

Terapeutyczne i diagnostyczne zastosowania kwasu 5-aminolewulinowego

Jarosław Piskorz, Marta Nowak, Tomasz Gośliński

Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Adres do korespondencji: Tomasz Gośliński, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań, tel.: 061 854 66 30, faks: 061 854 66 39, e-mail: tomasz.goslinski@ump.edu.pl

Therapeutic and diagnostic applications of 5-aminolevulinic acid

5-Aminolevulinic acid (ALA) is a naturally occurring amino acid in the human body involved in heme biosynthesis. After exogenous application it is converted to protoporphyrin IX (PpIX). Upon irradiation with a specific wavelength PpIX undergoes activation and produces reactive oxygen species (ROS). ROS cause destruction of cell membranes and organelles leading to the apoptotic or necrotic death of the target tissue. Properties of the ALA-PpIX system have been utilized in photodynamic diagnostics and photodynamic therapy of cancer (PDD and PDT). There is a growing interest in ALA-PDT therapy of non-carcinoma skin diseases, including inflammations, infections of different etiology (ALA-PACT) and in cosmetics.

Keywords: 5-aminolevulinic acid, photodynamic therapy, protoporphyrin IX.

© Farm Pol, 2009, 65(7): 476-482

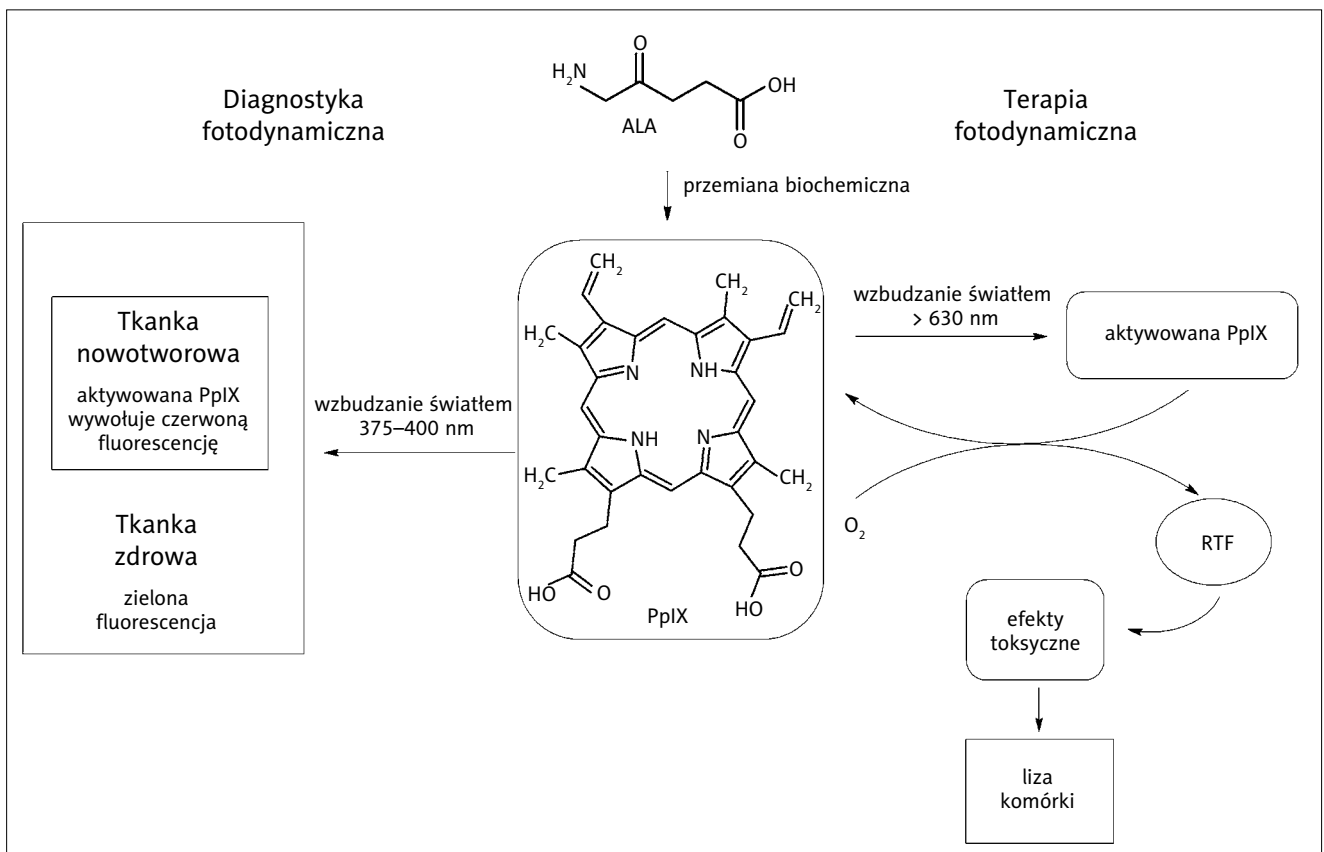
Terapia fotodynamiczna (PDT) jest stosunkowo nową metodą leczenia chorób nowotworowych. Dynamiczny rozwój PDT wskazuje również na możliwość jej zastosowania w leczeniu schorzeń nienowotworowych o różnej etiologii. W PDT lek (fotouczulacz, sensybilizator) po podaniu do tkanki chorobowo zmienionej i naświetleniu światłem o odpowiedniej długości fali wywołuje efekty cytotoksyczne oraz uszkodzające naczynia, powodując ostatecznie obumieranie tkanki na drodze apoptozy lub nekrozy. Jednym z podstawowych związków stosowanych w PDT jest kwas 5-aminolewulinowy (ALA), który jest prekursorem protoporfiryny IX (PpIX) wykazującej pożądane właściwości fotouczulające [1].

