

## Skuteczność terapii fotodynamicznej w przypadkach zmian w obrębie sromu

Effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of vulvar lesions

Эффективность фотодинамической терапии в случаях изменений вульвы

Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej II Wydziału Lekarskiego WUM.

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Jerzy Stelmachów

Correspondence to: Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej II Wydziału Lekarskiego WUM, Wojewódzki Szpital Bródnowski, ul. Kondratowicza 8, 03-242 Warszawa, e-mail: agaem855@interia.pl

Source of financing: Department own sources

### Streszczenie

Istotą terapii fotodynamicznej (*photodynamic therapy*, PDT) jest wzajemne oddziaływanie światła i wzbudzonych przez nie związków chemicznych. W celu uzyskania fluorescencji do tkanki należy doprowadzić energię w postaci światła o długości fali odpowiadającej pasmu pochłaniania fotosensybilizatora. Fotouczulaczem stosowanym w diagnostyce i leczeniu chorób sromu jest kwas 5-aminolewulinowy (ALA) – prekursor w syntezie protoporfiryny IX. **Cel pracy:** Ocena skuteczności terapii fotodynamicznej (PDT) w leczeniu dolegliwości towarzyszących nienowotworowym chorobom sromu, w zależności od stosowanego stężenia fotosensybilizatora (3% lub 15%); porównano efektywność terapii i długość okresu remisji. **Materiał i metody:** Do PDT zakwalifikowano 89 pacjentek skarżących się na silne dolegliwości sromu, które opisywały jako ból, klucie, pieczenie i świąd. Bezpośrednio na zmiany chorobowe podawano miejscowo kwas aminolewulinowy w dwóch stężeniach. W podgrupie A zastosowano 15% maść ALA o podłożu euceryny. W podgrupie B aplikowano 3% żel ALA z dodatkiem 2% DMSO. Stosowano światło czerwone o długości fali  $630 \pm 20$  nm, którego źródło stanowiła lampa ksenonowa. **Wyniki:** Średni okres wolny od nawrotu dolegliwości w grupie pacjentek, u których zastosowano 15% stężenie ALA, wyniósł 11,3 miesiąca, w grupie, w której użyto 3% ALA z dodatkiem 2% DMSO, remisja trwała 10,6 miesiąca w trakcie 12-miesięcznej obserwacji. **Wnioski:** Stwierdzono, że skuteczność metody fotodynamicznej z zastosowaniem miejscowym 3% ALA/2% DMSO oraz metody z użyciem 15% ALA są porównywalne w rozpoznawaniu zmian na sromie, jak również leczeniu dolegliwości towarzyszących chorobom nienowotworowym sromu. Stosowanie mniejszego stężenia kwasu aminolewulinowego nie wpływa w istotny sposób na skrócenie okresu remisji.

**Słowa kluczowe:** choroby sromu, terapia fotodynamiczna, PDT, kwas aminolewulinowy, ALA

### Summary

The essence of photodynamic therapy (PDT) is mutual interaction of light and chemical compounds excited by it. In order to obtain desired fluorescence, energy must be administered to tissues in the form of light, whose wavelength is concordant with light absorption spectrum of photosensitizer used. In the diagnosis and treatment of vulvar lesions, the photosensitizer of choice is 5-aminolevulinic acid (ALA), a precursor substance in the synthesis of protoporphyrin IX. **Aim of paper:** Assessment of effectiveness of PDT in the treatment of ailments associated with non-neoplastic vulvar diseases, depending on concentration of photosensitizer used (3% or 15%), comparison of therapeutic effectiveness and duration of remission. **Material and methods:** PDT was used in 89 patients complaining of severe ailments in the vulvar area, described by them as sensations of pain, stabbing, burning or itching. ALA in two concentrations was applied directly to the lesions. Patients in subgroup A received 15% ALA ointment on eucerin basis. Patients in subgroup B received 3% ALA gel with 2% DMSO. Red light generated by a xenon lamp ( $630 \pm 20$  nm wavelength) was used for irradiation of lesions. **Results:** Follow-up time was 12 months. Mean recurrence-free survival in the subgroup A and B was 11.3 months and 10.6 months, respectively. **Conclusions:** PDT using topical 3% ALA + 2% DMSO is as effective as 15% ALA in the detection of vulvar lesions and in the relief of ailments associated with non-neoplastic vulvar diseases. Use of less concentrated ALA preparation did not result in any significant reduction of remission time.

**Key words:** vulvar diseases, photodynamic therapy, PDT, aminolevulinic acid, ALA

## Содержание

Основой фотодинамической терапии является взаимное влияние света и возбужденных им химических связей. С целью получения флюоресценции в ткань необходимо направить энергию в виде света о длине волны соответствующей полосе поглощения фотосенсибилизатора. Фотосенсибилизатором применяемым в диагностике и лечении болезней вульвы является 5-аминолевулиновая кислота (АЛА). **Цель работы:** Исследовано эффективность фотодинамической терапии в лечении недомаганий сопутствующих неонкологическим болезням вульвы в зависимости от концентрации фотосенсибилизатора в сравнении с эффективностью лечения и временем ремиссии при местном применении 15% и 3% аминолевулиновой кислоты. **Материал и методика:** Исследованию зачислено группу пациенток, которые жаловались на острую боль, печение, зуд и покольвания в области вульвы. В оценке всех исследованных эти недомагания были несомненно насильственными и обременительными. У всех пациенток они причиняли бессонницу. Непосредственно на болезнетворные места применяли аминолевулиновую кислоту в двух концентрациях. В группе А применили 15% мазь АЛА на базе эуцерина. В группе Б применяли 3% гель АЛА с добавкой 2% ДМСО. Использовано красный свет о длине волны  $630\pm 20$  нм, источником которого явилась ксенонная лампа. **Результаты:** Усредненное время свободное от рецидива недомаганий в группе А составило 11,3 месяца, зато в группе Б 10,6 месяца в течении 12 месяцев исследований. В итоге мы пришли к выводам, что фотодинамический метод с местным применением 3% АЛА/2% ДМСО сравнимо эффективен с применением 15% АЛА в распознавании изменений вульвы, а также лечении недомаганий сопровождаемых неонкологическим болезням вульвы. Применение менее концентрированной аминолевулиновой кислоты существенно не влияет на сокращение периода ремиссии.

