

FOTODYNAMICKÁ TERAPIE

Lukáš Kubala
DBIS 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.

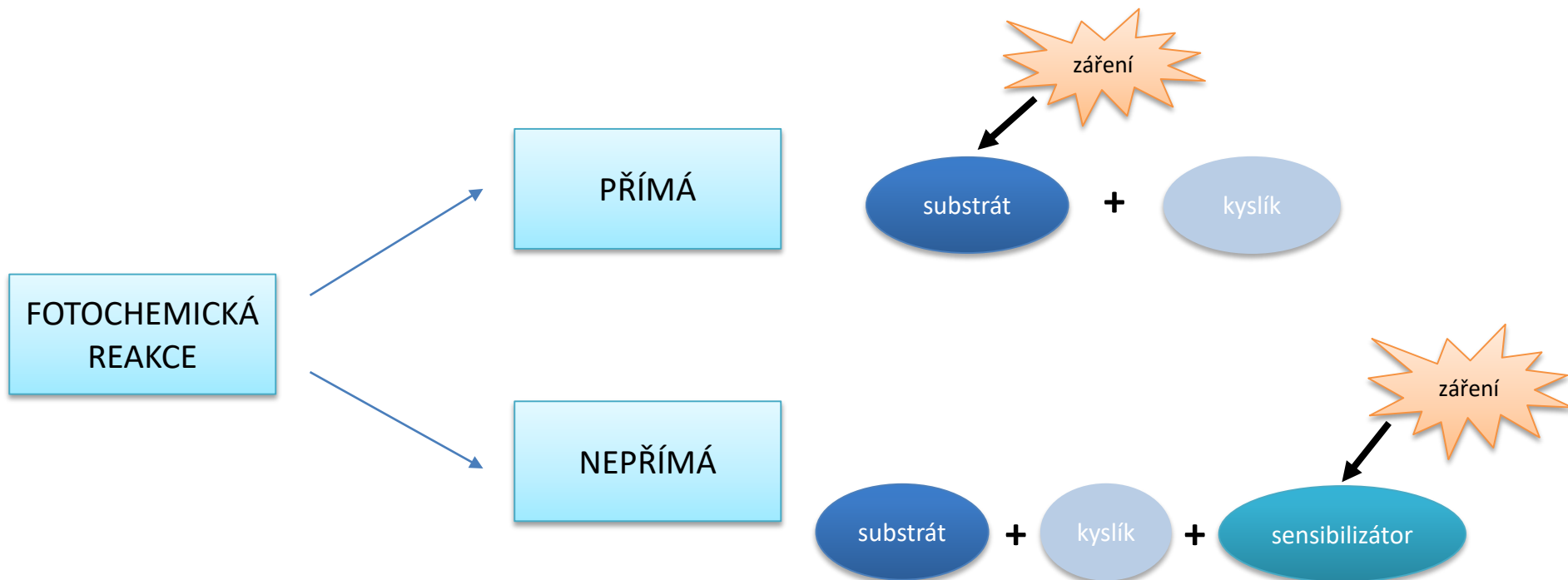
Základem pro fotodynamickou terapii je **fotochemická reakce**

FOTOCHEMICKÁ REAKCE

Fotochemické reakce jsou všechny chemické reakce, které využívají světelné záření jako zdroj energie.

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 absorbuje složkou oxidovaný substrát.**



Přímá fotochemická reakce

Absorbuje-li iniciující záření substrát

Dvojitý mechanismus přímé fotochemické oxidace:

- a) Absorpce světla substrátem → vznikají **volné radikály** 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) Absorpce světla substrátem → substrát se 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

Žádná z reakčních složek neabsorbuje světlo → k reakčnímu systému se přidá další, v podstatě inertní, ale světlo absorbující složka – **senzibilizátor** → **FOTOSENSITIZACE**

