

KOSMETICKÉ VÝHODY TERAPIE NĚKTERÝCH KOŽNÍCH NEMOCÍ POMOCÍ FOTODYNAMICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

MUDr. Milena Jirásková, CSc.¹, Ing. Lubor Jirásek, CSc.²

¹Dermatovenerologická klinika I. LF UK a VFN Praha

²FEL ČVUT Praha

V posledních asi 20 letech se na celém světě zvyšuje úsilí na využití fotoaktivních látek, které, inkorporované do buněk, jsou následně schopné využít energii neinvazivně působícího záření k likvidaci nemocných buněk naprogramovanou smrtí, tzv. apoptózou. Toto úsilí se v poslední době začíná zúročovat registrací nového léku obsahujícího metylaminolevulinát – hydrofilní ester kyseliny δ -aminolevulinové. Hledají se ale i jiné senzibilizátory, které by mohly rozšířit nabídku a popřípadě umožnit terapeutovi výběr podle nemocných buněk, umístění poškozené tkáně apod.

Klíčová slova: fotodynamická terapie, fotosenzibilizátory.

COSMETIC ADVANTAGES OF TREATMENT WITH PHOTODYNAMIC ACTIVE SUBSTANCES OF CERTAIN DERMATOLOGICAL DISEASES

In about last 20 years there has been a growing effort in making use of photoactive substances that after incorporation in cells are able to use the energy of noninvasive radiation to liquidate diseased cells by programmed death, so called apoptosis. This effort begins to be effective by registration of a new medication containing methylaminolevulinate – a hydrophilic ester of δ -aminolevulinic acid. Other sensibilizers that could broaden the treatment choice and potentially enable a choice according diseased cells, location of involved tissue etc. are being explored.

Key words: photodynamic treatment, photosensibilizers.

Dermatol. praxi 2007; 1(3): 107–110

Úvod

První využití záření k terapii je známé již ze starého Egypta před 3000 lety. I ve staré Číně a Indii bylo ozařování sluncem součástí léčby některých onemocnění. Počátky moderní světloléčby ale spadají do devadesátých let 19. století, kdy Finsen úspěšně léčil kožní TBC zářením z obloukové uhlíkové lampy, imitující sluneční spektrum. V roce 1900 publikoval Tappeiner zkušenosti s užitím roztoku akridinu usmrcujícím nálevníky jen za přítomnosti záření (ve tmě byl akridin neúčinný). Proto předpokládal, že bude možné použít některé fluoreskující látky k léčbě pacientů s kožními chorobami. Spolu s Jesionkem zveřejnili zprávu o svých pokusech s léčbou spinaliomu, bazaliomu a kožní TBC lokálně aplikovaným eosinem a následným ozářením, a uvažovali o možnosti využití této léčby u dalších kožních chorob. V roce 1904 dokázali Tappeiner a Jødelbauer, že k dosažení léčebného efektu akridinu je nutná přítomnost kyslíku. Tappeiner pak začal pro ošetření afekcí fotoaktivní látkou s následným ozařováním za přítomnosti kyslíku užívat pojem „*fotodynamický efekt*“. V dermatologii se obdobného principu užívá u Goeckermannovy (senzibilizace dehtem – od roku 1925) resp. Ingrammovy (senzibilizace ditranolem – od roku 1937) metody k terapii psoriázy. Fotosenzibilizaci ale popsali již v roce 1874 Schulz a Baumstark u onemocnění, které nazvali pemphigus leprosus. Šlo o tehdy ještě nediagnostikovanou kongenitální porfyrii. Fotosenzibilizaci hematoporfyrinem prokázal

zál pokusem na sobě Meyer-Betz, když si i. v. aplikoval hematoporfyrin a následně se vystavil působení slunečních paprsků. Došlo u něj k fotosenzibilizaci, otoku celého těla a šokové reakci, která ho stála málem život (4, 8, 11).

Při zkoumání působení porfyrinů u porfyrinů zjistili Auler a Banzer již v roce 1942, že porfyriny vznikají přirozeně ve všech buňkách organismu. Ale jsou ve zvýšené míře vychytávány rychle se dělícími buňkami včetně buněk nádorových. Ty pak mají samy schopnost zvýšené tvorby porfyrinů. Na základě tohoto poznání záměrně injikovali zvířatům porfyriny a zjistili, že odpověď na ozáření takto ošetřených zvířat s nádory se lišila od reakce u zvířat bez nádorů.

