

PROTOTIPO DE FUENTE LUMÍNICA PARA TERAPIA FOTODINÁMICA DISEÑADO EN EL CENTRO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA



Patricia Pons¹, Roald F. Pittau¹, Néstor A. Boetto¹, Rafael Garzón* y Agustín Aoki¹

¹ Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
* 1ra. Cátedra de Dermatología. Hospital Nacional de Clínicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Resumen

La Terapia Fotodinámica (PDT) es un tratamiento del cáncer basado en la acumulación específica de una droga fotosensible en el tejido maligno. Su posterior radiación con una longitud de onda apropiada, induce la producción de singuletes de oxígeno responsable de la peroxidación de las organelas y la muerte de las células neoplásicas.

En el Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad Nacional de Córdoba se diseñó y construyó un prototipo de fuente de irradiación no coherente de 630nm el que permitió la aplicación de PDT por primera vez en nuestro país.

Este prototipo ha sido aplicado satisfactoriamente en el tratamiento de la queratosis actínica. Fueron tratadas 100 lesiones en 27 pacientes utilizando como fotosensibilizador al ácido δ amino levulínico (ALA) al 20 %. La activación lumínica duró de 5 a 20 minutos dependiendo de la extensión y profundidad de la lesión .

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: Remisión Completa de las lesiones (RC) 84%, Remisión parcial (RP) 10%, Sin respuesta (SR) 0% y Sin datos (SD) 6%. En el último grupo están incluidos aquellos pacientes que no retornaron para su evaluación.

La alta efectividad, sumada a la inmejorable respuesta cosmética y la reducida agresividad, hacen de PDT el método de elección en el tratamiento de esta patología.

El prototipo utilizado en este estudio demostró ser además de no invasivo y bien tolerado, altamente efectivo.

Palabras claves: Terapia fotodinámica, PDT, Queratosis, Ácido δ amino levulínico, ALA, Cáncer de piel, Fuente no coherente.

Abstract

The Photodynamic Therapy (PDT) is a cancer treatment based on specific accumulation of a photosensitizer in the malignant tissue and its subsequent irradiation at appropriate wave lengths induces the production of oxygen singlets responsible for peroxidación of cell organelles and cell death.

A prototype of a 630 nm non coherent light source designed and constructed at the Centre of Electron Microscopy of The Cordoba National University allowed a successful application of PDT, in nonmelanoma skin tumors, for the first time in this Country.

A topical treatment with 20% δ aminolevulinic acid (ALA) in aqueous solution was applied in 100 lesions of actinic keratosis of 27 patients.

The results obtained in this study were the following: Complete Remission (RC) 84%, Partial Remission (RP) 10%, No Response (SR) 0% and No data (SD) 6%. In the latter group are included those patients who did not return for reevaluation.

The high efficiency plus the excellent cosmetic response and low aggressiveness, make the PDT the method of choice treatment of this skin pathology.

In addition to be no invasive and well tolerated, the prototype of light source used in this study, was remarkably effective.

Key words: Photodynamic therapy (PDT). Light source. Cancer. ALA. Skin cancer. Incoherent light

Introducción

La Terapia Fotodinámica (PDT) es un tratamiento del cáncer basado en la acumulación específica de una droga fotosensible en la célula neoplásica, la que irradiada a una longitud de onda apropiada induce la producción local de singuletes de oxígeno responsables de la peroxidación de las organelas celulares y la muerte de las células neoplásicas. (1). La mayor ventaja de este tratamiento se basa en que las células cancerosas son selectivamente destruidas mientras que las células normales adyacentes, que eliminan rápidamente el fotosensibilizador, no son afectadas. (2)