W USA, Ameryce Południowej i Azji wprowadzono 20% roztwór ALA (Levulan Kerastick; DUSA Pharmaceuticals, Wilmington, Stany Zjednoczone) ze wskazaniem do stosowania w rogowaceniach słonecznych.

Obecnie trwają badania dotyczące jego skuteczności w leczeniu trądziku o ciężkim przebiegu, ropnego zapalenia gruczołów potowych, przerostu gruczołów łojowych oraz w zabiegach odmładzania skóry. W Europie i Australii do leczenia wprowadzono estry kwasu 5-aminolewulinowego. Preparaty zawierające ester metylowy ALA (mALA) są stosowane pod nazwami handlowymi Metvix (PhotoCure ASA, Oslo, Norwegia) i Metvixia (Galderma, Dallas, Stany Zjednoczone) w leczeniu rogowaceń słonecznych oraz nowotworów skóry z wyłączeniem czerniaka. Wzrasta zainteresowanie ich zastosowaniem w leczeniu trądziku oraz w zabiegach odmładzania skóry [2]. Inne preparaty estrowe ALA firmy PhotoCure ASA to Hexvix i Benzvix. Znalazły one zastosowanie odpowiednio w diagnostyce nowotworów pęcherza moczowego oraz diagnostyce i leczeniu wczesnych nowotworów przetyku oraz układu pokarmowego [3].

Mechanizm reakcji fotodynamicznej i terapii fotodynamicznej

Do przeprowadzenia PDT niezbędne są trzy składniki – lek, tlen i światło. Fotouczulacz po wprowadzeniu do komórek jest naświetlany światłem o długości fali odpowiadającej maksimum jego absorpcji, przechodząc ze stanu podstawowego w singletowy stan wzbudzony. Dalsze przejście międzysystemowe do stanu trypletowego sprawia, że fotouczulacz może przekazać energię wzbudzenia na cząsteczkę tlenu. Wówczas tlen trypletowy rozpuszczony w płynach komórkowych przechodzi w tlen singletowy, a barwnik powraca do swojego stanu podstawowego. Uważa się, że wśród tzw. reaktywnych form tlenu (RFT), powstających w czasie reakcji fotodynamicznej, tlen singletowy ma dominujące znaczenie w toksycznych



Rycina 1. Schemat terapii i diagnostyki fotodynamicznej nowotworów; RFT – reaktywne formy tlenu

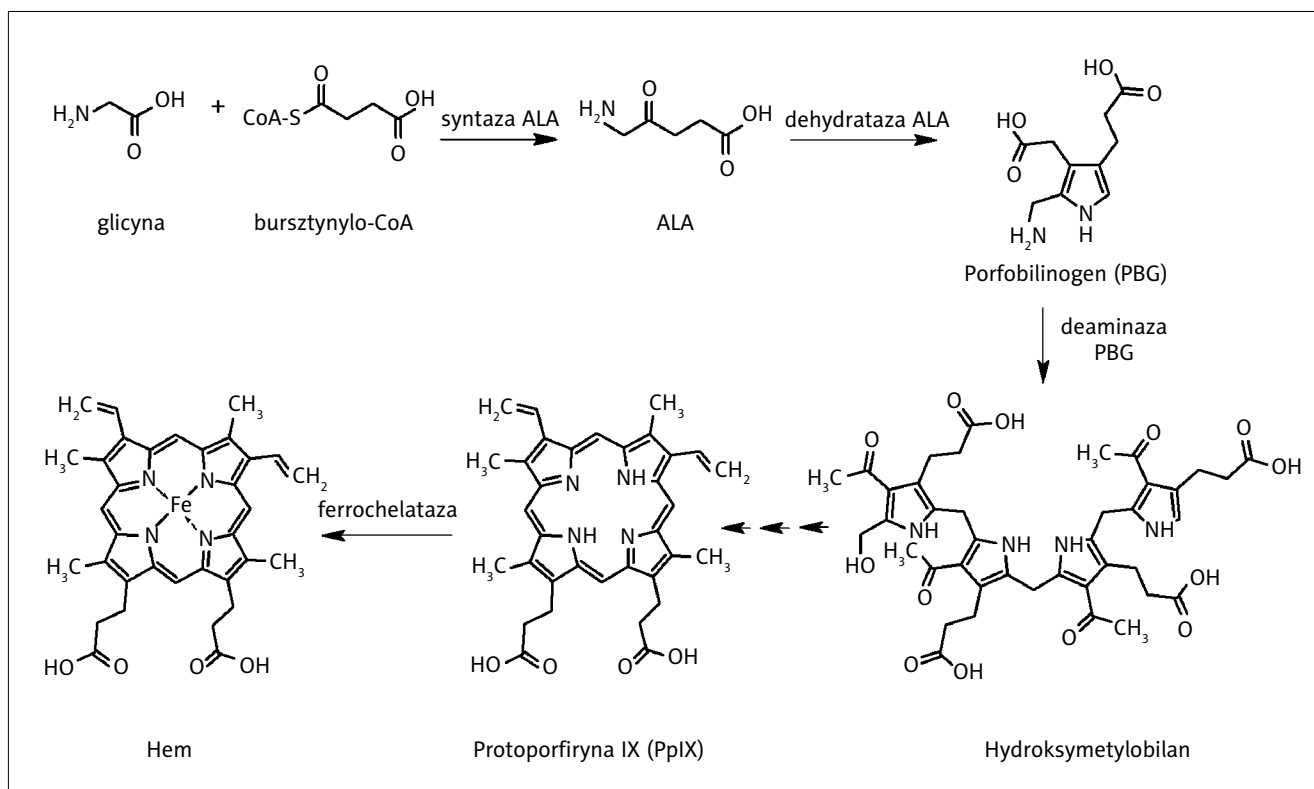
efektach PDT. W warunkach, gdy stężenie tlenu jest obniżone reakcja fotoutleniania przebiega przez wytworzenie form wolnorodnikowych, takich jak rodnik nadtlenkowy i anion ponadtlenkowy, które rozpoczynają niszczenie zmienionej chorobowo tkanki. Rozróżnienie mechanizmu dominującego w czasie prowadzonej terapii jest trudne [1, 4].

