©Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at

Ber. nat.-med. Ver. Salzburg	Band 12	S. 17-24	Salzburg 1998

PHOTODYNAMISCHE TUMORTHERAPIE UND -DIAGNOSE

BARBARA KRAMMER

Institut für Physik und Biophysik, Universität Salzburg, Hellbrunnerstr. 34
5020 Salzburg

Die Wirksamkeit der Photodynamischen Tumortherapie und -diagnose beruht auf dem Prinzip der Kombination einer nicht-toxischen chemischen Komponente (=Photosensibilisator) mit nicht-toxischer Bestrahlung (=sichtbares Licht). Photosensibilisatoren sind Substanzen, die nach Anregung durch sichtbares Licht ihre Energie wieder in Form von Licht (= Fluoreszenz) oder über Energie- und Elektronentransfer an andere Moleküle abgeben. In mehreren Ländern der Welt sind als Photosensibilisatoren Porphyrine zugelassen, die selektiv von Tumorgewebe aufgenommen und gespeichert, bzw. im Tumor vermehrt endogen gebildet werden können. Klinisch werden diese Blutfarbstoff-Derivate dem Patienten auf verschiedenem Weg verabreicht (i.v., topisch, oral, usw.) Sichtbares niederenergetisches (Laser)-Licht aktiviert Photosensibilisatoren. Durch Blaulicht angeregte Porphyrine fluoreszieren rot und können so zur Diagnose verwendet werden. Durch Rotlicht angeregte Porphyrine übertragen ihre Energie meist an Sauerstoff, der reaktive Formen bildet und in weiterer Folge verschiedene zelluläre Komponenten oxidiert. Die zytotoxischen Reaktionen werden zusammen mit vaskulären und immunologischen Effekten in der Therapie genutzt. Klinisch muß das Laserlicht einige Stunden bis Tage nach der Sensibilisierung mittels Endoskop und speziellen Applikatoren an das im Tumor gespeicherte Porphyrin herangeführt werden. Als Nebenwirkung tritt meist Hautsensibilisierung auf, wenn die Patienten sich nicht 4 bis 8 Wochen lang vor direkter Sonnenbestrahlung schützen.

Aufgrund der physikalischen Eigenschaften von rotem Anregungslicht, das bei dieser Wellenlänge nur einige mm weit ins Gewebe eindringt, können keine dickeren oder tiefer liegenden Tumoren behandelt werden. Am besten eignen sich Tumore an

©Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at

äußeren und inneren Oberflächen im Bereich Hals-Nasen-Ohren, Haut, Lunge, Blase, Speiseröhre, Magen, Cervix etc. Zulassungen von Hämotoporphyrin-Derivaten, deren bekanntestes unter dem Namen Photofrin® in den USA hergestellt wird, gibt es bereits in Kanada, den Niederlanden, Japan und USA für bestimmte Anwendungen. Als typisches Standard-Protokoll gilt eine Photofrin®-Dosis von 2 - 5mg pro kg body weight i.v., und nach 24 - 72 h Belichtung mit einem 630-nm-Farbstofflaser mit einer Dosis von 100 - 200 J/cm^2.
Neben Porphyrinen sind z.B. Porphycene, Purpurine, Benzoporphyrin-Derivate, Chlorine (z.B. meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin = m-THPC), Phthalocyanine und endogenes Protoporphyrin als Sensibilisatoren in Verwendung.

Endogenes Protoporphrin IX (PpIX) wird als letzter Schritt vor Häm in der Häm-Biosynthese gebildet. Durch externe Gabe einer Vorläufer-Substanz, der Aminolävulin-Säure (ALA), wird PpIX im Überschuß gebildet, wodurch es zu einem sehr effizienten Sensibilisator mit hauptsächlich topischen Einsatzmöglichkeiten wird. Bei pathogener PpIX-Überproduktion kommt es zur Porphyrie. Bestrahlung von PpIX-sensibilisierten Gewebearealen ist meist von Nervenschmerzen begleitet, sodaß viele Behandlungen unter Lokalanästhesie durchgeführt werden müssen. Typischerweise werden Hautkrankheiten mittels ALA-Creme und Blasenkarzinome mittels ALA- Instillationen behandelt. PpIX spielt vor allem in der Diagnose eine große Rolle. Nach Anregung mit Blaulicht (ca. 400 nm) kann das rote Fluoreszenzlicht (630 nm) entweder mit freiem Auge während eines operativen Eingriffs registriert oder über empfindliche CCD-Kameras und Bildverarbeitung aufgenommen und mittels Ratio-Imaging mit Signalen der Autofluoreszenz weiterprozessiert werden, wodurch schon bei geringer Sensibilisatorkonzentration im Gewebe genaue Diagnosen möglich sind.

