina osteoblastų skaičių bei jų aktyvumą. Taigi, kai trūksta vitamino D, kai jo gaunama nepakankamai su maistu arba dėl UV spinduliuotės stokos, organizme sutrinka kalcio ir fosforo apykaita, dėl to sutrinka kaulinio audinio mineralizacija, sulėtėja kaulų augimas. Vaikai susergera rachitu, suaugusieji – osteomalacija (kaulų suminkštėjimas). Aprašyti ir įgimti vitamino D avitaminozės atvejai dėl 1-hidroksilazės nepakankamo aktyvumo (I tipo rachitas) arba dėl kalcitriolio receptorių nevisavertiškumo (II tipo rachitas).



**9.15 pav.** Vitaminas D ir kalcio homeostazė  
 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> – 1,25-dihidrokalCIFerolis; 25-(OH)D<sub>3</sub> – 25-dihidrokalCIFerolis;  
 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> – 24,25-dihidrokalCIFerolis; KT – kalcitoninas; PTH – parathormonas.

Rekomenduojama vitamino D paros dozė vaikams – 5 μg, kai kurių autorių duomenimis – 12–15 μg, suaugusiesiems reikalingos minimalios dozės. Jei ilgą laiką yra vartojamos didelės vitamino D dozės (10 kartų ir daugiau didesnės už rekomenduojamas), susergama vitamino D hipervitaminoze, kuriai būdinga hiperkalciemija (padidėjusi kalcio koncentracija kraujyje), hiperkalciurija (padidėjęs kalcio išsiskyrimas su šlapimu) ir įvairių audinių kalcifikacija.

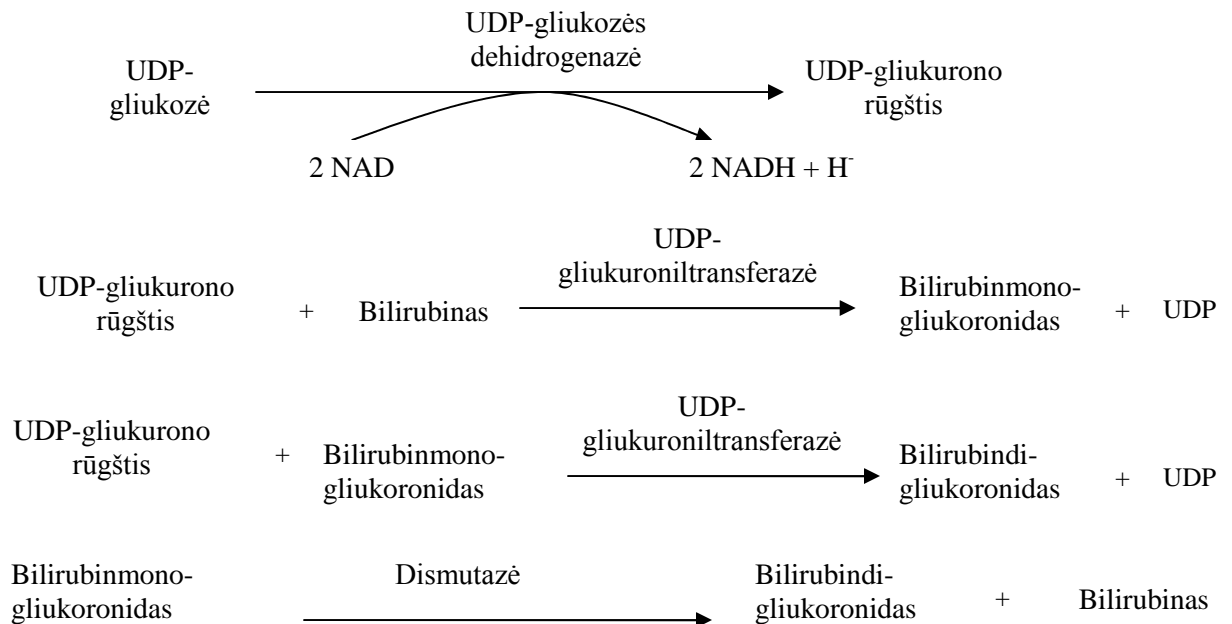
Vitamino D<sub>2</sub> (ergokalCIFerolis) yra augaliniuose produktuose (pavyzdžiui, saulėgražų, alyvų aliejuje); vitamino D<sub>3</sub> (cholekalCIFerolio) – gyvuliniuose maisto produktuose (pavyzdžiui, kepenyse, žuvų taukuose, piene, grietinėje ir kt.); 7-dehidrocholesterolis virsta vitaminu D<sub>3</sub> (cholekalCIFeroliu) odoje veikiant saulės spinduliams, todėl vitamino D reikia papildomai žmonėms, mažai būnantiems saulėje.

**Naujagimių hiperbilirubinemija.** Per parą suaugusio žmogaus organizme susidaro 250 – 350 mg bilirubino. Tai svarbiausias tulžies pigmentas, kuris žinduolių organizme formuojasi vykstant hemo katabolizmui. Iš vieno gramo hemoglobino susidaro apie 35 mg bilirubino. Susidariusio bilirubino apykaita vyksta kepenyse. Bilirubinas blogai tirpsta kraujo plazmoje, todėl jungiasi su albuminu. Kepenyse su bilirubinu jungiasi poliniai junginiai, todėl jis tampa tirpus vandenyje. Šis procesas vadinamas konjugacija. Žinduolių organizme bilirubinas į tulžį išskiriamas kaip bilirubino gliukuronidas (9.16 pav.). Pirmiausia susidaro bilirubino monogliukuronidai. Jų susidarymą katalizuoja lygiajame endoplazminiame tinkle esanti UDP-gliukoroniltransferazė. Reakcijoje dalyvauja ne laisvoji gliukurono rūgštis, o UDP-gliukuronatas.

Bilirubino digliukuronidai gali susidaryti hepatocitų kanalėliuose. Šį procesą katalizuoja UDP-gliukoroniltransferazė, kuri panaši į anksčiau minėtą, arba dismutazė, katalizuojanti dviejų bilirubino monogliukuronidų molekulių jungimąsi, susidarant bilirubindigliukuronidui ir laisvajam bilirubinui. Konjuguoto bilirubino sekrecija į tulžį vyksta aktyviosios pernašos būdu prieš koncentracijos gradientą. Bilirubino konjugacija bei jo pašalinimas iš hepatocitų vyksta kaip vieningos ir koordinuotos sistemos. Normaliai beveik visas į tulžį išskiriamas bilirubinas (apie 97 %) yra konjuguotas. Fiziologinėmis sąlygomis apie 75 % konjuguoto bilirubino yra digliukuronidai ir apie 25 % – monogliukuronidai. Per parą sveikas žmogus išskiria apie 1–2 mg tulžies pigmentų su šlapimu ir iki 250 mg su išmatomis. Kai bilirubino koncentracija kraujyje didesnė už 17,1  $\mu\text{mol/l}$ , yra hiperbilirubinemija. Ji gali susidaryti pagausėjus bilirubino kiekiui, kurią kepenys gali išskirti, arba sutrikus kepenų funkcijai, kai jos nepajėgia išskirti normalaus jo kiekio. Hiperbilirubinemija gali atsirasti ir esant normaliai kepenų funkcijai, bet sutrikus tulžies nutekėjimui dėl kliūčių tulžies latakuose. Naujagimių hiperbilirubinemija yra sąlygota nekonjuguoto bilirubino. Jos priežastis – padidėjusi hemolizė dėl naujagimių kepenų funkcijos nepakankamumo. Naujagimių kepenys dar negali pakankamai absorbuoti, konjuguoti bei išskirti bilirubino. Šios bilirubinemijos atvejais yra sumažėjęs ne tik UDP gliukoroniltransferazės aktyvumas, bet ir šio fermento substrato – UDP gliukurono rūgšties biosintezė. Taigi, esant nepakankamam fermentų aktyvumui, bilirubinas difunduoja į audinius, nudažydamas juos geltonai, prasideda gelta. Fiziologinė