Fotodynamická terapie (PDT)

Experimentální práce daly vznik jedné z alternativních léčebných metod především maligních nádorů a jiných kožních chorob, tzv. *fotodynamické terapie*. Po ozáření ložiska se selektivně nahromaděným fotosenzibilizátorem zářením o příslušné vlnové délce dochází k destrukci ložiska, na níž se účastní singletní kyslík a tzv. volné radikály. Singletní kyslík vzniká z molekulárního O_2 , přítomného ve tkáních, vlivem fotosezibilizátoru světlem uvedeného do energeticky bohatšího tripletního stavu. Fotosenzibilizátor se obvykle podává i. v., v poslední době je tendence podávat jej pouze lokálně vzhledem k dlouhotrvající senzitivitě (až 6 týdnů) (3).

Léčebný efekt PDT je závislý současně na hloubce průniku záření do tkání, přítomnosti dostatečného množství kyslíku a na místní koncentraci podaného fotosenzibilizátoru. Používané fotosenzibilizátory absorbují energii z oblasti vlnových délek kolem 380, 400 a 630 nm. Z těchto vlnových délek nejhlouběji do kůže proniká dlouhovlnné záření v oblasti kolem 630 nm. Nadbytečná energie po ozáření fotosenzibilizátoru, která není předána kyslíku, se z fotosenzibilizátoru uvolní. Pokud ozáříme takto ošetřené ložisko ultrafialovými paprsky, můžeme jeho fluorescenci, vzniklou na podkladě krátkodobého uvolňování absorbované energie, využít k diagnostickým účelům – lokalizaci maligního bujení (nádoru, metastáz). PDT je předmětem studia na řadě špičkových pracovištích ve světě.

Fotodynamická terapie v dermatologii

PDT je pro terapii některých kožních projevů velice výhodná. Léčba, je-li provedena pečlivě, je úspěšná a i když výsledná odpověď přichází pomaleji, má slušný kosmetický efekt. Při správném provedení PDT nedochází ani k jizvení, ani k jiným vedlejším účinkům. U dermatologů se jí začalo dostávat významnější pozornosti v roce 1984, kdy Tomio a spolupracovníci (8, 11, 12) použili k terapii kožních a subkutánních tumorů hematoporfyrin. Na základě těchto pozorování aplikovala řada autorů cíleně zvířatům s experimentálními tumory porfyriny. Fototo-

xická odpověď v nádorech takto ošetřených zvířat se lišila od reakce u zvířat kontrolních. Dosud bylo fotodynamické terapie použito při léčbě spinaliómu, bazaliómu, Kaposiho sarkómu, M. Bowen, ojedinělých ložisek T-lymfomů, kožních metastáz prsu, psoriázy, kožních papilomů a metastáz maligního melanomu u lidí. Do 24 hodin dochází v ozářené tkáni klinicky k edému, později k tvorbě puchýřků a nakonec k nekróze. Celý proces trvá několik týdnů. Nejcitlivěji reagují některé formy bazaliómu. Někdy je nutno proces opakovat, aby se dosáhlo úplné remise. Po podání fotosenzibilizátoru se podle jeho druhu tumor ozařuje za adekvátní dobu 3–72 hodin vhodným zdrojem záření, obvykle laserem nebo nekoherentním zářením s emisí kolem 630 nm (620–680 nm).

Fotosenzibilizující sloučeninu je možno podávat i lokálně – aplikovat pod okluzí ve formě masti nebo gelu. Pro klinické zkoušení bylo u nás povoleno lokální použití *meso-tetra-para-sulfonato-fenyl-porfínu* (TPPS₄) a δ -aminolevulové kyseliny (ALA). V poslední době je u nás registrován nový preparát obsahující methylaminolevulinát – hydrofilní ester kyseliny δ -aminolevulové. Pacienti tyto senzibilizátory dobře snášejí. Terapie byla úspěšná již při aplikaci TPPS₄ u pacientek s metastázami karcinomu prsu. U několika pacientek bylo dosaženo kompletní lokální remise. Tehdy bylo použito onkology asi 500 injekcí aniž lékaři pozorovali vedlejší účinky (10, 13).

