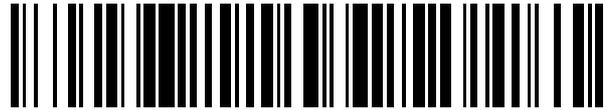


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 454 974**

51 Int. Cl.:

**A61B 18/18** (2006.01)

**A61N 5/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2008 E 08781098 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2014 EP 2164418**

54 Título: **Aparato para la inhibición óptica de la terapia fotodinámica**

30 Prioridad:

**27.06.2007 US 946536 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**14.04.2014**

73 Titular/es:

**THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION  
(100.0%)  
55 FRUIT STREET  
BOSTON, MA 02114, US**

72 Inventor/es:

**SAKAMOTO, FERNANDA HIDEMI;  
ANDERSON, RICHARD ROX;  
FARINELLI, WILLIAM A. y  
DOUKAS, APOSTOLOS G.**

74 Agente/Representante:

**ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María**

**ES 2 454 974 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Aparato para la inhibición óptica de la terapia fotodinámica

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a aparatos para proteger tejido no diana (p. ej., tejido epitelial) durante la terapia fotodinámica utilizando inhibición óptica.

10 **Antecedentes**

La terapia fotodinámica ("TFD") generalmente implica la aplicación local o sistémica de un agente fotosensible que absorbe luz, o fotosensibilizante, que se puede acumular selectivamente en determinados tejidos diana. Tras la irradiación con radiación electromagnética, tal como luz visible de una longitud de onda adecuada, pueden producirse especies reactivas de oxígeno (p. ej., oxígeno singlete y/o radicales libres) en células u otro tejido que contenga el fotosensibilizante, que provocan el daño o la muerte celular. El daño oxidativo producido por estos intermediarios reactivos generalmente se restringe a las células o estructuras en las que está presente el fotosensibilizante. Por consiguiente, los tratamientos por TFD pueden ser capaces de "dirigirse" a células y lesiones específicas, por ejemplo, si el fotosensibilizante está presente en cantidades significativas solamente en los sitios diana deseados y/o la activación por luz se realiza solamente en dichos sitios diana.

En los tratamientos por TFD también puede utilizarse un precursor de fotosensibilizante, tal como el ácido aminolevulínico ("ALA") o éster del ALA, que se convierte en un fotosensibilizante (p. ej., una porfirina) cuando se metaboliza. El ALA es un agente de TFD tópico aprobado por el Organismo para el Control de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés). El ALA puede ser el primer precursor comprometido de la síntesis del grupo hemo, y se produce de forma natural en células de mamíferos. Cuando se suministra en exceso, el ALA puede sobredirigir la ruta de síntesis del hemo hasta que se agotan las reservas de hierro intracelular, después de lo cual las porfirinas fotosensibilizantes (p. ej., la protoporfirina IX) se pueden acumular en los tejidos del modo descrito, p. ej., en Kennedy et al., "Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience", *J Photochem Photobiol B* (1990), 6:143-148; Kennedy et al., "Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy", *J Photochem Photobiol B: Biol* (1992), 14:275-92; y Kennedy et al., "Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photodensitization induced by 5-aminolevulinic acid (ALA): mechanism and clinical results", *J Clin Laser Med Surg* (1996), 14:289-304.

La TFD se ha utilizado para tratar diversas afecciones médicas como, por ejemplo, enfermedades infecciosas, enfermedades malignas (tales como cánceres de piel, linfomas, etc.), afecciones premalignas (como la queratosis actínica), verrugas virales, eliminación de vello, etc. en muchos campos diferentes de la medicina, incluyendo la dermatología, oftalmología, oncología, y otros.

Por ejemplo, la TFD con ALA es un tratamiento potente y prolongado para el acné vulgar severo que deja cicatrices, una enfermedad común de la piel causada por anomalías de los folículos sebáceos de la piel que puede producir cicatrices permanentes y desfiguración. Se ha observado que la TFD tiene aproximadamente la misma potencia que la isotretinoína oral (Accutane®), un tratamiento muy eficaz. Sin embargo, la isotretinoína, que reprime la función de las glándulas sebáceas (grasas) de la piel, es peligrosa porque puede causar anomalías congénitas si una mujer se queda embarazada durante o después de tomar el fármaco. El tratamiento por TFD puede presentar un riesgo mucho menor que la aplicación de isotretinoína oral, es menos caro y tiene menos efectos secundarios, no requiere análisis de sangre, puede utilizarse en mujeres fértiles, y puede controlar eficazmente el acné severo. Entre 1 y 4 tratamientos por TFD administrados a lo largo de 3 meses generalmente inhibe el acné durante un período que oscila entre varios meses y permanentemente. Cuando sea necesario, se puede realizar un segundo tratamiento. Sin embargo, el tratamiento por TFD del acné vulgar utilizando ALA y/o metil-ALA puede tener efectos secundarios no deseados, tales como fotosensibilización epidérmica, que causa dolor durante la exposición a la luz, reacciones similares a las quemaduras del sol, y/o pigmentación después del tratamiento según se describe, p. ej., en Hongcharu et al., "Topical ALA-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris," *J Invest Dermatol*, 115,183-192 (2000).

Aunque las técnicas de TFD que utilizan un fotosensibilizante o precursor de fotosensibilizante pueden resultar eficaces en determinadas aplicaciones, suele ser difícil controlar la aplicación en el área de tratamiento. Por ejemplo, el fotosensibilizante o precursor de fotosensibilizante se puede absorber y/o acumular en tejidos sanos además de en el tejido diana. En la eliminación de vello, por ejemplo, un fotosensibilizante o precursor de fotosensibilizante que se aplique a la piel tópicamente puede ser absorbido tanto por la capa epidérmica como por la capa dérmica de la piel. En consecuencia, la aplicación de luz puede causar fototoxicidad en la epidermis, lo que puede provocar una hiperpigmentación prolongada o necrosis epidérmica. En general, los tratamientos por TFD del tejido subepitelial que utilizan fotosensibilizantes aplicados tópicamente suelen causar daños no deseados en el tejido epitelial.

La inhibición térmica o química de la formación de fotosensibilizantes en el tejido epitelial a partir de precursores se puede utilizar para reducir el daño no deseado en dicho tejido. No obstante, puede que resulte difícil controlar con

precisión la formación y acumulación de fotosensibilizantes en tejidos y/o capas de tejidos específicos utilizando técnicas térmicas o químicas. Así mismo, dichas técnicas pueden interferir también en el proceso de TFD cuando se utilizan fotosensibilizantes tales como el ALA.

5 El documento US 2007/003827011 desvela un fotomodelaje de la piel en varias fases.

Valerie Madean et al., "*In vivo* measurement of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX photobleaching: a comparison of red and blue light of various intensities", *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine* 2004; 20; 170-174 desvela una comparación de luz roja y azul en el fotoblanqueamiento.

10 En consecuencia, existe la necesidad de un método y un aparato mejorados para la terapia fotodinámica que puedan reducir o eliminar el daño en el tejido epitelial de forma controlable y que permitan al mismo tiempo el tratamiento del tejido diana subyacente.

### 15 **Objetivos y sumario de la invención**

Si bien diversas técnicas de TFD inducidas por fotosensibilizante y ALA proporcionan un tratamiento eficaz para numerosas afecciones, puede que la acumulación de precursores de fotosensibilizantes y/o fotosensibilizantes no sea selectiva generalmente. De este modo, el precursor de fotosensibilizante puede metabolizarse en un fotosensibilizante tanto en el tejido superficial como en el tejido diana subyacente, pudiendo causar de este modo daños no deseados en tejidos superficiales no diana sanos durante el posterior tratamiento por TFD. Algunas realizaciones ejemplares de la presente invención proporcionan dispositivos para prevenir o reducir el grado o probabilidad de daños no deseados en el tejido epitelial, u otros tejidos no diana, durante la TFD, tales como el aparato de la reivindicación 1.

25 Se describe un método para aplicar un precursor de fotosensibilizante a una estructura anatómica, y después aplicar una primera radiación inhibidora a la estructura anatómica. La primera radiación inhibidora se configura para reducir sustancialmente o eliminar la presencia de un fotosensibilizante en una primera región de la estructura anatómica, tal como una región superficial o epitelial, mediante la inhibición o prevención de la formación del fotosensibilizante a partir del precursor de fotosensibilizante. Después se aplica una segunda radiación a la estructura anatómica para producir una especie fototóxica a partir del fotosensibilizante situado en una segunda región de la estructura anatómica. La primera región puede resultar sustancialmente no afectada por la segunda radiación, y la segunda región puede contener sitios diana específicos que resultarán dañados por la especie fototóxica. Preferentemente, la primera radiación se aplica a un nivel inferior (p. ej., menor fluencia y/o irradiancia) que la segunda radiación. La primera y segunda radiaciones se aplican a distintas longitudes de onda o bandas de longitud de onda (p. ej., una primera longitud de onda de la primera radiación inhibidora es más corta que una segunda longitud de onda de la segunda radiación).

40 La primera radiación inhibidora tiene una longitud de onda que está entre 320 nm y 450 nm, y la segunda radiación tiene una longitud de onda que está entre aproximadamente 470 nm y aproximadamente 700 nm, o, más preferentemente, entre aproximadamente 625 nm y aproximadamente 645 nm si se utilizan, p. ej., ALA, derivados de ALA o porfirinas.

45 La primera radiación inhibidora se aplica con una irradiancia que está entre 0,01 mW/cm<sup>2</sup> y 30 mW/cm<sup>2</sup> y una fluencia total que está entre aproximadamente 1 y aproximadamente 100 J/cm<sup>2</sup>. La radiación inhibidora se aplica preferentemente en los 30 minutos posteriores a la aplicación del precursor de fotosensibilizante (p. ej., una solución de ALA) en el tejido o, más preferentemente, en menos de aproximadamente 15 minutos después de aplicar el precursor de fotosensibilizante.

50 Por ejemplo, se pueden utilizar realizaciones ejemplares para controlar la aplicación de TFD inducida utilizando un precursor de fotosensibilizante y, en particular, para evitar el daño en un tejido epitelial, tal como la epidermis, durante la TFD. Un precursor de fotosensibilizante, tal como un precursor de porfirina, se administra a un sitio de tratamiento diana mediante aplicación tópica o inyección. El precursor de fotosensibilizante se absorbe a través del tejido circundante y dentro del tejido en el sitio diana, donde generalmente se metaboliza y se convierte en un fotosensibilizante, tal como una porfirina. La formación del fotosensibilizante se inhibe o evita en el tejido epitelial que rodea el sitio de tratamiento diana mediante la aplicación de una radiación inhibidora. El sitio diana se irradia después con una radiación de tratamiento para activar el fotosensibilizante y dañar el tejido en el sitio de tratamiento diana, quedando básicamente sin afectar el tejido epitelial que rodea el sitio de tratamiento diana. La radiación de tratamiento se aplica preferentemente en los 30 minutos posteriores a la interrupción de la exposición a la radiación inhibidora o, más preferentemente, en menos de aproximadamente 15 minutos después de finalizar la aplicación de la radiación inhibidora.

65 En realizaciones adicionales, el metabolismo del precursor de fotosensibilizante en el tejido epitelial no diana que rodea el sitio de tratamiento diana se inhibe exponiendo el tejido a radiación electromagnética. Por ejemplo, se puede aplicar radiación electromagnética que se absorba o disperse en gran medida por el tejido epitelial, de manera que una dosis de exposición suficiente de la radiación no penetre en el sitio diana en un alto grado. La inhibición del

metabolismo del precursor de fotosensibilizante queda así limitada a regiones por encima de una profundidad específica del tejido epitelial, y el fotosensibilizante puede seguir formándose y acumulándose dentro del sitio diana. El tratamiento por TFD posterior con aplicación de la radiación de tratamiento, puede causar daño o muerte celular dentro del sitio diana, dejando el tejido epitelial sin apenas daños debido a una falta relativa de fotosensibilizantes en su interior.

El aparato de la invención puede utilizarse en un método para tratar una afección de la piel en un sujeto administrando ácido 5-aminolevulínico al sujeto y aplicando una primera radiación inhibidora a la piel del sujeto en una cantidad y duración suficientes como para reducir la acumulación de protoporfirina IX dentro de la epidermis de la piel. Después se aplica una segunda radiación a la piel del sujeto en una cantidad y duración suficientes como para producir una especie fototóxica a partir de la protoporfirina IX situada en la dermis de la piel. La epidermis puede quedar sustancialmente no afectada por la segunda radiación, tratándose así la afección de la piel en el sujeto. Si se desea, la primera radiación inhibidora puede aplicarse de forma continua durante el período del metabolismo que se produce después de la administración del ácido 5-aminolevulínico o del precursor de fotosensibilizante similar.

En otras realizaciones adicionales, se utiliza como fotosensibilizante un compuesto fotoblanqueable, tal como, p. ej., una porfirina. Dichos fotosensibilizantes se pueden fotoblanquear en tejido no diana mediante la exposición del tejido no diana a una radiación electromagnética que tenga la irradiancia, fluencia y longitud de onda adecuadas para fotoblanquear el agente sin formar suficientes especies reactivas de oxígeno o causar de otra manera daño o muerte celular. El fotosensibilizante queda así "desactivado" en determinadas regiones del tejido y se puede seguir acumulando dentro del sitio diana. Nuevamente, el tratamiento por TFD posterior provoca daño o muerte celular dentro del sitio diana, mientras deja el tejido epitelial relativamente sin daños debido a la falta relativa de fotosensibilizantes en su interior. La radiación utilizada para fotoblanquear un compuesto se proporciona a una fluencia e irradiancia inferiores que la radiación aplicada posteriormente durante el tratamiento por TFD. La radiación de fotoblanqueamiento tiene una longitud de onda más corta que la radiación de tratamiento por TFD, de manera que no penetra tan profundamente dentro del tejido, lo cual permite que los compuestos no blanqueados sigan en concentraciones elevadas a niveles más profundos dentro del tejido. El tiempo de demora entre aplicar el fotosensibilizante y aplicar la luz fotoblanqueante se puede optimizar para permitir la acumulación del fotosensibilizante en el tejido diana en comparación con el tejido no diana, según se describe con más detalle a continuación.

Los fotosensibilizantes fotoblanqueables que se pueden utilizar en realizaciones de la presente invención incluyen, a modo meramente enunciativo, una porfirina, clorina, porfírico, purpurina, ftalocianina, naftalocianina, bacterioclorina, benzofenotiacina, tetraciclina, azul de metileno, y/o hipericina.

