

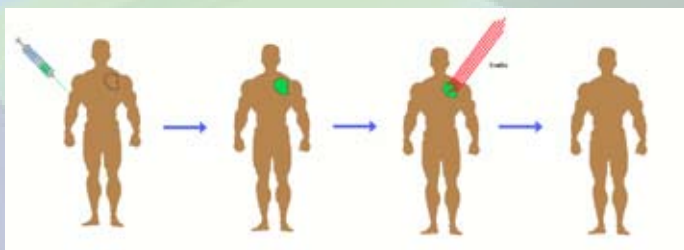
SVETLOM PROTI RAKOVINE

Počuli ste už o fotodynamickej terapii? Ak patríte k bežnej populácii, tak pravdepodobne nie. A o chemoterapii či rádioterapii? Takmer s istotou by ste na túto otázku prikývli. Pritom rovnako ako chemoterapia či rádioterapia sa aj fotodynamická terapia zameriava hlavne na boj s rakovinou. Dá sa však použiť aj na liečbu iných ochorení (napr. akné). Ide o veľmi prepracovanú metódu, ktorá v mnohých ohľadoch dokonca prevyšuje klasické liečebné postupy.



Počas puberty sa takmer každý mladý človek stretol s akné. Nezávisle od jeho národnosti, či od toho, do akej etnickej skupiny patrí. Tento problém sa dá relatívne rýchlo a bezbolestne prekonať pomocou fotodynamickej terapie. Na obrázku je pacientka pred a po aplikácii tejto terapie. Akné úplne zmizlo.

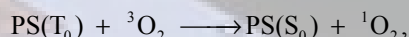
Zoznámme sa najprv so základným a čo najviac schematickým konceptom fotodynamickej terapie: Na začiatku sa dopraví do tela látka so špeciálnymi vlastnosťami, tzv. *fotosenzibilizátor*. Táto látka má jednu veľmi cennú vlastnosť – selektívnu distribúciu. Jednoducho povedané – fotosenzibilizátor má tendenciu hromadiť sa podstatne viac v nádore ako v okolitom zdravom tkanive. Po tom, ako bude koncentrácia fotosenzibilizátora v nádore podstatne vyššia ako jeho koncentrácia v zdravom tkanive, sa k slovu dostáva samotná fotodynamická akcia: Nádor sa ožiarí svetlom vhodnej vlnovej dĺžky. Časť svetla fotosenzibilizátor v nádore absorbuje. Potom sa dostane do energeticky vyššieho, tzv. tripletného stavu. Fotosenzibilizátor má v tomto stave značne odlišné vlastnosti v porovnaní s jeho základným stavom – je reaktívnejší, má tendenciu priamo chemicky reagovať s okolitými molekulami, čím ich priamo poškodzuje. Alebo spúšťa kaskádu chemických reakcií, výsledkom čoho sú škodlivé voľné radikály. Pochopiteľne, ani tie na bunku pozitívne neovplyvňujú. Práve popísaný mechanizmus sa nazýva *fotoefekt typu I*.



Schematické znázornenie priebehu fotodynamickej terapie

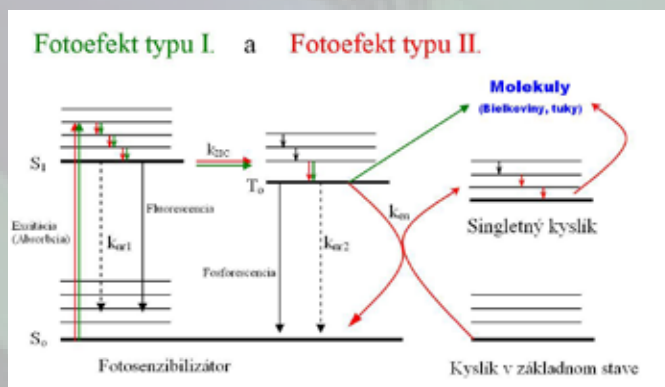
Pri fotodynamickej terapii existuje aj *fotoefekt typu II*, ktorý vo väčšine prípadov prevažuje. Majme fotosenzibilizátor vo vzbudenom tripletnom stave. Ten môže okrem chemickej reakcie s okolitými molekulami preniesť svoju excitačnú energiu na molekulu kyslíka. Po transfere energie z fotosenzibilizátora na kyslík sa kyslík dostane do energeticky vyššieho, tzv. singlet-