Lokální aplikace má, ve srovnání s metodou, při níž je fotosenzibilizátor fotofrin II podáván i.v., výhodu v dosažení podstatně vyšších koncentrací fotosenzibilizátoru v maligní tkáni bez celkového zatížení organismu fotosenzitivitou. Kromě toho můžeme aplikaci opakovat v kratších intervalech než při i.v. podávání. Námitky vztahující se k neurotoxicitě TPPS₄ nebyly nikdy při lokální intralezionální aplikaci potvrzeny. TPPS₄ je látka, která přímo působí senzibilizaci. Její účinek je závislý na vstřebání do buňky. Nový preparát s methylaminolevulinátem má být vzhledem ke struktuře v podobě hydrofilního esteru vhodný zejména vzhledem ke snadnějšímu průniku do nemocných buněk, což se potvrdilo i při sledování jeho obsahu v buňkách pomocí speciální fluorescenční metody. V nemocných buňkách bylo jeho množství více než trojnásobné oproti buňkám zdravým (8, 15, 16, 17). Fotosenzibilizátory na bázi δ -aminolevulové kyseliny se pak v buňkách biochemicky mění v porfyriny, jež mají schopnost absorbovat energii o příslušné vlnové délce.

Provedení terapie

Příslušný senzibilizátor aplikujeme místně v krému nebo gelu (dle dostupné formy léku). Ložisko takto ošetřené překryjeme neprodyšnou folií a zakryjeme proti působení slunečního záření. Po uplynutí 3–24 hodin (dle senzibilizátoru a kožní afekce) zkontrolujeme přítomnost fotosenzibilizátoru v příslušném ložisku

ku UV lampou nebo pomocí reflexní fluorometrie. Po zjištění pozitivní červené fluorescence nemocného ložiska ozařujeme příslušnou plochu koherentními nebo nekoherentními paprsky o vlnové délce v rozsahu 620–680 nm (xenonová lampa, laser). Dávka záření se pohybuje od 70 do 300 J/cm² na jedno ložisko a jeden den. Při pálení v místě ozařování se provádí terapie ozařováním frakcionovaně nebo se zvětší vzdálenost kůže od ozařovacího zdroje. Tím klesne intenzita ozařování a doba ozařování se pak ale musí adekvátně prodloužit. Účinnost takto upraveného ozařování je podstatně menší.

Tak lze léčit bazaliomy, rozsáhlé verrucae vulgares plantae (mozaikovitě bradavice), Bowenovu dermatózu, keratoakantomy, solitární ložiska T-lymfomu a vyzkoušeli jsme tuto terapii i u metastáz maligního melanomu (1, 2, 9, 14, 17, 18).

Výsledky léčby se zdají být příznivé, i když nejsou, ostatně jako i jiné léčebné metody, všemocné a stoprocentní. Lze říci, že slušně na léčbu odpovídají bazaliomy mimo forem jizvivých a velkých nodózních, nebo již dříve ošetřovaných jinými způsoby, zejména kryoterapií, která přivodí živnutí tkáně, a tím nepřístupnost pro fotosenzibilizátor. Celkem slušně reagují na terapii verrucae vulgares plantares, které předtím nebylo možné odstranit. Zejména pro léčbu mozaikovitých veruk je terapie výhodná. Velmi dobré jsou výsledky u morbus Bowen a solitárních ložisek mycosis fungoides (T-lymfom) stejně jako u keratoakantomů, i když tam byl efekt patrný později asi až po 4 měsících od terapie.

