

ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРИ ДЛЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ: АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

Терещенко С. В., Денисов М. О., Національний технічний університет України
“Київський політехнічний інститут”, м. Київ, Україна

У роботі проведено аналітичний огляд сучасних фотосенсибілізаторів (ФС) для фотодинамічної терапії (ФДТ). Розглянуто основні параметри ФС, в тому числі такі аспекти, як фотоефективність та пухлиноспецифічність ФС. Підкреслено, що головним фактором, який впливає на знищення злоякісних новоутворень є синглетний кисень, але при цьому необхідно звертати увагу на специфіку дії кожного фотосенсибілізатору (ФС) та його гістоспецифічність

Вступ

Певні хімічні речовини під дією світла можуть викликати біологічні реакції в живому організмі. Експерименти по використанню барвників і світла для руйнування мікроорганізмів, проведені ще на початку 20-го століття, лягли в основу методу фотодинамічної терапії (ФДТ). Основна мета всіх проведених у цій області досліджень – знищення злоякісних тканин без збитку для здорових.

Дуже багато в цьому процесі залежить від фотосенсибілізатору (ФС). В зв'язку з цим у всьому світі здійснюється інтенсивна робота по пошуку більш ефективних ФС. В якості фотосенсибілізаторів використовуються та знаходяться на різних стадіях випробовань різноманітні хімічні сполуки, серед яких порфірини, хлорини, фталоціаніни, вертепорфіни та багато інших.

Широкий спектр існуючих та перспективних типів фотосенсибілізаторів робить нагальною необхідність порівняння їх основних параметрів, що безпосередньо впливають на процес фотодинамічної деструкції злоякісних новоутворень через визначення необхідної фотодинамічної дози, а саме: довжини хвилі максимуму поглинання ФС, коефіцієнта екстинкції, виходу синглетнего кисню, дози препарату, кривої введення/виведення ФС, часу повторення, обезбарвлення.

Метою аналізу та систематизації фотосенсибілізаторів має бути застосування його результатів на практиці – при створенні бази даних існуючих ФС, визначенні вимог до фотосенсибілізаторів наступних поколінь, при вдосконаленні методик лікування онкологічних уражень, створенні більш гнучких та ефективних клінічних систем ФДТ.

Основні параметри фотосенсибілізаторів

Основними параметрами фотосенсибілізаторів, які впливають на визначення методики процесу фотодинамічної терапії (рис. 1) є:

- Діапазон довжин хвиль активації ФС ($\Delta\lambda$, нм).
Бажано, щоби цей параметр співпадав з максимумом поглинальної здатності фотосенсибілізатора. Зазначений параметр є чи не основним параметром ФС для побудови всієї системи ФДТ в цілому. На його основі

обирається існуюче або розроблюється новітнє джерело випромінювання та система транспортування. Також цей параметр визначає глибину проникнення світла у біотканину, а цим самим область застосування ФДТ. На даний момент діапазон довжин хвиль активації існуючих фотосенсибілізаторів варіюється від 550 до 750 нм.