ného stavu, zatiaľ čo fotosenzibilizátor sa vráti do základného stavu:



kde $PS(S_0)$ je fotosenzibilizátor v základnom, energeticky najnižšom stave, $PS(T_0)$ je fotosenzibilizátor v energeticky vyššom, tripletnom stave, 3O_2 je kyslík v základnom stave („bežný“ kyslík) a 1O_2 je kyslík v singletnom stave.

Kyslík v singletnom stave sa zvykne nazývať *singletný kyslík*. Prečo je singletný kyslík taký zaujímavý, resp. prínosný pre fotodynamickú terapiu? Už samotný kyslík v základnom stave (kyslík, ktorý dýchame) je dosť reaktívny. To je aj dôvod, prečo sa v prírode nachádza také veľké množstvo rôznych zlúčenín s kyslíkom. No a singletný kyslík je dokonca ešte o niekoľko rádov reaktívnejší. Ide o extrémne reaktívnu molekulu. Práve táto vlastnosť ho robí vo fotodynamickej terapii nezastupiteľným. Schematické znázornenie procesov prebiehajúcich pri fotoefekte typu I (zelené šípky) a typu II. (červené šípky) je uvedené na ďalšom obrázku. Vodorovné čiary zodpovedajú energetickým stavom molekuly. Čím je vodorovná čiara vyššie, tým vyšší energetický stav molekuly predstavuje. Fotosenzibilizátor absorbuje svetlo, čo je znázornené dlhou zelenou a červenou zvislou šípkou smerujúcou nahor. Tým sa dostane do energeticky vyššieho singletného stavu. Molekula fotosenzibilizátora odovzdá časť svojej energie vo forme tepla okolitým molekulám (zelené a červené krátke vertikálne šípky smerujúce nadol). Prejde do rovnovážneho singletného stavu S_1 . Z neho sa dostane do energeticky nižšie ležiaceho tripletného stavu T_0 (zelená a červená vodorovná šípka smerujúca doprava spolu s krátkou zvislou zelenou a červenou šípkou smerujúcou nadol). V stave T_0 môže pri interakciách s okolitými molekulami vytvárať toxické voľné radikály, ktoré potom poškadzujú nádorovú bunku (zelená šípka smerujúca doprava nahor). Druhou alternatívou je preniesť excitačnú energiu na kyslík, z ktorého vznikne vysoko reaktívny singletný kyslík. Ten zoxiduje dôležité molekuly v svojom okolí, čím spôsobí zánik tumoru (červené šípky).



Schematické znázornenie procesov prebiehajúcich pri fotoefekte typu I a typu II.

Po tom, ako sa v nádore vytvorí dostatok singletného kyslíka, má rakovinová bunka problém. Toto veľmi mocné oxidačné činidlo „spáli“ v podstate všetko, čo mu stojí v ceste. Či už ide o enzýmy skladajúce sa z aminokyselín, tuky v bunkových membránach, alebo dokonca DNA. Viac či menej ich nenávratne poškodí a silne zoxidovaná bunka nie je schopná ďalej existovať. Ako je ale možné, že podaná látka generujúca singletný kyslík má schopnosť hromadiť sa prevažne v nádore?

Ako fotosenzibilizátor sa používa široké spektrum rôznych molekúl. Fotosenzibilizátor by mal mať niekoľko základných vlastností. V tele by nemal byť toxický, až kým na neho nesvietime svetlom požadovanej vlnovej dĺžky. Inak povedané, kým je v „tme“, je neškodný. Všetok fotosenzibilizátor by sa mal nahromadiť hlavne v nádore, jeho koncentrácia v okolitom zdravom tkanive by mala byť nulová. Mal by mať vysokú účinnosť pri generovaní singletného kyslíka. Buď by mal byť ľahko a rýchlo z organizmu vylúčiteľný, alebo aspoň rozložiteľný na zdravotne neškodné produkty (tzv. endogénne fotosenzibilizátory). Mal by mať aj schopnosť absorbovať svetlo na vlnových dĺžkach medzi 600 až 1000 nm, v tzv. „*terapeutickom okne*“. Táto vlastnosť je veľmi dôležitá.