Rozdílné výsledky bylo možné pozorovat u pacientek s metastázami maligního melanomu v různých stadiích vývoje nemoci (5, 6). U některých, s drobnějšími metastázami, se ošetřované hrboly zmenšovaly. U těch, které měly rozsáhlé projevy a velká ložiska, resp. velké metastatické hrboly, bylo možné spíše psychologicky zapůsobit na pacientky s výsledkem pozitivního ocenění nebolestivé terapeutické metody léčby. Léčba totiž přinesla jen parciální odpověď s nekrózou a odloučením části hrbolů (použití údaje od samotných pacientů, u kterých byla jak terapie PDT, tak kryoterapie provedena). Terapii lze uplatnit i u psoriatiků s ojedinělými a velmi úpornými ložisky psoriázy. Výsledky nejsou špatné, ale ani nezáračné. Řada autorů se shoduje na tom, že u psoriázy tato metoda není nijak výrazně úspěšná. Pochopitelně výsledek je u psoriázy jen přechodný.

Fotodynamická terapie se zdá být účinná metoda v terapii různých afekcí i maligních projevů nejen kůže, ale i dutých orgánů. Její předností a výhodou je to, že lze použít fotosenzibilizátory vyráběné za fyziologických podmínek samotným organismem (porfyriny). Tím jsou minimálně toxické vůči buňkám zdravého organismu. Výhodou je též jejich zvláštní afinita k rychle se dělícím a rostoucím buňkám no-

votvořené tkáně a aktivace zářením o vlnových délkách v rozmezí 620–680 nm, které mají schopnost pronikat do hlubších tkání až do hloubky 4 mm.

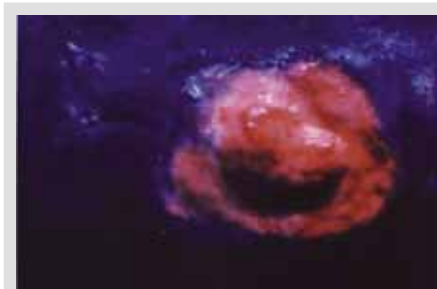
Podmínky jejího provedení a změny odehrávající se ve tkáni jsou zobrazeny názorně na přiložených obrázcích. Po vystavení léčeného ložiska se selektivně nahromaděným fotosenzibilizátorem záření o příslušné vlnové délce dochází k destrukci nádoru, na niž se účastní novotvořený singletní kyslík a další radikály. Fotosenzibilizátor se obvykle podává i.v. Léčebný efekt PDT je závislý současně na hloubce průniku záření do tkání a na místní koncentraci podaného fotosenzibilizátoru a jeho absorpční vlnové délce. Oboje je předmětem studia na řadě špičkových pracovišť ve světě.

Podstatou účinku PDT je oxidace singletním kyslíkem. K poškození dochází ve steroidních jádrech cholesterolu, nenasycených mastných kyselinách a v proteinech – tryptofanu, histidinu, cysteinu a methioninu. V subcelulárních strukturách byly popsány destrukce buněčné membrány, jádra mi-

Obrázek 1a. Amelanotický maligní melanom před léčbou



Obrázek 1b. Amelanotický maligní melanom – UV fluorescence po senzibilizaci



Obrázek 1c. Amelanotický maligní melanom 2 měsíce po terapii



krosomů i mitochondrií. Předpokládá se, že vlivem singletního O_2 dochází ke zničení mitochondriálně vázané cytochrom C oxidázy a succinyl dehydrogenázy. V elektronovém mikroskopu pozorovali někteří autoři po PDT in vitro roztrhané membrány a rozpadlé krysty mitochondrií. Zhoršená funkce mitochondrií je provázána snížením obsahu ATP (obrázek 1).

PDT významně působí vzniklým singletním O_2 na cévy, zvl. na buňky endotelu. Porušením endotelu dochází k aglomeraci destiček, tvorbě trombů, k porušení rovnováhy mezi produkcí prostacyklinu endoteliálními buňkami a v trombocytech vzniklém tromboxanu A_2 . Poškozením subendoteliální vrstvy dochází k uvolnění faktoru VIII z endoteliálních buněk, uvolnění tromboxanu a prostacyklinů. PDT léčbou bývá v tumoru postiženo i nevaskulární stroma a tvorba kolagenu. Velmi citlivé na fotodynamické působení jsou žírné buňky, uvolňující po ozáření histamin.

