

Modelado del tratamiento de tumores cutáneos profundos con Terapia Fotodinámica

I. Salas García¹, F. Fanjul Vélez¹, N. Ortega Quijano¹, M. López-Escobar², J. L. Arce Diego¹

¹ Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento de Tecnología Electrónica e Ingeniería de Sistemas y Automática, Universidad de Cantabria, Santander, España, {isalas@teisa.unican.es ; arcedj@unican.es }

² Servicio de Dermatología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, España

Resumen

Durante los últimos años, la Terapia Fotodinámica ha adquirido un gran interés en diversos campos médicos debido a su gran potencial terapéutico para tratar tumores y otras lesiones no malignas. Dicha técnica se basa en una serie de reacciones fotoquímicas en las que interviene un fotosensibilizador y la luz visible para producir especies de oxígeno reactivo que se encargan de la destrucción del tejido maligno.

El resultado del tratamiento mediante terapia fotodinámica se ve fuertemente condicionado por diversos factores relacionados con la iluminación, el suministro de oxígeno celular y la distribución del fotosensibilizador en el tejido tumoral. Este último, es especialmente relevante en el caso de los fotosensibilizadores de uso tópico utilizados en dermatología, ya que no se distribuyen de forma homogénea en el tejido tratado. Este trabajo se centra en la influencia del proceso de distribución de un fotosensibilizador de uso tópico sobre el resultado de la terapia. Para ello, se modela el proceso de difusión del fotosensibilizador a través del tejido patológico, la distribución de la radiación óptica y las reacciones fotoquímicas y se observa la eficiencia de la terapia para tratar tumores cutáneos localizados a diferentes profundidades en la piel.

1. Motivación/Introducción

La Terapia Fotodinámica (TFD) es una técnica terapéutica en la que, tras la administración sistémica o tópica de un fotosensibilizador, se irradia la zona a tratar con luz visible. La oxidación de los componentes celulares, como los lípidos, los aminoácidos y las proteínas, se puede inducir mediante dos tipos de reacciones, conocidas como tipo I y II. En las reacciones de tipo I se generan radicales libres, peróxidos y superóxidos mediante la reacción de transferencia del hidrógeno o electrón con agua o con una biomolécula, mientras que en las reacciones de tipo II, el fotosensibilizador en estado triplete excitado reacciona con el oxígeno del tejido y convierte las moléculas de oxígeno en estado triplete normal a estado singlete altamente reactivo, [1]. Este tipo de reacción es aceptada como el principal proceso que desencadena la destrucción del tejido neoplásico en la TFD.

Aunque la terapia fotodinámica se aplica en diversos campos clínicos, su aplicación en dermatología ha experimentando un importante crecimiento en los últimos años, debido a su carácter no invasivo, al empleo de fotosensibilizadores tópicos externos como el Metvix® y

a los buenos resultados clínicos que ofrece. A pesar de las ventajas que ofrece frente a otras técnicas terapéuticas, existen ciertos casos en los que el tratamiento indicado en el protocolo clínico, no llega a ser totalmente efectivo. Así, se registran recidivas en el caso de ciertas patologías, fundamentalmente carcinomas basocelulares nodulares que presentan una elevada profundidad de penetración en la piel, [2]. La limitada efectividad del tratamiento, se atribuye a la distribución inhomogénea del fotosensibilizador en el tejido tumoral. Además, la respuesta al tratamiento varía dependiendo del tipo de patología tratada y del paciente.

Las limitaciones actuales de la TFD para tratar determinadas patologías cutáneas ponen de manifiesto la necesidad de desarrollar nuevos protocolos de tratamiento que ajusten la dosimetría actual de una forma más precisa y personalizada. El desarrollo de modelos predictivos de los procesos dinámicos que tienen lugar durante la terapia fotodinámica se plantea como una de las herramientas necesarias para tal fin, [3, 4, 5]. Dichos desarrollos, hacen preciso un conocimiento profundo de los mecanismos e interacciones que intervienen en el proceso para poder implementar modelos robustos de gran complejidad, que han de tener en cuenta una gran cantidad de parámetros fotofísicos y fotoquímicos.

