

Metoda fotodynamiczna w uściśleniu rozpoznań patologii szyjki macicy

Photodynamic method – a way to improve diagnostic precision in cervical lesions

Фотодинамический метод при уточнении распознавания патологии шейки матки

Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Jerzy Stelmachów

Correspondence to: Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Wojewódzki Szpital Bródnowski, ul. Kondratowicza 8, 03-242 Warszawa, e-mail: ola@adelogic.pl

Source of financing: Department own sources

Streszczenie

Rak szyjki macicy jest drugim po raku sutka najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet. Ponieważ nadal rozpoznawany jest w znacznym odsetku przypadków w zbyt zaawansowanych stadiach klinicznych, wczesne wykrycie raka szyjki macicy, a zwłaszcza stanów dysplastycznych, stanowi istotny problem ginekologii onkologicznej. Postępowanie diagnostyczne opiera się na badaniach cytologicznych, kolposkopii, testach wirusologicznych oraz ocenie histologicznej pobranych tkanek. Podstawowe znaczenie ma wynik badania mikroskopowego. Aby rozpoznanie było dokładne i pewne, należy dostarczyć do oceny materiał reprezentatywny. Jest to bardzo istotne w przypadku zmian wczesnych, a zwłaszcza wielogniskowych. Oczekiwania te spełnia metoda fotodynamiczna. Istotą diagnostyki fotodynamicznej (*photodynamic diagnosis*, PDD) jest porównanie fluorescencji tkanki prawidłowej i patologicznej. W metodzie tej wykorzystywane są endogenne fluorochromy (autofluorescencja) lub substancje fotouczulające podane z zewnątrz. Natężenie fluorescencji w tkance nowotworowej jest inne niż w tkance zdrowej. Podanie fotosensybilizatora znacząco wpływa na jakość otrzymanych obrazów, gdyż zwiększa detekcję światła emitowanego przez fotouczulacz zgromadzony w tkance patologicznej. W celu wzbudzenia fluorescencji do tkanki należy doprowadzić energię w postaci światła o długości fali odpowiadającej pasmu pochłaniania fotouczulacza. Metoda fotodynamiczna precyzyjnie lokalizuje zmiany, więc umożliwia dokładniejszą diagnostykę zmian neoplastycznych na szyjce macicy. Pozwala na wybranie odpowiedniego miejsca dla pobrania biopsji. Dostarczając informacji o zasięgu i topografii zmian, umożliwia planowanie leczenia.

Słowa kluczowe: diagnostyka fotodynamiczna, metoda fotodynamiczna, rak szyjki macicy, dysplazja szyjki macicy, kwas aminolewulinowy

Summary

Cervical cancer is, after breast cancer, the second most common malignant tumor in females. As in a significant proportion of cases it is detected only at a late clinical stage, early diagnosis thereof, at best at the stage of dysplastic conditions, is a vital issue in oncologic gynecology. Diagnostic work-up is based on cytological studies, colposcopy, virological tests and histological examination of tissue samples. Results of microscopic studies are crucial in this setting. Precise and reliable diagnosis requires representative tissue samples. This is particularly important in the case of low-grade or multifocal lesions. Such requirements are met by photodynamic method. The essence of photodynamic diagnosis (PDD) is comparison of fluorescence of normal and pathological tissue. This method makes use of endogenous fluorochromes (autofluorescence) or exogenous photosensitizing substances. Intensity of fluorescence in tumor tissue differs from that seen in healthy tissue. Application of a photosensitizer significantly enhances quality of images obtained, as it increases detection of light emitted by photosensitizer accumulated in pathological tissue. In order to excite fluorescence, energy must be applied to the tissue, of wavelength corresponding to wavelength absorbed by the photosensitizer. Photodynamic method precisely localizes pathological tissue, thus enabling a more reliable diagnosis of neoplastic conditions of the cervix. This enables selection of an optimal location for sampling tissue, providing information on extent and topography of lesions, which is crucial for adequate planning of therapy.

Key words: photodynamic diagnosis, photodynamic method, cervical cancer, cervical dysplasia, aminolevulinic acid

