Pharmakologische Aspekte von Methyl-amino-oxo-pentanoat (MAOP) im Vergleich zu 5 Δ -Aminolaevulinsäure (ALA) bei der topischen Photodynamischen Therapie

H. Petering¹
P. Lehmann²

Pharmacological Aspects of Methyl-Amino-oxo-Pentanoat (MAOP) in Contrast to 5 Δ -Aminolaevulinic Acid (ALA) in Topical Photodynamic Therapy

Zusammenfassung

In den letzten Jahren ist bei der Fluoreszenzdiagnostik und der photodynamischen Therapie aktinischer Keratosen und von Basalzellkarzinomen die topisch zu applizierende Aminolaevulinsäure (ALA) vorrangig zum Einsatz gekommen. Die Wirksamkeit beider Verfahren wird jedoch limitiert durch die unzureichende Fähigkeit des hydrophilen ALA-Moleküls die Epidermis zu penetrieren und sich selektiv ausschließlich im Tumorgewebe anzureichern. Chemisch modifizierte ALA-Moleküle wie z. B. das Methyl-amino-oxo-pentanoat (MAOP) sind an ihrem C-Terminus verestert und unter physiologischen Bedingungen nicht negativ geladen. Somit besitzen veresterte ALA-Moleküle eine höhere Lipophilie, woraus eine bessere epidermale Penetration und höhere Bioverfügbarkeit resultieren. Weiterhin bestehen Unterschiede in den zellulären Aufnahmemechanismen lipophiler veresteter Moleküle im Vergleich zur hydrophilen ALA, so dass z. B. bei der Verwendung von MAOP im Vergleich zu ALA eine selektivere Anreicherung ausschließlich Tumorgewebe und nicht in der umgebenden Normalhaut auftritt. Bisher publizierte Daten zur Pharmakologie, Pharmakokinetik und zum Metabolismus beider Substanzen lassen vermuten, dass bei der Fluoreszenzdiagnostik und photodynamischen Therapie ein Ester gegenüber dem unveränderten ALA-Molekül Vorteile aufweist.

Abstract

In recent years, topically applied aminolaevulinic acid (ALA) has become the substance of choice for use in fluorescence diagnostic and photodynamic therapy of actinic keratoses and basal cell carcinomas. But the efficacy of both methods is limited by the capacity of the hydrophilic ALA-molecule to penetrate the epidermis and accumulate in the tumor tissue. Modified ALA-molecules e.g. Methyl-amino-oxo-pentanoat (MAOP) contain an esterified carboxyl group which is not carrying a negative charge under physiologic conditions. Higher lipophilicity of esterified forms permits more effective penetration of cutaneous tissue and advantages according to the bioavailability as compared to free ALA. Moreover, differences in the cellular uptake mechanisms between the lipophilic esterified molecule and hydrophilic ALA may explain the observation that MAOP accumulates more selective in tumor tissue than in adjacent normal skin as compared to free ALA. Reviewing published data according to the pharmacology, pharmacokinetic, and metabolism of both substances suggest that topical application of esterified ALA-molecules for fluorescence diagnostic and photodynamic therapy is more effective than the use of free ALA.

Einleitung

Die Fluoreszenzdiagnostik (FD) und die Photodynamische Therapie (PDT) sind innovative Verfahren in unserem Fachgebiet, die sich zur Erkennung und gezielten Behandlung von prämaligen

Veränderungen und epithelialen Hauttumoren eignen. Beide Verfahren beruhen auf dem photodynamischen Prinzip, das aus der Wechselwirkung der drei Faktoren Photosensibilisator, Licht und molekularer Sauerstoff beruht. Nur der synergistische Effekt dieser Komponenten ermöglicht eine genaue Identifizierung und

Institutsangaben

¹ Dermatologische Klinik und Poliklinik, Medizinische Hochschule Hannover

² Zentrum für Dermatologie, Allergologie und Umweltmedizin - Helios Klinikum Wuppertal

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Percy Lehmann · Zentrum für Dermatologie, Allergologie und Umweltmedizin, Helios Klinikum Wuppertal · Arrenbergerstr. 20 · 42177 Wuppertal · E-mail: plehmann@wuppertal.helios-kliniken.de

Bibliografie

Akt Dermatol 2005; 31: 202–205 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
DOI 10.1055/s-2005-861106 · ISSN 0340-2541

Abgrenzung der zu behandelnden Läsionen bzw. führt zu einer selektiven Zerstörung epithelialer Tumorzellen und ihrer Vorstufen.