**Ключевые слова:** болезни вульвы, фотодинамическая терапия, ПДТ, аминолевулиновой кислот, АЛА

## WSTĘP

Podstawą terapii fotodynamicznej (*photodynamic therapy*, PDT) są reakcje fotocytotoksyczne, powstające podczas oddziaływania światła na komórki, w których zgromadzony został fotouczulacz. Efekt cytotoksyczny i cytoletalny tej terapii jest związany z wytwarzaniem przez wzbudzony fotouczulacz rodników tlenowych (tlen singletowy, anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik wodorotlenowy), które uszkadzają ważne dla życia makromolekuły w komórce, takie jak: białka strukturalne, enzymy, DNA i fosfolipidy<sup>(1-4)</sup>.

Subletalne genetyczne uszkodzenia dają sygnał komórce, aby „zginęła” w procesie apoptozy, zaś ostre uszkodzenie organeli subkomórkowych prowadzi do natychmiastowej śmierci komórki w mechanizmie nekrozy. W PDT to apoptoza jest korzystniejsza i odgrywa istotną rolę w niszczeniu komórek nowotworowych. W terapii fotodynamicznej przyjmuje się istnienie trzech wzajemnie na siebie wpływających, występujących równocześnie mechanizmów: komórkowego (mechanizm pierwotny), naczyniowego (mechanizm wtórny) i immunologicznego<sup>(5-8)</sup>. Stopień udziału każdego z nich w całościowo analizowanym procesie terapii fotodynamicznej zależy od rodzaju stosowanego środka fotoaktywnego i parametrów leczenia.

Od kilku lat coraz większe znaczenie przypisywane jest wpływom terapii fotodynamicznej na układ immunologiczny, a zwłaszcza na uwalnianie cytokin, co niewątpliwie potęguje opisywane powyżej mechanizmy. Procesy immunologiczno-zapalne są opóźnioną w czasie odpowiedzi polegającą na wzroście aktywności makrofagów, neutrofilów oraz immunokompetentnych limfocytów, co skutkuje zwiększonym wydzielaniem interleukin oraz czynnika martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ )<sup>(6,9)</sup>. Główną rolę w fotodynamicznej diagnostyce i terapii odgrywają fotsensybilizatory – barwniki, które łatwo ulegają aktywacji pod wpływem światła o odpowiedniej długości fali.

## INTRODUCTION

The basis of photodynamic therapy (PDT) are cytotoxic reactions resulting from the influence of light on cells which have accumulated molecules of a photosensitizer. Cytotoxic and cytolethal effect of PDT is associated with formation of free radicals by excited photosensitizer (singlet oxygen, superoxide radical anion, hydroxide radical), which damage macromolecules which are vital for normal cell function, e.g. structural molecules, enzymes, DNA, phospholipids, etc.<sup>(1-4)</sup> Sublethal genetic damage is interpreted by the cell as a signal to “die” in the process of apoptosis, while acute destruction of subcellular organelles results in an instantaneous cell death as a result of necrosis. In the setting of PDT, apoptosis is considered more favorable and plays an important role in the destruction of malignant cells. It is assumed that PDT sets in motion three basic, mutually interacting and synchronous mechanisms: cell-mediated (primary), vascular (secondary) and immune-mediated<sup>(5-8)</sup>. The share of each of them in the ultimate cumulative effect of PDT depends on type of photoactive substance used and treatment parameters implemented.

Recently, an increasing role is assigned to the influence of PDT on immune system, particularly on production and secretion of cytokines, which certainly further enhances the above mentioned mechanisms. Immune-mediated inflammatory processes are a delayed response, consisting in increased activity of macrophages, neutrophils and immunologically competent lymphocytes, resulting in increased secretion of interleukins and tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ )<sup>(6-9)</sup>.

The main role in photodynamic diagnosis and therapy is played by photosensitizers – dyes which are easily activated by light of appropriate wavelength. The best studied group thereof are derivatives of the red blood dye – heme, i.e. porphyrinic dyes<sup>(10)</sup>.

Najlepiej zbadaną grupą są pochodne czerwonego barwnika krwi (hemu), czyli barwniki porfirytowe<sup>(10)</sup>. Najczęściej w ginekologii są stosowane: eter dihematoporfiryny i kwas 5-aminolewulinowy.

Kwas aminolewulinowy (ALA) jest naturalnym prekursorem endogennego fotosensybilizatora – protoporfiryny IX (PpIX). W komórkach zmienionych chorobowo, czyli o zwiększonym tempie metabolizmu, PpIX kumuluje się szybciej niż w tkankach zdrowych, jest to związane ze zmniejszoną produkcją ferrochelatazy, która decyduje o wbudowaniu jonu żelaza do pierścienia porfirytowego<sup>(1,2,11)</sup>.

