

## ПЛОТНОСТЬ МОЩНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КАК ФАКТОР РЕШАЮЩЕГО ЗНАЧЕНИЯ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Шишко Е.Д., Штонь И.А., \*Холин В.В., Гамалея Н.Ф.

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии  
имени Р.Е.Кавецкого НАН Украины,  
03022 Украина, г. Киев, ул. Васильковская, 45;  
тел.: 258-16-58; e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua;  
\*ЧМПП «Фотоника Плюс», 18023 Украина, г. Черкассы, ул. Одесская, 8

*Исследования последних лет позволили установить, что результативность фотодинамической терапии опухолей определяется не только и не столько суммарной дозой энергии, полученной опухолью, сколько плотностью мощности светового воздействия. В ряде работ облучение экспериментальных опухолей животных одной и той же дозой, но при различных плотностях мощности излучения (и, соответственно, различных экспозициях) обнаружило более высокую эффективность режима длительного облучения с меньшей плотностью мощности.*

*В наших экспериментах сравнение противоопухолевого фотодинамического эффекта при равнодозовом воздействии, отличающемся однако по плотности мощности излучения и экспозиции, было проведено на культуре лейкемических клеток человека линии Natalwa. Опыты с применением двух различных фотосенсибилизаторов – Фотолон (хлорина  $e_6$ ) и гематопорфирина, показали, что снижение плотности мощности излучения в два или три раза приводило к увеличению процента погибающих злокачественных клеток в 1,8 – 2,3 раза. Результаты проведенного дополнительно исследования кинетики гибели клеток при этих различных режимах фотодинамического воздействия позволяют приблизиться к пониманию механизмов, лежащих в основе описанных наблюдений.*

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия опухолей, клеточная линия Natalwa, фотолон, гематопорфирин, плотность мощности лазерного излучения.

### Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является относительно новым методом лечения ряда патологий злокачественного и незлокачественного характера, который активно применяется в странах Запада [1], но только начинает внедряться в клиническую практику Украины.

Для достижения фотодинамического противоопухолевого эффекта необходимо соединение во времени и пространстве трех факторов: нетоксичного красителя-фотосенсибилизатора (ФС), избирательно накапливающегося в опухоли; света видимой области спектра с длиной волны, перекрываемой полосой поглощения ФС, и свободного кислорода. Каждый из этих факторов в отдельности не повреждает опухолевые клетки, однако присутствуя одновременно, они приводят к избирательной гибели клеток, накопивших ФС.

Абсорбция света молекулой ФС является первым шагом, опосредующим дальнейшие фотофи-

зические и фотохимические реакции. Поглотив квант света, молекула ФС переходит из своего базового состояния с низким уровнем энергии в возбужденное триплетное состояние с максимальной высокой энергией. Это состояние молекулы ФС является энергетически менее стабильным, чем базовое состояние, и избыток полученной молекулой энергии может приводить к различным процессам - в том числе к реакциям фотосенсибилизации. Последняя представляет собой процесс, при котором световая активация молекулы ФС индуцирует химические изменения в других молекулах, не являющихся ФС.

В присутствии кислорода реакция фотосенсибилизации может пойти по одному из двух конкурирующих путей [17], определяющих механизм фотодинамического эффекта. Первый путь включает взаимодействие возбужденной молекулы ФС непосредственно с молекулами субстрата, вследствие чего образуются свободные радикалы

(так называемая реакция I типа). Возникшие первичные радикалы могут инициировать цепь вторичных свободнорадикальных реакций, приводящих к окислению субстрата и аутоокислению молекул ФС, а также к образованию активных форм кислорода — супероксид аниона и высокореактивного гидроксильного радикала.

Второй путь, по которому могут развиваться реакции фотодинамического эффекта, — это взаимодействие возбужденной молекулы ФС с молекулярным кислородом с образованием синглетного кислорода (реакции II типа). Синглетный кислород обладает высокой реактивностью и способен очень быстро окислять биомолекулы. Время жизни синглетного кислорода в биологической среде составляет несколько десятков наносекунд, поэтому он может диффундировать в клетке на расстояние не больше 50 нм [12, 13]; вследствие этого цитотоксический эффект проявляется только локально, в зоне воздействия лазерного луча.