La primera radiación inhibidora tiene una longitud de onda de entre aproximadamente 320 nm y aproximadamente 1450 nm o, preferentemente, entre aproximadamente 380 nm y aproximadamente 420 nm. La primera radiación inhibidora se aplica a una irradiancia que está entre  $0,1 \text{ mW/cm}^2$  y  $30 \text{ mW/cm}^2$ , y una fluencia que está entre aproximadamente  $1 \text{ J/cm}^2$  y aproximadamente  $100 \text{ J/cm}^2$ . En realizaciones adicionales, la segunda radiación tiene una longitud de onda de entre aproximadamente 400 nm y aproximadamente 900 nm, preferentemente entre aproximadamente 600 nm y aproximadamente 800 nm o, aún más preferentemente, entre aproximadamente 625 nm y aproximadamente 720 nm.

Las realizaciones de la presente invención proporcionan un aparato para realizar un tratamiento por TFD que evite daños significativos en el tejido epitelial. El aparato incluye una fuente de radiación inhibidora, que se puede configurar para prevenir o reducir la formación de fotosensibilizantes en el tejido epitelial por encima de un sitio de tratamiento diana o, como alternativa, para fotoblanquear fotosensibilizantes en determinadas regiones del tejido cercano al sitio diana. Se proporciona una fuente de radiación de tratamiento, estando configurada la radiación de tratamiento para activar los fotosensibilizantes situados en el sitio diana dejando el tejido epitelial básicamente sin afectar debido a la falta de fotosensibilizantes en dicho tejido. Así mismo, se proporcionan un controlador y un mecanismo de liberación para controlar los parámetros asociados a las fuentes de radiación inhibidora y de radiación de tratamiento, y para dirigir las radiaciones hacia el tejido que se está tratando. El aparato también puede incluir un mecanismo configurado para enfriar la superficie del tejido que se está tratando. Opcionalmente, se proporciona un dispositivo sensor para detectar una o varias características del tejido que se está tratando, y para comunicar con el controlador de manera que el controlador pueda modificar uno o varios parámetros de las radiaciones inhibidoras y/o de tratamiento basándose en las características detectadas.

La radiación inhibidora tiene una longitud de onda que es más corta que la correspondiente a la radiación de tratamiento, p. ej., es luz UV cercana. Así, la radiación inhibidora puede dispersarse y absorberse más que la radiación de tratamiento, de manera que la radiación de tratamiento penetra más profundamente dentro del tejido que la radiación inhibidora. Esta diferencia en las características de la radiación permite la formación y acumulación de fotosensibilizantes en sitios diana más profundos dentro del tejido. La radiación inhibidora tiene una longitud de onda de entre 320 nm y aproximadamente 450 nm, o entre aproximadamente 380 y aproximadamente 430 nm.

Las características de la radiación de tratamiento se suelen seleccionar de manera que pueda penetrar en el tejido a una profundidad suficiente como para alcanzar los sitios diana. De este modo, la radiación de tratamiento puede tener, por ejemplo, una longitud de onda de entre aproximadamente 630 nm y aproximadamente 640 nm. La radiación de tratamiento tiene una fluencia e irradiancia mayores que la radiación inhibidora.

5 En realizaciones adicionales, se proporciona el enfriamiento y/o calentamiento radiante del tejido que se está tratando. El enfriamiento se puede realizar antes, durante y/o después de la aplicación de la radiación inhibidora y/o la radiación de tratamiento. Dicho enfriamiento puede reducir las molestias durante el procedimiento de la TFD, e inhibir así mismo el metabolismo de los pre-fotosensibilizantes en el tejido epitelial. El calentamiento radiante  
10 proporcionado antes de la aplicación de la radiación de tratamiento puede mejorar la acumulación de fotosensibilizantes en sitios diana para promover un tratamiento más eficaz.

15 Las realizaciones de la presente invención se pueden utilizar para tratar diversas afecciones que incluyen, por ejemplo, eliminación de vello, acné, tumores, quistes, malformación de vasos sanguíneos, nevus cutáneos, tumores anaxiales, siringomas, linfomas cutáneos de células T, carcinomas escamosos, carcinomas de células basales, o verrugas cutáneas.

20 Estos y otros objetos, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes una vez leída la siguiente descripción detallada de las realizaciones de la invención, al interpretarse junto con las reivindicaciones adjuntas.

### Breve descripción de los dibujos

25 Otros objetos, características y ventajas de la invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada interpretada junto con las figuras adjuntas que muestran realizaciones ilustrativas de la invención, en las que:

30 La Fig. 1 es una sección transversal ejemplar de una parte de una estructura anatómica que muestra diversas características del tejido cutáneo;

La Fig. 2 es un diagrama esquemático de un procedimiento ejemplar de acuerdo con realizaciones ejemplares de la presente invención en la parte de una estructura anatómica;

35 La Fig. 3 es un diagrama de bloques de un aparato/sistema ejemplar que puede utilizarse de acuerdo con realizaciones ejemplares de la presente invención;

La Fig. 4 es un diagrama esquemático de un sistema ejemplar adicional que puede utilizarse de acuerdo con realizaciones ejemplares de la presente invención;

40 La Fig. 5 es un diagrama de flujo de un método ejemplar utilizado de acuerdo con realizaciones ejemplares de la presente invención;

La Fig. 6 representa luz azul que inhibe la TFD con ALA;

45 La Fig. 7 representa fotografías clínicas ejemplares tomadas después de 24 horas que demuestran la modulación por la temperatura de la reacción de la TFD en dos tiempos de incubación distintos (180 minutos y 30 minutos), para 0,1% de ALA inyectado y 20% de ALA tópico, aplicando irradiación LED de 632 nm (Omnilux®) en todos los sitios ( $200 \text{ J/cm}^2$ ) tras la incubación;

50 La Fig. 8 es un gráfico ejemplar de los tiempos de incubación observados para la metabolización de precursores de fotosensibilizantes;

55 La Fig. 9a es una ilustración esquemática del comportamiento de absorción ejemplar de un haz de radiación que es aproximadamente normal respecto a la superficie de un tejido; y

La Fig. 9b es una ilustración esquemática del comportamiento de absorción ejemplar de un haz de radiación que se proporciona a un ángulo de incidencia agudo respecto a la superficie del tejido mostrada en la Fig. 9a.

60 A pesar de que la presente invención va a describirse ahora en detalle con referencia a las figuras, también se describe en relación con las realizaciones ilustrativas.

### Descripción detallada

#### 1. DEFINICIONES

65 Según se utiliza en el presente documento, la expresión "estructura anatómica" se refiere, a modo meramente

enunciativo, a una estructura o sistema complejo del cuerpo que tiene múltiples capas y/o regiones.

Según se utiliza en el presente documento, la expresión "radiación inhibidora" se refiere, a modo meramente  
 5 enunciativo, a una radiación proporcionada a una longitud de onda adecuada y en una cantidad y duración  
 suficientes como para: 1) reducir la conversión de un precursor de fotosensibilizante en un fotosensibilizante, o 2)  
 fotoblanquear un fotosensibilizante. Los efectos de dicha radiación pueden controlarse más fácilmente administrando  
 la radiación a un nivel de irradiancia y fluencia bajo.

Según se utiliza en el presente documento, el término "fotoblanquear" se refiere, a modo meramente enunciativo, a  
 10 un tratamiento de un fotosensibilizante con una radiación óptica en un espectro que puede absorber el  
 fotosensibilizante, pero puede que no sea de una longitud de onda de excitación suficiente (p. ej., la radiación óptica  
 hace que se produzcan pocas o ninguna especie fototóxica).

Según se utiliza en el presente documento, el término "fotosensibilizante" se refiere, a modo meramente enunciativo,  
 15 a un compuesto fotoactivable que puede producir una especie reactiva (p. ej., oxígeno singlete, radicales libres,  
 productos reactivos en estado excitado o productos de escisión del fotosensibilizante) que puede tener un efecto  
 tóxico en una célula, un componente celular o una biomolécula.

Según se utiliza en el presente documento, la expresión "precursor de fotosensibilizante" se refiere, a modo  
 20 meramente enunciativo, a cualquier agente o fármaco que puede convertirse *in vivo* (p. ej., metabólicamente) en  
 un fotosensibilizante.

Según se utiliza en el presente documento, la expresión "especie fototóxica" se refiere, a modo meramente  
 25 enunciativo, a una especie reactiva (p. ej., oxígeno singlete, radicales libres, productos reactivos en estado excitado  
 o productos de escisión del fotosensibilizante) que se produce a partir de un fotosensibilizante en presencia de luz  
 administrada a una longitud de onda de excitación, donde la especie reactiva puede tener un efecto tóxico en una  
 célula, un componente celular o una biomolécula.

Según se utiliza en el presente documento, "reducir" referido a un fotosensibilizante, puede indicar una formación o  
 30 acumulación al menos aproximadamente 1 vez (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100,  
 1000, 10.000 veces o más) menor de un fotosensibilizante en un sujeto tras el tratamiento con radiación inhibidora  
 en comparación con la ausencia de tratamiento. "Reducir", referido a un fotosensibilizante, también puede significar,  
 p. ej., una formación o acumulación al menos aproximadamente un 5% (por ejemplo 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30,  
 35 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99 o 100%) menor de un fotosensibilizante en un sujeto tras el  
 tratamiento con radiación inhibidora en comparación con la ausencia de tratamiento.

Según se utiliza en el presente documento, la expresión "sustancialmente no afectado" se refiere, a modo  
 40 meramente enunciativo, a una reducción o ausencia de daño (p. ej., una cantidad imperceptible visualmente), o daño  
 no letal (p. ej., daño oxidativo) en una región o capa de una estructura anatómica que recibe radiación inhibidora  
 antes de la terapia fotodinámica.

Según se utiliza en el presente documento, la expresión "tejido diana" se refiere, a modo meramente enunciativo, a  
 45 tejido anormal o enfermo, o a una estructura de tejido en particular tal como, p. ej., glándulas sebáceas en la piel,  
 que puede seleccionarse para la terapia fotodinámica.

Según se utiliza en el presente documento, la expresión "tejido no diana" se refiere, a modo meramente enunciativo,  
 a tejido normal o sano, a estructuras de tejido, o a cualquier otro tejido en el que no se desea aplicar una terapia  
 fotodinámica.

En esta divulgación, "comprende", "que comprende", "que contiene", "que tiene", y expresiones similares, pueden  
 50 significar "incluye", "que incluye", etc.; "que consiste esencialmente en" o "consiste esencialmente" son términos  
 abiertos, lo cual permite la presencia de más elementos aparte de los enunciados siempre que las características  
 básicas o nuevas de lo enunciado no cambien debido a la presencia de más elementos aparte de los enunciados,  
 pero excluye realizaciones de la técnica anterior.

55 Pueden aparecer otras definiciones en contexto a lo largo de esta divulgación.

## II. REALIZACIONES EJEMPLARES

60 El aparato de acuerdo con las realizaciones de la presente invención utiliza radiación electromagnética para  
 controlar y/o inhibir la formación de un fotosensibilizante a partir de un precursor de fotosensibilizante administrado a  
 determinados tejidos para procedimientos de TFD.

La Fig. 1 muestra una sección transversal ejemplar de un tejido cutáneo 100 que se puede tratar utilizando  
 65 realizaciones ejemplares de acuerdo con la presente invención. El tejido cutáneo 100 incluye una capa superficial (p.  
 ej., epidérmica) 110, que además incluye un estrato córneo 120 (capa fina, muerta y exterior de la piel) y una

epidermis 130, que es una capa epitelial superficial de aproximadamente 0,1 mm de espesor. La epidermis 130 es frecuentemente donde se encuentra la mayor parte del dolor percibido y los efectos secundarios no deseados que pueden acompañar al tratamiento convencional por TFD. La capa dérmica 180 de la piel puede tener aproximadamente 1-4 mm de espesor, y está situada debajo de la epidermis 130. La capa dérmica (o dermis) 180 suele contener determinadas dianas que pueden tratarse utilizando TFD.

Por ejemplo, una glándula sebácea 140 puede ser una estructura diana primordial para tratar el acné utilizando TFD. Las glándulas sebáceas 140 tienen aproximadamente 0,1-0,5 mm de diámetro y suelen estar situadas aproximadamente 1-3 mm por debajo de la capa epidérmica 110. Una parte productora de vello de un folículo piloso 150 puede ser otra diana para el tratamiento ejemplar por TFD que puede conseguir la eliminación del vello. Esta parte de un folículo piloso 150 se puede extender aproximadamente 1-5 mm por debajo de la capa epidérmica 110. También puede fijarse como diana una estructura celular 160 situada dentro de la dermis 180 y tratarse utilizando TFD. Dicha estructura 160 puede incluir, p. ej., un tumor cutáneo, un quiste, un nevus, un vaso sanguíneo u otra característica biológica. Los infiltrados celulares 170 pueden representar aún más dianas, tales como células cancerosas de linfoma cutáneo de células T, que también se pueden tratar utilizando TFD. Una capa adiposa 190, situada debajo de la capa dérmica 180, también se puede fijar como diana para el tratamiento por TFD en determinadas aplicaciones.

La Fig. 2 es una ilustración esquemática de una técnica ejemplar aplicada al tejido 100 de acuerdo con realizaciones ejemplares de la presente invención. Un precursor de fotosensibilizante se aplica tópicamente a una región del tejido 100 que se va a tratar, de manera que se absorbe en el volumen de la parte 210 de un tejido que incluye sitios 220 diana que se van a tratar. La parte 210 del tejido que contiene el precursor de fotosensibilizante generalmente incluye tanto una parte del tejido epitelial (p. ej., la capa epidérmica 110) como la capa dérmica 180 (y, opcionalmente, una parte de la capa adiposa 190).

Por ejemplo, un precursor de fotosensibilizante tal como el precursor de porfirina ALA, puede aplicarse tópicamente a la superficie del tejido, p. ej., tejido epidérmico 110, encima de un sitio de tratamiento 220 diana. El precursor de fotosensibilizante se absorbe a través de dicho tejido epidérmico 110 y dentro del tejido 210 situado en el sitio de tratamiento diana y alrededor del mismo. El ALA u otros precursores de fotosensibilizantes también se pueden administrar por vía oral o mediante inyección intravascular o inyección directa en el tejido, p. ej., mediante inyección intradérmica de una solución de ALA.

Después se dirige una radiación inhibidora 250 hacia la parte 210 del tejido. Esta radiación inhibidora 250 tiene una longitud de onda relativamente corta de manera que se absorbe principalmente en la capa superficial 110 y no penetra en el volumen del tejido que contiene los sitios 220 diana. La radiación inhibidora 250 se puede aplicar durante el tiempo que el precursor de fotosensibilizante se está metabolizando para formar un fotosensibilizante. De esta forma, puede reducir o prevenir selectivamente la formación de un fotosensibilizante en la capa superficial 110, no afectando significativamente a la formación de dicho fotosensibilizante en los sitios 220 diana ni en el tejido adyacente. El fotosensibilizante se puede seleccionar de manera que, una vez formado, se acumule preferentemente en o alrededor de los sitios 220 diana. Aunque en la Fig. 2 únicamente se muestra un solo haz local de la radiación inhibidora 250, la radiación inhibidora 250 se aplica preferentemente sobre la totalidad o la mayor parte del área donde se aplicó el precursor de fotosensibilizante.