Ak je nádor „skrytý“ v tele, svetlo sa k nemu musí najprv dostať cez okolité zdravé tkanivo. Keby sme použili modré (450 – 495 nm) alebo fialové (380 – 450 nm) svetlo, neuspeli by sme. To by sa takmer celé absorbovalo dokonca už vo veľmi tenkej vrstve tkaniva. Zelené (495 – 570 nm) a žlté (570 – 590 nm) by na tom bolo lepšie, no stále by to nebolo optimálne. Najlepšie výsledky by sme dosiahli buď pri použití červeného svetla (620 – 750 nm), alebo infračerveného žiarenia s vlnovou dĺžkou približne 800 nm. Môže za to prevažne hemoglobín spolu s ďalšími molekulami s podobnou absorpčnou charakteristikou (napríklad myoglobín či bilirubín). Hemoglobín je proteín nachádzajúci sa v červených krvinkách. Slúži na transport kyslíka z pľúc do zvyšku tela. Málokto však vie, že tvorí až 35 % obsahu červených krviniek. Dokonca ak by sme červené krvinky dokonale vysušili, tvoril by ich až z 97 %. Práve hojný výskyt červených krviniek v tele spôsobuje, že hemoglobín čiastočne „prepožičiava“ svoje absorpčné charakteristiky celému telu: Absorbuje najsilnejšie v modrej a fialovej oblasti, trochu slabšie v zelenej a žltej, najslabšie v červenej. Červená farba krvi to iba dokazuje. Ak je červené svetlo v tele menej absorbované, dokáže preniknúť ďalej. Okrem hemoglobínu sa na absorpcii viditeľného spektra elektromagnetického žiarenia podieľajú v rôznej miere aj ďalšie molekuly, napríklad melatonín. Prečo nepoužiť infračervené žiarenie s vlnovou dĺžkou nad 1000 nm? Tu sa dostáva k slovu voda, ktorá začína infračervené žiarenie so zvyšujúcou sa vlnovou dĺžkou čím ďalej, tým viac pohlcovať.

Pri fotodynamicknej terapii sa v tejto súvislosti používa pojem *penetračná hĺbka žiarenia*. Ide o takú hĺbku, v ktorej sa intenzita žiarenia rovná 1/10 pôvodnej intenzity. Z predchádzajúceho textu vyplýva, že červené svetlo má väčšiu penetračnú hĺbku ako modré svetlo. Možno pomôže ilustračný kvantitatívny príklad: Penetračná hĺbka žiarenia s vlnovou dĺžkou 675 nm je približne dvakrát väčšia ako u žiarenia s vlnovou dĺžkou 630 nm. A ak by sme použili infračervené žiarenie s vlnovou dĺžkou 800 nm, do tkaniva by prenikalo štyrikrát hlbšie ako červené svetlo s vlnovou dĺžkou 630 nm. Rôzne tkanivá majú rôznu penetračnú hĺbku. Napríklad tukové tkanivo absorbuje menej ako svalová hmota. V svaloch sa totiž nachádza väčšie množstvo hemoglobínu a myoglobínu. Z absorpčného spektra ľudskej ruky sa dá vypočítať, že ňou najľahšie prechádza červené svetlo a infračervené žiarenie z oblasti približne 670 až 760 nm, teda z „*terapeutického okna*“.

Okrem penetračnej hĺbky žiarenia sa ešte niekedy zavádza aj pojem *najväčšia aktívna hĺbka*. Definuje hĺbku, v ktorej už nie je pozorovateľný žiaden biologický efekt spôsobený svetlom. Najväčšia aktívna hĺbka má veľa spoločného s penetračnou hĺbkou. Závisí od typu tkaniva i na jeho pigmentácii. Zásadný rozdiel je v tom, že závisí aj na počiatkovej intenzite žiarenia. Tak napri-

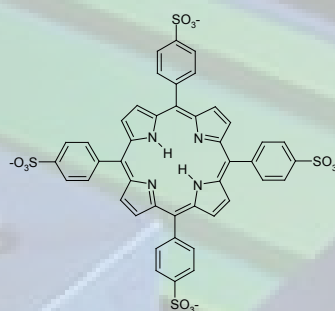
klad laser emitujúci svetlo s vlnovou dĺžkou 632 nm s výstupom 3,5 mJ má najväčšiu aktívnu hĺbku 6 až 8 mm, s výstupom 7 mJ je to 8 – 10 mm. Ak by bol použitý iný laser (904 nm), najväčšia aktívna hĺbka by sa dala zväčšiť až na 5 cm.