На уровне облучаемой опухоли развитие процесса фотодинамического повреждения ткани определяется рядом факторов, среди которых одним из важнейших, наряду с концентрацией ФС и дозой поглощенной световой энергии, является плотность мощности (ПМ) примененного лазерного излучения. Согласно современным представлениям, именно величина ПМ определяет в ходе ФДТ динамику изменения оксигенации опухолевой ткани и доступность кислорода для фотохимических реакций, обуславливая тем самым степень повреждения опухоли.

В настоящей работе роль величины ПМ лазерного излучения для фотодинамического эффекта изучалось на клеточной модели *in vitro*, в качестве которой были использованы трансформированные лимфоциты человека.

### Материалы и методы

Работа выполнена на клеточной линии трансформированных В-лимфоцитов человека Namalwa. Клетки культивировали в питательной среде RPMI-1640 с 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота, во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>.

В качестве ФС использовали препарат фотолон (производство «Белмедпрепараты», Беларусь), представляющий собой комплекс хлорина e<sub>6</sub> с поливинилпирролидоном в соотношении 1:1. В опытах по изучению динамики гибели клеток после облучения, кроме фотолон, был использован ФС гематопорфирин (производство Fluka, США).

Клетки культуры в логарифмической фазе роста отмывали от питательной среды и инкубировали 1,5 часа при 37°C в физиологическом растворе Хенкса без фенолового красного, содержащем фотолон в концентрации 0,1 мкг/мл (по хлорину e<sub>6</sub>). После окончания инкубации клетки трижды отмывали от несвязавшегося ФС раствором Хенкса и подвергали облучению лазерным светом. Гематопорфирин применяли в концентрации 5 мкг/мл, растворяя в диметилсульфоксиде и добавляя 5 объемных частей раствора Хенкса.

В качестве источника света при облучении клеток, инкубированных с фотолоном, использовали полупроводниковый лазер «Лика-Хирург» непрерывного действия фирмы «Фотоника Плюс» (Черкассы, Украина), дающий излучение мощностью 1 Вт с длиной волны 658 нм, совпадающей с длинноволновым пиком поглощения хлорина e<sub>6</sub>. В опытах с использованием гематопорфирина применяли полупроводниковый лазер «Лика-Хирург» той же фирмы, но излучающий на длине волны 635 нм.

После облучения клетки переносили в питательную среду и культивировали на протяжении 18-20 часов до полного завершения процессов апоптоза, инициированного фотодинамическим воздействием. Жизнеспособность клеток определяли, используя тест с трипановым синим.

При изучении динамики гибели клеток их жизнеспособность определяли на протяжении 1,5 часов через каждые 15 мин, начиная с момента облучения.

### Результаты и обсуждение

На рис. 1 показаны результаты экспериментов, в которых клетки после обработки фотолоном подвергали облучению с одной и той же плотностью дозы энергии (1 Дж/см<sup>2</sup>), но при различающейся в 3 раза ПМ лазерного излучения с длиной волны 658 нм. Жизнеспособность клеток определяли через 20 часов после фотодинамического воздействия. Данные рис. 1 свидетельствуют о том, что с повышением ПМ лазерного излучения количество погибших клеток уменьшалось.

Представляло интерес проследить динамику гибели клеток, начиная с первых минут после их облучения. На рис. 2 показана динамика гибели клеток, сенсibilизированных фотолоном, на протяжении 1,5 часа после лазерного облучения с плотностью дозы 1 Дж/см<sup>2</sup> при трех разных уровнях ПМ. Видно, что в первые минуты после облучения клетки во всех трех вариантах опыта гибли почти с одинаковой скоростью. Однако уже к 30-й минуте становилась заметной разни-

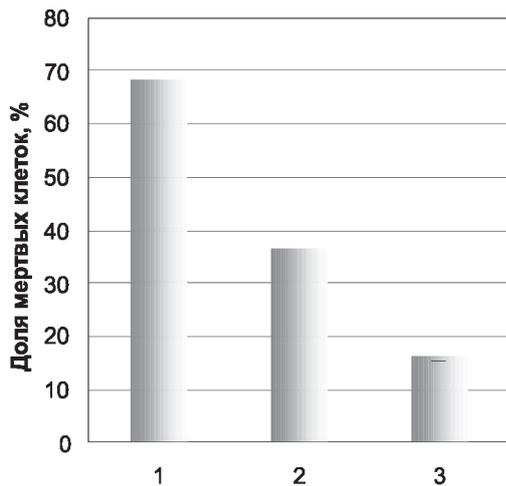


Рис. 1. Гибель клеток линии Namalwa, обработанных фотолоном (концентрация 0,1 мкг/мл по хлорину  $e_6$ ), в зависимости от ПМ лазерного излучения: 1 – 0,6 мВт/см<sup>2</sup>; 2 – 1,2 мВт/см<sup>2</sup>; 3 – 1,8 мВт/см<sup>2</sup>.

