

TÁC DỤNG CỦA LIỆU PHÁP QUANG ĐỘNG (PHOTODYNAMIC THERAPY) DÙNG LASER 662nm VÀ THUỐC NHÓM CHLORIN ĐỐI VỚI UNG TH- THỰC NGHIỆM SARCOM 180

Nguyễn Văn Ba ; Quán Hoàng Lâm* ; Đỗ Đình Xuân** ; Trần Ngọc Liêm**

TÓM TẮT

Điều trị quang động dùng radarchlorin 20 mg/kg sau tiêm 6 giờ chiếu laser diode 662 nm với mật độ năng lượng 150 - 400 J/cm², mật độ công suất 0,20 - 0,35 W/cm² đã làm hoại tử phần lớn tế bào sarcom 180 của u đùi thực nghiệm trên chuột, ức chế quá trình tạo mạch trong u. Trong 2 tuần sau điều trị quang động, mô liên kết nhiều nguyên bào sợi thay thế vùng u hoại tử, kèm theo thâm nhiễm bạch cầu đa nhân, đại thực bào và lympho bào. Điều trị quang động dùng radachlorin 20 mg/kg và laser diode 662 nm không gây độc toàn thân và không làm tổn hại mô lành liền kề xung quanh u đùi sarcom 180 trên chuột.

* Từ khóa: Ung th- thực nghiệm sarcom 180; Liệu pháp quang động laser 662 nm; Radarchlorin.

THE EFFECT OF PHOTODYNAMIC THERAPY USING RADARCHLORIN AND DIODE LASER LIGHT-662 nm ON 180 SARCOM TUMORS BEARING MICE

Nguyen Van Ba; Quan Hoang Lam; Do Dinh Xuan; Tran Ngoc Liem

SUMMARY

The effect of photodynamic therapy (PDT) on the 180 sarcom tumors in some days after treatment was studied at the light microscopy and electron microscopy level in BALB/c mice bearing 180 sarcom tumors. Animals received intravenous injection of 10 mg/kg of radarchlorin and 6h later tumors was treated with 150 - 400 J/cm² (0,20 - 0,35 W/cm²) 662 nm diode laser light. Animals were sacrificed and their tumors removed at time 7, 14, 21 days after PDT. The results indicated the effects of destruction of the 180 sarcom cells and PDT offers a degree of tumors selectivity with minimal systemic side effect.

* *Key words: 180 sarcom tumors; Photodynamic therapy; Laser light 662 nm; Radarchlorin.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Liệu pháp quang động (Photodynamic therapy: PDT) được Dougherty T.J và CS điều trị ung th- trong lâm sàng lần đầu tiên năm 1978 tại Mỹ. Tiến hành điều trị PDT

trải qua hai giai đoạn: trước tiên đưa thuốc nhạy quang vào cơ thể, sau một thời gian nhất định thuốc sẽ tập trung vào u nhiều hơn mô lành, làm cho các tế bào ung th- nhạy cảm với ánh sáng, sau đó chiếu ánh

* Học viện Quân y; ** Đại học Điều dưỡng Nam Định

Phân biện khoa học: GS. TS. Lê Gia Vinh

sáng đơn sắc có bước sóng thích hợp lên u để phá hủy chọn lọc mô ung thư mà không làm tổn hại mô lành xung quanh. Cơ chế tác dụng của PDT dựa trên phản ứng quang hoá giữa chất nhạy quang và ánh sáng với sự có mặt của oxy tại mô u mà tạo ra oxy singlet (1O_2) và hàng loạt gốc tự do như superoxyd, hydroxyl gây peroxyl hoá phospholipid của màng tế bào, dẫn đến phá hủy tế bào u tại nơi tập trung thuốc nhạy quang nhiều hơn mô lành liền kề, kết hợp tổn thương thành mạch và tắc mạch do huyết khối gây thiếu máu dẫn đến hoại tử khối u sau điều trị. Ngoài ra, cơ chế quang tẩy màu (photobleaching) và tăng cường đáp ứng miễn dịch chống u tại chỗ cũng có vai trò quan trọng trong quá trình hoại tử u sau điều trị quang động.