El modelo para TFD utilizado en este trabajo se presenta en la sección 2. Dicho modelo tiene en cuenta una distribución inhomogénea de un fotosensibilizador de uso tópico común en dermatología. La distribución de la radiación óptica en el tejido se ha calculado aplicando el método de Monte Carlo a un modelo de transporte óptico basado en la Teoría de Transporte de la Radiación (RTT). El modelo fotoquímico utilizado permite caracterizar las reacciones que tienen lugar durante el proceso fotodinámico. A continuación, en la sección 3, se exponen los resultados obtenidos. Finalmente, se recogen las conclusiones extraídas durante el desarrollo del presente trabajo.

2. Modelo TFD.

Se comienza modelando la distribución inhomogénea del fotosensibilizador de uso tópico MAL-PpIX (Metilo Aminolevulinato-Protoporfirina IX) para obtener la concentración de agente fotoactivo acumulada en el tejido tumoral durante el periodo de incubación. A continuación, se presenta el modelo de transporte óptico basado en la

RTT, que se ha utilizado para obtener la distribución de la radiación óptica en el tejido. Finalmente, se presenta el modelo fotoquímico utilizado para caracterizar las reacciones de tipo II que tienen lugar durante el proceso fotodinámico.

El fotosensibilizador de uso tópico MAL (Metilo Aminolevulinato), es un precursor del elemento fotoactivo conocido como Protoporfirina IX (PpIX). Tras la administración tópica del MAL en la superficie cutánea, se produce un proceso de difusión a través de las diferentes capas de la piel y a continuación una transformación metabólica en la PpIX. Existen diferentes estudios que han evaluado la cantidad de PpIX acumulada en la piel mediante técnicas de fluorescencia y que han demostrado la gran influencia que tiene la capa córnea de la epidermis en el proceso de difusión del precursor hacia las capas más profundas de la piel, [6,7].

Se ha utilizado la ley de difusión de Fick, mostrada en la ecuación 1 para caracterizar la distribución inhomogénea del fotosensibilizador y calcular la concentración de fotosensibilizador acumulada en cada punto del tejido durante el periodo de incubación. Según esta ley, si existe una diferencia de concentración de una sustancia, sus moléculas se mueven desde la zona de mayor concentración a la de menos, de forma que el flujo de sustancia sigue la dirección opuesta al gradiente de concentración.

$$J = -D \frac{\partial M}{\partial z} \quad (1)$$

Donde J es el vector de flujo que indica la dirección y magnitud de la sustancia, D es el coeficiente de difusión, M es la concentración de precursor y z es la profundidad en el tejido.

La difusión del fotosensibilizador a través de las capas de la piel, está limitada por varios factores, entre los que se encuentra el efecto barrera que ofrece la capa cornea a la difusión del precursor y que se caracteriza mediante la permeabilidad, K , el coeficiente de difusión a través de la epidermis y la dermis, D , el tiempo de eliminación del fotosensibilizador, τ , y la tasa de conversión del fotosensibilizador en su elemento activo PpIX, [8]. La evolución temporal de la concentración de fotosensibilizador a diferente profundidad en la muestra de tejido se puede calcular como

$$M(t) = M_o \int_0^t \left(\frac{K}{\sqrt{D\pi t'}} e^{-\frac{z^2}{4Dt'}} - \frac{K^2}{D} e^{\frac{K}{D}z} e^{\frac{K^2}{D}t'} \operatorname{erfc} \left(\frac{K}{\sqrt{D}} \sqrt{t'} + \frac{z}{2\sqrt{Dt'}} \right) \right) e^{-\frac{t'}{\tau}} dt' \quad (2)$$