Los parámetros asociados a la radiación inhibidora 250 (p. ej., longitud de onda, fluencia total, etc.) se pueden seleccionar para inhibir la formación del fotosensibilizante en una profundidad específica dentro del tejido. El precursor de fotosensibilizante situado en los sitios 220 diana, que se expone preferentemente a una irradiancia inferior de la radiación inhibidora que no inhibe sustancialmente la formación del fotosensibilizante en los sitios 220 diana, puede metabolizarse en un fotosensibilizante, tal como la protoporfirina IX (PpIX).

Después se dirige una radiación de tratamiento 260 a la parte 210 del tejido. Esta radiación de tratamiento 260 es preferentemente capaz de penetrar en el tejido a una profundidad que contiene los sitios 220 diana, interactuando con el fotosensibilizante y generando una reacción que puede dañar o destruir células asociadas a los sitios 220 diana. Tras la aplicación de la radiación de tratamiento 260 (p. ej., luz que tiene una longitud de onda, fluencia y irradiancia adecuadas), el fotosensibilizante absorbe dicha radiación y se convierte en fototóxico, liberando oxígeno singlete u otros intermediarios que alteran, dañan o destruyen células dentro del sitio diana. Aunque en la Fig. 2 únicamente se muestra un solo haz local de la radiación de tratamiento 260, la radiación de tratamiento 260 se aplica preferentemente sobre la totalidad o la mayor parte del área donde se aplicó el precursor de fotosensibilizante. Dado que la formación de fotosensibilizantes en la capa superficial 110 se puede reprimir mediante la radiación inhibidora 250, la radiación de tratamiento 260 puede tener poco efecto en la capa superficial 110, y el daño o la muerte celular pueden quedar limitados principalmente a los sitios 220 diana y, posiblemente en menor grado, en otras regiones del tejido por debajo de la capa superficial 110.

Utilizando esta técnica ejemplar, los sitios 220 diana se pueden tratar utilizando tratamientos por TFD, y se puede evitar o reducir el daño en el tejido de la capa superficial 110. Esta técnica ejemplar también puede reducir el dolor que experimenta un sujeto y/o la sensibilidad posterior al tratamiento de la capa superficial 110 a la exposición general a la luz.

Se pueden utilizar realizaciones ejemplares de la presente invención para diversas aplicaciones tales como, p. ej., la protección de la epidermis 110 durante el tratamiento por TFD para la eliminación del vello. Por ejemplo, un precursor de fotosensibilizante se puede aplicar tópicamente a la superficie 110 del tejido epidérmico encima de un sitio 220 de tratamiento diana, y después se dirige una radiación inhibidora 250 al sitio 220 diana. Esta radiación 250 puede inhibir el metabolismo del precursor de fotosensibilizante dentro del tejido epidérmico 110, permitiendo al mismo tiempo que el precursor de fotosensibilizante se metabolice en un fotosensibilizante en los folículos pilosos situados en el sitio 220 diana. Después se aplica una radiación de tratamiento 260 al sitio de tratamiento 220 diana para destruir los folículos pilosos sin dañar la epidermis 110. Opcionalmente, se puede proporcionar enfriamiento de la superficie (p. ej., enfriamiento por contacto o pulverización) antes o durante la aplicación de la radiación de tratamiento. Dicho enfriamiento puede tener un efecto analgésico o anestésico en el tejido que se está tratando.

Los parámetros asociados a la radiación inhibidora 250 y la radiación de tratamiento 260 se pueden seleccionar basándose en el precursor de fotosensibilizante y el fotosensibilizante utilizados, la profundidad y el tipo de los sitios 220 diana, y otros factores relevantes. Dichos parámetros pueden incluir, por ejemplo, la irradiancia, la frecuencia, la fluencia total, la duración del pulso o de la onda continua, y/o el ritmo de repetición del pulso (frecuencia) de la radiación aplicada. La radiación inhibidora 250 tiene una fluencia e irradiancia inferiores a la radiación de tratamiento 260.

En la Fig. 5 se muestra un diagrama de flujo de un método 500 ejemplar. Se administra un precursor de fotosensibilizante, tal como un precursor de porfirina, a un sitio de tratamiento diana (paso 510). Esto se puede conseguir, por ejemplo, aplicando tópicamente el precursor de fotosensibilizante al tejido epitelial que rodea el sitio diana. Después, el precursor de fotosensibilizante se absorbe a través del tejido circundante y dentro del tejido en el sitio diana, donde puede metabolizarse y convertirse en un fotosensibilizante, tal como una porfirina. Dicho metabolismo del fotosensibilizante se inhibe o previene en el tejido epitelial que rodea el sitio de tratamiento diana mediante la aplicación de una radiación inhibidora (paso 520). Después se irradia el sitio diana con una radiación de tratamiento para activar el fotosensibilizante, p. ej., para causar fototoxicidad, en el sitio de tratamiento diana de manera que el tejido epitelial que rodea el sitio de tratamiento diana queda sustancialmente no afectado (paso 530) debido a una falta de fotosensibilizantes en ese lugar. La radiación de tratamiento se aplica preferentemente en los 30 minutos posteriores a la interrupción de la exposición a la radiación inhibidora o, más preferentemente, antes de que hayan transcurrido aproximadamente 15 minutos desde que finalizó la aplicación de la radiación inhibidora.

En las realizaciones de la presente invención intervienen dos intervalos de tiempo significativos. El primer intervalo (el "intervalo de inhibición") es el tiempo que transcurre entre la aplicación del precursor de fotosensibilizante al tejido que se está tratando y la exposición inicial del tejido a la radiación inhibidora. El segundo intervalo (el "intervalo de tratamiento") es el tiempo que transcurre entre el momento en que se interrumpe la exposición a la radiación inhibidora y comienza la exposición del tejido a la radiación de tratamiento. Estos intervalos de tiempo se deben seleccionar de manera apropiada para permitir que el precursor de fotosensibilizante alcance las regiones diana y se metabolice ahí, e impedir al mismo tiempo una formación significativa de fotosensibilizantes en las regiones del tejido que se deben proteger.

Se han llevado a cabo estudios sobre el metabolismo de ALA y las tasas de acumulación de porfirina en piel anterior de la oreja de cerdos. Dicho tejido guarda numerosas similitudes con el tejido cutáneo facial en seres humanos con respecto al tamaño y la situación de capas de tejidos relevantes y regiones diana tales como folículos pilosos y glándulas sebáceas. Se aplicó ALA al 20% tópico en una solución de agua/alcohol al tejido cutáneo, y se analizó la formación de fotosensibilizantes basándose en el análisis cuantitativo por fluorescencia de porfirinas formadas a partir de ALA.

No se observó una fluorescencia global de las porfirinas hasta transcurridos unos 30-45 minutos después de la aplicación de la solución de ALA, aunque la medición de fluorescencia de la epidermis fue significativa estadísticamente transcurridos solamente 15 minutos después de la aplicación de ALA. Entre aproximadamente 30 y 120 minutos después de la aplicación de la solución de ALA, la epidermis, los folículos pilosos, y las glándulas sebáceas fueron haciéndose cada vez más fluorescentes. Se detectó que la fluorescencia de la glándula ecrina comenzaba transcurridos aproximadamente 30 minutos, y las glándulas sebáceas mostraron una fluorescencia que comenzaba transcurridos aproximadamente 45-75 minutos. La fluorescencia en todos los sitios alcanzó una intensidad máxima de entre aproximadamente 75 y 180 minutos después de la aplicación de la solución de ALA. En el caso de los folículos pilosos y las glándulas sebáceas hubo una tendencia a expresar una fluorescencia mayor en comparación con la epidermis y las glándulas ecrinas. En la Fig. 8 se presenta un resumen de estos resultados.

En base a estas observaciones, suele ser preferible aplicar la radiación inhibidora al tejido antes de que hayan transcurrido aproximadamente 30 minutos desde la aplicación del ALA de acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención. Un intervalo de inhibición superior a aproximadamente 30 minutos puede permitir una formación significativa y no deseada de fotosensibilizantes en el tejido epitelial. Preferentemente, el intervalo de inhibición es inferior a aproximadamente 15 minutos para prevenir adicionalmente la formación de cantidades significativas de fotosensibilizantes en la capa epitelial. Así mismo, pueden utilizarse intervalos de inhibición más cortos.

El intervalo de tratamiento corresponde a la demora entre la interrupción de la exposición del tejido a la radiación inhibitoria y la aplicación de la radiación de tratamiento. En base a las observaciones del metabolismo del ALA descritas anteriormente y que se muestran en la Fig. 8, también suele ser preferible aplicar la radiación de tratamiento al tejido antes de que hayan transcurrido aproximadamente 30 minutos desde la interrupción de la radiación inhibitoria. Un intervalo de tratamiento superior a aproximadamente 30 minutos puede permitir la formación no deseada de fotosensibilizantes en la capa epitelial a partir del ALA aún presente en el tejido. Preferentemente, el intervalo de tratamiento es inferior a aproximadamente 15 minutos para prevenir adicionalmente la formación de cantidades significativas de fotosensibilizantes en la capa epitelial. Aún más preferentemente, se puede aplicar radiación de tratamiento transcurridos unos pocos minutos después de la interrupción de la exposición a la radiación inhibitoria o, incluso, inmediatamente después.

En determinadas realizaciones de la presente invención, se puede utilizar un fotosensibilizante fotoblanqueable tal como, p. ej., fotofrina en lugar de (o además de) un precursor de fotosensibilizante. Por ejemplo, se puede aplicar la radiación inhibitoria 250 para blanquear una parte del fotosensibilizante fotoblanqueable. La aplicación posterior de la radiación de tratamiento 260 puede provocar después daños o muerte en las células y el tejido que contiene el fotosensibilizante no blanqueado. La aplicación de la radiación inhibitoria 250 puede reducir o eliminar la fotosensibilidad prolongada de la piel que puede ser con frecuencia un efecto secundario de los tratamientos por TFD.

En realizaciones adicionales, la acumulación superficial de porfirinas resultante de la aplicación tópica de ALA se puede reprimir mediante exposición a luz azul durante el metabolismo del ALA. Por ejemplo, se puede aplicar una solución tópica de ALA al 20% a una región de la piel. Después, la región de la piel se puede exponer a luz azul de 410 nm con bajo nivel de irradiancia para inhibir la acumulación de porfirinas. Esta luz se puede aplicar durante el período del metabolismo del ALA, p. ej., inmediatamente después de la aplicación de la solución tópica de ALA o más adelante. Se ha observado que la exposición de la piel a dicha luz azul de baja intensidad (p. ej., luz que tenga una longitud de onda de 415 nm) a una irradiancia de entre aproximadamente 10 mW/cm<sup>2</sup> y 30 mW/cm<sup>2</sup> durante el período del metabolismo del ALA puede proporcionar la represión clínica casi completa de la síntesis de porfirinas en las capas epidérmica y/o superficial, y no provoca en sí una reacción de TFD. En el caso de irradiancias de entre aproximadamente 60 μW/cm<sup>2</sup> y 3 mW/cm<sup>2</sup> se observó cierta represión de la formación de fotosensibilizantes. No se observó represión clínica a menos de aproximadamente 30 μW/cm<sup>2</sup>. En este caso, la represión clínica se refiere a una respuesta disminuida del tejido a la radiación de tratamiento en procedimientos de TFD posteriores.

Se observó que la radiación inhibitoria de luz roja a una longitud de onda de 633 nm era menos eficaz para la represión clínica de la formación de fotosensibilizantes. Aunque dicha luz roja no proporcionó la represión clínica total de la síntesis de porfirinas superficial, se observó cierta represión clínica a irradiancias de entre aproximadamente 14 mW/cm<sup>2</sup> y aproximadamente 40 mW/cm<sup>2</sup>.

Dichas técnicas pueden utilizarse también con fármacos precursores de porfirinas similares, p. ej., éster metílico del ALA, que también pueden resultar apropiados para el tratamiento fotodinámico de la piel.

Se pueden utilizar varios tipos de fuentes de radiación o luz para proporcionar la radiación inhibitoria. Dichas fuentes incluyen, a modo de ejemplo, una fuente de luz fluorescente de banda estrecha, diodos emisores de luz ("LED"), láseres, lámparas de arco, o lámparas filtradas fluorescentes e incandescentes. También se pueden utilizar fuentes pulsátiles o continuas. Así mismo, la radiación inhibitoria se puede aplicar en diversos patrones, de manera que la fotosensibilización solamente se inhiba en algunas partes del tejido no diana. En determinadas aplicaciones, el tejido diana puede ser una parte de la región de un tejido, mientras que las partes adyacentes deberán evitarse. Se han descrito tratamientos espacialmente "fraccionales" que utilizan métodos fototérmicos, p. ej., en Khan, M, H. et al. *Lasers Surg Med* 2005; 9999:1-11, y Manstein, D. et al, *Lasers Surg Med* 2004; 34:426-438-. Utilizar la radiación inhibitoria en un patrón de exposición puede crear una terapia fotodinámica fraccional.

También se pueden utilizar realizaciones ejemplares de la presente invención para tratar órganos distintos a la piel para los que puede resultar útil la represión óptica de la síntesis de porfirinas en tejidos epiteliales. Por ejemplo, al tratar cánceres internos con TFD, pueden resultar dañados órganos vitales debido a la selectividad insuficiente de la reacción de la TFD. De este modo, el uso de una radiación o luz inhibitoria durante el tiempo de incubación puede reprimir selectivamente las reacciones de TFD en determinadas áreas, lo cual puede proteger a los órganos vitales y reducir la generación de efectos secundarios no deseados. La capa de tejido más profunda puede contener las dianas preferidas para el tratamiento tales como folículos pilosos, glándulas sebáceas, glándulas ecrinas, grasa, cáncer, vasos sanguíneos, nervios u otras estructuras, mientras que la capa superficial protegida puede ser un epitelio tal como la epidermis, mucosa oral o de otro tipo, epitelio gastrointestinal o vesical, etc.

La radiación de tratamiento se elige preferentemente de manera tal que penetra en el tejido hasta una profundidad suficiente como para alcanzar los sitios diana. El ritmo de daño oxidativo que se produce en los sitios diana debe ser suficiente durante la aplicación de la radiación de tratamiento para causar, como mínimo, la cantidad de daño deseada en los sitios diana. En general, el ritmo de daño oxidativo aumenta con la concentración local de fotosensibilizante en las dianas, la concentración local de oxígeno en las dianas, y el ritmo de absorción de la radiación de tratamiento por el fotosensibilizante en los sitios diana. La radiación inhibitoria se puede administrar en

una cantidad y duración tales que la concentración del fotosensibilizante en los sitios diana sea suficiente para que, como mínimo, se genere una cantidad de daño deseada en los sitios diana, mientras que el daño en los lugares no diana se inhibe de manera sustancial.