naujagimių gelta yra klinikinis požymis, liudijantis apie nekonjuguotąją hiperbilirubinemiją. Apšvitinus audinius regimają šviesa, bilirubino koncentracija mažėja, tai liudija fotoblyškimo reiškinį. Už fotoblyškimą yra atsakingi du mechanizmai: fotofragmentacijos, kurios metu bilirubino molekulės suskyla į mažus, bespalvius, vandenyje tirpius oksidacinės degradacijos produktus, ir fotosensibilizacijos, kurios metu bilirubino molekulė pasikeičia į izomerą, kuris yra tirpesnis vandenyje ir gali patekti iš kepenų į tulžies pūslę nesikonjuguodamas į D gliukurono rūgštį.

Taigi šiame skirsnyje, pateikdami naujagimio hiperbilirubinemijos pavyzdį, siekiame parodyti fotosensibilizacijos efektus, kai hemas verčiamas bilirubinu, bei galimybes gydyti naujagimių gelta fototerapija.



**9.16 pav.** Bilirubino konjugacija su gliukurono rūgštimi

### Fotosensibilizuota akių ligų terapija

Nedidelį žmogaus akies tinklainės plotą užima jos speciali dalis, vadinama geltonąja dėme (makula). Joje yra didelis tankis fotoreceptinių ląstelių, kurios atsakingos už žmogaus regos aštrumą. Viena dažniausių regos praradimo priežasčių – senatviniai

degeneraciniai makulos pakitimai. Sulaukus 52 metų jie statistiškai pasireiškia 10 % žmonių, o tarp vyresnių nei 75 metų žmonių – iki 33 %. Degeneraciniai makulos pakitimai, atsižvelgiant į jų kilmę, skirstomi į dvi atmainas – sausąją ir drėgnąją. Vadinamoji sausoji makulos degeneracija pasireiškia po tinklainė esančio pigmentinio epitelinio sluoksnio atrofija, kuri lemia centrinės tinklainės zonos fotoreceptinių ląstelių žūtį ir kol kas nėra gydoma; tyrimai parodė, kad jos progresavimą gali sulėtinti vitaminų ir antioksidantų vartojimas.

Nors drėgnoji senatvinės makulos degeneracijos (AMD) forma sudaro nedidelę degeneracijos atvejų dalį, maždaug 15–20 %, tačiau ji lemia didžiąją dalį – apie 80–90 % didelių regos funkcijos sutrikimų. Įvertinta, kad pasaulyje kasmet nustatoma apie pusę milijono naujų drėgnosios AMD atvejų. Vienas ryškiausių šios formos požymių yra patologinis gyslainės, esančios po tinklainės pigmentinio epitelio sluoksniu, kraujagyslių išvešėjimas bei skverbimasis į tinklainės sritį. Šios naujadarės kraujagyslės dažnai būna nevysiškai susiformavusios ir trapios, tad joms trūkus galimas kraujavimas bei vėlesnis randėjimas, sukiantis negrįžtamas tinklainės fotoreceptinių ląstelių bei po ja esančio pigmentinio epitelinio sluoksnio ląstelių pažaidas. Ligos diagnozė nustatoma angiografijos būdu, suleidžiant pacientui į veną fluoresceino, kuris, patekęs į „klasikines“ naujai susiformavusias, skysčiams pralaidžias kraujagysles, pažymi jų vietą fluorescencijos signalu. Pagal vyraujančių kraujagyslių augimo pobūdį išskiriamos drėgnosios AMD formos. „Klasikinė“ ligos eiga pasireiškia staigiu kraujagyslių vešėjimu, aktyviu fluoresceino nuotėkiu diagnostikos metu ir sukelia greitesnį regos praradimą. „Okultinių“ kraujagyslių, kurios auga į visas puses vienu metu ir neturi aiškios struktūros, membranos skysčiams nelaidžios ar silpnai laidžios, todėl šios kraujagyslės sunkiau aptinkamos. „Okultinė“ kraujagyslių augimo eiga pasireiškianti drėgnoji AMD sąlygoja lėtesnį regos praradimą.

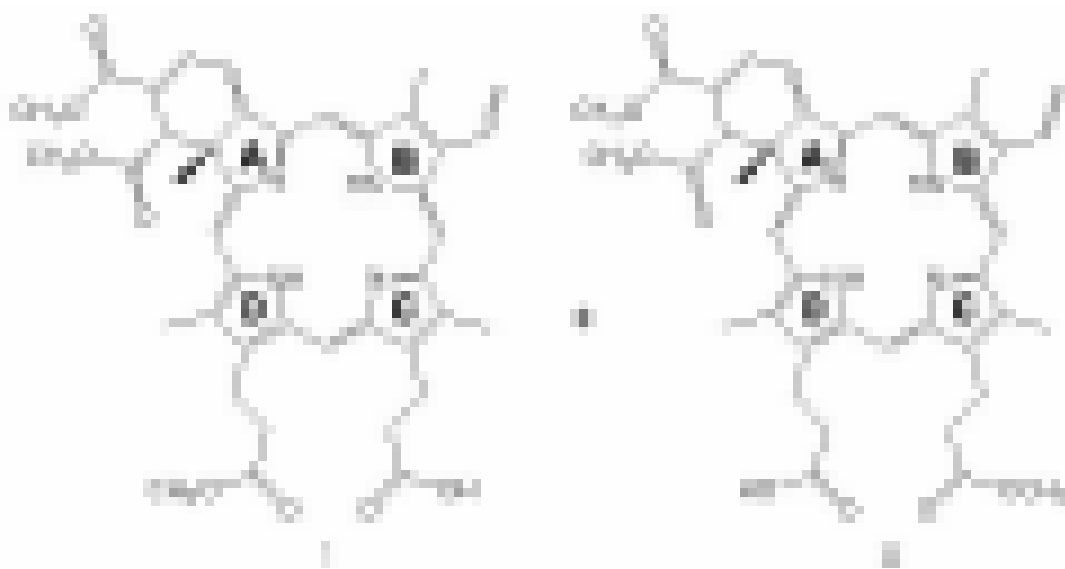
Kai kuriems pacientams, sergantiems drėgnąja AMD forma, galima taikyti lazerinės spinduliuotės terapiją, tačiau ji nėra pakankamai selektyvi, nes gali tiesiogiai pažeisti ne tik kraujagysles, bet ir tinklainę, todėl, siekiant išvengti sudėtingų regos pažaidų, atliekama tik periferinėse tinklainės dalyse atsiradusioms naujoms kraujagyslėms naikinti. Tačiau jei kraujagyslės išveša po makula, švitinimas lazeriu sukelia tiesiogines centrinės tinklainės dalies pažaidas ir staigų regos pablogėjimą, todėl toks gydymas

taikomas tik išskirtiniais atvejais. Pastarąjį dešimtmetį pacientams, sergantiems drėgnąja AMD forma, ypač kraujagyslėms išvešėjus makulos srityje, pradėtas taikyti naujas gydymo metodas – fotosensibilizuota terapija. Ši terapija veiksmingiausia „klasikinės“ drėgnosios AMD formos atveju, nes gali selektyviai paveikti naujai susidariusias kraujagysles ir sustabdyti jų augimą.