Содержание

Рак шейки матки является вторым после рака грудной железы наиболее частым злокачественным новообразованием у женщин. В связи с тем, что в дальнейшем в значительной части случаев распознается уже в слишком ранних клинических стадиях, раннее обнаруживание рака шейки матки, а особенно диспластических состояний, является существенной проблемой в онкологической гинекологии. Диагностическое поведение основывается на цитологических исследованиях, кольпоскопии, вирусологических тестах и гистологической оценке взятых тканей. Основное значение имеют результаты микроскопического исследования. Для того, чтобы распознание было точным и уверенным, необходимо для оценки предоставить представительный материал. Это имеет существенное значение в случае появления ранних изменений, а особенно при нескольких очагах. В этом существенную роль играет фотодинамический метод. Существо фотодинамической диагностики (сокращенное название на английском языке – ПДД) состоит в возможности сравнения флюоресценции нормальной и патологической ткани. В рассматриваемом методе используются эндогенные флюорохромы (автофлюоресценция) или фотосенсибилизирующие вещества, которые подаются извне. Напряжение флюоресценции в ткани с новообразованием отличается от напряжения наблюдаемого в здоровой ткани. Подача фотосенсибилизатора заметно влияет на качество получаемой картины так как увеличивает выявление света выпускаемого фотосенсибилизатором находящимся в патологической ткани. Для возбуждения флюоресценции в ткани необходимо передать энергию в виде света на волне, длина которой соответствует полосе соответствующей фотосенсибилизатору. Фотодинамический метод точно определяет изменения и таким образом создает возможность более точной диагностики неопластических изменений происходящих на шейке матки. Дает также возможность лучшего выбора соответствующего места для биопсии. Предоставляя информацию относительно радиуса и топографии изменений дает возможность лучшего планирования терапии.

Ключевые слова: фотодинамическая диагностика, фотодинамический метод, рак шейки матки, дисплазия шейки матки, кислота аминолевулиновая

Fotodynamiczna metoda rozpoznawania (*photodynamic diagnosis*, PDD) i leczenia (*photodynamic therapy*, PDT) to stosunkowo nowy element w wykrywaniu i zwalczaniu nowotworów. Z racji swoich ogromnych zalet metoda fotodynamiczna znalazła zastosowanie w wielu dyscyplinach klinicznych. Jej historia sięga 1900 roku, kiedy Oskar Raab⁽¹⁾ opublikował swoje badania nad letalnym wpływem akrydyny i jej pochodnych na pantofelki.

Istotą diagnostyki fotodynamicznej jest odbiór (detekcja) światła emitowanego z tkanek przez znajdujące się w nich wzbudzone związki chemiczne. W metodzie tej można wykorzystywać „autofluorescencję”, czyli emisję światła pochodzącego od substancji endogennych⁽²⁾. W procesie karcynogenezy komórka przednowotworowa, a potem nowotworowa, nabywa cech dających jej konkurencyjną przewagę nad komórkami zdrowymi, które umożliwiają jej niekontrolowane namnażanie i inwazję. Metabolizm i struktura takiej komórki są zmienione w stosunku do macierzystej tkanki. Transformacja nowotworowa zmienia także własności optyczne komórki. Zastosowanie silnego monochromatycznego promieniowania ze źródła zewnętrznego może wyzwolić fluorescencję tkanki nowotworowej. Duże stężenie takich chromoforów jak flawiny czy NADH powoduje zwiększenie kontrastu pomiędzy prawidłowymi i potencjalnie złośliwymi komórkami, zmieniając barwę świecenia tych ostatnich. Endogenne fluorochromy określane są nazwą LIF (*laser-induced fluorescence*)⁽³⁾.

Możliwe jest także uzyskanie fluorescencji substancji fotouczulających podanych z zewnątrz, co leży u podstaw diagnostyki fotodynamicznej – PDD^(3,4). W celu wzbudzenia fluorescencji do tkanki należy doprowadzić energię w postaci światła o długości fali odpowiadającej pasmu pochłaniania fotouczulacza.

Photodynamic diagnosis (PDD) and photodynamic therapy (PDT) are relatively novel modalities in the detection and eradication of malignant tumors, implemented in many clinical fields in view of significant advantages they provide. History of photodynamic method dates back to the year 1900, when Oskar Raab⁽¹⁾ published his studies on lethal influence of acridine and its derivatives on *Paramecium caudatum*.

PDD consists in detection of light emitted from tissues by excited chemical compounds present therein. This method may use autofluorescence, i.e. emission of light by endogenous substances⁽²⁾. In the process of carcinogenesis, precancerous and later cancerous cells acquire specific features providing them with competitive advantage over healthy cells, enabling the former uncontrolled proliferation and invasion. Metabolism and structure of such a cell is altered as compared with cells of origin. Malignant transformation results also in altered of optical properties of cells. Application of a strong monochromatic light from an external source may trigger fluorescence of tumor tissue. High content of such chromophores as flavins or NADH, results in enhanced contrast between normal and potentially malignant cells, by altering wavelength of light emitted by the latter. Endogenous fluorochromes are denoted as LIF (*laser-induced fluorescence*)⁽³⁾.