El concepto de PDT fue introducido a comienzos del siglo XX por Raab (3) quien demostró en el paramecio que ciertos agentes químicos activados por la luz producen diferentes procesos biológicos, incluyendo la lisis tisular. En 1955 se observó que luego de la inyección de hematoporfirina, ésta se acumula selectivamente en tejidos cancerosos. Esta propiedad fue utilizada con fines diagnósticos (4). A pesar de que las bases científicas de P.D.T. son conocidas desde hace casi un siglo, ellas no han tenido una aplicación práctica hasta años recientes. El primer informe clínico con PDT fue publicado en 1976 en tumores de vejiga utilizando un derivado de la hematoporfirina como fotosensibilizador (5). En 1978, Dougherty (6) publicó los primeros resultados obtenidos con este método en lesiones malignas de piel

La primera generación de fotosensibilizadores, la hematoporfirina y sus derivados, tiene un adverso efecto secundario. Debido a su lenta eliminación provoca una prolongada y generalizada fotosensibilidad cutánea. Las llamadas drogas de segunda generación han mejorado sensiblemente este aspecto y varios derivados de la porfirina están en fases avanzadas de aplicación clínica. El ácido δ amino levulínico (ALA) se encuentra en fase I/II de desarrollo clínico y se han publicado excelentes resultados en el tratamiento de lesiones cutáneas superficiales no pigmentadas (7, 8, 9).

En Argentina la PDT no ha tenido difusión. Una de las causas de la falta de adhesión al método, puede ser atribuida al alto costo de

las fuentes de irradiación para la activación de los fotosensibilizadores como láseres y lámparas no coherentes de alta potencia (10). Otras dificultades están vinculadas con el difícil y oneroso mantenimiento de esos aparatos. Esta situación motivó a investigadores del Centro de Microscopía Electrónica a desarrollar una fuente luminosa eficiente pero de bajo costo y simple servicio. Pittau et al, (11).

En este informe describiremos los resultados obtenidos durante más de dos años de aplicación de PDT en lesiones preneoplásicas de piel.

Materiales y Métodos

Se seleccionaron 27 pacientes ambulatorios del consultorio de Cirugía Plástica de Hospital Nacional de Clínicas con diagnóstico de queratosis actínica. (Tabla I)

Los protocolos utilizados siguieron los delineamientos aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNC y contaron con el consentimiento escrito de los pacientes.

Las lesiones fueron examinadas y diagnosticadas clínicamente. Luego de una cuidadosa limpieza con eliminación de costras o detritus, se realizó biopsia o estudio citológico. En el caso de existir más de una lesión se seleccionó a la más significativa para su seguimiento. En cada consulta se fotografiaron las lesiones tratadas para llevar un registro gráfico completo de su evolución.

Las lesiones fueron pinceladas con una solución acuosa de ALA al 20 % y se protegió de la luz solar con un autoadhesivo opaco. Luego de un período de 3 a 6 h para permitir la acumulación de la droga en las células cancerosas y la síntesis de Protoporfirina IX (el derivado activo), las lesiones fueron expuestas a la luz de 630 nm. El tiempo de irradiación fue calculado de acuerdo a la superficie y profundidad de la lesión para obtener una energía de 40 a 100 j/cm^2 .

El prototipo de fuente luminosa consiste en una caja de acero inoxidable provista de una lámpara de arco de 400W, cuyo haz es concentrado con reflectores y espejos. La longitud

