

Títol del treball:

**TERÀPIA FOTODINÀMICA (PDT) I QUIMIOTERÀPIA
FOTOACTIVADA (PACT) EN EL TRACTAMENT DEL
CÀNCER: ABAST I LIMITACIONS**

Estudiant: **Guillem Tuneu Esquís**

Grau en Biotecnologia

Correu electrònic: guillem.tune@gmail.com

Tutor: Dra. Sílvia Barrabés Vera

Empresa / Institució: Universitat de Girona

Vistiplau tutor:

Nom del tutor: Dra. Sílvia Barrabés Vera

Empresa / Institució: Universitat de Girona

Correu electrònic: silvia.barrabes@udg.edu

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació:

RESUM

La teràpia fotodinàmica (PDT) és un tractament alternatiu clínicament aprovat que basa el seu mecanisme d'acció en un fotosensibilitzador (PS) que s'activa quan és irradiat amb llum, i que en presència d'oxigen molecular genera ROS que provoca dany oxidatiu sobre les cèl·lules canceroses. El concepte va sorgir per primer cop al 1900 quan Raab va observar que la combinació de llum i acridina tenia un efecte letal sobre una espècie de parameci. Posteriorment, Lipson i Baldes al 1961 van confirmar que un derivat de la porfirina s'acumulava al teixit tumoral i emetia fluorescència. Al 1993 es va aprovar per primer cop un PS, el Photofrin, per tractar el càncer.

D'altra banda, la quimioteràpia fotoactivada (PACT) és un tractament alternatiu en desenvolupament que encara no té aplicacions clíniques. Basa el seu funcionament en un compost *photocaged* format per una part metàl·lica unida a una altra molècula que, quan s'irradia amb llum, es trenca i allibera una molècula terapèutica específica per un *target*. Els compostos *photocaged* van ser utilitzats per Engels i Kaplan per primer cop a finals dels anys setanta i des del 2009 s'utilitza el terme PACT per referir-se a estratègies oncològiques que fan ús d'aquests compostos.

L'objectiu principal del treball ha estat, mitjançant una cerca bibliogràfica, definir l'abast real i les limitacions de la PDT i la PACT, tot plantejant els seus valors diferencials i les perspectives de futur.

La PDT es pot aplicar per tractar diferents tipus de càncers, sent especialment efectiva en tumors superficials primerencs ben oxigenats. També es pot usar com a eina diagnòstica. No obstant, actualment no es pot utilitzar en tumors hipòxics ni en metàstasis, i el subministrament de llum a tumors profunds pot ser complicat. L'alta selectivitat pel teixit tumoral i els efectes secundaris insignificants que causa són els seus valors diferencials. Per això, la PDT pot consolidar-se completament en el futur, combinada amb altres teràpies, però també com a tractament independent pels tumors oxigenats.

El mode d'acció de la PACT li atorga valor diferencial per tractar múltiples tipus de càncers, incloent els hipòxics, sense danyar teixits sans. Els compostos PACT actuals, però, no absorbeixen la llum eficientment i la seva fotoactivació és irreversible. Les perspectives de futur de la PACT són prometedores si millora el rendiment i troba un nínxol de mercat on explotar la seva capacitat de tractar tumors d'una manera dirigida.

RESUMEN

La terapia fotodinámica (PDT) es un tratamiento alternativo clínicamente aprobado que basa su mecanismo de acción en un fotosensibilizador (PS) que se activa cuando es irradiado con luz, y que en presencia de oxígeno molecular genera ROS que provoca daño oxidativo sobre las células cancerosas. El concepto surgió por primera vez en 1900 cuando Raab observó que la combinación de luz y acridina tenía un efecto letal sobre una especie de paramecio. Posteriormente, Lipson y Baldes en 1961 confirmaron que un derivado de la porfirina se acumulaba en el tejido tumoral y emitía fluorescencia. En 1993 se aprobó por primera vez un PS, el Photofrin, para tratar el cáncer.

Por otro lado, la quimioterapia fotoactivada (PACT) es un tratamiento alternativo en desarrollo que aún no tiene aplicaciones clínicas. Basa su funcionamiento en un compuesto *photocaged* formado por una parte metálica unida a otra molécula que, cuando es irradiado con luz, se rompe y libera una molécula terapéutica específica para un *target*. Los compuestos *photocaged* fueron utilizados por Engels y Kaplan por primera vez a finales de los años setenta y desde el 2009 se utiliza el término PACT para referirse a estrategias oncológicas que usan estos compuestos.

El objetivo principal del trabajo ha sido, mediante una búsqueda bibliográfica, definir el alcance real y las limitaciones de la PDT i la PACT, planteando sus valores diferenciales y las perspectivas de futuro.

La PDT se puede aplicar para tratar distintos tipos de cánceres, siendo especialmente efectiva en tumores superficiales tempranos bien oxigenados. También se puede usar como herramienta diagnóstica. No obstante, actualmente no se puede utilizar en tumores hipóxicos ni en metástasis, y el suministro de luz en tumores profundos puede ser complicado. La alta selectividad por el tejido tumoral y los efectos secundarios insignificantes que produce son sus valores diferenciales. Por eso, la PDT puede consolidarse completamente en el futuro, combinada con otras terapias, pero también como tratamiento independiente para tumores oxigenados.

El modo de acción de la PACT le otorga valor diferencial para tratar múltiples tipos de cánceres, incluyendo los hipóxicos, sin dañar los tejidos sanos. Sin embargo, los compuestos PACT actuales no absorben la luz eficientemente y su fotoactivación es irreversible. Las perspectivas de futuro de la PACT son prometedoras si mejora su rendimiento y encuentra un nicho de mercado donde explotar su capacidad de tratar tumores de una manera dirigida.

ABSTRACT

Photodynamic therapy (PDT) is a clinically approved alternative treatment that bases its mechanism of action on a photosensitizer (PS) that is activated when irradiated with light, and that in the presence of molecular oxygen generates ROS that causes oxidative damage to cancer cells. The concept first emerged in 1900 when Raab observed that the combination of light and acridine had a lethal effect on a paramecium species. Later, in 1961 Lipson and Baldes confirmed that a derivative of porphyrin accumulated in the tumor tissue and emitted fluorescence. In 1993 a PS, the Photofrin, was approved for the first time to treat cancer.

On the other hand, photoactivated chemotherapy (PACT) is an alternative treatment in development that does not yet have clinical applications. It relies its operation on a photocaged compound formed by a metallic part attached to another molecule that, when irradiated with light, breaks down and releases a specific therapeutic molecule for a target. The photocaged compounds were first used by Engels and Kaplan in the late seventies and since 2009 the term PACT has been used to refer to oncological strategies using these compounds.

The main objective of this work has been, by means of a bibliographic search, to define the real scope and limitations of PDT and PACT, while posing its differential values and future prospects.

PDT can be applied to treat different types of cancers, being especially effective in early superficial well oxygenated tumors. It can also be used as a diagnostic tool. However, it cannot currently be used in hypoxic tumors or in metastases, and the delivery of light in deep tumors can be complicated. The high selectivity for tumor tissue and the insignificant side effects it causes are its differential values. PDT can therefore be fully consolidated in the future, combined with other therapies, but also as a standalone treatment for oxygenated tumours.

PACT's mode of action gives it a differential value to treat multiple types of cancers, including hypoxic ones, without damaging healthy tissues. However, current PACT compounds do not absorb light efficiently enough and their photoactivation is irreversible. PACT's future prospects are promising if it improves its performance and finds a niche market where it can exploit its ability to treat tumors in a targeted manner.

ÍNDEX

RESUM	i
RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
INTRODUCCIÓ	pàg 1
OBJECTIVES	pàg 5
METODOLOGIA	pàg 6
RESULTATS I DISCUSSIÓ	pàg 7
Principis de la teràpia fotodinàmica	pàg 7
Aplicacions, abast i limitacions de la PDT	pàg 13
Principis de la quimioteràpia fotoactivada	pàg 17
Aplicacions, abast i limitacions de la PACT	pàg 21
Discussió general i perspectives de futur	pàg 24
Reflexió d'ètica i sostenibilitat	pàg 26
CONCLUSIONS	pàg 27
BIBLIOGRAFIA	pàg 28

INTRODUCCIÓ

ORÍGENS DE LA FOTOTERÀPIA, INICIS DE LA TERÀPIA FOTODINÀMICA I LA QUIMIOTERÀPIA FOTACTIVADA

La llum s'ha utilitzat per tractar malalties des de l'antiguitat. Tot i això, no ha estat fins fa poc que ha començat a tenir rellevància important en la medicina. Per trobar els orígens dels tractaments i teràpies amb llum s'ha de retrocedir milers d'anys. Així, la llum ja s'utilitzava a l'antic Egipte, a la Índia i a la Xina per tractar problemes a la pell: psoriasi, vitiligo, càncer, raquitisme o fins i tot psicosi (Ackroyd, Kelty, Brown, & Reed, 2001; Daniell & Hill, 1991).

Un dels primers tractaments amb llum solar dels que es té constància té origen 3000 anys endarrere a l'antiga Grècia, l'helioteràpia. Desenvolupada pel físic grec Herodotus, consistia en l'exposició directa del cos sencer nu a la llum solar i es considerava important per restaurar la salut (Daniell & Hill, 1991; Ackroyd et al., 2001). El Papir Ebers (1550 a.C) va registrar el tractament de vitiligo, on les lesions de la pell es cobrien amb extractes i eren exposades al sol. D'altra banda, hi havia una tècnica de tractament amb colors a l'antiga Xina en la que s'utilitzaven fulles de paper de colors sobre el cos que captaven la llum directa (llum del sol en els homes i llum de lluna en les dones) (Grzybowski, Sak, & Pawlikowski, 2016).

Als segles XVIII i XIX a França la llum del sol s'utilitzava per tractar la tuberculosi, el raquitisme, l'escorbut, la paràlisi, els edemes i la debilitat muscular (Ackroyd et al., 2001). La fototeràpia moderna va ser desenvolupada pel metge danès Niels Finsen, qui a principis del segle XIX va tractar la virola amb llum vermella amb èxit, evitant la formació i la supuració de les pústules. També va utilitzar llum ultraviolada per tractar la tuberculosi cutània, descobriments pels quals va rebre el Premi Nobel al 1903 (Dolmans, Fukumura, & Jain K., 2003).

TERÀPIA FOTODINÀMICA (PDT)

El concepte de teràpia fotodinàmica (PDT), que amb la combinació i interacció de llum i certs compostos es pugui induir la mort cel·lular, va sorgir a principis del segle passat. Així doncs, al 1900 Oscar Raab, un estudiant alemany de medicina que treballava amb el professor Herman von Tappeiner a Munich, va observar que la combinació d'acridina vermella i llum tenia un efecte letal en una espècie de parameci. El descobriment va ser inesperat, ja que l'experiment es va realitzar en condicions poc habituals de llum ambiental degut a una tempesta. Va comprovar que aquest efecte letal era major que el de l'acridina sola, que el de

la llum sola o que el de l'acridina exposada a la llum i posteriorment afegida al parameci. Finalment va arribar a la conclusió que el causant de la toxicitat in vitro no era la llum, sinó més aviat un producte resultant actiu de la fluorescència. Aquest efecte era causat per la transferència d'energia de la llum a la substància química (Ackroyd et al., 2001; Daniell & Hill, 1991; Dolmans et al., 2003). El professor Von Tappeiner va aprofitar la recerca de Raab i, juntament amb Jesionek (dermatòleg), al 1903 van reunir resultats clínics duent a terme la primera aplicació mèdica d'una interacció entre un compost fluorescent i la llum: van utilitzar una combinació d'eosina tòpica i llum blanca per tractar tumors de pell. Més endavant, al 1904 von Tappeiner va demostrar la necessitat d'oxigen en les reaccions de fotosensibilització i al 1907 va introduir per primera vegada el terme d "acció fotodinàmica" per descriure aquest fenomen. Així von Tappeiner es va convertir en un dels pioners més importants de la teràpia fotodinàmica, predient ja llavors l'enorme potencial quimiofototerapèutic i sent el primer en utilitzar-ho per tractar tumors (Daniell & Hill, 1991; Dolmans et al., 2003; Grzybowski et al., 2016).

A partir d'aquí, van seguir els experiments i els avenços en la PDT estudiant les combinacions de diferents agents reactius amb la llum (figura 1).