It is also possible to elicit fluorescence of exogenous photosensitizing substances, which is the basis of PDD^(3,4). In order to obtain fluorescence, tissue be exposed to energy in the form of light of a wavelength corresponding to wavelength absorbed by photosensitizer. Light of 400-410 nm wavelength is most often used to this purpose. Tissue penetration of such a light is equal to a few millimeters, which in the case of easily

Najczęściej do tego celu stosuje się światło o długości fali 400-410 nm. Penetracja tkankowa takiego światła wynosi kilka milimetrów, co w przypadku guzów, do których istnieje dobry dostęp powierzchniowy, jest wystarczające^(3,5,6). Podstawą diagnostyki fotodynamicznej jest porównanie fluorescencji charakterystycznej dla prawidłowych, niezmiennych tkanek z fluorescencją tkanek patologicznych. Jest to możliwe dzięki zjawisku nadmiernego gromadzenia się fotouczulacza w tkance patologicznej w stosunku do tkanki prawidłowej. Fotosensybilizator zgromadzony w komórkach patologicznych naświetlony światłem o odpowiedniej długości fali po pochłonięciu kwantu energii przechodzi do wzbudzonego stanu singletowego, który jest stanem wysokoenergetycznym, a więc o krótkim czasie życia, rzędu nanosekund. Jedną z możliwości powrotu do stanu podstawowego jest oddanie energii na drodze fluorescencji, którą można rejestrować w zmienionych tkankach^(3,7,8). W diagnostyce fotodynamicznej patologii szyjki macicy obecnie najczęściej stosuje się kwas 5- δ -aminolewulinowy (ALA). Jest on prekursorem naturalnie występującej w komórkach protoporfiryny IX, będącej właściwą substancją fotouczulającą. Substancja ta jest niezbędna do zachodzącej w mitochondriach i cytoplazmie syntezy hemu. Powstaje on w wyniku 8 kolejnych katalizowanych enzymatycznie reakcji, z których pierwsza polega na przekształceniu glicyny i bursztynilo-koenzymu A w ALA przez syntazę ALA (ALAS), a ostatnia – na wprowadzeniu w środek pierścienia protoporfiryny IX (PpIX) jonu żelaza przez enzym – ferrochelatazę. O szybkości przebiegu reakcji decyduje aktywność zarówno syntetazy ALA, jak i ferrochelatazy^(9,10).

W metodzie fotodynamicznej wykorzystuje się zjawisko wzrostu tempa metabolizmu w komórkach zmienionych nowotworowo, z jednoczesnym spadkiem aktywności ferrochelatazy. Sprzyja to gromadzeniu się w tych tkankach protoporfiryny IX. Do preparatów zawierających ALA stosowanych miejscowo często dodawane są substancje ułatwiające przyleganie i wchłanianie fotosensybilizatora, np. DMSO – dimetylosulfotlenek⁽⁹⁻¹¹⁾.

Mimo prowadzonych działań profilaktycznych i badań przesiewowych rak szyjki jest drugim po raku sutka pod względem częstości występowania nowotworem złośliwym u kobiet. Schemat postępowania diagnostycznego obejmuje: badanie cytologiczne, kolposkopię i biopsję celowaną pod kontrolą kolposkopii. Ten powszechnie przyjęty algorytm został w ostatnim czasie uzupełniony o badanie wirusologiczne infekcji HPV (*human papillomavirus*) – typów wysokoonkogennych HR (*high risk*). Skryning cytologiczny nadal pozostaje podstawowym i niezbędnym elementem profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy. Lata doświadczeń wykazały również niedoskonałości tej metody związane z występowaniem wyników fałszywie pozytywnych, a zwłaszcza fałszywie negatywnych. Szacuje się, iż wyniki fałszywie ujemne dotyczą: 3,3% przypadków raka płaskonabłonkowego, 4,6% zmian HSIL, 8,9% gruczolakoraka i 11,7% gruczolakoraka *in situ*⁽¹²⁾. Kolposkopia jest badaniem uzupełniającym dla cytologii. Pozwala na ocenę architektoniki powierzchni nabłonka oraz podnabłonkowego łożyska naczyniowego. Weryfikuje nieprawidłowe wyniki

accessible tumors is more than enough^(3,5,6). PDD consists in comparison of fluorescence characteristic for normal tissues with fluorescence of pathological tissues. This is possible thanks to enhanced accumulation of photosensitizer in pathological tissues as compared with normal tissues. Photosensitized accumulated in pathological cells, exposed to light of appropriate wavelength, after absorption of a quantum of energy, passes to excited singlet state, which is a high-energy state and thus short-lived, of a few nanoseconds' range. One way of returning to baseline status is to release absorbed energy in the form of fluorescence, which may be seen in pathological tissues^(3,7,8).

