

FOTODYNAMICKÁ TERAPIE

**Lukáš Kubala
DFRP BFÚ AV ČR**

Fotodynamická terapie (PDT) je jednou z možností léčby jak nádorového onemocnění (zejména u adjuvantní léčby) tak i řady nenádorových onemocnění, především kožních lézí a očních chorob.

Základem pro fotodynamickou terapii je fotochemická reakce

Přímá fotochemická reakce

Nutnou podmínkou pro vyvolání fotochemické reakce je, aby alespoň jedna z reakčních složek absorbovala dopadající světelné záření. Vzhledem k tomu, že molekulární kyslík neabsorbuje světlo o vlnových délkách vyšších než 200 nm, **musí být absorbuující složkou oxidovaný substrát.**

Absorbuje-li substrát iniciující záření, může dojít k přímé fotochemické oxidaci, a to dvojitým mechanismem:

- a) Absorpcí světla substrátem vznikají volné které reagují přímo s dikyslíkem. Podle novějších názorů se může molekulární kyslík při vzniku radikálů účastnit jako akceptor elektronu. Tato reakce je spinově dovolená.
- b) Absorpcí excitovaného molekulárním světla se substrát dostává do tripletového stavu a reaguje přímo s kyslíkem. Reakce dvou částic v tripletovém stavu je rovněž spinově dovolená.

Při přímé fotochemické reakci se množství absorbovaných světelných kvant mění s časem v důsledku poklesu koncentrace reagující složky a vzrůstu koncentrace reakčních produktů. Aktivační energie fotochemického procesu je velmi malá.

Nepřímá fotochemická reakce

Pokud žádná z reakčních složek neabsorbuje světlo, je možno k reakčnímu systému přidat další, v podstatě inertní, ale světlo absorbující složku - **senzibilizátor**, který umožní **nepřímou fotochemickou oxidaci**.

Fotosensitizace

Je to proces, ve kterém se v jedné nebo více molekulách projeví fotochemické a fotofyzikální alterace jako následek absorpce světla v jiné molekule nazývané fotosensitizer.

Fotosenzibilizované reakce mohou probíhat dvěma různými mechanismy.

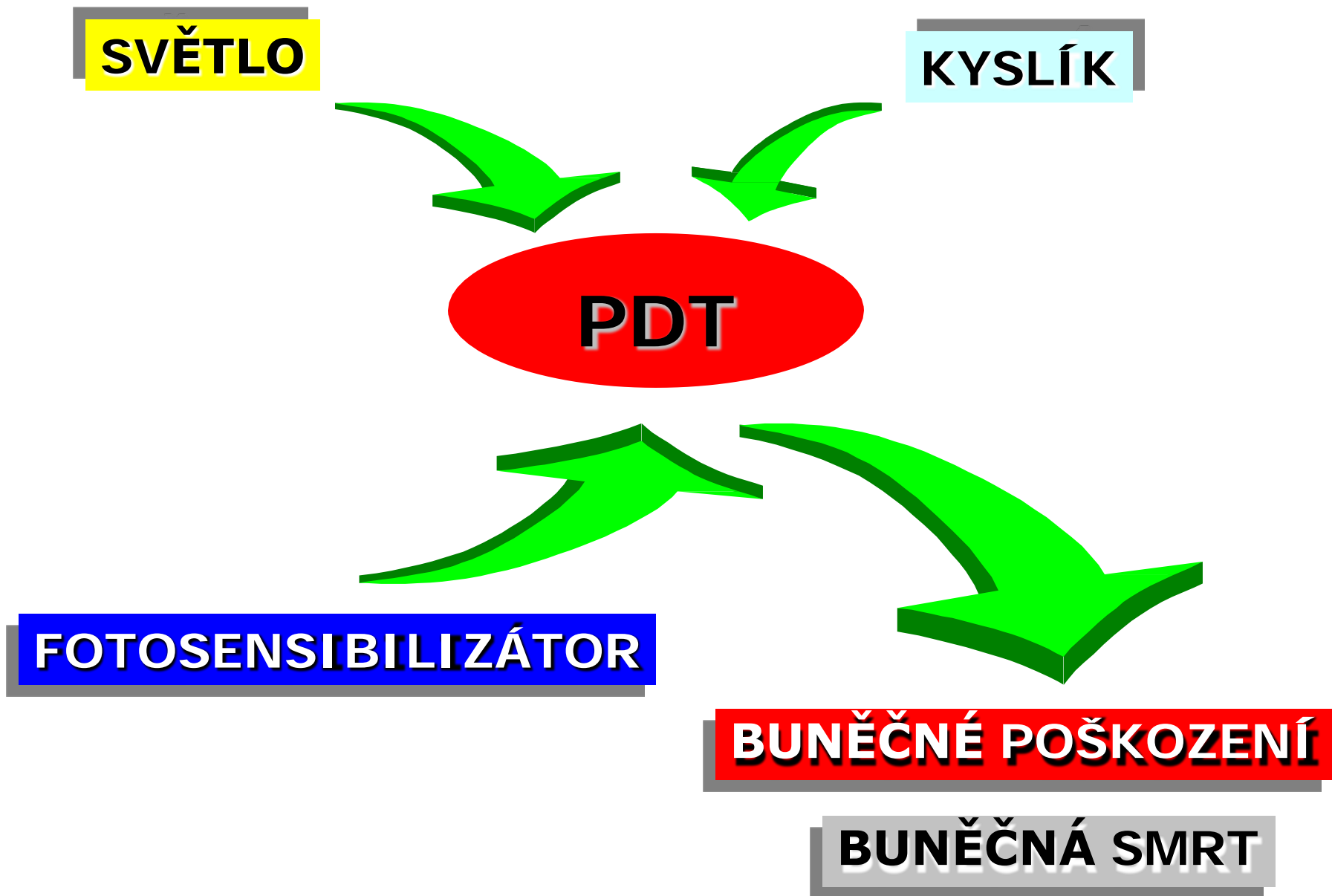
1. Senzibilizátor, který se absorpcí světla dostal do tripletového stavu, může převést získanou energii na molekulu substrátu za vzniku volného radikálu nebo molekuly substrátu v tripletovém stavu.
2. Senzibilizátor, který se absorpcí světla dostal do tripletového stavu, může převést získanou energii na molekulu kyslíku za vzniku singletového kyslíku.