Pirminiai ikiklinikiniai tyrimai atskleidė, kad tinkamai parinkus gydymo procedūros parametrus – fotosensibilizatoriaus dozę, švitinimo pradžios laiką ir šviesos dozę, modelinėse sistemose galima selektyviai pažeisti kraujagysles, išsaugant tinklainės bei didžiąsias gyslainės kraujagysles ir sukeltant tik minimalius tinklainės receptorinio sluoksnio pokyčius.

*Senatvinės tinklainės degeneracijos gydymas verteporfinu.* Vienas pirmųjų fotosensibilizatorių, kurio veiksmingumas drėgnosios AMD atveju buvo išsamiausiai tyrinėtas, yra tetrapirolinės kilmės junginys – benzoporfirino darinys, pavadintas verteporfinu. Pacientams, kuriems nustatyta gyslainės neovaskuliarizacija ir kuriems gydymas lazeriu nepadėjo, atliktus fotosensibilizuotą terapiją panaudojant verteporfiną, gautas statistiškai patikimas teigiamas poveikis. 2000 metais verteporfinas buvo įregistruotas JAV kaip vaistas „klasikinei“ drėgnosios AMD formai gydyti.

Verteporfinas yra dviejų regioizomerų (I ir II) vienodų dalių mišinys, kurio



**9.17 pav.** Verteporfino izomerų struktūrinės formulės

struktūrinės formulės pateiktos 9.17 paveikslėlyje. Iš verteporfino gaminamas vaistas visudinas (gaminamas kompanijoje *Novartis Pharmaceuticals Corporation*) yra taikomas klinikinei fotosensibilizuotai terapijai.

*Fotosensibilizatoriaus veikimo mechanizmas.* Fotosensibilizuota terapija naudojant visudiną, kaip ir bet kuriuo kitu fotosensibilizuotos terapijos atveju, atliekama derinant kelias procedūras. Vaistas į organizmą suleidžiamas intraveninės injekcijos būdu, o vėliau tinklainė apšviečiama tinkamai parinkta nešiluminės raudonos šviesos doze. Kadangi verteporfinas yra lipofilinė medžiaga, į organizmo vandeninę aplinką jis suleidžiamas liposomose. Atsidūrus verteporfinui kraujo plazmoje jo sąveika su kraujo lipoproteinais yra stipresnė negu su liposomomis, tad jis atsiskiria nuo liposomų ir plazmoje jį perneša didelio ir mažo tankio lipoproteinai. Tokia šiek tiek neįprasta savybė lemia labai greitą sensibilizatoriaus susikaupimą naujadarių kraujagyslių endotelėje, tad švitinti rekomenduojama prėjus 15-30 min. po intraveninės injekcijos.

Sužadinus verteporfiną šviesa, greta esančios deguonies molekulės gali perimti sužadavimo energiją virsdamos itin chemiškai aktyviomis deguonies formomis: singuletiniais deguonimi ar deguonies radikalais. Tokiu būdu verteporfino sužadinimas šviesa lemia lokalias naujai susidariusių kraujagyslių endotelio pažaidas, sukeliančias kraujagyslių užakimą. Žinoma, kad pažeistas endotelis lipooksigenazės (leukotrienas) ir ciklooksigenazės (eikozanoidai, pavyzdžiui, tromboksanas) būdu sekretuoja koaguliaciją skatinančius ir kraujagysles veikiančius veiksnius, kurie sukelia trombocitų agregaciją, fibrino krešulių susidarymą ir kraujagyslių susitraukimą. Nustatyta, kad verteporfinas iš dalies selektyviai kaupiasi naujai susidariusiose kraujagyslėse, taip pat ir gyslainėje atsiradusiose kraujagyslėse. Tiesa, eksperimentai su gyvūnais atskleidė, kad sensibilizatoriaus galima aptikti ir tinklainėje. Todėl švitinimo procedūros metu įmanomos fotosužadavimo sąlygotos nenumatytos tinklainės struktūrų, tarp jų pigmentinio epitelio ir išorinio tinklainės branduolių sluoksnio, pažaidos.

*Farmakokinetika.* Kitaip nei daugumos fotosensibilizatorių, kuriems švitinimo laiko parinkimas grindžiamas jų selektyvaus išsilaikymo taikinio ląstelėse trukme, verteporfino selektyvumą lemia veiksmingesnis skverbimasis į pažeistą audinį.

Verteporfino šalinimui iš organizmo būdinga laikinė priklausomybė, kurią matematiškai aprašo dviejų eksponenčių sumos funkcija, o visiško pašalinimo iš organizmo pusamžis yra maždaug 5–6 valandos. Todėl galima naudoti nedideles fotosensibilizatoriaus dozes, o jautrumas šviesai išlieka tik apie 24 valandas. Fotosensibilizatoriaus kiekis ir maksimali koncentracija kraujo plazmoje didėja proporcingai panaudotai dozei, kuri parenkama tarp 6 ir 20 mg/m<sup>2</sup> (vertinama pagal paciento odos paviršiaus plotą, suskaičiuojamą atsižvelgiant į jo ūgį ir svorį). Nedideli verteporfino kiekiai kepenyse ir veikiant kraujo plazmos esterazėms metabolizuojami iki jo rūgštinės formos. Didžioji sensibilizatoriaus dalis iš organizmo pašalinama su išmatomis, šlapime aptinkama ne daugiau kaip 0,01 % suleistos dozės.

*Senatvinės tinklainės degeneracijos gydymo verteporfino rezultatai.* Pirminiai verteporfino taikymo galimybių AMD gydyti eksperimentiniai tyrimai buvo atlikti 1992 m. su eksperimentiniais triušiais, parinkus dvi modelines sistemas – dirbtinai sukėlus naujadarių kraujagyslių augimą ir implantavus navikinį audinį. Šių eksperimentų rezultatai paskatino tolesnę tyrimų plėtrą – abiem atvejais po fotosensibilizuotos terapijos nustatytas trombozės sukeltas kraujagyslių nepralaidumas.

I ir II fazės klinikiniai tyrimai, kuriuose dalyvavo apie 150 pacientų, buvo pradėti 1996 metais. Tyrimų metu tirti įvairūs procedūrų režimai, parinkus dvi sensibilizatoriaus koncentracijas, penkias švitinimo dozes ir dvi švitinimo procedūros trukmes. Po 7 dienų atlikta apžiūra atskleidė, kad visais atvejais atsirado naujadarių kraujagyslių nepralaidumas, nesukėlęs su tuo susijusių regos sutrikimų. Niekam nebuvo pažeistos ir sveikos gyslainės kraujagyslės, išskyrus du pacientus, kuriems buvo taikytos didžiausios švitinimo dozės (150 J/cm<sup>2</sup> ir 600 mW/cm<sup>2</sup> 690 nm bangos ilgio šviesa), atitinkančios slenkstinę sveikų audinių pažaidos ribą. Vėlesnių apžiūrų metu nustatyta, kad, praėjus 4 ar 12 savaičių po gydymo, žymių regos aštrumo pokyčių pacientams nepasireiškė, tačiau po 12 savaičių atlikta angiografija daugumai pacientų atskleidė naujas pralaidžių gyslainės kraujagyslių vietas. Tai rodo, kad, norint išsaugoti pasiektus gerus gydymo rezultatus, būtinas pakartotinis gydymas.