- 5 Las realizaciones de la presente invención se pueden utilizar con una variedad de precursores de fotosensibilizantes incluyendo, p. ej., construcciones de pre-fotosensibilizantes activados por enzimas tales como conjugados de oligopéptidos sensibles a proteasas, fotosensibilizantes encerrados que se liberan por una acción enzimática, y  
 10 precursores de porfirinas. Por ejemplo, se puede utilizar ALA y compuestos similares según se describe en la Publicación de la Patente estadounidense N° 2002/0099094. El ALA se puede utilizar en una variedad de formas, incluyendo una forma farmacológicamente equivalente, tal como una amida o éster, o como una sal, tal como la sal clorhidrato, y se puede aplicar tópicamente a la superficie de un tejido (p. ej., la piel) que rodea a un sitio de  
 15 tratamiento diana que puede estar debajo del tejido epitelial en la superficie de la piel. El ALA (p. ej., ácido 5-aminolevulínico) se convierte *in vivo* en un compuesto fotoactivable, la protoporfirina IX (PpIX).
- 20 La longitud de onda de la luz fotoactivadora para la protoporfirina IX generalmente se encuentra en el intervalo de entre aproximadamente 625 y 670 nm, o, más preferentemente, entre aproximadamente 625 y 640 nm. El intervalo de fluencia e irradiancia adecuado para la radiación de tratamiento puede depender de la concentración del fotosensibilizante en el tejido diana, la profundidad de las dianas, y/o la sensibilidad del tipo concreto de dianas en cuestión. La fluencia se refiere, en general, a la energía óptica liberada por unidad de área, y puede representar la  
 25 densidad de energía liberada por una exposición óptica. La irradiancia se refiere, en general, a la potencia de radiación óptica incidente por unidad de área sobre una superficie, y puede expresarse en vatios por metro cuadrado. Las longitudes de onda de tratamiento preferidas para algunos otros fotosensibilizantes pueden incluir, por ejemplo: clorinas (aproximadamente 650 nm); porfíricos (aproximadamente 635 nm); purpurinas (aproximadamente 630 a aproximadamente 715 nm); ftalocianinas (aproximadamente 680 nm), naftalocianinas (aproximadamente 780 a aproximadamente 810 nm); y bacterioclorinas (aproximadamente 650 a 800 nm).

30 Clínicamente, después de la aplicación tópica de ALA al 20% a la piel, seguida de un período de metabolismo de entre aproximadamente 10 minutos y 24 horas, el intervalo de fluencia de la radiación de tratamiento de 635 nm está preferentemente entre aproximadamente 20 y aproximadamente 200 J/cm<sup>2</sup>, y el intervalo de irradiancia de la radiación de tratamiento está preferentemente entre aproximadamente 20 y aproximadamente 200 mW/cm<sup>2</sup>.

35 En general, los tiempos de metabolismo más largos están asociados a unas necesidades de fluencia e irradiancia menores para conseguir un efecto terapéutico. Después de la inyección local de ALA, la concentración local puede superar con creces la concentración local conseguida tras la aplicación tópica de ALA. Por tanto, los intervalos de fluencia e irradiancia del tratamiento pueden ser generalmente menores tras la administración de ALA u otros pre-fotosensibilizantes o fotosensibilizantes por inyección parenteral o local.

40 En otras realizaciones ejemplares, el fotosensibilizante se fotoblanquea tras la exposición a la radiación de inhibición seleccionada. Por ejemplo, muchos fotosensibilizantes utilizados en la TFD también pueden destruirse por las especies reactivas del oxígeno producidas durante la exposición a la luz, proceso que puede denominarse fotoblanqueamiento. Es posible que las células sean capaces de tolerar una dosis relativamente baja de daño oxidativo, porque las células poseen mecanismos antioxidantes y reparadores. Para que los sitios diana celulares sufran daños irreversibles durante la TFD, el ritmo de daño oxidativo debe superar el ritmo de reparación oxidativa en las células diana y alcanzar una cantidad de daño necesaria para la destrucción de las células mediante, por  
 45 ejemplo, necrosis o apoptosis. Por el contrario, el fotoblanqueamiento suele ser irreversible. En consecuencia, se puede utilizar un ritmo de fotoblanqueamiento bajo para evitar la acumulación o reducir la concentración del fotosensibilizante en los sitios no diana, mediante la administración de la radiación inhibidora (fotoblanqueante) a un ritmo lo suficientemente bajo como para permitir la reparación de las células no diana.

50 Los fotosensibilizantes fotoblanqueantes incluyen, por ejemplo, porfirinas, clorinas, algunos porfíricos, purpurinas, ftalocianinas, naftalocianinas, bacterioclorinas, benzofenotiazinas, tetraciclinas, azul de metileno, hipericina, flavinas, y derivados de los mismos, bien sea como agentes libres o en combinación con agentes de liberación específicos tal como en liposomas o como conjugados de fotosensibilizantes con moléculas diana, tales como péptidos, ligandos de receptores o anticuerpos.

55 Para el fotoblanqueamiento de un fotosensibilizante en un tejido no diana se utiliza una exposición a la luz de nivel relativamente bajo, permitiendo al mismo tiempo que una cantidad suficiente del fotosensibilizante permanezca en las células diana. Esto se hace, por ejemplo, en una capa epitelial no diana superficial mediante una exposición prolongada a una luz con longitud de onda corta de bajo nivel, que fotoblanquea sin causar daños en la capa de  
 60 tejido superior no diana pero no en una capa diana más profunda.

65 A lo largo del espectro óptico de aproximadamente 320 nm a aproximadamente 1200 nm, las longitudes de onda más cortas tienden a penetrar menos profundamente que las longitudes de onda más largas debido a la dispersión y la absorción óptica según se ha descrito, p. ej., en Anderson, R.R. et al., *J Invest Dermatol* 1981;77:13-19. Por ejemplo, la penetración de la radiación que tiene longitudes de onda de entre aproximadamente 380 y 420 nm (p. ej., UVA y luz azul intensa) en la piel humana es inferior a la penetración a longitudes de onda de entre

aproximadamente 620 y 700 nm (p. ej., luz roja), debido a una dispersión relativamente más fuerte por el colágeno dérmico, a una absorción más fuerte por la melanina dérmica, y a una absorción más fuerte por la hemoglobina presente en los vasos sanguíneos. La atenuación por dispersión y absorción dentro del tejido puede dar lugar a una pérdida global aproximadamente exponencial de irradiancia con profundidad. Cerca de la superficie del tejido, puede estar presente un máximo de irradiancia dentro del tejido a una profundidad aproximada de  $1/\mu$ , donde  $\mu$  es un coeficiente de dispersión eficaz. Por ejemplo, utilizando ALA o derivados de ALA como un pre-fotosensibilizante, y/o utilizando porfirinas y clorinas como fotosensibilizantes fotoblanqueables, una longitud de onda de aproximadamente 380 a aproximadamente 420 nm puede ser una longitud de onda preferida para la radiación inhibidora. Estos agentes incluyen un fotosensibilizante con una fuerte banda de absorción Soret en la región de longitudes de onda.

En una realización ejemplar de la presente invención, se puede utilizar una irradiancia de aproximadamente  $1 \text{ mW/cm}^2$  a una longitud de onda de entre aproximadamente 380 nm y aproximadamente 420 nm para inhibir la acumulación de porfirinas en la epidermis (p. ej., un epitelio superficial de la piel) después de la aplicación tópica de ALA al 20% tanto en piel de animal como en piel humana. Una irradiancia inferior a aproximadamente  $1 \text{ mW/cm}^2$  de esta región de longitudes de onda también puede fotoblanquear fotosensibilizantes de porfirina y clorina, a un ritmo que puede ser tolerable para la epidermis. La profundidad de penetración a  $1/e$  (37%) de radiación de 380 a 420 nm en piel humana caucásica es de aproximadamente 0,06-0,15 mm, que corresponde a un espesor aproximado de la epidermis humana. Para aplicaciones tales como la terapia contra el acné, la epidermis suele ser un tejido no diana donde preferentemente se evita el daño, mientras que las estructuras diana incluyen glándulas sebáceas y folículos sebáceos en la dermis subyacente. Las glándulas sebáceas asociadas al acné son estructuras celulares diana situadas aproximadamente 1 mm por debajo de la superficie. Por ejemplo, con una glándula diana situada a aproximadamente 1 mm de profundidad, utilizando una radiación inhibidora con una longitud de onda de entre aproximadamente 380 y aproximadamente 420 nm que tiene una profundidad de penetración a  $1/e$  de aproximadamente 0,1 mm, la diana es aproximadamente 10 veces la profundidad de penetración a  $1/e$ . Por tanto, la radiación inhibidora en este ejemplo se atenúa en un factor de hasta  $e^{10}$  (p. ej., unas 0,00005 veces la intensidad original) en el momento que alcanza la glándula diana. En consecuencia, la radiación inhibidora puede producir una irradiancia en la epidermis (p. ej., tejido no diana) que puede ser miles de veces superior a la irradiancia en la glándula sebácea (p. ej., tejido diana). La radiación inhibidora puede inhibir la acumulación y/o fotoblanquear un fotosensibilizante en la epidermis a un ritmo que puede ser tolerable para el tejido epidérmico no diana, teniendo al mismo tiempo un efecto muy pequeño sobre la acumulación del fotosensibilizante en el tejido diana más profundo. En contraste, la profundidad de penetración a  $1/e$  de la radiación de tratamiento que tiene una longitud de onda de entre aproximadamente 620 y 700 nm es de aproximadamente 0,5 a 0,75 mm en la piel humana. Esta profundidad corresponde a grandes rasgos a la profundidad del tejido diana. Dicha radiación de tratamiento se puede atenuar en un factor aproximado a solamente el 5 (y no, p. ej., por órdenes de magnitud) antes de alcanzar la diana. Puesto que el paso de la radiación inhibidora se utiliza para reducir o eliminar en gran medida el fotosensibilizante en la epidermis, se puede evitar un daño significativo en la epidermis durante la aplicación de la radiación de tratamiento.

La Fig. 9a muestra una aplicación de un haz de radiación 900 que es aproximadamente normal a la superficie del tejido 910. Esto se corresponde con un ángulo de incidencia de aproximadamente  $0^\circ$ , o un ángulo complementario  $\varphi$  de aproximadamente  $90^\circ$ . La profundidad de penetración  $D_0$  920 asociada al haz 900 se puede referir a, p. ej., una profundidad máxima a la cual al menos una cantidad predefinida de energía es absorbida localmente por el tejido. Según se describe anteriormente en el presente documento, la profundidad  $D_0$  920 puede depender de la longitud de onda del haz de radiación 900. Por ejemplo, se puede especificar una profundidad  $D_0$  920 deseada para un tratamiento en particular mediante la selección adecuada de una longitud de onda para la radiación inhibidora y/o de tratamiento.

También se puede controlar una profundidad de penetración eficaz modificando el ángulo de incidencia del haz de radiación aplicado con respecto a la superficie del tejido. Por ejemplo, la Fig. 9b muestra un ejemplo de aplicación de un haz de radiación angulado 950 que se proporciona a un ángulo de incidencia  $\theta_i$  de aproximadamente  $60^\circ$  con respecto a la dirección 980 normal a la superficie del tejido 910. La profundidad de penetración de  $D_\theta$  960 correspondiente al haz 950 que entra en el tejido a un ángulo refractado  $\theta_r$  generalmente será inferior a la profundidad  $D_0$  920 asociada a un haz de incidencia 900 normal según se muestra en la Fig. 9a. La profundidad  $D_\theta$  se puede expresar aproximadamente como  $D_\theta \sim D_0 \cos(\theta_r)$ , o  $D_\theta \sim D_0 (1 - \sin^2(\theta_i) n^2)^{1/2}$  tomando como base la ley de Snell, donde  $n$  es el índice de refracción del tejido cutáneo con respecto al aire. El valor de  $n$  para la piel con respecto al aire es aproximadamente 1,3, que es similar al valor para el agua. Así, la trayectoria de absorción 970 dentro del tejido no suele ser paralela al haz con ángulo de incidencia 950, y se puede proyectar formando un ángulo ligeramente más inclinado en el tejido debido a la refracción.

La relación aproximada  $D_\theta \sim D_0 (1 - \sin^2(\theta_i) n^2)^{1/2}$  también supone que el comportamiento de absorción local dentro del tejido a lo largo de la trayectoria 970 es similar al comportamiento de absorción local a lo largo de la trayectoria 940 en la Fig. 9a, p. ej., el tejido a lo largo de cada trayectoria tiene características de absorción similares.

Cuando se aplica una radiación incidente a un ángulo de incidencia  $\theta_i$  con respecto a la superficie de un tejido, la fluencia y/o irradiancia de la radiación aplicada se puede ajustar (p. ej., reducir) convenientemente para proporcionar una densidad volumétrica de energía absorbida que es comparable a la de un haz que es normal a la superficie del tejido. Por ejemplo, se los haces 900, 950 mostrados en las Figs. 9a y 9b tienen la misma fluencia, entonces la

cantidad de energía absorbida por el tejido en una profundidad  $D_0$  920 en la Fig. 9a se absorbería en una profundidad menos profunda  $D_\theta$  mostrada en la Fig. 9b. Para proporcionar una densidad local comparable de absorción de energía dentro del tejido, se pueden reducir la fluencia y la irradiación del haz con el ángulo de incidencia 950 en un factor aproximado de  $(1 - \sin^2(\theta)n^2)^{1/2}$ . Aunque las variaciones de profundidad de la composición del tejido y/o la presencia de estructuras diana dentro del tejido pueden afectar a las características de absorción local, el factor de  $(1 - \sin^2(\theta)n^2)^{1/2}$  puede proporcionar una base para predecir la profundidad de penetración eficaz  $D_\theta$  960 y para mantener una densidad relativamente constante de absorción de energía cuando se aplica un haz de radiación 950 a un ángulo de incidencia  $\theta$ , según se muestra en la Fig. 9b. El valor de  $n$  también puede ser inferior a la unidad si el haz de incidencia atraviesa otro medio que tenga un índice de refracción superior al de la piel. Otros factores tales como, p. ej., la polarización o la reflectancia en la interfaz entre los medios, también pueden afectar a la densidad eficaz de la energía absorbida dentro del tejido. Dichos efectos están descritos con más detalle, p. ej., en la patente estadounidense nº 6.529.543.

Los fotosensibilizantes y los precursores de fotosensibilizantes se pueden administrar en un excipiente farmacológicamente aceptable, tal como agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol o etanol. Las composiciones también pueden contener otros agentes medicinales, agentes farmacéuticos, vehículos y/o sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, y/o agentes reguladores del pH. El fotosensibilizante o pre-fotosensibilizante también se puede liberar mediante nanopartículas, microesponjas u otros sistemas de transporte de fármacos.