Prakticky všechny organismy obsahují endogenní molekuly – potencionální fotosensitizer.

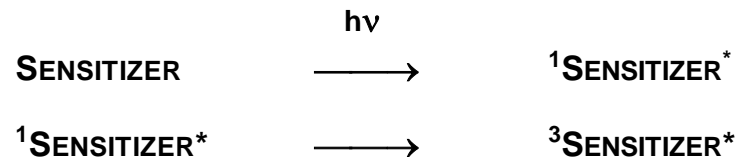
Jako senzibilizátory se většinou užívají organická barviva.

Senzibilizující látka může rovněž vznikat v průběhu termické nebo fotochemické reakce.

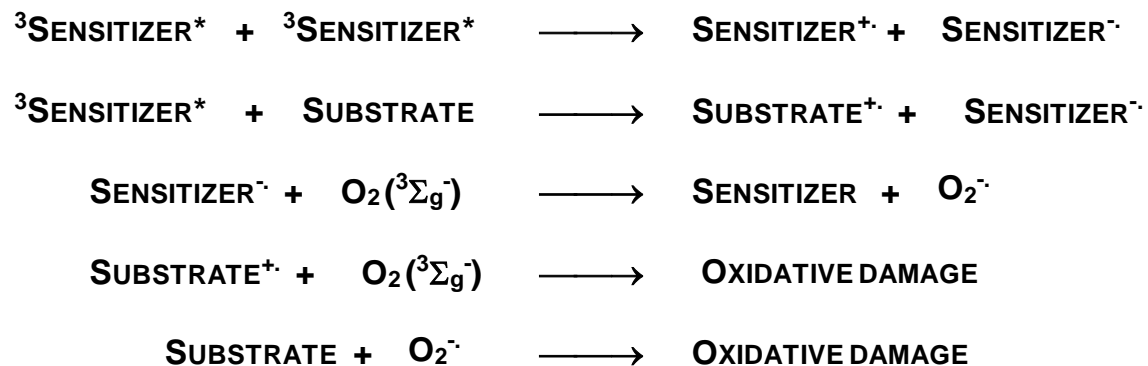
Princip fotodynamické terapie



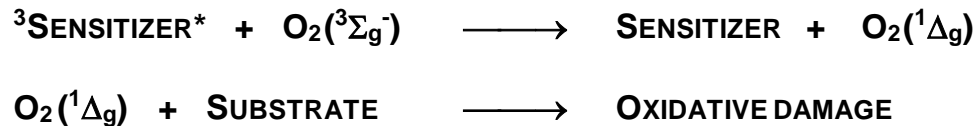
PRINCIPLES OF PHOTODYNAMIC THERAPY



TYPE I MECHANISM



TYPE II MECHANISM



Fotodynamický účinek na živé organismy

Nejcitlivější jsou jednobuněčné organismy, neboť nejsou chráněny kůží. Kromě akridinu, užitého Raabem, byly jako senzibilizátory používány například: akridinová oranž, akridinová červeň, methylenová modř a novome-tylenová modř, fenazin, tryptaflavin, fluorescein, eosin, erytrosin, rhodamin B, naftochinony, antrachinony, chlorofyly, sulfonamid, 3,4 - benzopyren, perlonin.

U bakterií byla většinou pozorována ztráta antigenity, při silnějším účinku mutagenní a letální účinek, a to za přítomnosti různých barviv.

Fotodynamický účinek na živé organismy

U savců je při fotodynamickém účinku ovlivněn jen **vnější povrch**, protože pronikání světla je omezeno jen na relativně tenkou vnější vrstvu.

Primární efekt v kůži může být doprovázen zřetelnými sekundárními efekty ve vzdálenějších orgánech, t.j. v orgánech cirkulačních a dýchacích a v centrálním nervovém systému.

Dále mohou podléhat fotodynamickému jevu všechny **tělní tekutiny**. Při senzibilaci teplokrevných zvířat může však docházet k značnému zeslabování účinku redukcí barviv v organismu, případně srážením jejich komplexů s bílkovinami. Tím se může stát, že běžně užívané nízké koncentrace (10^{-4} - 10^{-6} M) jsou *in vivo* neúčinné.

Fotodynamický účinek na živé organismy

U rostlin byl fotodynamický jev studován mnohem méně než u živočichů. Při ozařování semen máčených v roztocích fotodynamicky účinných barviv bylo pozorované **zvýšení klíčivosti**.

