

Ανασκόπηση πρόσφατων μελετών πάνω στη διάγνωση και θεραπεία του μη-μελανωματικού τύπου καρκίνου, με τη χρήση των μη επεμβατικών φασματοσκοπικών τεχνικών του φθορισμού και της ανάκλασης

Ελένη Δρακάκη¹, Μυρσίνη Μακροπούλου¹, Αλέξανδρος Α. Σεραφετινίδης¹, Ιωάννης Σιανούδης²

¹Τομέας Φυσικής, Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών,
Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 15780, Ζωγράφου, Αθήνα, Ελλάδα

²Γενικό Τμήμα Φυσικής Χημείας & Τεχνολογίας Υλικών του ΤΕΙ Αθήνας, Αγ. Σπυριδώνος 122 10
Αιγάλεω, Αθήνα, Ελλάδα

e-mail: edrakaki@central.ntua.gr, mmakro@central.ntua.gr, jansian@teiath.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αυξηθεί σημαντικά η ανάγκη για μη επεμβατικές τεχνικές διάγνωσης και θεραπείας στη Δερματολογία, με στόχο τη διάγνωση του μη μελανωματικού καρκίνου του δέρματος. Η τεχνολογική πρόοδος έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη διαφόρων αναλυτικών εργαλείων, επιτρέποντας την *in vivo* εξέταση του δέρματος. Ένα σημαντικό ρόλο στη δερματολογική διάγνωση και παρακολούθηση του μη μελανωματικού καρκίνου του δέρματος έχουν παίξει ελπιδοφόρες φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως ο φθορισμός που επάγεται από laser και η διάχυτη ανάκλαση.

Στα πλαίσια του Προγράμματος Αρχιμήδης ΙΙΙ του ΤΕΙ Αθήνας μελετάται η επίτευξη κατάλληλου φασματικού διαχωρισμού των διαφόρων βλαβών του δέρματος (π.χ. καλοήθειες, προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις) με τις παραπάνω μεθόδους της Οπτικής Φασματοσκοπίας, προκειμένου να αναπτυχθεί ένα αποτελεσματικό σύστημα διάγνωσης, με δυνατότητα άμεσης εφαρμογής του στην ιατρική πράξη. Επιπλέον στόχος είναι η μελέτη της δοσιμετρίας της φωτοδυναμικής θεραπείας (PhotoDynamic Therapy, PDT) σε ασθενείς με καλοήθειες δερματοπάθειες, προκαρκινικές βλάβες και καρκινικές βλάβες, καθώς και η σύγκριση της PDT με παραδοσιακές θεραπευτικές μεθόδους, βάση ιστοπαθολογικών εξετάσεων.

Σε αυτήν την εργασία γίνεται μια ανασκόπηση και επικαιροποίηση των γνώσεων πάνω στις δυο αυτές φασματοσκοπικές τεχνικές, ενώ συζητούνται νέα ερευνητικά αποτελέσματα και προτάσεις που έχουν δημοσιευτεί στη διεθνή βιβλιογραφία.

Λέξεις κλειδιά: φασματοσκοπία του επαγόμενου από laser φθορισμού, διάχυτη φασματοσκοπία ανάκλασης, μη μελανωματικός καρκίνος του δέρματος, μη επεμβατική φωτοδιάγνωση.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όπως είναι γνωστό, οι νεοπλασίες του δέρματος, από τις μη κακοήθειες αλλοιώσεις έως τους μελανωματικούς καρκίνους, αποτελούν μία από τις κύριες δερματικές παθήσεις και έχουν μεγάλο ιατρικό και κοινωνικο-οικονομικό αντίκτυπο στη ζωή ενός σημαντικού ποσοστού του ελληνικού πληθυσμού. Ο μη-μελανωματικού τύπου καρκίνος του δέρματος, ο οποίος περιλαμβάνει τα βασοκυτταρικά καρκινώματα και τα ακανθοκυτταρικά καρκινώματα, είναι ο πιο κοινός τύπος δερματικής κακοήθειας παγκοσμίως.