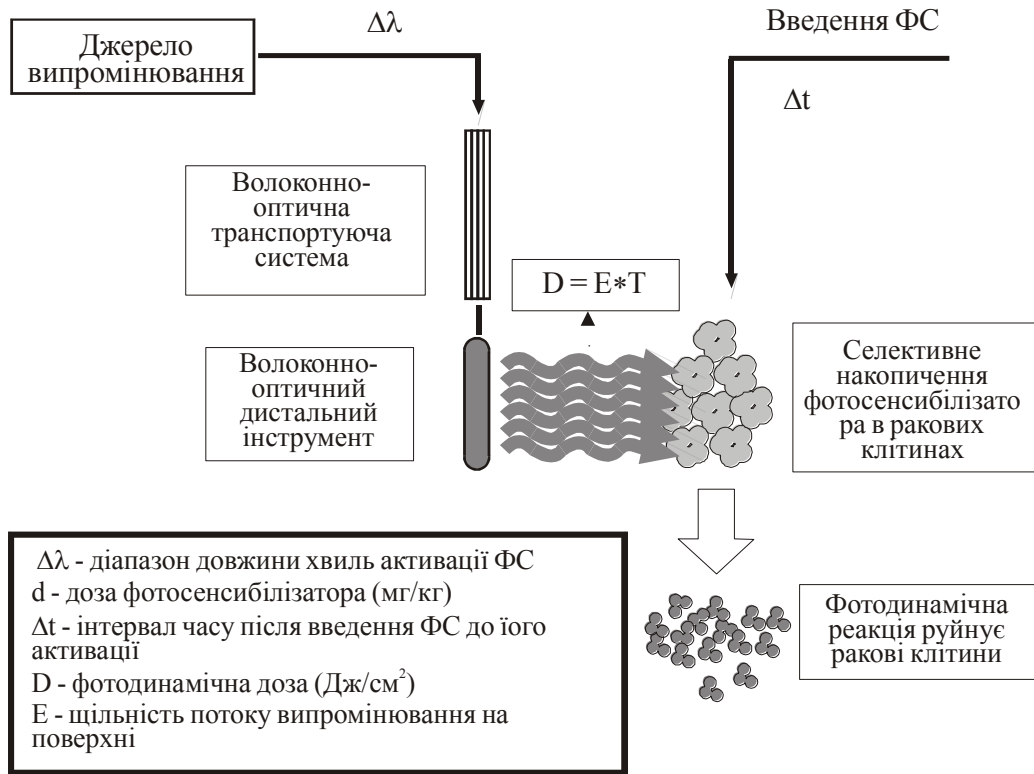


Рисунок 1 – Параметри процесу фотодинамічної терапії

- Коефіцієнт екстинкції (e, cm^{-1}).
Від коефіцієнту екстинкції на довжині хвилі максимуму поглинання ФС залежить доза світла, яку отримує пацієнт. При більшому коефіцієнті доза світла зменшується за рівності інших параметрів. Цей параметр варіюється від декількох тисяч до декількох десятків тисяч в залежності від типу ФС.
- Вихід синглетного кисню.
Під дією світла ФС видробляє синглетний кисень, який є основним агентом, що знищує ракові клітини. Тому вихід синглетного кисню характеризує “активність” ФС і є одним з найважливіших параметрів. Значення цього параметру лежать в межах від 0.1 до 0.7.
- Доза ($d, \text{mg/kg}$ маси тіла).
Введена доза ФС залежить від багатьох чинників. Мінімальна – при якій ще спостерігається фотодинамічний ефект, максимально допустима визначає межу, за якою ліки перетворюються на яд. При виборі дози керуються сталим загальноприйнятим діапазоном для певного ФС та методом його введення до організму пацієнта (інтравенозно, перорально, тощо). Наприклад, для Фотифрина $d=2,5-5 \text{mg/kg}$, для Фоскана – $0.1-0.15 \text{mg/kg}$.