Tyrimų metu sukauptą patirtį buvo panaudota rengiant III fazės klinikinius tyrimus. Vertinant gydomąjį verteporfino poveikį senatvinės tinklainės degeneracijos atveju, atlikti dvejetainiai kontroliuojami III fazės tyrimai su pacientais, kuriems be



AMD diagnozuota ir klasikinė gyslainės neovaskuliarizacija (CNV) fovėjos srityje, pritaikant dvigubos maskuotės, placebo ir atsitiktinės parinkties metodikas. Iš viso į tiriamųjų grupes šių dviejų tyrimų metu buvo įtraukti 609 pacientai, vaistu visudinu gydyti 402, placebo – 207. Tyrimų metu buvo leidžiama kartoti procedūrą kas 3 mėnesius, jei angiogramos parodydavo, kad kraujagyslės atsikuria, arba buvo pastebėtas skysčių nuotėkis.

Regos aštrumo vertinimo, atlikto praėjus vieneriems ir dvejiems metams po fotosensibilizuoto gydymo visudinu, rezultatai statistiškai patikimai liudijo šio gydymo naudai. Pacientų pogrupiui, kuriame dominuojanti pažaidos rūšis buvo klasikinė CNV, gydymasis poveikis buvo ryškesnis.

Maždaug 90 % gydytų pacientų amžius buvo 65 arba daugiau metų. Gydomasis poveikis mažėjo amžiui didėjant. Vyresni nei 75 metų pacientai, tarp jų ir pacientai, kurių tamsios rainelės ir kuriems buvo nustatyti okultinio pobūdžio pažeidimai ar klasikinės pažaidos, apimančios mažiau nei 50 % viso pažeisto ploto, sudarė grupę, kuriai fotosensibilizuota terapija padėjo mažiau.

Vienas iš tokio gydymo sunkumų – būtinybė kartoti procedūras. Tačiau fotosensibilizuotos terapijos saugumo ir veiksmingumo tyrimai, atlikti 3 metų laikotarpiu, parodė, kad pacientų regos aštrumas išliko stabilus, o vidutinis būtinų pakartotinių procedūrų skaičius sumažėjo.

*Patologinės miopijos gydymas.* Griežtai kontroliuojami tyrimai, taikant dvigubos maskuotės, placebo ir atsitiktinės parinkties metodikas, buvo atlikti pacientams, kuriems CNV fovėjos srityje išsivystė kaip patologinės miopijos antrinis pažeidimas. Gydymo metu buvo naudotos tokios pat sensibilizatoriaus dozės bei taikytos tokios pat pakartotinės gydymo procedūros, kaip ir AMD atveju. Po vienerių metų įvertinti regos aštrumo skirtumai parodė, kad geresni rezultatai buvo gydymo grupėje, tačiau po dvejų metų statistiškai patikimų skirtumų nebeaptikta. Nedidelių regos pokyčių atveju (pacientų dalis, kuriems regos aštrumas sumažėjo mažiau kaip 3 eilutėmis) po vienerių metų skirtumas tarp gydytos ir placebo grupių sudarė maždaug 19 % (86 % ir 67 %, atitinkamai), o tikrinant po dvejų metų skirtumas statistiniu požiūriu buvo nežymus – 79 % ir 72 %.

*Įtariamoms regos organų histoplazmozės gydymas.* Buvo tirti 26 pacientai, kuriems antrinė CNV pasireiškė įtarus užsikrėtimą regos organų histoplazmoze. Gydymo dozės ir procedūros buvo tokios pat kaip ir kitais CNV atvejais, o gydymo rezultatai buvo lyginami su turima informacija apie tokių pacientų ligos eigą be gydymo. Nustatyta, kad po gydymo stiprių regos sutrikimų atvejų pasitaikė rečiau.

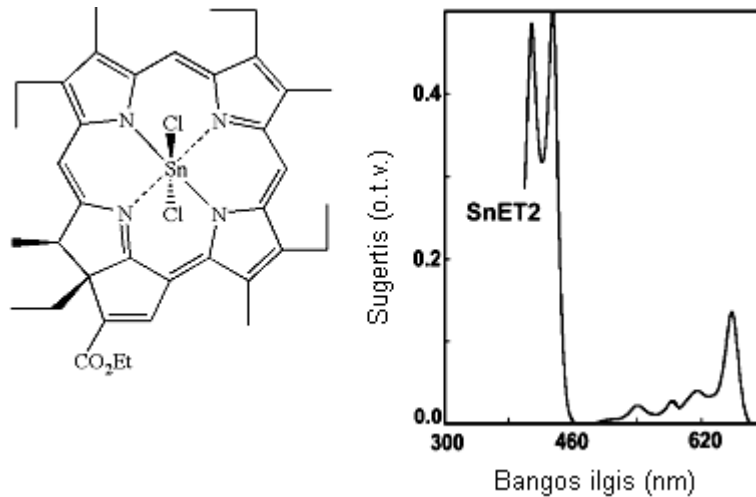
Atlikti fotosensibilizuotos terapijos naudojant verteporfiną taikymo tyrimai atskleidė jos teigiamą poveikį pacientams, sergantiems neovaskuline senatvine tinklainės degeneracija: buvo sulėtintas jų regos aštrumo praradimas ne mažiau kaip dvejus metus. Geriausi gydymo rezultatai gauti gydant ligonius, sergančius klasikine neovaskuliarizacija ar okultinio pobūdžio pažaidomis, sukeliančiomis žymius regos sutrikimus.

Fototerapinį gydymą galima taikyti mažinant regos sutrikimus drėgnosios (neovaskulinės) AMD atvejais, tačiau prieš pradėdant procedūras reikia atlikti didelio tikslumo fluorescencinės angiografijos tyrimus; ne mažiau svarbi ir gydytojų patirtis atpažįstant įvairius pažaidų tipus ir parenkant pacientus, kuriems šis gydymas galėtų būti naudingiausias. Visudinas, kaip vaistas drėgnajai AMD formai gydyti fotosensibilizuotos terapijos metodu, patvirtintas daugiau kaip 50 šalių ir jau gydyta per 50 tūkstančių ligonių.

*Senatvinės tinklainės degeneracijos gydymas alavo etiletiopurpurinu.* Vieni pirmųjų tyrimų, kuriuose gyslainės kapiliarų okliuzijai sukelti buvo panaudotas naujas preparatas – lipofilinis tetrapirolinės kilmės junginys alavo etiletiopurpurinas SnET2 (9.18 pav.), buvo atlikti su natūralaus pigmento turinčiais triušiais paskutiniojo dvidešimtojo amžiaus dešimtmečio viduryje. Fotosensibilizatoriui sužadinti naudota 664 nm bangos ilgio diodinio lazerio spinduliuotė, kuria sensibilizuotų audinių švitinimas buvo atliekamas praėjus 15–45 min. po sensibilizatoriaus intraveninio suleidimo, parinkus  $300 \text{ mW/cm}^2$  intensyvumą ir  $5\text{--}20 \text{ J/cm}^2$  švitinimo dozes. Eksperimentų metu atskleista, kad optimaliomis okliuzijai sukelti švitinimo sąlygomis šalutinis fotosensibilizuotos terapijos poveikis buvo tinklainės pigmentinio epitelio pažaidos ir išorinio tinklainės sluoksnio pokyčiai.

1999 metų pabaigoje *Miravant Medical Technologies* kompanija baigė pacientų atranką III lygio klinikiniam tyrimams, kurių metu alavo etiletiopurpurinas (9.18 pav.),

pavadintas PhotoPoint SnET2 arba purlitinu (*Purlytin*), buvo išbandytas drėgnajai AMD formai gydyti.