Nowadays, in the setting of PDD of cervical cancer, most commonly used is the 5- δ -aminolevulinic acid (ALA), a precursor of naturally occurring protoporphyrin IX, which is the actual photosensitizing agent. This substance is indispensable for heme synthesis taking place in mitochondria and in cytoplasm. This process includes 8 consecutive, enzymatically catalyzed reactions, the first thereof consisting in transformation of glycine and succinyl-coenzyme A into ALA in the presence of ALA-synthetase (ALAS), and the last one – in insertion of an iron ion in the middle of protoporphyrin IX (PpIX) ring in the presence of enzyme – ferrochelataze. Speed of reaction depends on the activity of both ALAS and ferrochelataze^(9,10). Photodynamic method makes use of the phenomenon of increased metabolic rate of malignant cells, with concomitant reduced activity of ferrochelataze. This results in accumulation of protoporphyrin IX in these tissues. Topically applied ALA-containing products are often combined with substances enhancing adhesion and absorption of photosensitizer, e.g. dimethyl sulfoxide (DMSO)⁽⁹⁻¹¹⁾.

In spite of preventive actions and screening tests, cervical cancer is the second most frequent (after breast cancer) malignancy in the females. Diagnostic algorithm encompasses: cytological study, colposcopy and targeted colposcopy-guided biopsy. This widely accepted algorithm was recently extended to include virusological tests for human papillomavirus (HPV) infection – particularly with the highly oncogenic, high risk (HR) type. Cytological screening still remains the basic and indispensable component of prevention and early detection of cervical cancer. However, years of accumulating clinical data revealed shortcomings of this method, associated with false-positive, but mainly false-negative results. It is estimated that false-negative results may occur in 3.3% of planoepithelial cancer cases, 4.6% of HSIL lesions, 8.9% of adenocarcinoma cases and 11.7% of adenocarcinoma *in situ*⁽¹²⁾. Colposcopy is considered complementary in relation to cytology. It enables assessment of architecture of epithelial surface and subepithelial vascular bed, as well as verification of abnormal cytological and virusological findings, indicates optimal locations for collection of targeted samples. It was introduced by Hans Hinselmann, as a modality designed to detect early forms of cervical cancer – even before it became clear that cytological smear is useful to diagnose tumor itself⁽¹³⁾. Recently, novel and promising diagnostic modalities were developed, designed to detect persistent HPV HR infection, which do not require two

cytologiczne i wirusologiczne (HPV), wskazuje miejsce dla pobrania biopsji celowanej. Jako metodę służącą do wykrywania wczesnych postaci raka szyjki macicy wprowadził ją Hans Hinselmann – uczynił to, zanim odkryto, że rozsmaz cytologiczny jest przydatny w rozpoznawaniu tego nowotworu⁽¹³⁾. W ostatnich kilku latach nastąpił rozwój nowych, bardzo obiecujących możliwości diagnostycznych rozpoznania przetrwałego zakażenia HPV HR bez konieczności wykonywania dwóch oznaczeń testowych. Obecnie mamy do dyspozycji test pozwalający na oznaczenie w materiale pobranym z szyjki macicy obecności mRNA HPV HR. Technika oparta jest na detekcji transkryptów mRNA genów *E6* i *E7* HPV typów: 16., 18., 31., 33. i 45. Pozytywny wynik testu świadczy o rozpoczęciu procesu karcynogenezy. W przyszłości diagnostyka molekularna HPV będzie prawdopodobnie poprzedzała badanie cytologiczne⁽¹⁴⁾.

Wykrywalność oraz precyzyjna lokalizacja ognisk dysplazji i wczesnych postaci raka szyjki macicy mają kluczowe znaczenie dla wyników leczenia. Należy podkreślić, iż diagnostyka fotodynamiczna nie zastępuje badania kolposkopowego, którego ocena topografii zmian na szyjce jest zasadniczym elementem w algorytmie postępowania diagnostyczno-terapeutycznego czy też ostatecznej weryfikacji histologicznej, która ma znaczenie podstawowe. Stanowi uzupełnienie badań diagnostycznych poprzez określenie dokładnej granicy zmian, zwłaszcza wielogniskowych. Technika fotodynamiczna, z racji szerokiej możliwości zastosowania i nieinwazyjnego charakteru badań, budzi duże nadzieje związane ze wzrostem wykrywalności zwłaszcza wczesnych i niewielkich zmian nowotworowych^(15,16).

W Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego metoda fotodynamiczna jest stosowana w diagnostyce zmian na szyjce macicy jako uzupełnienie cytologii i kolposkopii, przed ostateczną weryfikacją histologiczną. W przypadku chorób szyjki macicy ze względu

test assays. Currently, a test is available enabling detection of mRNA HPV HR in material obtained from uterine cervix. The technique is based on detection of mRNA transcripts of genes *E6*, *E7* of HPV types 16, 18, 31, 33 and 45. Positive result of the test is consistent with initiation of carcinogenesis. In the future, molecular diagnosis of HPV will probably precede cytological studies⁽¹⁴⁾.

Effectiveness of detection and precision of localization of foci of dysplasia and early forms of cervical cancer are the key determinants of treatment outcomes. Noteworthy is that PDD does not replace colposcopic examination, whose ability to evaluate topography of cervical lesions is a crucial component of diagnostic-therapeutic algorithm or final histological verification, which is fundamental in this setting. PDD is an adjunct to other diagnostic modalities by precisely outlining the lesions, particularly multifocal ones. Photodynamic technique, due to wide spectrum of possible applications and non-invasiveness of the procedure, rises high hopes associated with improved detection rate of early and small neoplastic foci^(15,16).

At the Chair and Department of Obstetrics, Gynecology and Oncologic Gynecology of the 2nd Medical Faculty of Warsaw Medical University, the photodynamic method is used in the diagnosis of cervical lesions as an adjunct to cytology and colposcopy, prior to final histological verification. In cervical diseases, due to easy accessibility of organ in question, photosensitizer is applied topically. ALA is applied as a 15% ointment on an eucerin base or as a 3% or 5% gel with 2% DMSO. All galenic preparations are prepared at the Lab of Biochemistry and Spectroscopy of Optoelectronics Institute of Military University of Technology in Warsaw by the team headed by professor Alfreda Graczyk.

Photosensitizer is applied onto the cervix 120-180 minutes prior to the examination. Fluorescence is elicited by administering energy to the tissue in the form of light of 405 nm wavelength,



Rys. 1. PDD. CIN II
Fig. 1. PDD. CIN II



Rys. 2. PDD. CIN I
Fig. 2. PDD. CIN I

Rozpoznanie histologiczne <i>Histological diagnosis</i>	Liczba pacjentek <i>Number of patients</i>	Diagnostyka fotodynamiczna (PDD) <i>Photodynamic diagnosis (PDD)</i>	
		Brak fluorescencji <i>Fluorescence absent</i>	Obecna fluorescencja <i>Fluorescence present</i>
<i>Cervicitis</i> Cervicitis	105	95	10
CIN I	27	5	22
CIN II	22	3	19
CIN III	45	0	45
<i>Ca invasivum colli uteri</i> <i>Ca invasivum colli uteri</i>	44	0	44

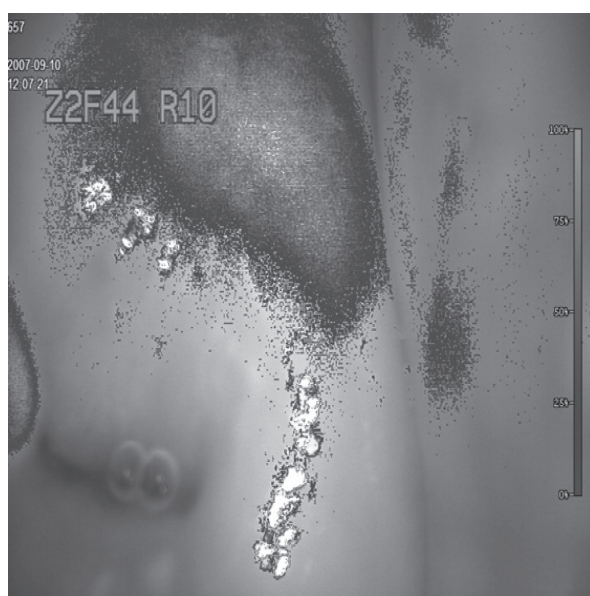
Tabela 1. Porównanie wyników badań fotodynamicznych i histologicznych u pacjentek ze zmianami w obrębie szyjki macicy
Table 1. Comparison of outcomes of photodynamic studies and histological findings in patients with cervical lesions

na łatwą dostępność narządową fotosensybilizator stosowany jest miejscowo. Kwas 5-aminolewulinowy podaje się w postaci 15% maści na podłożu euceryny lub 3% i 5% żelu z dodatkiem 2% dimetylosulfotlenku – DMSO. Wszystkie postaci są przygotowywane w Pracowni Biochemii i Spektroskopii Instytutu Optoelektroniki Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie w zespole kierowanym przez prof. Alfredę Graczyk.

