

УДК 615.831

С. В. Гордієнко, Ю. М. Перерва

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут»

ФІЗИКА ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ

Фотодинамічна терапія (ФДТ) – це новий метод лікування раку, який ґрунтується на фотохімічній взаємодії світла, фотосенсибілізатора та кисню. Величезний прорив було зроблено в останні два десятиріччя в нових технічних розробках всіх компонентів, а також в розумінні біофізичних механізмів ФДТ. В даній статті проведено огляд поточного стану в області ФДТ дослідження, роблячи акцент на фізиці ФДТ. Передбачається злиття на даний час розділених областей дослідження утворення та передачі світла (ФДТ дозиметрії, комплексній візуалізації, нових розробок фотосенсибілізаторів і ФДТ біології в міждисциплінарних поєднаннях дво-трьох областей).

Вступ

Фотодинамічна терапія (ФДТ) новий метод лікування раку оснований на взаємодії світла, фотосенсибілізуючих препаратів і кисню. ФДТ схвалено багатьма науковцями і асоціаціями для лікування мікроінвазивного раку легень. Даний метод показаний для застереження від раку легень та стравоходу, для передракового актинічного кератозу та вікової деградації макули. Дослідження показали ефективність ФДТ при лікуванні різних видів злоякісних і передракових утворень, включаючи рак голови і шиї, легенів, мезотеліоми, стравоходу Барретта, простати і пухлин мозку [1]. На відміну від променевої терапії, ФДТ використовує неіонізоване випромінювання і може

виконуватись повторно без накопичення довгострокових ускладнень, так як враження ДНК не відбувається.

В останні два десятиліття спостерігається значний прогрес у вдосконаленні біологічних механізмів ФДТ. Вчені розбивають сучасні основні дослідження в ФДТ на 5 сфер:

- 1) джерела світла;
- 2) транспортування світла;
- 3) оптична і анатомічна візуалізація;
- 4) нові фотосенсибілізатори;
- 5) біологія ФДТ.

В числі даних напрямків, розвиток нових фотосенсибілізаторів і біології ФДТ традиційно розглядається поза областю фізики ФДТ і коротко описується для повноти. Всі п'ять сфер пов'язані кількісним розумінням динаміки процесів, які беруть участь в фотохімічній взаємодії, що керує ФДТ.

Клінічна ФДТ

Фотодинамічна терапія за своєю суттю є динамічним процесом. Три основні компоненти: фотосенсибілізатор, світло, і кисень, взаємодіють між собою в часовому масштабі. Розповсюдження світла визначається характеристиками джерела даного світла і оптичними характеристиками тканини. Оптичні характеристики тканини, у свою чергу, знаходяться під впливом концентрації фотосенсибілізатора і насиченістю крові киснем. Розповсюдження кисню змінюється завдяки фотодинамічному процесу, під час якого поглинається кисень. Зрештою, розповсюдження фотосенсибілізатора може змінюватись як результат фотознебарвлення, фотодинамічне руйнування фотосенсибілізатора самим собою. Враховуючи ці взаємодії постає необхідність в динамічній моделі.

Найбільше фотодинамічний процес залежить від самої молекули фотосенсибілізатора. На рис. 1 показано енергетичний рівень (рівень Яблонського), діаграма для типового сенсибілізатора типу-II. Фотохімічна реакція ініціюється поглинанням фотону світла молекулою фотосенсибілізатора в її основному стані (S_0), просуває її до нестабільно/збудженого стану (S_1). Обидва ці стани є спектроскопічними синглетними станами. Суттєвою особливістю гарного фотосенсибілізатора є високий інтеркомбінаційний конверсійний (ІКК) вихід, тобто висока здатність переходу із стану S_1 до збудженого триплетного рівня (T_1). В стані T_1 фотосенсибілізатор може переносити енергію до молекулярного кисню (3O_2), збуджуючи його до високо реактивного синглетного стану (1O_2).