Hiệu quả của liệu pháp quang động điều trị ung thư phụ thuộc nhiều yếu tố như loại thuốc, nồng độ thuốc nhạy quang, nồng độ oxy tại mô, bước sóng laser, liều chiếu sáng và đặc tính của khối u. Hiện tại, còn nhiều ý kiến khác nhau về tác động của các yếu tố này đến quá trình hủy hoại khối u sau điều trị PDT, đặc biệt là cơ chế chết của tế bào ung thư khi dùng thuốc nhạy quang nhóm chlorin với thời gian thải trừ nhanh và laser 662 nm có độ xuyên sâu vào mô. Bởi vậy, mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi là xác định hiệu quả của liệu pháp quang động dùng laser 662 nm và thuốc nhóm chlorin đối với khối u thực nghiệm sarcom 180 để tạo cơ sở cho việc ứng dụng trong lâm sàng điều trị ung thư ở Việt Nam.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu.

200 chuột nhắt dòng BALB/c 6 - 8 tuần tuổi, được chia thành các nhóm nghiên cứu. Dòng tế bào ung thư sarcom 180 nhận từ Viện Nghiên cứu Ung thư thực nghiệm, Trường Đại học Y khoa Semmel-Weis (Hungary).

Thiết bị laser diode MILON - 662 (Nga) phát liên tục, bước sóng 662 nm, công suất 0,38 W. Thuốc radarchlorin (Nga) có 95% chlorin e₆, thuộc nhóm chlorin, thuốc nhạy quang thế hệ 2, tương tự m-THPC (*meso-tetrahydroxyphenyl chlorin*), được phép sử dụng trong lâm sàng ở châu Âu và Mỹ.

2. Phương pháp nghiên cứu.

Tạo u thực nghiệm bằng tiêm cơ đùi mỗi chuột 5×10^6 tế bào sarcom 180. Điều trị PDT *in vivo* dùng radarchlorin 20 mg/kg tiêm tĩnh mạch, sau 6 giờ chiếu laser 662 nm với mật độ năng lượng 150 - 400 J/cm², mật độ công suất 0,20 - 0,35 W/cm², thời gian chiếu 15 - 40 phút.

Nghiên cứu diễn biến toàn thân, thời gian sống và biến đổi hình thái cấu trúc vi thể, siêu vi thể của khối u đùi sarcom 180 sau PDT.

Đánh giá đáp ứng với PDT chia 4 mức theo Hội phòng chống Ung thư Quốc tế (IUCC-1997): đáp ứng hoàn toàn khi không còn tế bào ung thư tại u, đáp ứng rõ rệt khi thể tích u giảm trên 50%, đáp ứng một phần khi thể tích u giảm từ 20 - 50% và không

đáp ứng khi thể tích u không giảm hoặc tăng lên.

Xử lý số liệu nghiên cứu bằng ch- ơng trình IPSS chạy trong Window XP.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Diễn biến toàn thân và biến đổi đại thể tại u đùi sau PDT .

Sau khi tiêm tế bào sarcom 180, toàn bộ chuột đều có khối ung th- phát triển trong cơ đùi, trọng l- ợng giảm, hoạt động kém. Sau gây u 20 - 24 ngày, đã thấy di căn ung th- vào gan, phổi, hạch, lách. Giai đoạn muộn, động vật mang u bị suy kiệt, xù lông, ỉa chảy, liệt chân và chết do di căn ở nhiều cơ quan sau 23 - 26 ngày gây u nếu không điều trị.

Chuột mang u đ- ợc điều trị PDT, diễn biến toàn thân tốt, sống kéo dài hơn nhiều ngày, giảm trọng l- ợng và thể tích u đùi so với nhóm chứng không điều trị.

Bảng 1: Thời gian sống trung bình của chuột mang u sau điều trị.