Historie výzkumu fotodynamického jevu a terapie

- Ch. Darwin a K. Dammann popsali i negativní vlivy slunečního záření za přítomnosti „drog“ – vyrážku u zvířat po požití pohanky (objevovala se u zvířat se světlejší srstí a po delším pobytu na slunci)
- 1895 – Dieudonné - popisoval baktericidní účinky kyslíku (ale neuvažoval katalytický vliv fotosensibilizátoru)
- 1900 - J. Prime – otoky prstů, puchýře u epileptiků léčených eosinem (obsahuje bromid jakožto potenciální antiepileptickou součást)
- 1900 - O. Rabb – vliv akridinu na prvoky (nálevníci - stanovoval prahovou hranici toxicity barviv, provedl cca 800 experimentů, které však byly nereprodukovatelné)
- O. Rabb a Tappeiner – akridin, eosin, chinin – toxicita se lišila v průběhu dne. Usoudili na vliv fluorescence barviv a označili reakci jako fotodynamickou
- 1904 Ledoux-Lebards dokázal, že pro fotodynamickou reakci je nutná přítomnost kyslíku (trepky rychleji umírají v otevřené lahvi za přítomnosti kyslíku než v lahvi uzavřené).
- 1909 – také Von Tappeiner navzdory svým minulým pracem prohlásil, že kyslík je zodpovědný za fotodynamický efekt. A aniž znal mechanismus tohoto jevu, již v roce 1903 započal experimenty na lidech (rakovina, syfilis, tuberkulóza).
- Dyer používal erythrosin, antibakteriální účinky, lupenka (ale pacienti trpěli silnými bolestmi a proto experimenty ukončil)

Friedrich Meyer-Betz, a German physician, injected himself with porphyrin in 1912 to test whether it made human sensitive to light. The first photograph shows him four days later, after he took a walk on a sunny day. Most of the swelling subsided by the sixth days (second photograph) but he remained light-sensitive for several months.



1973 Thomas Dougherty zveřejnil práci o zhoršené rychlosti růstu transplantovaných prsních nádorů u myši po senzibilizaci fluoresceinem a světlem při 488 nm. Poté stanovil kritéria pro vhodný fotosenzibilizátor pro PDT

Ne toxická při terapeutické dávce

Definovaný příjem a akumulace v maligní tkáni

Aktivace světla nad 600 nm

Fotochemická aktivita

Fotodynamicky účinná barviva

Senzibilizační účinnost, t.j. schopnost využít světelnou energii, byla zjištěna u řady barviv nejrůznější chemické struktury. Typ reakce není určován povahou barviva, ale podmínkami v systému, v němž reakce nastává. U řady azinových, fluoresceinových, rostlinných barviv byla fotodynamická účinnost potvrzena na nejrůznějších substrátech, o fotodynamické účinnosti jiných barviv se údaje rozcházejí. Mezi nejúčinnější fotosenzibilizátory patří **metylenová modř a eosin**, jejichž mechanismus účinku byl také nejvíc prostudován. Tato barviva byla spolu s **hematoporfyrinem, chlorofylem a riboflavinem** také nejčastěji používána pro studium PDT.

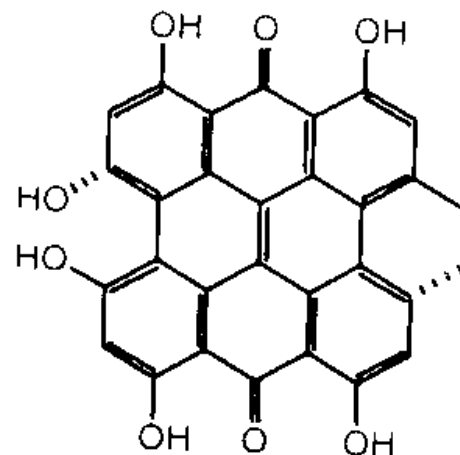
Třezalka tečkovaná

Považovala za kouzelnou rostlinu a sloužila při léčení neobyčejných nemocí - náměsíčností počínaje a úderem blesku konče. Dokládají to i lidové názvy, říkalo se jí čarovník, prostřelenec, svatojanská bylina nebo třeba krevníček.

Dva poslední názvy nejspíš souvisí s hypericinem, červeným barvivem, které je obsaženo v kanálcích v listech a jemuž se říká krev sv. Jana a zřejmě právě ono má také na svědomí pověry a legendy, opřádající tuto bylinu.