W terapii fotodynamicznej sensybilizator jest wzbudzany światłem o odpowiedniej długości fali, co wpływa na głębokość efektów terapeutycznych. Najbardziej efektywna dla tkanki ludzkiej jest absorpcja światła o długości fali powyżej 630 nm, tzn. w zakresie światła czerwonego. Światło o długości fali 630 nm penetruje tkankę na głębokość około 0,5 cm, natomiast o długości fali 700 nm na ok. 1,5 cm [5]. W diagnostyce fotodynamicznej (PDD) fluorescencję wywołuje się światłem o krótszych długościach fal (375–400 nm). Fotosensybilizator osiąga wyższe stężenie w tkance chorobowo zmienionej, szczególnie nowotworowej, niż w tkankach zdrowych, co wynika z jej bogatszego unaczynienia i uboższego drenażu limfatycznego. Lek po rozmieszczeniu w chorej tkance fluoryzuje na czerwono w zakresie 635–700 nm, natomiast zdrowe tkanki emitują wówczas zieloną fluorescencję (autofluorescencja) o długości fali około 500 nm, pochodzącą od związków naturalnie występujących w komórkach (rycina 1) [6].

Technika naświetlania wykorzystywana w PDT uzależniona jest od typu fotouczulacza oraz dostępności miejsca prowadzenia terapii. Ze względu na ograniczoną przenikalność światła, zmiany głębokie naświetla się przy pomocy włókien światłowodowych. Do naświetlania służą lasery barwnikowe pompowane laserami argonowym lub neodymowym, lasery na parach złota i miedzi, a także lasery diodowe oraz systemy diodowe (LED i OLED). Zastosowanie tych ostatnich wzrasta ze względu na niski koszt, mały rozmiar oraz możliwość naświetlania ściśle określonej powierzchni [5, 7].

Terapia fotodynamiczna oraz diagnostyka nowotworów

Terapia fotodynamiczna i diagnostyka fotodynamiczna są często rozpatrywane łącznie. Wynika to z faktu, że ten sam fotouczulacz może być wykorzystywany najpierw dla potrzeb diagnostyki, a później terapii. Istotą PDD jest emisja światła po naświetleniu tkanek zawierających naturalne fluorochromy lub wprowadzone fotosensybilizatory. Stężenia fluorochromów w tkance nowotworowej i zdrowej są inne, co powoduje różnicę natężenia fluorescencji emitowanej przez te tkanki. Efektem optycznym, wykorzystywanym w diagnostyce, jest emisja światła czerwonego przez tkankę nowotworową,



Rycina 2. Kluczowe etapy w biosyntezie hemu (na podstawie [13])

a zielonego przez tkankę zdrową [8]. Lek zgromadzony głównie w tkance nowotworowej poddaje się naświetlaniu zwykle po 24–72 godzinach wiązką światła o odpowiednim natężeniu. Aktywacja fotoczułacza skutkuje wytworzeniem RFT, które uszkadzają organelle komórkowe, doprowadzając do śmierci komórki. PDT i PDD pozwalają na wykrycie i leczenie zmian wieloogniskowych, rozlanych, z możliwością wielokrotnego powtórzenia zabiegu, bez ryzyka kumulacji środka toksycznego. Techniki te nie przyczyniają się do powstawania nowotworów wtórnych, w przeciwieństwie do niektórych form chemio- i radioterapii. Warto podkreślić, że efekty kosmetyczne terapii nowotworów skóry są bardzo dobre [9].