**9.18 pav.** Alavo etiletiopurpurino dichlorido struktūrinė formulė ir sugerties spektras

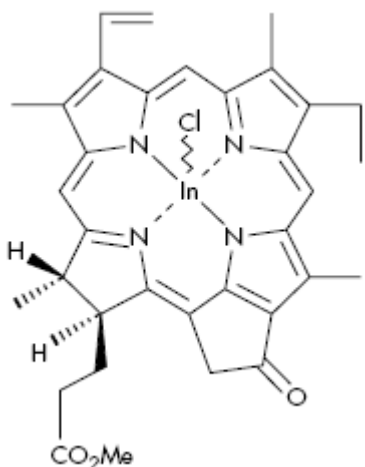
Dvejus metus trukusiuose dviguba akla sistema organizuotuose tyrimuose kartu su placebo grupe dalyvavo 934 pacientai, tirti 59 JAV oftalmologijos centruose. Tyrimams buvo atrinkti pacientai, kurių pažeistos tinklainės zonos linijinis dydis nebuvo ilgesnis negu 3 mm. Pacientams buvo skiriamos viena iš dviejų – 0,5 mg/kg arba 0,75 mg/kg – sensibilizatoriaus dozės arba placebo, po to atliekama švitinimo procedūra švitinant 36 J/cm<sup>2</sup> doze. Vėliau jie buvo tiriami vertinant gydymo saugumą bei poveikį.

Atlikus išsamią įvairių pacientų grupių eksperimentinių duomenų analizę gauti fotosensibilizuotos terapijos su SnET2 veiksmingumą patvirtinantys įrodymai. Bene svarbiausias tyrimo rezultatas buvo tas, kad suskirsčius pacientus į keturias grupes pagal santykinę klasikinės ir okultinės AMD pažaidų formos dominavimą, visose pacientų grupėse gydymo poveikis buvo labai panašus. Atlikti angiografijos tyrimai patvirtino, kad šių grupių ir visų gydytų pacientų pažeistos tinklainės plotas ir kraujagyslių pralaidumas buvo reikšmingai mažesni negu placebo grupėje. Tad, kitaip nei verteporfinas, SnET2 suteikia galimybes taikyti fotosensibilizuotos terapijos metodą pacientams, kuriems nustatytas visų tipų AMD.

Nors per dvejus metus pacientai vidutiniškai patyrė 2–8 fotosensibilizuotos terapijos procedūras, dauguma jų buvo atliktos nuo tyrimų pradžios praėjus pirmiesiems šešiams–

devyniems mėnesiams. Tai leido daryti prielaidą, kad šis laikotarpis būtų optimalus pakartotinėms procedūroms atlikti ir sumažintų jų poreikį ateityje.

*Kiti antrosios kartos fotosensibilizatoriai.* Stengiantis pasiekti dar geresnių klinikinių rezultatų, pastaraisiais metais naujadarinių kraujagyslių gydymo galimybių fotosensibilizuotos terapijos metodu tyrimai plėtojami ir su kitais fotosensibilizatoriais, kurių veiksmingumas buvo patvirtintas gydant vėžį. Dažniausiai bandymai atliekami modeliuojant AMD metu vykstančius procesus su eksperimentiniais gyvūnais – žiurkėmis ir triušiais. Paveikslėlyje 9.19 pavaizduotas vienas antrosios kartos sensibilizatorių – indžio chlorido metilfeoforbidas, dar vadinamas PhotoPoint MV6401. Tai žinomos cheminės struktūros hidrofobinis junginys, veiksmingai sukeliantis fotosensibilizuotus procesus. Jam būdinga neilga sisteminio fotojautrinančio poveikio odoi trukmė. Indžio feoforbido sugerties spektre yra dvi pagrindinės sugerties juostos ties 423 nm (molinis ekstinkcijos koeficientas  $\epsilon_{423} - 1,01 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ir ties 659 nm ( $\epsilon_{659} - 7,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), tad jo sugertis audinių skaidrumo lange yra daug intensyvesnė nei porfirinų. Eksperimentams šis junginys naudotas suspendavus kiaušinio trynio fosfatidilcholine.



**9.19 pav.** Sensibilizatoriaus indžio chlorido metilfeoforbido cheminė struktūra

Naujadarinių kraujagyslių augimas eksperimentinių žiurkių tinklainėje buvo skatinamas sukeliant chemines tinklainės epitelio pažaidas n-heptanoliumi. Parinktos sensibilizatoriaus dozės (0,01–0,1  $\mu\text{M}/\text{kg}$ ) buvo suleidžiamos į uodegos veną ir po 10–60 min. abiejų akių tinklainė buvo tiesiogiai švitinama 3 mm skersmens lazerinės spinduliuotės (664 nm, 150  $\text{mW}/\text{cm}^2$ ) pluošteliu, pasiekiant 5–25  $\text{J}/\text{cm}^2$  švitinimo dozės. Tyrimų tikslas buvo parinkti optimalias fotosensibilizuotos terapijos sąlygas, atsižvelgus į gydomąjį ir šalutinį poveikį, nustatant tinkamiausią sensibilizatoriaus ir švitinimo dozę bei

laiko intervalą tarp sensibilizatoriaus suleidimo ir švitinimo pradžios. Fotosensibilizuotos terapijos rezultatų įvertinimas, tikrinant naujadarių kraujagyslių būklę pasirinktais laiko intervalais po švitinimo procedūros, atliktas fluorescencinės angiografijos metodu.

Nustatyta, kad geriausias rezultatas pasiektas derinant 0,075  $\mu\text{M}/\text{kg}$  koncentraciją su didžiausia švitinimo doze ir švitinant po 10 min. suleidus sensibilizatorių. Mažesnės sensibilizatoriaus koncentracijos sukeldavo nežymią kraujagyslių trombozę, o didžiausia dozė neužtikrino norimo poveikio selektyvumo.

Tyrimai pademonstravo potencialias indžio feoforbido pritaikymo oftalmologijoje galimybes, tačiau kartu parodė ir tinkamų švitinimo bei dozavimo parametrų parinkimo svarbą gydymo rezultatams, tad, siekiant jį panaudoti klinikoje, reikia sukaupti daugiau eksperimentinių duomenų.

Kiti antrosios kartos sensibilizatoriai, kurių fotocheminis aktyvumas buvo išbandytas ikiklinikiniuose oftamologiniuose tyrimuose, yra liutecio teksafirinas (Lu-Tex), mono-l-aspartil chlorinas (NPe6) ir chlorininio tipo hidrofilinis fotosensibilizatorius ATX-S10, fotocheminiu būdu gautas iš protoporfirino.