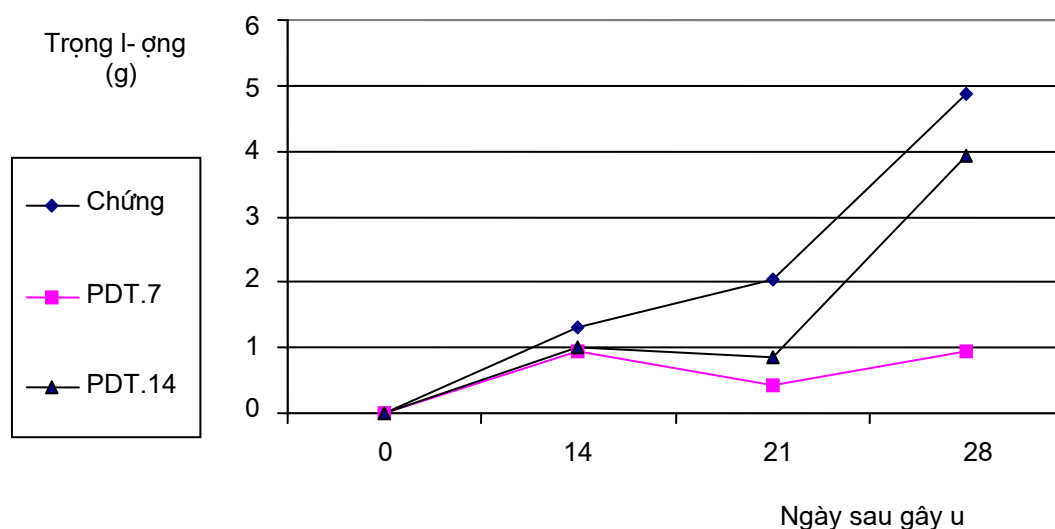
NHÓM NGHIÊN CỨU (n = 10)	SỐNG TRUNG BÌNH (ngày)	SỐNG KÉO DÀI (%)
Đối chứng	26,4 ± 8,7	
PDT sau gây u 7 ngày	44,7 ± 13,5*	70
PDT sau gây u 14 ngày	35,3 ± 12,1	33
Cắt cụt đùi sau gây u 7 ngày	34,7 ± 10,24	32

Ghi chú: * khác biệt nhóm chứng với $p < 0,05$.

Bảng 2: Biến đổi thể tích và tỷ lệ ức chế u phát triển (GD) sau điều trị.

THỜI ĐIỂM SAU GÂY U	THỂ TÍCH U VÀ GD	NHÓM ĐỐI CHỨNG	NHÓM PDT NGÀY 7	NHÓM PDT NGÀY 14
4 ngày	Thể tích (mm ³) GD	132 ± 37	137 ± 31 (-)	139 ± 27 (-)
7 ngày	Thể tích (mm ³) GD	298 ± 107	316 ± 100 (-)	311 ± 105 (-)
10 ngày	Thể tích (mm ³) GD	402 ± 140	355 ± 116 (-)	378 ± 132 (-)
14 ngày	Thể tích (mm ³) GD	642 ± 166	413 ± 172 (35%)**	673 ± 139 (-)
16 ngày	Thể tích (mm ³) GD	1074 ± 452	346 ± 208 (67%***)	1021 ± 369 (-)
19 ngày	Thể tích (mm ³) GD	1320 ± 392	286 ± 171 (78%***)	1392 ± 642 (-)
21 ngày	Thể tích (mm ³) GD	1638 ± 391	270 ± 174 (83%***)	1334 ± 412 18%**
25 ngày	Thể tích (mm ³) GD	2106 ± 560	244 ± 164 (86%***)	1749 ± 773 (-)
28 ngày	Thể tích (mm ³) GD	2215 ± 675	204 ± 186 (90%***)	1813 ± 942 (-)

Ghi chú: $n = 30$; ***: khác đối chứng với $p < 0,001$; **: khác đối chứng với $p < 0,01$; *: khác chứng với $p < 0,05$; (-): không ức chế u phát triển.



Biểu đồ 1: Biến đổi trọng lượng u đùi sarcom 180 sau điều trị.

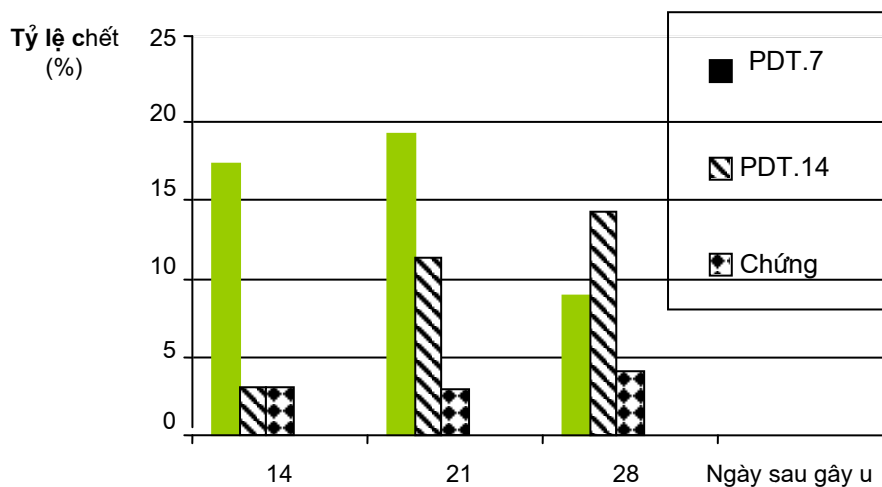
Trong 2 - 3 ngày đầu sau PDT vùng u đùi phù nề, tím sẫm, xung huyết mạnh và nhiều chấm xuất huyết d-ới da. Phù và xung huyết hết sau 4 - 6 ngày. Một lớp hoại tử sẫm màu dày 1 - 2 mm trên bề mặt tổn thương xuất hiện sau PDT 3 - 6 ngày, tồn tại khoảng 8 - 10 ngày mới rụng. Liên vết thương với biểu mô tái tạo tốt trong 1 - 2 tuần sau PDT.