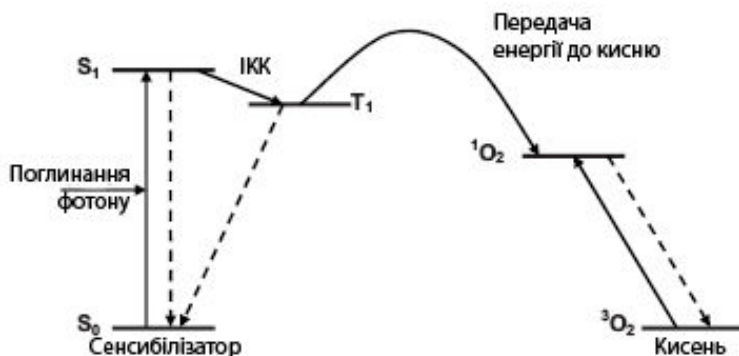


Рис. 1. Діаграма енергетичного рівня для типового фотосенсибілізатора типу-II і кисню.

Використовуються два підходи для вивчення динаміки ФДТ [2]. Перший – мікроскопічна модель, яка бере до уваги розповсюдження кисню та фотосенсибілізатора від кровоносних судин і може

визначити концентрацію синглетного кисню в клітинах мікроскопічно. Ці моделі показують, що домінуючий ефект щільності потоку частинок в фотодинамічній терапії виникає тому, що самі фотохімічні процеси призводять до поглинання кисню. Якщо рівень фотохімічного поглинання кисню вищий ніж рівень, за якого кисень може поповнюватись за допомогою судинного або оточуючого середовища, збудження перехідної гіпоксії відбувається в результаті ФДТ. Друге – макроскопічна модель. Це емпірична модель, в якій не береться до уваги фактичний кисень і процеси розповсюдження фотосенсибілізатора мікроскопічно, але замість цього апроксимується їх для більш простих функцій. Проте дана модель приймає до уваги великомасштабні просторові зміни в щільності потоку оснований на дифузійному наближенні. Ця модель забезпечує кількість проредагованого синглетного кисню, яку можна використати безпосередньо для клінічної ФДТ дозиметрії.

ФДТ стала популярною після винаходу лазера, який допускав генерацію монохроматичного світла, що полегшувало його внесення в оптичні волокна. Довжина хвилі світла використовувана для ФДТ зазвичай знаходиться в діапазоні 600-800 нм, в так званому “терапевтичному вікні”. В даному діапазоні довжин хвиль енергія кожного фотона ($h\nu$) досить висока ($> 1,5$ eV) для збудження фотосенсибілізатора, і все ще достатньо низька для того, щоб світло мало достатню проникливість в тканини.

Винахід оптичного волокна дозволив передавати світло до бажаних ділянок без необхідності прямого світлового шляху. На даний час більшість ФДТ отримується з використанням оптичних волокон. Шляхом приєднання насадок для дифузного розсіювання різноманітних геометричних форм, точка, лінія, на

вихідний кінець волокна, можна отримувати плоскі джерела світла. Подальший розвиток в засобах передачі світла, які виробляють світлове поле різноманітних геометричних форм і з потужністю модуляції розподілення, яка покриває більші області і має вищу потужність, й досі є активною областю для дослідження.

Світлове розповсюдження можна змоделювати використовуючи дифузійне наближення для переносу випромінювання. Метод кінцевих елементів зазвичай використовується для розв'язання рівняння дифузії в оптично неоднорідному середовищі довільною геометрією. Різноманітні граничні умови використовується для опису границь тканина-тканина, тканина-повітря і тканина-вода взаємозв'язків.

Однак, вирішення часто є неточним в областях без достатнього показника багаторазового розсіювання (поблизу джерела світла або нерозсіюваного середовища) [3]. В цих областях Монте-Карло-моделювання забезпечує більш точні результати, але набагато повільніше. Активні дослідження продовжуються, щоб вирішити рівняння Больцмана для прямого транспортування світла, аби забезпечити точний результат поки поліпшується швидкість обрахунків.