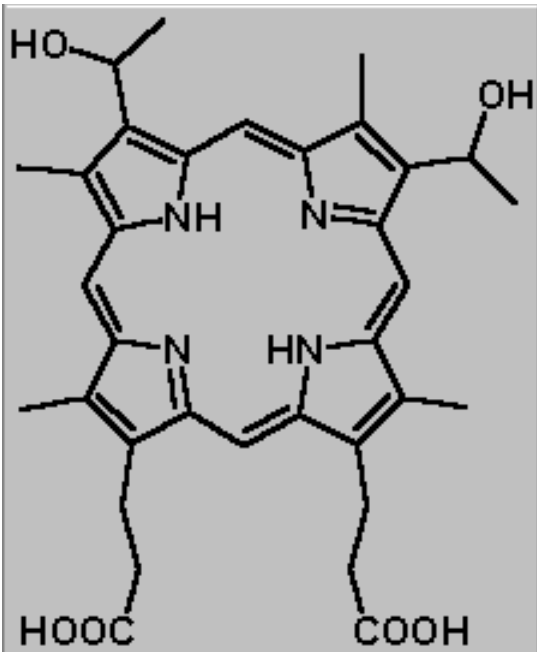


Třezalka tečkovaná
Hypericum perforatum L



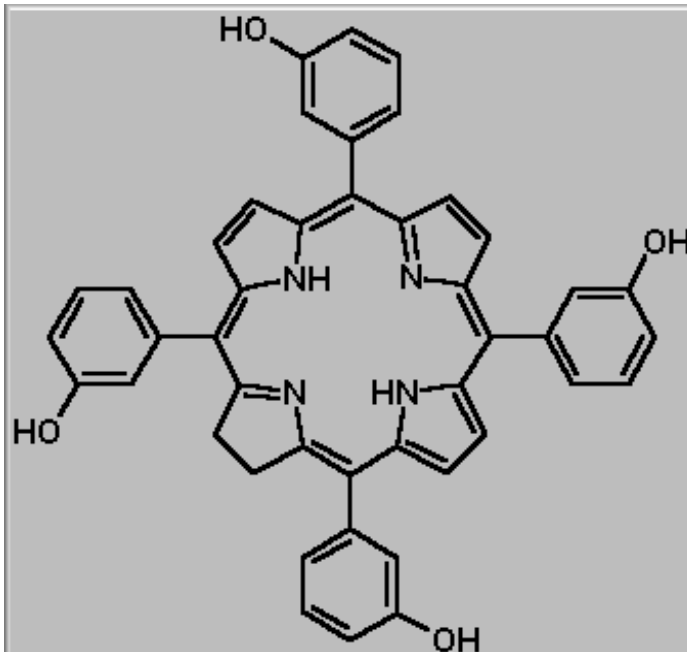
Hypericin

Porphyryns



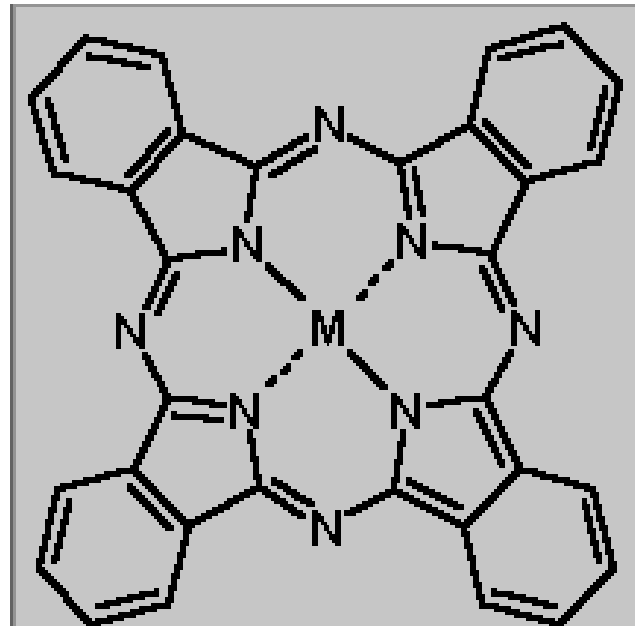
Haematoporphyrin

Chlorins



m-tetra hydroxyphenyl chlorin

Phthalocyanines



Phthalocyanine

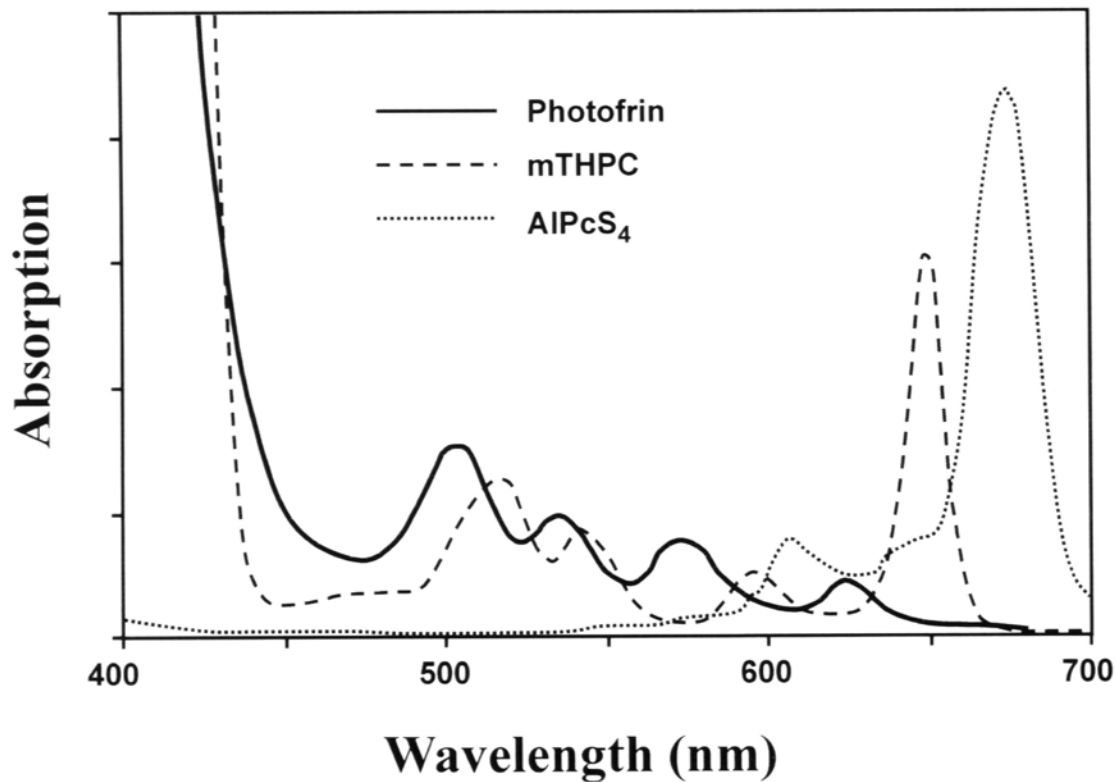


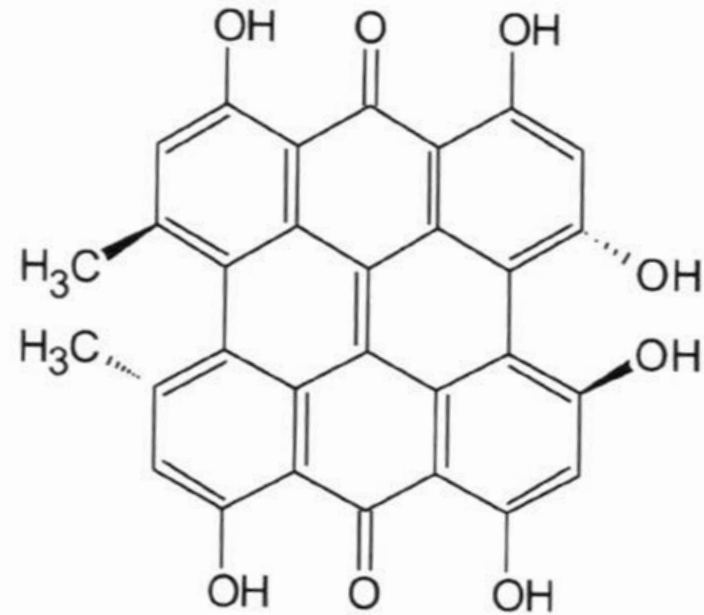
Figure 1. Absorption spectra of several photosensitizers used in PDT. Note the strong absorption peak in the far-red region (above 650 nm) for second-generation photosensitizers compared to the weak absorption at the maximum wavelength around 630 nm for the first-generation drug Photofrin.