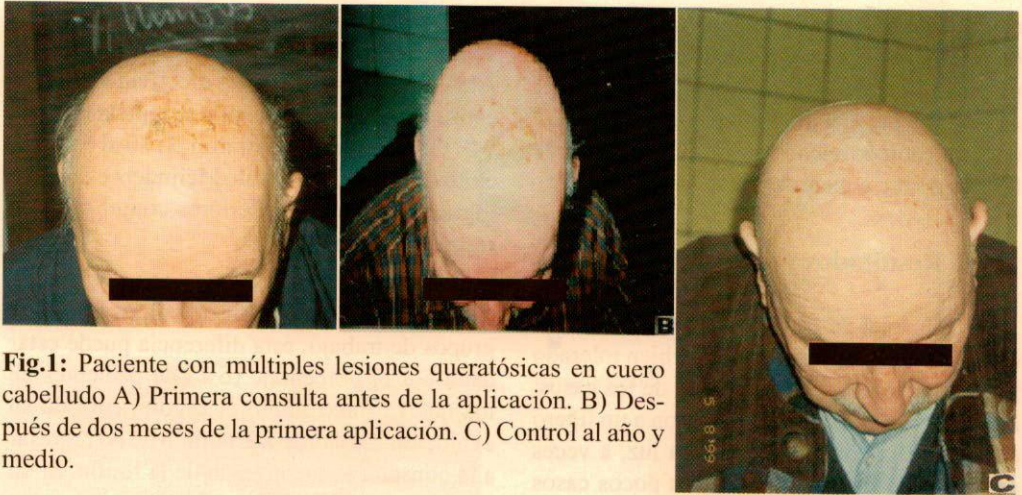


Fig.1: Paciente con múltiples lesiones queratósicas en cuero cabelludo A) Primera consulta antes de la aplicación. B) Después de dos meses de la primera aplicación. C) Control al año y medio.

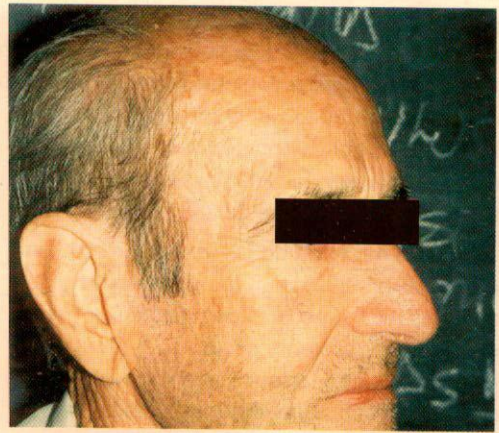
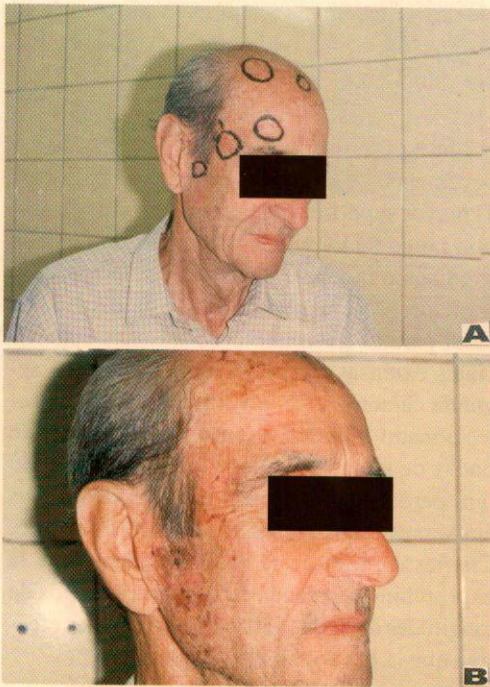


Fig.2: Paciente con queratosis actínica en cara y cuero cabelludo. A) Primera consulta. Los círculos delimitan las lesiones más significativas. B) Una semana después de la aplicación. C) Un mes después.



Fig.3: Paciente con múltiples lesiones de queratosis actínica en nariz y mejillas. A) Primera consulta B) 20 días después de la aplicación de PDT.

de onda de 630 nm fue obtenida con un filtro de interferencia de pasabanda lográndose una potencia final de 70 a 150mW/cm². Pittau et al (11). La superficie de exposición es de 25 cm², un campo mucho mayor al generado por láseres de luz coherente (Fig. 4).