Se pueden consultar textos estándar, tales como Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 17th edition, Mack Publishing Company, para preparar composiciones y formulaciones adecuadas para la administración, sin experimentación injustificada. Las dosis adecuadas también pueden basarse en el texto y los documentos citados en el presente documento. Un experto en la materia puede determinar las dosis adecuadas basándose en los parámetros y criterios descritos en el presente documento.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere, a modo meramente enunciativo, a una cantidad suficiente para obtener un resultado clínico beneficioso o deseado. En términos de tratamiento, una cantidad eficaz generalmente se refiere a una cantidad que puede ser suficiente para paliar, mejorar, estabilizar, revertir o ralentizar el avance de un trastorno (p. ej., un trastorno de la piel). Una cantidad terapéuticamente eficaz se puede suministrar en una administración o dosis, o en una serie de administraciones o dosis. Por lo general, un médico puede determinar la cantidad eficaz dependiendo de cada caso.

Normalmente se tienen en cuenta diversos factores a la hora de determinar una dosis adecuada para terapias o diagnósticos *in vivo*. Estos factores pueden incluir, por ejemplo, la edad, el sexo y el peso del paciente, la afección que se está tratando, la gravedad de la afección y/o la forma del anticuerpo que se está administrando.

La dosis de las composiciones de fotosensibilizantes para la administración sistemática suele variar de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg. Se describen métodos para administrar composiciones de fotosensibilizantes, por ejemplo, en las patentes estadounidenses nº 5.952.329, 5.807.881, 5.798.349, 5.776.966, 5.789.433, 5.736.563, 5.484.803, 5.234.940 y en Sperduto et al. (1991) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 21:441-6; y Walther et al. (1997) *Urology* 50:199-206. Dichas dosis pueden variar, por ejemplo, dependiendo de si se suministran múltiples administraciones, el tipo de tejido y la vía de administración, el estado del individuo, el objetivo deseado y otros factores. Las administraciones se pueden realizar con poca frecuencia o de forma regular (p. ej., semanalmente) hasta que se detecte un parámetro medible y deseado, tal como la disminución de los síntomas de la enfermedad. Después se puede disminuir la administración, tal como una vez cada dos semanas o a una vez al mes, según sea conveniente.

Los fotosensibilizantes utilizados de acuerdo con las realizaciones de la presente invención se pueden administrar de un modo adecuado para la forma de la composición. Las vías de administración disponibles incluyen, p. ej., la subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intradérmica, oral, intranasal, intrapulmonar (p. ej., mediante aerosol), intravenosa, intramuscular, subcutánea, intracavitaria, intratecal o transdérmica, por sí solas o en combinación con otros agentes farmacéuticos. Se pueden administrar composiciones terapéuticas de fotosensibilizantes mediante inyección o perfusión gradual. Las composiciones para administración oral, intranasal o tópica se pueden suministrar de forma sólida, semisólida o líquida, incluyendo comprimidos, cápsulas, polvos, líquidos y suspensiones. Las composiciones para inyección se pueden suministrar como soluciones líquidas o suspensiones, como emulsiones, o como formas sólidas adecuadas para la disolución o la suspensión en un líquido antes de la inyección. Para la administración a través del tracto respiratorio, una composición preferida puede ser aquella que suministra un aerosol sólido, en polvo o líquido cuando se utiliza con un dispositivo nebulizador adecuado. Aunque no sea obligatorio, las composiciones se pueden suministrar preferentemente en una forma de dosificación unitaria adecuada para la administración de una cantidad precisa. Así mismo, se pueden utilizar formas de liberación lenta o de liberación sostenida de dichas composiciones, por medio de las cuales se puede suministrar un nivel relativamente constante del compuesto activo durante un período prolongado.

También se puede aplicar el enfriamiento del tejido epitelial en determinadas realizaciones de la presente invención. Por ejemplo, la superficie de la piel se puede enfriar tras la aplicación de un precursor de fotosensibilizante de

manera que la epidermis tenga una temperatura que sea inferior a la temperatura del tejido diana subyacente. El enfriamiento se puede realizar utilizando técnicas e instrumentos convencionales tales como, p. ej., enfriamiento por pulverizador criogénico o enfriamiento por contacto conductivo. Una menor temperatura de la superficie puede inhibir adicionalmente que el precursor de fotosensibilizante se metabolice en un fotosensibilizante en el tejido epitelial según se describe, p. ej., en la publicación de la patente estadounidense nº 2004/0259855. El enfriamiento epitelial puede reducir en gran medida la tasa de metabolismo en el tejido epitelial (p. ej., en tejido no diana).

En otras realizaciones ejemplares de la presente invención, la radiación inhibidora se puede aplicar en patrones para reducir o evitar la formación de fotosensibilizantes en determinadas regiones del tejido. Dichos patrones se pueden proporcionar a lo largo de una parte del tejido epitelial y/o pueden incluir distintas profundidades de exposición dentro del tejido a tratar, p. ej., modificando la longitud de onda y/o la intensidad o fluencia de la radiación inhibidora. De esta forma, se puede evitar que los efectos de un procedimiento de TFD posterior que incluya la aplicación de una radiación de tratamiento alcancen determinadas regiones del tejido.

En otras realizaciones adicionales de la presente invención, la formación y/o acumulación de porfirinas u otra acumulación de metabolitos fotosensibilizantes se reprime ópticamente antes de la exposición a la luz de la terapia fotodinámica, p. ej., durante la conversión del ALA, ésteres del ALA u otros fármacos pre-fotosensibilizantes que pueden aplicarse tópicamente, por vía oral o sistémica al tejido. Se utiliza una fuente de luz para proporcionar radiación inhibidora a una o varias longitudes de onda de entre 320 nm and 450 nm. A lo largo de este intervalo espectral, las longitudes de onda más cortas tienden a penetrar el tejido en menor medida que las longitudes de onda más largas. De este modo, la longitud de onda puede ser un factor que se puede modificar para controlar la profundidad de una capa de tejido superficial que se va a limitar o proteger del daño durante el tratamiento por TFD. Para proteger la epidermis, son adecuadas longitudes de onda de aproximadamente 320 a 450 nm. Algunas fuentes de radiación que proporcionan dichas longitudes de onda pueden incluir, por ejemplo, LED, lámparas, lámparas con filtro o láseres.

La profundidad de una capa superficial u otra región del tejido en la que los fotosensibilizantes se vayan a reprimir puede depender también de la fluencia de la radiación inhibidora aplicada. Una irradiancia y fluencia muy bajas de luz azul, por ejemplo, puede ser suficiente para reprimir la acumulación de porfirinas durante el metabolismo del ácido aminolevulínico, ALA, al 20% aplicado tópicamente. Una irradiancia de aproximadamente  $0,1 \text{ mW/cm}^2$  de luz azul (p. ej., 400-430 nm) puede tener un efecto represor. Los valores de irradiancia típicos en los procedimientos de radiación inhibidora utilizando luz azul oscilan entre aproximadamente  $1 \text{ mW/cm}^2$  y aproximadamente  $30 \text{ mW/cm}^2$ . Los valores de fluencia típicos que se pueden utilizar en los procedimientos de radiación inhibidora oscilan entre aproximadamente  $1 \text{ J/cm}^2$  y aproximadamente  $100 \text{ J/cm}^2$ . Dichos valores de irradiancia y fluencia elegidos para un procedimiento de TFD en particular pueden variar con la longitud de onda y el precursor de fotosensibilizante utilizados.

Las realizaciones de la presente invención proporcionan un aparato/sistema 300 de tratamiento por TFD que se puede utilizar para tratar un tejido 380, según se muestra en la Fig. 3. El sistema 300 de TFD incluye un sistema de control 310 que se proporciona en comunicación con una fuente de energía inhibidora 320 y una fuente de energía de tratamiento 330. El sistema de control 310 puede incluir una interfaz de usuario para seleccionar y revisar los parámetros de un procedimiento del tratamiento, tales como tiempos de activación, ritmo y duración de pulsos, longitud de onda de la radiación y/o fluencia asociada a las fuentes de energía inhibidora y de tratamiento 320, 330. Otros parámetros de control pueden incluir el tiempo y el grado de enfriamiento que se puede proporcionar mediante el dispositivo de enfriamiento opcional 350, la colocación (incluyendo la velocidad traslacional) del dispositivo de suministro 340, y las características de activación y/o retroalimentación del dispositivo sensor opcional 360.

La fuente de energía inhibidora 320 está configurada para generar una radiación inhibidora adecuada, según se describe en el presente documento. Dicha radiación puede proporcionarse, p. ej., mediante un láser, uno o varios LED (tal como un conjunto de LED que emiten en el espectro UV cercano o azul), etc. La fuente de energía de tratamiento 330 se configura para generar una radiación de tratamiento adecuada, según se describe en el presente documento. Dicha radiación se puede proporcionar, p. ej., mediante un láser, uno o varios LED (tal como un conjunto de LED que emiten en el espectro rojo o infrarrojo cercano), etc. Las fuentes de energía inhibidora y de tratamiento 320, 330 pueden ser la misma, y se pueden configurar con diferentes parámetros tales como la fluencia, la frecuencia y duración de pulsos, etc., y, opcionalmente, con diferentes longitudes de onda si la fuente de radiación tiene una longitud de onda variable o una salida de energía filtrable. Como alternativa, las fuentes de energía inhibidora y de tratamiento 320, 330 pueden ser fuentes distintas según se ha descrito anteriormente y también se pueden proporcionar en recintos independientes.

El dispositivo de suministro 340 puede incluir componentes ópticos tales como, p. ej., fibras ópticas y/o espejos que están configurados para dirigir la radiación desde las fuentes de energía inhibidora y de tratamiento 320, 330 hacia el tejido 380 que se va a tratar. El dispositivo de suministro 340 se proporciona de manera opcional en un alojamiento junto con las fuentes de energía inhibidora y de tratamiento 320, 330, o integrado de otro modo con una o las dos fuentes. Por ejemplo, el dispositivo de suministro 340 puede incluir una superficie reflectante situada detrás o al lado de uno o varios LED que pueden proporcionarse como parte de las fuentes de energía 320, 330.

También se puede proporcionar un dispositivo de enfriamiento opcional 350 con el sistema 300 de TFD opcional. Dicho dispositivo de enfriamiento 350 puede estar integrado con el dispositivo de suministro 340, o puede ser un componente independiente. El dispositivo de enfriamiento 350 efectúa el enfriamiento del tejido 380 que se va a tratar utilizando técnicas de enfriamiento convencionales que incluyen, por ejemplo, enfriamiento por contacto o conductivo, enfriamiento por pulverización (p. ej., pulverizador criogénico) o enfriamiento convectivo (p. ej., un ventilador).

El sistema 300 de TFD opcional incluye de manera opcional un dispositivo sensor 360 que está configurado para detectar, por ejemplo, la temperatura y/o fluorescencia del tejido 380 que se está tratando. El dispositivo sensor 360 también se puede configurar para detectar una velocidad traslacional relativa del dispositivo de suministro 340 con respecto a la superficie 380 del tejido, si el dispositivo de suministro 340 se pasa o se traslada de otro modo sobre el tejido 380 durante el procedimiento de TFD. El dispositivo sensor 360 se proporciona en comunicación con el sistema de control 310, de manera que el ajuste de varios parámetros (p. ej., la duración y los intervalos de tiempo, el ritmo de pulsos y/o la fluencia de la radiación inhibidora y/o del tratamiento) puede verse afectado por una o varias condiciones detectadas por el dispositivo sensor 360.

En realizaciones adicionales, el sistema 300 de TFD ejemplar se alimenta de una fuente eléctrica portátil tal como una batería, que permite que todo el tratamiento por TFD se realice en distintos lugares dentro o fuera de un escenario clínico.

En una realización adicional, en la Fig. 4 se muestra un aparato/sistema 400 ejemplar configurado para proporcionar tratamiento por TFD de la piel facial 410 con inhibición de fotosensibilizantes ópticos. Primero se aplica a la piel 410 que se va a tratar una solución tópica de ALA, éster metílico de ALA, un fármaco precursor de fotosensibilizante similar, o cualquier agente de TFD fotoblanqueable. El aparato/sistema 400 incluye una estructura de soporte 420 que rodea parcial o completamente la piel 410 que se va a tratar. Se pueden colocar varias fuentes de energía de tratamiento 430 sobre la estructura de soporte 420. Estas fuentes de tratamiento 430 pueden incluir, por ejemplo, un conjunto de LED (p. ej., LED que tienen una longitud de onda de entre aproximadamente 630 y 640 nm) o fuentes de radiación similares. El aparato/sistema 400 también incluye una o varias fuentes de fotoinhibición 450 fijadas a la estructura de soporte 420, que pueden incluir un conjunto de LED que emiten en el espectro UV cercano o azul (p. ej., LED que tienen una longitud de onda de entre aproximadamente 380 y 430 nm).

El aparato/sistema 400 incluye de manera opcional uno o varios dispositivos 440 de enfriamiento y/o calentamiento tales como, p. ej., un ventilador, un pulverizador de enfriamiento, una lámpara incandescente con filtro y/o un LED infrarrojo. Dichos dispositivos 440 de enfriamiento y/o calentamiento pueden montarse sobre una estructura de soporte 420 encima y/o debajo del nivel de las fuentes 430, 450. Se pueden utilizar dispositivos 440 de calentamiento, p. ej., para mejorar la absorción y acumulación de fotosensibilizantes en los sitios de tratamiento diana (p. ej., folículos pilosos o glándulas sebáceas).

El aparato/sistema 400 ejemplar también puede incluir portales de visión 460, que pueden permitir que un paciente visualice el contenido presentado en el panel de entretenimiento 480 durante el tratamiento. Uno o varios sensores 470 se proporcionan de manera opcional para detectar la temperatura de la piel y/o la fluorescencia durante el tratamiento por TFD. Dichos sensores 470 pueden incluir, por ejemplo, detectores discretos o detectores de cámara. El aparato/sistema 400 de TFD puede incluir también otras subunidades 490 tales como, p. ej., una interfaz de usuario para seleccionar y presentar parámetros de tratamiento, un instrumento de control para controlar los parámetros de los distintos componentes, etc. La disposición física de los distintos componentes en el aparato/sistema 400 ejemplar se puede modificar para el tratamiento de otras partes del cuerpo, proporcionando determinados componentes en alojamientos independientes y/o mediante la articulación y/o colocación de dichos componentes según las necesidades.

En un procedimiento de tratamiento por TFD ejemplar, la capa superficial que se va a proteger es la epidermis, que puede tener aproximadamente 0,1 mm de espesor. Las glándulas sebáceas diana que se van a tratar (p. ej., dañadas térmicamente) están situadas en el rostro del paciente, a una profundidad de entre aproximadamente 1 y 3 mm en la capa dérmica subyacente de la piel. En primer lugar, se lava el rostro para eliminar la grasa y la suciedad. Se pueden utilizar diversos limpiadores incluyendo, p. ej., limpiadores abrasivos que pueden aumentar la captación de medicamentos tópicos al desengrasar y exfoliar la superficie de la piel.

