

Diagnostyka fotodynamiczna nowotworów skóry – doświadczenia własne

Photodynamic diagnosis of skin cancers – own experiences

Jan Rykała¹, Cezary Peszyński-Drews², Henryk Witmanowski^{1,3}, Julia Kruk-Jeromin¹

¹Klinika Chirurgii Plastycznej, Rekonstrukcyjnej i Estetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Julia Kruk-Jeromin

²Centrum Diagnostyki i Terapii Laserowej Politechniki Łódzkiej, dyrektor Centrum: dr n. med. Cezary Peszyński-Drews

³Katedra i Zakład Fizjologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. n. med. Teresa Torlińska

Post Dermatol Alergol 2009; XXVI, 4: 197–200

Streszczenie

Wprowadzenie: Diagnostyka fotodynamiczna (*photodynamic diagnosis* – PDD) jest nową metodą rozpoznawania stanów przednowotworowych i nowotworowych nie tylko skóry, ale także przewodu pokarmowego, pęcherza, płuc, sutka czy mózgu. Wymaga ona m.in. zastosowania fotosensybilizatora, tj. barwnika selektywnie kumulującego się w tkankach zmienionych nowotworowo i absorbującego światło o określonej długości fali. W tym celu często wykorzystuje się prekursora fotouczulaczy – kwasu aminolewulinowego (*aminolevulinic acid* – ALA).

Materiał i metody: Badania diagnostyczne zmian skórnych metodą fotodynamiczną z użyciem 5-procentowego ALA i światła monochromatycznego emitowanego przez lampę Stortza przeprowadzono w Centrum Diagnostyki i Terapii Laserowej Politechniki Łódzkiej w latach 2001–2007.

Wyniki: Wyniki badań wykazały ogromną przydatność PDD do określania rozległości zmian nowotworowych skóry.

Wnioski: Metoda PDD nie zastępuje badania histopatologicznego, które nadal ma podstawowe znaczenie, ale miejsca pobrania wycinków zmiany skóry do analizy mogą już być ustalane metodą nieinwazyjną. Metoda tzw. biopsji optycznej, będąc uzupełnieniem badań diagnostycznych poprzez określenie dokładnej granicy zmiany, umożliwia przede wszystkim doszczętne wycięcie nowotworu przy jednoczesnym uzyskaniu optymalnego efektu kosmetycznego, zwłaszcza w przypadku zmian powierzchniowych.

Słowa kluczowe: nowotwory skóry, diagnostyka fotodynamiczna, kwas aminolewulinowy.

Abstract

Introduction: Photodynamic diagnosis of tumours is a new procedure utilizing the combined action of light and a photosensitizing drug. The laser-fibre optic delivery system allows the visualisation of superficial and deep localized neoplasms including malignancies of the skin, oesophagus, endobronchial tract, stomach, urinary bladder, female genital tract, and other sites. The putative action mechanism depends on evocation of fluorescence of a photosensitizing drug within cancer tissue (important for non-invasive optical diagnosis).

Material and methods: Diagnostic investigations of cutaneous changes with the photodynamic method using 5% aminolevulinic acid and monochromatic light emitted by a Stortz lamp were performed in the Diagnostics and Laser Therapy Centre, Technical University of Łódź, from 2001 to 2007.

Results: Topical ALA diagnosis has the following advantages: it is non-invasive, it is well tolerated by patients, it can be used to diagnose multiple superficial lesions, and it shows the border of the lesions well.

Conclusions: The method of photodynamic diagnostics does not replace the necessity of performing histopathological examinations, which still are of basic importance, but the places of affected skin specimen sampling may be determined by a non-invasive method. Moreover, the method of so-called “optic biopsy”, supplementing diagnostic investigations by determining the precise boundary line of the change, enables first of all total tumour excision, obtaining simultaneously an optimal cosmetic effect, particularly in the case of superficial changes.

Key words: skin neoplasms, photodynamic diagnosis, aminolevulinic acid.