Fotosensitizace

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

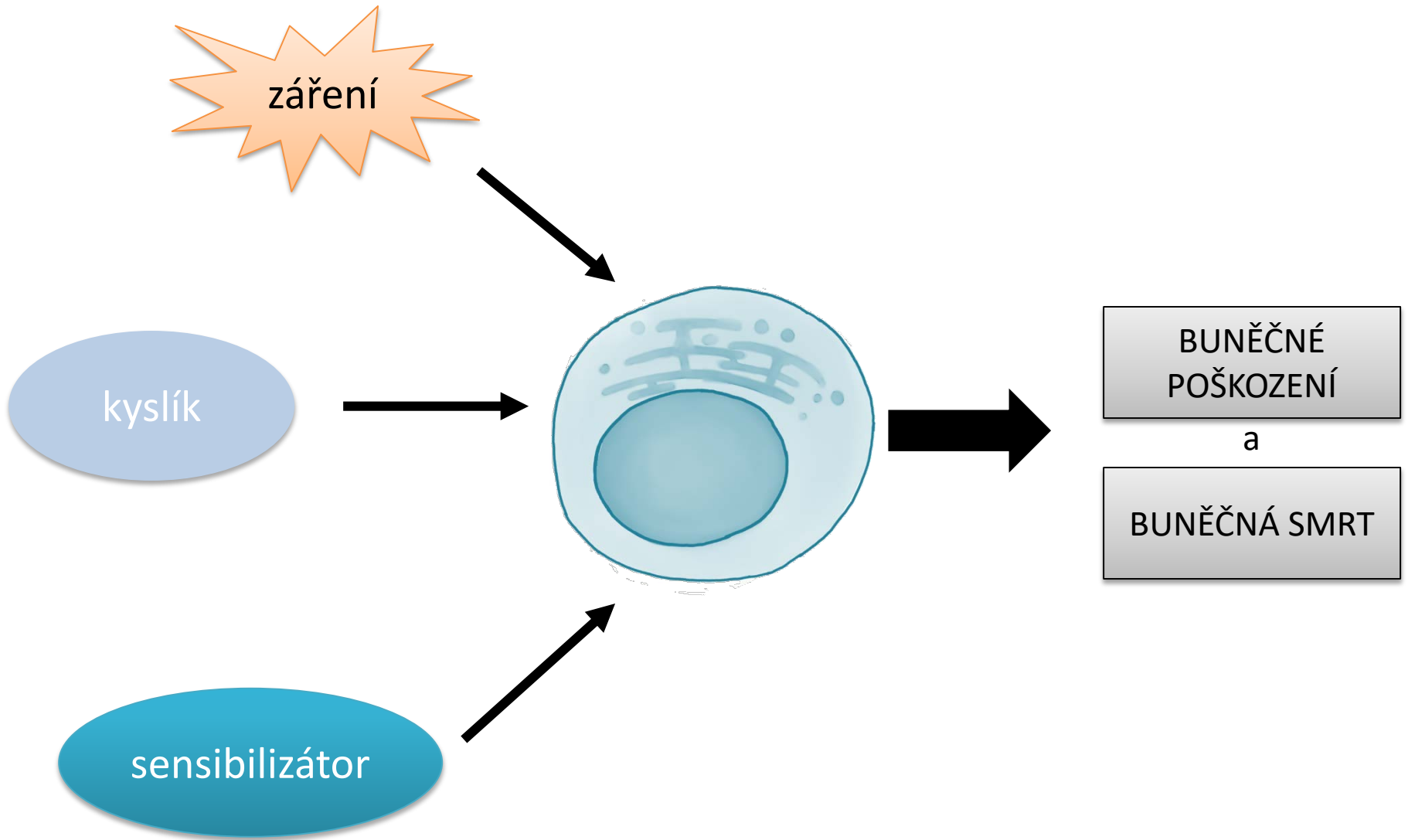
Dva mechanismy fotosenzibilizovaných reakcí

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.

Vznik / výskyt fotosensitizerů:

- Prakticky všechny organismy obsahují **endogenní molekuly** – potencionální fotosensitizery.
- Jako senzibilizátory se většinou užívají **organická barviva**.
- Senzibilizující látka může rovněž **vznikat** v průběhu **termické nebo fotochemické reakce**.

Princip fotodynamické terapie



FOTODYNAMICKÝ ÚČINEK NA ŽIVÉ ORGANISMY

Jednobuněčné organismy

- nejcitlivější, neboť nejsou chráněny kůží
- příklady sensibilizátorů
 - akridin, akridinová oranž, akridinová červeň, methylenová modř a novometylenová modř, fenazin, tryptaflavin, fluorescein, eosin, erytrosin, rhodamin B, naftochinony, antrachinony, chlorofyly, sulfonamid, 3,4 - benzopyren, perlonin.
- účinek:
 - 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

Savci

- **primární efekt** – na kůži – ovlivněn je jen **vnější povrch**, protože pronikání světla je omezeno jen na relativně tenkou vnější vrstvu
- **sekundární efekty**
 - ve vzdálenějších orgánech (cirkulační, dýchací a centrální nervový systém)
 - 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