Weitere Indikationen für photodynamische Behandlung außer soliden Tumoren sind u.a. Knochenmarkreinigung, Psoriasis, HIV, rheumatische Arthritis, Arteriosklerose, und Makula-Degeneration. In der Dermatologie werden vor allem Basaliome, Warzen, Aktinische Keratosen, Morbus Bowen, Spinozelluläre Karzinome, Akne und Kondylome erfolgreich behandelt.

Während die physikalische-chemische Wirkungsweise der verwendeten Sensibilisatoren relativ gut bekannt ist, sind die biologischen Effekte bis zum Zelltod und die Ursachen der Selektivität für vor allem Tumorgewebe noch nicht vollständig aufgeklärt. In den verschiedenen Untersuchungen mit verschiedenen Sensibilisatoren, Zellarten und Protokollen hat sich zumindest herauskristallisiert,

daß bei der Aufnahme von externen Sensibilisatoren deren chemische Eigenschaften (Ladung, Lipophilität, Aggregatzustand, usw.) eine große Rolle spielen, und daß die zytotoxische Wirkung weitgehend von der Konzentration, Lokalisation und Verteilung des Sensibilisators in der Zelle abhängt. Ein Ausbleichen des Farbstoffes und die Bildung von Photoprodukten kann auch die Effizienz beeinflussen. Die Tumorselektivität ist nur z.T. auf zellulärer Ebene gegeben, und hängt auch mit der Vaskularisation und dem Immunstatus zusammen.

Der Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt bei der Erforschung dieser Grundlagen auf zellulärer Ebene. So konnten wir u.a. messen, daß der Anstieg des intrazellulären, freien Kalziums durch Aufnahme von extrazellulärem Kalzium und Öffnen endogener Kalziumspeicher - zum Schutz der Zelle vor Photo-Schaden dient, daß externe und endogene Porphyrine ohne Lichtanregung auf Leberzellen leicht mutagen und toxisch wirken und daß als intrazelluläre Targets von endogenem PpIX die Mitochondrien und das Endoplasmatische Retikulum (ER) in Frage kommen. Abbildung 1 zeigt Veränderungen des ER nach photodynamischer Behandlung mit endogenem PpIX. Effizienzstudien verschiedener Sensibilisatoren mit und ohne Radioprotektoren, Kombination von photodynamischer Behandlung mit Hyperthermie und Strahlentherapie, subzelluläre Aufnahme- und Verteilungsstudien verschiedener Sensibilisatoren, Messungen des Membranpotentials und Studien über die Wirkung von endogenem PpIX wurden durchgeführt. Die letzten Forschungsprojekte waren Untersuchungen über die Rolle der Makrophagen, die Expression von Onkogenen und Tumorsuppressor-Genen, und über Veränderungen des Zellzyklus in der PDT. Als derzeit großes Vorhaben in Kooperation mit mehreren Arbeitsgruppen im EU-Raum werden Forschungen über die Art des Zell-Kills, nämlich Nekrose und Apoptose (programmierter Zelltod), durchgeführt. (Eine Aufnahme mit dem Raster-Elektronenmikroskop (Abbildung 2) zeigt unbehandelte Fibroblasten und apoptotische Zellen nach PDT.) Ziel des Vorhabens ist es, durch Kenntnis der Signalübertragung und der beim programmierten Zelltod ablaufenden Prozesse in das Geschehen eingreifen und das Verhältnis von apoptotischen zu nekrotischen Zellen ändern zu können, um damit die Effizienz der Therapie zu erhöhen und die Nebenwirkungen zu minimieren. Apoptose läßt sich nämlich durch geringere Behandlungsdosen auslösen als Nekrose, während andererseits die entzündungsfördernden Begleiterscheinungen der Nekrose das Immunsystem aktivieren können. Und das Immunsystem ist dafür

©Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at

verantwortlich, daß nach der Primärreduktion der Tumormasse durch PDT kein Tumorrezidiv mehr entsteht.