AlPcS₄ - tetrasulfonated aluminum phthalocyanine
mTHPC (Foscan®) - m-tetrahydroxyphenylchlorin

Hypericin

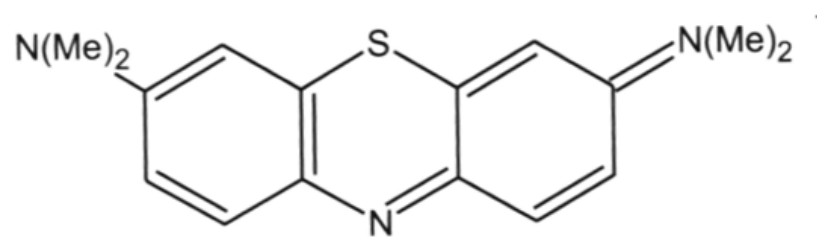
znám především pro *hypericismus*, tedy podráždění pokožky, horečky, často s následkem smrti

- absorbuje při 590 nm
- lupenka, rakovina kůže, bradavice



Methylenová modř

- Používá se již staletí (např. barvení bakteriálních kmenů, diagnostika, marker nádorů)
- Inaktivuje viry
- Nevýhoda: je redukována buněčnými enzymy na bezbarvou a tedy fotodynamicky neúčinnou formu

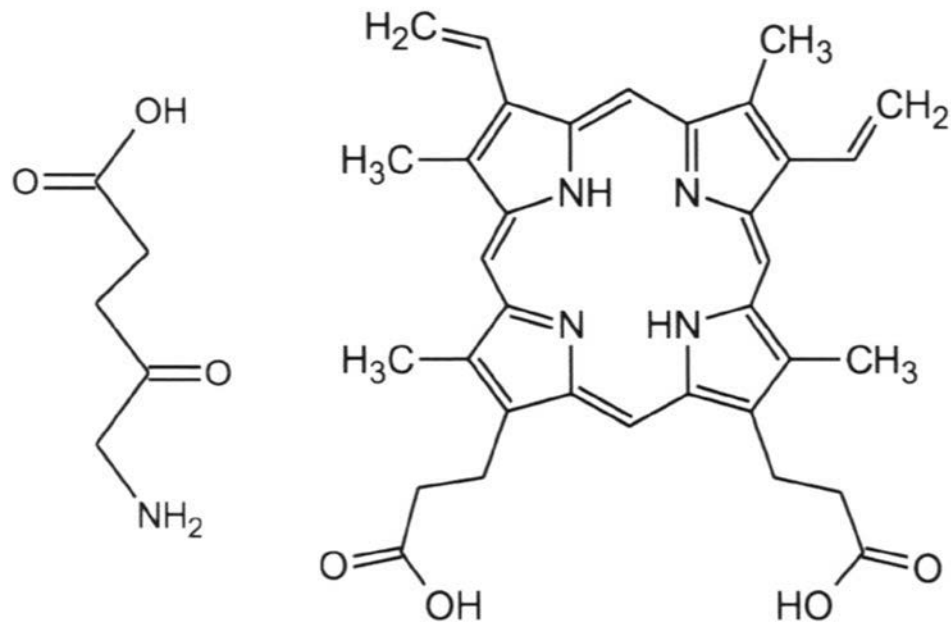


Verteporfin (Visudyne)