Dabei kommt dem topisch zu applizierenden Prodrug, der Vorstufe des eigentlichen Photosensibilisators eine entscheidende Bedeutung zu: Gefordert wird eine möglichst selektive Anreicherung ausschließlich im Tumorgewebe ohne die umgebende normale Haut zu beeinträchtigen. Ferner muss eine intrazelluläre Akkumulation in ausreichenden Konzentrationen erfolgen, um durch die enzymatische Umsetzung zu Protoporphyrin IX, dem eigentlichen Photosensibilisator, einen photodynamischen Effekt induzieren zu können. Dabei ist die Penetrationstiefe des Prodrugs durch oberflächliche Epidermisschichten von entscheidender Bedeutung und ein limitierender Faktor.

In den vergangenen Jahren ist die 5 Δ -Aminolaevulinsäure (ALA) zur Substanz der Wahl für die Fluoreszenzdiagnostik und die PDT avanciert. Doch gerade die Forderung nach einer guten Penetrationsfähigkeit und möglichst selektiven Anreicherung im Tumorgewebe wird durch das hydrophile Molekül ALA nur eingeschränkt erfüllt. Dieser Umstand hat zur Entwicklung von lipophilen Esterderivaten des ALA geführt, von denen der Methyl-ester Methyl-[5-amino-4-oxopentanoat] kurz (MAOP) die Zulassung erhalten hat (Metivx[®], Fa. Galderma, Freiburg).

Im Folgenden wird auf pharmakologische Aspekte von MAOP im Vergleich zu ALA bei der topischen Photodynamischen Therapie eingegangen. Zur Darstellung existierender In-vivo-Studien wird auf den Beitrag „Photosensibilisierung und Photoprotektion bei der topischen Photodynamischen Therapie...“ von Gardlo et al. in diesem Themenheft verwiesen.

Erhöhte epidermale Penetrationsfähigkeit und effektivere Gewebeverteilung von MAOP gegenüber ALA

Da die Epidermis und hier v.a. die Lipid-Doppelmembran des Stratum corneum die Diffusion und damit die Penetrationstiefe von ALA limitieren [1,2], sind sehr hohe ALA-Konzentrationen in loco erforderlich, um ausreichende Protoporphyrin IX-Level für die PDT zu erreichen [3]. Zur Verbesserung der Eindringtiefe besteht die Möglichkeit, einen Tesafilmabriss durchzuführen oder einen Penetrationsvermittler wie DMSO (Dimethylsulfoxid 10–20%) beizumischen. DMSO führt jedoch über eine Schädigung des Stratum corneum zu toxisch-irritativen Reaktionen an der Haut und sollte daher nach Wester und Maibach klinisch nicht zum Einsatz kommen [4].

Ein anderer spezifischerer Ansatz, die Bioverfügbarkeit von Protoporphyrin IX zu erhöhen, ist die Verwendung eines ALA-Esters wie dem MAOP. Aufgrund seines lipophilen Charakters lässt sich ein verbessertes Penetrationsverhalten vermuten. Bereits Peng und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die chemische Struktur der zu applizierenden Substanz die Penetration und Gewebeverteilung beeinflusst [5]. So penetrieren lipophile Photosensibilisatoren rascher und tiefer in die Haut, woraus ein größeres Behandlungsareal resultiert [6]. Die topische Applikation von MAOP bewirkt eine höhere Protoporphyrin-IX-Konzentration im Gewebe als das hydrophile ALA, wie anhand von Studien im

Mausmodell [7] bzw. auch für das menschliche Basalzellkarzinom gezeigt werden konnte [3,8]. Ferner erreichen die Esterderivate nach anfänglicher Verzögerung, vermutlich aufgrund der intrazellulären Abspaltung der Estergruppe, früher das Maximum der intrazellulären Protoporphyrin IX-Bildung und induzieren höhere intrazelluläre Porphyrinkonzentrationen [9]. Hieraus erklären sich die kürzeren Inkubationszeiten von MAOP (3 h) im Vergleich zu ALA (4–6 h). Dabei führen die Esterderivate weder zu einer Lichtsensibilisierung von Hautarealen außerhalb der eigentlichen Behandlungsstelle, noch lässt sich eine Fluoreszenz in inneren Organen wie der Leber nachweisen, die auf eine systemische Wirkung schließen lassen würde [10].