Después se aplica una forma tópica de ácido aminolevulínico (p. ej., Levulan Kerastick®), un éster metílico de ácido aminolevulínico (p. ej., Metvix®), u otro fármaco análogo y/o de TFD a, como mínimo, un área de la piel afectada. De manera opcional, se puede colocar, pulverizar o extender sobre la piel una máscara o cobertura de plástico transparente oclusiva tal como, p. ej., una envoltura Saran® o una pomada oclusiva transparente para mejorar aún más la penetración y captación del fármaco (o fármacos) en los sitios diana planeados, p. ej., folículos sebáceos. La pomada oclusiva puede contener componentes volátiles, tales como agua, que pueden enfriar la superficie de la piel.

El paciente se coloca delante (p. ej., si está sentado) o debajo (si está tumbado) de aparato de tratamiento integrado ejemplar, tal como los que se muestran en las Figs. 3 y 4. El aparato de tratamiento se puede programar para los parámetros de la "fase I" (p. ej., antes del fototratamiento). Dichos parámetros de la fase I pueden incluir, por

ejemplo, el tiempo de captación e incubación del precursor de fotosensibilizante, la configuración de la fuente de energía para la fotoinhibición de la acumulación de porfirinas epidérmicas, la configuración del enfriamiento en superficie para la supresión basada en la temperatura de la acumulación de porfirinas epidérmicas, la configuración del calentamiento radiante del tejido para mejorar la acumulación de porfirinas en los sitios diana, las características de monitorización de la temperatura de la piel para controlar los dispositivos de enfriamiento/calentamiento para alcanzar una temperatura de la superficie de la piel deseada, y/o la monitorización de la fluorescencia de porfirinas mientras o después de que se acumula, etc.

La radiación inhibidora aplicada durante la fase I se proporciona preferentemente después de un intervalo inferior a aproximadamente 30 minutos tras la aplicación del ALA u otro fármaco de TFD o, más preferentemente, en menos de aproximadamente 15 minutos tras la aplicación del precursor de fotosensibilizante. Son incluso más deseables intervalos aún más cortos. Según se describe anteriormente, los intervalos más largos pueden permitir el metabolismo inicial del precursor de fotosensibilizante para formar fotosensibilizantes en las regiones del tejido epitelial donde se desea la protección frente a los efectos de la TFD.

También se pueden seleccionar los parámetros de la "fase II" (p. ej., fototratamiento) para un tratamiento por TFD en particular. Dichos parámetros de la fase II pueden incluir, por ejemplo, fluencias, irradiancias, tiempos de exposición y/o longitudes de onda de la energía del tratamiento que se va a suministrar. Si se desea, se puede alcanzar la variación de la longitud de onda utilizando, por ejemplo, un conjunto combinado de LED, filtrando una única fuente de banda ancha, o utilizando fuentes de luz múltiples incluyendo fuentes que pueden suministrarse por fibras ópticas o haces de fibras ópticas. La energía del tratamiento se puede suministrar con o sin enfriamiento de la piel; dicho enfriamiento ejemplar (p. ej., mediante flujos de aire) puede proporcionar una comodidad añadida.

También se pueden seleccionar los parámetros y las condiciones de la "fase III" (p. ej., después del fototratamiento). Por ejemplo, durante la fase III, puede continuarse el enfriamiento de la piel a efectos de comodidad y para reducir la inflamación, y la fluorescencia de las porfirinas después del tratamiento se puede monitorizar para valorar la viabilidad epidérmica o diana.

Habitualmente, la fase I está configurada para activarse durante aproximadamente 30-240 minutos o, preferentemente, aproximadamente 90-180 minutos, pero la duración puede oscilar entre aproximadamente 0-300 minutos o más. Las fuentes de radiación que se pueden utilizar para la fotoinhibición de la formación/acumulación de fotosensibilizantes en la fase I incluyen uno o varios LED que emiten en el espectro UV cercano o azul (p. ej., 320-450 nm), una o un conjunto de lámparas con filtro, uno o varios láseres de diodo, etc.

Durante la fase I se pueden utilizar una variedad de técnicas además de la fotoinhibición para controlar u optimizar el tratamiento por TFD. Por ejemplo, también puede proporcionarse enfriamiento de la superficie de la piel para aumentar la comodidad y/o reprimir adicionalmente la formación y/o acumulación de fotosensibilizantes tales como porfirinas cerca de la superficie de la piel, mediante la inhibición parcial de las enzimas que convierten el ALA o el metil ALA en porfirinas. Dicho enfriamiento se puede proporcionar, p. ej., mediante un ventilador de enfriamiento con o sin intercambiador de calor, y/o mediante técnicas evaporativas. También se puede proporcionar el calentamiento de la piel durante la fase I utilizando, p. ej., una fuente de infrarrojo cercano tal como lámparas incandescentes con filtro o LED, o aire caliente. Dicho calentamiento durante la fase I puede aumentar el metabolismo del ALA o el metil ALA en los sitios del tejido diana, p. ej., en las glándulas sebáceas. Durante la fase I se pueden utilizar simultánea o secuencialmente el enfriamiento de la superficie de la piel, el calentamiento radiante de la piel, y la fotoinhibición.

Las fuentes de energía de tratamiento activadas durante la fase II se aplican preferentemente después de un intervalo inferior a aproximadamente 30 minutos tras la aplicación de la radiación inhibidora o, más preferentemente, en menos de aproximadamente 15 minutos tras la finalización de la radiación inhibidora. Son incluso más preferibles intervalos aún más cortos. Según se ha descrito anteriormente, los intervalos más largos pueden permitir que el precursor de fotosensibilizante se extienda y metabolice aún más para formar fotosensibilizantes en regiones del tejido donde se desea la protección frente a los efectos de la TFD.

Las fuentes de radiación utilizadas para proporcionar radiación de tratamiento pueden incluir conjuntos de LED, que pueden ser preferibles por su simplicidad, potencia, duración, y seguridad eléctrica y óptica. El sistema de TFD ejemplar también puede proporcionar indicadores de audio y/o visuales para el avance del procedimiento y/o señales de alarma tales el tiempo de indicación de voz, el avance durante cada fase, y acontecimientos que están a punto de ocurrir. Estos indicadores también se pueden utilizar para solicitar información tal como el grado de molestias experimentado, y las respuestas se pueden proporcionar utilizando entradas manuales, entradas activadas por voz, o ambas. También se puede proporcionar un dispositivo de entretenimiento para reducir el aburrimiento del paciente y/o para pedir al paciente información sobre el avance, las sensaciones, las preferencias del tratamiento, etc.

Durante la fase II, la exposición al tratamiento con frecuencia puede dar lugar a una sensación de hormigueo, quemazón o dolor después de un breve lapso de tiempo. Se puede proporcionar una interfaz que incluya la capacidad de reducir la irradiancia de la fuente del tratamiento, interrumpir el tratamiento, aumentar el enfriamiento de la piel y/o la circulación del aire en la piel, o distraer al paciente, tomando como base la información proporcionada por un paciente y/u operario. El tiempo de exposición al tratamiento durante la fase II está

generalmente en el intervalo de aproximadamente 10-45 minutos, pero puede oscilar de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 120 minutos.

Se pueden proporcionar otros tipos de aparatos para la TFD de acuerdo con realizaciones de la presente invención. Por ejemplo, se puede crear un "parche" de tratamiento portátil que incluya un dispositivo de fotoinhibición programable con o sin enfriamiento o calentamiento (fase I), seguido de un dispositivo de activación de fuente de luz de tratamiento (fase II) con o sin enfriamiento. Dicho sistema basado en parches puede permitir la movilidad total del paciente tras la aplicación, inyección o ingestión del ALA, metil ALA, u otro precursor de fotosensibilizante. El sistema basado en parches incluye una entrada de energía, una o varias fuentes de radiación (tales como LED), un procesador u otro dispositivo para controlar el tiempo y la aplicación de las radiaciones de inhibición y de tratamiento, etc. Estos componentes pueden proporcionarse en un alojamiento pequeño que puede fijarse al cuerpo sobre el área que se va a tratar después de la aplicación del precursor de fotosensibilizante.

Por ejemplo, los procedimientos de TFD para tratar el acné se pueden proporcionar mediante aparatos, sistemas y métodos de acuerdo con realizaciones de la presente invención en la consulta de un médico, en un centro de tratamiento, como un dispositivo con prescripción para uso doméstico, o como un dispositivo sin prescripción para uso doméstico. El tratamiento por TFD puede ser un procedimiento de consulta trabajoso. Las realizaciones de la presente invención, según se describe en el presente documento, pueden permitir una forma más sencilla y más flexible de proporcionar tratamiento por TFD.

Se pueden poner en práctica técnicas de TFD optimizadas para enfermedades de la piel, incluyendo el acné, el cáncer de piel, la caída del cabello, nevus sebáceos, nevus cutáneos, tumores anexiales incluyendo siringomas, linfomas cutáneos de células T, carcinomas escamosos y de células basales, vasos sanguíneos anómalos, nevus melanocíticos u otros nevus cutáneos, nervios disfuncionales, grasa subcutánea no deseada, e infecciones que incluyen enfermedades fúngicas tales como la onicomycosis, y enfermedades víricas tales como las verrugas cutáneas. Para aplicaciones no cutáneas, los métodos y sistemas se pueden modificar para ajustarse a las características anatómicas en cuestión. Por ejemplo, se pueden utilizar métodos y aparatos/sistemas ejemplares en ginecología para enfermedades cervicales y vaginales, para tratar enfermedades orales y de las vías respiratorias, o enfermedades gastrointestinales e internas incluyendo las relacionadas con tejidos neurales, sistema cardiovascular, corazón, sistema endocrino y músculo.

El aparato de la presente invención también se puede utilizar para tratar el cáncer de piel. Por ejemplo, un precursor de fotosensibilizante se puede aplicar a la piel y una radiación inhibidora se puede aplicar al tejido epidérmico que está encima del sitio del tumor diana. La técnica de fotoinhibición puede permitir al precursor de fotosensibilizante metabolizarse para dar un fotosensibilizante en el sitio del tumor, permitiendo así que la TFD destruya las células tumorales mientras evita el daño en el tejido epidérmico sano que no es canceroso.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

Se ensayó la represión de acumulación de porfirinas epidérmicas mediante la exposición a luz azul durante el metabolismo del ALA, de acuerdo con realizaciones ejemplares de la presente invención, en seres humanos. Se aplicó una solución tópica de ALA al 20% en piel humana y se cubrió con papel de aluminio, mientras que solamente algunas áreas no cubiertas recibieron luz azul de 410 nm ( $1,47 \text{ mW/cm}^2$ ) durante el tiempo de incubación (véanse las Figs. 6A-C). Se tomó una foto fluorescente después de 2 horas de incubación, según se muestra en la Fig. 6D, y después se aplicó luz de 632 nm ( $100 \text{ J/cm}^2$ ) a todas las áreas según se muestra en la Fig. 6E. Después del tratamiento por TFD se tomó una fotografía clínica, que se muestra en la Fig. 6F.

Se observó que la exposición a luz azul durante el período del metabolismo del ALA reprimía la acumulación de porfirinas y reacciones posteriores de la TFD. La inactivación de enzimas sintéticas de las porfirinas o los metabolitos previos a las porfirinas, la reparación simultánea del daño oxidativo durante la exposición a la luz azul, y/o los cambios en la señalización celular pueden contribuir a este efecto observado. Dichos hallazgos indican que las realizaciones ejemplares pueden proporcionar un método para reprimir la acumulación de porfirinas como técnica para controlar la TFD con ALA. La exposición a la luz azul de baja intensidad durante el período de metabolismo del ALA puede reprimir la síntesis de porfirinas epidérmicas, permitiendo así una TFD del acné con menos dolor y/o menos efectos secundarios.

Cuando se enfría una superficie de la piel, puede haber un gradiente de temperatura, de manera que el metabolismo del ALA podría preferir la dermis caliente. Para examinar este efecto, se aplicaron placas de enfriamiento y calentamiento a la piel después de la administración de ALA tópico e inyectado, y después se determinaron la síntesis de porfirinas y la fotosensibilización de la piel. Se observó que el enfriamiento de la piel a una temperatura inferior a aproximadamente  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  reprimía significativamente la conversión de ALA epidérmico en porfirinas, limitando así la reacción de fototoxicidad de la epidermis. Se observó que la síntesis de porfirinas dérmicas se reprimía parcialmente cuando la temperatura de la superficie de la piel era de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , según se muestra, p. ej., en la Fig. 7. Estos resultados indican que un dispositivo que enfría la epidermis mientras calienta simultáneamente la

dermis puede reprimir selectivamente las porfirinas epidérmicas no deseadas y podría utilizarse junto con otros métodos de represión de porfirinas).

**Ejemplo 2**

5 Se aplicó ALA tópico al 20% a la piel de un cerdo. Se dividieron nueve áreas diferentes y se colocaron distintas películas atenuantes sobre la piel durante todo el tiempo de incubación (o el período de metabolismo). Las películas atenuantes redujeron la transmitancia de la luz permitiendo un intervalo de irradiancia que variaba desde el 100%, 56%, 44%, 35%, 26%, 21%, 19% al 17% de luz durante el período de incubación.

10 Inmediatamente después de la aplicación del fármaco, se irradió una luz de 410 nm en todos los sitios del experimento a una irradiancia de 2,6 mW/cm<sup>2</sup> durante 3 horas. Durante este período, se midió la acumulación de porfirinas en cada área de ensayo mediante una fotografía de fluorescencia digital (excitación de ~410 nm, emisión >600 nm), y se determinó microscópicamente mediante microscopía de fluorescencia de biopsias de la piel (diámetro de 8 mm) obtenidas antes de la exposición a la luz. Después de 3 horas de incubación, la exposición de luz roja de 635 nm con una fluencia de 200 J/cm<sup>2</sup> se suministró a una irradiancia de 100 mW/cm<sup>2</sup>, proporcionada por una fuente de conjunto de LED (Omnilux, PhotoTherapeutics LTD, Cheshire UK). Las mediciones y biopsias se repitieron después de 24 horas, antes de la eutanasia.

20 Los resultados muestran inhibición de la acumulación de porfirinas en todos los sitios con una transmitancia de luz de hasta el 17% (0,4 mW/cm<sup>2</sup>), excepto para el sitio que se cubrió durante la exposición a la luz azul.