Terapia fotodynamiczna nadal jest niedoceniana w ginekologii, mimo iż stanowi cenną alternatywę dla innych metod leczenia, zwłaszcza chorób sromu. W wielu przypadkach okazuje się postępowaniem skutecznie eliminującym towarzyszące tym schorzeniom uporczywe dolegliwości, co poprawia jakość życia pacjentek.

### CEL PRACY

Badano skuteczność terapii fotodynamicznej PDT w leczeniu dolegliwości towarzyszących nienowotworowym chorobom sromu, w zależności od stężenia fotosensybilizatora, porównując efektywność leczenia i długość okresu remisji przy podawaniu miejscowym 15% i 3% stężenia kwasu aminolewulinowego.

### MATERIAŁ I METODY

Terapii fotodynamicznej poddano 89 pacjentek w wieku 32-79 lat, które skarżyły się na silne dolegliwości bólowe i świąd sromu; chore leczono bez powodzenia farmakologicznie lub operacyjnie przez wiele lat. U wszystkich kobiet zakwalifikowanych do PDT wykluczono przyczynę infekcyjną zgłaszanych dolegliwości (nie stwierdzono patologicznej flory bakteryjnej i grzybiczej w pierwotnym wymazie z przedstonka pochwy lub w kontrolnym po leczeniu zgodnym z antybiogramem). Terapia fotodynamiczna była poprzedzona wulwoskopią, diagnostyką fotodynamiczną (PDD) oraz badaniem histologicznym pobranych wycinków. U wszystkich pacjentek rozpoznano zmiany niezłośliwe sromu.

Grupę badaną podzielono losowo na dwie podgrupy: A i B. Podgrupę A stanowiły 22 pacjentki w wieku 32-78 lat (średnio 58,9 roku), u których do PDT zastosowano 15% stężenie kwasu aminolewulinowego w postaci maści o podłożu euceryny, w podgrupie B użyto 3% stężenia ALA zawierającego 2% DMSO u 67 pacjentek w wieku 31-79 lat (średnio 56,1 roku). Podgrupy te były porównywalne pod względem statystycznym dla poziomu ufności 0,95.

Maść aplikowano bezpośrednio na zmiany chorobowe. Po upływie 4-6 godzin naświetlano zmiany. Stosowano światło czerwone (długości fali  $630 \pm 20$  nm), którego źródło stanowiła skonstruowana i wykonana w Instytucie Optoelektroniki Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie lampa ksenonowa o mocy 300 W. Jednorazowo zabieg trwał 10 min, był powtarzany co 7 dni przez 10 tygodni.

In gynecological practice, most often used are: dihematoporphyrin ether and 5-aminolevulinic acid.

Aminolevulinic acid (ALA) is a natural precursor of endogenous photosensitizer – protoporphyrin IX (PpIX). In diseased cells, i.e. those showing an increased metabolic rate, PpIX accumulates more readily than in healthy tissues, due to a reduced production of the enzyme ferrochelatase, which controls building of iron ions to porphyrinic ring<sup>(1,2,11)</sup>.

PDT is still largely underestimated in gynecology, being in fact a valuable alternative for other therapeutic modalities, particularly in the area of vulvar diseases. In many cases it proves effective in relieving persistent ailments associated with these conditions, thus greatly improving the patients' quality of life.

### AIM OF PAPER

The purpose of the study was to assess the effectiveness of PDT in the treatment of ailments associated with non-neoplastic vulvar diseases, depending on concentration of photosensitizer, by comparing therapeutic effect obtained and duration of remission after topical application of 15% and 3% ALA preparations.

### MATERIAL AND METHODS

PDT was implemented in 89 patients aged 32-79, complaining of severe pain and itching of the vulva. These patients have been treated pharmacologically for many years or even surgically without effect. In all patients qualified for PDT, infectious causes of ailments were excluded (no pathological bacteria or fungi were detected in baseline smear from vaginal vestibule or in control smear after sensitivity-guided antibiotic therapy). PDT was preceded by vulvoscopy, photodynamic diagnosis (PDD) and histological study of specimens collected. In all cases, benign vulvar lesions were diagnosed.

Study population was randomized into two groups: A and B. Group A was composed of 22 patients aged 32-78 (mean age 58.9 years), where PDT was performed using 15% ALA in the form of eucerin-based ointment. Group B was composed of 67 patients aged 31-79 (mean age 56.1 years), where 3% ALA + 2% DMSO was used. Both groups were statistically comparable within the 95% confidence interval.

Ointment was applied topically, directly on pathologic lesions. After 4-6 hours the lesions were irradiated using red light (wavelength  $630 \pm 20$  nm), generated by a 300-watt xenon lamp designed and built at the Institute of Optoelectronics of Military University of Technology in Warsaw. Single session lasted for 10 minutes and that was repeated QW (once-a-week) for 10 weeks.

Follow-up visits took place 1, 3, 6 and 12 months after treatment. If ailments persisted, treatment protocol was repeated after at least 12 weeks of observation. At follow-up visits the patients reported change in severity of ailments (if any) and formal vulvoscopy was performed.

Patients presenting an improvement at vulvoscopic examination were referred to histological study of specimens collected

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Tabela 1. Skala numeryczna stopnia natężenia bólu  
 Table 1. Numerical scale of severity of pain

Badania kontrolne po leczeniu przeprowadzono po 1, 3, 6 i 12 miesiącach. W przypadku utrzymywania się dolegliwości cykl leczenia powtarzano najwcześniej po 12 tygodniach obserwacji. W trakcie badań kontrolnych monitorowano zmianę stopnia natężenia dolegliwości oraz wykonywano wulwoskopię.