Terapia fotodynamiczna skierowana przeciw mikroorganizmom (PACT)

Wzrastająca antybiotykooporność, pojawienie się metycylinyopornych szczepów *Staphylococcus aureus* i wankomycynoopornych *Enterococcus faecalis*, skłaniają do poszukiwania alternatywnych metod leczenia różnych zakażeń drobnoustrojami. Terapia fotodynamiczna skierowana przeciw mikroorganizmom (PACT) daje szansę alternatywnego leczenia zakażeń skóry oraz jamy ustnej. Mikroorganizmy eliminowane przez PACT to bakterie, grzyby, wirusy i pierwotniaki. Nieumiejętne stosowanie antybiotyków wpływa na rozwój antybiotykooporności bakterii, natomiast

w przypadku wielokrotnie powtarzanego PDT nie stwierdzono powstawania oporności [10, 11].

Mechanizm fotodynamicznego działania ALA

Kwas 5-aminolewulinowy jest aminokwasem naturalnie występującym w organizmie, który bierze udział w biosyntezie hemu. Można wyróżnić dwa etapy ograniczające szybkość wspomnianej biosyntezy. Pierwszym z nich jest synteza ALA z glicyny i bursztynylo-CoA katalizowana przez syntazę i regulowana przez ujemne sprzężenie zwrotne. Drugim jest reakcja katalizowana przez ferrochelatazę włączenia jonu żelaza do cząsteczki protoporfiryny IX (PpIX), prowadząca do powstania hemu. Egzogenne podanie ALA prowadzi do ominięcia pierwszej etapu syntezy hemu. Ze względu na ograniczoną pojemność reakcji katalizowanej przez ferrochelatazę dochodzi do kumulacji PpIX w komórce (**rycina 2**) [12, 13].

Indukowana przez ALA biosynteza i kumulacja PpIX zachodzi z dużą wydajnością w tkance nowotworowej, szczególnie w powierzchniowych nowotworach skóry. Zaobserwowaną wrażliwość tych nowotworów na ALA-PDT powiązano z redukcją aktywności ferrochelatazy, wzrostem aktywności deaminazy porfobilinogenu oraz zaburzeniem funkcji warstwy rogowej naskórka [4]. Yamamoto i wsp. wykazali, że istotną rolę w kumulacji PpIX w komórkach odgrywa tlenek azotu (NO), który oddziałuje

z żelazem oraz grupami prostetycznymi białek i enzymów zawierających żelazo (hem, cytochrom C). Może to prowadzić do zmniejszenia wewnątrzkomórkowego stężenia żelaza oraz obniżenia aktywności enzymów mitochondrialnych, w tym ferrochelatazy, co w efekcie prowadzi do kumulacji PpIX. Zaobserwowano również, że ekspresja syntazy tlenu azotu jest zwiększona w komórkach nowotworowych, co może tłumaczyć selektywną kumulację PpIX w tkance nowotworowej. Z tego względu endogennie wytwarzany NO może być ważnym czynnikiem regulującym odpowiedź komórki na ALA-PDT [14].

Skuteczność ALA-PDD w chorobach jamy ustnej i układu pokarmowego niekiedy maleje z powodu obecności flory bakteryjnej, która może wytwarzać fluorescencyjne porfiryny. Celem uniknięcia wyników fałszywie dodatnich zaleca się jej usunięcie przy pomocy odpowiednich środków antyseptycznych przed podaniem ALA. Obecność flory bakteryjnej nie powinna wpływać na skuteczność samego leczenia chorób nowotworowych przy pomocy ALA-PDT [15].

Zastosowanie kwasu 5-aminolewulinowego w PDT

Diagnostyka fotodynamiczna nowotworów

Indukowana przez ALA fluorescencja PpIX ma coraz większe znaczenie w wykrywaniu i diagnostyce zmian nowotworowych, a także w obrazowaniu zmienionych nowotworowo tkanek podczas operacji chirurgicznych.

Badania kliniczne przeprowadzone na Oddziale Otolaryngologii oraz Chirurgii Głowy i Szyi w Szpitalu na Węgrzech, dotyczyły skuteczności ALA-PDD w diagnostyce nowotworów gardła i krtani. Grupie 31 pacjentów podano 1% roztwór chlorowodorku ALA w postaci inhalacji, a następnie po 1,5–2 godzinnej inkubacji, tkankę naświetlono światłem o długości fali 375–400 nm. Zmiany nowotworowe wykazywały czerwoną fluorescencję, natomiast zdrowe tkanki emitowały fluorescencję zieloną. Wyraźna granica między tkanką nowotworową a zdrową umożliwiła przeprowadzenie operacji chirurgicznej lub radioterapii. Metoda detekcji odznaczała się 96% czułością, co stwarza możliwość jej zastosowania w wykrywaniu wczesnych, powierzchniowych nowotworów gardła i krtani [6].