Γενικότερα, ο καρκίνος του δέρματος συγκεντρώνει σήμερα διεθνώς το δι-επιστημονικό ενδιαφέρον, λόγω της αλματώδους αύξησης της συχνότητας και θνησιμότητας σε πολλές χώρες κατά τα τελευταία 30 χρόνια. Διάφοροι παράγοντες ενοχοποιήθηκαν για αυτό, όπως η λέπτυνση της στιβάδας του όζοντος, η μόλυνση της ατμόσφαιρας, οι ενδύματα αλλαγές και η αυξημένη έκθεση στον ήλιο και στην υπεριώδη ακτινοβολία, αφού θεωρητικά η κατά 1% λέπτυνση του όζοντος οδηγεί σε αύξηση της υπεριώδους ακτινοβολίας κατά 1,14% σε χώρες με μέσο γεωγραφικό πλάτος και αύξηση των δερματικών όγκων κατά 1-3%.

Τα τρία κύρια είδη καρκίνου του δέρματος με σειρά συχνότητας εμφάνισης είναι: το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (basal cell carcinoma ή αλλιώς BCC), το καρκίνωμα πλακώδους επιθηλίου (squamous cell carcinoma ή αλλιώς SCC) και το κακόηθες μελάνωμα (malignant melanoma). Το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (squamous cell carcinoma - SCC) μπορεί να εμφανισθεί στα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας. Είναι πιο σπάνιο σε σχέση με το βασοκυτταρικό καρκίνωμα (basal cell carcinoma - BCC), αλλά είναι πλέον καταστροφικό, αφού παθαίνει εύκολα μετάσταση και

μπορεί να εισχωρεί στον υγιή ιστό που το περιβάλλει (Riad Haddad *et al* 2004, Karpenter K 2004). Το βασοκυτταρικό καρκίνωμα (BCC) αναπτύσσεται στο χαμηλότερο στρώμα της επιδερμίδας. Σπάνια παθαίνει μετάσταση, αλλά προκαλεί εκτενή καταστροφή του ιστού, μέσω της τοπικής εισχώρησης στο γύρω ιστό. Η πιο κοινή αιτία είναι η χρόνια έκθεση στο φως του ήλιου και γι' αυτό συναντάται συνήθως σε σημεία που εκτίθενται στο φως (Karpenter K 2004). Οποιαδήποτε προσπάθεια για την έγκαιρη διάγνωση είναι μεγάλου οφέλους. Οι ισχύουσες διαγνωστικές μέθοδοι για τους διάφορους τύπους καρκίνου του δέρματος στηρίζονται στην οπτική, υποκειμενική επιθεώρηση των αλλοιώσεων, από κοινού με τη βιοψία δερματικών ιστών.

Η βιοψία αυτού του είδους των αλλοιώσεων απαιτεί συχνά την ουσιαστική αφαίρεση ιστού. Αν και αυτό το πρωτόκολλο για τη διάγνωση των αλλοιώσεων του δέρματος έχει γίνει αποδεκτό ως χρυσό πρότυπο διάγνωσης, είναι επεμβατικό και χρονοβόρο. Δεδομένου ότι οι ύποπτες περιοχές προσδιορίζονται αρχικά μόνο από την οπτική εξέταση, υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός λανθασμένα θετικών περιπτώσεων που υποβάλλονται για βιοψία ή λανθασμένα αρνητικών διαγνώσεων με αποτέλεσμα πολλές κακοήθειες αλλοιώσεις να αγνοηθούν. Επιπλέον τα εργαστηριακά αποτελέσματα για τον προσδιορισμό της ιστοπαθολογίας ενός κακοήθους δερματικού ιστού μπορούν να πάρουν αρκετές ημέρες μέχρι να εξακριβωθούν. Επομένως είναι επείγουσα ανάγκη για πιο αντικειμενικά κριτήρια, τα οποία θα μπορούσαν να βοηθήσουν το νοσοκομειακό γιατρό στην αρχική αξιολόγηση και στο αν απαιτείται περαιτέρω βιοψία. Άρα χρειάζεται να βρεθούν και να αναπτυχθούν επιπρόσθετες άμεσες τεχνικές ασφαλούς διάγνωσης. Ο κλινικός διαχωρισμός ανάμεσα στα μελανώματα και τις μη κακοήθειες αλλοιώσεις είναι αρκετά δύσκολος, ιδιαίτερα στα πρώτα στάδια ανάπτυξής τους. Η ακριβής διάγνωση απαιτεί ακόμη και σήμερα εκτομή και ιστοπαθολογική αξιολόγηση κάθε αλλοίωσης, διαδικασίες που όπως είπαμε είναι και επεμβατικές και χρονοβόρες.