Donde M_o es la concentración de fotosensibilizador en la superficie de la piel en $t = 0$ y z es la distancia desde la capa cornea localizada en $z = 0$. Una vez conocida la concentración del precursor MAL alcanzada en cada punto del tejido, se calcula la concentración de la sustancia fotosensible, S_0 , acumulada durante el periodo de incubación. Este cálculo permite conocer la concentración de fotosensibilizador disponible en el tejido tumoral al comienzo del periodo de radiación. Asumiendo que la eliminación del componente activo es mucho más rápida que el tiempo de transmisión del

fotosensibilizador, $\tau_p \ll t$, la concentración de PpIX es proporcional a la concentración instantánea de MAL y se puede calcular mediante la expresión 3, donde ε_p es el rendimiento del proceso de conversión y $\tau_{a \rightarrow p}$ es el tiempo invertido en la generación de PpIX, [8].

$$S_0(t) = \varepsilon_p \frac{\tau_p}{\tau_{a \rightarrow p}} M(t) \quad (3)$$

En el caso de ciertas patologías cutáneas, como el carcinoma basocelular, la capa córnea de la epidermis está dañada o reducida y por lo tanto, se puede caracterizar mediante una elevada permeabilidad.

Los tejidos son medios turbios que sufren variaciones en sus propiedades ópticas. La variación y densidad de dichas fluctuaciones hacen que los tejidos sean fuertes dispersores de la luz. La distribución de la luz en el tejido se puede obtener mediante la RTT. En el estado estacionario cuando la fuente de luz ha iluminado la muestra de tejido durante el tiempo suficiente de forma que la radiación óptica ha alcanzado el equilibrio, y en una región libre de fuentes, la ecuación RT puede expresarse como

$$\hat{s} \cdot \vec{\nabla} I(r, \hat{s}) = -(\mu_a + \mu_s) I(r, \hat{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s} \cdot \hat{s}') I(r, \hat{s}') d\Omega' \quad (4)$$

Donde la luz se propaga desde la dirección \hat{s}' a la dirección \hat{s} , $I(r, \hat{s})$ es la intensidad específica en W/m^2sr , μ_a es el coeficiente de absorción, μ_s es el coeficiente de scattering, $p(\hat{s}, \hat{s}')$ es la función de fase de scattering que contiene las probabilidades de que la luz sea esparcida en diferentes direcciones y Ω es el ángulo sólido.

El método de Monte Carlo se aplicó al modelo RTT, [9], ya que proporciona una buena aproximación para resolver problemas relacionados con el transporte de la luz en los tejidos que presentan un valor desconocido en cualquier instante de tiempo o evento.

La interacción entre la luz de adecuada longitud de onda con el fotosensibilizador produce el cambio de éste a su estado triplete excitado, que a su vez interacciona con el oxígeno celular mediante dos tipos de reacciones, conocidas como Tipo I y Tipo II. Entre estos dos tipos de reacciones, las de Tipo II se consideran predominantes y se caracterizan por producir una especie de oxígeno reactivo conocida como oxígeno singlete. Este tipo de oxígeno se considera como el principal agente citotóxico responsable de la necrosis de las células malignas.

Para modelar una reacción de Tipo II, se ha utilizado un modelo fotoquímico que tiene en cuenta las transiciones entre estados energéticos de las partículas involucradas en el proceso, como el fotosensibilizador o el oxígeno, [4,5]. Las soluciones del sistema de ecuaciones diferencial rígido empleado, (5) a (10), se han obtenido mediante una herramienta de resolución de ecuaciones diferenciales disponible en la plataforma Matlab®. Las soluciones obtenidas proporcionan la evolución temporal de las concentraciones moleculares de los componentes

involucrados en este tipo de reacciones en cualquier punto del tejido.