2. Biến đổi vi thể u đùi sarcom 180 sau PDT.

Bảng 3: Số tế bào sarcom 180 trên một đơn vị diện tích u sau điều trị.

NHÓM NGHIÊN CỨU ($n = 10$)	SỐ TẾ BÀO SARCOM 180 TRÊN 1 ĐƠN VỊ DIỆN TÍCH U		
	Ngày 14 sau gây u	Ngày 21 sau gây u	Ngày 28 sau gây u
Đối chứng	$303 \pm 29,1$	$821 \pm 67,2$	670 ± 93
PDT sau gây u 7 ngày	$50,3 \pm 6,9$ ***	$31,2 \pm 7,2$ ***	$9,2 \pm 2,1$ ***
PDT sau gây u 14 ngày		$83,6 \pm 21,2$ **	216 ± 73 **

Ghi chú. ***: khác đối chứng với $p < 0,001$; **: khác đối chứng với $p < 0,01$.

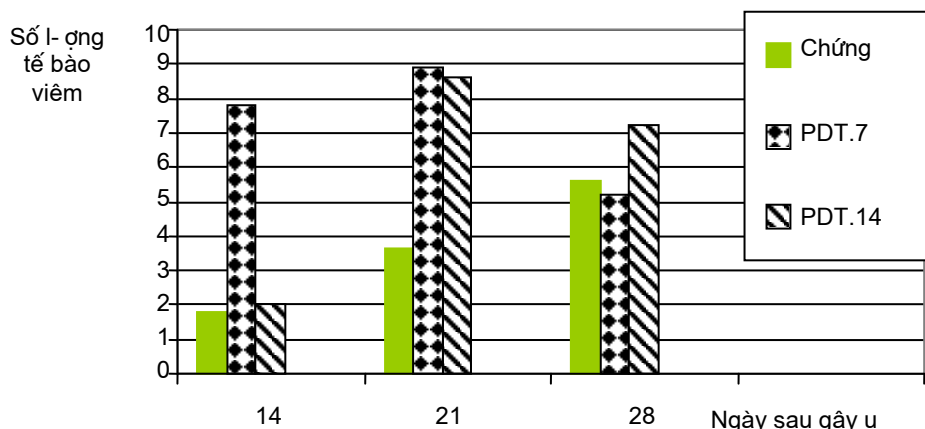


Biểu đồ 2: Tỷ lệ tế bào ung thư bị chết tại u đùì sau điều trị .

Kết quả trên cho thấy điều trị PDT sau gây u 7 ngày làm tỷ lệ tế bào sarcom 180 chết tới 10 - 20 % và giảm số l-ợng tế bào u sau điều trị. Điều trị PDT sau gây u 14 ngày làm tế bào u chết d-ới 15% và số l-ợng tế bào u giảm ít hơn.

Bảng 4: Biến đổi tỷ lệ các loại tế bào viêm trong u đùì sau điều trị.