Adres do korespondencji: dr n. med. Jan Rykała, Klinika Chirurgii Plastycznej, Rekonstrukcyjnej i Estetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź, tel. +48 42 677 67 42, faks +48 42 677 67 49, e-mail: jan.rykala@gmail.com

Wprowadzenie

Diagnostyka fotodynamiczna (*photodynamic diagnosis* – PDD) jest nową metodą rozpoznawania zmian patologicznych, która ze względu na wiele zalet znalazła już zastosowanie w wielu dyscyplinach klinicznych. Wykorzystuje się ją m.in.: w badaniach angiologicznych do oceny zaburzeń mikrokrążenia, zwłaszcza w zakresie zmian czynnościowych, w diagnostyce wczesnych faz nowotworów sutka, narządów rurowych, a także w wykrywaniu wczesnych zmian nowotworowych skóry [1–4]. Metoda ta pozwala przede wszystkim na selektywne wyróżnianie tkanki nowotworowej bez zbędnych uszkodzeń zdrowych tkanek.

Oznaczanie tkanki nowotworowej następuje w procesie wybiórczego fotoutleniania. Procesy fotodynamiczne wymagają trzech podstawowych składników:

- fotouczulacza, zwanego też fotosensybilizatorem, który jest barwnikiem selektywnie gromadzącym się w tkance nowotworowej i uczulającym ją na działanie światła,
- tlenu,
- źródła światła emitującego fale spójne z pasmami absorpcji zastosowanego barwnika [5, 6].

Istotą PDD jest rejestracja światła emitowanego z tkanki przez znajdujące się w nich związki chemiczne wzbudzone spójną falą elektromagnetyczną. Diagnostyka fotodynamiczna może wykorzystywać autofluorescencję, czyli emisję światła pochodzącego od substancji endogennych (zwłaszcza różnych pochodnych i prekursorów związków porfiryńowych) [7, 8]. Drugą możliwością jest ocena fluorescencji substancji fotouczulających podanych z zewnątrz, spośród których najczęściej stosuje się pochodne porfiryńowe. W celu wzbudzenia fluorescencji do tkanki należy doprowadzić energię w postaci światła o długości fali odpowiadającej pasmu pochłaniania fotouczulacza lub endogennego chromatoforu. Najczęściej wykorzystuje się do tego celu lasery, ponieważ generują one falę świetlną o określonych parametrach fizycznych, z których najistotniejszym jest możliwość uzyskania światła o ściśle określonej długości fali. Innymi, nieco rzadziej stosowanymi źródłami światła monochromatycznego są lampy ksenonowe i rtęciowe. Fluorescencja emitowana z tkanek najintensywniej zaznacza się na obwodzie zmiany nowotworowej. Obraz świecącego guza widoczny jest gołym okiem [5]. W celu dokładniejszej analizy obraz fosforyzującej zmiany można zarejestrować cyfrowym aparatem fotograficznym lub kamerą o wysokiej rozdzielczości, a następnie zastosować obróbkę komputerową utrwalonego obrazu [9, 10].

Cel

Celem pracy jest ocena przydatności PDD do radykalnego leczenia przeciwnowotworowego.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 127 pacjentów ze zmianami skórnymi o wielkości nieprzekraczającej 3,5 cm, których przed planowaną terapią poddano PDD. Badania te przeprowadzono w Centrum Diagnostyki i Terapii Laserowej Politechniki Łódzkiej w Łodzi w latach 2001–2007. Leczenie zmian skórnych przeprowadzono w Regionalnym Ośrodku Onkologicznym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. M. Kopernika w Łodzi oraz w Klinice Chirurgii Plastycznej Rekonstrukcyjnej i Estetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wszyscy chorzy wyrazili zgodę na zastosowanie u nich powyższej diagnostyki przed leczeniem chirurgicznym. Wiek pacjentów w chwili badania mieścił się w przedziale 18–91 lat. Najliczniejsze grupy stanowili 41-, 44-, 47- i 69-latkowie.