- Крива введення/виведення та часова витримка (Δt , годин).
Це крива залежності концентрації ФС від часу. Допомагає визначити більш точно фотодинамічну дозу, яку отримує пацієнт, а також можливості повторюваності процедури ФДТ. Швидкість виведення ФС з нормальної тканини більша від швидкості виведення з пухлини. Тому після введення робиться витримка часу (від 1 години до 4 діб в залежності від типу ФС), для виведення фотосенсибілізатору з нормальних біотканин та досягнення ним достатньої для ФДТ концентрації в пухлині. Період, через який можна повторювати процедуру коливається в межах від доби до місяця.
- Щільність потоку випромінювання на поверхні біотканини (E , мВт/см²).
Значення цього параметру залежить від типу ФС, що використовується, оптичних властивостей біотканин, глибини розташування злоякісного новоутворення. Щільність потоку випромінювання звичайно лежить в межах від 50 до 200 мВт/см².
- Тривалість опромінювання, або фотодинамічна експозиція (T).
Зверху значення експозиції, втім, як і щільності потоку випромінювання, обмежуються властивостями біооб'єкта, а саме границею між процесами ФДТ і гіпертермією. Існують методики поєднання двох терапій, але зазвичай для гіпертермії в цих випадках використовується додаткове джерело випромінювання інфрачервоного діапазону. Значення експозиції при ФДТ – від 5 до 30 хв.
- Обезбарвлення.
Під дією випромінювання фотосенсибілізатор обезбарвлюється, тобто втрачає свої характерні властивості. Час обезбарвлення (τ_g) збільшується при збільшенні відстані від джерела випромінювання та зменшенні потоку, при цьому він пропорційний коефіцієнту зворотного розсіяння/відбиття. На глибинних тканинах він наближується до нескінченості. Відповідно найбільше обезбарвлення має місце для біотканин, розташованих найближче до оптичного дистального інструменту. При цьому коефіцієнт обезбарвлення постійний для кожного ФС, але дуже змінюється від одного ФС до іншого. Наприклад, для монохлорида аспарагіна е6 (MACE) 40 Дж/см², а для Фотофрина 2 – 75 Дж/см² [1].
- Фотоефективність та пухлиноспецифічність.
При оцінці фотоефективності ФС найбільш розповсюдженими є дві моделі. Перша цілком заснована на теоретичних представленнях про механізм фотодинамічної дії та полягає у вимірюванні квантового виходу СК, що вважається основним уражуючим агентом при ФДТ. Інший метод являє собою фотодинамічну дію на клітини культури тканин. Ці методи мають істотні недоліки. Уражаюча дія ФС не визначається рівнем генерації СК: істотну роль також має вплив супероксиду при ФДТ, існує прямий зв'язок між часом життя триплетного стану ФС і ФД-ефектом, а при використанні мероціаніну-540 ураження ФС взагалі не пов'язане з СК, а обумовлено фотоізомеризацією ліпідних зв'язків [2, 3].

Іншим важливим критерієм вибору ФС є їхня пухлиноспецифічність. Це знаходить підтвердження в клінічних результатах, а також в дослідженнях *in vitro*, визначається розходженням в ефективності ФДТ для пухлин різних гістогенетичних груп [3]. Також має місце відмінність в ефективності дії різних ФС на злоякісні новоутворення однієї гістогенетичної групи та одного і того ж фотосенсибілізатору при дії на різні типи пухлин. На думку авторів необхідним є створення класифікації – за застосуванням ФС до певних типів онкологічних уражень та оцінка їх ефективності.

Основні сучасні фотосенсибілізатори

А) Порфірини

Порфірини були історично першими ФС, що використовувалися для фотодинамічної терапії. Яскравим представником цього сімейства є Фотофрин, що є комплексною сумішшю та має пік поглинальної здатності на довжині хвилі 630 нм. Оптичне випромінювання зазначеної довжини хвилі проникає в біотканини усього лише на глибину в декілька міліметрів, роблячи Фотофрин незручним для лікування пухлин глибокої локалізації (у підслизовій). Опромінювання звичайно виконується через 48 годин після інтравенозного введення Фотофрину, коли акумулювання ФС у пухлинній тканині вважається оптимальним. В залежності від особливостей клінічної процедури, на протязі цього терміну пацієнту може бути дозволено знаходитися дома, уникаючи яскравого світла. Післяопераційна шкірна фоточутливість може тривати на протязі декількох тижнів, і пацієнти мають попереджатися щодо необхідності уникнення яскравого світла в цей період. Наразі Фотофрин, що має офіційний дозвіл на клінічне застосування, використовується для лікування широкого спектру онкологічних уражень – раку легенів, стравоходу, шлунка, товстої кишки, раку грудей та цервікального раку.

В останні роки ведуться розробки по створенню ФС “другого покоління”, що містять модифіковані порфірини, хлорини, бактеріохлорини, фталоціаніни, нафталоціаніни, феофорбіди і пурпурини.

Б) Хлорини і бактеріохлорини

Хлоринам, завдяки їх молекулярній будові, властиве інтенсивне поглинання на довжинах хвиль більше 650 нм. У бактеріохлоринах максимум поглинання розташований ще далі (понад 740 нм). На сьогодні хлорини та бактеріохлорини, котрі мають високі оптичні властивості щодо проникнення у біотканину, є фотосенсибілізаторами, що найбільш активно розроблюються у всьому світі. Ці сполуки обіцяють стати новими препаратами для ФДТ, хоча їхня стабільність повторення є досить сумнівною.