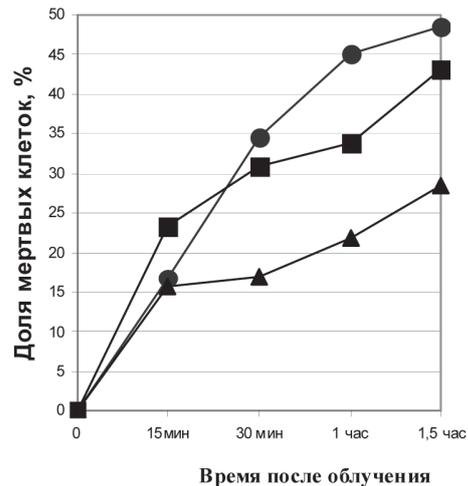


Рис. 2. Динамика гибели клеток линии Namalwa, обработанных фотолоном (0,5 мкг/мл по хлорину  $e_6$ ) при различных ПМ лазерного излучения с длиной волны 658 нм: ● – ПМ = 0,6 мВт/см<sup>2</sup>, ■ – 1,2 мВт/см<sup>2</sup>, ▲ – 1,8 мВт/см<sup>2</sup>.

ца в скорости их гибели, и через 1,5 часа после облучения количество клеток, погибших в варианте опыта с минимальной ПМ (0,6 мВт/см<sup>2</sup>), в 1,8 раза превышало число клеток, погибших при облучении максимальной ПМ (1,8 мВт/см<sup>2</sup>).

Еще более демонстративные данные, свидетельствующие о парадоксальной на первый взгляд (увеличение интенсивности действующего фактора вызывает снижение эффективности фотодинамического повреждения) роли ПМ светового излучения, были получены в наших опытах с использованием в качестве ФС гематопорфирина. На рис. 3 приведены результаты экспериментов по облучению клеток с плотностью дозы энергии 50 Дж/см<sup>2</sup> при двух уровнях ПМ, различающихся в два раза. Как видно, количество клеток, погибших через 1,5 часа после лазерного облучения с меньшей ПМ, в 2,3 раза превышало число клеток, погибших после воздействия светом с ПМ, в два раза большей, причем в последнем случае клетки гибли в основном в течение первых 15 мин после облучения, а дальше количество убитых клеток практически не менялось. В то же время при меньшей ПМ гибель клеток продолжалась в течение всего периода наблюдения.

Итак, данные наших экспериментов на клетках *in vitro* свидетельствуют о принципиальном значении ПМ лазерного излучения для результатов фотодинамического воздействия.

Длительное время считалось, что решающим фактором для эффективности ФДТ является количество доставленной в опухолевую ткань энергии (доза облучения). В 1990 г. появились первые работы [8, 20], где было показано значение режи-

ма облучения при ФДТ опухолей лабораторных животных; лишь после этих публикаций роли ПМ применяемого облучения начали уделять должное внимание.

В настоящее время рассматриваются два предполагаемых механизма влияния ПМ на эффективность ФДТ. Первый из них связан с фотохимическим потреблением в ткани свободного кислорода. Исследованием этого механизма занимались Т.Н. Foster и соотр., выполнившие серию работ [3,

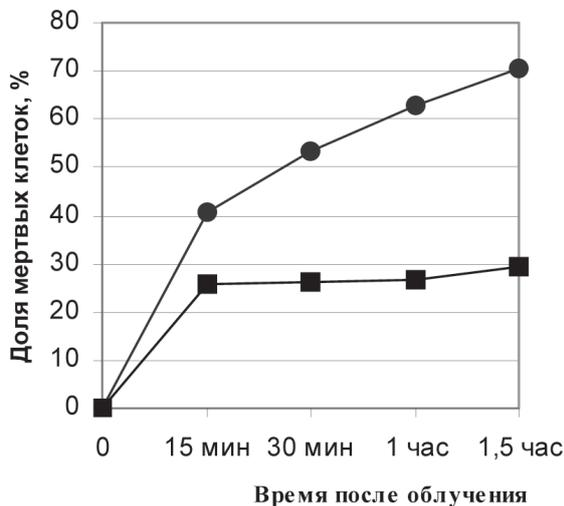


Рис. 3. Динамика гибели клеток линии Namalwa, обработанных гематопорфирином (5 мкг/мл), при различных ПМ лазерного излучения с длиной волны 635 нм: ● – ПМ = 3,2 мВт/см<sup>2</sup>, ■ – 6,4 мВт/см<sup>2</sup>.