Pacjentki, u których stwierdzono poprawę w badaniu wulwoskopowym, były kwalifikowane do badania histologicznego pobranych wycinków po 12 tygodniach od zakończenia terapii. W przypadku gdy obraz nie wykazywał żadnych różnic, nie wykonywano powtórnej biopsji tkanek sromu.

W celu monitorowania stopnia natężenia bólu przyjęto skalę oceny liczbowej (numeryczną). Pacjentka, określając, jak silny jest ból, wskazywała na odpowiednią cyfrę od 0 do 10 (tabela 1), przy czym 0 odpowiada „nie odczuwam bólu”, a 10 – „najgorszy ból, jaki mogę sobie wyobrazić”.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono, posługując się następującymi technikami:

- test t-Studenta,
- test  $\chi^2$ ;

Za statystycznie istotne przyjęto wyniki dla  $p < 0,05$ .

Zastosowanie metody fotodynamicznej w leczeniu chorób sromu uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (nr KB/57/2006).

12 weeks after termination of therapy. If no change in clinical picture was noticed, no repeat biopsy of vulvar tissues was performed.

Severity of pain was measured using a numerical scale. When defining severity of pain, patients pointed out a digit from 0 to 10 (table 1), whereby 0 means “no pain” and 10 – “the worst pain imaginable”.

Statistical analysis was performed using the following techniques:

- Student’s t-test;
- $\chi^2$  test.

Statistical significance level was set at  $p < 0.05$ .

Implementation of photodynamic technique in the treatment of vulvar diseases was accepted by Bioethical Committee of Warsaw Medical University (KB/57/2006).

## RESULTS

All patients qualified for PDT complained of severe ailments in the vulvar area, which they described as pain, pricking, burning and itching. In their opinion, these sensations were so severe and so burdensome, that they were defined as unbearable. In every case, they resulted in sleep disturbances. All patients underwent topical treatment without success for

Rozpoznanie histologiczne <i>Pathological diagnosis</i>	Liczba pacjentek ogółem <i>Total number of patients</i>	Liczba pacjentek leczonych PDT z zastosowaniem 15% stężenia ALA – podgrupa A <i>Number of patients undergoing PDT with 15% ALA – subgroup A</i>	Liczba pacjentek leczonych PDT z zastosowaniem 3% stężenia ALA/2% DSMO – podgrupa B <i>Number of patients undergoing PDT using 3% ALA/2% DSMO – subgroup B</i>
Liszaj twardzinowy <i>Lichen sclerosus</i>	43	7	36
Rozrost płaskonabłonkowy <i>Planoepithelial hyperplasia</i>	4	2	2
Liszaj twardzinowy z ogniskami rozrostu płaskonabłonkowego <i>Lichen sclerosus with foci of planoepithelial hyperplasia</i>	12	3	9
Śródnabłonkowa neoplazja sromu małego stopnia (VIN I) <i>Mild vulvar intraepithelial neoplasia (VIN I)</i>	3	2	1
Śródnabłonkowa neoplazja sromu średniego stopnia (VIN II) <i>Moderate vulvar intraepithelial neoplasia (VIN II)</i>	1	0	1
Zmiany zanikowe sromu <i>Vulvar atrophy</i>	5	3	2
Przewlekłe zakażenie sromu wirusem opryszczki <i>Chronic infection with genital herpes virus</i>	4	0	4
Wulwodynia <i>Vulvodynia</i>	17	5	12
Razem <i>Total</i>	89	22	67

Tabela 2. Rozpoznania histologiczne biopsji sromu pacjentek zakwalifikowanych do terapii fotodynamicznej  
 Table 2. Pathological diagnoses of vulvar biopsies in patients qualified for photodynamic therapy

Rozpoznanie <i>Diagnosis</i>	Liczba pacjentek z danym rozpoznaniem <i>Total number of patients</i>	Liczba pacjentek, u których zastosowano: <i>Number of patients who completed:</i>	
		1 cykl PDT <i>1 full PDT cycle</i>	2 cykle PDT <i>2 full PDT cycles</i>
Liszaj twardzinowy <i>Lichen sclerosus</i>	7	5	2
Rozrost płaskonabłonkowy <i>Planoepithelial hyperplasia</i>	2	2	0
Liszaj twardzinowy z elementami rozrostu płaskonabłonkowego <i>Lichen sclerosus with foci of planoepithelial hyperplasia</i>	3	2	1
Śródnabłonkowa neoplazja sromu małego stopnia (VIN I) <i>Mild vulvar intraepithelial neoplasia (VIN I)</i>	2	2	0
Zmiany zanikowe sromu <i>Vulvar atrophy</i>	3	3	0
Wulwodynia <i>Vulvodynia</i>	5	5	0
Razem <i>Total</i>	22	19	3

Tabela 3. Przebieg terapii fotodynamicznej z zastosowaniem 15% ALA u pacjentek w podgrupie A

Table 3. Design of photodynamic therapy using 15% ALA in group A

## WYNIKI

Wszystkie pacjentki zakwalifikowane do terapii fotodynamicznej skarżyły się na silne dolegliwości sromu, które opisywały jako ból, klucie, pieczenie i świąd. W ich ocenie były one na tyle nasilone i uciążliwe, że określały je jako nie do zniesienia. W każdym przypadku powodowały zaburzenia snu. Wszystkie kobiety były leczone miejscowo bez powodzenia średnio 6,9 roku (od 2 do 40 lat). U trzech chorych z tego powodu w przeszłości przeprowadzono leczenie operacyjne (*vulvectomy simplex*). U wszystkich nastąpił nawrót choroby i dolegliwości po 2, 3 i 5 latach (średnio 3,3 roku) od operacji.