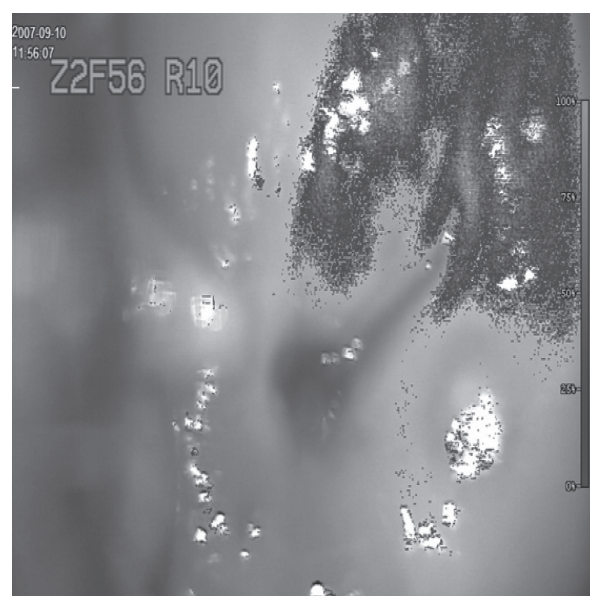
Fotocuczulacz jest nakładany na szyjkę macicy 120 do 180 minut przed wykonywanym badaniem. W celu wzbudzenia fluorescencji doprowadzano do tkanki energię w postaci światła o długości fali ok. 405 nm, którego źródło stanowiły diody superluminescencyjne – SLED w zestawie do obrazowania fluorescencji firmy medi.com s.c. Kamera VC-101 z obiektywem pozwalała na płynną regulację powiększenia od 2 do 60 razy obrazu uzyskanego na monitorze komputera. Za wynik pozytywny uznajemy uzyskanie fluorescencji tkankowej (rys. 1-4). W tabeli 1 przedstawiono wyniki badań PDD oraz badań histologicznych w badanej grupie 243 pacjentek. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż metoda fotodynamiczna w rozpoznawaniu zmian dysplastycznych i raka szyjki macicy

generated by superluminescent diodes (SLED) supplied with the kit for fluorescence imaging (by medi.com s.c.). The VC-101 camera is equipped with an objective enabling smooth regulation of magnification of image presented on a computer monitor (from two-fold to sixty-fold). Finding is considered positive if tissue fluorescence is detected (figs. 1-4).

Table 1 presents the results of PDD studies and histological findings in a population of 243 patients. Based on the results obtained we may state that in detecting dysplastic lesions and cervical cancer, sensitivity and specificity of photodynamic method are 94% and 90%, respectively, while positive and negative predictive values are 93% and 92%, respectively. Noteworthy is the fact that precision of photodynamic method increases proportionally to clinical stage of the lesion. In cases of CIN III and invasive cancer, its effectiveness is estimated at 100%. Similar results were also obtained by Hillemanns et al.⁽¹⁷⁾ and Loning et al.⁽¹⁸⁾ Other authors' studies also confirm our results, attesting to great diagnostic potential of photodynamic method in detecting early forms of stages of cancer and dysplastic states in the uterine cervix^(19,20).



Rys. 3. PDD. CIN III
Fig. 3. PDD. CIN III



Rys. 4. PDD. Ca invasivum
Fig. 4. PDD. Ca invasivum

cechuje się: czułością – 94%, swoistością – 90%, dodatnią wartością predykcyjną – 93% oraz ujemną wartością predykcyjną – 92%. Największe znaczenie ma fakt, że metoda fotodynamiczna jest tym precyzyjniejsza, im większe jest zaawansowanie zmian. W rozpoznawaniu CIN III i raka inwazyjnego osiąga 100% skuteczność.

Podobne wyniki do naszych uzyskali Hillemanns i wsp.⁽¹⁷⁾ oraz Loning i wsp.⁽¹⁸⁾ Badania innych autorów potwierdzają nasze wnioski świadczące o dużej użyteczności diagnostycznej metody fotodynamicznej w wykrywaniu wczesnych postaci raka i stanów dysplastycznych w obrębie szyjki macicy^(19,20).