Rostliny

- fotodynamický jev studován mnohem méně než u živočichů
- účinek
 - 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 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)
- Dieudonné (1895)** - popisoval baktericidní účinky kyslíku (ale neuvažoval katalytický vliv fotosensibilizátoru)
- J. Prime (1900)** – otoky prstů, puchýře u epileptiků léčených eosinem (obsahuje bromid jakožto potenciální antiepileptickou součást)
- O. Rabb (1900)** – 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 že je to vliv fluorescence barviv a označili reakci jako fotodynamickou
- Ledoux-Lebards (1904)** dokázal, že pro fotodynamickou reakci je nutná přítomnost kyslíku (trepky rychleji umírají v otevřené lahvi za přítomnosti kyslíku než v lahvi uzavřené).
- Von Tappeiner (1909)** navzdory svým minulým pracím prohlásil, že kyslík je zodpovědný za fotodynamický efekt. A aniž by znal mechanismus tohoto jevu, již v roce 1903 započal experimenty na lidech (rakovina, syfilis, tuberkulóza).
- Dyer** používal erythrosin – antibakteriální účinky zkoušel na pacientech s lupenkou (ale pacienti trpěli silnými bolestmi a proto experimenty ukončil)

Historie výzkumu fotodynamického jevu a terapie

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.



Historie výzkumu fotodynamického jevu a terapie

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

Kritéria pro vhodný fotosenzibilizátor pro PDT

- **Netoxický při terapeutické dávce**
- **Definovaný příjem a akumulace v maligní tkáni**
- **Aktivace světla nad 600 nm**
- **Fotochemická aktivita**

FOTODYNAMICKY ÚČINNÁ BARIVA

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.

Fotosenzibilizátory

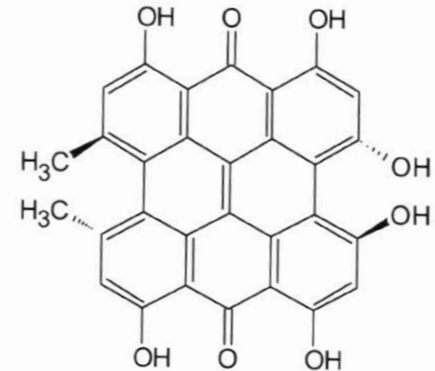
- azinové a fluoresceinové rostlinné barviva – byla fotodynamická účinnost potvrzena na nejrůznějších substrátech
- **metylenová modř a eosin** – nejvíc prostudován mechanismus účinku
- **hematoporfyrin, chlorofyl a riboflavin**

} nejúčinnější a také nejčastěji používána pro studium PDT

Hypericin

Znám především pro *hypericismus* -- podráždění pokožky, horečky, často s následkem smrti

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



Třezalka tečkovaná

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

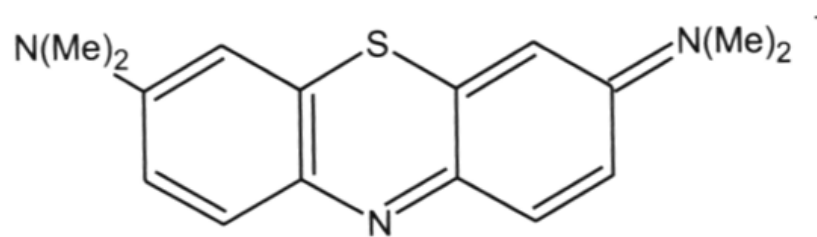
Dva poslední názvy nejspíš souvisí s hypericinem, červeným barvivem, které je obsaženo v kanálcích v listech a jemuž se říkalo krev sv. Jana a zřejmě právě ono má také na svědomí pověry a legendy, opřádající tuto bylinu.