Fotosenzibilizátory používané v klinickej praxi

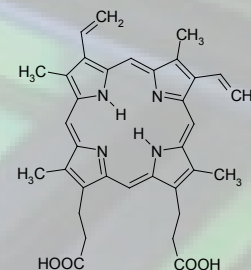
Existuje niekoľko klasifikácií fotosenzibilizátorov. Medzi tie najznámejšie patrí ich rozdelenie na exogénne a endogénne.

Endogénne fotosenzibilizátory sú súčasťou metabolických dráh (kaskád chemických reakcií prebiehajúcich za sebou. Tieto reakcie normálne prebiehajú v bunkách a sú nutné na udržanie bunky a teda i celého organizmu pri živote). V tele sa vyskytujú prirodzene. *Exogénne fotosenzibilizátory* sa do organizmu musia dopravovať umelo, najčastejšie intravenózne (injekciou do žily). Každá z týchto skupín ma svoje kladné i záporné stránky.

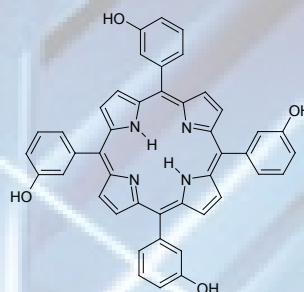
Endogénne fotosenzibilizátory sú veľmi ľahko degradovateľné, pretože sú súčasťou metabolických dráh. Ich nevýhody vyplývajú zo skutočnosti, že v organizme existuje väčšie množstvo látok s podobnou štruktúrou, a teda aj s podobnou absorpčnou charakteristikou. Aj táto, pre fotodynamickú terapiu negatívna vlastnosť, pramení z ich prepojenia s metabolickými dráhami. Ak by sme endogénne fotosenzibilizátory aktivovali svetlom, ktoré najlepšie absorbujú, nastanú menšie problémy. Okolité tkanivo bude svetlo s touto vlnovou dĺžkou tiež absorbovať. A naopak, ak by sme ich excitovali červeným svetlom, ktoré najmenej absorbuje zdravé tkanivo, aj endogénne fotosenzibilizátory budú v tejto oblasti absorbovať slabšie. Ako príklad endogénnych fotosenzibilizátorov môžeme uviesť psoralény, porfyríny či flavíny.



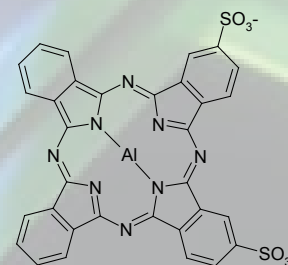
Meso-tetra (4-sulfonátofenyl) porfyrín D



Protoporfyrín IX



Temoporfin



Disulfonovaný hliníkový ftalocyanín

Rôzne druhy fotosenzibilizátorov používaných v klinickej praxi

U exogénnych fotosenzibilizátorov sú známe problémy s ich odbúraním z organizmu. Často sa hromadia v pečeni, obličkách a v koži. Medzi ich výhody patrí hlavne schopnosť absorbovať červené svetlo či dokonca infračervené žiarenie. V porovnaní s endogénnymi fotosenzibilizátormi sa tiež u nich zlepšila

selektívna lokalizácia v nádore. Exogénnych fotosenzibilizátorov je viac – patria sem napr. ftalocyaníny, chloríny a rôzne druhy farbív.

V praxi neexistuje fotosenzibilizátor, ktorý by bol vo všetkých kritériách najlepší. To vidíme aj na vyššie uvedených skupinách – endogénne vedú v biodegradovateľnosti, exogénne v lepšej absorpcii v červenej oblasti spektra.