**Ejemplo 3**

25 Se utilizaron realizaciones de la presente invención para tratar a una paciente asiática de 23 años de edad que mostraba un acné inflamatorio entre moderado y severo (acné III-IV). El acné recalcitrante de la paciente era resistente a los tratamientos convencionales (antibióticos orales y tópicos, retinoides tópicos y peróxido de benzoílo), y no consiguió responder al tratamiento Accutane (2 ciclos). Se aplicó tópicamente al rostro de la paciente una solución de ALA al 20% (Dusa Pharmaceuticals). El lado derecho del rostro de la paciente se cubrió con envoltura saran y papel de aluminio durante 3 horas de incubación (para proporcionar un tratamiento por TFD convencional), mientras se aplicaba luz azul a una intensidad muy baja (una radiación inhibidora) al lado izquierdo del rostro de la paciente durante 3 horas (utilizando una Clearlight a 90W/cm<sup>2</sup>, proporcionada a aproximadamente 2 metros de la paciente).

35 Tras el período de incubación, se irradiaron ambos lados del rostro con radiación de tratamiento de luz roja (longitud de onda de 635 nm, a aproximadamente 180 J/cm<sup>3</sup>, utilizando una Aktilite). Durante la irradiación de luz roja, la paciente indicó una puntuación subjetiva de dolor de aproximadamente 9-10 (en una escala de 0-10, indicando el 0 ausencia de dolor, 5 dolor moderado, y 10 dolor máximo) en el lado derecho de su rostro que recibía el tratamiento por TFD convencional. En el lado (izquierdo) inhibido ópticamente, la paciente indicó puntuaciones subjetivas de dolor de 3-4 durante la aplicación de la misma radiación de tratamiento.

45 Inmediatamente después del tratamiento, la paciente mostró una reacción inflamatoria significativa y dolor persistente en el lado tratado convencionalmente (derecho), mientras que el lado inhibido ópticamente (izquierdo) solamente mostró una inflamación leve y ausencia de dolor. El lado tratado convencionalmente evolucionó con áreas de lesiones exudativas y exulceradas, especialmente cerca de la nariz, y se observó formación de costras. En contraste, el lado inhibido ópticamente (izquierdo) solamente mostró una hiperpigmentación leve.

50 Después de cuatro semanas, ninguno de los lados del rostro de la paciente mostró acné inflamatorio nuevo, con una reducción subjetiva de sebo observada por la paciente. Se observó hiperpigmentación en el lado derecho tratado con la técnica de TFD convencional, mientras que no se observaron efectos secundarios negativos en el lado izquierdo del rostro, que se trató con una radiación inhibidora antes de la aplicación de la radiación de tratamiento, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención.

55 La reducción del dolor percibido durante el tratamiento por TFD, y la reducción o eliminación de efectos secundarios adversos a corto y a largo plazo que se observaron por la aplicación de la radiación inhibidora antes del tratamiento por TFD sugieren claramente las ventajas de dichos métodos y aparatos para las técnicas de TFD.

## REIVINDICACIONES

1. Un aparato (300, 400) para aplicar radiación a una estructura anatómica y a un fotosensibilizante dispuestos en la estructura anatómica, en el que:
- 5 una primera fuente de radiación (320, 430) está configurada para proporcionar radiación en un primer intervalo de longitudes de onda a la estructura anatómica y al fotosensibilizante dispuestos en la estructura anatómica, para reducir o eliminar la presencia o la efectividad del fotosensibilizante dentro de una primera región de la estructura anatómica; y
- 10 una segunda fuente de radiación (330, 450) está configurada para proporcionar radiación en un segundo intervalo de longitudes de onda a la estructura anatómica y al fotosensibilizante dispuesto en la estructura anatómica, después de la aplicación de la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda, para que interactúe con el fotosensibilizante para dañar, como mínimo, una parte de una segunda región de la estructura anatómica, y en el
- 15 que la primera región no se ve sustancialmente afectada por la radiación en el segundo intervalo de longitudes de onda, caracterizado por que:
- la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda es más corta que la radiación en el segundo intervalo de longitudes de onda,
- 20 la primera fuente de radiación está configurada para aplicar la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda a una irradiancia que está comprendida entre 0.01 mW/cm<sup>2</sup> y 30 mW/cm<sup>2</sup>.
- el primer intervalo de longitudes de onda está comprendido entre 320 nm y 450 nm, y
- 25 el aparato está configurado para aplicar la primera radiación a una irradiancia menor que la segunda radiación.
2. El aparato (300, 400) de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende así mismo un instrumento controlador (310, 490) configurado para controlar al menos un parámetro asociado a la primera fuente de radiación (320), en el que dicho al menos un parámetro incluye, como mínimo, uno de los siguientes: una longitud de onda, una fluencia, una irradiancia, un ritmo de pulsos o una duración de aplicación
- 30 3. El aparato (300, 400) de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el instrumento controlador (310, 490) está configurado así mismo para controlar un ángulo de incidencia de la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda para afectar a una profundidad de penetración de la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda dentro de la estructura anatómica,
- 35 4. El aparato (300, 400), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la estructura anatómica comprende tejido cutáneo (380, 410).
- 40 5. El aparato (300, 400) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el fotosensibilizante se forma a partir de un precursor de fotosensibilizante aplicado a la estructura anatómica.
- 45 6. El aparato (300, 400) de la reivindicación 5, en el que el precursor de fotosensibilizante comprende, como mínimo, uno de ácido aminolevulínico (ALA), derivado de ALA, un éster metílico de ALA, una amida de ALA, un éster de ALA, y una sal de ALA.
- 50 7. El aparato (300, 400) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda se aplica a una fluencia que está comprendida entre 1 J/cm<sup>2</sup> and 100 J/cm<sup>2</sup>.
8. El aparato (300, 400) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el aparato (300, 400) está configurado para proporcionar la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda a una fluencia total que es menor que una fluencia total de la radiación en el segundo intervalo de longitudes de onda.
- 55 9. El aparato (300, 400) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el segundo intervalo de longitudes de onda está comprendido entre 470 nm y 700 nm.
- 60 10. El aparato (300, 400) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la radiación en el segundo intervalo de longitudes de onda está configurada para que interactúe con el fotosensibilizante situado en la segunda región para producir una especie fototóxica de manera que se dañe, como mínimo, una parte de la segunda región, y en el que la primera región no se ve sustancialmente afectada por la radiación en el segundo intervalo de longitudes de onda.
- 65 11. El aparato (300, 400) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que, como mínimo, dicho al menos un parámetro asociado a la radiación en el primer intervalo de longitudes de onda se selecciona para fotoblanquear el fotosensibilizante en la primera región de la estructura anatómica.

12. El aparato (300, 400) de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el fotosensibilizante fotoblanqueable incluye, como mínimo, uno de una porfirina, clorina, porficeno, purpurina, ftalocianina, naftalocianina, bacterioclorina, benzofenotiazina, tetraciclina, azul de metileno e hipericina.