W badaniach naukowych nad diagnostyką fotodynamiczną dąży się do opracowania jak najmniejszych, a zarazem skutecznych stężeń fotosensybilizatorów. Stosowanie mniejszych stężeń jest możliwe także dzięki dodawaniu substancji przyspieszających i zwiększających głębokość wchłaniania substancji fotoczułującej (np. DMSO). Pahernik i wsp.⁽²¹⁾ stosowali 3% roztwór ALA podawany miejscowo na szyjkę macicy, a Andrejovic-Blant i wsp.⁽²²⁾ – 0,5% stężenie kwasu aminolewulinowego. W naszych badaniach nie obserwowaliśmy żadnych działań niepożądanych związanych z podaniem fotoczułacza czy następowym naświetlaniem. Fotodynamiczna metoda rozpoznawania – PDD stanowi stosunkowo nowy element w wykrywaniu i zwalczaniu nowotworów szyjki macicy. Patologiczna fluorescencja nie wystarcza do rozpoznania nowotworu lub dysplazji, konieczna jest weryfikacja histologiczna materiału pobranego z obszaru wykazującego patologiczną lub wątpliwą fluorescencję. PDD ułatwia następową celowaną biopsję, co zwiększa dokładność rozpoznania przedterapeutycznych^(3,6). PDD dzięki wybiórczej retencji podanego fotoczułacza w tkance neoplastycznej umożliwia zwiększenie czułości wykrywania nawet niewielkich ognisk nowotworowych⁽¹⁵⁾. Jest obiektywnym narzędziem diagnostycznym, obdarzonym wysoką czułością i swoistością w identyfikacji śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy. Wykorzystanie terapii fotodynamicznej umożliwia stosunkowo prostą, precyzyjną lokalizację zmiany; może stanowić podstawę wyboru miejsca biopsji. Poprzez dokładny opis topograficzny zmian wieloogniskowych ułatwia podjęcie decyzji o rodzaju i zakresie leczenia.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Raab O.: Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. *Z. Biol.* 1900; 39: 524-546.
2. Monici M., Pratesi R., Bernabei P.A. i wsp.: Natural fluorescence of white blood cells: spectroscopic and imaging study. *J. Photochem. Photobiol. B* 1995; 30: 29-37.
3. Podbielska H., Sieroń A., Stręk W. (red.): Diagnostyka i terapia fotodynamiczna. Urban & Partner, Wrocław 2004.
4. Calzavara-Pinton P.G.: Repetitive photodynamic therapy with topical δ -aminolevulinic acid as an appropriate approach to the routine treatment of superficial non-melanoma skin tumours. *J. Photochem. Photobiol. B* 1995; 29: 53-57.
5. Ceburkov O., Gollnick H.: Photodynamic therapy in dermatology. *Eur. J. Dermatol.* 2000; 10: 568-575; discussion 576.

Studies on PDD focus on determination of smallest yet effective concentrations of photosensitizers. Use of smaller concentrations thereof is possible with addition of substances accelerating and increasing depth of penetration of photosensitizer, e.g. DMSO. Pahernik et al.⁽²¹⁾ applied topically 3% ALA solution and Andrejovic-Blant et al.⁽²²⁾ – 0.5% ALA. In our studies, we have not noticed any adverse effects associated with application of photosensitizer or subsequent illumination. PDD is a relatively novel modality in the detection and treatment of cervical malignancies. Pathological fluorescence is not enough to diagnose tumor or dysplasia – mandatory is histological verification of samples collected from the area featuring pathological or suspicious fluorescence. PDD facilitates subsequent targeted biopsy, thus enhancing precision of pre-therapeutic diagnosis^(3,6). Selective retention of photosensitizer in tumor tissue increases sensitivity of detection of even small neoplastic foci⁽¹⁵⁾. It is an objective diagnostic tool, characterized by high sensitivity and specificity in the identification of intraepithelial neoplasia and cervical cancer. Use of PDT enables a relatively simple and precise localization of lesions, which may be used for selecting an optimal place for sampling of tissue. Precise topographical description of multifocal lesions greatly facilitates decision-making about type and scope of treatment.

6. Nowakowski Z., Stelmachów J., Śpiewankiewicz B., Gerulewicz G.: Diagnostic value of the PDD method in evaluation of vulvar lesions. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2005; 26: 75-78.
7. Triesscheijn M., Baas P., Schellens J.H.M., Stewart F.A.: Photodynamic therapy in oncology. *Oncologist* 2006; 11: 1034-1044.
8. Wilson B.C., Patterson M.S.: The physics of photodynamic therapy. *Phys. Med. Biol.* 1986; 31: 327-360.
9. Graczyk A.: Biochemiczne i biofizyczne podstawy fotodynamicznej metody wykrywania i leczenia nowotworów. W: Graczyk A. (red.): Fotodynamiczna metoda rozpoznawania i leczenia nowotworów. Dom Wydawniczy Bellona, Warszawa 1999: 21-73.
10. Kennedy J.C., Marcus S.L., Pottier R.H.: Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photosensitization induced by 5-aminolevulinic acid (ALA): mechanisms and clinical results. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 1996; 14: 289-304.
11. Lange N., Jichlinski P., Zellweger M. i wsp.: Photodetection of early human bladder cancer based on the fluorescence of 5-aminolevulinic acid hexylester-induced protoporphyrin IX: a pilot study. *Br. J. Cancer* 1999; 80: 185-193.
12. Renshaw A.A.: Rescreening in cervical cytology for quality control. When bad data is worse than no data or what works, what doesn't, and why. *Clin. Lab. Med.* 2003; 23: 695-708.
13. Hinselmann H.: Einführung in die Kolposkopie [Introduction to the Colposcopy]. Paul Hartung, Hamburg 1933.
14. Molden T., Nygård J.F., Kraus I. i wsp.: Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV-proofer and consensus PCR: a 2-year follow-up of women with ASCUS or LSIL Pap smear. *Int. J. Cancer* 2005; 114: 973-976.
15. Śpiewankiewicz B., Nowakowski Z., Stelmachów J.: Diagnostyka i terapia fotodynamiczna. W: Markowska J. (red.): Ginekologia onkologiczna. Urban & Partner, Wrocław 2006: 317-324.