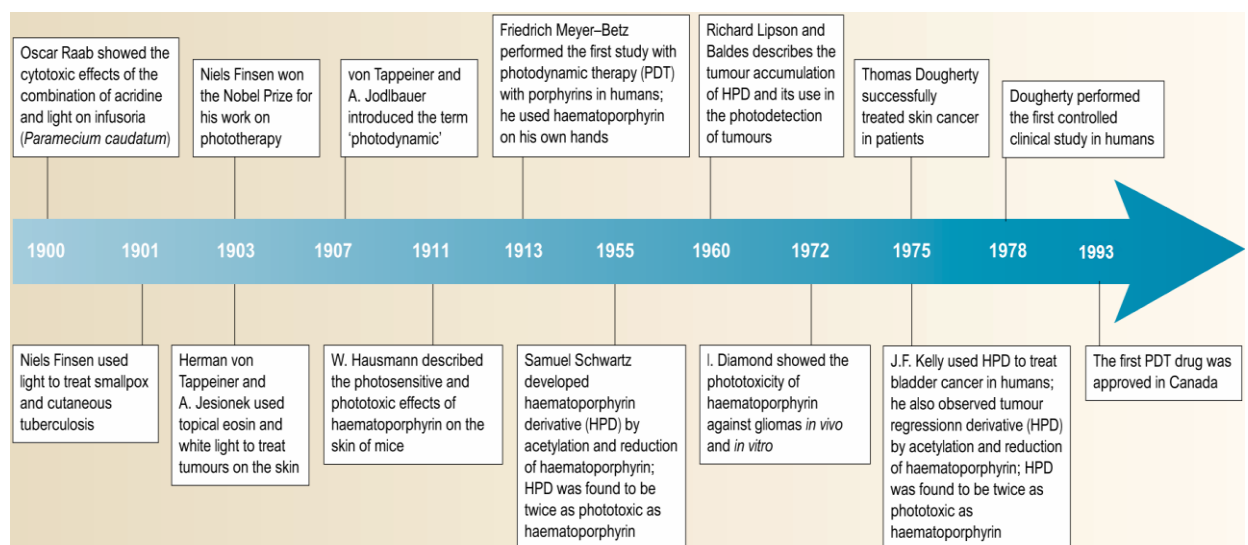


Figura 1. Cronograma de l'evolució i avenços científics de la teràpia fotodinàmica (PDT) des del 1900 amb la descoberta de Raab de l'efecte letal de l'acridina amb llum sobre el parameci *Paramecium caudatum*, fins al 1993 amb l'aprovació d'un fàrmac basat en PDT a Canadà (figura extreta de Dolmans et al., 2003).

Un dels components amb els quals funciona la PDT essencialment és el fotosensibilitzador, una molècula fotosensible que es localitza a la cèl·lula o teixit diana. Quan s'irradia amb el segon component (la llum) a una longitud d'ona específica pel fotosensibilitzador, aquest s'activa i transfereix energia de la llum a l'oxigen molecular (3r component), generant espècies reactives d'oxigen (ROS) que afecten les cèl·lules (Dolmans et al., 2003). Un dels descobriments paral·lels,

sense el qual no es pot entendre l'evolució de la PDT (Patrice, 2003), i que va permetre la millora de la teràpia fotodinàmica i el desenvolupament de nous recursos va ser la identificació per Scherer de les porfirines (en concret la hematoporfirina) al 1841. Aquests fotosensibilitzadors (sensibles a la llum), que es troben entre altres llocs als pigments dels glòbuls vermells, són compostos que presenten una estructura amb quatre anells pirròlics connectats per ponts metilènics (= CH-) en una configuració cíclica (figura 2) (Dolmans et al., 2003; Ackroyd et al., 2001).

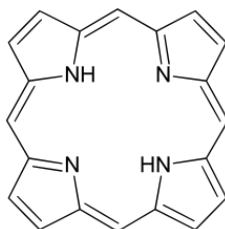


Figura 2. Estructura química de la porfirina bàsica (figura extreta de Hamblin & Mróz, 2008).

No va ser fins al 1911, però, que Hausmann va registrar l'efecte letal d'un fotosensibilitzador (hematoporfirina) i llum sobre un parameci i sobre glòbuls vermells de la sang. També va reportar reaccions sobre la pell de ratolins, exposats a la llum després de subministrar-los hematoporfirines. Al 1913, el científic alemany Meyer-Betz va testar l'efecte de l'hematoporfirina sobre les seves pròpies mans i va indicar inflamació i dolor a les zones exposades a la llum (Daniell & Hill, 1991; Dolmans et al., 2003).

En aquest punt hi va haver un període de transició en el qual es va seguir experimentant i investigant les propietats de les porfirines. Al 1924, Policard a França va observar per primer cop que la porfirina es localitzava i oferia fluorescència vermella en un sarcoma de rata quan era irradiada amb llum ultraviolada. Al 1948, Figge i Weiland des de Berlin van seguir investigant en aquest sentit i van observar que la fluorescència de les porfirines només s'observava en els tumors i no en teixits normals (Hamblin & Mróz, 2008).

L'era moderna de la PDT va arribar al 1960 de la mà de Lipson al Mayo Clinic, el qual va realitzar estudis que incorporaven el "derivat de l'hematoporfirina" (HPD), compost que havia desenvolupat Schwartz (Dolmans et al., 2003). Aquest últim havia intentat purificar mostres de l'hematoporfirina i havia descobert que el compost pur presentava una pobre capacitat de localitzar-se en tumors però altres components (HPD) sorgits del tractament de purificació oferien millor localització tumoral (Patrice, 2003). Lipson i Baldes van destacar i confirmar que la HPD es dirigia als tumors i emetia fluorescència (Lipson, Baldes, & Olsen, 1961).

Suposava un avantatge respecte l'hematoporfirina pura original ja que era dues vegades més fototòxica i a més es localitzava específicament d'una forma més efectiva a les proximitats dels tumors (tenia més afinitat pel teixit tumoral). D'aquesta manera, les dosis podien ser molt més petites perquè no calia tanta quantitat per assegurar l'arribada i l'efecte sobre la diana. Representava una prometedora eina diagnòstica per la fotodetecció de tumors (Hamblin & Mróz, 2008).

Les aplicacions terapèutiques de la PDT van entrar en un nou escenari quan al 1972 Diamond va plantejar que la combinació de les propietats de les porfirines (localització tumoral i fototoxicitat tumoral) es podien explotar conjuntament per eliminar les cèl·lules canceroses. Més tard, al 1975, es va produir un punt d'inflexió quan Dougherty va registrar que el tractament de HPD amb llum vermella erradicava el creixement del càncer de mama en ratolins. Al mateix any, J.F. Kelly va anunciar que l'activació de HPD amb llum també portava a l'eliminació del càncer de bufeta en ratolins. Un any més tard, Kelly va començar assajos clínics en persones que patien càncer de bufeta: a 5 pacients se'ls va diagnosticar càncer de bufeta gràcies a la fotodetecció amb HPD i es va aconseguir disminuir el creixement del càncer crònic d'un pacient. Dougherty va realitzar més assajos i es van considerar un èxit per primera vegada, aconseguint resposta completa controlada dels tumors en la majoria de casos. A partir d'aquí, es van realitzar múltiples assajos utilitzant PDT per tractar pacients en fases primerenques de diferents tipus de càncer: de pulmó, d'esòfag, d'estómac, de pit, de cervell, de pàncrees, etc (Dolmans et al., 2003).

La teràpia fotodinàmica va ser aprovada per primer cop a Canadà al 1993. Així, es va utilitzar Photofrin, produït per Axcan Pharma, com a fotosensibilitzador pel tractament del càncer de bufeta. Aquest fotosensibilitzador compta amb el major nombre d'aprovacions per ús clínic i és el més utilitzat. El desenvolupament de Photofrin, que va suposar un gran avenç en la investigació de la PDT, va sorgir a partir d'un descobriment inicial de Dougherty al 1983: havia demostrat que l'hematoporfirina original contenia una gama de diferents porfirines. Al cap d'un any, Dougherty va plantejar que el component actiu de la HPD era la dihematoporfirina (HDE), compost format per dues unitats de porfirina unides per un enllaç èter. El Photofrin doncs, consisteix en HPD parcialment purificat, una barreja de monòmers, dímers i oligòmers que tots contenen la porció de porfirina. Finalment, al 1999 es va aprovar a Canadà el fàrmac Verteporfin, desenvolupat per Novartis (Dolmans et al., 2003).

QUIMIOTERÀPIA FOTOACTIVADA (PACT)

Pel que fa a la quimioteràpia fotoactivada (PACT), és una teràpia en fase d'investigació que es basa en un compost biològicament actiu, protegit de l'entorn cel·lular per un grup protector foto-trencable, que es pot separar i alliberar amb la irradiació de llum. El terme de PACT és un nom modern per referir-se als compostos *photocaged*, els quals són compostos que engabien molècules que poden ser alliberades posteriorment amb llum. Aquests van ser introduïts per primer cop pels químics orgànics Engels i Kaplan a finals dels anys setanta. Van treballar amb compostos *photocaged* de cAMP i ATP, en els quals el fosfat estava protegit per un grup nitrobenzil foto-trencable amb llum UV (Bonnet, 2018).

Més tard, a principis dels anys noranta, Morrison va plantejar la idea d'incorporar la fotoactivació a la química inorgànica. Va utilitzar un compost basat en Rh (III) que s'activava amb llum ultraviolada i que va ser anomenat "foto-cisplatí". Al cap d'uns anys van aparèixer compostos fotactivables basats en platí i més tard compostos basats en ruteni. Des d'aleshores, ràpidament es va començar a aplicar al camp de l'oncologia. Així doncs, el terme "quimioteràpia fotoactivada" és molt recent i s'utilitza des del 2009, quan Farrer i col·laboradors (Farrer, Salassa, & Sadler, 2009) el van proposar, per referir-se a estratègies amb compostos inorgànics *photocaged* en oncologia (Bonnet, 2018).

OBJECTIVES

The main objective of this work is to study and define the real scope and limitations of two promising alternative treatments for cancer called Photodynamic therapy (PDT) and Photoactivated chemotherapy (PACT), through a quality bibliographic search to find, gather and review contrasted information.

In order to complement, lay the basic foundations of PDT / PACT and provide a proper knowledge that will lead to get the main objective successfully completed, some secondary objectives or questions are proposed:

- To study their basic principles and their functional mechanisms. What gives them a differential value compared to other conventional treatments?
- To study their potential applicability. What are the future prospects for the two treatments?

METODOLOGIA

Per realitzar la cerca bibliogràfica de tot el treball s'han utilitzat principalment les bases de dades o motors de cerca següents: *Google Scholar*, *PubMed* i *Scopus*. Al llarg del treball s'ha contrastat la informació amb l'ajuda de diferents fonts. S'ha procurat que la informació i les dades consultades estiguessin el més actualitzades possible, valorant especialment les revisions d'articles. Per començar, es va accedir a *Google Scholar* i es van introduir les paraules clau *photodynamic therapy for cancer* i *photoactivated chemotherapy for cancer*. Només amb això, van aparèixer molts articles que donaven una visió general. Es va seleccionar els que estaven més vegades citats i es van llegir. A partir d'aquí, quan ja es tenia un coneixement bàsic es va començar filtrar per temes concrets, tal i com s'explica més endavant, per construir el cos del treball. Quan es necessitaven informacions molt específiques s'introduïa la paraula clau al cercador i, un cop a dintre l'article, es feia una llegida general o bé s'utilitzava l'eina de cerca de paraules per detectar si l'expressió es trobava al text. Des de l'opció "articles relacionats" s'han aconseguit articles útils que han servit per contrastar informació. Consultar articles citats en altres publicacions també ha servit per obtenir coneixement de valor. Cal destacar la gran ajuda que ha suposat l'ús de *Mendeley*, que ha permès guardar els articles d'una manera ordenada i citar-los durant el treball.

Per reunir la informació necessària per completar la introducció "orígens de la fototeràpia i inicis de la PDT i la PACT" s'han utilitzat paraules clau com *photodynamic therapy history*, *photoactivated chemotherapy history*, *PDT timeline*, *evolution* o *beginning*.

Pel que fa a la informació de la teràpia fotodinàmica, s'han introduït paraules a les bases de dades com: *photodynamic therapy review*, i durant la cerca s'han anat afegint paraules com ara *update*, *basic principles*, *current clinical status*, *new research*, *advances* o *mechanisms*. Per la quimioteràpia fotoactivada s'han utilitzat paraules semblants afegint, com és lògic, *photoactivated chemotherapy* o *PACT*, i algunes expressions com *metal based compounds in cancer treatment* o *photocaged compounds*.