4, 6, 9, 14] по изучению потребления кислорода в процессе ФДТ, проводимой при различной ПМ. На основании полученных результатов Т.Н. Foster выдвинул гипотезу о том, что при высокой ПМ об-

лучения ткани, накопившей ФС, потребление молекулярного кислорода в процессе генерации его синглетной формы способно превысить значение, при котором содержание кислорода может быть восстановлено его диффузией из сосудистого русла. Эта гипотеза была подтверждена в экспериментах на мультицеллюлярных сфероидах [4, 6, 14] и опухолях лабораторных животных [4, 9].

В опытах на сфероиде клеток мышинной опухоли ЕМТ6 были изучены изменения кинетики содержания молекулярного кислорода в процессе ФДТ с ФС фотофрином. Наблюдалось быстрое снижение концентрации кислорода в сфероиде во время их облучения; после прекращения светового воздействия это снижение сменялось постепенным возвращением к уровню, измеренному перед началом облучения. По мнению авторов, первая вышеописанная фаза обуславливается потреблением кислорода в фотохимических реакциях, происходящим быстрее, чем диффузия кислорода в объем сфероида. Вторая фаза — возвращение концентрации кислорода к исходному уровню — обусловлена замедлением его фотохимического потребления из-за прекращения притока световой энергии и уменьшения концентрации активного ФС, претерпевшего фотовыцветание под действием образующегося синглетного кислорода, а с другой стороны, объясняется пополнением запасов молекулярного кислорода в облученной ткани за счет его диффузии извне. Авторы считали, что низкие ПМ светового воздействия способствуют сохранению в облучаемой опухоли концентрации кислорода, необходимой и достаточной для образования его цитотоксических продуктов. Для сохранения в облучаемой ткани достаточной концентрации кислорода Т.Н. Foster предложил также применять фракционированное облучение, когда периоды светового воздействия перемежаются темновыми промежутками, в течение которых за счет снабжения ткани кислородом из микрососудов его содержание восстанавливается [15].

Другой гипотетический механизм изменения оксигенации опухолевой ткани при ФДТ связан с разрушением сосудов опухоли при ее длительном облучении с низкой мощностью. Полярнографическое определение концентрации кислорода в опухолевой ткани и метод магниторезонансной визуализации позволили определить изменения оксигенации опухоли в процессе воздействия [16]. Облучение привитой подкожно крысиной опухоли WCT (ФС — феофорбид) проводили, погружая световод в опухоль. Доза энергии света всегда составляла 50 Дж при выходной мощности лазера 7

мВт (экспозиция 119 мин.) или 150 мВт (6 мин.). В опухолях, облучавшихся при меньшей мощности, сразу после окончания облучения отмечали зоны сниженной оксигенации и острые геморрагии; через 72 часа после облучения инъекция этим животным красителя эванса голубого показала разрушение сосудов и некрозов ткани в облученных зонах. Наоборот, в опухолях, облучавшихся с большей мощностью, не наблюдалось изменений в оксигенации облученной ткани, а введенный через 72 часа эванс голубой равномерно прокрашивал ткань опухоли и выявлял только минимальный ФДТ-индуцированный некроз.

При выходной мощности лазера 150 мВт уже с первых 1,5 мин. облучения происходило нарастающее снижение оксигенации опухоли, но после окончания светового воздействия она восстанавливалась до исходного уровня. Наоборот, при облучении опухоли с мощностью 7 мВт оксигенация резко снижалась только через 30 мин. светового воздействия (к этому времени опухоль получала дозу энергии 13 Дж) и прогрессивно уменьшалась в течение 60 мин. После окончания облучения гипоксия в опухоли продолжала нарастать в течение следующих 4 часов, увеличиваясь в 10 раз (давление кислорода снижалось с 2,76 до 0,25 мм рт. ст.). Размеры зон некроза в опухолях, облученных при мощности 7 мВт, в 4 раза превышали зоны некроза, полученные при 150 мВт.