NHÓM (n = 10)	CÁC LOẠI TẾ BÀO VIÊM TẠI U ĐÙÌ	TỶ LỆ (%) CÁC LOẠI TẾ BÀO VIÊM TẠI U ĐÙÌ		
		Ngày 14 sau gây u	Ngày 21 sau gây u	Ngày 28 sau gây u
Đối chứng	Bạch cầu đa nhân	16,5 ± 10,5	19 ± 8,3	35,7 ± 9,7
	Lympho bào	58,2 ± 20,1	56,7 ± 24,3	55,3 ± 21,2
	Đại thực bào	25,3 ± 11,5	24,3 ± 9,1	10 ± 4,8
PDT sau gây u 7 ngày	Bạch cầu đa nhân	15,1 ± 5,8	20,6 ± 6,9	21,5 ± 7,4
	Lympho bào	52,2 ± 22,6	42,5 ± 17,2	55 ± 21,1
	Đại thực bào	32,7 ± 11,4	36,9 ± 1,1	21,5 ± 8,5
PDT sau gây u 14 ngày	Bạch cầu đa nhân		36 ± 10,7	24,8 ± 8,7
	Lympho bào		30,3 ± 19,2	49,1 ± 15,9
	Đại thực bào		33,7 ± 11,3	26,1 ± 6,7



Biểu đồ 3: Số lượng tế bào viêm trên một đơn vị diện tích u sau điều trị

Các kết quả trên cho thấy 2 tuần sau điều trị PDT, nhiều tế bào viêm thâm nhiễm vào u đù. Các tế bào viêm tại u chủ yếu là bạch cầu đa nhân, lympho bào và đại thực bào.

Bảng 5: Số tế bào sợi, nguyên bào sợi trên 1 đơn vị diện tích u sau PDT.

NHÓM NGHIÊN CỨU (n = 10)	SỐ TẾ BÀO, NGUYÊN BÀO SỢI TRÊN 1 ĐƠN VỊ DIỆN TÍCH U		
	Ngày 14 sau gây u	Ngày 21 sau gây u	Ngày 28 sau gây u
Đối chứng	7,7 ± 2,1	15,7 ± 3,2	19,4 ± 3,9
PDT ngày thứ 7	23 ± 2,9 ***	81,7 ± 12,1 ***	25,4 ± 7,3
PDT ngày thứ 14		33,2 ± 4,7 **	51,5 ± 12,4 **

Ghi chú: ***: khác chứng với $p < 0,001$; **: khác chứng với $p < 0,01$.

Động vật mang u đ-ợc PDT đều tăng sinh tế bào sợi và nguyên bào sợi tại u, nhất là trong 2 tuần đầu sau điều trị, nh-ng nhóm đ-ợc PDT sau 7 ngày gây u tăng sinh mô liên kết mạnh hơn nhóm PDT sau gây u 14 ngày. Tăng sinh mô liên kết giảm nhanh ở tuần thứ 3 sau điều trị PDT.

Bảng 6: Số lượng tân mạch trên một đơn vị diện tích u sau điều trị.

NHÓM NGHIÊN CỨU (n = 10)	SỐ LƯỢNG TÂN MẠCH TRÊN 1 ĐƠN VỊ DIỆN TÍCH U		
	Ngày 14 sau gây u	Ngày 21 sau gây u	Ngày 28 sau gây u
Đối chứng	8,9 ± 0,9	8,1 ± 1,5	13,1 ± 1,6
PDT sau gây u 7 ngày	3,1 ± 1,1 ***	3,4 ± 0,6 ***	6,2 ± 2,1 ***
PDT sau gây u 14 ngày		7,5 ± 1,3	5,7 ± 1,9 **

*Ghi chú: ***: khác chứng với p < 0,001; **: khác chứng với p < 0,01.*

Tạo mạch tại u đuôi của động vật đ-ợc điều trị PDT bị ức chế mạnh. Quá trình tạo mạch trong u của nhóm chứng, nhóm điều trị laser hoặc photogem vẫn diễn ra liên tục.

3. Biến đổi siêu cấu trúc tế bào sarcom 180 sau PDT.

Các tế bào sarcom 180 thuộc nhóm đối chứng có hình cầu, bào t-ơng rộng và có rất ít bào quan nh- l- ới nội bào, ribosome tự do và ty thể, nhân tế bào này lớn, nhiều hạt nhân, chất nhiễm sắc th- ờng tụ thành từng đám trong nhân. Những đặc điểm giảm biệt hoá của tế bào sarcom 180 biểu hiện tính chất ác tính cao của tế bào ung th- .

