

Dotychczasowe metody leczenia nowotworów skóry prowadzą do powstania funkcjonalnego i estetycznego kalectwa. Terapia fotodynamiczna pozwala na uniknięcie tego typu zagrożeń. Nowe fotosensybilizatory, szczególnie te stosowane miejscowo, umożliwiają uniknięcie przedłużonej nadwrażliwości na światło. Kwas 5-aminolewulinowy, naturalny prekursor na szlaku biosyntezy hemu, prowadzi do indukowania powstawania protoporfiryny IX wykazującej aktywność fotodynamiczną. Grupę 15 chorych z pojedynczymi nablóniakami podstawnokokomórkowymi skóry poddano terapii fotodynamicznej z użyciem tego fotosensybilizatora II generacji. Preparat podawano miejscowo, a po okresie aplikacji naświetlano światłem o długości 630 nm. Bezpośrednio po naświetlaniu występował obrzęk leczonej okolicy, utrzymujący się przez 2-3 dni. W okresie obserwacji odnotowano martwicę powierzchni zmian, zmniejszenie guza, pojawienie się blizny zanikowej. Nie wszystkie zmiany zareagowały na stosowane leczenie, a tylko w dwóch przypadkach wykonana po 3 miesiącach biopsja nie wykazała obecności komórek nowotworowych. Krótki czas obserwacji oraz mała liczba leczonych chorych nie pozwalają na jednoznaczne wnioski. Metoda fotodynamiczna z powierzchniowym zastosowaniem kwasu 5-aminolewulinowego może być przydatna w diagnostyce nowotworów oraz leczeniu powierzchniowo leżących zmian.

Słowa kluczowe: terapia fotodynamiczna, kwas 5-aminolewulinowy, nablóniaki podstawnokokomórkowe skóry.

Zastosowanie kwasu 5-aminolewulinowego w fotodynamicznym leczeniu powierzchniowych nablóniaków podstawnokokomórkowych skóry

5-aminolevulinic acid in photodynamic treatment of superficial basocellular epithelial lesions of the skin

Mirosław Steć¹, Jacek Szymańczyk², Janusz Domaniecki¹, Mirosław Kwaśny³, Zygmunt Mierczyk³, Marek Tomczak¹

WSTĘP

Leczenie nowotworów skóry obejmuje postępowanie chirurgiczne (wycięcie, kauteryzacja, wyłuszczanie, krioterapia), radioterapię oraz miejscową chemioterapię z zastosowaniem 5-fluorouracylu. Postępowanie to, szczególnie w odsłoniętych okolicach twarzy i szyi, jest często przyczyną zarówno estetycznego, jak i funkcjonalnego kalectwa, szczególnie, gdy zmiana wymaga szerokiego wycięcia w celu uzyskania radykalności onkologicznej.

Szansę uniknięcia powyższych powikłań stwarza terapia fotodynamiczna (photodynamic therapy – PDT). Odkrycie w latach 40. XX wieku zjawiska selektywnego gromadzenia się barwników porfiryńowych w tkankach nowotworowych w przeciwieństwie do tkanek zdrowych [1] zapoczątkowało całą serię badań doświadczalnych i klinicznych nad zastosowaniem fotouczulaczy w diagnostyce i terapii nowotworów.

Środki te, podawane zazwyczaj dożylnie lub doustnie, wymagały stosowania wysokich dawek preparatu, co w konsekwencji prowadziło do przedłużonej nadwrażliwości na światło.

W celu wyeliminowania tego efektu ubocznego prowadzi się badania nad zastosowaniem kolejnych generacji fotosensybilizatorów lub ich prekursorów. Szczególnym zainteresowaniem cieszy się kwas 5-aminolewulinowy (ALA), który jest metabolizowany w tkance do protoporfiryny IX (Pp IX) na naturalnej drodze syntezy hemu. Preparat ten został zastosowany po raz pierwszy przez Malika i Lugaciego w 1978 roku (*in vitro*) [2], a do praktyki klinicznej wprowadzony w 1990 roku przez Kennedy'ego i Pottiera [3]. Efekt akumulacji Pp IX indukowanej egzogenne dostar-

czonym ALA oparty jest na ominięciu kontroli sprzężenia zwrotnego na drodze biosyntezy hemu (Rys. 1.). W wyniku tego kilka endogennych produktów pośrednich przemiany porfiryńowej, wykazujących aktywność fotodynamiczną, gromadzi się w komórkach, prowadząc do ich uczulenia na światło [2, 4, 5, 6, 7]. Z innych przyczyn wybiórczego gromadzenia się porfiryń w komórkach nowotworowych należy wymienić zmniejszoną aktywność ferrochelatazy w mitochondriach [8-10] oraz podwyższenie aktywności deaminazy porfobilinogenu [10-12].