Třezalka tečkovaná
Hypericum perforatum L

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

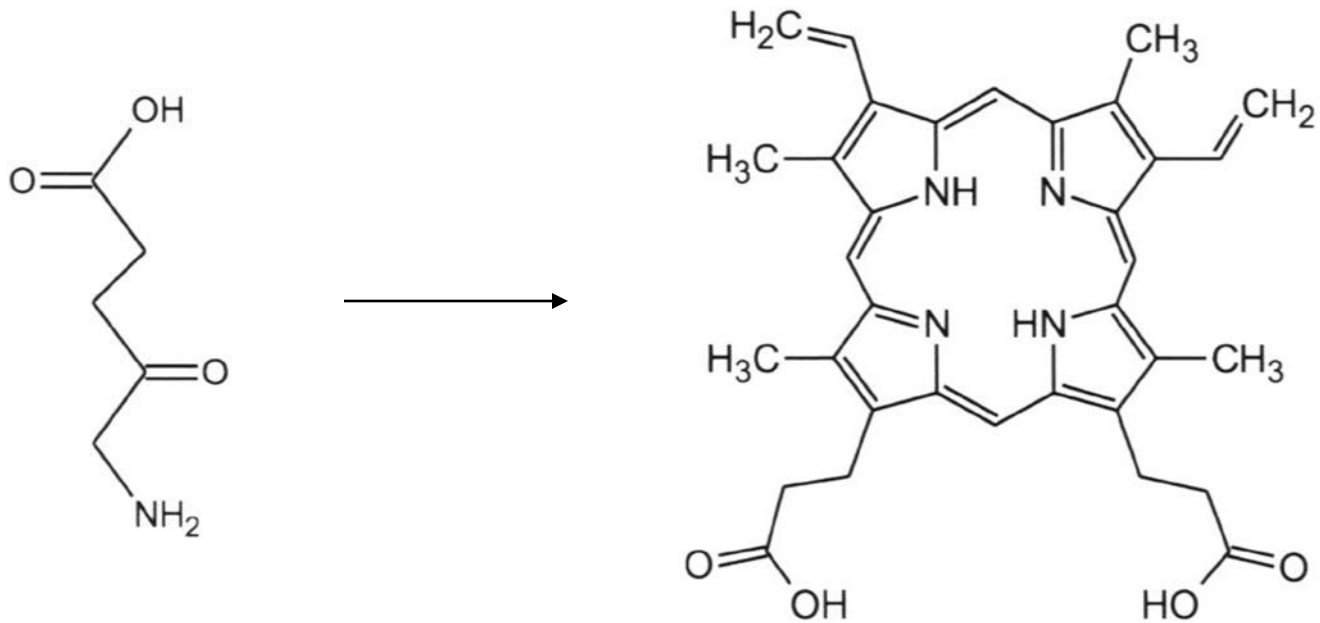


Verteporfin (Visudyne)

- 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

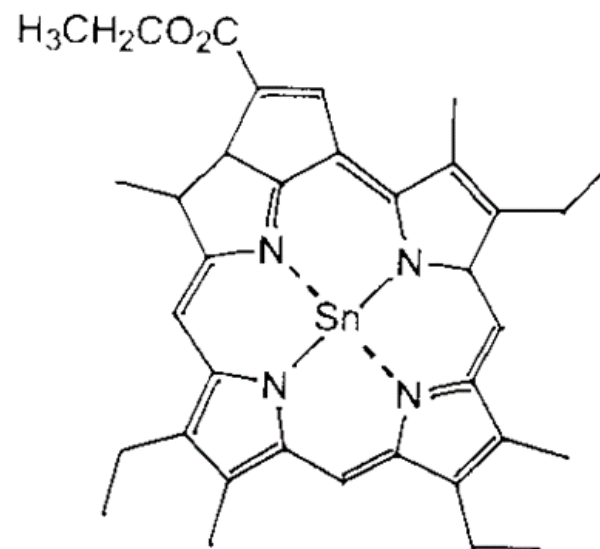


Tin etiopurpurin

(Puryltin™)

Farmakologické využití na léčbu:

- rakovina prostaty
- rakovina prsu
- Kaposiho sarkom
- lupenka



Photofrin

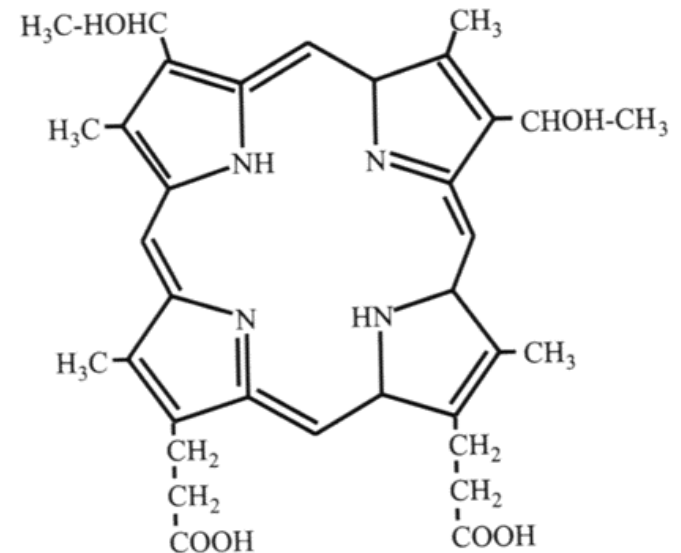
Deriváty **hematoporphyrinu** jsou komerčně dodávány jako Photofrin