Sharwani i wsp. sprawdzili na grupie 71 pacjentów użyteczność fluorescencji indukowanej przez ALA protoporfiryny IX w diagnostyce potencjalnie złośliwych zmian nowotworowych jamy ustnej (leukoplakia). Najpierw podano chorym ALA w postaci roztworu do płukania jamy ustnej, a następnie naświetlono zmiany. Zauważono znaczny wzrost intensywności czerwonej fluorescencji w miejscach objętych zmianami dysplastycznymi. Czulość zastosowanej metody mieściła się w przedziale 83–90%,

a specyficzność różnicowania zmian dysplastycznych i łagodnych występowała na poziomie 79–89%. Wcześniejsze badania, przeprowadzone na grupie 28 pacjentów z podejrzeniem złośliwych zmian w jamie ustnej, wykazały 95% czulość oraz 97% specyficzność ALA-PDD [16].

ALA-PDD zastosowano również w cystoskopii oraz podczas zabiegu przezcewkowego wycięcia guza pęcherza moczowego. Terapię przeprowadzono na grupie 49 pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego. Zastosowanie ALA umożliwiło wykrycie zmian nowotworowych u 24 pacjentów, u których standardowa cystoskopia dała wynik negatywny. Potwierdzona histopatologicznie czulość metody na poziomie 87% oraz brak miejscowych i ogólnoustrojowych działań niepożądanych po podaniu ALA stwarzają perspektywę użycia ALA-PDD w cystoskopii jako rutynowej metody diagnozy powierzchniowych nowotworów pęcherza moczowego [17].

Kwas 5-aminolewulinowy zastosowano również w neurochirurgii podczas śródoperacyjnego obrazowania nowotworów mózgu. Nowa technika umożliwiła całkowite usunięcie zmian nowotworowych dzięki uwidocznieniu wizualnie niewykrywalnych pozostałości guza oraz przyczyniła się do wyraźnego przedłużenia czasu życia pacjentów po zabiegach resekcji złośliwych glejaków [18]. W Instytucie Neurochirurgicznym w Moskwie mikrochirurgicznie wycinano złośliwe nowotwory mózgu, przy wspomaganiu metodą ALA-PDD. Terapii poddano 17 pacjentów, u których zdiagnozowano złośliwe nowotwory mózgu, w tym glejaki, przerzuty oraz nowotwory podstawy czaszki. Guzy usunięto mikrochirurgicznie, stosując endoskopową kontrolę pola operacyjnego opartą na tradycyjnej obserwacji w świetle białym oraz fluorescencją po naświetlaniu światłem niebieskim o długości fali 400 nm. We wszystkich przypadkach glejaka wielopostaciowego oraz w 3 z 4 przypadków przerzutów zaobserwowano wyraźną fluorescencję. Lepsza obserwacja pola operacyjnego pozwoliła na całkowite usunięcie nowotworów [19].

Terapia fotodynamiczna nowotworów

Stosowanie ALA-PDT jest skuteczne w płaskonabłonkowych i podstawnokomórkowych nowotworach skóry oraz w leczeniu rogowaceń. Kwas 5-aminolewulinowy znalazł również zastosowanie w leczeniu nowotworów głowy i szyi, przetyku, jamy ustnej oraz pęcherza moczowego. ALA stosuje się miejscowo, ponieważ jego penetracja jest niewielka. Leczenie z jego udziałem jest długotrwałe i wymaga dużego nakładu energii świetlnej, a dodatkowo może powodować ból mimo zastosowania środków przeciwbólowych. Typowym preparatem

Terapia fotodynamiczna skierowana przeciw mikroorganizmom (PACT) daje szansę alternatywnego leczenia zakażeń skóry oraz jamy ustnej. Mikroorganizmy eliminowane przez PACT to bakterie, grzyby, wirusy i pierwotniaki.

W ostatnich latach terapia fotodynamiczna z zastosowaniem ALA cieszy się rosnącym zainteresowaniem w leczeniu nienowotworowych chorób skóry m.in. rogowaceń słonecznych, ostrego zapalnego trądziku, ropnego zapalenia gruczołów potowych oraz przerostu gruczołów łojowych.

jest 20% krem aplikowany na 4 godziny przed planowanym naświetlaniem dawką promieniowania 150 J/cm² [3].

Skuteczność ALA oraz mALA w leczeniu nowotworów podstawno-komórkowych zbadano na grupie 24 pacjentów ze 112 powierzchniowymi zmianami nowotworowymi. Po jednokrotnej terapii termozelem zawierającym ALA lub mALA oraz naświetlaniu laserem diodowym uzyskano całkowitą odpowiedź w przypadku 60% zmian nowotworowych. Pozostałe zmiany, z wyjątkiem 3%, zostały skutecznie usunięte po 3 sesjach ALA-PDT [20].

Chen i wsp. poddali leczeniu 24 pacjentów z rakiem brodawkowatym jamy ustnej, używając ALA w postaci 20% żelu. Całkowite wyleczenie chorych osiągnięto po maksimum sześciu cyklach terapii, powtórzonych w odstępach tygodniowych [12]. ALA-PDT przeprowadzono również u pacjenta z rozległym zewnątrzustnym rakiem brodawkowatym połączonym z guzem wewnątrzustnym zajmującym całą prawą błonę śluzową policzka. Po miejscowym podaniu ALA nowotwór naświetlono czerwonym światłem o długości 635 nm przy użyciu diody LED. Zewnątrzustny guz został całkowicie usunięty po 6 sesjach terapii, natomiast wewnątrzustny po 22 sesjach. Po 6 miesiącach nie zaobserwowano nawrotów nowotworu [21].