Sau điều trị PDT 6 giờ đã thấy các tế bào sarcom 180 bị tổn th- ơng không hồi phục, chủ yếu theo cơ chế chết theo ch- ơng trình hoá (apoptosis). Tỷ lệ tế

bào chết kiểu apoptosis cao nhất sau PDT 24 - 48 giờ. Đặc điểm của apoptosis là tế bào co nhỏ, nhân bị teo và chất nhiễm sắc đông tụ thành các đám đậm đặc nằm sát màng nhân, khoảng trống quanh nhân giãn rộng, các bào quan bị đông vón tạo thành các đám tăng mật độ với dòng điện tử. Sau PDT 3 - 7 ngày, chỉ còn thấy các mảnh nhân tan vỡ do phần lớn nhân tế bào u đã bị hoại tử tan rã hoặc tiêu biến hoàn toàn.

4. Đáp ứng của chuột mang u đuôi sarcom 180 với PDT.

Bảng 7: Đáp ứng của chuột mang u đuôi sarcom 180 với PDT.

MỨC ĐỘ ĐÁP ỨNG VỚI ĐIỀU TRỊ PDT	NHÓM PDT SAU GÂY U 7 NGÀY	NHÓM PDT SAU GÂY U 14 NGÀY	ĐÁP ỨNG CHUNG
Đáp ứng hoàn toàn (CR)	25 (62%)	8 (26%)	33 (47%)
Đáp ứng rõ rệt (SR)	13 (33%)	7 (23%)	20 (28%)
Đáp ứng một phần (PR)	2 (5%)	12 (40%)	14 (20%)
Không đáp ứng (NR)	0 (0%)	3 (10%)	3 (5%)
Tổng số chuột đ- ợc PDT	40 (100%)	30 (100%)	70 (100%)

BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy điều trị PDT đã gây hoại tử tế bào sarcom 180 trong u đuôi mạnh nhất ở ngày thứ 7 sau PDT, các mạch máu u bị tổn th- ơng nội mô và tắc nghẽn, sau PDT 7 - 14 ngày khối u bị hoại tử

và đ-ợc thay bởi mô liên kết nhiều nguyên bào sợi, sợi collagen, tân mạch, kèm theo thâm nhiễm các đại thực bào, lympho bào và bạch cầu đa nhân. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Dougherty TJ (1981), Fingar VH (1987) và Sidestad CP (1999) cho biết sau điều trị PDT một tuần, hầu hết u bị hoại tử và đ-ợc thay bởi mô liên kết nhiều sợi collagen, nguyên bào sợi, tế bào sợi và tân mạch. Đặc biệt, Krosi G (1995) thấy sau PDT 5 phút đã tăng bạch cầu đa nhân và tế bào mastocyte vào u, sau giờ thứ 2 trở đi, nhiều monocyte và đại thực bào đã có mặt tại u, làm tăng miễn dịch chống ung th- tại chỗ và dọn sạch mô u hoại tử, tạo điều kiện thuận lợi cho liền vết th-ơng.

Chuột mang u đuôi sarcom 180 là dòng tế bào ung th- ít biệt hoá, nh-ng đáp ứng với điều trị PDT của nghiên cứu này đạt 98 - 100%, trong đó CR: 47%, SR: 28%, PR: 20% và NR d-ới 5%, t-ơng đ-ơng kết quả của Valery AP và CS (2005) điều trị PDT với dòng embryocarcinoma T36 chuột dùng thuốc chlorin 20 mg/kg thể trọng tiêm tĩnh mạch, sau đó 6 giờ chiếu laser 662 nm liều 100 J/cm², cũng nh- nhiều công bố tr-ớc đó của Fingar VH (1987) điều trị PDT cho carcinoma vú chuột, Kostenich GA (1994) điều trị sarcom M1-M45 d-ới da, Miyoshi N (1997) với leukemia L5278Y chuột đã đạt tỷ lệ đáp ứng với điều trị PDT từ 89 - 100%, trong đó tỷ lệ CR 54 - 64%, SR: 30 - 52%; PR: 10 - 32%, NR: 0 - 8%. Tuy nhiên, kết quả thực nghiệm của chúng tôi thấp hơn You JS (1999) điều trị PDT với thuốc rhodamin 123 trên chuột Cr1:CD-1-

ICR (BR) mang sarcom 180 d-ới da ở ngày thứ 3 sau gây u đã đạt CR là 83% và SR 17%. Hiện nay, nhiều tác giả trên thế giới cho rằng các yếu tố ảnh h-ởng đến hiệu quả điều trị PDT là loại thuốc nhạy quang, b-ức sóng và năng l-ợng ánh sáng, đặc biệt là thể loại, hình thái cấu trúc u và nồng độ O₂ tại mô đ-ợc điều trị. Chính vì vậy, việc nghiên cứu thực nghiệm rất cần thiết để tạo cơ sở khoa học cho ứng dụng liệu pháp PDT sử dụng thuốc nhạy quang nhóm chlorin và laser b-ức sóng 662 nm trong điều trị ung th- trên lâm sàng ở Việt Nam.