В. W. Henderson и соавт. [10], измеряя парциальное давление кислорода в фибросаркоме мышцей RIF при ФДТ с фталоцианином, показали, что если до фотовоздействия давление кислорода колебалось в широких пределах (0-40 мм рт. ст.), то в первую минуту облучения с ПМ 75 мВт/см<sup>2</sup> давление кислорода в 98% объема опухоли падало ниже 2 мм рт. ст. и возвращалось к норме сразу после окончания светового воздействия. В структуре опухолевой ткани никаких изменений не наблюдалось.

В другой серии опытов на модели карциномы мышцей Colon 26 эти авторы прямо продемонстрировали зависимость результатов ФДТ от примененной ПМ лазерного излучения [10]. Используя ФС феофорбид (0,4 мкМ/кг) и постоянную плотность дозы энергии света 128 Дж/см<sup>2</sup>, они обнаружили увеличение доли излеченных животных при снижении ПМ излучения. Чтобы получить элиминацию опухолей при более высоких уровнях ПМ, требовалось увеличивать дозу подведенной энергии. Оптимальная плотность мощности для этой опухоли составила 14 мВт/см<sup>2</sup>. Была определена также минимальная эффективная ПМ: для плотности дозы 28 Дж/см<sup>2</sup> она равнялась

7 мВт/см<sup>2</sup> (22% излеченных животных), а ПМ = 3,5 мВт/см<sup>2</sup> была уже неэффективной.

Опыты по ФДТ мышей с фибросаркомой RIF и ФС фотофрином показали, что в случае применения одной и той же дозы света при ПМ = 30 мВт/см<sup>2</sup> выживает достоверно меньше клоногенных опухолевых клеток, чем при ПМ = 150 мВт/см<sup>2</sup> [18].

Для объяснения результатов, полученных при длительном облучении опухолей и низкой ПМ, привлекаются также особенности гемодинамики в опухолевой ткани. Установлено [2, 19], что кровоток в опухолевой ткани имеет флуктуирующий характер: около 20% сосудистой сети опухоли в любой момент находятся во временно спазмированном состоянии, которое может длиться от нескольких минут до 1 часа. В результате в этом участке опухоли наблюдается острая гипоксия, защищающая от фотодинамического повреждения не только опухолевые клетки, прилегающие к сосудам, но и сами сосуды. Поэтому при коротких световых экспозициях независимо от дозы облучения опухолевая ткань в меньшей степени подвергается фотодинамическому повреждению, чем при длительных экспозициях, когда может происходить несколько циклов закрытия/открытия сосудов.

Эффективность режимов облучения, включающих длительное освещение при низкой ПМ, подтверждена в ряде других исследований: на сфероидах клеток человеческой глиомы [11], при ФДТ ортопической опухоли мочевого пузыря у крыс [7].

Как вытекает из приведенного материала, эксперименты *in vitro* и на лабораторных животных показывают более высокую эффективность длительного облучения опухолей при низкой ПМ по сравнению с другими режимами ФДТ. На основании результатов, полученных в этих исследованиях, была проведена первая фаза клинических исследований лечебного эффекта длительного низкоинтенсивного облучения при ФДТ метаста-

зов рака молочной железы в кожу (стадия 3) [15]. В исследовании принимали участие 30 пациенток, у которых применение других методов лечения оказалось безуспешным. У первой группы пациенток (15 человек) было проведено 24-часовое непрерывное облучение участка кожи размером 10 x 10 см с общей плотностью дозы лазерного излучения 100 Дж/см<sup>2</sup>. В качестве ФС использован mTHPC (мета-тетрагидроксифенил-хлорин). В результате ФДТ у больных в облученной зоне образовались массивные изъязвления на всю толщину кожи.

Во второй группе больных (15 пациенток) плотность дозы была уменьшена вдвое (50 Дж/см<sup>2</sup>); остальные условия проведения ФДТ не отличались. У двух из этих пациенток через 30 дней наблюдалось полное исчезновение метастазов в облученной зоне и у 9 - частичное. У всех пациенток не было изъязвлений участков нормальной кожи. Особый интерес вызвали две пациентки, у одной из которых исчезли метастатические узлы на расстоянии 10 см от облученной зоны, а у другой - метастазы в ребре и кожные метастазы также в стороне от зоны светового воздействия. Это, по нашему мнению, свидетельствует о вовлечении иммунной системы в процессы, инициированные низкоинтенсивной, растянутой во времени ФДТ.