Neben der Detektion von Apoptose/ Nekrose mittels mehrerer Methoden (Abbildung 3 zeigt apoptotische Fibroblasten im Transmissionsbild und mit Annexin V-FITC- und Propidium Iodid-Färbung als Apoptose-Marker), neben Genexpressions- und Zellzyklusstudien sollen Messungen des intrazellulären Energiehaushaltes in zeitlicher und räumlicher Auflösung als Metabolic Mapping mittels ICCD-Kamera, Fluoreszenzmikroskop und Bildanalyse (= Low Light Imaging) durchführt werden. Änderungen im Energiehaushalt der Mitochondrien dürften über die zellulären Programme und die Art des Zelltodes entscheiden. Da als Sensibilisator ALA-induziertes, endogenes PpIX verwendet wird, werden gleichzeitig maßgebliche Parameter für ALA-Aufnahme und PpIX-Bildung untersucht.

An den im folgenden aufgezählten Problemen der PDT wird weltweit intensiv gearbeitet:

1) PDT ist nicht für alle Tumoren geeignet. Am besten sind kleine oder flächige Tumoren an inneren und äußeren Körperoberflächen mit guter Oxygenierung.

2) Die Bestrahlung muß klinisch mit einem (Farbstoff-)Laser ausgeführt werden (außer in der Dermatologie). Die Dosimetrie muß genau berechnet werden und es sind besondere Applikatoren für die Organe notwendig.

3) Es treten Nebenwirkungen auf, die zwar im Vergleich zu Chemo-und Strahlentherapie gering sind, aber dennoch reduziert werden sollten.

4) Die derzeit zugelassenen Sensibilisatoren der ersten Generation sind nicht ideal bezüglich Selektivität, Pharmokinetik (Hautsensibilisierung!), Nebenwirkungen, Effizienz, Licht-Absorptionseigenschaften (je höher die Wellenlänge des letzten Absorptionspeaks, um weiter kann das entsprechende Licht ins Gewebe eindringen) und Stabilität.

©Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at

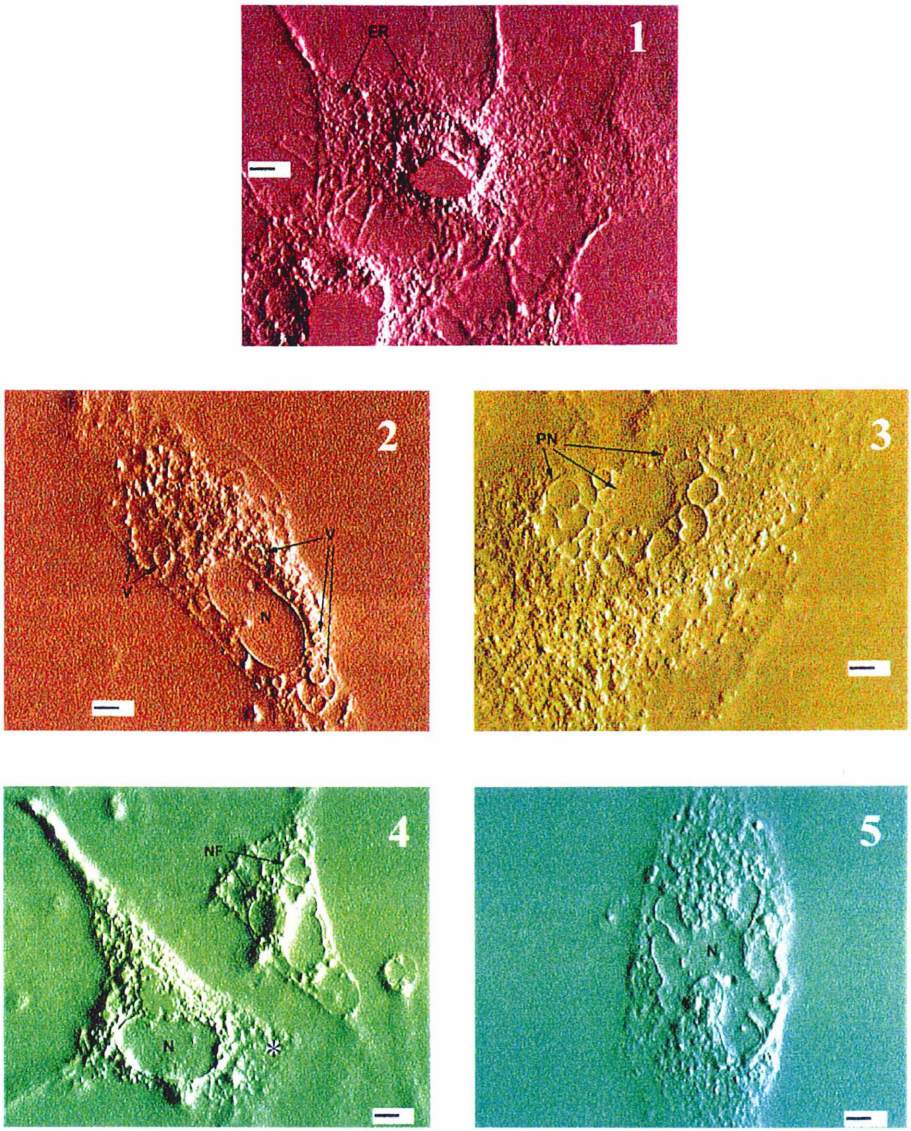


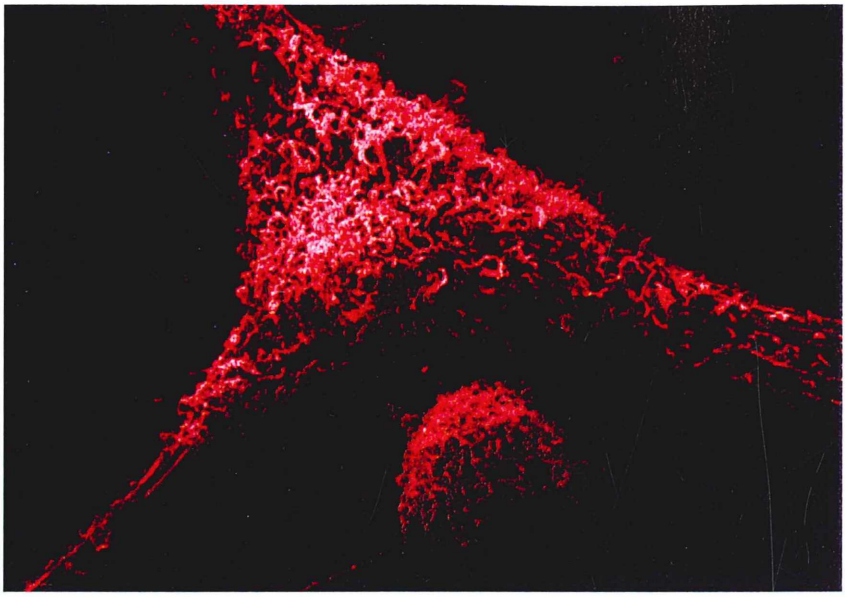
Abb.1: Veränderungen des ER nach photodynamischer Behandlung mit endogenem Protoporphyrin IX

1: Unbehandelte Zelle

2, 3: Photodynamischer Schaden

4,5: Endphase bis zur Kern-Kompartimentierung

©Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at



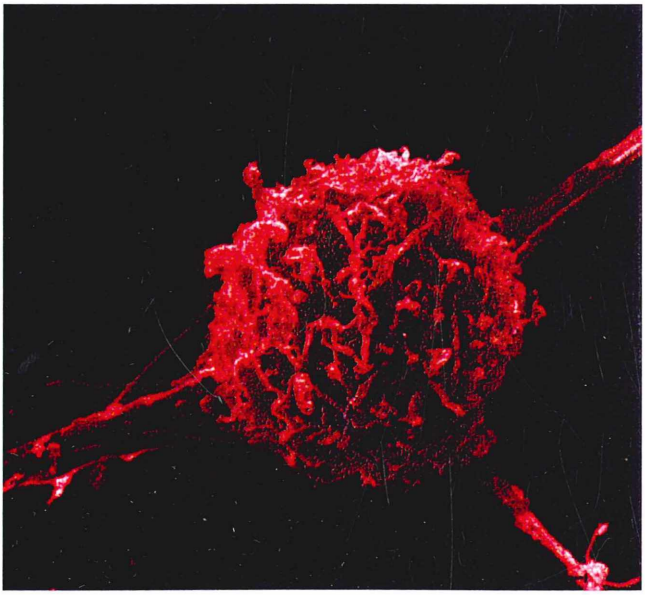
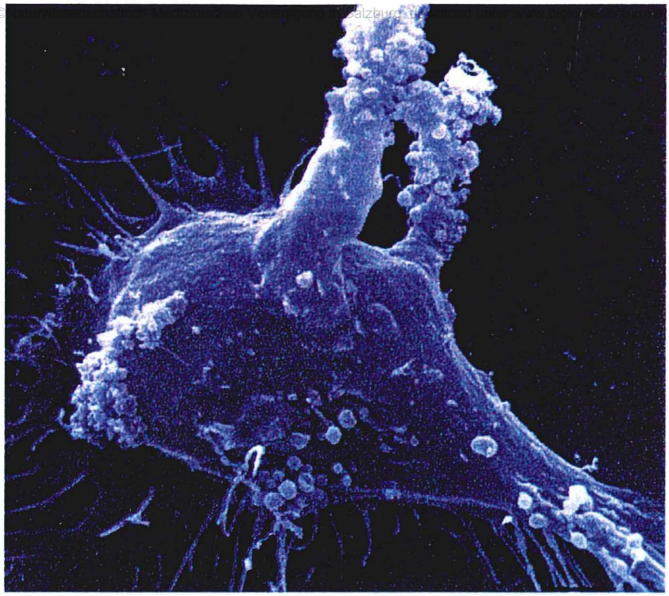