5

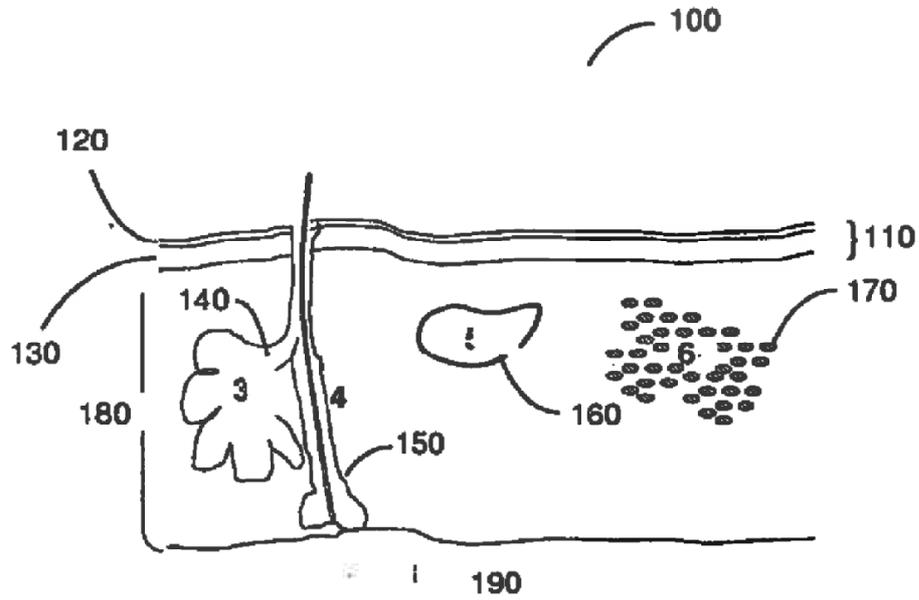


Fig. 1

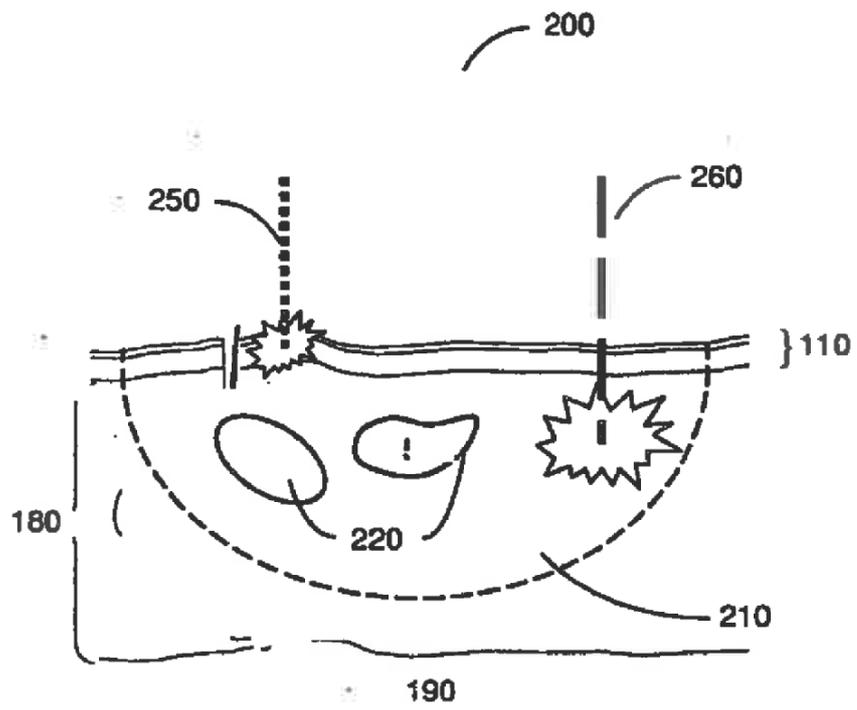


Fig. 2

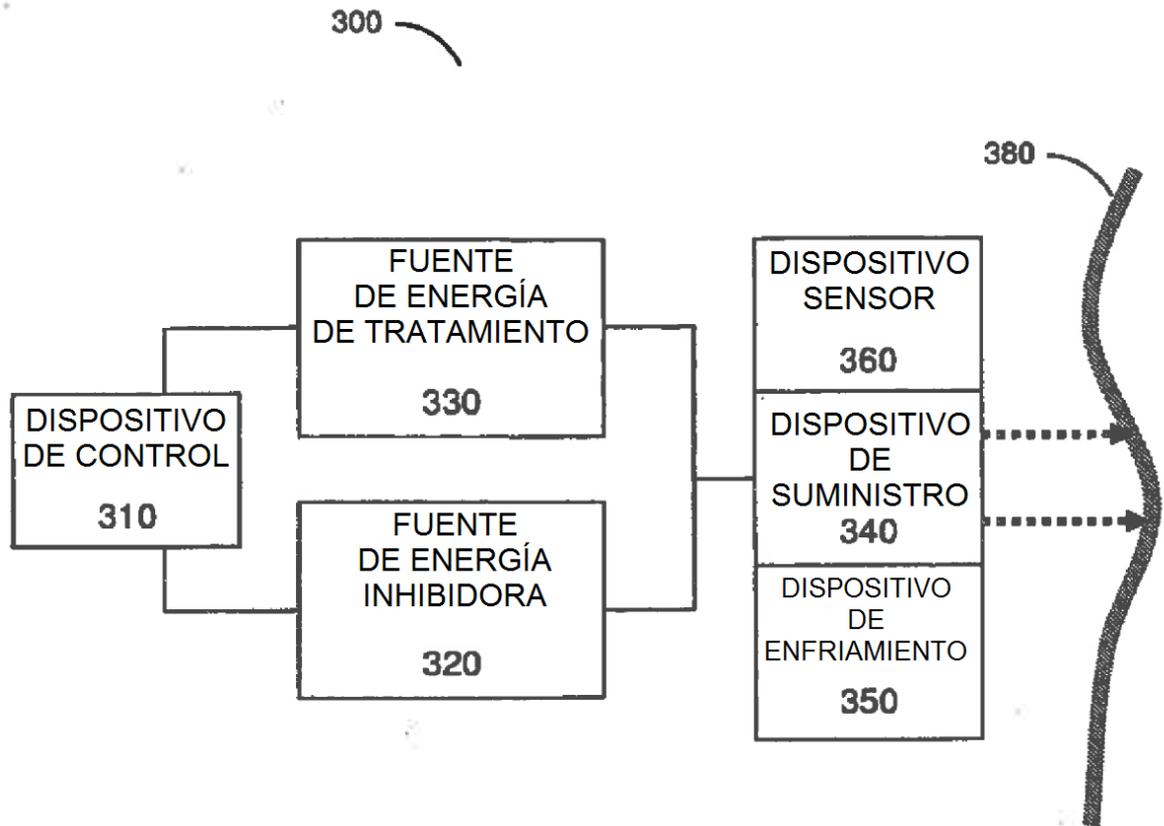


Fig. 3

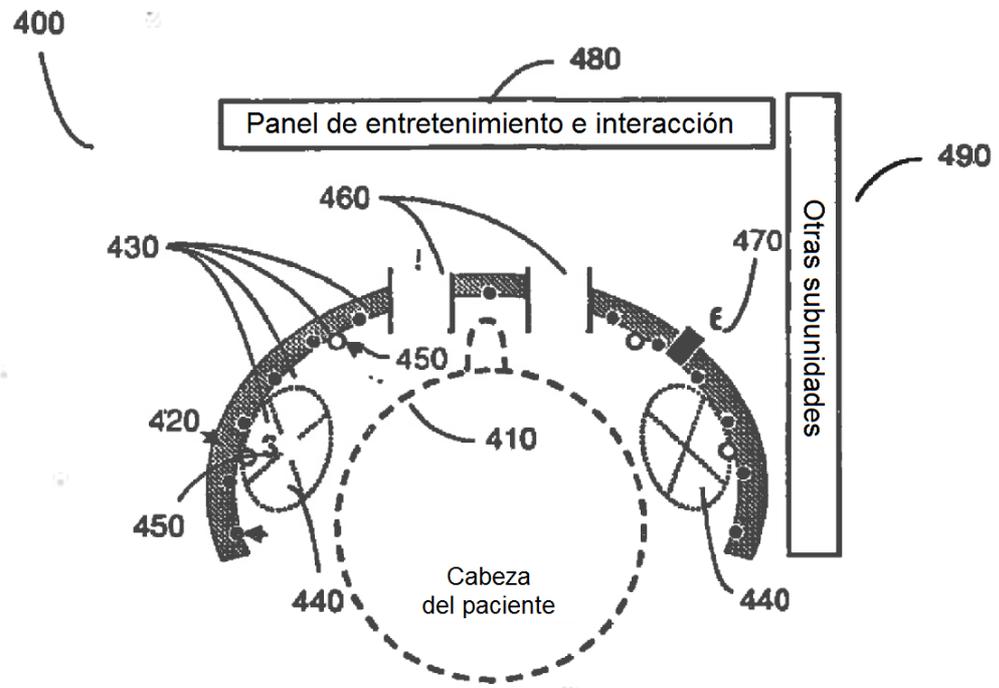


Fig. 4

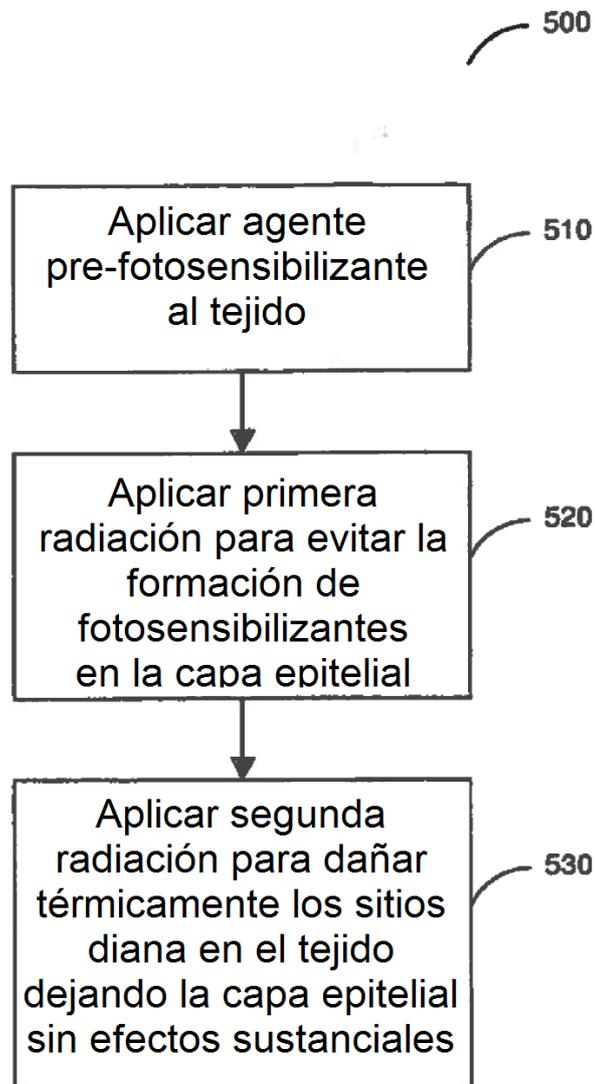


Fig. 5

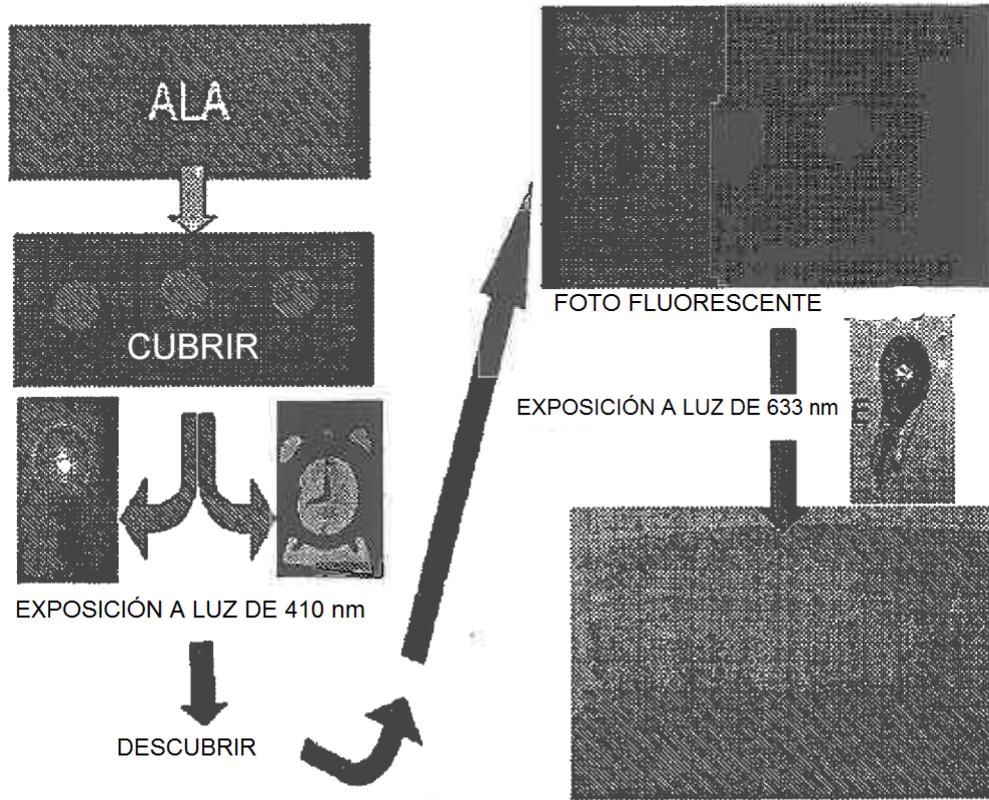


Fig. 6

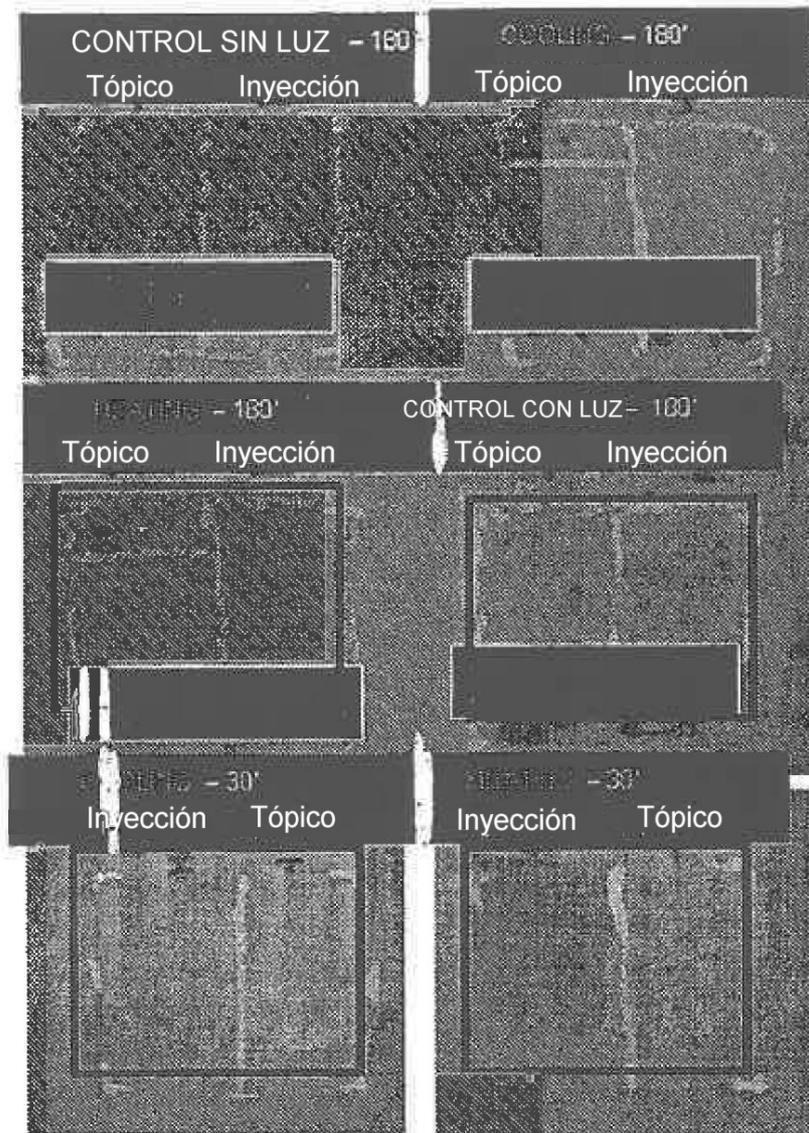


Fig. 7

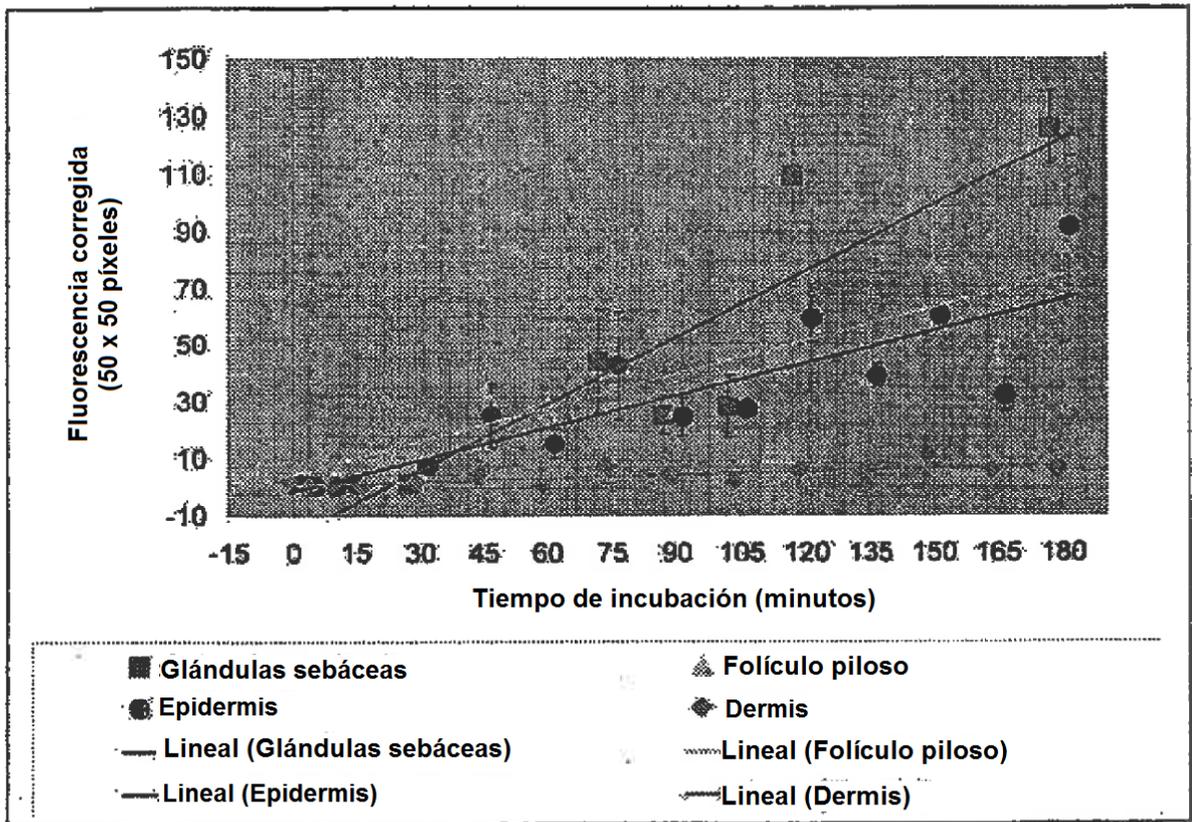


Fig. 8

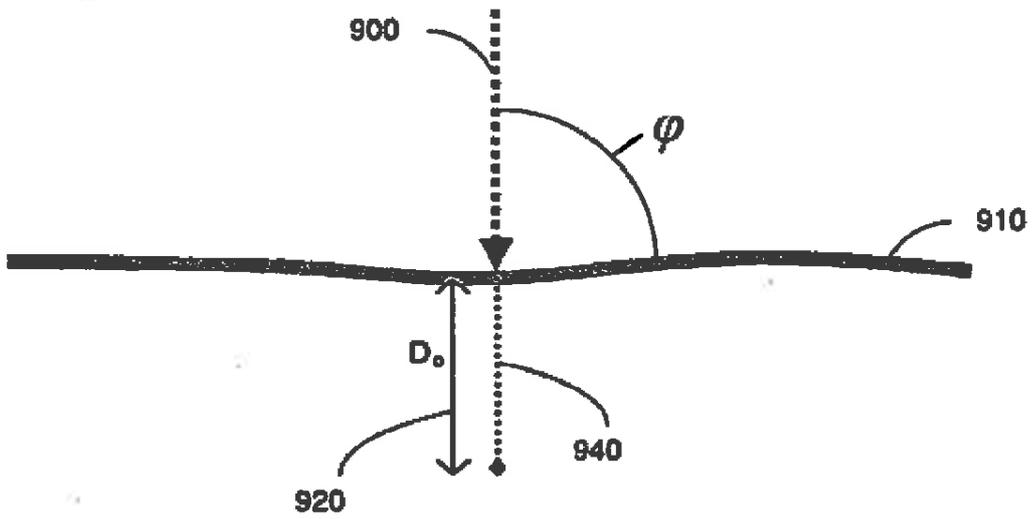


Fig. 9a

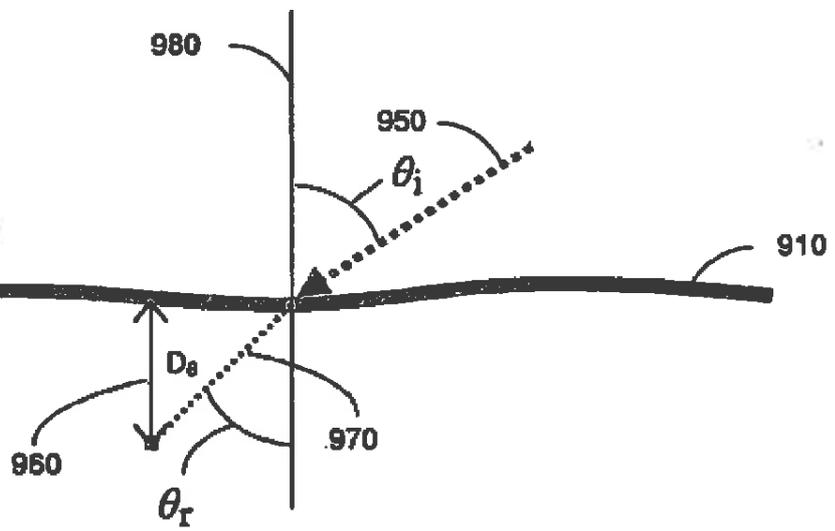


Fig. 9b