Má řadu absorpčních píků mezi 400 a 650nm – nejčastěji používaný je při 630 nm

Po aplikaci je zadržována v pokožce až 10 týdnů

Farmakologické využití na léčbu:

- rakovina plic
- rakovina žaludku
- rakovina děložního hrdla



Ftalocyaniny

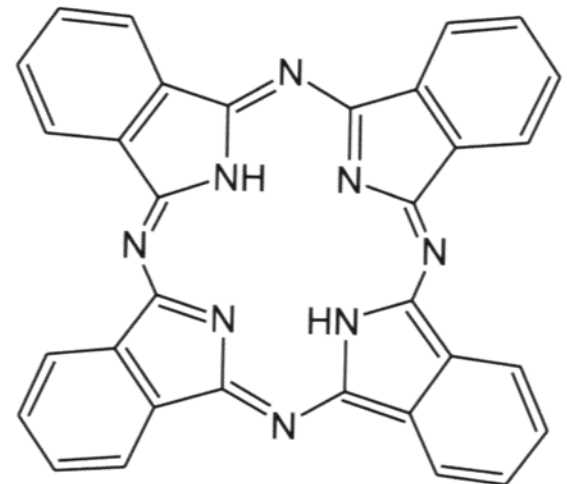
Dlouho byly používány jako průmyslová barviva (ale i do kopírovacích přístrojů)

Intenzívně zkoumány hlavně kvůli jejich dobré rozpustnosti ve vodě a možnosti substituování

Absorbují při 680 nm

Farmakologické využití na léčbu:

- rakovina trávicího traktu
- rakovina kůže
- rakovina prsu
- rakovina plic

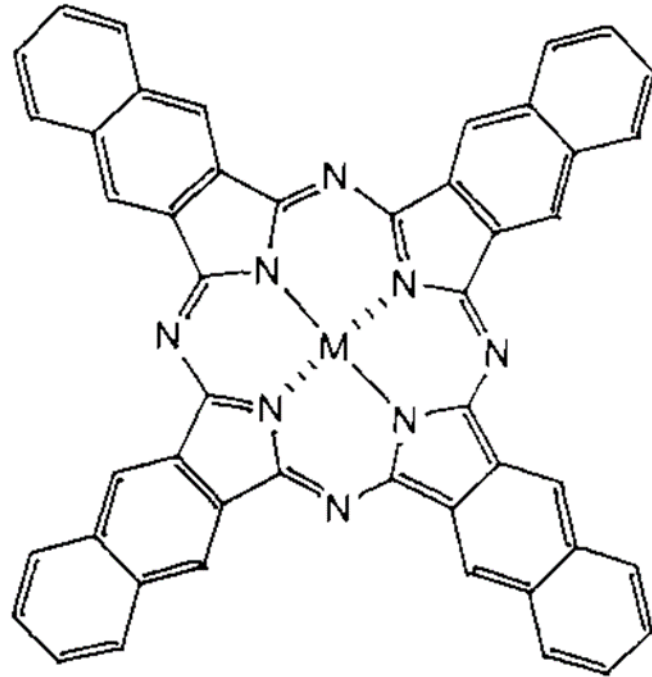


Naftalocyaniny

Absorbují při 680 nm

Farmakologické využití na léčbu:

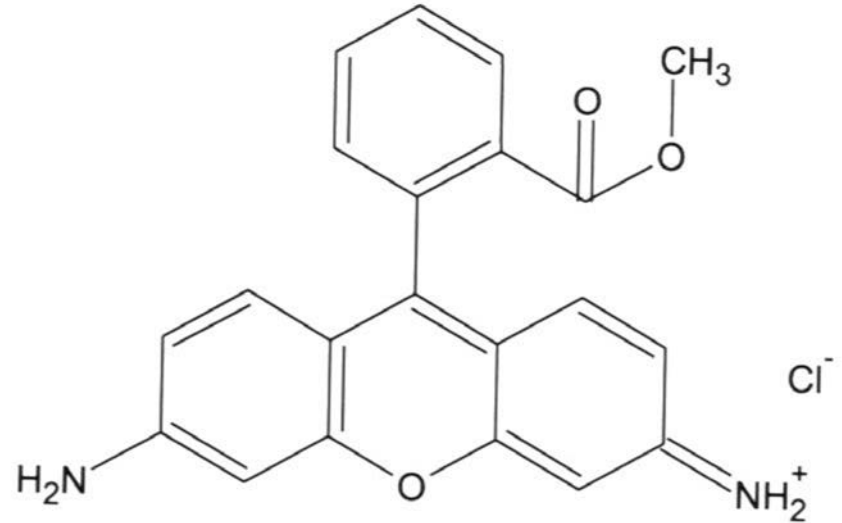
- melanomů



Rhodamin 123

Mimo jiné výborná fluorescenční značka

Je specificky vychytáván mitochondriemi

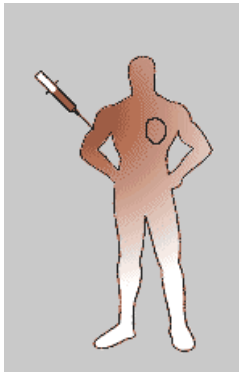


FOTODYNAMICKÁ TERAPIE (PDT)

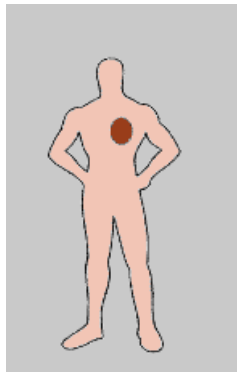
Je jednou z možností léčby

- nádorového onemocnění (zejména u adjuvantní léčby)
- řady nenádorových onemocnění
 - kožních lézí
 - očních chorob

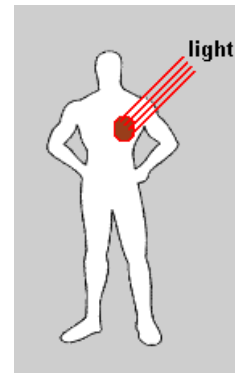
Pacient přichází na kliniku s nádorem.



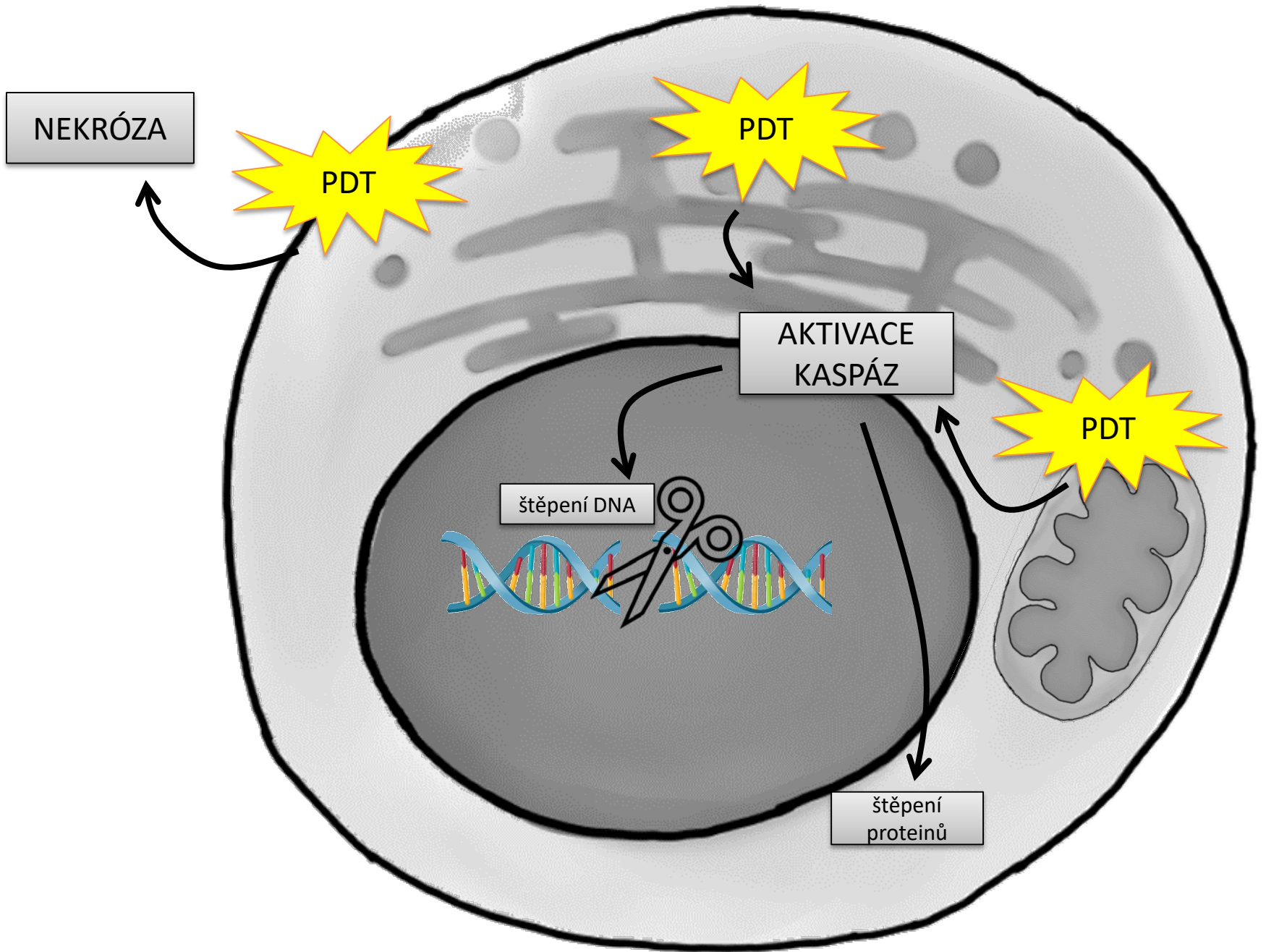
Fotosenzibilizátor se podává injekcí.