Dobre wyniki uzyskiwane przez licznych autorów przy zastosowaniu ALA w terapii pierwotnych nowotworów skóry skłoniły nas do podjęcia próby leczenia powierzchniowych nablóniaków podstawnokokomórkowych skóry.

MATERIAŁ I METODA

Zmiany skórne

Grupę poddaną leczeniu stanowiło 15 chorych (5 kobiet i 10 mężczyzn) w wieku od 53 do 82 lat (średnio: 68,5) z pojedynczymi nablóniakami podstawnokokomórkowymi. Zmiany zlokalizowane były głównie na twarzy, klatce piersiowej i okolicy łędźwiowej. Ich wielkość wahała się od 0,7 cm do 4,0 cm średnicy. Wszystkie przypadki zostały zweryfikowane histopatologicznie za pomocą biopsji (badania wykonano w Pracowni Histologicznej Kliniki Dermatologicznej Akademii Medycznej w Warszawie; Kierownik Pracowni: dr n. med. Teresa Kraińska). Pacjentów szczegółowo poinformowano o charakterze badania i możliwych efektach ubocznych, uzyskując pisemną zgodę. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Etycznej przy Wojskowym Instytucie Medycyny Lotniczej.

¹ Klinika Chirurgiczna Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie

² Klinika Dermatologii Akademii Medycznej w Warszawie

³ Instytut Optoelektroniki Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie

Currently employed methods of treatment of cutaneous neoplasms carry the risk of functional and cosmetic postoperative defects. Photodynamic therapy seems to minimize these risks. New photosensibilizing substances (especially those applied topically) diminish the prolonged photosensitivity reaction. 5-aminolevulinic acid, the natural precursor substance in the heme biosynthesis, leads to the induction of photodynamically active photoporphyrin IX. This 2-nd generation photosensibilizing agent was employed in the treatment of 15 patients with single basocellular epitheloid skin tumours. The drug was applied topically and then the lesion was irradiated with light of 630 nm wavelength. Immediately after irradiation, oedema of the treated area appeared and persisted during the following 2-3 days. Superficial necrosis of the lesions, reduction of tumour size and formation of atrophic scar were observed during the follow-up period. The method of treatment employed was not fully successful – in only 2 patients biopsy did not reveal neoplastic cells 3 months following the initial treatment. The short period of follow-up, as well as the small number of patients do not allow to draw definite conclusions. We think however, that photodynamic method with the topical use of 5-aminolevulinic acid, as photosensibilizing agent, may be useful in diagnostics and treatment of superficially located neoplastic skin lesions.

Key words: Photodynamic therapy, 5-aminolevulinic acid, basocellular epithelial lesions of the skin.

Preparat

Kwas 5-aminolewulinowy otrzymano z firmy Merck (Niemcy) i sporządzono 20 proc. maść na bazie euceryny z dodatkiem 0,1 proc. dimetylosulfotlenku (DMSO), jako substancji poprawiającej penetrację w głąb tkanki. Tak przygotowany preparat przechowywano w lodówce w temperaturze +4°C.

Aparatura

Do wzbudzania powstałych endogennych porfiryń i postępowania terapeutycznego zastosowano oświetlacz halogenowy (produkcja: LASAR ELEKTRONIKA, Polska), będący źródłem światła quasimonochromatycznego o maksymalnej mocy wyjściowej światła niebieskiego (dł. = 415 nm) – 80 mW i czerwonego (dł. = 630 nm) – 260 mW. Promieniowanie transmitowane było światłowodem cieczowym o średnicy 8 mm i długości 1500 mm.