ФДТ дозиметрія

Пряма дозиметрія відноситься до прогнозування дози синглетного кисню на основі вимірювань величин, що сприяє фотодинамічному ефекту [4]. Величини, які представляють цікавість, це, як правило, розповсюдження світла, фотосенсибілізатор і кисень. Розподілення фотосенсибілізатора і насиченість киснем можна виміряти за допомогою оптичної спектроскопії. В сучасній клінічній практиці, однак, найбільш проста величина для вимірювання – доза світла. Плоскі фотодіодні датчики

використовуються для вимірювання побічного випромінювання на поверхні тканини в інтраопераційній ФДТ. Хоча ці вимірювання можуть не точно відображати щільність потоку в тканині, тому що вони нехтують внеском зворотного розсіювання світла. Датчики, основані на оптичних волокнах, долають цю проблему, акумулюючи світло ізотропно. Ефект на виміряні значення щільності потоку значний. Тому що дані датчики акумулюють світло за допомогою багатократного розсіювання, взаємодія між розсіювальною насадкою і навколишнім середовищем може змінювати чутливість датчика.

Через те, що повна пряма дозиметрія вимагає вимірювання трьох різних параметрів, пропонується дві альтернативи, які вимагають вимірювання лише одного параметру [5]. Пряма дозиметрія опирається на визначення синглетного кисню, або через своє власне фосфоресцентне випромінювання, або за допомогою чутливих до синглетного кисню хромосом. Непряма дозиметрія використовує таку величину, як флуоресцентне фотознебарвлення фотосенсибілізатора, яке є побічною предиктивною для вироблення синглетного кисню. Стратегії для прямої і непрямой дозиметрії на даний час активно досліджуються і будуть обговорюватись в наступних розділах.

Анатомічна і оптична візуалізація

Найбільш широко вживаний медичний метод візуалізації включає ультразвук, комп'ютерну томографію(КТ), магнітний резонанс, магніто-резонансну спектроскопію, однофотонну емісійну комп'ютерну томографію і позитронно-емісійну томографію (ПЕТ). Перші три способи дають відмінні анатомічні зображення, в той час як три останні надають функціональну інформацію (наприклад, киснева перфузія або метаболізм

тканини) за рахунок розподільчої здатності [6]. Дифузна оптична томографія (ДОТ) новий конкурентоспроможний метод біологічної візуалізації. Ця методика відображає поглинальні і розсіювальні властивості біологічних тканин і вивчається як інструмент діагностики для грудей, мозку, кісток і суглобів. Даний метод забезпечує доступ до рівних фізіологічних параметрів, які не можна з легкістю виміряти.

ФДТ може спричинити зміни в концентрації і оксигенації крові в тканині як безпосередньо через фотохімічне поглинання кисню, і непрямо, за допомогою впливу на судинну систему і загальні фізіологічні реакції [7]. За допомогою моніторингу цих реакцій можна прогнозувати результати лікування. Для моніторингу кисню відмінності в спектрі поглинання між окси- і деоксигемоглобіном використовуються, щоб визначити насичення гемоглобіну киснем, тобто частку від загального гемоглобіну, яка знаходиться в оксигенованому стані. Ця величина пов'язана з концентрацією кисню в крові використовує криву Хілла. Цей параметр вимірює не безпосередньо концентрацію кисню в тканині. Однак можливо змоделювати взаємовідносини між судинною і тканинною оксигенацією. Ця концепція досліджується на тваринних моделях, в яких кровоток і/або насичення киснем було проконтрольовано і зміни корелювались з результатом.

Сучасні досягнення

Більша частина досліджень ФДТ в перші десятиріччя і в її суміжних областях проводились і в п'яти майже незалежних сферах, як показано на рис. 2. Проблеми пов'язані зі джерелами світла і розвитком системам передачі світла, дозиметрія і оптична візуалізація розглядалися як фізичні проблеми, а розвиток

фотосенсибілізаторів і біології ФДТ розглядались як проблеми хімії і біології, відповідно. Останнім часом найбільш перспективні досягнення здобулись в міждисциплінарному співробітництві серед цих областей.