Finalment, per trobar la informació referent a l'abast, limitacions i perspectives de futur de la PDT i la PACT, s'han cercat publicacions afegint paraules clau o expressions com ara *current clinical applications*, *scope*, *limitations*, *future directions* o *perspectives*. Especialment en aquesta part, s'ha intentat extreure informació d'articles el més actualitzats possible, o si més no comparar-los amb estudis recents, per tal de poder dur a terme un anàlisi de rigor adaptat al context i realitat actuals.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

PRINCIPIS DE LA TERÀPIA FOTODINÀMICA

La teràpia fotodinàmica (PDT) és un tractament alternatiu clínicament aprovat que es caracteritza per induir activitat citotòxica dirigida a les cèl·lules malignes, sent molt poc invasiu. Consisteix en el subministrament d'un agent fotosensibilitzador (PS) que és irradiat amb llum a la seva longitud d'ona específica d'absorció. El PS és excitat i, en presència d'oxigen molecular, reacciona amb aquest generant espècies reactives d'oxigen o ROS (radicals, oxigen singlet i espècies triplet) que danyen i poden provocar la mort de les cèl·lules tumorals. Les porfirines i els seus derivats són habitualment utilitzats com a PS degut a la facilitat que tenen per formar per excitació electrònica aquestes ROS clau. La citotoxicitat de la PDT, doncs, s'origina a causa de l'oxidació de diferents biomolècules de les cèl·lules com ara àcids nucleics, lípids i proteïnes. Això provoca una greu alteració de la regulació de l'expressió gènica i de les cascades de senyalització cel·lular que impedeix el creixement o deriva en la mort de les cèl·lules malignes (Agostinis et al., 2011; Dos Santos, De Almeida, Terra, Baptista, & Labriola, 2019).

Així doncs, la PDT es desenvolupa amb tres components essencials: el fotosensibilitzador, la llum i l'oxigen. Cap d'ells per separat resulta tòxic, però junts desencadenen una reacció fotoquímica que acaba amb la generació d'oxigen singlet (1O_2), una forma excitada de l'oxigen molecular menys estable i més reactiva que porta a la mort cel·lular via apoptosi (la majoria de cops), necrosi o autofàgia. Els efectes anti-tumorals de la PDT s'expliquen mitjançant tres mecanismes (figura 5) que es relacionen entre si: efectes citotòxics directes sobre les cèl·lules tumorals, dany vascular al tumor i inducció d'una reacció inflamatòria que pot portar al desenvolupament d'immunitat sistèmica. La contribució relativa d'aquests mecanismes a l'efecte final depèn del tipus i dosis de PS emprat, del temps entre l'administració del PS i l'exposició a la llum, la quantitat d'aquesta i la concentració d'oxigen al tumor (Agostinis et al., 2011).

En el tractament de tumors amb PDT, els fotosensibilitzadors es subministren normalment mitjançant injecció intravenosa de manera sistèmica a través de la sang, tot i que també es poden administrar tòpicament (com el fotosensibilitzador ALA) per tractar tumors malignes superficials (Lopez, Lange, Guy, & Bentley, 2004; S. K. Sharma et al., 2012). Així, els PS viatgen pel corrent sanguini majoritàriament units a lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), tot i que també es poden unir a altres proteïnes presents a la sang. Les LDL, doncs, són *carriers* de les porfirines lipofíliques (un tipus de PS). Les cèl·lules tumorals sobreexpressen receptors de LDL a la membrana, la qual cosa explica la selectivitat dels PS

lipofílics pel teixit tumoral i la seva acumulació a les cèl·lules malignes (S. K. Sharma et al., 2012). El micro-entorn del tumor, per tant, té característiques particulars que el distingeixen dels teixits normals del voltant i que són determinants per la selectivitat i direccionament dels PS cap aquests teixits tumorals. Aquestes característiques són (S. K. Sharma et al., 2012):

- La gran velocitat de proliferació de les cèl·lules canceroses.
- L'expressió augmentada dels receptors de lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), entre d'altres, els quals són diana dels *carriers* de PS lipofílics com l'HPD.
- La reducció del pH a l'interior del tumor.
- La presència de macròfags associats al tumor.
- La presència de grans espais intersticials i un drenatge limfàtic deficient que milloren la permeabilitat i la retenció dels PS.

En la PDT, doncs, s'aprofita la capacitat de localització dels vehicles, els quals s'uneixen naturalment als fotosensibilitzadors, per tal de triar el PS adequat en base a les seves propietats fotoquímiques (Agostinis et al., 2011). Els marcadors cel·lulars tumorals implicats en la selectivitat de la PDT pel teixit tumoral són principalment marcadors de superfície, com per exemple els receptors de LDL esmentats, però també els receptors de factors de creixement, receptors de transferrina, receptors d'insulina, receptors d'àcid fòlic, integrines i transportadors de glucosa (S. K. Sharma et al., 2012).

Un cop a la cèl·lula, la localització intracel·lular dels PS en cèl·lules tumorals està ben estudiada i hi ha diversos orgànuls que es poden veure implicats (figura 3): el PS derivat de benzoporfirina (Visudyne) per exemple, es localitza al mitocondri, danya la Bcl-2 (proteïna anti-apoptòtica) i acaba induint apoptosi (D. Kessel, 2008). El reticle endoplasmàtic també es un important punt de localització de PS, com ara el mTHPC (Temeporfin), que provoca estrès oxidatiu que acaba en mort cel·lular (Agostinis et al., 2011). A més, molts PS com el NPe6 (Talaporfin) s'acumulen als lisosomes. Aquests són trencats degut al subministrament de llum i alliberen enzims com les catepsines al citoplasma. Aquestes proteases intervenen en el trencament d'altres proteïnes que acaben desencadenant apoptosi (Agostinis et al., 2011; D. Kessel, 2015; S. K. Sharma et al., 2012).

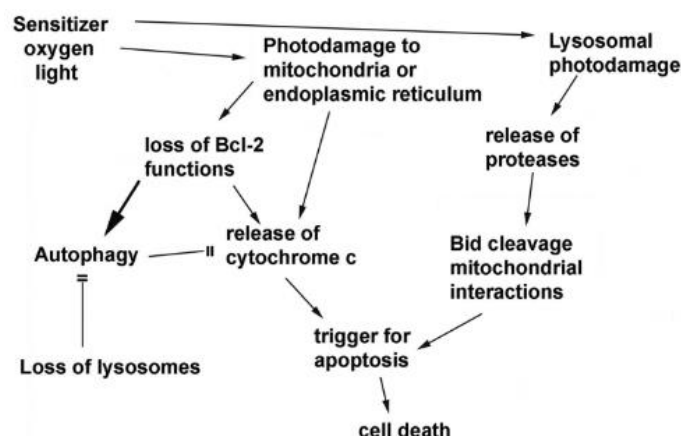


Figura 3. Rutes per les quals la PDT pot iniciar la mort cel·lular al mitocondri, al reticle endoplasmàtic i al lisosoma (figura extreta de Kessel, 2015).

D'altra banda, la reactivitat electrònica dels fotosensibilitzadors i la seva capacitat de generar ROS a partir de transferències energètiques es pot explicar de la següent manera. L'estat energètic base dels PS (estat amb el mínim d'energia possible que correspon a l'estat singlet en la majoria de molècules), té dos electrons aparellats situats en un orbital favorable energèticament. Quan s'irradia amb llum, l'absorció de fotons per part del PS porta a la transferència d'un electró a un orbital de més energia. Aquest PS excitat és molt inestable i pot fer dues coses: o bé retornar a l'estat base emetent aquest excés d'energia en forma de fluorescència o calor, o bé passar per un procés sense radiació en el qual es forma un estat triplet excitat més estable. D'aquesta segona manera, el PS pateix una transició de l'estat base singlet inicial a un estat excitat amb dos electrons desaparellats de vida relativament llarga. Aquest últim estat triplet excitat pot procedir amb dos tipus de reaccions diferents durant la PDT (figura 4): la reacció de Tipus 1 i la reacció de Tipus 2 (Agostinis et al., 2011; Dolmans et al., 2003).

En la reacció Tipus 1, que és la més complexa de les dues, el triplet excitat reacciona per contacte directe amb un substrat (una molècula o la membrana cel·lular), el qual accepta un àtom d'hidrogen (electró) per formar radicals. A partir d'aquí es produeixen reaccions en cadena de radicals, que interaccionen amb l'oxigen i acaben produint ROS que danya les biomolècules (Bacellar, Tsubone, Pavani, & Baptista, 2015; Dolmans et al., 2003).

En la reacció Tipus 2, que és el mecanisme que es creu majoritari pel qual la PDT genera la majoria del dany, el triplet excitat transfereix energia directament a l'oxigen molecular (que és triplet en el seu estat base) formant oxigen singlet. Aquest $^1\text{O}_2$, que és molt electrofílic i té un temps de vida mitja molt curt ($<0,04 \mu\text{s}$), danya greument les membranes, les proteïnes i el DNA (Dolmans et al., 2003; Dos Santos et al., 2019).

Els dos tipus de reaccions succeeixen simultàniament durant la PDT. El seu rati depèn del tipus de PS usat, de les concentracions de substrat i oxigen i de l'afinitat d'unió del PS amb el substrat (Agostinis et al., 2011).

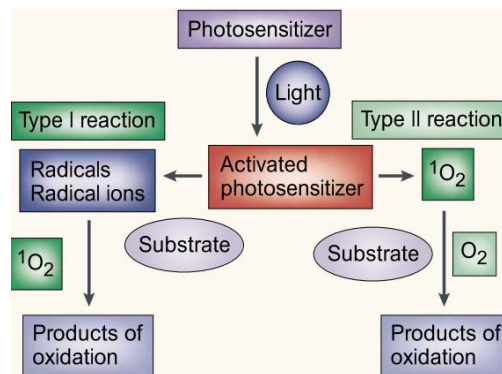


Figura 4. Reaccions de Tipus 1 i Tipus 2 de la PDT, les quals acaben generant ¹O₂ que causa dany oxidatiu (figura extreta de Dolmans et al., 2003).

La llum, lògicament, és un factor determinant. S'han de tenir en compte les condicions de la irradiació per tal que arribi fins al PS, l'activi i els mecanismes de la PDT puguin funcionar correctament. La llum blava presenta una penetració poc eficient als teixits, mentre que la vermella i infraroja penetren més profundament. La regió d'entre els 600-1200 nm és la "finestra òptica" del teixit, ja que per sota dels 600 nm molècules endògenes com l'hemoglobina capturen la majoria de fotons (Patrice, 2003). Tot i això, només la llum de fins a 800 nm pot generar oxigen singlet, degut a que les longituds d'ones majors no tenen prou energia per excitar l'oxigen, formar ROS i iniciar la reacció fotodinàmica (Juzeniene, Nielsen, & Moan, 2006). Normalment, la profunditat de penetració efectiva és 2-3 mm a 630 nm i augmenta fins als 5-6 mm amb longituds d'ones majors (700-800 nm) (Patrice, 2003).

La font de llum s'hauria d'escollir tenint en compte paràmetres tals com: l'espectre d'absorció del PS, el tipus de tumor (localització, mida, accessibilitat i característiques del teixit) i el cost. Així, l'eficàcia de la PDT dependrà en gran part de com s'irradia aquesta llum: de la dosis total de llum, el temps d'exposició a la llum, si s'administra la llum de manera simple o fraccionada i la taxa de fluència (número de fotons emesos per unitat de temps) (Henderson, Busch, & Snyder, 2006). Els làsers i la llum incandescent ofereixen eficàcies similars. Els làsers de díode són adequats per la PDT i s'estan dissenyant per aquest tractament: són petits, rendibles, són fàcils d'instal·lar, tenen una vida útil llarga i tenen característiques de dosimetria i calibratge automatitzades (Brancaleon & Moseley, 2002; Juzeniene, Juzenas, Ma, Iani, & Moan, 2004). Per tractar lesions superficials a la pell o a la cavitat oral és més útil utilitzar una làmpada que un làser, ja que són més barates, més fàcils d'utilitzar i es poden usar amb molts PS (van Straten, Mashayekhi, de Bruijn, Oliveira, & Robinson, 2017). Tanmateix, es

poden acoblar làsers a fibres amb puntes difusores per tractar càncers de bufeta i al tracte digestiu (Beyer, 1996). Els LED (díodes emissors de llum), d'altra banda, són fonts de llum alternatives amb altes taxes de fluència i que abasten bandes espectrals relativament estretes (Agostinis et al., 2011; Szeimies, Morton, Sidoroff, & Braathen, 2005).