Đa số tế bào sarcom 180 sau điều trị PDT 6 giờ đã bị teo nhỏ, mất nếp gấp màng và những nhánh bào t-ơng, rất nhiều tế bào ung th- chết theo kiểu apoptosis sau PDT 24 - 48 giờ. Hình ảnh siêu cấu trúc tế bào sarcom 180 sau PDT của chúng tôi phù hợp với thực nghiệm của Milanesi C (1987), Radakovic FS (1999). Stranadko EF (1997) cho rằng d-ới kính hiển vi điện tử dễ dàng phát hiện tế bào apoptosis với chất nhuộm sắc đồng tụ sát màng nhân và các thể apoptosis do bào t-ơng bị đứt rời tạo nên. Oleinick NL (1998) chủ yếu quan sát thấy tổn th-ơng nhân tế bào ung th- kiểu apoptosis sau PDT và cho biết cơ chế là do hoạt hoá protease nhóm caspase kết hợp giải phóng yếu tố ty thể:

KẾT LUẬN

- Điều trị quang động dùng radachlorin 20 mg/kg sau tiêm 6 giờ chiếu laser diode 662 nm với năng l-ợng 150 - 400 J/cm² đã

làm hoại tử phần lớn tế bào sarcom 180 trong u đùi thực nghiệm, ức chế quá trình tạo mạch trong u, không gây độc toàn thân và không làm tổn hại mô lành liền kề xung quanh.

- Sau điều trị PDT, vùng u hoại tử đ-ợc thay thế bởi mô liên kết nhiều nguyên bào sợi, kèm theo thâm nhiễm bạch cầu đa nhân, đại thực bào và lympho bào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Kiên C-ờng, Vũ Công Lập.* Quang động học: một ph-ơng pháp chẩn đoán, điều trị ung th- kết hợp. Y học thực hành. 1997, 263, tr. 28-39.

2. *Trần Văn Hanh, Nguyễn Minh Thông và CS.* Một số mô hình ung th- thực nghiệm in vivo của labo nghiên cứu ung th- thuộc Học viện Quân y, Hội nghị Quốc tế về Điều trị phóng xạ trong Y học, Hà Nội. 2000, tr.241-242.

3. *D-ơng Chạm Uyên, Kiều Đình Hùng, Trần Thu Hà và CS.* Nhận xét b-ớc đầu áp dụng quang động điều trị u não tại Bệnh viện Việt Đức, Hà Nội. Tạp chí thông tin Y D-ợc. 2000, số 8, tr. 266-269.

4. *Cotran R.S., Lester SC., Mitchell R.N et al.* Pathologic basic of disease. 7th Ed, WB Saunders Co, New York. 2000, pp.1093-1357.

5. *Dougherty T.J., Gomer C.J.* Photodynamic therapy. J Natl Cancer Inst. 1998, 90 (12), pp.889-905.

6. *Friesen A.S., Hjortland G.O.* 5ALA-based photodynamic detection and therapy of brain tumors. Inter. J. of Oncol. 2002, 21, pp.577-582.

7. *Schnurrbusch UE, Jochmann C, Wiedemann P.* Quantitative assessment of the long-term effect of photodynamic therapy in patients with pathologic myopia. Graefes Arch Clin Exp Ophthalm. 1999, 15, pp.23-28.

8. *Valery A.P, Alexander V.L, Oleg V.S et al.* Clinical trials of new Chlorin photosensitizer for photodynamic therapy of malignant tumors. Russian Biotherapeutic Magazin, Moscow. 2005, pp.1-12.

9. *Wilson B.C., Moriyama E., Patterson M.S.* Bioluminescence imaging of tumor growth and photodynamic treatment response. Royal Soc. Chem. 2003, pp. 221-249.

10. *You J.S., Hau D.M., Lin Y.H. et al.* Subcutaneous tumors of mice treated with Rhodamine 123 and laser irradiation. Chang Keng I Hsueh Tsa Chih. 1999, 22 (3), pp.362-369