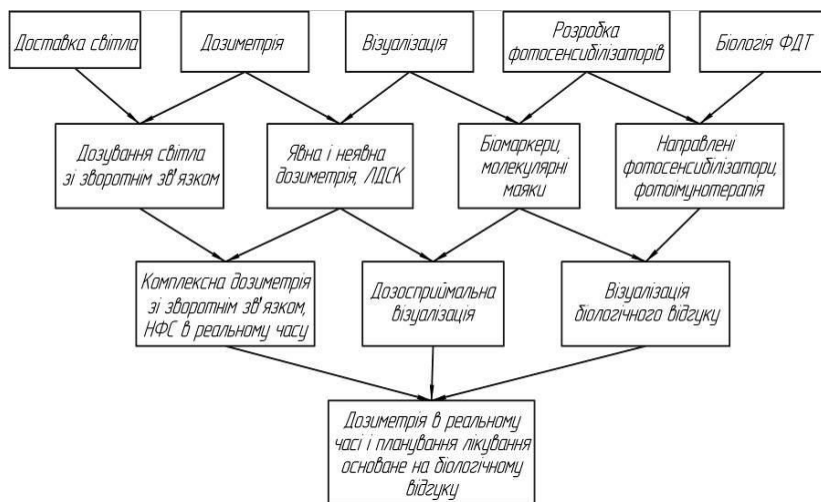


Рис. 2. Схема прогресу розвитку ФДТ з різних областей.

Прикладом неявної дозиметрії, який найчастіше зустрічається є флуоресцентне фото знебарвлення [5]. Теоретичні основи для кількісної неявної дозиметрії з використанням флуоресцентного фотознебарвлення були основані Георгакоуді та ін. для випадку багатоклітинних сферіодних пухлин. Флуоресцентне фотознебарвлення використовувалось в тваринних моделях для дослідження залежності щільності потоку фотодинамічної терапії і показало співвідношення з видимим пошкодженням шкіри. Пристрій для дозиметрії ФДТ шкіри, який використовує фотознебарвлення, розробили для використання в клінічних дослідженнях і роботи з розширення сферіодних

моделей до реалістичних тканин.

Флуоресцентне фотознебарвлення відносно недороге і просте в реалізації, однак, його кількісна інтерпретація включає декілька проблем. Перша – флуоресцентне вимірювання в природних умовах повинно враховувати змішані ефекти світлового розсіювання і поглинання. Друге – справедливість відносин між флуоресцентним фотознебарвленням і дозою проредагованого синглетного кисню допускає, що фотознебарвлення є посередником в першу чергу реакції синглетного кисню з фотосенсибілізатором. Є експериментальні докази того, що інші механізми знебарвлювання можуть бути важливими для часто використовуваних фотосенсибілізаторів Фотофрину і АЛА-індукованих РrIX, і в природних умовах фотознебарвлення mTHPS має риси, які не так легко інтерпретувати. Внаслідок цього спостереження необхідно проводити використовуючи фотознебарвлення, як дозу метрики.

Пряме вимірювання синглетного кисню можна здійснювати за допомогою виявлення його фосфоресцентного випромінювання на довжині хвилі 1270 нм,. Даний метод відомий як люмінесцентна дозиметрія синглетного кисню (ЛДСК). Виявлення даного сигналу представляє значні технічні труднощі, дякуючи довгохвильовому випромінюванню і слабкому сигналу. Ярві і ін. розробили систему основу на фотоелектронному помножувачу, здатному виявляти довгохвильові випромінювання синглетного кисню [8]. Випромінювання стимулюється імпульсним лазером на лікувальній довжині хвилі і часорозподільче вимірювання випромінюваного сигналу дозволяє визначити тривалість існування синглетного кисню в системі, яка досліджується. Додаткові труднощі виникають через розшифрування сигналу фосфоресцентного синглетного

кисню. Фосфоресцентне випромінювання виникає при переході кисню з його синглетного стану до основного стану. Тому цей процес конкурує з реакцією синглетного кисню з клітинними і позаклітинними субстратами. Це призводить до зростання фосфоресцентного випромінювання в умовах, де субстрати для синглетного кисню не рясні. Щоб розрізнити клітинний сигнал, який відповідає ефекту ФДТ і позаклітинний сигнал, часорозподільчий сигнал може бути представленим як сума сигналів з різною тривалістю.