Pel que fa al fotosensibilitzador, idealment hauria de ser un compost simple pur per tal de permetre anàlisis de control de qualitat amb baixos costos de fabricació i una bona estabilitat a l'hora d'emmagatzemar-lo. Així, el PS ideal, per dur a terme la seva funció de manera òptima, hauria de complir les següents condicions (Hamblin & Mróz, 2008) :

- Hauria de tenir una longitud d'ona d'activació de 700-800 nm, per tal d'absorbir la llum dintre la "finestra òptica" del teixit. Les porfirines tenen una banda d'absorció forta al voltant dels 400 nm anomenada "Soret", i una altra banda d'absorció d'entre 600-800 nm anomenada "Q-Band".
- Hauria de produir oxigen singlet d'una manera eficient, ja que aquesta espècie reactiva és la responsable de la majoria de lesions produïdes sobre les cèl·lules malignes durant el tractament.
- No hauria d'oferir toxicitat quan no s'irradia amb llum i hauria d'acumular-se selectivament al teixit tumoral de manera ràpida per tal de minimitzar la fototoxicitat a la pell.
- Per tal de poder-se distribuir de manera efectiva per les cèl·lules malignes i tenir més facilitats per travessar les membranes cel·lulars, el PS hauria de ser lipofílic i amfifílic (soluble en aigua però amb una matriu hidrofòbica).
- Hauria de ser estable i fàcil de dissoldre en els solvents amb els quals s'injecta. Després de l'administració i d'acumular-se al tumor hauria de netejar-se ràpidament de l'organisme per evitar efectes secundaris no desitjats.
- Hauria de ser químicament pur i s'hauria de poder obtenir mitjançant una ruta sintètica curta i d'alt rendiment.

Malauradament encara no s'ha desenvolupat el PS ideal que compleixi tots els requisits anteriors, tot i que la porfirina i els seus similars en compleixen molts (Hamblin & Mróz, 2008). Els PS es poden dividir en 3 grups/generacions, depenent de quan es van desenvolupar (Elsaie, 2013):

- 1a generació: porfirina, hematoporfirina i els seus derivats.

- 2a generació: porfirines expandides i derivats clorofil·lics. Són més selectius i actius que l'anterior generació.
- 3a generació: els PS de la generació 1 i 2 conjugats amb altres molècules com ara anticossos o nanopartícules. Estan dissenyats per millorar la selectivitat i per tenir longituds d'ona d'absorció més grans que permeten que la llum pugui penetrar més profundament en el teixit.

Pel que fa a les fases del tractament (figura 5), en primer lloc es subministra el PS per via intravenosa. A continuació s'espera un període de temps, que sol estar entre 24-72h en la majoria de càncers (Dougherty, 2002), per tal que el PS es distribueixi de manera sistèmica i s'acumuli selectivament al teixit tumoral. En aquest punt, s'irradia la zona específica afectada i el PS s'activa. El dany directe de ROS i el dany vascular (que pot ser directe o inhibint la formació de nous vasos sanguinis) porta a la mort cel·lular via apoptosi, necrosi o autofàgia. Ho acompanya la inducció d'una reacció inflamatòria aguda que participa en la eliminació de les cèl·lules mortes, restaura la homeòstasi tissular normal i en certes ocasions, desenvolupa immunitat sistèmica (Agostinis et al., 2011).

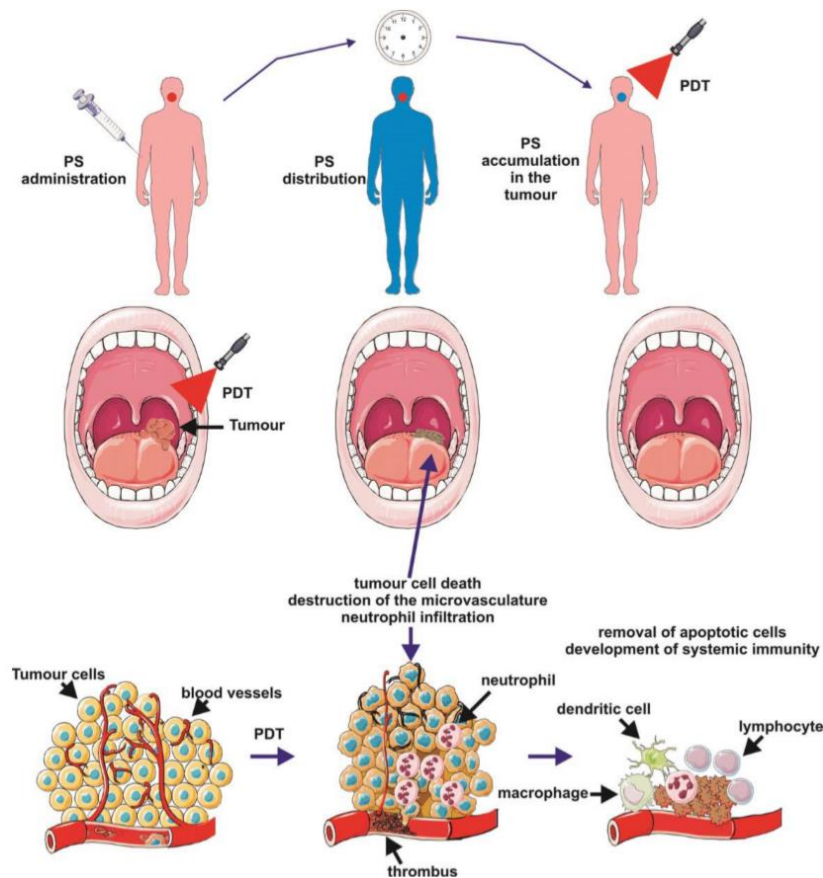


Figura 5. Principis de la teràpia fotodinàmica (PDT) (figura extreta de Agostinis et al., 2011).

APLICACIONS, ABAST I LIMITACIONS DE LA PDT

S'ha demostrat que la PDT és efectiva per tractar diferents tipus de càncers, sobretot aquells amb localitzacions més superficials (Dos Santos et al., 2019). Així, aquest tractament presenta un cost-efectivitat més positiu i millora significativament la qualitat de vida del pacient, en comparació amb intervencions pal·liatives de cirurgia o quimioteràpia (Hopper, Niziol, & Sidhu, 2004). És un tractament que pot curar càncers que es troben en etapes primerenques i pot allargar la supervivència de pacients amb càncers inoperables. La PDT destaca per provocar mínima toxicitat sobre el teixit normal (alta selectivitat per cèl·lules tumorals), per causar efectes sistèmics insignificants, per reduir la morbiditat a llarg termini i per la manca de mecanismes de resistència intrínseca o adquirida per part dels tumors (Agostinis et al., 2011).

El Photofrin (taula 1), malgrat ser el primer PS acceptat clínicament, encara ara és dels fotosensibilitzadors més utilitzats per tractar diferents tumors, tot i que presenta certs desavantatges: provoca una fotosensibilització llarga de la pell i té una absorbància baixa a 630 nm. L'eficàcia es podria millorar incrementant l'absorbància cap al vermell amb longituds d'ones més grans. Per aquest motiu s'han destinat esforços per desenvolupar noves generacions de PS que comptin amb millors prestacions i eficàcia (Agostinis et al., 2011). En aquest sentit, a la *taula 1* es presenta una llista actualitzada dels fotosensibilitzadors que al 2019 estan aprovats o que es troben en assajos clínics per tractar el càncer.

Les propietats de la PDT comporten certs avantatges i fan que aquesta es pugui aplicar abans o després de la quimioteràpia, la radioteràpia o la cirurgia sense comprometre el correcte funcionament d'aquests tractaments terapèutics. Destaca per no generar els efectes adversos de la quimioteràpia (com fatiga o trastorns digestius) i de la radioteràpia (com fibrosis) i es pot utilitzar en tumors inextirpables i en aquells que ofereixen resistència a aquests dos tractaments. A més, la PDT no limita futures opcions de tractament a pacients amb càncer recurrent o residual i es pot repetir sense comprometre l'eficàcia. A més, cap dels fotosensibilitzadors clínicament aprovats s'acumulen al nucli cel·lular, fet que impedeix el dany sobre el DNA que podria desenvolupar clons resistents al tractament o induir carcinogènesi. La PDT no provoca canvis importants en la temperatura dels teixits. Així, es conserva el teixit connectiu sense provocar fibrosis, fet que permet mantenir l'anatomia funcional i la integritat mecànica dels òrgans buits sotmesos a PDT. Un altre avantatge és que molts procediments de la PDT es poden realitzar en entorns simples d'ambulatori sense equipament complex, resultant més agradable pel pacient i reduint els costos (Agostinis et al., 2011).

Taula 1. Fotosensibilitzadors aprovats o aplicats en assajos clínics pel tractament del càncer. S'especifica el nom i la composició química, la longitud d'ona d'activació, els tipus de càncers en els que s'aplica, la generació a la qual pertany, l'òrganul en el que es localitza i la via d'administració (taula extreta de Dos Santos et al., 2019).

Photosensitizer	Chemical family	Treatment Wavelength (nm)	Cancer type	Characteristics
Porfirmer sodium, HPD: hematoporphyrin derivative (Photofrin)	Porphyrin	630	Lung, esophagus, bile duct, bladder, brain, ovarian, breast skin metastases	1st generation PS Most probable intracellular localization: plasma membrane and mitochondria. Intravenous administration
5-ALA: 5-aminolevulinic acid (Levulan)	Porphyrin precursor	630	Skin, bladder, brain, esophagus	2nd generation PS Most probable intracellular localization: mitochondria Topical, oral or intravenous administration
MAL: methyl-aminolevulinate (Metvix)	Porphyrin precursor	630	Skin	2nd generation PS Most probable intracellular localization: mitochondria and ER Topical administration
h-ALA: hexylaminolevulinate (Hexvix)	Porphyrin precursor	White light	Basal cell	2nd generation PS Intracellular localization: TBD Topical administration
Veteporfin, BDP: benzoporphyrin derivative (Visudyne)	Porphyrin	690	Pancreas, breast	2nd generation PS Most probable intracellular localization: mitochondria Intravenous administration
Palladium bacteriopheophorbide, padeliporfin, WST-11 (Tookad)	Porphyrin	762	Esophagus, prostate	2nd generation PS Intracellular localization: TBD. Intravenous administration
Temoporfin, mTHPC: meso-tetrahydroxyphenylchlorine (Foscan)	Chlorin	652	Head and neck, lung, brain, bile duct, pancreas skin, breast	2nd generation PS Most probable intracellular localization: mitochondria, golgi apparatus and ER Intravenous administration
Talaporfin, mono-L-aspartyl chlorin e6, NPe6, LS11 (Laserphyrin)	Chlorin	660	Liver, colon, brain, lung, breast skin metastases	2nd generation PS Most probable intracellular localization: lysosomes Intravenous administration
HPPH: 2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyropheophorbide-a (Photochlor)	Chlorin	665	Head and neck, esophagus, lung	2nd generation PS Most probable intracellular localization: mitochondria and/or lysosomes Intravenous administration
Rostaporfin, SnEt2: tin ethyl etiopurpurin I, or (Purlytin)	Chlorin	660	Skin, breast	2nd generation PS Most probable intracellular localization: lysosomes Intravenous administration
Fimaporfin, disulfonated tetraphenyl chlorin, TPCS2a (Amphinex)	Chlorin	633	Superficial cancers, Cholon	2nd generation PS Most probable intracellular localization: endo-lysosomal compartments Intravenous administration
Motexafin lutetium (Lutex)	Texaphyrin	732	Breast	2nd generation PS Broad intracellular localization Intravenous administration

TBD: to be determined

D'altra banda, la PDT també té potencial antimicrobià i es pot aplicar per tractar infeccions localitzades, malgrat que falta desenvolupament en aquest sentit. Aquesta aplicació s'explica gràcies a la capacitat dels PS de localitzar-se, i fins i tot penetrar, a la paret cel·lular bacteriana. Els bacteris grampositius, com que tenen una membrana plasmàtica coberta per una paret cel·lular permeable que permet el pas dels PS, són més susceptibles a la PDT i poden eliminar-se amb PS neutrals, catiónics o aniònics. Pel que fa als bacteris gramnegatius, tenen una membrana externa impermeable que dificulta molt més el pas dels PS i només els catiónics (o bé PS no catiónics units a un vehicle carregat positivament) la poden travessar i causar dany cel·lular (S. K. Sharma et al., 2012).