Metodyka

Przygotowany preparat aplikowany był na zmiany skórne pod opatrunek okluzyjny na okres 3 godzin. Po okresie aplikacji nadmiar maści usuwano mechanicznie, a następnie zmiany skórne oświetlano światłem niebieskim. Miało to na celu uwidocznienie granic nowotworu (faza diagnostyczna). Następnie zmiany naświetlano światłem czerwonym (czas ekspozycji ok. 10'-20'), co stanowiło dawkę światła 50–100 J/cm². Chorych kontrolowano po tygodniu, miesiącu oraz po 3 miesiącach od daty naświetlania, kiedy to wykonywano kontrolną biopsję z weryfikacją histopatologiczną.

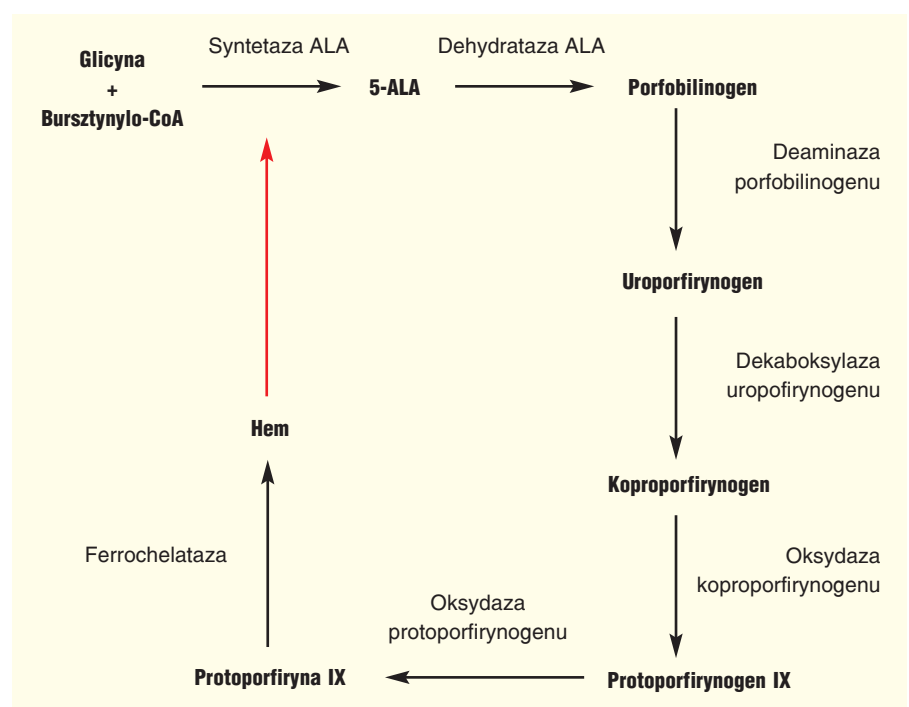
WYNIKI

Spośród 15 osób objętych badaniem dwoje utracono spod kontroli (1 nie zgło-

siła się na badania kontrolne, 1 skierowano do krioterapii ze względu na niewyrażenie zgody na dalszy udział w proponowanym leczeniu). Wszyscy chorzy kontrolowani po tygodniu podawali, że przez kilka godzin po naświetlaniu odczuwali pieczenie oraz nieznaczny ból w okolicy zmiany, co jednak nie wymagało przyjmowania środków przeciwbólowych. W obrębie naświetlanych zmian utrzymywał się obrzęk i zaczerwienienie przez 2–3 dni po terapii. Objawy te ustępowały samoistnie. W siódmej dobie od naświetlania badaniem klinicznym stwierdzano następujące objawy: martwiczy strup (10/13), łuszczenie powierzchni zmiany (2/13), utrzymujące się krwawienie z owrzodzenia (1/13). W badaniu po miesiącu obserwowano: zmniejszenie powierzchni guza (4/13), bliznę zanikową (6/13), brak zmian klinicznych w obrębie guza (3/13). Wyniki badania histopatologicznego wycinków przedstawiono w tabeli 1. Biopsje pobierano z obwodu zmiany, z miejsc, w których makroskopowo stwierdzano największe zmiany. Badania wykonano w Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowej Akademii Medycznej w Warszawie; Kierownik: dr hab. n. med. Wojciech Kozłowski.