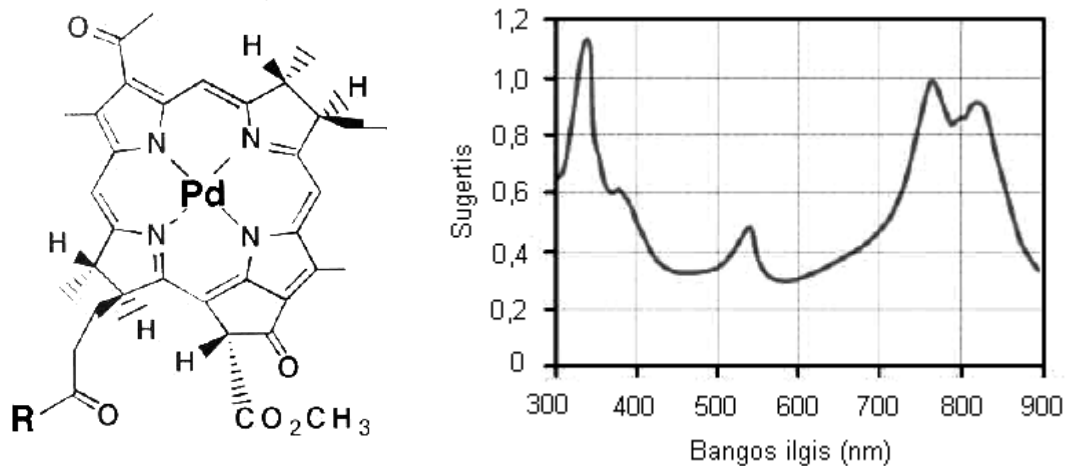
Liutecio teksafirinas yra sintetinis vandenyje tirpus junginys (žr. 6.10 pav.), geriausiai sužadinas 732 nm spinduliuote, kuri giliau įsiskverbia į audinius. Eksperimentiniais tyrimais, atliktais su primatais, kuriems lazerinės spinduliuotės poveikiu buvo sukelta modelinė gyslainės kraujagyslių neovaskuliarizacija, atskleista, kad, remiantis fluorescencinės angiografinės duomenimis, veiksmingas fluoresceino nuotėkio iš kraujagyslių slopinimas pasiektas fotosensibilizuotos terapijos procedūrai panaudojant 2 mg/kg sensibilizatoriaus dozę ir 50–100  $\text{J}/\text{cm}^2$  švitinimo dozes, švitinant 600  $\text{mW}/\text{cm}^2$  intensyvumu. Šalutinis poveikis pasireiškė neurosensorinių ląstelių sluoksnio pažaidomis ir tinklainės pigmentinio epitelio nekroze.

Ikiklinikiniai hidrofilinio chlorino NPe6 veiksmingumo tyrimai buvo atlikti su triušiais ir beždžionėmis. Sužadinant 664 nm spinduliuote, gyslainės kapiliarų užakimas vyko panaudojus 2 mg/kg sensibilizatoriaus koncentraciją ir švitinimo dozę  $>2,65 \text{ J}/\text{cm}^2$  triušiams su natūraliu pigmentu ir 0,88  $\text{J}/\text{cm}^2$  – nepigmentuotiems triušiams. Šalutiniai reiškiniai buvo tinklainės plonėjimas, išorinio sluoksnio fotoreceptorių praradimas ir pigmentinio epitelio sluoksnio proliferacija.

Fotosensibilizatoriaus ATX-S10 veiksmingumo bandymai, atlikti su žiurkėmis, parodė selektyvios gyslainės naujadarių kapiliarų okliuzijos galimybę tinkamai parenkant sensibilizatoriaus koncentracijas, švitinimo ties 670 nm intensyvumus, dozes ir procedūros pradžios laiką. Nors šio sensibilizatoriaus pasišalinimo iš triušių organizmo

pusamžis labai trumpas – 45 min., vienas jo trūkumų yra labai nedidelis ekstinkcijos koeficientas.

Dar vienas eksperimentinis fotosensibilizatorius, kurio veiksmingumo tyrimai slopinant gyslainės naujadarių kraujagyslių vešėjimą eksperimentiniuose gyvūnuose atlikti atsižvelgiant į ankstesnių sensibilizatorių trūkumus, yra vandenyje tirpus sensibilizatorius, pavadintas *Tookad*, paruoštas modifikuojant natūralų bakteriochlorofilą (9.20 pav.). Šio sensibilizatoriaus spektrinių savybių pranašumai, palyginti su kitais, yra



**9.20 pav.** Sensibilizatoriaus paladžio bakteriochlorofilo (*Tookad*) cheminė struktūra ir sugerties spektras

didelis ekstinkcijos koeficientas ir į raudonąją spektro sritį paslinktos sugerties juostos. Tai leistų veiksmingiau sužadinti kraujagyslėse susikaupusį sensibilizatorių pro stipriai pigmentuotą epitelio sluoksnį. Be to, sužadinimui pakaktų naudoti mažesnės energijos šaltinius. Su eksperimentiniais triušiais atliktų tyrimų rezultatai atskleidė, kad fotosensibilizuotos terapijos procedūros parametrai, siekiant optimalios gyslainės kraujagyslių okliuzijos, buvo 5 mg/kg sensibilizatoriaus dozė ir 5 min. intervalas prieš švitinimą 762 nm bangos ilgio spinduliuote, parenkant 600 mW/cm<sup>2</sup> intensyvumą bei 25 J/cm<sup>2</sup> švitinimo dozę, arba 15 min. intervalas, parenkant 50 J/cm<sup>2</sup> dozę. Tiesa, kaip ir kitų sensibilizatorių atveju, šalutinis poveikis pasireiškė pigmentinio tinklainės epitelio proliferacija bei atskirais atvejais – nedidelėmis fotoreceptorių pažaidomis. Tačiau

atsižvelgiant į tai, kad žmonių tinklainės jautrumas fotopažaidoms yra mažesnis negu triušių, tikimasi, kad šis fotosensibilizatorius sukeltų mažesnę šalutinį poveikį nei kiti naudojami sensibilizatoriai.

## **Fotochemoterapijos taikymas**

### **Žvynelinė liga**

*Žvynelinė (psoriasis)* – tai lėtinė recidyvuojanti papulinė odos liga, kurios patogenezėje glūdi epidermio ląstelių proliferacijos ir diferenciacijos sutrikimai, dermos kraujagyslių pokyčiai, uždegiminių ląstelių, ypač neutrofilų ir T limfocitų susikaupimas.

Žvyneline dažniausiai sergama Europoje: Švedijoje – apie 2,3 % populiacijos, Jungtinėje Karalystėje – 1,48–1,56 %. Panašus sergamumas žvyneline ir JAV - serga apie 1,40 %, o Kinijoje – tik 0,3 % populiacijos. Pietų Amerikoje šia liga nesergama. Duomenys apie amžių, susijusį su ligos pradžia, nėra vienareikšmiai: apima nuo 12 iki 46 metų ir daugiau. Labiausiai įtikinami rezultatai, gauti Vokietijoje ir Jungtinėje Karalystėje, rodantys, kad ligos pradžia pasiskirstymas atsižvelgiant į amžių yra bimodalinio pobūdžio: žvyneline sergama nuo 16 iki 22 metų ir nuo 57 iki 60 metų.

Pakanka duomenų, liudijančių, kad žvynelinei atsirasti didelę įtaką turi genetinis komponentas. Vokietijoje atliktų tyrimų duomenimis, vaikų rizika susirgti žvyneline, jei vienas iš tėvų serga minėta liga, yra 14 %, tokia rizika didėja iki 43 %, jei abu tėvai serga žvyneline. Atsižvelgiant į tai, kad ligos pradžia pagal amžių yra bimodalinio pobūdžio, gali būti ir dvi skirtingos žvynelinės formos, panašiai kaip cukrinio diabeto atveju. Taigi I-ojo tipo žvynelinė liga, kai susergama iki 20 metų, yra susijusi su HLA-Cw6 geno pokyčiais; II-ojo tipo žvynelinė atsiranda sporadiškai vyresniame nei 50 metų amžiuje.