### Выводы

Таким образом, в экспериментах на лабораторных животных установлена повышенная, по сравнению с другими модификациями ФДТ, эффективность длительного низкоинтенсивного режима облучения. В нашей работе особенности фотодинамического воздействия при низкой ПМ лазерного излучения изучены *in vitro* на культуре трансформированных лимфоцитов человека. Проведенные исследования позволили обнаружить различия в кинетике гибели злокачественных клеток под влиянием высокоинтенсивной и низкоинтенсивной ФДТ, демонстрирующие преимущества последней.

### Література

1. Agostinis P. Photodynamic therapy of cancer: an update / P.Agostinis., K.Berg, K.A.Cengel et al. // CA Cancer J. Clin.- 2011.- Vol.61, №4.- P.250-281.
2. Brown J.M. Tumor microenvironment and the response to anticancer therapy // Cancer Biol. Ther.- 2002.- Vol.1, № 5.- P.453-458.
3. Coutier S. Effects of fluence rate on cell survival and photobleaching in meta-tetra-(hydroxyphenyl) chlorin-photosensitized Colo 26 multicell tumor spheroids / S.Coutier, S.Mitra, L.N.Bezdetnaya et al. // Photochem. Photobiol.- 2001.- Vol.7, №3.- P.297-303.
4. Coutier S. Effect of irradiation fluence rate on the efficacy of photodynamic therapy and tumor oxygenation in meta-tetra (hydroxyphenyl) chlorin (mTHPC)-sensitized HT29 xenografts in nude mice / S.Coilter, L.N.Bezdetnaya, T.H.Foster et al. // Radiat. Res.- 2002.- Vol.158, №3.- P.339-345.
5. Foster T.H. Analysis of photochemical oxygen consumption effects in photodynamic therapy / T.H.Foster, S.L.Gibson, L.Gao, R.Hilf // Proc. SPIE.- 1992.- Vol.1645.- P.104-114.
6. Foster T.H. Fluence rate effects in photodynamic therapy of multicell tumor spheroids / T.H.Foster, D.F.Hartley, M.G.Nichols, R.Hilf // Cancer Res.- 1993.- Vol.53, №6.- P.1249-1254.
7. François A., How to avoid local side effects of

bladder photodynamic therapy: impact of the fluence rate / A.François, A.Salvadori, A.Bressenot et al. // J. Urol.- 2013.- Vol.190.- P.731-736.

8. Gibson S.L. Effects of various photoradiation regimens on the antitumor efficacy of photodynamic therapy for R3230AC mammary carcinomas / S.L.Gibson, K.R. van der Meid, R.S.Murant et al. // Cancer Res.- 1990.- Vol.50, №22.- P.7236-7241.

9. Gibson S.L. Effects of photodynamic therapy on xenografts of human mesothelioma and rat mammary carcinoma in nude mice / S.L.Gibson, T.H.Foster, R.H.Feins et al. // Brit. J Cancer.- 1994.- Vol.69, №3.- P.473-481.

10. Henderson B.W. Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms / B.W.Henderson, T.M.Bush, J.W.Snyder // Lasers Surg. Med.- 2006.- Vol.38.- P.489-493.

11. Mathews M.S. The effects of ultra low fluence rate single and repetitive photodynamic therapy on glioma spheroids / M.S.Mathews, E.Angell-Petersen, R.Sanchez et al. // Lasers Surg. Med.- 2009.- Vol.41.- P.578-584.

12. Moan J. On the diffusion length of singlet oxygen in cells and tissues // J. Photochem. Photobiol. B.- 1990.- Vol.6., №3.- P.343-344.

13. Moan J. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen / J.Moan, K.Berg // Photochem. Photobiol.- 1991.- Vol.53, №4.- P.549-553.

14. Nichols M.G. Oxygen diffusion and reaction kinetics in the photodynamic therapy of multicell tumour spheroids / M.G.Nichols, T.H.Foster // Phys. Med. Biol.- 1994.- Vol.39, №12.- P.2161-2181.

15. Rogers G.S. Continuous low-irradiance photodynamic therapy: a new therapeutic paradigm // J. Nat. Comprehensive Cancer Network.- 2012.- Vol.10, Suppl.2.- S14-S17.

16. Seshadri M. Light delivery over extended time periods enhances the effectiveness of photodynamic therapy / M.Seshadri, D.A.Bellnier, L.A.Vaughan et al. // Cancer Res.- 2008.- Vol.14, №9.- P.2796-2805.