OMÓWIENIE

Idealną formą terapii w rozsianych nowotworach skóry jest takie postępowanie, które w połączeniu z wysoką efektywnością jest łatwe do przeprowadzenia, nieinwazyjne, bez efektów ubocznych i nie pozostawiające blizn. Metoda fotodynamiczna wydaje się być obiecującą, lecz jeszcze ciągle eksperymentalną próbą leczenia



Rys. 1. Schemat biosyntezy hemu

Tabela 1. Wstępne wyniki terapii fotodynamicznej z miejscowym użyciem ALA

Inicjały	Wiek	Rozpoznanie hist.-pat.	Wielkość guza	Czas naświetlania	Wynik po 3 miesiącach
K.A.	82	Basalioma multicentricum	T2	15'	Basalioma multicentricum
K.T.	69	Basalioma multicentricum	T1	20'	Basalioma multicentricum
S.A.	67	Basalioma multicentricum	T2	15'	Basalioma multicentricum
K.J.	63	Basalioma multicentricum	T2	15'	Basalioma multicentricum
N.M.	75	Basalioma multicentricum, partim adenoides	T1	10'	Basalioma multicentricum, partim adenoides
F.M.	60	Basalioma multicentricum	T1	12'	Basalioma multicentricum
W.R.	70	Basalioma solidum	T2	20'	Basalioma solidum
K.A.	53	Basalioma solidum	T1	15'	Basalioma solidum
S.W.	82	Basalioma multicentricum	T2	20'	Foci granulationis et cicatrisionis cutis
R.T.	65	Basalioma multicentricum	T1	15'	Foci granulationis chronicae nonspecificae
D.J.	62	Basalioma solidum	T1	20'	Basalioma solidum
P.A.	68	Basalioma multicentricum	T1	20'	Basalioma multicentricum
B.Z.	66	Basalioma multicentricum	T1	10'	Basalioma multicentricum

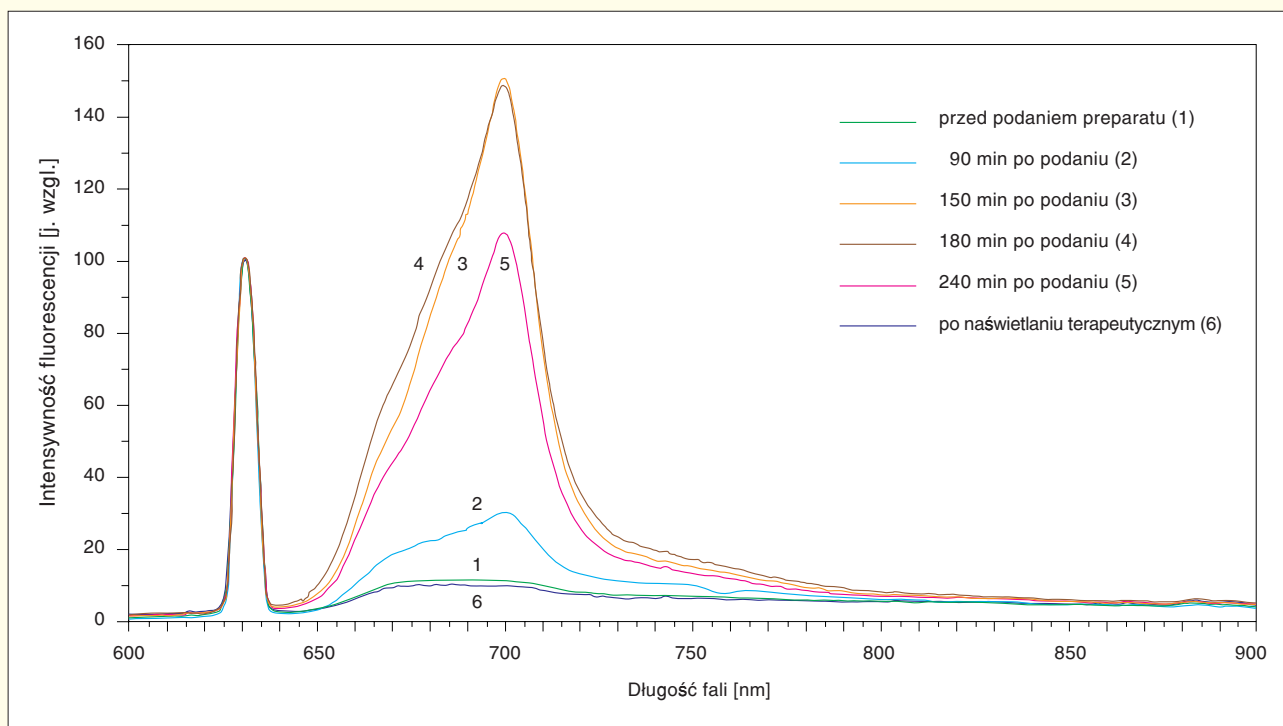
powierzchniowych guzów nowotworowych skóry.