Aplinkos veiksniai taip pat gali daryti įtaką žvynelinei atsirasti, tačiau trūksta konkrečių apibendrinamųjų išvadų. Tarp žvynelinės rizikos veiksnių yra įvairios traumos (fizinės, cheminės, chirurginės), infekcija (streptokokinė, žmogaus imunodeficito virusas), vaistai (β blokeriai, nesteroidiniai priešuždegiminiai preparatai, ličio druskos, antimaliariniai vaistai ir kt.). Yra duomenų, liudijančių apie sąsają tarp streso ir ligos raidos, tačiau perspektyvinių epidemiologinių tyrimų rezultatai nėra vienareikšmiai, todėl, atsakant į klausimą dėl streso įtakos žvynelinei atsirasti, būtini tolesni tyrinėjimai. Alkoholis tarpininkauja žvynelinės paūmėjimui ir, matyt, neturi įtakos šiai ligai atsirasti.

Yra sąsaja tarp rūkymo ir žvynelinės ligos: asmenys, kurie surūko daugiau kaip 15 cigarečių per dieną, turi didesnę galimybę susirgti paprastąja žvyneline.

Yra nustatyta sąsaja tarp žvynelinės artropatijos, žvynelinės ligos ir žmogaus imunodeficito viruso (ŽPV) infekcijos. Pažymėtina, kad pavieniais atvejais dėl saulės spindulių poveikio žvynelinė gali paūmėti. Liga paūmėja esant I-ojo tipo odai, pagyvenusiems bei moteriškosios lyties asmenims. Žvynelinė gali būti paprastoji eritroderminė, pūslelinė ir artropatinė. Žvynelinės raiškos formos: apvalios, ovalios ir netaisyklingos formos, žiedinės, taškinės, lašo, monetos dydžio papulės, iš kurių susidaro įvairaus dydžio (nuo monetos iki delno ar didesnės) karpytais kraštais plokštelės, rožinės spalvos, pasidengusios stambiaplokščių žvyneu, kuris lengvai nusikrapšto (9.21 pav.).



**9.21 pav.** Įvairios žvynelinės ligos



**Žvynelinės gydymas.** Dauguma pacientų serga lėtine pūsleline žvynelinės forma, jų liga gali būti sėkmingai kontroliuojama vietiskai veikiančiais vaistais (kortikosteroidai, imunomodulatoriai ir kt.).

Esant sunkesnėms ligos formoms, kartu su lokaliu gydymu skiriama šviesos terapija: UVB spinduliai arba psoralenas kartu su UVA spinduliais – PUVA terapija. Esant labai sunkioms ligoms formoms, pasireiškiančioms eritrodermija, skiriamas sisteminis gydymas metotreksatu, acitretinu, ciklosporinu.

*PUVA terapija.* 1931 m. W.A. Goeckermanas aprašė natūralios akmens anglies dervos, paveiktos UV šviesa, gebėjimą išryškinti žvynelinę. Vėliau išryškėjo, kad ilgųjų bangų (290 – 320 nm) UV spinduliuotė, esant vidutinėms eriteminėms dozėms, gali būti veiksminga gydant žvynelinę. Duomenys dėl akmens anglies dervos ir UV šviesos poveikio žvynelinei iki šiol kontraversiški. Akmens anglies derva, matyt, sensibilizuoja odą UVA spinduliuotei, o ne UVB, nes fototoksiškumo raiška yra fotosensibilizacinio pobūdžio. Nepaisant to, UVB spinduliuotė yra vertingesnė derinama su akmens anglies derva, nes, matyt, UVB spinduliuotė eriteminių dozių lygiu trukdo UVA spinduliuotei inicijuoti fotosensibilizacinius vyksmus.

Galimybė gydyti sergančiuosius žvyneline, esant itin sunkioms jos formoms, akmens anglies derva ir UV šviesa išlieka, tačiau turi būti įvertintas naudos ir galimos rizikos, susijusios su odos navikų atsiradimu, santykis.

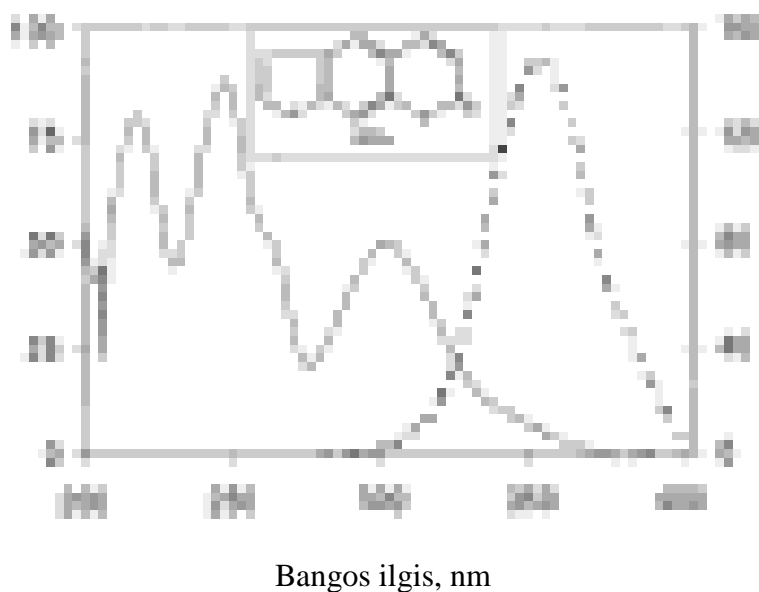
Pirmasis pranešimas apie sėkmingą žvynelinės gydymą buvo ignoruojamas. Ir tik 1974 metais J. A. Parishas ir bendraautorai paskelbė sėkmingo žvynelinės gydymo, vartojant *per os* 8-metoksipsoraleną (8-MOP) ir UVA spinduliuotę (PUVA), rezultatus. Netrukus Europoje ir JAV buvo atlikti klinikiniai tyrimai, kurių rezultatai patvirtino PUVA veiksmingumą skiriant 8-MOP *per os* ar vietiskai.

Šis originalus atradimas sudarė sąlygas fototerapijos plėtrai ir pagrindė PUVA panaudojimo galimybes esant įvairiems (daugiau kaip 30) odos pažeidimams, ypač žvynelinės atveju.

Fotosensibilizatoriai, kurie vartojami žvynelinei gydyti, yra furokumarinai. Jie skirstomi į dvi klases: linijinius ir ciklinius. Tarp linijinių fotosensibilizatorių yra 8-trimetilpsoralenas, 5-metoksipsoralenas ir 4,5,8-trimetilpsoralenas. Šios medžiagos yra

*Umbelliferae* ir *Autaceae* šeimų augaluose. Kadangi jas išskirti iš natūralių šaltinių galima tik mažais kiekiais, jos sintetamos.

Daugumos psoralenų sugerties spektro juostų smailės yra 200–350 nm ruože (9.22 pav.). Jų molekulių plokščia aromatinė struktūra ir hidrofobinė prigimtis sudaro sąlygas sąveikai su DNR ir RNR. Pirmoji tos sąveikos grandis yra furokumarino interkaliacija į DNR spiralę ir molekulinio komplekso, kuriame fotosensibilizatorius yra lokalizuotas tarp dviejų plokščių heterociklinių (purino ir pirimidino) žiedų, susidarymas. DNR grandinėje yra apie 5 tokios prisijungimo vietos. Įsiterpti į viengubą RNR ar DNR spiralę furokumarino molekulei sunkiau negu į dvigubą DNR spiralę. Tokia sąveika yra tamsoje vykstantis procesas.



**9.22 pav.** 8-Metoksipsoralenas ir jo spektrai

Psoralenų fotocheminės reakcijos yra tyrinėjamos daugiau kaip 40 metų. Fotoaktyvuojant įterptą psoraleno molekulę susidaro įvairūs aduktai. Dažniausiai tai yra psoraleno-timidino bei psoraleno-citozino aduktai. Psoralenai RNR grandinėje gali reaguoti su uracilu ir taip susidaro psoraleno-uracilo aduktai.