Jak z uvedeného vyplývá, je účinek PDT komplexní, což lze snadno vysvětlit mechanismem oxidace singletním kyslíkem. Jeho vlivem dochází vždy k poškození těch struktur, které mají největší afinitu pro fotoaktivní sloučeninu. Poškození jedné části buňky nebo tkáně vyvolá řetězovou reakci, která končí nekrotizací celého nádoru nebo té jeho části, k níž dosáhlo záření použitého zdroje světla. V poslední době se v literatuře stále více množí důkazy, že hynutí buněk po PDT je možné vysvětlit apoptózou tj. předem naprogramovanou smrtí. Při ní se uplatňuje úbytek cytochromu c, vedoucí k inhibici

ci respirace a k aktivaci faktoru 1 (APAF-1), dATP a prokaspázy 9. Kaspázy jako proteolytické enzymy pak degradují řadu proteinů podporujících normální přežití a funkce buněk (obrázek 2). Zvýšení účinku PDT je možné dosáhnout např. zvýšením koncentrace kyslíku ve tkáních v hyperbarické komoře.

Pokud se týká výsledků PDT použité u výše uvedených diagnóz, shodují se naše zkušenosti s jinými publikovanými pracemi. U maligního melanomu, jsou zkušenosti různých autorů dle literatury i osobních diskuzí na konferencích s jeho terapií rozdílné. Někteří nezaznamenali u ošetřovaných ložisek žádné změny, což považovali za pravděpodobný vliv melaninu, který podle jejich úvahy absorboval sám záření a nedovolil tak, aby se uplatnilo v buňkách s absorbovaným TPPS₄. Jiné ojedinělé publikace uváděly efekt v ozařovaných ložiscích, ale ten připisovaly tepelným změnám způsobeným vyzařováním a melaninem pohlcovaným paprskem.

Nelze tvrdit, že PDT je zázračnou terapií, kterou je možné použít k léčbě kožních nádorů a maligního melanomu. Lze se ale domnívat, že PDT je metoda, která může při vhodné aplikaci rozšířit škálu dosavadních terapeutických postupů. Její výhodou je selektivnost pokud se týká nádorových nebo rychle se dělících buněk, absorbujících větší množství fotosenzibilizátoru než okolní tkáň, což potvrdilo měření reflexní fluorimetrie. Měřené hodnoty přítomnosti fotosenzibilizátoru byly vždy minimálně 2x vyšší. To umožňuje selektivně ozářit pouze nemocné buňky. Další výhodou se zdají být subjektivní obtíže. Pacienti neudávají v průběhu nebo po výkonu tak výrazné nepříjemné potíže jako u jiných léčebných destruktivních metod (kryoterapie bývá silně bolestivá). I když i u této metody někteří vnímavější jedinci subjektivní potíže (pálení a bolestivost) při ozařování uvádějí. Pokud se týká ev. aplikace PDT u metastáz maligního melanomu, je třeba dalším sledováním působení této pacienta nezatěžující metody naše znalosti rozšířit.

Závěr

Rozhodně nelze tvrdit, že PDT je jedinou terapií, kterou je možné použít k léčbě kožních ložisek, když v tomto směru jsou jiné dostupné a mnohaletou praxí ověřené metody. Přesto je však možné PDT metodu považovat za další vhodnou formu léčení a rozšířit tak

Obrázek 3a. Bradavice před terapií



Obrázek 3b. UV fluorescence



Obrázek 2a. Basaliom před terapií



Obrázek 2b. Basaliom po terapii



škálu dosavadních terapeutických postupů. Její výhodou je selektivnost pokud se týká nádorových buněk či rychle se dělících buněk, absorbujících větší množství senzibilizátoru než okolí. To umožňuje zasáhnout pouze buňky nemocné. Zejména u bazaliomů, kde často dochází k recidivám ze zbytků chirurgickým výkonem nezastižených buněk, je tato terapie výhodná. Navíc pacienti nemají nepříjemné potíže jako u některých jiných léčebných metod (např. kryoterapie – silná bolestivost). Nezdá se nám nemožné v některých vhodných případech tuto terapii využít jako doplňující. Ne nepodstatnou výhodou je poměrně dobrý kosmetický efekt metody. Nevýhodou je zdoluhavé očekávání výsledku, který se dostaví po několika týdnech i měsících.

MUDr. Milena Jirásková, CSc.