$$\frac{d[S_0]}{dt} = -\nu\rho\sigma_{psa}[S_0] - kpb[{}^1O_2][S_0] + \frac{\eta_{10}}{\tau_1}[S_1] + \frac{\eta_{30}}{\tau_3}[T] + \frac{\alpha_s}{\tau_3}[T][{}^3O_2] \quad (5)$$

$$\frac{d[S_1]}{dt} = -\frac{1}{\tau_1}[S_1] + \nu\rho\sigma_{psa}[S_0] \quad (6)$$

$$\frac{d[T]}{dt} = -\frac{\eta_{30}}{\tau_3}[T] - \frac{\alpha_s}{\tau_3}[T][{}^3O_2] + \frac{\eta_{13}}{\tau_1}[S_1] \quad (7)$$

$$\frac{d[{}^3O_2]}{dt} = -\frac{\alpha_s}{\tau_3}[T][{}^3O_2] + \frac{\eta_0}{\tau_0}[{}^1O_2] + P \quad (8)$$

$$\frac{d[{}^1O_2]}{dt} = -kpb[S_0][{}^1O_2] - kcx[R][{}^1O_2] - ksc[C][{}^1O_2] - \frac{\eta_0}{\tau_0}[{}^1O_2] + \frac{\alpha_s}{\tau_3}[T][{}^3O_2] \quad (9)$$

$$\frac{d[R]}{dt} = -kcx[{}^1O_2][R] + U \quad (10)$$

En estas ecuaciones, $[S_0]$ es la concentración de fotosensibilizador en estado base, $[S_1]$ es la concentración de fotosensibilizador en estado singlete excitado, $[T]$ es la concentración de fotosensibilizador en estado triplete excitado, $[{}^3O_2]$ es la concentración de oxígeno en estado base, $[{}^1O_2]$ es la concentración de oxígeno singlete, $[R]$ es la concentración de receptores intracelulares del oxígeno singlete, $[C]_i$ representa la concentración de “scavengers” del oxígeno singlete, τ_1 es el tiempo de relajación del estado S_1 a S_0 , τ_3 es el tiempo de relajación del estado T a S_0 , τ_0 es el tiempo de relajación del estado 1O_2 a 3O_2 , η_{10} es el rendimiento cuántico de transición del estado S_1 a S_0 , η_{13} es el rendimiento cuántico de transición de S_1 a T , η_{30} es el rendimiento cuántico de transición de T a S_0 , η_0 es el rendimiento cuántico de transición de 1O_2 a 3O_2 , α_s es el factor de eficiencia para la transferencia de energía de T a 3O_2 , kpb es la tasa de fotoquemado biomolecular, kcx es la tasa de citotoxicidad biomolecular, ksc es la tasa de reacción del 1O_2 con varios “scavengers”, ν es la velocidad de la luz en el tejido, ρ es la densidad de fotones, σ_{psa} es la sección transversal de absorción de las moléculas de S_0 , P es la tasa de difusión y perfusión de oxígeno y U es la tasa de reparación de daño celular.

3. Resultados

Los resultados obtenidos tras modelar el proceso fotodinámico mediante el modelo presentado anteriormente permiten conocer la evolución espacio temporal de las concentraciones moleculares de los componentes que intervienen en las reacciones fotoquímicas que se desarrollan durante el periodo de radiación. Entre dichos componentes, se encuentra una de las especies de oxígeno reactivas, el oxígeno singlete, encargado de la oxidación y consecuente muerte celular. En la Figura 1, se puede observar la concentración máxima del oxígeno reactivo alcanzada en una muestra de

tejido tumoral tras el periodo de radiación establecido en el estándar clínico para TFD-Metvix. Donde z es la profundidad desde la superficie de la lesión cutánea y r es la distancia al centro del spot de iluminación. Como se puede observar, la concentración máxima de agente reactivo que se produce en diferentes puntos de la lesión tratada varía. Así, a medida que se profundiza en la muestra de tejido, la concentración máxima decrece, lo que puede provocar que en los puntos más internos de la lesión, no se alcance la cantidad necesaria para provocar la destrucción de las células tumorales y por lo tanto, la eficiencia de la terapia fotodinámica se vea limitada.