Resultados y Conclusiones

Un total de 100 lesiones fueron sometidas a PDT. El procedimiento fue bien tolerado por los pacientes. En la mayoría de los casos, los efectos colaterales se redujeron a un ligero eritema de la zona expuesta a la luz, a veces acompañado de edema. En unos pocos casos de piel extremadamente sensible se generaron pequeñas ampollas que desaparecieron espontáneamente dentro de las 48 hs. El dolor manifestado por algunos pacientes varió de acuerdo a su sensibilidad y el grado de desarrollo de la lesión. La aplicación en zonas ulceradas fue más molesta, aunque en esos casos el dolor fue tolerable sin necesidad de anestésicos.

La duración de la irradiación se ajustó a la profundidad y tamaño de la lesión. Para aquellas más superficiales y pequeñas (<1cm de diámetro) sólo fue necesario 5 minutos de tratamiento. Las lesiones superficiales ulceradas fueron expuestas durante 10 minutos. Las grandes (>1cm) y profundas, y en las que no se logró una limpieza completa de zona afectada fueron irradiadas por 20 minutos.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron los siguientes: una remisión completa de la lesión (RC) en el 84% de los pacientes. Una remisión parcial (RP) fue observada en un 10% de las lesiones. Sin datos (SD) 6%. Y no hubo ningún paciente sin respuesta (SR). En la RC, la lesión desapareció clínicamente. Se consideró RP cuando el tamaño se redujo 50% o más. La reducción de menos del 50% fue considerada sin respuesta. Aquellos pacientes en los que no se completó su seguimiento fueron agrupados como SD.

La edad promedio de los pacientes estudiados fue de 77 años. La localización de las lesiones fue predominantemente en zonas expuestas a la radiación solar, siendo la distribución de las mismas 40% en cara, 40% cuero cabelludo y 30% en el tronco. En las fotografías se ilustra la evolución de las lesiones durante el tratamiento. (Fig. 1, 2 y 3)

El análisis de los trabajos publicados sobre el tratamiento de queratosis actínica con ALA-PDT revela una alta efectividad que alcanza un 100 % de remisión completa (12, 13, 14). Otros grupos registraron un 80 al 90 % de éxito (15, 7,8). Solamente Meijnders et al, (16) lograron resultados inferiores con el 60% de respuesta completa.

Nuestros resultados positivos son aparentemente menores a los obtenidos por otros grupos de trabajo, esta diferencia puede estar dada por el porcentaje (6%) de pacientes en los que se interrumpió el seguimiento de su evolución. La causa más común de no regresar a la consulta es la curación de la lesión. Si tal es el caso al sumar este porcentaje a los pacientes con remisión completa alcanzaría al 90 %, valor comparable con los otros resultados publicados.

A pesar de la menor energía generada por nuestro prototipo, la eficiencia del mismo puede estar relacionada a dos características: 1) mayor superficie de tratamiento y 2) un amplio rango de longitudes de onda en el haz de irradiación incoherente. El área amplia de exposición (25 cm²) hacen que este diseño sea ideal para el tratamiento de lesiones superficiales extensas de piel. Con respecto a la segunda característica, los filtros que hemos seleccionado impiden el paso de longitudes de ondas de riesgo como son las menores a 630 nm, pero a su vez, permiten el paso de otras emisiones inclusive en el espectro infrarrojo. Charlesworth et al. (17), demostraron que la exposición combinada de diferentes rangos de longitudes de onda (630 y 670 nm) es más efectiva que la luz coherente de los lasers.

En una publicación reciente (Kurwa et al (18) hacen una comparación de los resultados obtenidos con la aplicación de 5 fluorouracilo dos veces al día durante tres semanas y la aplicación de PDT una sola vez, concluyendo que los resultados son semejantes en ambos casos.

Otra ventaja de PDT es su reducida agresividad que evita las cicatrices antiestéticas especialmente en zonas críticas de la cara. Además surge como alternativa válida a los métodos tradicionales en pacientes en los que los anestésicos están contraindicados como en personas afeadas, con problemas cardíacos o con intolerancias a drogas.