Stummer i wsp. opisali przypadek kobiety z lewym czotowym glejakiem wielopostaciowym leczonym chirurgicznie, radioterapią i chemioterapią. Po roku od usunięcia guza, wykryto odległą zmianę w lewej wysepce mózgu. Po nieskutecznej radio- i chemioterapii zastosowano PDT po doustnym podaniu ALA. Naświetlenie przeprowadzono przy użyciu lasera diodowego wyposażonego w dyfuzor celem dostarczenia światła do leczonej tkanki. Już po 24 godzinach od zakończenia terapii zaobserwowano niemal całkowite zaniknięcie guza. Po 56 miesiącach nie zauważono nawrotu nowotworu [22].

Terapia ALA-PDT może być również stosowana w leczeniu niektórych dysplastycznych stanów przednowotworowych, często poprzedzających powstawanie raka szyjki macicy. Grupie 19 pacjentek ze stwierdzoną dysplazją szyjki macicy podano ALA w postaci 20% maści. Po upływie 4–5 godzin zmiany naświetlono

światłem o dawce energii 120 J/cm². Stany dysplastyczne ustąpiły u 12 pacjentek (brakuje danych o pozostałych 7 pacjentkach, które nie zgłosiły się do badania kontrolnego) [9].

Nienowotworowe zmiany skóry i błon śluzowych

W ostatnich latach terapia fotodynamiczna z zastosowaniem ALA cieszy się rosnącym zainteresowaniem w leczeniu nienowotworowych chorób skóry m.in. rogowaceń słonecznych, ostrego zapalnego trądziku, ropnego zapalenia gruczołów potowych oraz przerostu gruczołów łojowych [2]. Wiegell i wsp. przeprowadzili terapię fotodynamiczną u 15 pacjentów z trądzikiem. Po nałożeniu około 2 g kremu z ALA lub mALA i odczekaniu 3 h, skórę naświetlono czerwonym światłem w dawce 37 J/cm². Po 12 tygodniach uzyskano 59% zmniejszenie liczby zmian zapalnych [23]. ALA-PDT okazała się również skuteczna w leczeniu nienowotworowych schorzeń sromu. Badaniom poddano 6 pacjentek z rozległymi zmianami chorobowymi sromu, którym podawano maść zawierającą 20% ALA na standardowym podłożu eucerynowym. Świąd i pieczenie sromu zmniejszyło się lub ustąpiło u większości pacjentek po 2–6 zabiegach [9].

ALA-PDT wydaje się również obiecującą terapią w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie, niektóre grzyby, pierwotniaki i wirusy (PACT). Krawczyk-Krupka i wsp. zastosowali ALA-PDD i ALA-PACT u pacjenta z zapaleniem napletka i żołądździ prącia (balanoposthitis), wywołanym przez *Acinetobacterium baumannii* oraz gronkowca koagulazoujemnego, wrażliwego na metycylinę. Wcześniejsze leczenie antybiotykami o szerokim spektrum działania, lekami przeciugrzybicznymi, przeciwhistaminowymi, steroidami oraz zabiegi kriochirurgii okazały się nieskuteczne. PDT po miejscowym podaniu 20% emulsji ALA przeprowadzono pięciokrotnie w odstępach dwutygodniowych, co doprowadziło do całkowitego ustąpienia stanu zapalnego [24]. Dziewięciu pacjentów z zakażeniami grzybiczymi skóry poddano terapii ALA-PACT. Fotouczulacz podano na leczoną powierzchnię w postaci 20% kremu i po odczekaniu 4 godzin przeprowadzono jej naświetlenie światłem czerwonym o dawce promieniowania 75 J/cm². Kontrolę postępu leczenia przeprowadzono po 7 dniach i terapię powtórzono jeszcze trzykrotnie w odstępach tygodniowych. U 6 z 9 pacjentów zaobserwowano ustąpienie infekcji [25]. Gardlo i wsp. porównali skuteczność mALA-PDT i siarczanu paromomycyny w leczeniu skórnej leiszmaniozy u pacjenta z owrzodziałymi zmianami skórnymi. Całkowite wyleczenie uzyskano w przypadku 5 zmian skórnych poddanych wielokrotnej terapii fotodynamicznej oraz 2 z 5 zmian leczonych siarczanem paromomycyny. Również zakażenia odporne na zastosowany aminoglikozyd zostały skutecznie wyleczone

Działania niepożądane towarzyszące stosowaniu ALA, takie jak ból w miejscu podania oraz pojawianie się zmarszczek i hiperpigmentacji minimalizuje się poprzez umiejętne dobranie czasu pomiędzy podaniem leku, a naświetlaniem, a także zmniejszenie dawki dzięki zastosowaniu pochodnych estrowych. Dodatkowo stosuje się procedury polegające na usunięciu z tkanki pozostałego po terapii ALA, chłodzeniu powierzchni poddanej naświetleniu oraz użyciu kremów z filtrami w okresie 24–48 godzin po terapii celem zapobiegania efektem cytotoksycznym.

przy pomocy mALA-PDT [26]. ALA-PDT zastosowano także w leczeniu brodawek spowodowanych różnymi wirusami brodawczaka ludzkiego (HPV). Badania kliniczne wykazały bardzo wysoką efektywność terapii w leczeniu brodawek płaskich oraz dobrą w terapii brodawek stóp [27].