Transport fotosenzibilizátora do nádoru

Na začiatku liečby musíme dostať fotosenzibilizátor na požadované miesto – do nádorového tkaniva. Konečnému nahromadeniu fotosenzibilizátora v nádore predchádza a zároveň s ním úzko súvisí jeho prenos v krvi. Ten začína podaním preparátu obsahujúceho fotosenzibilizátor buď intravenózne, orálne (ústami) alebo v prípade povrchových nádorov ako súčasť masti nanesejnej na nádor. Na medzinárodnom kongrese usporiadanom Medzinárodnou fotodynamickou asociáciou v Šanghaji som na túto tému diskutoval s jedným profesorom, onkológom z Bratislavy. Hovoril, že svojim pacientom mixuje účinnú látku do pomarančového džúsu, ktorý im dáva vypíť pred aplikovaním fotodynamickej terapie.

Dôvody selektívnej lokalizácie fotosenzibilizátora v nádore

Za najcennejšiu vlastnosť fotosenzibilizátora sa považuje selektívna lokalizácia v nádore. Jednoducho povedané – fotosenzibilizátor sa bude v nádore hromadiť výrazne viac ako v zdravom tkanive. Je to však mechanizmus, ktorý v súčasnosti nie je ešte úplne pochopený. V tejto oblasti stále prebieha intenzívny výskum. Predpokladá sa, že selektívna lokalizácia fotosenzibilizátora v nádore je spôsobená týmito faktormi:

1. Vyššia „deravosť“ cievneho systému v nádore. Nádor, podobne ako okolité zdravé tkanivo, musí byť vyživovaný. Výživné látky spolu s kyslíkom sa k nemu dostávajú cez nádorový cievny systém. Ten je však „deravší“ ako cievny systém v zdravom tkanive – má tendenciu do nádoru prepúšťať rôzne molekuly, ktoré by sa cez zdravé cievy do normálneho tkaniva nedostali.

2. Slabšia schopnosť nádoru zbavovať sa nepotrebných alebo toxických molekúl. Je to dôsledkom slabo vyvinutého systému, ktorý je zodpovedný za „čistenie“ buniek. (Ide o lymfatický systém.) To je dôvod, prečo sa molekula fotosenzibilizátora po dopravení do organizmu dostane zo zdravého tkaniva preč podstatne rýchlejšie než z tumoru.

3. Rozdielny medzibunkový priestor medzi normálnym a nádorovým tkanivom – napríklad u nádorových buniek je kyslejší – má nižšiu hodnotu pH.

4. Vyššia spotreba bielkovín nádorovým tkanivom. Vzhľadom na to, že nádor rastie relatívne rýchlo, potrebuje byť výdatne zásobený stavebným materiálom – bielkovinami. K istým proteínom sa často prichytia i fotosenzibilizátory. Do nádoru sa potom nedostáva iba väčšie množstvo bielkovín, ale i molekúl fotosenzibilizátora.

Hromadenie jednotlivých fotosenzibilizátorov je rozdielne u rôznych tkanív. Napríklad fotosenzibilizátor protoporfyrín IX sa prednostne akumuluje najmä v sliznici. Iný fotosenzibilizátor (disulfonovaný hliníkový ftalocyanín) zas vo vrstve, ktorá sa nachádza pod ňou. Podobne je na tom aj časový priebeh hromadenia fotosenzibilizátorov v nádore – u odlišných druhov fotosenzibilizátorov a rôznych nádorov sa veľmi líši.

Zdroje svetla pri fotodynamickej terapii

Vo fotodynamickej terapii je možné použiť viacero svetelných zdrojov, akými sú rôzne lampy, LED diódy a lasery. Medzi lampy patria napr. volfrámová lampka alebo argónová výbojka, ktoré sa niekedy používajú na liečenie povrchových nádorov. Svetlo nimi emitované sa ďalej kontroluje pomocou filtrov, ktoré z neho zachytia nežiaduce vlnové dĺžky.

LED diódy sú zložením polovodiče, do ktorých boli pridané špeciálne prímеси. Podobne ako lampy sa používajú na povrchové nádory.