Apart de la capacitat citotòxica dels PS, l'autofluorescència és una característica pròpia dels fotosensibilitzadors molt important i de molt valor com a aplicació. La fluorescència dels PS, doncs, es pot aprofitar per detectar lesions precanceroses i neoplàsies malignes primerenques. Aquesta propietat, a més, es pot utilitzar per la identificació del teixit displàstic restant després de les intervencions quirúrgiques dels tumors i per monitoritzar el progrés del tractament amb la PDT. Així, la combinació de les propietats de visualització, detecció i terapèutiques els donen característiques d'agents teranòstics (integració junta de diagnòstic i tractament de la malaltia (Lau, Lin, & Bénard, 2017)) i representa un coneixement clau per avançar en la recerca i aplicació de la PDT. Un PS que ofereix aquestes propietats és el 5-ALA, el qual ja s'ha demostrat en proves clíniques que és efectiu per tractar certs tipus de tumors de pell, de cervell o esòfag (Dos Santos et al., 2019).

Les limitacions de la PDT, la majoria d'elles relacionades amb condicions anatòmiques i d'entorn desfavorables, redueixen l'eficàcia real del tractament i són les culpables de la lenta transició entre les investigacions pre-clíniques i els assajos clínics (Huang et al., 2008). Tanmateix, l'heterogeneïtat i la falta de consens respecte a com ajustar els paràmetres de la PDT (tipus i concentració de PS, font de llum i dosimetria, etc) són uns dels majors obstacles a superar per aconseguir normalitzar-ne l'ús i per millorar les perspectives d'utilització per tractar els diferents tumors (Pogue et al., 2016).

El fet que sigui un tractament tant selectiu i localitzat representa a la vegada una de les seves limitacions, ja que resulta inefectiu per tractar càncers deslocalitzats o metàstasis. Tot i això, es té constància que la PDT té el potencial per induir immunitat sistèmica, que és la capacitat de l'organisme de reconèixer i combatre agents estranys amb limfòcits de memòria. Així, investigar les condicions òptimes per desencadenar aquesta immunitat podria resoldre aquesta limitació i significar un avenç transcendental per fer front a la metàstasis. D'aquesta manera es podria fer front als tumors recurrents, ja que el sistema immunitari estaria preparat per actuar en cas de recaiguda (Agostinis et al., 2011; van Straten et al., 2017). Relacionat amb això, es podria utilitzar la PDT per generar vacunes terapèutiques o profilàctiques anti-tumorals, les quals estan basades en cèl·lules tumorals o lisats (que poden provocar una resposta immunitària) obtinguts després d'estar sotmesos a PDT *ex vivo* (Korbelik, 2011).

Una altra limitació de la PDT és que depèn de l'oxigen per funcionar i que, per tant, no és efectiu per tractar tumors en condicions d'hipòxia. Així, el funcionament del tractament es basa en la presència d'oxigen molecular per generar oxigen singlet; l'oxigenació del teixit afecta d'una manera molt important a l'eficiència de la PDT. La manca d'oxigen pot produir-se a causa del consum d'O₂ que comporta el procés fotodinàmic (esgotament que es pot accelerar amb una alta taxa de fluència de la irradiació), així com a causa del dany micro-

vascular directe que provoca la PDT sobre el teixit i que impedeix l'arribada constant d'oxigen (Sitnik, Hampton, & Henderson, 1998; van Straten et al., 2017). Per aquest motiu, és important millorar la concentració d'oxigen durant la PDT. Es pot fer ajustant la llum i la dosis de PS, disminuint la taxa de fluència de la llum o utilitzant estratègies de fraccionament de la il·luminació. Això pot prevenir l'esgotament de l'oxigen o proporcionar temps per tal que aquest arribi i es reposi al teixit corresponent (Penjweini, Kim, Finlay, & Zhu, 2016). S'han realitzat estudis utilitzant una combinació de PDT fraccionada amb PS per produir oxigen singlet en períodes sense llum, que podrien ser de vital importància per avançar en aquest sentit (Turan, Yildiz, Turksoy, Gunaydin, & Akkaya, 2016). D'altra banda, per tal de tractar tumors que es troben en condicions d'hipòxia preexistents a la PDT, es poden dissenyar estratègies per intentar millorar l'oxigenació del teixit abans de començar el tractament o per produir de manera eficient espècies radicals, les quals necessiten menys oxigen, mitjançant la reacció fotodinàmica de Tipus 1 (Dang, He, Chen, & Yin, 2017; Dos Santos et al., 2019).

Una limitació de la PDT que durant anys ha preocupat és la penetració de la llum al teixit per tractar tumors profunds. Malgrat tot, actualment i gràcies als avenços en fibres òptiques i tecnologia micro-endoscòpica, es disposa de recursos per utilitzar la PDT amb sistemes de subministrament de llum intersticials, endoscòpics i laparoscòpics que permeten a la llum accedir a localitzacions tumorals més profundes i de difícil accés. Aquestes fibres òptiques, a banda de proporcionar llum, també es poden utilitzar com a sensors de diagnòstic per controlar els paràmetres que influeixen la PDT (nivell d'oxigenació del teixit, concentració de PS, fluència de la llum, etc) (Lovell, Liu, Chen, & Zheng, 2010; Mallidi et al., 2016). Un aspecte a millorar és la dificultat que tenen en certes ocasions els PS més utilitzats per penetrar al teixit tumoral, degut a la seva naturalesa hidròfoba que fa que siguin difícils de dissoldre i que formin agregats (van Straten et al., 2017).

Un altre problema de la PDT són els efectes adversos que s'han registrat que pot provocar. El primer d'ells, donat sobretot en PS de primera generació, és la fotosensibilització prolongada que provoca a la pell, degut a l'acumulació de PS lipofílics al teixit adipós, que fa que els pacients hagin d'evitar la llum solar i la llum artificial forta durant setmanes. Això representa un inconvenient i una limitació molt grans pels pacients que els hi queda poc temps de vida. El dolor és un efecte advers que experimenten alguns pacients, el qual pot variar segons la mida de l'àrea tractada, el lloc, el tipus de PS, el tipus de lesió, gènere, edat i protocol de irradiació. Els pacients també poden patir inflamacions, febre i nàusees, episodis que es poden solucionar amb medicació (Fink, Enk, & Gholam, 2015; van Straten et al., 2017).

PRINCIPIS DE LA QUIMIOTERÀPIA FOTOACTIVADA

Un compost quimioterapèutic fotoactivat (PACT) és un complex ideat per combatre el càncer que és sensible a la irradiació de llum i que respon modificant-se químicament (Bonnet, 2018). El terme quimioteràpia fotoactivada (PACT) es refereix sovint a aquelles teràpies en les quals els respectius compostos fotoactivables utilitzats contenen un metall del bloc *d* (el nivell energètic més extern d'aquests elements correspon a orbitals *d*) (Poynton et al., 2017). El principi d'aquest tractament consisteix en una reacció fotoquímica de trencament d'enllaç que permet un lliurament temporal i espacial de la toxicitat del medicament contra el *target* en qüestió (Cuello-Garibo, Meijer, & Bonnet, 2017).

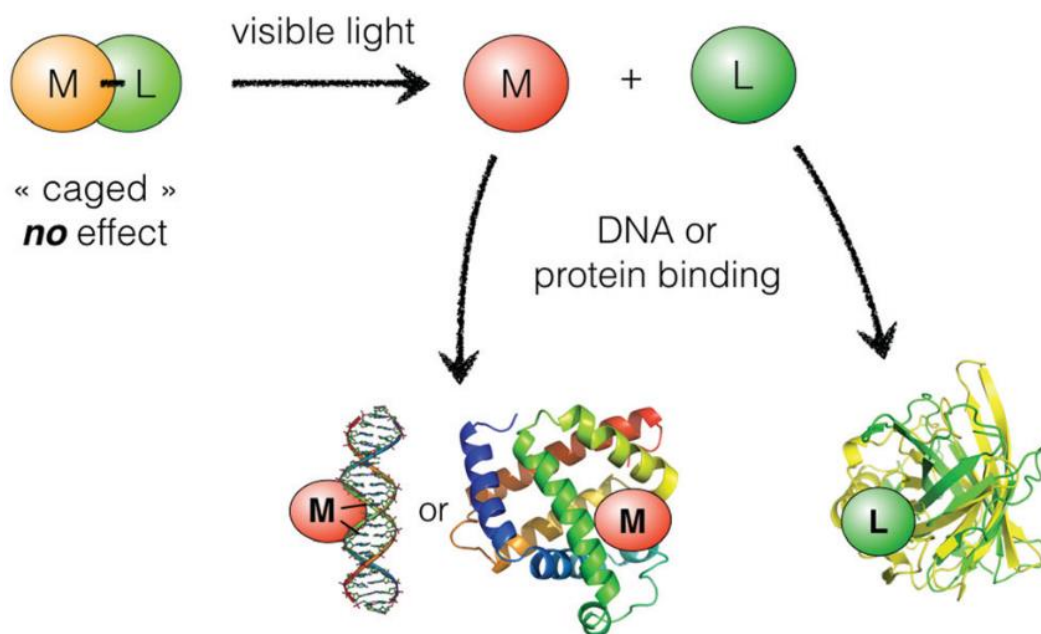


Figura 6. Principi general de la quimioteràpia fotoactivada. *M* representa un compost metàl·lic i *L* és un lligand. Abans de la irradiació, els dos compostos es mantenen engabiats entre si. Després de la irradiació i de que es trenqui l'enllaç *M-L*, el fragment *M* o *L* (o tots dos) guanyen activitat biològica (figura extreta de Bonnet, 2018).

Idealment, quan no s'irradia amb llum, el compost PACT està "engabiats", no té activitat biològica i presenta una baixa toxicitat. D'altra banda, quan és irradiat, es trenca i obté una forta afinitat i activitat biològica que li permet ser altament tòxic per les cèl·lules canceroses gràcies a la seva interacció amb proteïnes, lípids o DNA (Bonnet, 2018). D'aquesta manera, la quimioteràpia fotoactivada, malgrat que encara es troba en fase d'investigació i aparentment lluny de fases clíniques, és un tractament alternatiu que ofereix l'oportunitat de controlar quan i on s'activa el medicament, la qual cosa resulta en una major especificitat de l'acció d'aquest (Farrer et al., 2009).

El compost PACT està format per dues parts que inicialment es troben unides (figura 6). La primera (M) és un compost metàl·lic, el qual pot estar basat en diferents tipus de metalls com ara Pt(IV), Pt(II), Ru(II), Rh(II), Rh(III), Co(III), Re(I), Ir(III), Cr(III) o Mn(I). La segona (L) és un lligand, que poden ser diferents molècules. Després de ser irradiat amb llum s'alliberen M i L; un dels dos o tots dos esdevenen compostos biològicament actius que es poden unir a DNA i/o proteïnes per causar diferents efectes sobre les cèl·lules. Cal destacar que, tot i que normalment es considera que el fotoproducte que conté la part metàl·lica és l'agent citotòxic, tots dos fragments alliberats (el metall i el lligand) per separat poden tenir activitat biològica. En aquest sentit, el fet que s'alliberin simultàniament les dues parts i que totes dues puguin presentar activitat, porta a pensar que en alguns casos es poden produir sinergies entre elles que incrementen i beneficien l'activitat biològica global (Bonnet, 2018).

A la figura 7 s'aprecien exemples de compostos quimioterapèutics fotoactivats basats en metalls. En el primer compost s'observa en negre el lligand i en vermell la part metàl·lica, que en aquest cas és la que tindrà activitat biològica. En el segon cas és al revés, és el lligand (vermell) el que presentarà activitat biològica.

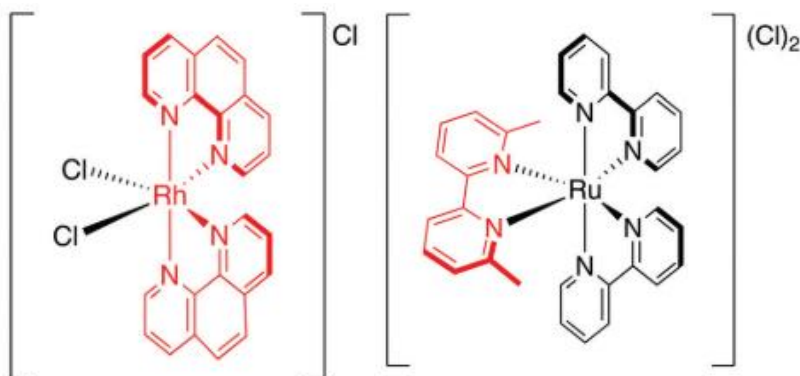


Figura 7. Compostos quimioterapèutics fotoactivats basats en metall (rodi i ruteni respectivament). En vermell s'observa la part biològicament activa. En l'exemple de l'esquerra, aquesta funció la fa la part metàl·lica. En el segon de la dreta, la fa el lligand (figura extreta de Bonnet, 2018).