Perspektywy

Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) zaakceptowała Levulan do stosowania w terapii fotodynamicznej rogowaceń słonecznych bez cech rozrostu i hiperkeratozy występujących na twarzy i skórze głowy. Niemniej jednak Levulan bywa także stosowany w trądziku, ropnym zapaleniu gruczołów potowych, przeroście gruczołów łojowych oraz w zabiegach odmładzania skóry [2]. Wciąż prowadzi się intensywne badania związane z użyciem ALA w terapii fotodynamicznej nowotworów [9, 12, 20–22] oraz diagnostyce nowotworów [6, 16, 17], w tym podczas śródoperacyjnego obrazowania nowotworów mózgu [18, 19]. Obiecujące perspektywy stwarza ALA-PACT [24–27] z uwagi na pojawianie się szczepów opornych na tradycyjną antybiotykoterapię.

Czynnikiem ograniczającym skuteczność ALA-PDT jest jego niewielka penetracja w głąb tkanek. Odtłuszczenie skóry przed zabiegiem oraz modyfikacja postaci leku, w jakiej ALA jest podawany miejscowo, z pewnością poprawi jego przenikanie przez skórę. Obiecujące wyniki uzyskano dla podłoża żelowego składającego się z monooleinianu glicerolu i wody. Wstępne badania wykazały wyższą produkcję PpIX po zastosowaniu 2% żelu ALA, niż standardowej 20% maści [2, 20, 28]. Zaobserwowano, że wyższą kumulację PpIX w komórkach można uzyskać przy równoległym użyciu związków chelatujących żelazo [29]. Nadziejemy na lepszą penetrację tkanek i wyższą kumulację PpIX w komórkach daje zastosowanie estrowych, bardziej lipofilnych pochodnych ALA. W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na mysiej linii komórkowej B-16 porównano poziom indukcji i kumulacji PpIX w komórkach po podaniu ALA oraz jego estrów heksylowego, oktylowego i decylowego. Stężenia PpIX w komórkach były zbliżone lub wyższe po użyciu 4-krotnie niższej dawki estrów ALA, niż jego wolnej formy [20, 30, 31].

Działania niepożądane towarzyszące stosowaniu ALA, takie jak ból w miejscu podania oraz pojawianie się zmarszczek i hiperpigmentacji minimalizuje się poprzez umiejętne dobranie czasu między podaniem leku, a naświetlaniem, a także zmniejszenie dawki dzięki zastosowaniu pochodnych estrowych. Dodatkowo stosuje się procedury polegające na usunięciu z tkanki pozostałego po terapii ALA, chłodzeniu powierzchni poddanej naświetleniu oraz użyciu kremów z filtrami w okresie 24–48 godzin po terapii celem zapobiegania efektom cytotoksycznym [2, 23].

W najbliższych latach będziemy z pewnością obserwować dalszy dynamiczny rozwój diagnostyki i terapii z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego. Sukces tej stosunkowo młodej metody leczenia zależy od współdziałania specjalistów różnych dziedzin, pracujących na wszystkich etapach prowadzenia terapii fotodynamicznej. Wydaje się, że dużą rolę w rozwiązaniu kluczowych problemów, dotyczących przede wszystkim minimalizacji działań niepożądanych, mogą odegrać farmaceuci kliniczni.