Psoralenai taip pat gali veikti kaip sensibilizatoriai, generuodami siguletinį deguonį, bet šio vyksmo kvantinis našumas yra mažas ir dėl to psoralenų fotobiologinis veikimas negali būti paaiškintas singuletinio deguonies generavimu.

Psoralenų fotobiologijoje kyla svarbus klausimas, kokį poveikį aduktų susidarymas daro ląstelėms. Anksčiau buvo manyta, kad šis poveikis yra antiproliferacinis, ir šios hipotezės buvo laikomasi daugelį metų. Tačiau apie 1990 metus J. G. Krugerio ir bendraautorių darbai parodė, kad keratinocitai buvo rezistentiški PUVA terapijai, o epidermyje esantys citokinus atpalaiduojantys limfocitai, buvo labiau jautrūs PUVA.

PUVA poveikis ląstelėms priklauso nuo 8-MOP ir UVA dozės dydžio. Didelės dozės sukelia ląstelių žūtį. Ląstelių žūtis, kartu atsižvelgiant ir į dozę, gali vykti nekrozės ar apoptozės būdu. Esant mažoms dozėms, ląstelės yra citostatinės būklės ir laukia, kol bus atstatyti subletaliniai pokyčiai. Šios reparacijos metu transkripcijos veiksniai, indukuoti citoplazminiu būdu, gali priartėti prie prisijungimo vietų, naujose DNR vietose inicijuodami padidėjusių specifinių genų transkripciją. Pažymėtina, kad transkripcijos veiksnių prisijungimo vietos dažniausiai yra AT sekos, kurios jautrios psoralenų fotoaduktų formavimuisi. Šiose vietose vykstantys reparacijos procesai lemia padidėjusį indukuotų transkripcijos veiksnių prieinamumą.

Daugiacentrių klinikinių tyrimų rezultatai liudija apie gerą terapinį PUVA efektą gydant paprastąją žvynelinę. PUVA taip pat yra veiksminga gydant generalizuotą pustulinę, eritroderminę, delnų ir padų pustulinę psoriazę.

Kaip jau buvo minėta, PUVA terapijoje dažniausiai yra naudojami 5-MOP ir 8-MOP. Terapinis abiejų psoralenų veiksmingumas panašus, tačiau 5-MOP yra geriau toleruojamas, nuo jo mažiau pykina, švelnesnis poveikis virškinimo traktui, mažesnis procentas fototoksinių reakcijų, palyginti su 8-MOP nepageidaujamu poveikiu organizmui. Ir svarbiausia yra įrodymų, kad 5-MOP yra mažiau kancerogeniškas negu 8-MOP.

Psoralenų ir UV spinduliuotės panaudojimas žvynelinei gydyti turi trūkumų. Gydant šiuo metodu žvynelinę didėja rizika formuoti plokščialąstelinei odos karcinomai. Manoma, kad tai vyksta dėl to, jog gydymo metu keratinocituose susidaro psoraleno fotoproduktai, kurie nėra reparuojami. *In vitro* tyrimuose gauti rezultatai rodo, kad UV spinduliuotės aktyvuojamas psoralenas sukelia mutacijas. Plokščialąstelinio vėžio,

sukelto UV spinduliuotės ir psoraleno, *in vivo* tyrinėjimai taip pat rodo minėtam poveikiui būdingą mutacijų spektrą *p53* gene. Pažymėtina, jei pelių navikuose mutacijos dažniausiai (7 iš 15) yra 5'TgA vietose, tai žmogaus navikuose šioje vietoje nustatomos tik pavienės mutacijos. Žmogaus navikų atvejais dažna mutacijų vieta yra dipirimidinas ir tai daugiau būdinga DNR pokyčiams, atsirandantiems dėl saulės spinduliuotės poveikio. Paprastai dipirimidino vietose nustatomi C → T ir CC → TT pokyčiai. Tokį skirtumą mėginama paaiškinti imunosupresiniu psoraleno ir UV spinduliuotės poveikiu. Ir būtent kartotinis gydymas gali sušvelninti imuninę odos priežiūrą ir leisti ląstelių, kurių mutotas *p53* genas, subpopuliacijoms formotis iki naviko. Tokie navikai galėtų ekspresuoti dėl saulės spindulių poveikio atsiradusias mutacijas. Spėjama, kad psoraleno ir UV spinduliuotės indukuota imunosupresija didina riziką užsikrėsti žmogaus papilomos virusu (ŽPV), kuris, matyt, yra vienas iš rizikos veiksnių odos vėžiui formotis, o esant ŽPV infekcijai laukinis *p53* tipas yra inaktyvuojamas ŽPV E<sub>6</sub> geno produkuojamo baltymo.

Molekulinės epidemiologijos tyrimai pateikė informacijos (nors ši informacija nėra gausi) apie psoraleno ir UV spinduliuotės vaidmenį melanomai formotis. Suprantama, šiandien tie rezultatai gąsdina gydytojus, kurie naudoja minėtą metodą žvynelinei ir kitoms odos ligoms gydyti, bet drauge ir stimuliuoja juos bei šioje srityje dirbančius tyrėjus ieškoti būdų šiai problemai spręsti, juolab kad dar nežinoma, kaip psoralenas ir UV spinduliuotė sukelia vėžį. Viena vertus, kaip jau minėta, yra nustatyti molekuliniai skirtumai tarp pelių ir žmogaus plokščialąstelinio odos vėžio, o naujausių tyrimų duomenys parodė imuninės priežiūros susilpnėjimą po gydymo psoralenu ir UV spinduliuote, antra vertus, į daugelį klausimų nėra atsakyta, pavyzdžiui, nėra aišku, kaip ilgai imunosupresiniai efektai tęsiasi nutraukus gydymą.

Apie 1980 m. dermatologinėms ligoms gydyti pradėta naudoti fotoforezė, t. y. ekstrakorporalinė fotoimunochemoterapija. Žvynelinės atveju periferinio kraujo vienabranduolės ląstelės veikiamos 8-MOP ir UV spinduliuote ir po to gražinamos į paciento organizmą. Specialios technologijos leidžia atlikti leukoforezė prieš UV spinduliuotę. Šis metodas pirmiausia yra taikytas odos T ląstelių limfomai gydyti. Tikrasis fotoforezės mechanizmas, gydant šią limfomą, nėra žinomas. Manoma, kad taip yra stimuliuojama gydomųjų pacientų imuninė sistema ir pakitusios T ląstelės yra

sunaikinamos. Yra gauta teigiamų rezultatų gydant fotoforeze sisteminę sklerozę, paprastąją pūslinę ligą ir kitas dermatologines ligas, tarp jų ir žvynelinį artritą.

Pastaruoju metu yra sukaupta daugiau kaip 50-ties metų klinikinė patirtis gydant žvynelinę PUVA. Šis gydymo metodas yra gerai toleruojamas, o nepageidaujamas poveikis organizmui kontroliuojamas. Šiandien žinomos UV spinduliuotės dozės, dėl kurių poveikio didėja rizika odos plokščialąsteliniam vėžiui atsirasti, taigi jų negalima taikyti žmogui, o jei vėžys išsivystytų, yra priemonių jį išgydyti. Be to, jei specifinės mutacijos būtų aiškiai charakterizuotos, greičiausiai atsirastų galimybės modifikuoti šio gydymo metodo nepageidajamą poveikį organizmui. Juk bet kuris gydymo metodas, skirtas žvynelinei gydyti, gali sukelti specifinius, tik jam vienam būdingus genotoksinius ar imunotoksinius poveikius.