- Absorbuje při 690 nm
- Velmi rychle je absorbován nádorovou tkání; optimální koncentrace v této tkáni je dosaženo 30-150 minut po intravenózní aplikaci
- Fotosensitizace pokožky se projevuje jen několik dnů
- Kožní nádory (ale ne melanomy), lupenka, revmatická artritida

Kyselina 5-aminolevulová

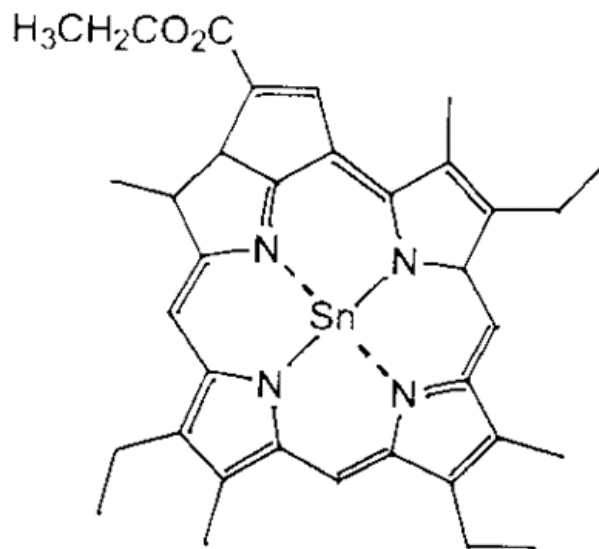
Prekursor Protoporphyrinu IX



Tin etiopurpurin

(Puryltin™)

Farmakologické využití na léčbu:
rakovina prostaty, rakovina prsu, Kaposiho sarkom, lupenka



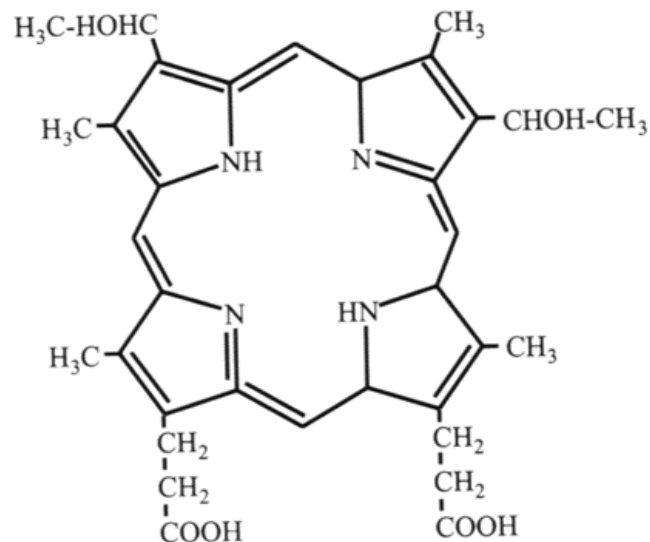
Deriváty hematoporphyrinu jsou komerčně dodávány jako Photofrin

Mářadu absorpčních píků mezi 400 a 650nm, nejčastěji používaný je při 630 nm

Po aplikaci je zadržována v pokožce až 10týdnů

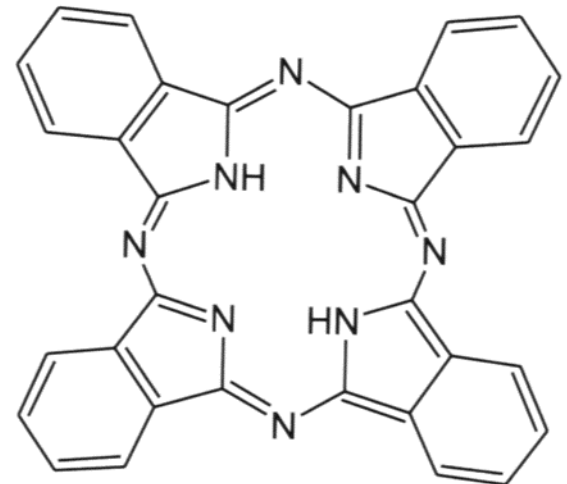
Farmakologické využití na léčbu:

rakovina plic, rakovina žaludku, rakovina děložního hrdla



Ftalocyaniny

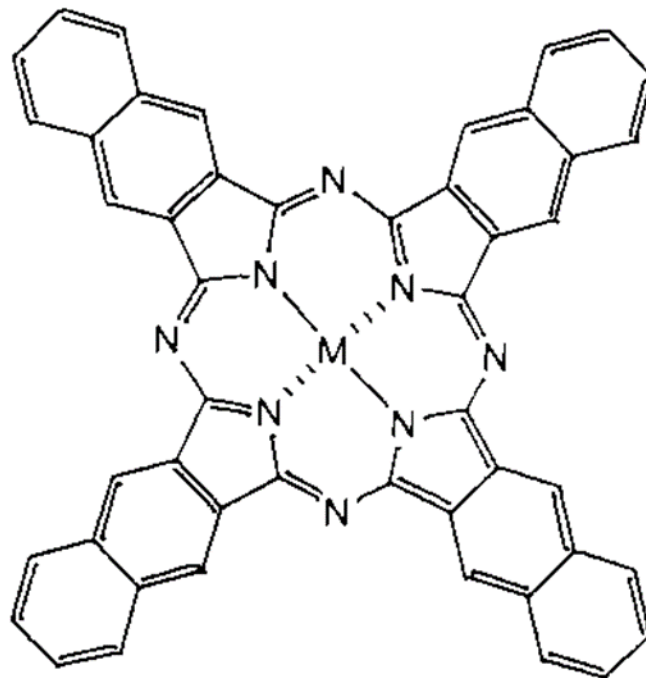
- dlouho byly používány jako průmyslová barviva (ale i do kopírovacích přístrojů)
- nyní jsou intenzívně zkoumány hlavně kvůli jejich dobré rozpustnosti ve vodě a možnosti substituování
- absorbují při 680 nm
- Farmakologické využití na léčbu: rakovina trávicího traktu, kůže, prsu, plic