Otrzymano: 2009.01.13 · Zaakceptowano: 2009.03.12

Piśmiennictwo

- Allison R.R., Bagnato V.S., Cuenca R. i wsp.: The future of photodynamic therapy in oncology. *Future Oncol.* 2006, 2 (1), 53-71.
- Gold M.H.: Photodynamic Therapy: Indications and Treatment. *Aesthet Surg J.* 2008, 28 (5), 545-552.
- Allison R.R., Downie G.H., Cuenca R. i wsp.: Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagn Photodyn Ther.* 2004, 1 (1), 27-42.
- Donnelly R.F., McCarron P.A., Tunney M.M.: Antifungal photodynamic therapy. *Microbiol Res.* 2008, 163 (1), 1-12.
- Kübler A.C.: Photodynamic therapy. *Med Laser Appl.* 2005, 20 (1), 37-45.
- Csanády M., Kiss J.G., Iván L. i wsp.: ALA (5-aminolevulinic acid)-induced protoporphyrin IX fluorescence in the endoscopic diagnosis and control of pharyngo-laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2004, 261 (5), 262–266.
- Steiner R.: New laser technology and future applications. *Med Las Appl.* 2006, 62 (21), 955-963.
- Stringer M., Moghissi K.: Photodiagnosis and fluorescence imaging in clinical practice. *Photodiagn Photodyn Ther.* 2004, 1 (1), 9-12.
- Sieroń A., Stręk W., Podbielska H. (red.): Diagnostyka i terapia fotodynamiczna; rozdz. 3, Diagnostyka fotodynamiczna; rozdz. 4, Nowotwory skóry; rozdz. 5, PDT w ginekologii; Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2004, 185-278.
- Wainwright M., Crossley K.B., Photosensitising agents-circumventing resistance and breaking down biofilms: a review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2004, 53 (2), 119-126.
- Gosłinski T., Konopka K., Piskorz J. i wsp.: Perspektywy zastosowania fotodynamicznej terapii skierowanej przeciw mikroorganizmom-PACT. *Post. Mikrobiol.* 2008, 47 (4), 447-456.
- Chen H.M., Yu C.H., Tsai T. i wsp.: Topical 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy for oral verrucous hyperplasia, oral leukoplakia and oral erythroleukoplakia. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2007, 4 (1), 44-52.
- Graczyk A. (red.): Fotodynamiczna metoda rozpoznawania i leczenia nowotworów; rozdz. 2, Fotouczulacze stosowane w metodzie fotodynamicznej PDT rozpoznawania i leczenia nowotworów; Dom Wydawniczy Bellona, Warszawa 1999, 95-183.
- Yamamoto F., Ohgari Y., Yamaki N. i wsp.: The role of nitric oxide in δ -aminolevulinic acid (ALA)-induced photosensitivity of cancerous cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007, 353 (3), 541-546.
- Dietel W., Pottier R., Pfister W. i wsp.: 5-Aminolevulinic acid (ALA) induced formation of different fluorescent porphyrins: A study of the biosynthesis of porphyrins by bacteria of the human digestive tract. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2007, 86 (1), 77-86.
- Sharwani A., Jerjes W., Salih V. i wsp.: Fluorescence spectroscopy combined with 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in detecting oral premalignancy. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2006, 83 (1), 27-33 i odnośniki tam zawarte.
- De Dominicis C., Liberti M., Perugia G. i wsp.: Role of 5-aminolevulinic acid in the diagnosis and treatment of superficial bladder cancer: improvement in diagnostic sensitivity. *Urology.* 2001, 57 (6), 1059–1062.
- Grieb P. Kwas 5-aminolewulinowy (ALA) i jego zastosowanie w neurochirurgii. *Neurol Neurochir Pol.* 2004, 38 (3), 201-207.
- Potapov A.A., Usachev D.J., Loshakov V.A. i wsp.: First experience in 5-ALA fluorescence-guided and endoscopically assisted microsurgery of brain tumors. *Med. Laser Appl.* 2008, 23 (4), 202–208.
- Schleier P., Berndt A., Kolossa S. i wsp.: Comparison of aminolevulinic acid (ALA)-thermogel-PDT with methyl-ALA-thermogel-PDT in basal cell carcinoma. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2007, 4 (3), 197-201.

21. Chen H.M., Chen C.T., Yang H. i wsp.: Successful treatment of an extensive verrucous carcinoma with topical 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy. *J. Oral. Pathol. Med.* 2005, 34 (4), 253-256.
22. Stummer W., Beck T., Beyer W. i wsp.: Long-sustaining response in a patient with non-resectable, distant recurrence of glioblastoma multiforme treated by interstitial photodynamic therapy using 5-ALA: case report. *J. Neurooncol.* 2008, 87 (1), 103-109.
23. Wiegell S.R., Wulf H.C.: Photodynamic therapy of acne vulgaris using 5-aminolevulinic acid versus methyl aminolevulinate. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2006, 54 (4), 647-51.
24. Kawczyk-Krupka A., Ledwon A., Malyszek J. i wsp.: Balanoposthitis with epithelial dysplasia treated by photodynamic therapy. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2007, 4 (1), 76-78.
25. Calzavara-Pinton P.G., Venturini M., Sala R.: A comprehensive overview of photodynamic therapy in the treatment of superficial fungal infections of the skin. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2005, 78 (1), 1-6.
26. Gardlo K., Horská Z., Enk C.D. i wsp.: Treatment of cutaneous leishmaniasis by photodynamic therapy. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2003, 48 (6), 893-896.
27. Polak-Pacholczyk I., Lassota-Falczyńska M., Kozłowska M. i wsp.: Metoda fotodynamiczna (ALA-PDT) w leczeniu brodawek zwykłych, płaskich i stóp. *Post. Dermatol. Alergol.* 2008, 25 (4), 143-150.
28. Turchiello R.F., Vena F.C.B., Maillard P. i wsp.: Cubic phase gel as a drug delivery system for topical application of 5-ALA, its ester derivatives and m-THPC in photodynamic therapy (PDT). *J. Photochem. Photobiol. B.* 2003, 70 (1), 1-6.
29. Chang S.C., MacRobert A.J., Porter J.B. i wsp.: The efficacy of an iron chelator (CP94) in increasing cellular protoporphyrin IX following intravesical 5-aminolevulinic acid administration: an *in vivo* study. *J. Photochem. Photobiol. B.* 1997, 38 (2-3), 114-122.
30. Vena F.C.B., Turchiello R.F., Laville I. i wsp.: 5-Aminolevulinic acid ester-induced protoporphyrin IX in a murine melanoma cell line. *Lasers Med. Sci.* 2004, 19 (2), 119-126.
31. Di Venosa G., Fukada H., Batlle A. i wsp.: Photodynamic therapy: Regulation of porphyrin synthesis and hydrolysis from ALA esters. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2006, 83 (2), 129-136.