V porovnaní s lasermi majú výhodu v tom, že sú vo všeobecnosti omnoho lacnejšie. Lasery sa v súčasnosti využívajú pri fotodynamickej terapii najčastejšie hlavne kvôli ich schopnosti emitovať veľmi intenzívne svetlo. Svietať sa nimi na povrchové, ale aj vo vnútri tela skryté nádory. V počiatočnom štádiu vývoja fotodynamickej terapie sa pri transporte svetla do organizmu používali rôzne typy zložitých laserov. Napríklad tzv. farbivové lasery. Ich nevýhodou je okrem veľmi vysokej ceny aj zložitejšia manipulácia. V poslednom čase sa pri fotodynamickej terapii začali používať diódové lasery.

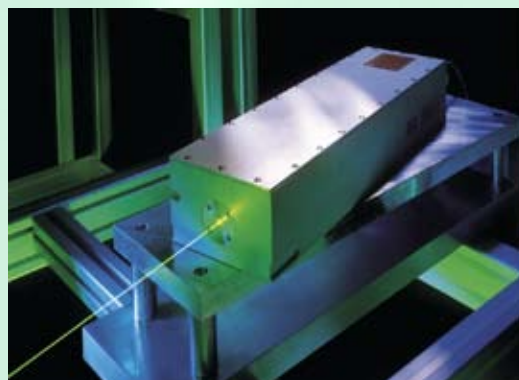


Na liečbu povrchových nádorov je možné použiť panel zložený z LED diód. Tento model emituje červené svetlo s vlnovou dĺžkou 635 nm s výkonom 115 mW/cm².



Endoskop

Lasery sa často používajú v spojení s optickými vláknami, hlavne v prípadoch, keď nie je nádor dosiahnuteľný z povrchu

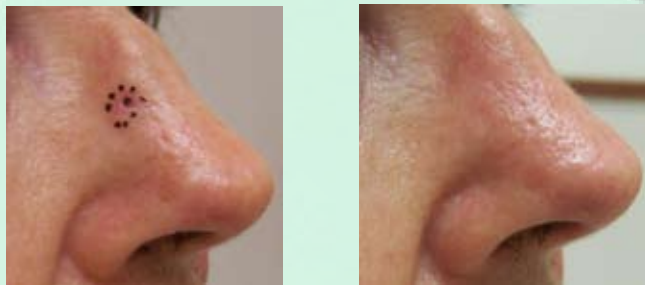


Zelený laser s výkonom 2000 mW Často ide o veľké a veľmi drahé zariadenia – ich cena sa rádovo pohybuje v miliónoch korún.

tela. Vtedy sa používa endoskop. Ide o akúsi trubičku, ktorá sa vopchá do tela (napríklad) cez ústny otvor. V trubičke môže byť zabudované napríklad optické vlákno. K nádoru, ktorý je zvonku nedostupný, sa následne cez optické vlákno dopraví svetlo, ktoré aktivuje fotosenzibilizátor v nádore bez nutnosti chirurgického zákroku.

Výhody a nevýhody fotodynamickej terapie

Najsilnejšou stránkou fotodynamickej terapie je selektívne zničenie nádoru, kým ostatné okolité tkanivo ostane nepoškodené. K ďalším výhodám patrí možnosť ju niekoľkokrát po sebe opakovať. Táto možnosť sa hodí v prípade, ak sa nádor nepodarilo úplne zničiť. Použije sa potom aspoň na spomalenie jeho rastu. V porovnaní s chirurgiou ju môžeme použiť aj na nádory, ktoré nie je možné žiadnym spôsobom vyoperovať. Ďalšie pozitívum je v tom, že pacient po fotodynamickej terapii obvyčajne nemusí byť hospitalizovaný v nemocnici. Tým sa znižujú náklady na liečbu. Pre mnohých je veľmi dôležité i estetické hľadisko. Pri chemoterapii vám často vypadajú vlasy, po chirurgickom zákroku ostávajú jazvy. Hlavne u povrchových nádorov sú výsledky fotodynamickej terapie často vynikajúce – viditeľné následky prekonanej rakoviny mnohokrát nie sú žiadne.