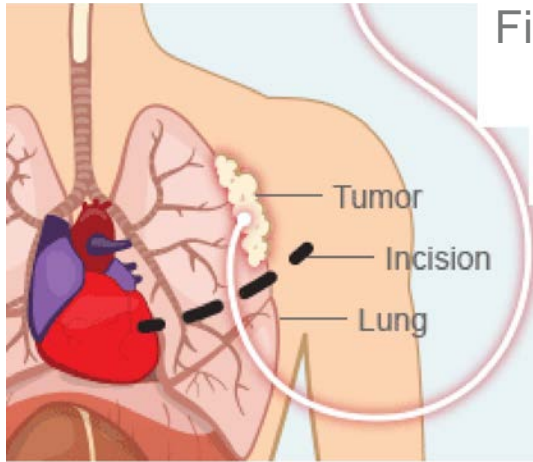


Fotosenzibilizátor se postupně koncentruje v nádoru.



Fotosenzibilizátor je aktivován světlem a dochází k selektivní destrukci nádorové tkáně



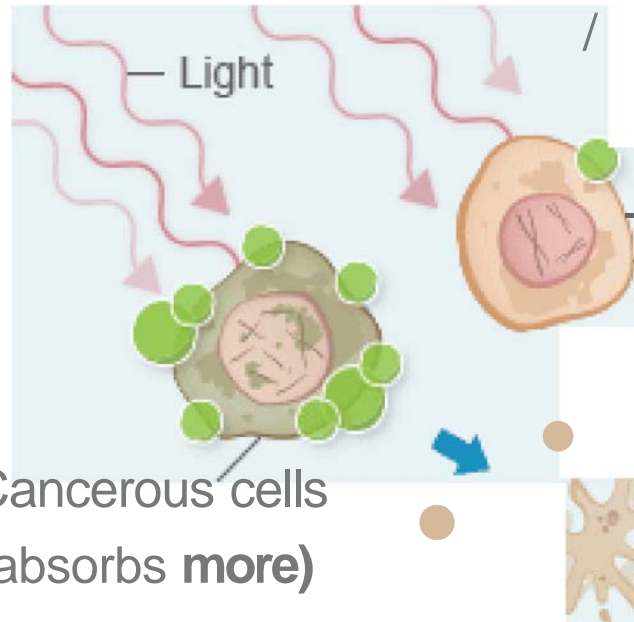


Fiber optical cable

Tumor

Incision

Lung



Light

Photosensitive drug

Healthy cen

Cancerous cells (absorbs more)

Cell destrucion



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)