W badanej grupie u 103 pacjentów obserwowano pojedyncze zmiany skórne, u 23 pacjentów stwierdzono po 2 ogniska nowotworowe, a u 1 chorego zdiagnozowano ich 5. W sumie u 127 badanych rozpoznano 154 zmiany skórne.

Analizując wielkość zmian skórnych, stwierdzono 85 ognisk, których największy wymiar w poziomie skóry nie przekraczał 1 cm, 29 guzów miało wielkość 1–2 cm, a 13 zmian 2–3,5 cm. W badanej grupie zmiany skórne były umiejscowione w obrębie: głowy i szyi (49), klatki piersiowej (59) i kończyn (11 zmian). Osiem z nich miało inną lokalizację (brzuch, pośladki).

Grupę porównawczą wybrano losowo na podstawie analiz historii chorób. Stanowiło ją 100 pacjentów ze 100 zmianami skórnymi o podobnym charakterze, wielkości i lokalizacji, niediagnozowanych metodą fotodynamiczną, leczonych operacyjnie w Regionalnym Ośrodku Onkologicznym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. M. Kopernika w Łodzi.

Metoda diagnostyczna

Diagnostykę fotodynamiczną pierwotnych nowotworów skóry przeprowadza się w Centrum Diagnostyki i Terapii Laserowej Politechniki Łódzkiej od 1996 r. W ośrodku tym korzysta się z 5-procentowego roztworu kwasu aminolewulinowego (*aminolevulinic acid* – ALA) oraz ze światła monochromatycznego 405 nm, emitowanego przez lampę Stortza. Kwas aminolewulinowy w formie suchej substancji zakupiono w firmie Merck w Niemczech, gdzie jest dopuszczony do obrotu od 8 lat jako preparat diagnostyczny. Podłożem roztworu jest parafina zmieszana z wodą w stosunku 1 : 1.

Przygotowując pacjentów do badania diagnostycznego, zmianę skórną przemywa się solą fizjologiczną lub wodą utlenioną. Na taką powierzchnię wraz z 2-centymetrowym marginesem zdrowej skóry nakłada się cienką warstwę preparatu zawierającego fotosensybilizator. Całość pokrywa się opatrunkiem okluzyjnym na 4 godz. Po tym czasie zdejmuje się opatrunek, a powierzchnię

zmiany oświetla się wiązką fioletowo-niebieskiego światła o długości fali 405 nm, emitowanego z lampy Stortza. Diagnozowane zmiany oświetla się bezdotykowo z odległości 1–2 cm, prostopadłe do powierzchni przez 3–8 min.

Zgodę na zastosowanie u chorych ALA do PDD pierwotnych zmian skóry wydała Uczelniana Komisja Etyki Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Łodzi w czerwcu 2000 r.

Wyniki

W celu oceny przydatności PDD do radykalnego leczenia zmian nowotworowych skóry porównano grupę chorych diagnozowanych tą metodą (grupa badana) z pacjentami leczonymi tylko klinicznie (grupa porównawcza).

W wyniku zastosowania PDD u 93 pacjentów z pojedynczymi zmianami zaobserwowano intensywną fluorescencję, a w przypadku 61 zmian u 34 pacjentów słabe świecenie fluorescencyjne. Wyniki weryfikacji histopatologicznej wyciętych zmian nowotworowych skóry przedstawiały się następująco: 76 – nowotwory złośliwe, a 78 – zmiany łagodne skóry.

Nie u wszystkich chorych diagnozowanych metodą PDD rozpoznanie nowotworu złośliwego skóry pokrywało się z intensywną fluorescencją zmiany. Tylko w 81% przypadków intensywne świecenie zmiany skorelowano z rozpoznaniem nowotworu złośliwego. Podobnie w grupie chorych diagnozowanych klinicznie wstępne rozpoznanie nie potwierdziło się po weryfikacji histopatologicznej w 23% wyciętych zmian.