ΦΩΤΟΔΙΑΓΝΩΣΗ ΜΕΣΩ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Η διάγνωση με τη βοήθεια του φθορισμού (Fluorescence) φαίνεται να αποτελεί μια αξιόπιστη εναλλακτική λύση σε προβλήματα απεικόνισης, ιδιαίτερα στη διάκριση νεοπλασματικών και μη νεοπλασματικών ιστών. Ο φθορισμός, επαγόμενος από μια πηγή φωτός, συνήθως από laser (Laser Induced Fluorescence, LIF) έχει προταθεί ως διαγνωστική μέθοδος για τη διάγνωση του μη-μελανωματικού τύπου καρκίνου του δέρματος, (Wagner GA *et al* 1998, Koenig F *et al* 1998, Kollias N *et al* 1998, Georgakoudi I *et al* 2001-02, Drakaki E *et al* 2008, Drakaki E *et al* 2013). Στις περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες υπάρχει μια γενική συμφωνία, στο ότι ο εκπεμπόμενος αυτοφθορισμός από φυσιολογικό ιστό είναι μεγαλύτερης έντασης από το φθορισμό μη φυσιολογικού ιστού. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με άλλες συσχετίσεις που βρέθηκαν μεταξύ αυτών των ερευνών, απέδειξε τις δυνατότητες της φασματοσκοπίας φθορισμού στο να αποτελέσει μια μη επεμβατική διαγνωστική τεχνική πραγματικού χρόνου.

Για ασφαλέστερη φωτοδιάγνωση, απαραίτητη είναι η λεπτομερής φασματική ταυτοποίηση των δερματικών ιστών, η δημιουργία ενός "χάρτη" δηλαδή με όλες τις παθολογικές αλλοιώσεις, με τη βοήθεια του φθορισμού, κάθε συστατικού των παθολογικών δομών. Η φασματοσκοπία φθορισμού στην υπεριώδη και ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος έχει, επίσης, χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση παθήσεων του δέρματος *in vivo*. Συγκεκριμένα ο αυτοφθορισμός του δέρματος έχει θεωρηθεί ως ένα αξιόπιστο μέσο για *in vivo* εξέταση και ανίχνευση διάφορων ασθενειών και των παθολογιών του δέρματος, όπως της ακμής (Koenig K *et al* 1994), της γήρανσης (Na R *et al* 2001, Takema Y *et al* 1997), της γήρανσης λόγω παρατεταμένης έκθεσης στον ήλιο (Sandby-Moller, J. *et al* 2004), της ψωρίασης (Gillies R *et al* 2000), του καρκίνου του δέρματος (Brancaleone L *et al* 2001, Zeng H *et al* 1998, Zeng H *et al* 2000, Zeng H *et al* 2003, Panjehpour M *et al* 2003, Vo-Dinh T *et al* 2003) και του διαβήτη (Meerwaldt R *et al* 2004). Οι δερματικοί ιστοί περιέχουν διάφορα ενδογενή φθοροφόρα, όπως τη nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), αρωματικά αμινοξέα, όπως την τρυπτοφάνη (tryptophan) και δομικές πρωτεΐνες, όπως το κολλαγόνο και την ελαστίνη (Richards-Kortum, R *et al* 1996). Συστατικά μέρη του δέρματος, όπως τα αρωματικά αμινοξέα - φαινυλαλανίνη, η τρυπτοφάνη και η τυροσίνη φθορίζουν μετά από διέγερση με βαθύ υπεριώδες (στην φασματική περιοχή 260-300 nm). Οι δομικές πρωτεΐνες, το κολλαγόνο και η ελαστίνη και οι σταυροειδείς συνδέσεις τους φθορίζουν μετά από διέγερση με 320-400 nm, όπως επίσης και το NADH και οι φλαβίνες, τα οποία είναι δείκτες μεταβολικών μεταβολών στο δέρμα (Ramanujam N 2000, Na R *et al* 2001, Pena A *et al* 2005, Quan Liu 2011, E. Borisova *et al* 2012). Όσον αφορά τις πηγές διέγερσης του αυτοφθορισμού των συστατικών του δέρματος, υπάρχουν διάφορες πηγές φωτός στο υπεριώδες και στη μπλε-πράσινη φασματική περιοχή (Zeng H *et al* 2000, Na R *et al* 2001, Brancaleone L *et al* 2001, Panjehpour M. *et al* 2002, Vo-Dinh T *et al* 2003, Drakaki E. *et al* 2009).