Jüngst veröffentlichten Lopez und Mitarbeiter einen Beitrag zum Einsatz der Iontophorese als eine effiziente Methode, die epidermale Penetration zu steigern [11]. Ihre In-vitro-Untersuchungen an der Haut von Schweinen zeigten, dass unter Verwendung der Iontophorese die lipophilen ALA-Ester wie das MAOP einen mehr als 50fach gesteigerten iontophoretischen Fluss durch die Schweinehaut aufwiesen als die polare ALA. Da ALA bei einem physiologischen pH-Wert von 7,4 als Zwitterion vorliegt, scheint die Iontophorese hier primär nur über die Elektroosmose zu funktionieren. Der Methyl-Ester wird hingegen sowohl über die Elektroosmose, insbesondere aber auch über den Vorgang der Elektromigration transportiert und passiert die apikalen Epidermisanteile in kürzerer Zeit und in höheren Konzentrationen. Dabei zeigte sich der Methyl-Ester auch anderen Estervarianten des ALA wie dem Hexyl-Ester überlegen [11]. Inwieweit das Verfahren der Iontophorese klinisch bei der PDT angewendet werden kann und ob die in vitro beobachteten Phänomene auch in vivo übertragen werden können, bleibt abzuwarten.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Biodistribution des Photosensibilisators. So akkumulieren lipophile Sensibilisatoren wie MAOP vorrangig in Biomembranen wie der Zellmembran oder der Membran von Zellorganellen [12], wohingegen hydrophile Substanzen wie ALA sich eher in lysosomalen und endosomalen Zellkompartimenten anreichern [13]. Dabei scheint die Anreicherung in Membranstrukturen für das Absterben von Tumorzellen und damit für den Erfolg der Photodynamischen Therapie von größerer Bedeutung zu sein. So konnten Dougherty und Mitarbeiter nachweisen, dass die Wahrscheinlichkeit einer Zerstörung von Tumorzellen per absorbiertem Lichtquant für lipophile Photosensibilisatoren höher ist als für hydrophile Substanzen wie ALA [14]. Diese Beobachtung lässt bei der Tumorerstörung einen Vorteil von Ester-Derivaten wie MAOP gegenüber der unveränderten ALA vermuten.

Die Mechanismen der zellulären Aufnahme von MAOP und ALA sind unterschiedlich

Nach der Betrachtung des unterschiedlichen Penetrationsverhaltens und der Gewebedistribution von MAOP und ALA könnten auch Unterschiede in den zellulären Aufnahmemechanismen für beide Substanzen bestehen.

In den meisten Körperzellen stehen unterschiedliche Transportsysteme für die Aufnahme von kationischen, zwitterionischen oder anionischen Aminosäuren zur Verfügung. Nach einer Klas-

sifikation von Stevens und Mitarbeitern können diese Transportsysteme unterteilt werden in die Gruppe der Na⁺-abhängigen Transporter, zu denen die System-Beta- und γ -Aminobuttersäure (GABA)-Transporter zählen, sowie in die Gruppe der Na⁺-unabhängigen Systeme [15]. Hinsichtlich der zellulären Aufnahme-mechanismen von ALA haben Rezeptorinhibitionsversuche an Tumorzelllinien stattgefunden, die indirekt zeigen konnten, dass ALA über System-Beta- und GABA-Transporter, d.h. über Na⁺-abhängige Transportsysteme in die Zellen aufgenommen wird. Dabei scheint den System-Beta-Transportern GAT-2 und GAT-3 eine besondere Bedeutung zuzukommen. Eine Blockade dieser Transporter reduziert die intrazelluläre Protoporphyrin-IX-Entstehung um bis zu 85% [16]. Auch Bermudez Moretti et al. fanden, dass die intrazelluläre ALA-Aufnahme über System Beta-Transporter vermutlich GAT-2 vermittelt wird [17]. Diese Transportsysteme unterliegen jedoch einer Sättigung entsprechend einer Michaelis-Menten-Kinetik [18]. Im Gegensatz zu ALA werden die Esterderivate wie das MAOP nicht über diese mengenlimitierten Transportsysteme in die Zellen aufgenommen, sondern unterliegen anderen Transportmechanismen [16]. Auch scheint die passive Diffusion der Ester über die Zellmembran von großer Bedeutung zu sein und ist nicht mengenlimitiert.