Проста натуральна сполука М-ТГФХ відноситься до другого покоління ФС, розроблених для клінічного використання (Фоскан і Темопорфірин). Переважно М-ТГФХ є більш «яскравим» у порівнянні з Фотофрином щодо фотодинамічної дози (тобто нижча доза ФС і коротший час опромінювання необхідні для досягнення однакових з Фотофрином результатів). Збудження цього ФС відбувається на більш довгій довжині хвилі і молярний коефіцієнт поглинання

для М-ТГФХ значно вище, ніж у Фотофрина ($22400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ на 652 nm і $1170 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ на 630 nm , відповідно). Крім того, М-ТГФХ генерує більш цитотоксичні кисневі складові і є більш селективним щодо його дії на пухлини і нормальну тканину, відповідно.

Перспективний ФС розроблено нещодавно в Біларусі – фотолон (хлорин Е6) [4]. Діапазон хвиль його активації $660\text{-}670 \text{ nm}$, максимальна кількість препарату в пухлині досягається через 3 години після введення, а через 24 години він майже повністю виводиться з організму. Фотолон використовується для лікування раку шкіри, меланоми, раку молочної залози та їх внутришкірних метастаз, раку слизової оболонки (вульви, стравоходу, прямої кишки тощо). Доза ФС (при внутрішньовенному введенні) $2,5\text{-}3,0 \text{ mg/kg}$, а фотодинамічна доза становить $100\text{-}600 \text{ Дж/ cm}^2$.

В) Фталоціаніни

Фталоціаніни – високо зафарбовані сполуки, що знайшли широке комерційне застосування. Нещодавно фталоціаніни були розроблені як ФС препарати для ФДТ. Остаточний продукт є типовою сумішшю моно-, ді-, три- і тетрасульфатних дериватів.

Особливість структури цих сполук призводить до того, що спектр їх поглинання зміщується в довгі хвилі, що дозволяє використовувати довгохвильове випромінювання (звичайно близько 680 nm) зі зростанням глибини його проникнення в біотканину у порівнянні з випромінюванням, що використовується для збудження порфіринів (630 nm).

Застосування – рак шкіри, стравоходу, шлунка, товстої кишки, легенів, грудей.

Г) 5-амінолевулінова кислота (ALA)

Альтернативою для введення екзогенних фотосенсибілізаторів є стимулювання синтезу в клітині ендогенних ФС. Тобто введення ALA стимулює вироблення в організмі власного ФС – PpIX. ALA – індуковані PpIX мають кілька переваг у порівнянні з Фотофрином для використання у ФДТ. Особливо оптимальні терапевтичні умови досягаються через 2-4 год після введення ALA і також швидко системне виведення ALA-індукованого PpIX на протязі 24 годин. Це не тільки ліквідує обговорену шкірну фоточутливість, але також дозволяє повторювати лікування кожні 48 годин без ризику ушкодження нормальної тканини. PpIX швидко виводиться фотознебарвленням, що ускладнює визначення дози світла ФДТ-ефекту. Хоча ALA-індуковані PpIX ФС мають переваги перед гематопорфірин дериватом (ГПД) і Фотофрином, вони також збуджуються на 630 nm і тому не мають переваг у глибині проникнення. Використовується ALA (Левулан, Аласенс) при захворюваннях шкіри, для лікування сальних залоз, а також в гінекології (цервікальний передрак).

Д) Інші потенційні ФС

Існують інші синтетичні ФС (пурпурини, порфіцени, феофорбіди і вердини), що були розроблені з поліпшенням фотофізичних властивостей чи пухлиноселективності. Пурпурини є класичними макроциклами порфірина зі

смугою поглинання 630-715 нм, типізовані олов'яні порфіціени мають довжину хвилі активації нижче, ніж інші нові ФС (635 нм), але вихід флуоресценції вище, ніж ГПД, що робить їх потенційно більш ефективними ніж гематопорфірин деріват.