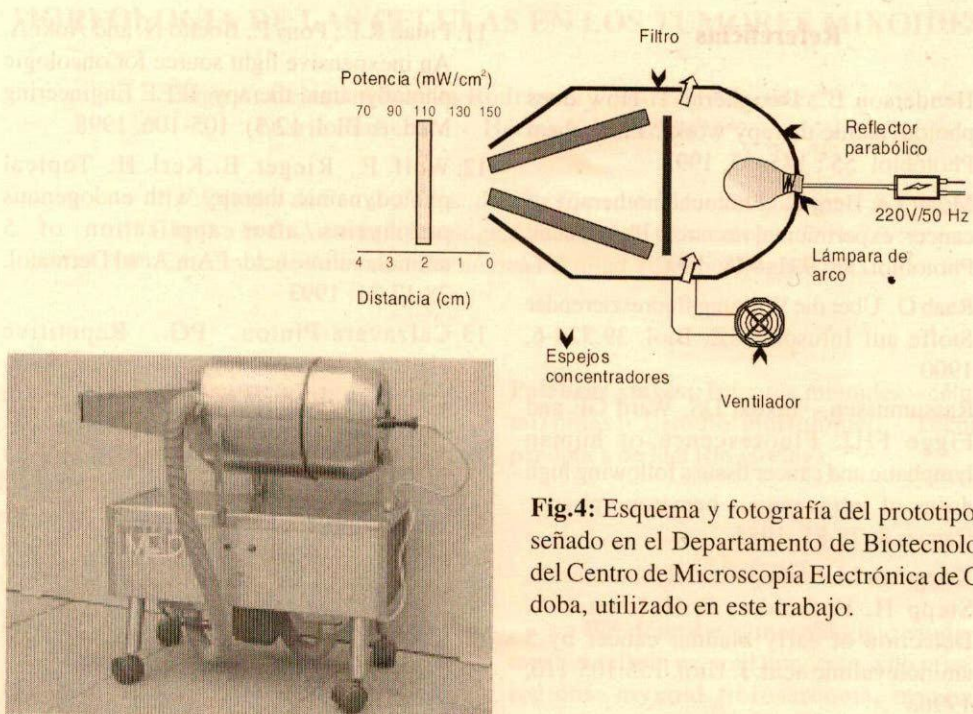


Fig.4: Esquema y fotografía del prototipo diseñado en el Departamento de Biotecnología del Centro de Microscopía Electrónica de Córdoba, utilizado en este trabajo.

Identificación	Sexo	Edad	Nº lesiones	Localización	Diagnóstico
5	F	93	c	nariz	Biopsia
9	M	78	2	cuero cabelludo	Biopsia
10	M	68	1	brazo	Citología
12	M	64	7	cuero cabelludo	Citología
13	M	63	1	cuero cabelludo	Biopsia
19	M	92	6	cuero cabelludo	Citología
23	M	72	6	cuero cabelludo	Biopsia
28	M	76	2	mejilla	Biopsia
34	M	74	5	cuero cabelludo- espalda	Biopsia
38	F	95	4	brazo - pecho - mama	Citología
39	M	88	5	cuero cabelludo	Citología
43	M	54	1	sien	Citología
44	M	80	2	ceja - ángulo.inter no ojo	Citología
45	M	84	5	cuero cabelludo - mejilla	Citología
57	M	79	6	frente - mano -cuero cabelludo	Biopsia
58	F	72	7	frente- mejilla- nariz	Citología
62	F	89	1	cuero cabelludo	Biopsia
63	M	82	3	frente - cuero cabelludo	Citología
67	F	74	1	nariz	Citología
71	M	75	5	cuero cabelludo - sien	Biopsia
72	F	65	4	Pecho - espalda	Citología
73	M	76	6	cuero cabelludo	Biopsia
76	F	82	3	nariz	Citología
80	M	80	5	frente - cuero cabelludo	Biopsia
81	M	73	3	sien - pecho	Citología
82	M	80	4	frente - oreja - espalda	Citología
85	M	69	4	frente - oreja - cuero cabelludo	Biopsia

Tabla I: Detalles identificatorios de los 27 pacientes tratados con Terapia Fotodinámica desde agosto de 1997 a septiembre de 1999.