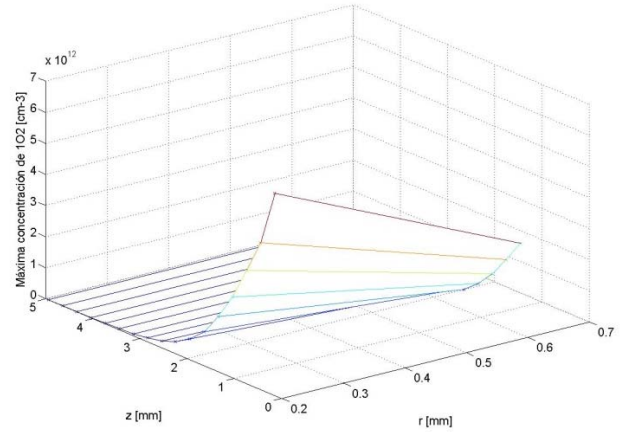


Figura 1. Concentración máxima de oxígeno reactivo alcanzada tras el intervalo de radiación en diferentes puntos del tejido

Para determinar la eficiencia de la terapia se ha establecido la dosis umbral de oxígeno reactivo necesaria para producir una reducción significativa de las células tumorales. Para ello, se han tomado como referencia diferentes experimentos in vitro previos que han utilizado fotosensibilizadores de la familia de las porfirinas, [11,12]. Se ha adoptado un valor de 0,3 mM como la dosis requerida para reducir la fracción de células supervivientes en 1/e en un volumen celular de $1000 \mu m^3$, que corresponde a $1,8066 \cdot 10^{11}$ moléculas de oxígeno singlete por cm^3 .

En base a esta dosis umbral, los resultados recogidos en la Tabla 1, muestran que la necrosis inducida por el tratamiento no será completa para tumores que se extiendan hasta profundidades mayores de un cierto valor. Así, a una distancia de 0,2 mm del centro del spot de iluminación, se producirá una destrucción de las células tumorales significativa hasta profundidades de aproximadamente 2,5-3 mm. Mientras que a 0,6 mm del centro del spot de iluminación, dicha profundidad se ve reducida hasta aproximadamente 2 mm. Estos resultados ponen de manifiesto, tanto la importancia de la distribución y acumulación del fotosensibilizador en el tejido tumoral como de la irradiancia alcanzada en cada punto de éste. Así, en base a los resultados obtenidos, la efectividad limitada del tratamiento, en el caso de lesiones que penetran en las capas más profundas de la piel, puede ser atribuida a una distribución heterogénea del fotosensibilizador en la zona afectada, que se acumulará preferentemente en las capas más superficiales.

Profundidad (mm)	$[^1\text{O}_2]_{\text{max}}$ (cm^{-3})	$[^1\text{O}_2]_{\text{max}}$ (cm^{-3})
0,15	$6,496 \cdot 10^{12}$	$2,922 \cdot 10^{12}$
0,45	$4,721 \cdot 10^{12}$	$2,208 \cdot 10^{12}$
0,75	$3,627 \cdot 10^{12}$	$1,553 \cdot 10^{12}$
1,05	$2,593 \cdot 10^{12}$	$1,050 \cdot 10^{12}$
1,35	$1,762 \cdot 10^{12}$	$6,759 \cdot 10^{11}$
1,65	$1,088 \cdot 10^{12}$	$4,405 \cdot 10^{11}$
1,95	$6,688 \cdot 10^{11}$	$2,479 \cdot 10^{11}$
2,25	$3,848 \cdot 10^{11}$	$1,353 \cdot 10^{11}$
2,55	$2,131 \cdot 10^{11}$	$5,707 \cdot 10^{10}$
2,85	$1,119 \cdot 10^{11}$	$2,688 \cdot 10^{10}$
3,15	$5,567 \cdot 10^{10}$	$1,224 \cdot 10^{10}$

Tabla 1. Concentraciones de oxígeno reactivo máximas a 0,2 y 0,6 mm del centro del spot de iluminación para diferentes profundidades en el tejido.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha presentado un modelo para predecir la respuesta al tratamiento de patologías cutáneas profundas tratadas mediante Terapia Fotodinámica. Dicho modelo, tiene en cuenta la distribución no homogénea de un fotosensibilizador de uso tópico. La propagación de la luz en el tejido tumoral se ha obtenido mediante el método de Monte Carlo. Se ha utilizado un modelo fotoquímico para obtener el perfil de concentración máxima de oxígeno reactivo en diferentes puntos del tejido. Dicho perfil se ha utilizado para determinar la eficiencia del tratamiento en base a una dosis umbral de agente reactivo.