Existeixen tres mètodes o mecanismes principals pels quals s'activa amb llum el compost inorgànic PACT i s'aconsegueixen els fotoproductes bioactius. El primer és mitjançant fotoreducció en el medi reductor de la cèl·lula, com passaria en el cas de compostos basats en Pt(IV) o Co(III). Al reduir-se, es produeix Pt(II) o Co(II) citotòxics i un o diversos lligands (Bonnet, 2018). Estats d'oxidació diferents presenten diferents cinètiques d'unió al lligand. Així, espècies com el Pt(IV) són més làbils i reactives que d'altres com Co(III) i es trenquen més fàcilment del lligand durant la fotoreducció (Farrer et al., 2009).

Un segon mètode, sovint donat en ions metàl·lics d^6 com Ru(II), Rh(III), Ir(III) o Re(I), és per mitjà de fotosubstitució (figura 8). Un cop s'irradia amb llum es generen estats triplets excitats del metall-ligand, els quals es converteixen en estats triplets de baix nivell energètic, centrats en el metall. Aquests estats excitats es caracteritzen per ser altament dissociatius, fet que porta a una substitució del lligand per una molècula d'aigua. És un trencament d'enllaç que allibera un complex metall aquós i el lligand lliure fotosubstituint. En aquest cas, doncs, ni el metall ni el lligand són oxidats o reduïts (Bonnet, 2018).

Aquesta modificació normalment comporta l'ús de lligands bidentats com ara 6,6'-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbpy) i els seus derivats. Per exemple, la irradiació de $[Ru(bpy)_2(dmbpy)]^{+2}$ en aigua (bpy=2,2'-bipiridina) porta a la fotosubstitució de la dmbpy per dues molècules d'aigua, que genera l'espècie aquosa cis- $[Ru(bpy)_2(OH_2)_2]^{+2}$ que s'ha demostrat que s'uneix al DNA plasmídic i presenta acció citotòxica (Cuello-Garibo et al., 2017).

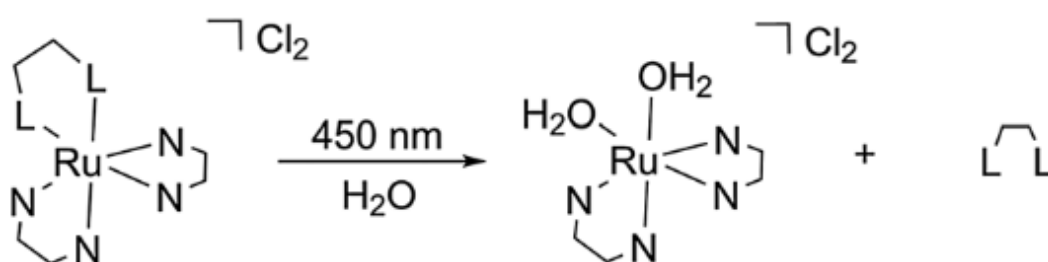


Figura 8. Estructura de compost PACT basat en ruteni i els fotoproductes resultants després de la reacció de fotosubstitució en aigua. S'observa que després de ser irradiat amb llum blava s'alliberen el lligand i el complex metall aquós que presenta activitat citotòxica (figura extreta de Cuello-Garibo et al., 2017).

El tercer mètode és per via de fotoabsorció, on es trenca l'enllaç C-C dels compostos PACT a través de l'absorció de fotons d'un centre metàl·lic proper. Aquest mecanisme sovint es dona en compostos *photocaged* orgànics. Tanmateix, s'han descrit altres mètodes d'activació específics per certs tipus de compostos, tals com NO-alliberadors basats en Cr (III). Així doncs, molts compostos basats en metall són útils i altament empleats com a PACT ja que la seva fórmula canvia amb l'acció de la llum (per diferents mètodes) i, degut a aquest canvi químic, adquireixen una forma que els proporciona activitat biològica contra les cèl·lules del càncer (Bonnet, 2018).

A diferència de les espècies orgàniques, els metalls tenen estats d'excitació fàcilment accessibles amb irradiació de llum visible i ultraviolada. Els compostos basats en metalls de transició amb configuració electrònica d^6 són prometedors com a compostos PACT, ja que presenten propietats foto-físiques favorables i

tenen l'equilibri just d'estabilitat per tal que es mantinguin coordinats al corresponent lligand fins que la irradiació provoca la transició electrònica i es trenca l'enllaç (Farrer et al., 2009).

Pels compostos PACT, com en el desenvolupament de qualsevol medicament potencial, s'han de contemplar i regular propietats com la solubilitat, la captació i l'estabilitat en el medi cel·lular. Tenint en compte tot el que s'ha explicat fins ara, doncs, pels compostos PACT s'han de considerar certs factors clau (Farrer et al., 2009):

- La longitud d'ona d'activació del compost hauria d'estar idealment entre els 620-850 nm. Aquest rang té la màxima profunditat de penetració en teixits de mamífers. Tot i això, la longitud d'ona òptima depèn de les propietats fotoquímiques del compost i de la mida del tumor. Per exemple, per tractar tumors superficials, una longitud d'ona més curta com la blava (420 nm) seria adequada.
- Que presenti una gran diferència de citotoxicitat en absència i presència de llum per tal de minimitzar efectes secundaris, els quals podrien reduir l'eficàcia del medicament.
- La dependència d'oxigen del PACT. Els tumors presenten diferents nivells d'oxigenació. Depenent del compost PACT, és afavorit en presència o absència d'oxigen.
- El rendiment i eficiència del procés fotoquímic.

En la PACT els compostos inorgànics utilitzats solen estar carregats positivament i es poden unir a anions per aconseguir una bona solubilitat en aigua, així com per localitzar el compost a l'interior de la cèl·lula. L'anió pentaclorofenolat, per exemple, permet dirigir compostos PACT basats en ruteni a l'interior de la cèl·lula per difusió passiva i localitzar-lo cap al nucli (Zhu, Chao, Huang, & Li, 2016). En aquest sentit, és important que els compostos PACT siguin lipofílics per travessar les membranes cel·lulars però també per interaccionar amb biomolècules, com lípids o transferrines, que sovint actuen com a *carriers* dels PACT i els acumulen a les cèl·lules canceroses (les quals sobreexpressen receptors d'aquestes biomolècules). La unió a diferents proteïnes influeix en la seva localització subcel·lular a diferents orgànuls: nucli, mitocondri, lisosomes i reticle endoplasmàtic (Poynton et al., 2017).

APLICACIONS, ABAST I LIMITACIONS DE LA PACT

Malgrat trobar-se en fase d'investigació i no tenir encara implicacions clíniques, la PACT demostra tenir un gran potencial per aplicar-se especialment al camp de l'oncologia, però també per tractar altres malalties. Representa un tractament molt prometedor, ja que permet que l'alliberació dels compostos bioactius sigui activada per llum només en el moment i lloc desitjats (Bonnet, 2018).

Per exemple, una aplicació consisteix en l'ús de compostos mínimament tòxics de ruteni que engabien inhibidors orgànics de diferents proteïnes, com ara de catepsines (figura 9) (les quals tenen activitat proteolítica), i que poden ser alliberats amb llum quan es desitja. En aquest cas, doncs, el fragment que tindrà funció biològica serà l'orgànic (R. Sharma et al., 2014).

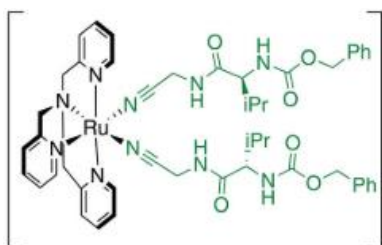


Figura 9. Compost de ruteni que engabia un inhibidor de catepsina (en verd), que es pot alliberar amb llum (figura extreta de Bonnet, 2018).

Una altra aplicació consisteix en neurotransmissors activats per llum, on un complex de ruteni (no tòxic) fotoactiu engabia durant la foscor al neurotransmissor i la seva funció biològica (figura 10). Aquest compost es pot activar amb llum blava o verda i alliberar per exemple GABA (àcid γ -aminobutíric) (Filevich & Etchenique, 2013).

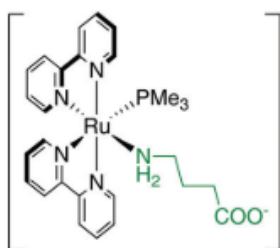


Figura 10. Compost de ruteni que engabia el neurotransmissor GABA (en verd), que es pot alliberar amb llum (figura extreta de Bonnet, 2018).

També es pot aplicar per subministrar CO, NO o H₂S. Aquestes petites molècules gasoses estan implicades en processos tant importants com la regulació del corrent sanguini, la vasoconstricció/vasodilatació, l'atenuació de la vasoconstricció coronària, la reducció de la hipertensió aguda i la regulació de la inflamació (Zheng, Ji, Ji, & Wang, 2015). Així doncs, s'han descrit com PACT diferents compostos inorgànics *photocaged*, anomenats photoCORMs i

photoNORMS, que poden alliberar CO i NO respectivament quan són irradiats amb llum (Bonnet, 2018).

Sovint en oncologia es compara l'abast de la quimioteràpia fotoactivada amb el de la teràpia fotodinàmica, malgrat que són tractaments independents que l'únic que tenen en comú és que són selectius i que el seu mecanisme s'activa amb llum. Així, la PACT té un abast potencial més ampli que el de la PDT; presenta múltiples dianes d'acció, entre les quals es poden incloure les de la PDT però també moltes altres. No obstant, si la PACT vol augmentar les probabilitats d'arribar al món clínic no hauria d'enfocar-se en situacions on la PDT ja està establerta i ofereix resultats terapèutics eficients, ja que això li complicaria les opcions d'accedir al mercat. L'abast real de la PACT, doncs, és desenvolupar-se en aplicacions que requereixin selectivitat i alta especificitat, incloent situacions on la PDT no es pot utilitzar. La PACT podria oferir noves modalitats dirigides per tractar el càncer i solucionar diferents punts negatius de la PDT (Bonnet, 2018).

La PACT no genera ROS i per tant no produeix dany oxidatiu. El mecanisme d'acció de la PACT consisteix en l'alliberació d'espècies actives biològicament, com ara complexes metàl·lics d'unió al DNA, inhibidors orgànics de proteïnes (figura 9) o biomolècules orgàniques (figura 10), que tenen afinitat per altres molècules i desencadenen processos que acaben amb la mort cel·lular. En aquest sentit, conjugant els complexes metàl·lics amb molècules funcionals tals com pèptids, fàrmacs o nanomaterials, es pot dirigir el compost resultant a tipus de cèl·lules o orgànuls específics, així com modular la solubilitat, la biodistribució i el temps de circulació (Poynton et al., 2017). La PACT depèn del mode d'acció de les respectives espècies conjugades, esdevenint d'aquesta manera un tractament que ofereix una selectivitat molt alta per múltiples *targets* i diferents possibilitats d'acció terapèutica. No és trivial afegir, doncs, que és imprescindible que el tumor al qual es dirigeix el tractament compti amb biomolècules receptores específiques per la molècula terapèutica del compost PACT. Un avantatge clau de la PACT respecte la PDT, el qual té una incidència transcendental en el seu abast d'aplicació, és que no necessita la presència d'oxigen molecular per funcionar. Això fa que els compostos PACT es puguin utilitzar per tractar tumors en condicions d'hipòxia, sempre i quan aquests tinguin receptors específics del fotoproducte del compost PACT en qüestió. Si es dona el cas, els tumors hipòxics són candidats prometedors (W. R. Wilson & Hay, 2011). Els compostos PACT (especialment els basats en ruteni) tenen espectres d'absorció molt amplis que cobreixen varis centenars de nanòmetres, mentre que els fotosensibilitzadors de la PDT tenen bandes d'absorció més estretes (Soret i Q-Band) que requereixen llum a longituds d'ones més específiques per tal d'activar-se. Això representa un avantatge de la PACT, ja que permet ajustar i adaptar la longitud d'ona d'excitació segons el color del teixit, per tal d'identificar la longitud d'ona òptima en la qual la llum penetra millor (Bahreman, Cuello-Garibo, & Bonnet, 2014).