Referencias

1. Henderson B., Dougherty T. How does photodynamic therapy work ? *Photochem Photobiol* 55 : 145-57, 1992.
2. Moan J & Berg K.. Photochemotherapy of cancer: experimental research. *Photochem. Photobiol.* 55: 931-948, 1992.
3. Raab O. Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusoria. *Z. Biol.* 39:524-6, 1900
4. Rassumussen - Taxdal DS, Ward GE and Figge FHJ. Fluorescence of human lymphatic and cancer tissues following high doses of intravenous hematoporphyrin. *Cancer* 8: 78-81, 1955
5. Kriegmair M, Baumgartner R, Knuechel R, Stepp H, Hofstadter F, Hofstetter A. Detection of early bladder cancer by 5 aminolevulinic acid. *J. Urol.* 155:105-110, 1996.
6. Dougherty T.J., Kaufman J.E., Goldfarb A., Weishaupt K.R., Boyle D. & Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res* 38, 2628-2635, 1978.
7. Kennedy J., Pottler R. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J. Photochem Photobiol B : Biol;* 14:275-92, 1992.
8. Fijan S, Hönigsmann H. And Ortel B. Photodynamic therapy of epithelial skin tumors using delta-aminolaevulinic acid and desferrioxamine. *British J Dermatol* 133:282-288, 1995.
9. Karrer S., Szeimiers R., Hohenleutner U., Heine A., Landthaler M. Unilateral localized basaliomatosis : Treatment with topical photodynamic therapy after application of 5 aminolevulinic acid. *Dermatology* 190:218-222, 1995.
10. Whitehust C., Byrne C., Moore J. Performance of a nonlaser light source for photodynamic therapy. *SPIE Procs* 2371:482-8, 1995.
11. Pittau R.F., Pons P., Boetto N. and Aoki A. An inexpensive light source for oncologic photodynamic therapy. *IEEE Engineering Med. & Biol.* 17(3): 105-106, 1998.
12. Wolf P., Rieger E., Kerl H. Topical photodynamic therapy with endogenous porphyrins after application of 5 aminolevulinic acid. *J Am Acad Dermatol.* 28:17-21, 1993
13. Calzavara-Pinton PG. Repetitive photodynamic therapy with topical delta-aminolevulinic acid as an appropriate approach to the route treatment of superficial non-melanoma skin tumors. *J Photochem Photobiol B* 29:53-7, 1995.
14. Morton CA, Witehurst C, Moseley H, Moore IV, Mackie RM. Development of an alternative light source to laser for photodynamic therapy. Clinical evaluation in the treatment of pre-malignant non-melanoma skin cancer. *Lasers Med Sci* 10:165-71, 1995.
15. Lang S, Baumgartner R, Struck R, Leunig A, Gutmann R, Feyh J. Photodynamic diagnosis and therapy of neoplasms of the facial skin after topical administration of 5-aminolevulinic acid. *Laryngotologie* 74(2):85-9, 1995.
16. Meijnders PJN, Star WM, Bruijn RS, Treurniet-Donker AD, Van Mierlo MJM, Wijthoff SJM, Naafs B, Beerman H, Levendag PC. Clinical results of photodynamic therapy for superficial skin malignancies or actinic keratosis using topical 5-aminolevulinic acid. *Lasers Med Sci* 11 (2):123-31, 1996.
17. Charlesworth K., Morton J. Development of an alternative light source to lasers for photodynamic therapy : Comparative in vitro dose response characteristics. *Lasers Med Sci* 8: 259-67, 1993.
18. Kurwa HA, Yong-Gee SA, Seed PT, Markey AC, Barlow RJ. A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol.* 41(3 Pt 1): 414-8. 1999