Przedmiotem dyskusji jest rodzaj stosowanego źródła światła do terapii fotodynamicznej. W większości badań nad ALA-PDT używane jest światło laserowe o długości 630 nm [13]. Zastosowany przez nas oświetlacz halogenowy charakteryzował się niespójną wiązką światła o długości 605–645 nm. Przewagą tego typu oświetla-

cza nad laserem jest możliwość napromieniowywania większej powierzchni, co może być istotne przy zmianach rozleglejszych. Światło laserowe o określonej długości 630 nm posiada maksymalną zdolność penetracji tkankowej ok. 10 mm [14]. Natomiast szerszy zakres fal oświetlaczy nie-laserowych pozwala na uczynienie innych produktów aktywnych fotodynamicznie, jak np. fotoporfiryny „A” i „B”,

spełniających dodatkową rolę terapeutyczną [15]. Ponadto obserwuje się zmniejszenie doznań bólowych podczas naświetlania [16].

Skuteczność ALA-PDT wydaje się zależeć również od kilku innych czynników. Jest ona większa w zmianach powierzchniowych i o mniejszym stopniu pigmentacji [3, 17, 18] i zależy od typu histologicznego guza [19].



Rys. 2. Intensywność fluorescencji po miejscowym podaniu kwasu 5-aminolewulinowego

Rozbieżności wyników podawanych przez różnych autorów, mogą być rezultatem różnic zastosowanej metodyki badań (podawanie ALA z następowym naświetlaniem co drugi dzień [17], raz w tygodniu [3], czy też powtarzanie cyklu po 3 tygodniach od pierwszej ekspozycji [19]). W naszych badaniach zastosowano ALA-PDT jednokrotnie, a po weryfikacji histopatologicznej, wszystkim chorym ze zmianami resztkowymi zaproponowaliśmy powtórny terapię.

Według doniesień literaturowych czas aplikacji ALA pod opatrunkiem okluzyjnym jest bardzo zróżnicowany i wynosi od 1 do 8 godzin [3, 5, 17–20]. Przyjęty przez nas okres 3 godzin wyznaczony został na podstawie określenia maksymalnej widzialnej fluorescencji mierzonej w jednostce czasu dla tego typu zmian skórnych (Rys. 2.).

WNIOSKI

Krótkotrwały okres obserwacji oraz mała liczba przypadków nie pozwalają na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Wydaje się jednak, że miejscowe zastosowanie ALA w metodzie fotodynamicznej jest przydatne do określania granic nowotworu skóry oraz, że lepsze wyniki uzyskuje się w terapii zmian leżących powierzchniowo.