D'altra banda, s'ha demostrat que certs compostos PACT basats en ruteni indueixen la mort cel·lular via apoptosis (Van Rixel et al., 2016). Treballar en aquesta direcció i desenvolupar compostos PACT que eliminin les cèl·lules per aquesta via és important ja que, a falta d'assajos clínics, la PACT no provocaria el dolor sobre els pacients que sí provoca la PDT degut a la necrosis sobre el teixit que aquesta sovint genera. (Bonnet, 2018)

Existeixen certes limitacions que impedeixen que la PACT esdevingui un tractament clínicament rellevant. Una d'elles és que gran part dels compostos PACT actuals presenten deficiències en l'absorció de la llum. Així doncs, la PACT arriba a un fotoíndex màxim de 1880 amb una longitud d'ona d'excitació màxima de 625-630 nm (Hidayatullah, Wachter, Heidary, Parkin, & Glazer, 2014). Per comparar-ho, encara que no tinguin necessàriament els mateixos *targets*, hi ha nous compostos basats en metall que s'utilitzen en la PDT com ara el TLD-1433 basat en ruteni desenvolupat per McFarland (Knoll, Albani, & Turro, 2015), que ofereixen eficiències d'absorció molt bones, amb foto-índexs de 10000 en condicions normals d'oxigen i longituds d'ona d'excitació tan altes com 753 nm, que deriven en un rendiment molt alt per tractar certs tumors. La PACT, doncs, hauria de millorar les prestacions en aquest sentit per ser més competitiva i oferir un bon rendiment en fases clíniques.

La hipòxia en els tumors es produeix a causa d'una mala vascularització, motivada pel ràpid i descontrolat creixement tumoral que no permet abastir al teixit amb suficient oxigen. Les regions hipòxiques del tumor es solen trobar lluny dels vasos sanguinis funcionals. Per això, en cas d'aplicar-se per tractar tumors en condicions d'hipòxia, els compostos PACT haurien de ser capaços d'arribar físicament fins al teixit tumoral d'aquestes regions allunyades. De no ser així, seria una limitació molt important. Per aquest motiu, durant tot el procés de desenvolupament del compost PACT fins arribar a fases clíniques s'ha de tenir en compte l'estratègia de subministrament per aquests tumors. També ajudarà en aquest sentit optimitzar i afinar les propietats de lipofília i de penetració tumoral dels compostos, així com millorar l'eficiència de l'activació amb llum i del seu mode d'acció (Bonnet, 2018).

Tanmateix, en la PACT l'activació amb llum i trencament del compost és irreversible. Això podria suposar un punt dèbil d'aquest tractament respecte altres compostos nous que s'han desenvolupat, el mecanisme d'actuació dels quals es basa en una isomerització que permet l'activació per llum. En aquests nous compostos, la isomerització i l'activació són reversibles, fet que resultaria interessant per retornar el compost al seu estat inicial i cancel·lar l'activitat biològica. (Broichhagen, Frank, & Trauner, 2015; Bonnet, 2018).

D'altra banda, l'escepticisme de la comunitat mèdica envers la PACT és un factor determinant que limita en gran part la seva evolució cap a aplicacions clíniques. Tal i com exposa Bonnet, l'opinió pública de líders científics i mèdics juga un paper clau en l'acceptació de noves tècniques com aquesta. Un dels dubtes principals que sol generar és la capacitat de penetració de la llum fins al teixit tumoral, malgrat que ja es disposa de mètodes intersticials de PDT que es podrien aplicar fàcilment en la PACT per accedir a localitzacions profundes. A causa d'una falta de coneixement sobre les especificacions i funcionament de la PACT, es tendeix a atribuir-li directament els desavantatges clínics i efectes adversos que comporta la PDT com ara dolor o fotosensibilització prolongada del pacient. El fet que bastants compostos PACT estiguin basats en ruteni pot alimentar les confusions entre la PDT i la PACT, ja que per exemple el nou fotosensibilitzador TLD-1433 utilitzat en PDT també conté ruteni. Utilitzar la paraula o l'abreviació "PACT" d'una manera sistemàtica i comuna entre la comunitat científica ajudarà a consolidar i diferenciar d'una manera clara el concepte d'aquest tractament (Bonnet, 2018).

DISCUSSIÓ GENERAL I PERSPECTIVES DE FUTUR

Havent estudiat els principis de la PDT i la PACT i després d'haver analitzat el seus respectius abasts i limitacions, es poden distingir diferències importants entre aquests dos tractaments i preveure les seves perspectives de futur.

En primer lloc, la PDT basa el seu mecanisme d'acció en l'activació per llum d'un fotosensibilitzador que, mitjançant la creació de ROS, causa dany oxidatiu a les cèl·lules. Així doncs, pel correcte funcionament de la PDT és imprescindible la presència d'oxigen molecular. D'altra banda, en la PACT el compost *photocaged* es descompon a través de l'activació amb llum en dos fotoproductes, que per separat poden presentar afinitat i activitat biològica sobre diferents biomolècules induint la mort cel·lular. Per ser eficient, un cop activat, el compost PACT ha d'oferir una toxicitat alta però no necessita la presència d'oxigen per actuar. Així, mentre que la PDT basa la seva acció terapèutica en el dany oxidatiu, la PACT presenta múltiples modalitats terapèutiques que depenen de la naturalesa de la molècula foto-alliberada. Una altra diferència determinant entre els dos tractaments és que la PDT compta amb aplicacions clíniques directes des de fa anys, mentre que la PACT ni tant sols s'ha provat en assajos clínics. Actualment hi ha moltes empreses i associacions científiques que desenvolupen la PDT. En aquest sentit, la PACT es pot beneficiar de tots els avenços científics i tecnològics que s'han produït en els darrers anys. Pot aprofitar tota la recerca feta fins al moment relacionada amb la penetració de la llum en teixits biològics i implementar els dispositius d'il·luminació intersticials per accedir a tumors profunds que s'han desenvolupat per la PDT.

Respecte al futur de la PDT, s'estan duent a terme molts assajos pre-clínic i clínic de PS que busquen millorar les prestacions i el rendiment global del tractament, combinant el subministrament de PS amb altres tractaments com quimioteràpia o radioteràpia. La combinació d'aquests procediments amb la PDT ofereix millors resultats que els que ofereix cada tractament per separat. Per exemple, s'ha comprovat *in vitro* que la combinació de dosis baixes de cisplatí (un agent quimioterapèutic) amb la PDT resulta més efectiu per tractar el càncer de mama que no pas cada teràpia per si sola (Crescenzi et al., 2004). Seguir estudiant les sinergies que es produeixen entre la PDT i els tractaments convencionals serà vital per aconseguir reduir les dosis de quimioteràpia i els efectes adversos que aquesta comporta. També s'estan desenvolupant nous enfocaments pels PS que obren noves possibilitats i milloren el rendiment de la PDT. Així, s'està treballant per exemple en nous PS que permeten ser dirigits de manera més precisa a llocs tumorals específics, donant pas a la "PDT dirigida". Tot i que la PDT ja acumula els PS al teixit tumoral, la selectivitat no és absoluta i en ocasions pot danyar el teixit del voltant. Amb la PDT dirigida s'aconseguiria millorar la selectivitat i especificitat dels PS per les cèl·lules canceroses (Hodgkinson, Kruger, & Abrahamse, 2017). Els avenços en el camp de la nanotecnologia de materials han permès que es desenvolupin PS basats en metall que presenten propietats fotosensibles i de localització molt interessants i que ofereixen un gran potencial de cara al futur. D'altra banda, serà important aprofitar les propietats teranòstiques dels PS per desenvolupar tractaments terapèutics que a més incorporin capacitat diagnòstica. Tanmateix, la reacció immunitària que és capaç de generar la PDT després d'induir la mort cel·lular és un dels aspectes més interessants i que té més potencial d'aquesta teràpia. Si es desenvolupa de manera òptima la capacitat associada a la PDT de generar resposta immunitària i memòria anti-tumoral, en un futur es podria utilitzar aquesta teràpia com a modalitat sistèmica per tractar tumors locals, tumors distants, metàstasis, i per evitar que els càncers recurrents tornin a aparèixer. Així doncs, la PDT té perspectives d'esdevenir un tractament de referència per fer front a múltiples variants de càncer, tant de manera independent per tumors primerencs com de manera combinada amb altres tractaments convencionals. L'aparició de fotosensibilitzadors de nova generació cada cop més eficients, així com l'optimització dels protocols d'irradiació, seran determinants per superar les limitacions actuals i consolidar la PDT al món clínic (Dos Santos et al., 2019; van Straten et al., 2017) .

Pel que fa al futur de la PACT, podria tenir recorregut utilitzant-se per tractar tumors inextirpables (la cirurgia sol ser la primera opció de tractament) que requereixin especificitat, sempre i quan els compostos empleats millorin l'eficiència d'absorció de llum dintre la finestra terapèutica (650-900nm) (Poynton et al., 2017). Així, es podria aplicar per tractar tumors de cervell o situats al cap i al coll, ja que són zones molt sensibles en les quals s'intenta evitar intervencions quirúrgiques que podrien afectar greument la qualitat de vida dels pacients. A

més, alguns d'aquests tipus de tumors solen trobar-se en condicions d'hipòxia, fet que reforça la idea de desenvolupar la PACT per tractar aquests càncers. En el futur també es podria aplicar per tractar per exemple el carcinoma hepatocel·lular, un tipus de càncer de fetge que sol trobar-se en condicions d'hipòxia i sol ser inoperable (G. K. Wilson, Tennant, & McKeating, 2014). Per aquest motiu seria més eficient començar a dirigir la investigació sobre línies cel·lulars de càncer hepàtic, ja que tradicionalment s'han estudiat els compostos inorgànics en línies cel·lulars de càncer d'ovaris. Així, hi haurien més opcions d'introduir la PACT al mercat i al món clínic mitjançant compostos dirigits pel carcinoma hepatocel·lular que no pas pel càncer d'ovaris, ja que aquest últim càncer es sol tractar directament amb cirurgia i actualment ja disposa de més de 800 assajos clínics en curs. D'altra banda, una manera d'accelerar l'arribada de la PACT a assajos clínics seria enfocar-la en el tractament de malalties rares, com tumors minoritaris. Podria ser el cas del melanoma uveal (càncer d'ull) o el sarcoma de teixits tous. Degut a la falta d'investigació en aquests càncers, els governs i organismes reguladors incentiven i faciliten el desenvolupament de cures. Gràcies a això s'escurçarien els terminis per arribar a fases clíniques, s'obtindria avantatges econòmics per desenvolupar el fàrmac PACT i s'aconseguirien extensions de patent. Així doncs, per tal que la PACT arribi al món clínic s'hauria de centrar la investigació a partir de models de càncers específics enlloc de primer desenvolupar un compost i després buscar-li aplicació. Dit d'una altra manera, s'hauria de passar de l'actual apropament basat en el compost a un apropament basat en la malaltia, enfocant un *target* ben caracteritzat des del començament. Les oportunitats de mercat, la disponibilitat d'altres tractaments i les necessitats clíniques són factors que determinaran si la PACT arribarà properament als hospitals o no. Serà important també la implicació de les empreses i comptar amb el suport d'autoritats científiques, així com introduir el concepte de PDT i PACT a les universitats i als seus estudiants (Bonnet, 2018).

REFLEXIÓ D'ÈTICA I SOSTENIBILITAT

En el context de la comunitat científica, el número de publicacions en revistes científiques proporciona vàlua i reconeixement professional a l'autor de l'article. Per aquest motiu, és lògic que la majoria de científics orientin la recerca a generar resultats publicables. Aquí entra en joc un component ètic important. En ocasions, degut potser a la pressió que té el grup de recerca per plasmar la seva feina i fer tangible la seva investigació, es publiquen resultats que, lluny d'aportar valor real, són redundants o tenen recorregut nul després de la publicació.

Aquest fet l'he pogut comprovar durant la cerca bibliogràfica del meu treball. He llegit diversos articles que presentaven candidats a compostos PACT o PS que oferien resultats poc transcendents i que no aportaven cap visió nova sobre el

tema. He notat també que molts resultats presentats com a “descobriments” fa anys, no han tingut continuïtat amb el pas del temps. Això ha provocat que em plantegi fins a quin punt limitem el nostre potencial de desenvolupament, invertint temps, diners i material en qüestions que no tindran repercussió real en la societat. Així doncs, considero que la publicació no hauria de ser la finalitat, sinó el mitjà per generar nou coneixement. S’hauria d’encarar la recerca amb un enfoc aplicable per tal d’optimitzar la despesa de recursos i generar resultats de qualitat que, siguin positius o negatius, persegueixin la innovació sostenible.