Omówienie wyników

Jak wynika z dostępnego piśmiennictwa, metodę fotodynamiczną w diagnostyce dermatologicznej stosowali tylko nieliczni autorzy [11–13]. Do czasu pojawienia się PDD praktycznie tylko wstępne kliniczne rozpoznanie charakteru zmiany skórnej lub wynik badania histopatologicznego wycinka zmienionej tkanki były podstawą do podjęcia leczenia przeciwnowotworowego. Wielu autorów zwraca uwagę, że po zastosowaniu diagnostyki klinicznej niedoszczętne wycięcie zmian skórnych wynosi 0,7–31% [14, 15]. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi dla grupy porównawczej w badaniu przeprowadzonym przez autorów niniejszego opracowania. Bardzo interesująca wydaje się natomiast interpretacja w piśmiennictwie światowym wyników PDD, którą autorzy chcieli odnieść do uzyskanych wyników badań własnych. Autorzy uzyskali korelację intensywności świecenia z rozpoznaniem nowotworu złośliwego w 81% przypadków. Brak korelacji w 19% zmian między intensywnym świeceniem a rozpoznaniem po leczeniu nowotworu złośliwego może wiązać się z obecnością odczynu zapalnego lub grubszej warstwy keratynocytów dających często wyniki fałszywie dodatnie. Rozbieżność tych wyników niezależnie od statystycznych opracowań ma kluczowe znaczenie dla interpretacji

zjawiska fluorescencji w różnych rodzajach tkanek człowieka oraz procesach fizjologicznych i patologicznych w nich zachodzących.

Fritsch i wsp. w badaniu metodą PDD z udziałem 20 pacjentów z podstawnokomórkowymi nowotworami skóry w celu wywołania fluorescencji wykorzystali lampę Wooda przy współudziale ALA [16]. Przed leczeniem chirurgicznym skórę pokryto maścią z ALA na powierzchni guza i 2 cm na zewnątrz od powierzchni zmiany. Następnie zmianę przykrywano opatrunkiem okluzyjnym i zabezpieczano folią. Po upływie 4–6 godz. zdejmowano opatrunek i świecono światłem monochromatycznym o długości fali Soretta (370–405 nm). W efekcie obserwowano świecenie zmian nowotworowych skóry. Autorzy wskazywali na wysoki potencjał PDD zmian skórnych przed zastosowaniem leczenia chirurgicznego, co oznacza wysoką zgodność wyników PDD z późniejszymi rezultatami badań histopatologicznych wyciętych zmian. Wyniki badań Warloe oraz Svanberga potwierdzają powyższe obserwacje [17, 18]. Autorzy pierwszej z wymienionych prac zastosowali 5-ALA do określenia lokalizacji raka podstawnokomórkowego skóry, natomiast autorzy drugiego opracowania wykorzystali PDD do diagnostyki *in vivo* raka płaskonabłonkowego *in situ* i podstawnokomórkowego skóry. W przypadku raka podstawnokomórkowego wszyscy pacjenci (21 badanych) byli prawidłowo zdiagnozowani. Podobne wyniki badań własnych uzyskane dla znacznie liczniejszej grupy chorych pozwalają sądzić, że PDD może poprawić wyniki radykalnego leczenia, umożliwia planowanie operacyjne i redukuje liczbę ponownych interwencji chirurgicznych [11, 12, 17, 18].

Wnioski

Na podstawie analizy dotychczas uzyskanych przez autorów niniejszego opracowania wyników można stwierdzić, że:

- PDD dokładnie określa rozległość zmian nowotworowych skóry i wyznacza optymalną granicę cięć chirurgicznych,
- diagnostyka kliniczna w porównaniu z metodą fotodynamiczną charakteryzuje się niższą wiarygodnością rozpoznawania charakteru zmian nowotworowych skóry,
- miejscowe zastosowanie 5-procentowego roztworu ALA w diagnozowaniu zmian skórnych nie jest obciążone skutkami ubocznymi,
- istnieje uzasadniona potrzeba rozszerzenia badań klinicznych nad ALA w celu zakwalifikowania tego związku do grupy podstawowych, stosowanych w Polsce, środków diagnostycznych do PDD pierwotnych nowotworów skóry.