W tabeli 2 przedstawiono wyniki badań histologicznych biopsji sromu chorych zakwalifikowanych do leczenia metodą fotodynamiczną. Najliczniejszą grupę pacjentek poddanych terapii fotodynamicznej stanowiły kobiety chorujące na liszaja twardzinowego – 43 (48,3%) przypadki oraz wulwodynię – 17 (19,1%) przypadków. Diagnozę wulwodynii oraz przewlekłego zakażenia wirusem opryszczki postawiono na podstawie objawów klinicznych (wykonane badanie histologiczne nie wykazało zmian patologicznych).

Tabela 3 zawiera liczbę cykli PDT, które przeprowadzono u pacjentek w podgrupie A w celu uzyskania zadowalającego ustąpienia dolegliwości. Na jeden cykl leczenia składało się 10 kursów w odstępach 7-dniowych. Do leczenia metodą fotodynamiczną użyto 15% stężenia kwasu aminolewulinowego w postaci maści, której podłoże stanowiła euceryna.

Przed przystąpieniem do terapii chore w podgrupie A oceniły nasilenie dolegliwości średnio na 9,7 wg skali numerycznej stopnia natężenia bólu. Po zakończonym pierwszym cyklu PDT dolegliwości zmniejszyły się średnio do 1,2. W grupie tej stwierdzono 3 nawroty dolegliwości w trakcie 12-miesięcznej obserwacji: 2 przypadki liszaja twardzinowego po 9 i 11 miesiącach, 1 przypadek liszaja twardzinowego z ogniskami rozrostu płaskonabłonkowego po 8 miesiącach. Nawrót wystąpił średnio po 9,3 miesiąca. Na wszystkie badania kontrolne przez

a mean of 6.9 years (range: 2-40 years). In three patients, this has led to surgical treatment in the past (simple vulvectomy). All these patients experienced recurrence of the disease and ailments associated therewith within 2, 3 and 5 years (mean of 3.3 years) after surgery.

Table 2 presents the results of histological examinations of vulvar biopsies in women qualified for PDT. Most patients undergoing PDT were women affected with *lichen sclerosus* (n=43, 48.3%) and vulvodynia (n=17, 19.1%). The diagnosis of vulvodynia and chronic infection with genital herpes virus was made based on clinical symptoms (histological examination of specimens obtained did not reveal any pathologic lesions).

Table 3 presents the number of PDT cycles in group A patients in order to obtain a satisfactory relief of ailments. One treatment cycle encompassed 10 sessions at 7-days' intervals. PDT was performed using a 15% ALA as an eucerin-based ointment. Prior to initiation of PDT, mean severity of ailments in group A was 9.7 in the numeric pain severity scale. Upon completion of the first PDT cycle, mean score at the pain scale was 1.2. In 3 cases symptoms recurred within a 12-months' follow-up: 2 cases of *lichen sclerosus* after 9 and 11 months and 1 case of *lichen sclerosus* with planoepithelial hyperplasia after 8 months. Mean recurrence-free survival time was 9.3 months. In the group A, 13 patients (59%) presented for all prescheduled visits within the 12-months' follow-up period. Mean recurrence-free survival time in group A was 11.3 months.

Table 4 presents the number of PDT cycles completed in group B patients. PDT was performed using a 3% ALA gel combined with 2% DMSO. Prior to initiation of treatment, group B patients assessed severity of their ailments at 9.3 in the numeric pain severity scale. Upon termination of the first PDT cycle, the mean score recorded was 1.7.

In both groups, follow-up visits took place after 1, 3, 6 and 12 months. In the group B, 36 patients (55%) presented for all prescheduled follow-up visits.



12 miesięcy w tej podgrupie zgłosiło się 59% (13) pacjentek. Średni okres wolny od nawrotu dolegliwości wynosił 11,3 miesiąca.

W tabeli 4 przedstawiono liczbę cykli PDT, które przeprowadzono u chorych w podgrupie B. Do leczenia metodą fotodynamiczną użyto 3% stężenia kwasu aminolewulinowego w postaci żelu z dodatkiem 2% DMSO. Przed przystąpieniem do terapii kobiety oceniały nasilenie dolegliwości średnio na 9,3 wg skali numerycznej stopnia natężenia bólu. Po zakończonym pierwszym cyklu PDT oceniały je średnio na 1,7.

Badania kontrolne w obu podgrupach przeprowadzono po 1, 3, 6 i 12 miesiącach. Na wszystkie badania kontrolne w grupie B zgłosiło się 55% (36) pacjentek.

U 8 pacjentek w tej podgrupie stwierdzono nawrót dolegliwości w trakcie obserwacji. Były to 2 przypadki liszaja twardzinowego z elementami rozrostu płaskonabłonkowego, 5 przypadków liszaja twardzinowego i 1 przypadek wulwodynii. Średni okres wolny od nawrotu dolegliwości w grupie B wynosił 10,6 miesiąca. Nawrót dolegliwości wystąpił średnio po 5,9 miesiąca.

Nawrót dolegliwości w podgrupie B, w której do PDT użyto 3% ALA/2% DMSO, następował w krótszym czasie w porównaniu z grupą A, w której stosowano 15% ALA (średnio po 5,9 miesiąca vs 9,3 miesiąca), ale nie była to różnica istotna statystycznie dla badanych grup.

W trakcie badań kontrolnych oceniano stopień natężenia bólu oraz wykonywano badanie wulwoskopowe. U 10 spośród chorych poddanych PDT stwierdzono znaczącą poprawę w ocenie wulwoskopowej. U pacjentek tych zdecydowano o wykonaniu kontrolnego badania histologicznego. U pozostałych badanych obraz wulwoskopowy pozostawał bez zmian.