D’altra banda, si en el futur es consolida la PDT i la PACT com a tractaments pel càncer, s’hauria d’incorporar l’equipament i formar el personal mèdic d’una manera eficient i sostenible, de manera que el benefici terapèutic compensi la inversió econòmica. De no ser així, el preu dels tractaments probablement seria molt elevat i els faria inaccessibles a persones malaltes amb menys recursos.

CONCLUSIONS

PDT is a clinically approved treatment that can be applied to treat different types of unresectable cancers, being especially effective in early well-oxygenated superficial tumours. It can also be used as a diagnostic tool. It cannot be used to treat hypoxic tumors or metastases. In deep tumors it may be difficult to make light reach the PS and may cause adverse effects such as skin photosensitivity and pain.

The high selectivity for tumor tissue, the insignificant systemic effects and the lack of resistance of tumors give PDT a differential value over other conventional treatments. Unlike the latter, PDT does not limit future treatment options, can be repeated without compromising efficacy, and does not involve their multiple side effects.

New generation nanostructured photosensitizers and improved modalities of PDT will enhance its scope. Optimizing the induction of PDT-associated immune response may lead to treating metastasis. Thus, PDT may be fully consolidated, combined with other therapies, but also as a standalone treatment for oxygenated cancers.

PACT is an early developing treatment that does not yet have clinical applications. Its broad therapeutical specificity gives it a great potential to be directed to multiple targets and treat different tumors, including hypoxic ones. However, current photocaged compounds do not absorb light efficiently enough and their photoactivation is irreversible.

Unlike conventional treatments, PACT demonstrates selective potential that could be used to treat tumors in specific ways without damaging healthy tissues and without causing their side effects. The most important differential value of PACT over PDT is that could be used in hypoxic tumors and would not cause associated photosensitivity, tissue necrosis and pain.

The future clinical prospects of PACT are promising if it finds a niche in the market where it can exploit its ability to treat tumors in a targeted manner. It will be essential to focus on a specific target disease and develop the PACT compound based on it, improve the efficiency of its light absorption, optimize its tumor localization and penetration properties and have the support of medical authorities.

BIBLIOGRAFIA

- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N., & Reed, M. (2001). *The History of Photodetection and Photodynamic Therapy*. 74(5), 656-669.
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., ... Golab, J. (2011). Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(4), 250-281.
- Bacellar, I., Tsubone, T., Pavani, C., & Baptista, M. (2015). Photodynamic Efficiency: From Molecular Photochemistry to Cell Death. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 20523-20559.
- Bahreman, A., Cuello-Garibo, J. A., & Bonnet, S. (2014). Yellow-light sensitization of a ligand photosubstitution reaction in a ruthenium polypyridyl complex covalently bound to a rhodamine dye. *Dalton Transactions*.
- Beyer, W. (1996). Systems for light application and dosimetry in photodynamic therapy. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 36(2), 153-156.
- Bonnet, S. (2018). Why develop photoactivated chemotherapy? *Dalton Transactions*, 47(31), 10330-10343.
- Brancaleon, L., & Moseley, H. (2002). Laser and Non-laser Light Sources for Photodynamic Therapy. *Lasers in Medical Science*, 17(3), 173-186.
- Broichhagen, J., Frank, J. A., & Trauner, D. (2015). A Roadmap to Success in Photopharmacology. *Accounts of Chemical Research*, 48(7), 1947-1960.
- Crescenzi, E., Varriale, L., Iovino, M., Chiaviello, A., Veneziani, B. M., & Palumbo, G. (2004). Photodynamic therapy with indocyanine green complements and enhances low-dose cisplatin cytotoxicity in MCF-7 breast cancer cells. *Molecular cancer therapeutics*, 3(5), 537-544.
- Cuello-Garibo, J.-A., Meijer, M. S., & Bonnet, S. (2017). To cage or to be caged? The cytotoxic species in ruthenium-based photoactivated chemotherapy is not always the metal. *Chemical Communications*, 53(50), 6768-6771.
- Dang, J., He, H., Chen, D., & Yin, L. (2017). Manipulating tumor hypoxia toward enhanced photodynamic therapy (PDT). *Biomaterials Science*, 5(8), 1500-1511.
- Daniell, M. D., & Hill, J. S. (1991). A HISTORY OF PHOTODYNAMIC THERAPY. *ANZ Journal of Surgery*, 61(5), 340-348.
- Dolmans, D. E. J. G. ., Fukumura, D., & Jain K., R. (2003). Photodynamic Therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), 380-387.
- Dos Santos, A. F., De Almeida, D. R. Q., Terra, L. F., Baptista, M. S., & Labriola, L. (2019). Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*, 2019.

- Dougherty, T. J. (2002). An Update on Photodynamic Therapy Applications. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 20(1), 3-7.
- Elsaie, M. L. T. (2013). *Photodynamic therapy: new research*.
- Farrer, N. J., Salassa, L., & Sadler, P. J. (2009). Photoactivated chemotherapy (PACT): The potential of excited-state d-block metals in medicine. *Dalton Transactions*, (48), 10690-10701.
- Filevich, O., & Etchenique, R. (2013). RuBiGABA-2: a hydrophilic caged GABA with long wavelength sensitivity. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 12(9), 1565.
- Fink, C., Enk, A., & Gholam, P. (2015). Photodynamic therapy - Aspects of pain management. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 13(1), 15-22.
- Grzybowski, A., Sak, J., & Pawlikowski, J. (2016). A brief report on the history of phototherapy. *Clinics in Dermatology*, 34(5), 532-537.
- Hamblin, M. R., & Mróz, P. (2008). *Advances in photodynamic therapy: basic, translational, and clinical*.
- Henderson, B. W., Busch, T. M., & Snyder, J. W. (2006). Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms. *Lasers in Surgery and Medicine*, 38(5), 489-493.
- Hidayatullah, A., Wachter, E., Heidary, D., Parkin, S., & Glazer, E. (2014). Photoactive Ru(II) complexes with dioxinophenanthroline ligands are potent cytotoxic agents. *Inorganic chemistry*, 53(19), 10030-10032.
- Hodgkinson, N., Kruger, C. A., & Abrahamse, H. (2017). Targeted photodynamic therapy as potential treatment modality for the eradication of colon cancer and colon cancer stem cells. *Tumor Biology*, 39(10).
- Hopper, C., Niziol, C., & Sidhu, M. (2004). The cost-effectiveness of Foscan mediated photodynamic therapy (Foscan-PDT) compared with extensive palliative surgery and palliative chemotherapy for patients with advanced head and neck cancer in the UK. *Oral Oncology*, 40(4), 372-382.
- Huang, Z., Xu, H., Meyers, A. D., Musani, A. I., Wang, L., Tagg, R., ... Chen, Y. K. (2008). Photodynamic Therapy for Treatment of Solid Tumors — Potential and Technical Challenges. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 7(4), 309-320.
- Juzeniene, A., Juzenas, P., Ma, L.-W., Iani, V., & Moan, J. (2004). Effectiveness of different light sources for 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Lasers in Medical Science*, 19(3), 139-149.
- Juzeniene, A., Nielsen, K. P., & Moan, J. (2006). Biophysical aspects of photodynamic therapy. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 25(1-2), 7-28.
- Kessel, D. (2008). Promotion of PDT efficacy by a Bcl-2 antagonist. *Photochemistry and Photobiology*, 84(3), 809-814.
- Kessel, D. (2015). Apoptosis and associated phenomena as a determinants of the efficacy of photodynamic therapy. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 14(8), 1397-1402.
- Knoll, J. D., Albani, B. A., & Turro, C. (2015). New Ru(II) complexes for dual photoreactivity: ligand exchange and (1)O₂ generation. *Accounts of chemical research*, 48(8), 2280-2287.
- Korbelik, M. (2011). Cancer vaccines generated by photodynamic therapy. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 10(5), 664.
- Lipson, R. L., Baldes, E. J., & Olsen, A. M. (1961). Hematoporphyrin derivative: a new aid for endoscopic detection of malignant disease. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 42, 623—629.
- Lopez, R. F. V., Lange, N., Guy, R., & Bentley, M. V. L. B. (2004). Photodynamic therapy of skin cancer: controlled drug delivery of 5-ALA and its esters. *Advanced drug delivery reviews*, 56(1), 77-94.
- Lovell, J. F., Liu, T. W. B., Chen, J., & Zheng, G. (2010). Activatable Photosensitizers for Imaging and Therapy. *Chemical Reviews*, 110(5), 2839-2857.
- Mallidi, S., Anbil, S., Bulin, A.-L., Obaid, G., Ichikawa, M., & Hasan, T. (2016). Beyond the Barriers of Light Penetration: Strategies, Perspectives and Possibilities for Photodynamic Therapy. *Theranostics*, 6(13), 2458-2487.

- Patrice, T. (2003). *Photodynamic therapy*.
- Penjweini, R., Kim, M. M., Finlay, J. C., & Zhu, T. C. (2016). Investigating the impact of oxygen concentration and blood flow variation on photodynamic therapy. En D. H. Kessel & T. Hasan (Ed.), *Proceedings of SPIE--the International Society for Optical Engineering* (Vol. 9694, p. 96940).
- Pogue, B. W., Elliott, J. T., Kanick, S. C., Davis, S. C., Samkoe, K. S., Maytin, E. V., ... Hasan, T. (2016). Revisiting photodynamic therapy dosimetry: reductionist & surrogate approaches to facilitate clinical success. *Physics in Medicine and Biology*, *61*(7), R57-R89.
- Poynton, F. E., Bright, S. A., Blasco, S., Williams, D. C., Kelly, J. M., & Gunnlaugsson, T. (2017). The development of ruthenium(II) polypyridyl complexes and conjugates for: In vitro cellular and in vivo applications. *Chemical Society Reviews*, *46*(24), 7706-7756.
- Sharma, R., Knoll, J. D., Martin, P. D., Podgorski, I., Turro, C., & Kodanko, J. J. (2014). RutheniumTris(2-pyridylmethyl)amine as an Effective Photocaging Group for Nitriles. *Inorganic Chemistry*, *53*(7), 3272.
- Sharma, S. K., Mroz, P., Dai, T., Huang, Y.-Y., Denis, T. G. St., & Hamblin, M. R. (2012). Photodynamic Therapy for Cancer and for Infections: What Is the Difference? *Israel Journal of Chemistry*, *52*(8-9), 691-705.
- Sitnik, T., Hampton, J., & Henderson, B. (1998). Reduction of tumour oxygenation during and after photodynamic therapy in vivo: effects of fluence rate. *British Journal of Cancer*, *77*(9), 1386-1394.
- Szeimies, R.-M., Morton, C. A., Sidoroff, A., & Braathen, L. R. (2005). Photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer. *Acta dermato-venereologica*, *85*(6), 483-490.
- Turan, I. S., Yildiz, D., Turksoy, A., Gunaydin, G., & Akkaya, E. U. (2016). A Bifunctional Photosensitizer for Enhanced Fractional Photodynamic Therapy: Singlet Oxygen Generation in the Presence and Absence of Light. *Angewandte Chemie International Edition*, *55*(8), 2875-2878.
- Van Rixel, V. H. S., Siewert, B., Hopkins, S. L., Askes, S. H. C., Busemann, A., Siegler, M. A., & Bonnet, S. (2016). Green light-induced apoptosis in cancer cells by a tetrapyrridyl ruthenium prodrug offering two: Trans coordination sites. *Chemical Science*.
- van Straten, D., Mashayekhi, V., de Bruijn, H. S., Oliveira, S., & Robinson, D. J. (2017). Oncologic photodynamic therapy: Basic principles, current clinical status and future directions. *Cancers*, *9*(2), 1-54.
- Wilson, G. K., Tennant, D. A., & McKeating, J. A. (2014). Hypoxia inducible factors in liver disease and hepatocellular carcinoma: Current understanding and future directions. *Journal of Hepatology*, *61*(6), 1397-1406.
- Wilson, W. R., & Hay, M. P. (2011). Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nature reviews. Cancer*, *11*(6), 393-410.
- Zheng, Y., Ji, X., Ji, K., & Wang, B. (2015). Hydrogen sulfide prodrugs-a review. *Acta pharmaceutica Sinica. B*, *5*(5), 367-377.
- Zhu, B. Z., Chao, X. J., Huang, C. H., & Li, Y. (2016). Delivering the cell-impermeable DNA «light-switching» Ru(II) complexes preferentially into live-cell nucleus: Via an unprecedented ion-pairing method. *Chemical Science*, *7*(7), 4016-4023.