Dermatovenerologická klinika I. LF UK a VFN
U nemocnice 2, 128 08 Praha 2
e-mail: jiraskom@post.cz

Literatura

1. Bernet A, Solver A, Warbe T. Skin scrape cytology in the dg. of nodular basale cell ca for treatment by PDT. Acta Dermato-Venerolog. 79,1999; 2: 147–149.
2. Bretschko E, Szeimies RM, Landthaler M, Lee G. Topical 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy of basal cell carcinoma. Evaluation of stratum corneum permeability in vitro. Journal of Controlled Release 1996; 42: 203–208.
3. Calzavara-Pinton P, Szeimies RM, Ortel B. Photodynamic therapy and Fluorescence diagnosis in Dermatology. Elsevier 2001: 372.
4. Fritsch C, Goerz G, Ruzicka T. Photodynamic Therapy in Dermatology. Arch. Dermatol. 1998; 134: 207–214.
5. Jirásková M, Vosmik F, Lapeš M, Jirsa M, Stádník, B. Experiences with Local Photodynamic Therapy with TPPS₄ and Non-coherent Light. Sborník Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik München 22.–24. 10. 1997.
6. Jirásková M, Jirásek L, Štokr J, Vosmik F, Jirsa M. Fotodynamická diagnostika a terapie v dermatologii. Zkušenosti s aplikací TPPS₄ u některých kožních afekcí. Časopis lékařů českých 142, 2003; 8: 493–499.
7. Kacerovská D, Pizinger K, Resl V, Cetkovská P, Jirsa M, Šmíd F. Srovnání účinnosti dvou fotosenzibilizátorů ve fotodynamické terapii kožních nádorů. Čes.-slov. Derm. 81, 2006; 3: 148–152.

8. Kalka K, Merk H, Mukhtar H. Photodynamic therapy in dermatology. *J. Am. Acad. Derm.* 2000; 42: 389–413
9. Karrer S, Szeimies RM, Abels C, Landthaler M. The Use of Photodynamic Therapy for Skin Cancer. *Onkologie* 1998; 21: 20–27.
10. Khan SA, Dougherty TJ, Mang TS. An evaluation of photodynamic therapy in the management of cutaneous metastases of breast cancer. *Eur. J. Cancer.* 1993; 294, 29A: 1986–1990.
11. Krutmann J, Hönigsmann H. (Hrsg.). *Handbuch der dermatologischen Phototherapie und Photodiagnostik.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1997: 407.
12. Kurwa HA, Barlow RJ. The role of PDT in dermatology. *Clin.Exp. Dermatol.* 1999; 24(3): 143–148.
13. Lapeš M, Petera J, Jirsa M. Photodynamic therapy of cutaneous metastases of breast cancer after local application of meso-tetra-(para-sulphophenyl)-porphyrin (TPPS₄). *Photochem. Photobiol* 1996; 36: 205–207.
14. Morton CA, Whitehurst C, Moseley H, McColl HM, Moore JV, MacKie RM, Path FRCP. Photodynamic therapy for Large or Multiple Patches of Bowen Disease and Basal Cell Carcinoma. *Arch Dermatol.* 2001; 137: 319–324.
15. Soler et al. PDT by δ -ALA. *Acta dermat. Venereol* 1999; 79(3): 204–206.
16. Stables GI. Photodynamic Therapy in dermatology. *J.Dermat. Treatment* 10, 1999; 3: 213–219.
17. Szeimies RM, Calzavara-Pinton PG, Karrer LS, Ortel B, Landthaler M. Topical Photodynamic Therapy in Dermatology. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 1996; 36: 213–219.
18. Vaicová M, Ettler K. Naše klinické zkušenosti s použitím fotodynamické terapie u pacientů s bazaliomem a morbus Bowen (srovnání účinnosti dvou fotosenzibilizátorů). *Čes.-slov. Derm.* 2004; 70(6): 200–204.
19. Vančíková Z. Principles of the Photodynamic Therapy and its Impact on the Immune System. *Sborník Lékařský* 1998; 99(1): 1–11.
20. Zima T, Jirásková M, Jirsa M, Jirsa Mjr., Stádník B, Hradová V. Skin localization of Photosensitization in Rats. *Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik München* 22.–24. 10. 1997.