Na obrázku vľavo je nos pacienta postihnutý najčastejšie sa vyskytujúcim typom rakoviny kože, tzv. bazocelulárnym karcinómom. Druhá snímka je urobená po aplikovaní fotodynamickej terapie. Tá pomohla zlikvidovať rakovinu dokonca bez toho, aby na nose ostali viditeľné stopy.

Fotodynamická terapia má samozrejme aj isté nedostatky. Môže po nej dôjsť k fotosenzitivite pokožky, k svrbeniu alebo pocitu bolesti. Precitlivosť pokožky na svetlo je spôsobená výskytom fotosenzibilizátora v nej. Preto sa pacientom, ktorí sa podrobili fotodynamickej terapii, odporúča vyhýbať priamemu slnečnému žiareniu niekoľko dní až týždňov, inak by mohlo dôjsť k vzniku popálenín. Presný čas, počas ktorého sa odporúča vyhýbať sa slnku, sa pre jednotlivé fotosenzibilizátory líši. Pre objektivnosť treba dodať, že fotosenzitivita pokožky je závislá na tom, aký fotosenzibilizátor bol pri liečbe aplikovaný. Ak endogénny, môžeme počítať s podstatne kratším obdobím, resp. veľmi krátkou dobou zvýšenej citlivosti pokožky na svetlo. Po liečbe môže pacient pociťovať aj bolesť. Tá je dôsledok zápalu, ktorý vzniká pri odbúravaní mŕtvych nádorových buniek. Niekedy sa môžu vyskytovať aj pocity nevoľnosti, či dávenie, čo je však bežné aj pri iných metódach – napríklad pri chemoterapii.

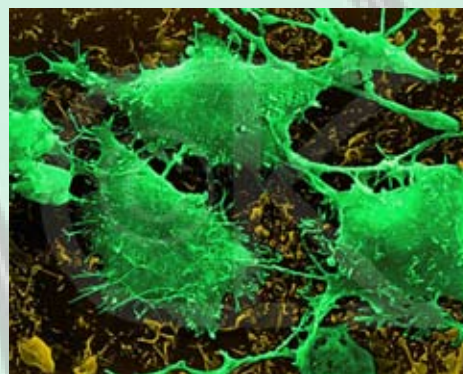
Hranice použiteľnosti fotodynamickej terapie

Ak by sme aj k aktivácii fotosenzibilizátora používali svetlo s vlnovou dĺžkou približne 800 nm, ktoré je tkanivom absorbované najmenej, stále sme obmedzení najväčšou aktívnou hĺbkou. Tá môže byť rádovo niekoľko centimetrov. Keď je nádor umiestnený hlboko v tele, jedinou možnosťou, ako ho pri fotodynamickej

terapii zlikvidovať, je použitie endoskopu. Niektoré tumory nie sú endoskopicky dostupné, takže neexistuje možnosť, ako do ich blízkosti dopraviť svetlo. Fotodynamickú terapiu tiež nie je možné aplikovať ani pri deštrukcii objemovo príliš veľkých nádorov (majúcich priemer väčší ako približne 4 cm). Predstavme si, že pacient má väčší, objemný nádor. Nádor má ukrytý v tkanive. V lepšom prípade sa dá k časti povrchu nádoru dostať pomocou endoskopu, alebo je nádor ukrytý tesne pod pokožkou. Na nádor budeme svietiť iba zo strany, odkiaľ k nemu prejde svetlo najkratšiu cestu (aby sa neabsorbovalo v okolitom tkanive). Ináč povedané, nie je schodné ožarovať nádor svetlom vhodnej vlnovej dĺžky zo všetkých strán. Keď je však nádor väčší, napríklad má tvar gule s priemerom 10 cm, svetlo aktivuje fotosenzibilizátor iba v relatívne tenkej vrstve na jednej strane nádoru. Tým sa účinnosť fotodynamickej terapie veľmi zníži.

Fotodynamická terapia má teda svoje plusy a mínusy – ako aj každá iná metóda liečby rakoviny. Netreba od nej očakávať zázraky. Jej využitie je vhodné v oblasti, kde sa môžu naplno prejavovať jej silné stránky – napríklad pri liečbe povrchových nádorov.

Alexander Molnár



Rakovinové bunky na mozgu