16. Stelmachów J., Nowakowski Z.: Możliwości i ograniczenia w rozpoznawaniu i leczeniu metodą fotodynamiczną nowotworów złośliwych narządu rodowego. W: Wykłady. XIX Krajowa Szkoła Optoelektroniki „Współczesna optoelektronika w medycynie”. Sopot 2005: 158-161.
 17. Hillemanns P., Botzlar A., Korell M. i wsp.: Pharmacokinetics and tumor selectivity of ALA-induced porphyrins synthesis in patients with cervical intraepithelial neoplasia. First World Congress of Photomedicine in Gynecology. Zurich 1998: 20-21.
 18. Loning M., Huttman G., Droge H. i wsp.: Protoporphyrin IX in cervical dysplasias after topically applied 5-aminolevulinic acid (ALA). First World Congress of Photomedicine in Gynecology. Zurich 1998: 19-20.
 19. Kędzia W., Spaczyński M.: Nowe metody wykrywania śród nabłonkowej neoplazji szyjki macicy. W: Spaczyński M., Kędzia W., Nowak-Markwitz E. (red.): Profilaktyka pierwot-
- na i wtórna raka szyjki macicy, diagnostyka i leczenie. Poznań 2008: 46-52.
 20. Nowakowski Z., Śpiewankiewicz B.: Dotychczasowe wyniki stosowania metody fotodynamicznej PDD w diagnostyce stanów przednowotworowych i raka szyjki macicy. W: Wykłady. XIX Krajowa Szkoła Optoelektroniki „Współczesna optoelektronika w medycynie”. Sopot 2005: 162-172.
 21. Pahernik S.A., Botzlar A., Hillemanns P. i wsp.: Pharmacokinetics and selectivity of aminolevulinic acid-induced porphyrin synthesis in patients with cervical intra-epithelial neoplasia. Int. J. Cancer 1998; 78: 310-314.
 22. Andrejevic-Blant S., Major A., Lüdicke F. i wsp.: Time-dependent hexaminolaevulinate induced protoporphyrin IX distribution after topical application in patients with cervical intraepithelial neoplasia: a fluorescence microscopy study. Lasers Surg. Med. 2004; 35: 276-283.



POLSKIE TOWARZYSTWO GINEKOLOGII ONKOLOGICZNEJ

ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa
tel. 22 644 00 55, faks 22 648 44 71
e-mail: mbidzinski@coi.waw.pl

Prezes:

Prof. dr hab. n. med. Mariusz Bidziński

Wiceprezysi:

Prof. dr hab. n. med. Antoni Basta
Prof. dr hab. n. med. Jan Kornafel

Sekretarz:

Prof. dr hab. n. med. Kazimierz Karolewski

Skarbnik:

Prof. dr hab. n. med. Beata Śpiewankiewicz

Członkowie:

Prof. dr hab. n. med. Janusz Emerich
Prof. dr hab. n. med. Marian Gryboś
Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Kojś
Prof. dr hab. n. med. Janina Markowska
Doc. dr hab. n. med. Bogdan Michalski
Doc. dr hab. n. med. Andrzej Roszak
Prof. dr hab. n. med. Izabella Rzepka-Górska
Prof. dr hab. n. med. Andrzej Skręt
Prof. dr hab. n. med. Jerzy Stelmachów
Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Urbański

*W dniach 26-27.11.2010 roku pod auspicjami
Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej zostanie
zorganizowane Sympozjum Naukowe zatytułowane
„Rzadkie nowotwory ginekologiczne”. Miejscem obrad
będzie hotel Sofitel Warsaw Victoria w Warszawie.
Do udziału w Sympozjum zostali zaproszeni eksperci
z zagranicy i przedstawiciele środowisk naukowych z Polski.*

*Dokładne informacje dotyczące Sympozjum zostaną
opublikowane na stronie internetowej PTGO www.ptgo.org.pl.*