Naftalocyaniny

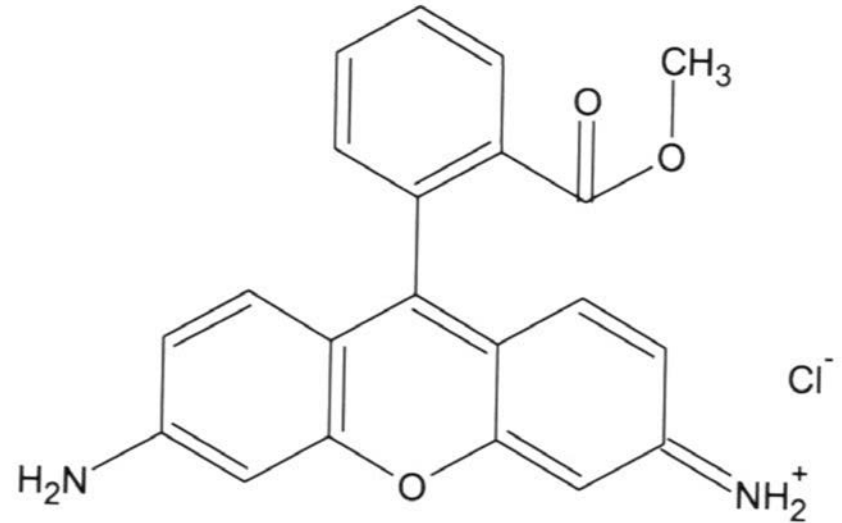
Absorbují při 680 nm

Farmakologické využití na léčbu melanomů



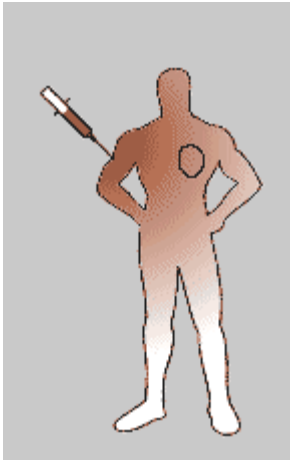
Rhodamin 123

Mimo jiné výborná fluorescenční značka
Je specificky vychytáván mitochondriemi



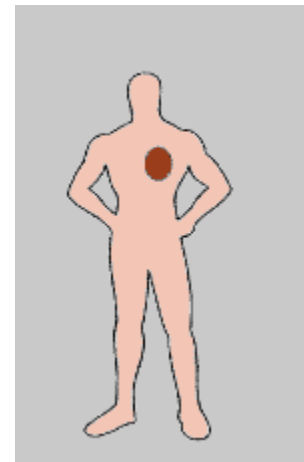
Fotodynamická terapie (PDT)

Je jednou z možností léčby nádorového onemocnění (zejména u adjuvantní léčby), i řady nenádorových onemocnění, především kožních lézí a očních chorob.

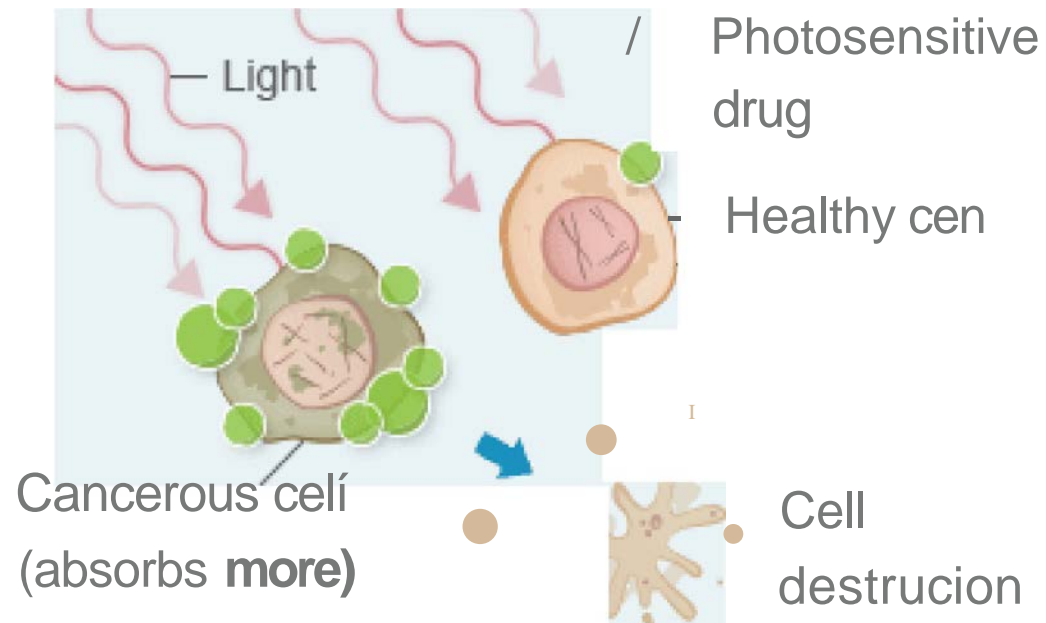
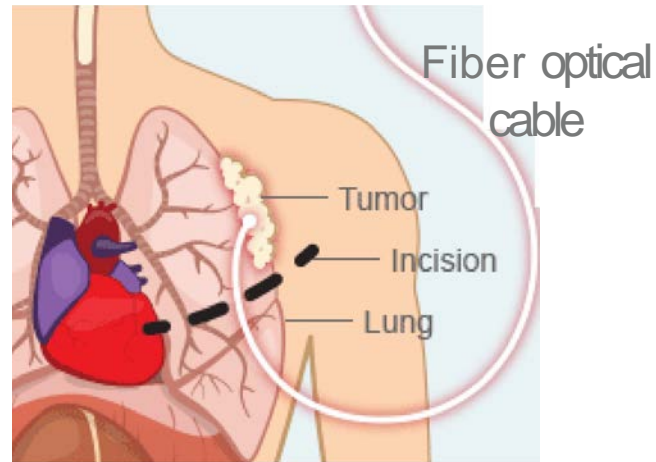
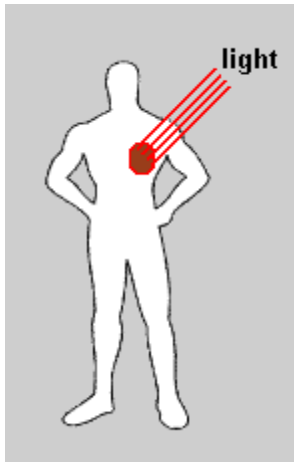