17. Sharman W.M. Role of activated oxygen species in photodynamic therapy / W.M.Sharman, C.M.Allen, J.E. van Lier // Methods Enzymol.- 2000.- Vol.319.- P.376-400.

18. Sitnik T.M Effects of fluence rate on cytotoxicity during photodynamic therapy / T.M.Sitnik, B.W.Henderson // Proc. SPIE.- 1997.- Vol.2972.- P.95-102.

19. Toffoli S. Intermittent hypoxia as a key regulator of cancer cell and endothelial cell interplay in tumours / S.Toffoli, C.Michiels // FEBS J.- 2008.- Vol.275.- P. 991-3002.

20. Tromberg B.J. Tumor oxygen tension during photodynamic therapy / B.J.Tromberg, S.Kimel, A.Orenstein et al. // J. Photochem. Photobiol. B.- 1990.- Vol.5.- P.121-126.

#### **POWER DENSITY OF LASER RADIATION AS A PRIMARY IMPORTANCE FACTOR IN PDT**

<sup>1</sup>Shishko E.D.,<sup>1</sup> Shton I. A.,<sup>2</sup> Kholin., V.V., <sup>1</sup>Gamaleia N.F.

<sup>1</sup>R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology  
NAS of Ukraine

03022, Ukraine, Kiev, 45 Vasilkivska str.,

tel: +38(044)258-16-58, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua

<sup>2</sup>"Photonika Plus", 18023, Ukraine, Cherkassy

*By animal experiments of last years, a special role of radiation power density in PDT was established: tumor irradiation with the same dose of light energy but different power densities (and accordingly, exposures) revealed in many cases an advantage of the regimen in which a low power density and more prolonged irradiation time were used. To verify the data, we exploited an analogical approach in experiments in vitro with a human leukemia cell culture Namalwa as a PDT target. The studies, performed with two different photosensitizers – Photolon (chlorin e6) and hematoporphyrin, showed that under equal irradiation doses, reduction of light power density by two or three times led to increase of dead cell numbers by 1.8 - 2,3 times. The results of additional experiments, in which kinetics of cell death was followed, allow to come nearer to understanding of mechanisms of the phenomenons observed.*

**Keywords:** tumor photodynamic therapy, Namalwa cell line, Photolon, hematoporphyrin, power density of laser radiation.

**ЩІЛЬНІСТЬ ПОТУЖНОСТІ ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ПРИ ФДТ  
ЯК ФАКТОР ВИРІШАЛЬНОГО ЗНАЧЕННЯ**

<sup>1</sup> Шишко Є.Є., <sup>1</sup> Штонь І.О., <sup>2</sup> Холін В.В., <sup>1</sup> Гамалія М.Ф.

<sup>1</sup> Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
ім. Р.Є.Кавецького НАН України,

03022, Україна, м. Київ, вул. Васильківська, 45,  
тел.: +38(044)258-16-58, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua

<sup>2</sup> ПМВП «Фотоніка Плюс» 18023, Україна, м. Черкаси

Дослідження останніх років дозволили встановити, що результативність фотодинамічної терапії пухлин визначається не тільки і не стільки сумарною дозою енергії, отриманої пухлиною, скільки щільністю потужності світлового впливу. У ряді робіт опромінення експериментальних пухлин однією і тією ж дозою світла, але при різних щільностях потужності випромінювання (і, відповідно, різних експозиціях) виявило більш високу ефективність режиму тривалого опромінення з меншою щільністю потужності.

Наші експерименти з порівняння протипухлинного фотодинамічного ефекту при рівнодозовому впливі, що, однак, відрізнявся щільністю потужності випромінювання та експозицією, було проведено на культурі лейкемічних клітин людини лінії Natalwa. Досліди із застосуванням двох різних фотосенсибілізаторів – Фотолону (хлорину  $e_6$ ) і гематопорфірину показали, що зниження щільності потужності випромінювання в два або три рази призводило до збільшення відсотку загиблих злоякісних клітин в 1,8 – 2,3 рази. Результати проведеного додатково дослідження кінетики загибелі клітин при цих різних режимах фотодинамічного впливу дозволяють наблизитись до розуміння механізмів, що лежать в основі описаних спостережень.

**Ключові слова:** фотодинамічна терапія пухлин, клітинна лінія Natalwa, Фотолон, гематопорфірин, щільність потужності лазерного випромінювання.