Badanie histologiczne nie potwierdziło remisji w żadnym z 10 przypadków, mimo takiej sugestii w ocenie klinicznej i wulwoskopowej.

Recurrence of symptoms during follow-up period was noticed in 8 patients in the group B. These were 2 cases of *lichen sclerosus* with elements of planoepithelial hyperplasia, 5 cases of *lichen sclerosus* and 1 case of vulvodinia. Mean recurrence free survival in the group B was 10.6 months. Ailments recurred after a mean of 5.9 months.

Recurrence of ailments in the group B treated with 3% ALA/2% DMSO was used, occurred after a shorter time, i.e. after a mean of 5.9 months vs. 9.3 months in the group A treated with 15% ALA, but the difference was not statistically significant in this population of patients.

At follow-up visits the patients assessed severity of their ailments and underwent vulvoscopic examination. In 10 patients undergoing PDT, a significant improvement at vulvoscopic examination was noticed. In these patients a control histological examination was performed. In the remaining women, vulvoscopic appearance did not change.

Histological study failed to confirm a remission in any of 10 cases examined, in spite of suggestion to this effect based on clinical and vulvoscopic findings.

## DISCUSSION

PDT is being implemented increasingly often in the treatment of non-neoplastic vulvar conditions. The main advantage of this therapeutic modality is elimination of persistent pain, and thus a significant improvement of the patients' quality of life.

In this paper, we tried to assess the effectiveness of PDT in symptomatic treatment of ailments accompanying various vulvar diseases. We have used two different concentrations of ALA applied topically: 15% ointment on eucerin basis and 3% gel combined with 2% DMSO.

Rozpoznanie <i>Diagnosis</i>	Liczba pacjentek z danym rozpoznaniem <i>Total number of patients</i>	Liczba pacjentek, u których zastosowano: <i>Number of patients who completed:</i>	
		1 cykl PDT <i>1 full PDT cycle</i>	2 cykle PDT <i>2 full PDT cycles</i>
Liszaj twardzinowy <i>Lichen sclerosus</i>	36	27	9
Rozrost płaskonabłonkowy <i>Planoepithelial hyperplasia</i>	2	2	0
Liszaj twardzinowy z elementami rozrostu płaskonabłonkowego <i>Lichen sclerosus with foci of planoepithelial hyperplasia</i>	9	7	2
Śródnabłonkowa neoplazja sromu małego stopnia (VIN I) <i>Mild vulvar intraepithelial neoplasia (VIN I)</i>	1	1	0
Śródnabłonkowa neoplazja sromu średniego stopnia (VIN II) <i>Moderate vulvar intraepithelial neoplasia (VIN II)</i>	1	1	0
Zmiany zanikowe sromu <i>Vulvar atrophy</i>	2	2	0
Przewlekłe zakażenie sromu wirusem opryszczki <i>Chronic infection by genital herpes virus</i>	4	3	1
Wulwodynia <i>Vulvodinia</i>	12	10	2
Razem <i>Total</i>	67	53	14

Tabela 4. Przebieg terapii fotodynamicznej z zastosowaniem 3% ALA/2% DMSO u pacjentek w podgrupie B  
Table 4. Design of photodynamic therapy using 3% ALA/2% DMSO in group B

## OMÓWIENIE

Terapię fotodynamiczną coraz częściej stosuje się w procesie leczenia nienowotworowych schorzeń sromu. Główną zaletą tego leczenia jest wyeliminowanie uporczywych dolegliwości bólowych, a tym samym poprawa jakości życia pacjentek.

W pracy podjęto próbę oceny wydolności terapii fotodynamicznej w leczeniu dolegliwości towarzyszących chorobom sromu. Zastosowano dwa różne stężenia kwasu aminolewulinowego podawanego miejscowo: 15% maść na podłożu euceryny oraz 3% żel zawierający dodatkowo 2% DMSO.

Do terapii fotodynamicznej zakwalifikowano pacjentki skarżące się na świąd i/lub „ból” sromu od wielu lat, zdesperowane długim, różnorodnym i nieefektywnym leczeniem. Termin „ból sromu” to w zasadzie określenie różnych wrażeń fizycznych, które można nazwać pieczeniem, bólem, pulsowaniem, kłuciem czy cięciem. Odczucie to nie jest jednoznaczne ze swędzeniem. Dolegliwości są niezwykle frustrujące, zaburzają sen, wpływają negatywnie na jakość życia kobiet. Mogą towarzyszyć różnym chorobom sromu, ale także występują samoistnie jako przewlekły ból lub raczej zespół bólowy sromu określaną nazwą „vulvodynia”<sup>(12-14)</sup>.

Materiał pracy stanowiło 89 pacjentek podzielonych na dwie podgrupy. W podgrupie A zastosowano 15% stężenie ALA, a w podgrupie B – 3% stężenie ALA z dodatkiem 2% DMSO. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w skuteczności PDT w leczeniu dolegliwości towarzyszących chorobom sromu i vulvodynii. We wszystkich przypadkach uzyskano poprawę. Chociaż nawrót dolegliwości u 4 pacjentek leczonych przy użyciu niższego stężenia ALA nastąpił wcześniej (po 5,9 miesiąca w porównaniu z 9,3 miesiąca w grupie B), to nie była to różnica istotna statystycznie dla badanych grup chorych.

Stosowanie mniejszych stężeń fotouczulacza jest możliwe dzięki dodawaniu substancji przyspieszających i zwiększających głębokość wchłaniania substancji fotouczulającej. Należą do nich DMSO i EDTA<sup>(15)</sup>. W niniejszej pracy 3% żel ALA zawierał 2% DMSO.