Біомаркери і молекулярні маяки

В кінцевому рахунку мета ФДТ забезпечувати необхідне лікування пухлин, ідея використання неінвазивного виявлення і моніторингу для визначення стану клітин пухлини на молекулярному рівні є дуже популярною. Дана концепція сприяла розвитку молекулярних маяків, молекул які орієнтовані на конкретні молекулярні шляхи, які можна візуалізувати використовуючи, наприклад, флуоресценцію близьку до ультрафіолету [9]. Стефлова і ін. розробили серію молекулярних маяків, чия флуоресценція гаситься в їхньому латентному стані і відновлюється під дією специфічних клітинних процесів. Так як такі маяки орієнтовані на особливі молекули, цілком ймовірно, що вони будуть орієнтуватись на пухлини окремих типів, однак, розмаїття клітинних процесів, які потенційно можна відобразити використовуючи даний підхід, робить його дуже перспективним. Молекулярні маяки є підгрупою загальної категорії ракових біомаркерів, молекули, які дозволяють відображати специфічні біологічні процеси за допомогою різноманітних способів, включаючи МРТ, ПЕТ і оптична візуалізація.

Перспективи розвитку ФДТ

Важливим чинником в розвитку нових джерел світла стала поява недорогих, надійних діодних лазерів і світло випромінюючих діодів. На даний час діодні джерела світла можна розробити достатньо мініатюрними для вдалого введення та імплантації. Ми прогнозуємо, що така тенденція продовжуватиметься, з майбутніми джерелами світла, які ставатимуть все меншими, дешевшими і більш ефективнішими. З іншого боку, збільшення ефективності цих джерел світла, також приведе до лазерів з більшою загальною вихідною потужністю, дозволяючи лікування більший обсягів тканин використовуючи одне джерело.

Прості збільшення в потужності не є єдиними поліпшеними, які можна очікувати від майбутніх джерел світла. Нові системи передачі будуть включати механізми, що доставлятимуть світло налаштовуючись окремо для кожного пацієнта. Чжу і ін. розробили контрольований комп'ютером систему послаблення для ФДТ простати, призначену для корегування до 16 імплантованих проміжних дифундуючих волокон незалежно і в реальному часі [10]. Ми сподіваємось на подальший розвиток і цьому напрямку, щоб дозволити більш точний контроль світлової передачі ФДТ в природних умовах.

Інша область активних досліджень в фотодинамічній терапії – розробка фотосенсибілізаторів і системи передачі фотосенсибілізаторів для підвищення функціональності самих фотосенсибілізаторів. Наприклад, фотосенсибілізатор може бути прив'язаним до флуоресцентної молекули для підвищення властивості виявлення при флуоресцентній візуалізації. Пандей і ін. запропонували об'єднати фотосенсибілізатори з контрастними речовинами для оптичної, МРТ і ПЕТ візуалізації, що дозволить керувати візуалізацією ФДТ лікування [11]. Чжень і ін. об'єднали концепцію

молекулярних маяків з фотосенсибілізатором для створення фотодинамічних молекулярних маяків. Ці молекули проявляють ефект гасіння, який пригнічує вироблення 1O_2 в їх латентному стані. Вони активуються взаємодією з пухлино-орієнтованим молекулярним маркером, в даному випадку з матричною металпротеїназою ММП-7 [12]. Важливим компонентом будь-якої стратегії націлювання є можливість перевірки націлюваності препарату на бажану пухлину. Поширення фотосенсибілізатора можна визначити оптично використовуючи флуоресцентну візуалізацію або візуалізацію поглинання. Детальні моделі розподілу і кінетики світла, фотосенсибілізаторів і кисню забезпечуватимуть кількісні співвідношення між мікроскопічним поширенням і фотохімічними властивостями препарату, і макроскопічні спостереження ефективності лікування. У випадках, де препарати активуються ендogenousним агентом, результати будуть передбачуваними тільки при використанні таких складних моделей.

Останні роки спостерігається значний прогрес в розумінні механізмів імунного відгуку викликаного ФДТ. Доведено, що ФДТ можна використовувати для створення вакцини проти певних типів пухлин. Даний факт є особливо корисним для лікування раку у випадках коли цілком ймовірним є використання опромінення і хіміотерапії, обидва, з яких можуть викликати імунодепресантний ефект.