Обговорення результатів

На підставі проведеного розгляду ФС були розбиті на групи за своєю хімічною будовою (табл.1), а саме – порфірини, хлорини та бактеріохлорини, фталоціаніни, амінолевулінові кислоти, вертепорфіни та інші. Найпоширеніші ФС – порфірини, але в порівнянні з ФС другого покоління з покращеними характеристиками (наприклад хлоринами), вони мають багато недоліків – низька ефективність, погана повторюваність (складна сполука), висока токсичність, тощо. Деякі переваги перед іншими мають ендогенні ФС (5-ALA), які не вводяться ззовні, а при певних умовах виробляються самим організмом. Також великим плюсом є висока швидкість їх виведення з організму. Недоліком є незначна довжина хвилі піку поглинання і невисока ефективність в порівнянні, наприклад, з фталціанінами. Хоча і перші, і другі є сполуками складними, що породжує сумніви щодо повторюваності та стабільності результату фотодинамічної дії. Збільшення поглинання в червоній області спектру та зростання молярного коефіцієнту поглинання є основними пріоритетами при розробці фотосенсибілізаторів нових поколінь, що дозволить збільшити глибину проникнення світла до біотканин і, відповідно, більш ефективно здійснювати деструкцію глибинних пухлин. Пухлиноспецифічність існуючих ФС узагальнена в табл. 2.

Потрібно зазначити, що в принципі кожний ФС має свої переваги та недоліки. Зараз не існує для ФДТ одного безперечного лідера серед них, тому є актуальним створення загальної бази даних ФС.

Однак властивості ФС (агрегатний стан, іонний заряд, розчинність, частково у воді і ліпідах) також важливі і будуть впливати на селективність, період повторюваності процедури.

На підставі аналізу існуючих фотосенсибілізаторів можна сформулювати основні вимоги до ФС, що призначені для застосування в фотодинамічній терапії:

- однорідний хімічний склад (проста сполука), доступність отримання чи синтезу;
- сильне поглинання у спектральному діапазоні, де біологічні тканини мають найбільше пропускання (червоний та ближній ІЧ діапазони);
- високий квантовий вихід генерації синглетного кисню в умовах *in vivo*;
- гарні здібності до генерації цитотоксичних різновидів радикалів;
- висока селективність накопичення у тканинах зляксісних новоутворень в порівнянні з нормальною тканиною;
- висока швидкість виведення ФС з нормальних біотканин;
- низька світлова та темнова токсичність в терапевтичних дозах
- достатня стабільність при світловій дії та зберіганні.

Таблиця 1 – Основні фотосенсибілізатори, що використовуються у фотодинамічній терапії

Група	ФС	Виробник ФС	Методика	Довжина хвилі, нм
Порфірини	Фотофрин	Канада	ін'єкція, $d = 2$ мг/кг, $D = 60-90$ Дж/см ² $T = 15-30$ хв.	630
	Фотогем	Росія	ін'єкція, $d = 1.0-3.5$ мг/кг, $D = 200$ Дж/см ² $\Delta t = 48-27$ г.	630
	Фоскан	Великобританія	ін'єкція, $d = 0.1-0.15$ мг/кг, $\Delta t = 72-96$ г. $E = 100$ мВт/см ² , $D = 5-20$ Дж/см ² $T = 1.5$ хв.	652
Хлорини та бактеріохлорини	Фотолайф	Росія	intraperitoneum $d = 40$ мг/кг intravenous $d = 20$ мг/кг. $D = 300$ Дж/см ²	663
	Фотолон	Білорусь	ін'єкція, $d = 2,5-3$ мг/кг $D = 100-600$ Дж/см ²	670
	Фотосенс	Росія	ін'єкція, $d = 0.5-2.0$ мг/кг, $D = 100-300$ Дж/см ² $\Delta t = 48-27$ г., $E = 50-100$ мВт/см ² $P = 150-400$ мВт, $T = 10-30$ хв.	672
Амінолевулінова кислота	Левулан	США	$T = 10-30$ хв., $D = 70-150$ Дж/см ² $E = 50-80$ мВт/см ² $T = 1.5$ г.	630
	Аласенс	Росія		630
	5-ALA	Німеччина		630
Вертепорфіни	Візудайн	Канада	ін'єкція, $\Delta t = 1-3$ г., $e = 34000$ М ⁻¹ см ⁻¹	690
	Гіперфлав	Україна		595
Інші	Антрін	США	ін'єкція, $\Delta t = 24$ г.	732
	Пурлігін	США	$d = 0.8$ мг/кг, $D = 150-200$ Дж/см ² , $\Delta t = 24-72$ г.	664