PIŚMIENNICTWO

1. Auber H., Banger G.: *Untersuchungen über die Rolle der Porphyrine bei geschwulstkranken Menschen und Tieren*. Z. Krebsforsch 1942; 53: 65.
2. Malik Z., Lugaci H.: *Destruction of erythroleukemic cells by photoactivation of endogenous porphyrins*. Br. J. Cancer 1987; 56: 589–595.
3. Kennedy J. C.: *Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience*. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 1990; 6: 143–148.
4. Bech O., Peng Q., Berg K. i wsp.: *Photosensitization of tumour cells in vitro and in vivo using endogenous porphyrins induced with exogenous 5-aminolevulinic acid*. w: Spinelli P., Dal Fante M., Marchesini R. (red.): *Photodynamic Therapy and Biomedical Lasers*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V.; 1992, s. 521–525.
5. Bedwell J., MacRobert A. J., Phillips D. i wsp.: *Fluorescence distribution and photodynamic effect of ALA – induced PP in the DMH rat colonic tumour model*. Br. J. Cancer 1992; 65: 818–824.
6. Malik Z., Agam G., Djaldetti M.: *Effect of hemin and protoporphyrin IX on the protein – synthesizing activity of human granulocytes, lymphocytes and platelets*. Acta Haematol. 1979; 61: 138–143.
7. Peng Q., Moan J., Warloe T. i wsp.: *Distribution and photosensitizing efficiency of porphyrins induced by application of exogenous 5-aminolevulinic acid in mice bearing mammary carcinoma*. Int. J. Cancer 1992; 52: 433–443.
8. Dailey H. A., Smith A.: *Differential interaction of porphyrins used in photoradiation therapy with ferrochelatase*. Biochem. J. 1984; 223: 441–445.
9. Riesenber R., Fuchs C., Kriegmair M.: *Photodynamic effects of 5-aminolevulinic acid – induced porphyrin on human bladder carcinoma cells in vitro*. Eur. J. Cancer 1996; 32: 328–334.
10. Schoenfeld N., Epstein O., Lahav M. i wsp.: *The heme biosynthetic pathway in lymphocytes of patients with malignant lymphoproliferative disorders*. Cancer Lett. 1988; 43: 43–48.
11. Kondo M., Hirota N., Takaoka T. i wsp.: *Heme-biosynthetic enzyme activities and porphyrin accumulation in normal liver and hepatoma cell line of rats*. Cell. Biol. Toxicol. 1993; 9: 95–105.
12. Leibovici L., Schoenfeld N., Yehoshua H. A. i wsp.: *Activity of porphobilinogen deaminase in peripheral blood mononuclear cells of patients with metastatic cancer*. Cancer 1988; 62: 2297–2300.
13. Roberts J. H., Cairnduff F.: *Photodynamic therapy of primary cancer: a review*. Br. J. Plast. Surg. 1995; 46: 160–370.
14. Dougherty T. J.: *Photodynamic therapy: new approaches*. Semin. Surg. Oncol. 1989; 5: 6–16.
15. Charlesworth P., Truscott T. G.: *The use of 5-aminolevulinic acid (ALA) in photodynamic therapy (PDT)*. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 1993; 18: 99–100.
16. Stender I. M., Bech-Thomsen N., Poulsen T. i wsp.: *Photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid delays UV photocarcinogenesis in hairless mice*. Photochem. Photobiol. 1997; 66 (4): 493–496.
17. Calzavara-Pinton P. G.: *Repetitive photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid as an appropriate approach to the routine treatment of superficial non-melanoma skin tumours*. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 1995; 29 (1): 53–57.
18. Wolf P., Rieger E., Kerl H.: *Topical photodynamic therapy with endogenous porphyrins after application of 5-aminolevulinic acid: an alternative treatment modality for solar keratoses, superficial squamous cell carcinomas, and basal cell carcinomas*. J. Am. Acad. Dermatol. 1993; 28: 17.
19. Charlesworth P., Truscott T. G.: *The use of 5-aminolevulinic acid (ALA) in photodynamic therapy (PDT)*. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 1993; 18: 99–100.
20. Svanberg K., Andersson T., Killander D. i wsp.: *Photodynamic therapy of non-melanoma malignant tumours of the skin using topical 5-aminolevulinic acid sensitization and laser irradiation*. Br. J. Dermatol. 1994; 130 (6): 743–751.
21. Hua Z., Gibson S. L., Foster T. M. i wsp.: *Effectiveness of 5-aminolevulinic acid – induced protoporphyrin as a photosensitizer for photodynamic therapy in vivo*. Cancer Res. 1995; 55 (8): 1723–1731.

ADRES DO KORESPONDENCJI

lek. med. **Mirosław Steć**
ul. Bora-Komorowskiego 54/18
03-982 Warszawa