Коли деталі механізму імунного відгуку зрозуміють краще, цілком ймовірно, що нові фотосенсибілізатори і механізми передачі будуть розроблюватись в спеціальних цілях для підвищення імунологічного відгуку і поліпшення лікування індукованого ангіогенезу і запалення.

Висновки

На основі проведеного огляду можна зробити висновки, що ФДТ дослідження все більше покладається на поєднання дуже розрізних сфер, призводячи до все більше складних протоколів лікування. Можна припускати, що такі методи терапії стануть настільки комплексними, що їх можна буде змоделювати лише емпірично, і тому роль фізики буде зменшено. Однак, огляд розвитку ФДТ-технологій досліджень показує, що при розробці методик не було вирішено ряд проблем. В майбутньому будуть продовжуватись спроби зрозуміти фізику ФДТ, що дозволить використовувати переваги наукового розуміння і переводити це на покращення клінічного лікування. В ході роботи запропоновано використання діодних лазерів в області ФДТ, що призведе до мінімізації габаритних розмірів приладу та зменшенню його вартості.

Література:

1. J. S. Friedberg, R. Mick, J. P. Steveson, T. Zhu, and S. M. Hahn, "A phase II trial of pleural photodynamic therapy PDT and surgery for patients with non-small cell lung cancer NSCLC with pleural spread," J. Clin.Oncol., 2192–2201_2004_.
2. T. C. Zhu, J. C. Finlay, X. Zhou, and J. Li, "Macroscopic modeling of the singlet oxygen production during PDT," Proc. SPIE, 642708–642720_2007_.
3. A. Ishimaru, Wave Propagation and Scattering in Random Media _IEEE, New York, 1997_.
4. B. C. Wilson, M. S. Patterson, and L. Lilge, "Implicit and explicit dosimetry in photodynamic therapy: A new paradigm," Lasers Med. Sci., 182–199_1997_.
5. J. P. Marijnissen and W. M. Star, "Calibration of isotropic light dosimetry probes based on scattering bulbs in clear media," Phys. Med. Biol., 1191–1208_1996_.

6. A. F. Low, G. J. Tearney, B. E. Bouma, and I. K. Jang, "Technology Insight: optical coherence tomography—Current status and future development," *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 3, 154–162_2006_.

7. H. W. Wang, M. E. Putt, M. J. Emanuele, D. B. Shin, E. Glatstein, A. G. Yodh, and T. M. Busch, "Treatment-induced changes in tumor oxygenation predict photodynamic therapy outcome," *Cancer Res.*, 7553–7561 2004.

8. T. C. Zhu, A. Dimofte, J. C. Finlay, D. Stripp, T. Busch, J. Miles, R. Whittington, S. B. Malkowicz, Z. Tochner, E. Glatstein, and S. M. Hahn, "Optical properties of human prostate at 732 nm measured in vivo during motexafin lutetium-mediated photodynamic therapy," *Photochem. Photobiol.*, 96–105 2005.

9. K. Stefflova, J. Chen, and G. Zheng, "Using molecular beacons for cancer imaging and treatment," *Front. Biosci.*, 4709–4721_2007_.

10. J. Li, T. C. Zhu, X. Zhou, A. Dimofte, and J. C. Finlay, "Integrated light dosimetry system for prostate photodynamic therapy," *Proc. SPIE*, 68450Q–68458Q 2008.

11. R. K. Pandey, L. N. Goswami, Y. Chen, A. Gryshuk, J. R. Missert, A. Oseroff, and T. J. Dougherty, "Nature: A rich source for developing multifunctional agents. Tumor-imaging and photodynamic therapy," *Lasers Surg. Med.*, 445–467_2006_.

12. G. Zheng, J. Chen, K. Stefflova, M. Jarvi, H. Li, and B. C. Wilson, "Photodynamic molecular beacon as an activatable photosensitizer based on protease-controlled singlet oxygen quenching and activation," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 8989–8994_2007_.