Wśród działań niepożądanych terapii fotodynamicznej wymieniamy: ból, zaczerwienienie, napięcie, swędzenie ograniczone do leczonego obszaru i narastające w trakcie świecenia. Prawdopodobnie spowodowane są stymulacją nerwową w trakcie terapii i/lub uszkodzeniem tkanek aktywnymi związkami tlenu. Większość pacjentów nie wymaga podawania leków przeciwbólowych ani znieczulających<sup>(16,17)</sup>. Wydaje się, że ból zależy od rodzaju zmiany, jej natury i lokalizacji, ale przede wszystkim od dawki energii świetlnej<sup>(18)</sup>. Sporadycznie opisywane są przypadki nadmiernej pigmentacji czasowej lub przetrwałej, a także bielactwa i zaniku włosów w miejscach naświetlanych zmian<sup>(19)</sup>.

Autorki w trakcie stosowania miejscowego kwasu aminolewulinowego nie zaobserwowały żadnych objawów ubocznych związanych z samym podaniem fotouczulacza. Nie występowały objawy uczuleniowe ani inne mogące świadczyć o toksyczności. Również w trakcie naświetlań u większości chorych nie odnotowano działań niepożądanych. Jedynie u 2 pacjentek wystąpiły przejściowe dolegliwości o typie pieczenia w miejscu

The study included patients complaining of itching and/or pain in the vulvar area since many years, desperate by long, varied and ultimately ineffective treatment. The term “vulvar pain” essentially denoted varied physical sensations, which may be defined as burning, pain, throbbing, pricking or cutting. This is not synonymous with itching. These symptoms are utterly frustrating, they disturb sleep and considerably compromise the patients’ quality of life. They may accompany various vulvar diseases, but also may exist on their own, as chronic pain or pain syndrome of the vulva, denoted by the term “vulvodynia”<sup>(12-14)</sup>. Our study population consisted of 89 women randomized into 2 groups. In the group A, we used 15% ALA and in the group B – 3% ALA with 2% DMSO. No significant differences were noticed in relation to the effectiveness of PDT in relieving ailments associated with vulvar diseases and vulvodynia. A marked improvement has been obtained in all cases. In spite of recurrence of ailments in 4 patients treated using lower concentration of ALA earlier than in those treated with higher concentration of ALA (5.9 vs. 9.3 months), the difference was not statistically significant.

Use of lower concentrations of photosensitizer is possible thanks to addition of substances accelerating and enhancing the depth of absorption of photosensitizing substance itself, such as DMSO and EDTA<sup>(15)</sup>. In our study, 3% ALA gel contained 2% of DMSO.

Adverse effects of PDT include pain, redness, tension and itching limited to the treated area and exacerbating during irradiation. They are probably caused by stimulation of nerve-endings during the treatment or damage of tissues by active oxygen radicals. Most patients do not require any general analgetics or topical anesthetic drugs<sup>(16,17)</sup>. The pain apparently depends on type of lesion treated, its nature and location, but mainly on the dose of light energy delivered<sup>(18)</sup>. There are isolated reports of temporary or permanent hyperpigmentation, vitiligo and alopecia at the place of irradiated lesions<sup>(19)</sup>.

In our material, after topical application of ALA, we did not notice any adverse effects associated with application of the photosensitizer as such. There were no allergic reactions, nor any other symptoms of toxicity. Also, most patients did not present any adverse reaction during irradiation. Only 2 patients reported temporary ailments of the burning type at the location of irradiated lesions – in all cases they were mild and transient in nature, not requiring any treatment. One patient developed local mild redness, which subsided spontaneously after a few hours. Apart of the listed phenomena, no other side effects of PDT were noticed, whereby this therapeutic modality surpasses other therapies of epithelial vulvar diseases.

The effect of PDT in the treatment of *lichen sclerosus*, in the form of complete elimination or significant reduction of persistent itching, has been also reported by other authors<sup>(20,21)</sup>.

In our opinion, photodynamic method appears a viable alternative in the treatment of vulvodynia and ailments associated with various epithelial vulvar diseases. Furthermore, as several authors point out, it may be effective in the management of *lichen sclerosus*<sup>(21)</sup>, *condylomata acuminata* and vulvar intraepithelial neoplasia<sup>(22-24)</sup>.

naświetlanych zmian – miały one charakter łagodny i przemijający, niewymagający leczenia. U jednej chorej zaobserwowano miejscowe lekkie zaczerwienienie, które ustąpiło samoistnie po kilku godzinach. Poza wymienionymi nie stwierdzono żadnych innych ubocznych efektów terapii fotodynamicznej, czym PDT przewyższa inne sposoby leczenia chorób nabłonkowych sromu.

Efekt terapii fotodynamicznej stosowanej w przypadkach LS sromu pod postacią ustąpienia lub znacznego zmniejszenia się uporczywego świądu jest osiągany także przez innych autorów<sup>(20,21)</sup>. W ocenie auterek pracy metoda fotodynamiczna jest cenną alternatywą w leczeniu wulwodynii i dolegliwości towarzyszących różnym chorobom nabłonkowym sromu. Ponadto, jak donoszą inni autorzy, może być skuteczna także w leczeniu liszaja twardzinowego<sup>(21)</sup>, kłykcin kończystych i VIN<sup>(22-24)</sup>.

### WNIOSKI

Terapia fotodynamiczna okazała się metodą skuteczną w leczeniu dolegliwości towarzyszących chorobom nienowotworowym sromu i wulwodynii, powodującą ustąpienie dolegliwości w okresie od 10,6 do 11,3 miesiąca.