Die Tatsache, dass ALA, nicht jedoch MAOP über GABA-Transporter in das Zellinnere gelangen, liefert womöglich die Erklärung für ein weiteres klinisch zu beobachtendes Phänomen: So erscheint die Photodynamische Therapie z.B. von Basalzellkarzinomen mit MAOP weniger schmerzhaft als mit ALA. Diese Beobachtung beruht vermutlich auf der Expression von GABA-Transportern in peripheren Nervenendigungen, die somit ALA, nicht jedoch MAOP aufnehmen können [16].

Kinetische Aspekte der Hautperfusion und -temperatur unter der PDT: Mögliche Unterschiede zwischen MAOP und ALA

Wie eingangs erwähnt ist die Anwesenheit von molekularem Sauerstoff im Tumorgewebe eine Voraussetzung für die Photodynamische Therapie. Durch die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies wie Superoxid- und Hydroxylradikalen sowie Wasserstoffperoxyd aber auch durch die Lipidperoxidationen nach Entstehung von hochreaktivem Singulett-Sauerstoff werden im Verlauf der photodynamischen Reaktion kontinuierlich Sauerstoffmoleküle verbraucht. Somit ist eine gute Tumorperfusion und ein daraus resultierender hoher Sauerstoffpartialdruck von großer Bedeutung. Enejder und Mitarbeiter haben zeigen können, dass Basalzellkarzinome eine 2–3fach höhere Blutperfusion als die umgebende normale Haut aufweisen und durch die topische PDT mit ALA zunächst die lokale Perfusion weiter ansteigt, um sich dann innerhalb von zwei Monaten der gesunden Haut anzugleichen [19]. Nach Soto Thompson et al. führt hingegen die topische PDT mit dem Methylester MAOP zu einer reduzierten Perfusion in loco [8]. Somit ließ sich ein unterschiedlicher Effekt beider Substanzen auf die Gewebepfusion während und nach der PDT vermuten.

Vor kurzem konnten jedoch Pålsson et al. anhand von Laser-Doppler-Perfusionsanalysen und Wärmebildaufnahmen mit der Infrarotkamera demonstrieren, dass hinsichtlich der Perfusion des Tumorgewebes, aber auch im Hinblick auf eine thermische Wirkung im Gewebe keine Unterschiede zwischen beiden Substanzen bestehen [6]. So wurde in der Umgebung des Tumors eine Zunahme der Perfusion nach der PDT mit ALA als auch mit MAOP gemessen. Die Perfusionszunahme wurde auf die einsetzende Entzündungsreaktion zurückgeführt. Die Läsion selbst zeigte direkt nach der PDT keine veränderte Durchblutung. Ferner wurde eine Zunahme der Hauttemperatur festgestellt, die ebenfalls bei beiden Prodrugs identisch war und unter der Grenze für eine hyperthermische Schädigung des Gewebes lag. Der Temperaturanstieg wurde im Wesentlichen auf die Lichtabsorption in der Haut durch andere Chromophore v.a. das Melanin zurückgeführt [6].

Da die vorliegenden Messungen jedoch nur unmittelbar nach Abschluss der PDT bzw. in Zeitintervallen, nicht jedoch während der Durchführung der PDT erfolgten, wären weitere Untersuchungen zur Perfusion und Wärmeentwicklung unter ALA bzw. MAOP *real time*, d.h. ohne zeitliche Verzögerung indiziert.