Abb.2a: Unbehandelte Fibroblasten
(In Zusammenarbeit mit dem Institut für Zoologie, Universität Salzburg)

©Naturwissenschaftlich-Medizinischer Verein in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at



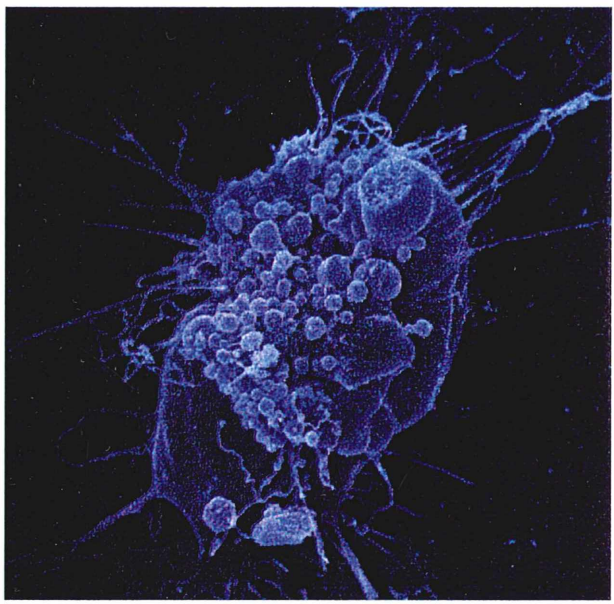
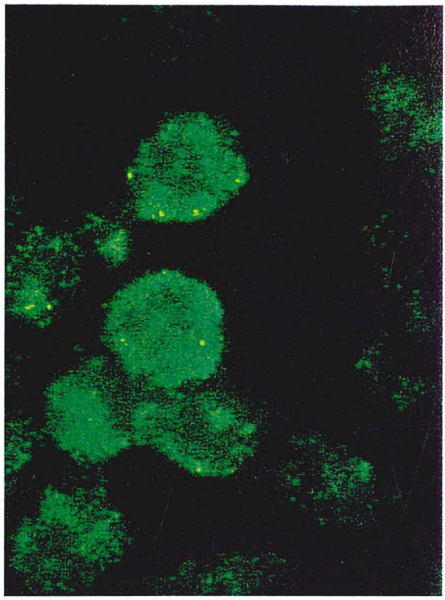


Abb.2b: Apoptotische Fibroblasten nach PDT
(In Zusammenarbeit mit dem Institut für Zoologie, Universität Salzburg)

©Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg; download unter www.biologiezentrum.at



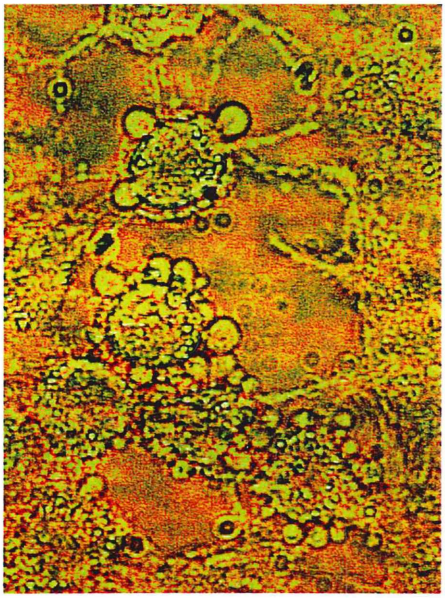


Abb.3: Apoptotische Fibroblasten im Transmissionsbild und mit Annexin V-FITC- und Probidium Iodid-Färbung als Apoptose-Marker

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg

Jahr/Year: 1998

Band/Volume: 12

Autor(en)/Author(s): Krammer Barbara

Artikel/Article: PHOTODYNAMISCHE TUMORTHERAPIE UND -DIAGNOSE. 17-24