Skuteczność metody fotodynamicznej z zastosowaniem miejscowym 3% ALA/2% DMSO jest porównywalna ze skutecznością terapii przy użyciu 15% ALA w leczeniu dolegliwości towarzyszących chorobom nienowotworowym sromu. Stosowanie 3% stężenia kwasu aminolewulinowego nie wpływa w istotny sposób na skrócenie okresu remisji.

W analizowanym materiale nie obserwowano istotnych powikłań związanych z zastosowaną metodą.

### PIŚMIENNICTWO:

#### BIBLIOGRAPHY:

1. Podbielska H., Sieroń A., Stręk W. (red.): Diagnostyka i terapia fotodynamiczna. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2004.
2. Poljački M., Jovanović M., Matović L. i wsp.: Topical photodynamic therapy. Arch. Oncol. 2006; 14: 39-44.
3. Triesscheijn M., Baas P., Schellens J.H.M., Steward F.A.: Photodynamic therapy in oncology. Oncologist 2006; 11: 1034-1044.
4. Wilson B.C., Patterson M.S.: The physics of photodynamic therapy. Phys. Med. Biol. 1986; 31: 327-360.
5. Agarwal M.L., Larkin H.E., Zaidi S.I. i wsp.: Phospholipase activation triggers apoptosis in photosensitized mouse lymphoma cells. Cancer Res. 1993; 53: 5897-5902.
6. Cecic I., Korbek M.: Mediators of peripheral blood neutrophilia induced by photodynamic therapy of solid tumors. Cancer Lett. 2002; 183: 43-51.
7. Fingar V.H.: Vascular effects of photodynamic therapy. J. Clin. Laser Med. Surg. 1996; 14: 323-328.
8. Kim H.R., Luo Y., Li G., Kessel D.: Enhanced apoptotic response to photodynamic therapy after bcl-2 transfection. Cancer Res. 1999; 59: 3429-3432.
9. Korbek M.: Induction of tumor immunity by photodynamic therapy. J. Clin. Laser Med. Surg. 1996; 14: 329-334.
10. Ericson M.B., Grapengiesser S., Gudmundson F. i wsp.: A spectroscopic study of the photobleaching of protoporphyrin IX in solution. Lasers Med. Sci. 2003; 18: 56-62.

### CONCLUSIONS

Photodynamic therapy proved effective in the treatment of ailments associated with non-neoplastic vulvar diseases and vulvodynia, resulting in relief of symptoms for a mean of 10.6 to 11.3 months.

Effectiveness of photodynamic method using local applications of 3% ALA/2% DMSO is similar to that obtained using 15% ALA in this setting. The use of 3% ALA does not result in a significant shortening of remission time.

No clinically significant treatment-related complications have been noticed in our study population.

11. Ochsner M.: Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. J. Photochem. Photobiol. B 1997; 39: 1-18.
12. Goldstein A.T., Marinoff S.C., Haefner H.K.: Vulvodynia: strategies for treatment. Clin. Obstet. Gynecol. 2005; 48: 769-785.
13. Haefner H.K., Collins M.E., Davis G.D. i wsp.: The vulvodynia guideline. J. Low. Genit. Tract Dis. 2005; 9: 40-51.
14. Halperin R., Zehavi S., Vaknin Z. i wsp.: The major histopathologic characteristics in the vulvar vestibulitis syndrome. Gynecol. Obstet. Invest. 2005; 59: 75-79.
15. Orenstein A., Kostenich G., Roitman L. i wsp.: Photodynamic therapy of malignant lesions of the skin mediated by topical application of 5-aminolevulinic acid in combination with DMSO and EDTA. Lasers in the Life Sciences 1996; 7: 1-9.
16. Calzavara-Pinton P.G.: Repetitive photodynamic therapy with topical  $\delta$ -aminolaevulinic acid as an appropriate approach to the routine treatment of superficial non-melanoma skin tumours. J. Photochem. Photobiol. B 1995; 29: 53-57.
17. 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: 17-21.
18. Kurwa H.A., Yong-Gee S.A., Seed P.T. i wsp.: A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. J. Am. Acad. Dermatol. 1999; 41: 414-418.
19. Fink-Puches R., Soyer H.P., Hofer A. i wsp.: Long-term follow-up and histological changes of superficial nonmelanoma skin cancers treated with topical  $\delta$ -aminolevulinic acid photodynamic therapy. Arch. Dermatol. 1998; 134: 821-826.
20. Hillemanns P., Untch M., Pröve F. i wsp.: Photodynamic therapy of vulvar lichen sclerosus with 5-aminolevulinic acid. Obstet. Gynecol. 1999; 93: 71-74.
21. Olejek A., Rembielak-Stawecka B., Kozak-Darmas I.: Diagnostyka i terapia fotodynamiczna w nabłonkowych chorobach sromu. Przegląd Menopauzalny 2005; 9: 20-22.
22. Fehr M.K., Hornung R., Degen A. i wsp.: Photodynamic therapy of vulvar and vaginal condyloma and intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid. Lasers Surg. Med. 2002; 30: 273-279.
23. Fehr M.K., Hornung R., Schwarz V.A. i wsp.: Photodynamic therapy of vulvar intraepithelial neoplasia III using topically applied 5-aminolevulinic acid. Gynecol. Oncol. 2001; 80: 62-66.
24. Hillemanns P., Untch M., Dannecker C. i wsp.: Photodynamic therapy of vulvar intraepithelial neoplasia using 5-aminolevulinic acid. Int. J. Cancer 2000; 85: 649-653.