Pacient přichází na kliniku s nádorem.
Fotosenzibilizátor se podává injekcí.

Fotosenzibilizátor se postupně koncentruje v nádoru.



Fotosenzibilizátor je aktivován světlem a dochází k selektivní destrukci nádorové tkáně



PHOTODYNAMIC THERAPY

cell membrane

necrosis

ER

Ca²⁺

mitochondrion

nucleus

DNA cleavage

cytochrome c

caspase activation

protein cleavage

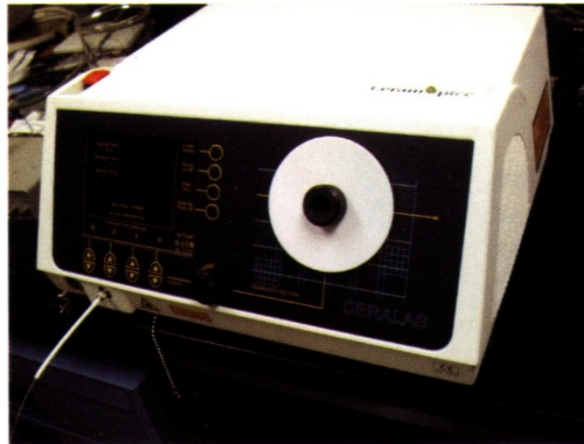
CELL DEATH



a



b



c

Figure 4. Clinical POT lasers. (a) argon-pumped dye laser, (b) KTP-pumped dye laser, (c) diode laser (courtesy Ceram Optics, Germany).



a



b



c

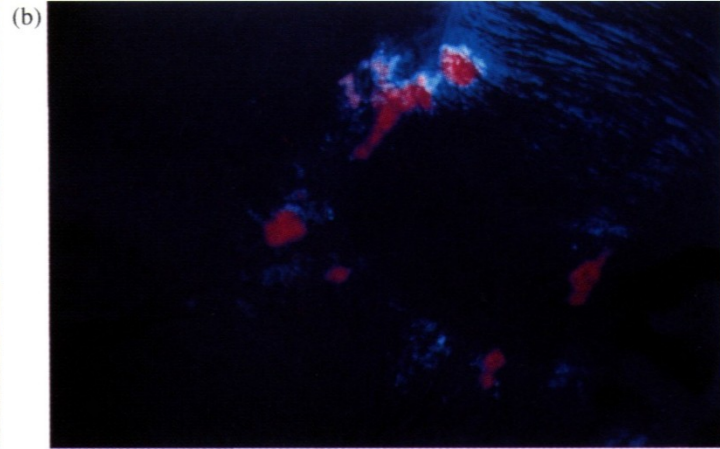
Figure 5. Light Emitting Diode (LED) source for clinical POT. (a) array for skin lesion treatments (courtesy EXFO Inc, Canada), (b) small array for intra-oral application (courtesy PRP Optoelectronics, England), (c) interstitial linear arrays (courtesy Light Sciences Inc., USA).



(a)



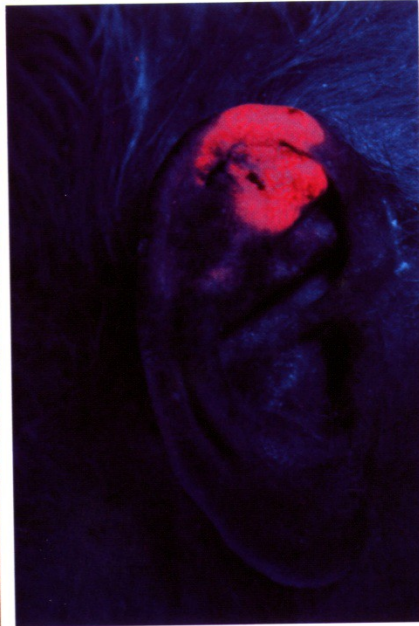
(b)



(a)



(b)



(c)