El modelo utilizado permite obtener la eficacia de la terapia bajo diferentes condiciones de aplicación del tratamiento, como pueden ser parámetros relativos a la fuente de iluminación, propiedades optoquímicas del tejido y distribución del fotosensibilizador.

Los resultados obtenidos, permiten en una primera aproximación tratar de optimizar el resultado de la terapia bajo diferentes condiciones de tratamiento. Sin embargo, la gran complejidad de los procesos fotoquímicos y fotofísicos, hacen que en el modelo utilizado intervengan un gran número de parámetros difíciles de cuantificar y por lo tanto, los resultados obtenidos han de ser interpretados cuidadosamente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto “Desarrollo de un modelo predictivo para la terapia fotodinámica aplicada al tratamiento y el diagnóstico de tejidos tumorales”, programa para proyectos de I+D+i de interés estratégico en la Comunidad de Cantabria de la Fundación Leonardo Torres Quevedo.

Referencias

- [1] T. Vo-Dinh. Biomedical Photonics Handbook. CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [2] T. P. Habif. Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnosis and Therapy. Mosby, 2003.
- [3] F. Fanjul-Vélez, O. G. Romanov, M. López-Escobar, N. Ortega-Quijano and J. L. Arce-Diego. Necrosis prediction of Photodynamic Therapy applied to skin disorders. *Proceedings of SPIE*, vol 7161, 2009, 71610P.
- [4] T. H. Foster, R. S. Murrant, R. G. Bryant, R. S. Knox, S. L. Gibson and R. Hilf. Oxygen Consumption and Diffusion Effects in Photodynamic Therapy. *Radiation Research*, vol 126, sup 3, 1991, pp 296-303.
- [5] Xin-Hua Hu, Yuanming Feng, Jun Q. Lu, Ron R. Allison, Rosa E. Cuenca, Gordon H. Downie and Claudio H. Sibata. Modeling of a Type II Photofrin-mediated Photodynamic Therapy Process in a Heterogeneous Tissue Phantom. *Photochemistry and Photobiology*, vol 81, sup 6, 2005, pp 1460-1468.
- [6] F. Scarmato De Rosa, R. Fonseca Vianna Lopez, J. A. Thomazine, A. C. Tedesco, N. Lange, and M. V. Lopes Badra Bentley. In Vitro Metabolism of 5-ALA Esters Derivatives in Hairless Mice Skin Homogenate and in Vivo PpIX Accumulation Studies. *Pharmaceutical Research*, vol 21, sup 12, 2004, pp 2247-2252.
- [7] Harvinder S. Gill, Samantha N. Andrews, Senthilkumar K. Sakthivel, Andrew Fedanov, Ifor R. Williams, David A. Garber, Frances H. Priddy, Seth Yellin, Mark B. Feinberg, Silvija I. Staprans, Mark R. Prausnitz. Selective removal of stratum corneum by microdermabrasion to increase skin permeability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol 38, 2009, pp 95-103.
- [8] L. O. Svaasand, P. Wyss, M. T. Wyss, Y. Tadir, B. J. Tromberg, M. W. Berns. Dosimetry model for PDT with topically administered photosensitizers. *Lasers in Surgery and Medicine*, vol 18, 1996, pp 139-149.
- [9] L. Wang, S. L. Jacques, L. Zheng. MCML – Monte Carlo modelling of light transport in multi-layered tissues. *Computer methods and programs in biomedicine*, vol 47, 1995, pp 131-146.