Zusammenfassung

Aufgrund der dargestellten unterschiedlichen Eigenschaften von ALA und seinen Esterderivaten erscheint somit aus pharmakologischer und pharmakokinetischer Sicht ein Vorteil eines Esters wie des MAOP gegenüber ALA vorzuliegen. Somit sollte bei der lokalen Photodynamischen Therapie epithelialer Hauttumoren und ihrer Vorstufen eher ein Ester als die chemisch unveränderte ALA zur Anwendung kommen.

Literatur

- van den Akker JTHM, Iani V, Star WM, Sterenborg HJCM, Moan J. Topical application of 5-aminolevulinic acid hexyl ester and 5-aminolevulinic acid to normal nude mouse skin: differences in protoporphyrin IX fluorescence kinetics and the role of the stratum corneum. *Photochem Photobiol* 2000 b; 72: 681–689
- Stapleton M, Rhodes LE. Photosensitizers for photodynamic therapy of cutaneous disease. *J Dermatol Treat* 2003; 14: 107–112
- Peng Q, Warloe T, Moan J, Heyerdahl H, Steen HB, Nesland JM, Giercksky KE. ALA derivative-induced protoporphyrin IX build-up and distribution in human nodular basal cell carcinoma. *Photochem Photobiol* 1995; 61: 82
- Wester RC, Maibach HI. In vivo animal models for percutaneous absorption. In: Bronaugh RL, Maibach HI (Hrsg). *Percutaneous absorption*. New York: Marcel Dekker Verlag, 1989: pp 221–228
- Peng Q, Moan J, Farrants G, Danielsen HE, Rimington C. Localization of potent photosensitizers in human tumor LOX by means of laser scanning microscopy. *Cancer Lett* 1991; 58: 17–27
- Pålsson S, Gustafsson L, Bendsoe N, Soto Thompson M, Andersson-Engels S, Svanberg K. Kinetics of the superficial perfusion and temperature in connection with photodynamic therapy of basal cell carcinomas using esterified and non-esterified 5-aminolevulinic acid. *Br J Dermatol* 2003; 148: 1179–1181
- Peng Q, Moan J, Warloe T, Iani V, Steen HB, Bjørseth A, Nesland JM. Build-up of esterified aminolevulinic-acid-derivative-induced porphyrin fluorescence in normal mouse skin. *J Photochem Photobiol* 1996; 34: 95–96
- Soto Thompson M, Gustafsson L, Pålsson S. Photodynamic therapy and diagnostic measurements of basal cell carcinomas using esterified and

- non-esterified 5-aminolevulinic acid. *J Porphyrins Phtalocyanines* 2001; 5: 147–153
- ⁹ Juzeniene A, Juzenas P, Iani V, Moan J. Topical application of 5-aminolevulinic acid and its methylesters, hexylesters and octylester derivatives: considerations for dosimetry in mouse skin model. *Photochem Photobiol* 2002; 76: 329–334
- ¹⁰ Moan J, Li-Wei MA, Juzeniene A, Iani V, Juzenas P, Apricena F, Peng Q. Pharmacology of protoporphyrin IX in nude mice after application of ALA and ALA esters. *Int J Cancer* 2003; 103: 132–135
- ¹¹ Lopez RFV, Bentley VLB, Begona Delgado-CharroM, Salomon D, van den Bergh H, Lange N, Guy RH. Enhanced delivery of 5-aminolevulinic acid esters by iontophoresis in vitro. *Photochem Photobiol* 2003; 77(3): 304–308
- ¹² Kessel D. Transport and localisation of m-THPC in vitro. *Int J Clin Pract* 1999; 53: 263–267
- ¹³ Berg K, Moan J. Lysosomes and microtubules as targets for photodynamic therapy of cancer. *Photochem Photobiol* 1997; 65: 410–415
- ¹⁴ Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbek M, Moan J, Peng Q. Photodynamic therapy. *J Nat Cancer Inst* 1998; 90: 889–905
- ¹⁵ Stevens BR, Kaunitz JD, Wright EM. Intestinal transport of aminoacids and sugars: advances using membrane vesicles. *Annu Rev Physiol* 1984; 46: 417–433
- ¹⁶ Rud E, Gederaas O, Hogset A, Berg K. 5-aminolevulinic acid, but not 5-aminolevulinic acid esters, is transported into adenocarcinoma cells by system BETA transporters. *Photochem Photobiol* 2000; 71(5): 640–647
- ¹⁷ Bermudez Moretti M, Correa Garcia S, Perotti C, Batlle A, Casas A. δ -aminolevulinic acid transport in murine mammary adenocarcinoma cells is mediated by BETA transporters. *Br J Cancer* 2002; 87: 471–474
- ¹⁸ Correa Garcia S, Casas A, Perotti C, Batlle A, Bermudez Moretti M. Mechanistic studies on δ -aminolevulinic acid uptake and efflux in a mammary adenocarcinoma cell line. *Br J Cancer* 2003; 89: 173–177
- ¹⁹ Enejder AMK, af Klinteberg C, Wang I, Andersson-Engels S, Bedsoe N, Svanberg S, Svanberg K. Blood perfusion studies on basal cell carcinomas in conjunction with photodynamic therapy and cryotherapy employing laser-Doppler perfusion imaging. *Acta Derm Venerol* 2000; 80: 19–23