d – доза ФС, що вводиться, мг/кг, D – доза світла чи ФД доза, Дж/см² (W – енергетична експозиція), Δt – час, що витримується перед опроміненням, год., E – енергетична освітленість, T – час опромінювання (експозиція), хв., e – коефіцієнт екстинкції, см⁻¹, Δl – довжина хвилі випромінювання, нм

Таблиця 2 - Застосування ФС

Група	ФС	Застосування
Порфірини	Фотофрин	рак легенів, рак стравоходу, рак грудей, шлунка, товстої кишки, церві кальний рак.
	Фотогем	
Хлорини та бактеріохлорини	Фоскан	Рак ротової порожнини, гортані, голови, шиї, бронхів, стравоходу, легенів та простати
	Фотолайф	
	Фотолон	
Фталоціаніни	Фотосенс	Рак шкіри, стравоходу, шлунка, товстої кишки, легенів, грудей
Амінолевулінова кислота	Левулан	Захворювання шкіри. лікування сальних залоз, видалення волосся, гінекологія - кровотечі, цервікальний передрак

Висновки

Даний аналіз фотосенсибілізаторів, що використовуються для фотодинамічної терапії, може бути корисним для дослідників, розробників апаратури ФДТ, і лікарів. Врахування вище наведених особливостей ФС може сприяти визначенню оптимальної фотодинамічної дози та допоможе уникнути помилок при перенесенні готових методик на інші фотосенсибілізатори, а також при застосуванні ФДТ для різних типів пухлин, що є предметом для подальших досліджень з цього напрямку.

Література

1. L.O. Svaasand, C.J. Gomer and E. Morinelly. On the physical rationale of photodynamic therapy / Future Directions and Applications in Photodynamic Therapy, *SPIE IS 6*, 1990. - 1990. -P. 233-248.
2. Spikes J.D. Photochemotherapy: Molecular and cellular processes involved // *Proc. Soc. Photo-Opt. Instrum. Eng.* -1988, № 997. -P. 92-100
3. Takemura T., Ohta N., Narajima S., Sakatta I. Critical importance of the triplet lifetime of photosensitizer in PDT of tumor // *Photochem. Photobiol.* –1989. -Vol.50(3). -P.339-344.
4. http://www.belmedpreparaty.com/product/anot.php?anat_id=187

<p>Терещенко С.В., Денисов Н.А. Фотосенсибілізатори для фотодинамічної терапії: аналітичний огляд</p> <p>В роботі проведено аналітичний огляд сучасних фотосенсибілізаторів (ФС) для фотодинамічної терапії (ФДТ). Розглянуті основні параметри ФС, в тому числі такі аспекти як фотоелектричність і опухолеспецифічність ФС. Основним фактором, який впливає на знищення злоякісних новоутворень є синглетний кисень, але при цьому необхідно звертати увагу на специфіку дії кожного фотосенсибілізатора (ФС) і його гистоспецифічність.</p>	<p>Tereschenko S.V., Denisov N.A. Photosensitizers for photodynamic therapy: an analytical review</p> <p>The article contains an analytical review of modern photosensitizers for photodynamic therapy (PDT). The basic parameters and characteristics of photosensitizers including its photonic efficacy and specificity for tumor destruction are observed and discussed. It's emphasized the singlet oxygen is a main factor affected on malignant tumor destruction. Additionally it is necessary to concentrate attention on photosensitizer's operating peculiarity and its histological specificity.</p>
---	---

*Надійшло до редакції
25 травня 2004 року*