Piśmiennictwo

1. Rippey JJ, Rippey E. Characteristics of incompletely excised basal cell carcinomas of the skin. *Med J Aust* 1997; 166: 581-3.
2. Moan J, Berg K. Photochemotherapy of cancer: experimental research. *Photochem Photobiol* 1992; 55: 931-48.

3. Wojciechowski A, Iwaszkiewicz K. Mammografia laserowa, diagnostyka przyszłości? *Pol Przegl Radiol* 1997; 62: 160-5.
4. Kuijpers DJ, Thissen MR, Thissen CA, Neumann MH. Similar effectiveness of methyl aminolevulinate and 5-aminolevulinate in topical photodynamic therapy for nodular basal cell carcinoma. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 642-5.
5. Bath-Hextall FJ, Perkins W, Bong J, Williams HC. Interventions for basal cell carcinoma of the skin. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 1: CD003412.
6. Svanberg K, Andersson T, Killander D, et al. Photodynamic therapy of non-melanoma malignant tumours of the skin using topical delta-aminolevulinic acid sensitization and laser irradiation. *Br J Dermatol* 1994; 130: 743-51.
7. Bech O, Peng Q, Berg K, et al. Photosensitisation of tumour cells in vitro and in vivo using endogenous porphyrins induced with exogenous 5-aminolevulinic acid. In: Spinelli P, Dal Fante M, Marchesini R. (eds.) *Photodynamic Therapy and Biomedical Lasers*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam 1992; 521-5.
8. Randle H. Basal cell carcinoma: identification and treatment of the high-risk patient. *Dermatol Surg* 1996; 22: 255-61.
9. Kunte C, Konz B. Current recommendations in the treatment of basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Hautarzt* 2007; 58: 419-26.
10. Fantini F, Greco A, Cesinaro AM, et al. Pathologic changes after photodynamic therapy for Basal cell carcinoma and Bowen disease: a histologic and immunohistochemical investigation. *Arch Dermatol* 2008; 144: 186-94.
11. Redondo P, Marquina M, Pretel M, et al. Methyl-ALA-induced fluorescence in photodynamic diagnosis of basal cell carcinoma prior to Mohs micrographic surgery. *Arch Dermatol* 2008; 144: 115-7.
12. Fritsch C, Lang K, Neuse W, et al. Photodynamic diagnosis and therapy in dermatology. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1998; 11: 358-73.
13. Fritsch C, Becker-Wegerich PM, Schulte KW, et al. Photodynamic therapy and breast-plasty of a extensive superficial trunk skin basalioma of the breast. An effective combination therapy with photodynamic diagnosis. *Hautarzt* 1996; 47: 438-42.
14. Schütt F, Staff C, Stein T, et al. Photodynamic therapy of lid basal cell carcinomas in a 13-year-old patient with Gorlin Goltz syndrome. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2007; 24: 670-3.
15. Berroeta L, Clark C, Dawe RS, et al. A randomized study of minimal curettage followed by topical photodynamic therapy compared with surgical excision for low-risk nodular basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2007; 157: 401-3.
16. Fritsch C, Becker-Wegerich PM, Menke H, et al. Successful surgery of multiple recurrent basal cell carcinomas guided by photodynamic diagnosis. *Aesth Plast Surg* 1997; 21: 437-43.
17. Warloe T. Localization of porphyrin in human basal cell carcinoma and normal skin tissue induced by topical application of 5-aminolevulinic acid. *Photodynamic therapy and biomedical lasers*. *Excerpta Medica* 1992; 454-60.
18. Svanberg K. Photodynamic therapy of human skin malignancies and laser induced fluorescence diagnostic utilizing photophrin and aminolevulinic acid. *J Laser Appl* 1997; 12: 436-42.