Buchbesprechung

Zoonosen. Von Tier zu Mensch übertragbare Infektionskrankheiten

H. Krauss, A. Weber, M. Appel u. a.

Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, 2004. 3., überarb. u. erw. Aufl. 605 S. m. 100 z. Teil. farb. Abb. Geb. 119,- €. ISBN 3-7691-0406-4

Von Tier zu Mensch übertragbare Krankheiten gibt es viele und je besser unsere Kenntnisse sind, umso umfangreicher wird das Arsenal. Die Tier-Mensch-Grenze ist keine wirkliche, biologische Grenze, in beiden Richtungen nicht. Spezielle Darstellung und Zusammenschau drängen sich auf, sind brauchbar und notwendig. Diese geschieht vor allem aus mikrobiologischer Sicht, ohne die Klinik zu vernachlässigen und hygienische Aspekte auszuschließen. Ein solches Werk liegt nun in der dritten, vollständig überarbeiteten und erweiterten Auflage vor. 1986 entstand eine erste Auflage, die sich 1997 zur zweiten entwickelte, um nun mit über 600 Seiten eine vorläufige Krönung zu erleben. Neun hoch qualifizierte Autoren, fünf aus der mittelhessischen Universitätsballung Giessen und Marburg, aus Erlangen und Zürich je einer und deren zwei aus USA haben sich die weiten Gebiete aufgeteilt und breiten sie straff gegliedert und gut gestaltet vor dem Leser aus. Man findet alles, für jedes Fach das Entsprechende und auch gut quervernetzt. Kapitel über Viren, Bakterien und Parasiten machen den mikrobiologisch-klinischen Hauptteil aus und die Krankheiten der Haut und solche, die sich auch auf die Haut auswirken sind alle enthalten. Gelegentlich sind fachspezifische Besonderheiten und Feinheiten etwas knapp gehalten oder unterschlagen, wohl weil sie dem Mikrobiologen nicht so wichtig erscheinen. Wir werden es zu verschmerzen wissen. Ein Anhang besonderer Nützlichkeit informiert über Tierbisse, über Infektionen und Intoxikationen durch tierische Nahrungsmittel und über iatrogene Übertragungen. Dazu kommt ein Verzeichnis der durch die verschiedensten Tierarten übertragbare Zoonosen und ein Abschnitt über die Meldepflicht. Ein Sachverzeichnis erleichtert den Zugang in vorbildlicher Weise.

Berührt und betroffen erfährt der Leser, dass vor der Vollendung dieser Auflage der Initiator und Erstautor Hartmut Kraus an den Folgen eines Verkehrsunfalls verstorben ist. Ihm gilt Mitgefühl und Anerkennung.

Zoonosen und der Gang der Infektionen stehen im Wechselspiel mit Maßnahmen und Erfolgen der Hygiene und Seuchenbekämpfung. Die inter- und transdisziplinäre Verknüpfung und Verflechtung mit wissenschaftshistorischen und sozialgeschichtlichen Aspekten stellen Brennpunkte aktueller Forschung dar und werden die nächste Auflage dieses Werkes beleben und bereichern.

E. G. Jung, Heidelberg