Οι οπτικές ιδιότητες αυτών των φθοροφόρων είναι ευαίσθητες στο περιβάλλον και τη μεταβολική θέση του δερματικού ιστού, γεγονός που κάνει τη φασματοσκοπία φθορισμού ένα

πολύτιμο εργαλείο για να μπορούμε να μελετήσουμε την υγεία των βιολογικών ιστών (Katika KM *et al* 2006). Η μεταβολή της βιοχημικής και μορφολογικής κατάστασης του δερματικού ιστού, η οποία συμβαίνει καθώς αυτός εξελίσσεται από μια φυσιολογική σε μια μη φυσιολογική κατάσταση, απεικονίζεται στα φασματικά χαρακτηριστικά του μετρούμενου φθορισμού.

Η απεικόνιση φθορισμού παρέχει επίσης ένα ισχυρό διαγνωστικό και μη επεμβατικό εργαλείο στην παρακολούθηση της προόδου σε θεραπεία με τη χρήση εξωγενών φθοροφόρων (φωτοευαισθητοποιητές), τη φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) και στη διαφοροποίηση μεταξύ κακοήθων και καλοήθων αλλοιώσεων πριν την θεραπεία. Η τεχνική αυτή είναι σχετικά οικονομική, μη επεμβατική, και παρέχει πληροφορίες σε πραγματικό χρόνο. Η πρόσληψη ενός φωτοευαισθητοποιητή έχει ως αποτέλεσμα ο ασθενής να χρειαστεί να αποφεύγει την έκθεση σε φως για μία χρονική περίοδο πριν και μετά τη διαδικασία της διάγνωσης/θεραπείας.

Με την αξιοποίηση των ενδογενών φθοροφόρων, ο αυτοφθορισμός είναι ένα πολλά υποσχόμενο διαγνωστικό εργαλείο για τη διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων τύπων των μελαγχρωματικών βλαβών του δέρματος, χωρίς προηγούμενη προετοιμασία για τον ασθενή. Ενώ οι ειδικοί ενδογενείς παράγοντες, που είναι υπεύθυνοι για το σήμα φθορισμού, είναι πλήρως κατανοητοί μέχρι τώρα, έχει προταθεί ότι ο αυτοφθορισμός θα μπορούσε να οφείλεται σε διασυνδέσεις κολλαγόνου, στην ελαστίνη, στο NADH, και / ή στην κερατίνη (Chwirot BW *et al* 2001, Cheng Haynes PH *et al* 2010). Ο αυτοφθορισμός επιτρέπει διαφοροποίηση με βάση τις διαφορές στις βιοχημικές ιδιότητες και τη μεταβολική κατάσταση της παθολογικής περιοχής (Bigio J *et al* 1997, Kollias N *et al* 2002, Drakaki E *et al* 2009, Borisova E *et al* 2010, Drakaki E *et al* 2013). Μετά την ακτινοβολία του ιστού με μια κατάλληλη πηγή φωτός, τα φωτόνια που διαχέονται στον ιστό και το σήμα φθορισμού που προκύπτει εκπέμπονται, επιτρέποντας μη επεμβατικές φασματοσκοπικές μετρήσεις και «οπτική βιοψία».

Ο Lohmann και οι συνεργάτες του ανέφεραν μία κορυφή φθορισμού στα 475 nm και μια πιθανή καμπύλη στα 445 nm, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην κορυφή φθορισμού των μορίων NADH και NAD αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας μια λυχνία υδραργύρου υψηλής πίεσης σε συνδυασμό με ένα ζωνοπερατό φίλτρο στα 366 nm (Lohmann W *et al* 1988) και καταλήγοντας πρότειναν ότι σχετικές εντάσεις φθορισμού μεταξύ του υγιούς δέρματος και της περιοχής της βλάβης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη διαφοροποίηση μεταξύ σπύλου και μελανώματος.

Χρησιμοποιώντας έναν λαμπτήρα Xe-Hg υψηλής πίεσης, και έναν αλγόριθμο με βάση αυτόν που προτείνεται από τους Lohmann και τους συνεργάτες του, η Chwirot και οι συνεργάτες της ανέφεραν μια πολυκεντρική κλινική μελέτη σε 4079 ασθενείς στην Πολωνία, επιτυγχάνοντας 82,7% ευαισθησία και διακρίσιμτητα 59,9% για την ανίχνευση μελανωμάτων σε συνθήκες σκοτεινού δωματίου (Chwirot BW *et al* 2001).

Ερευνητές, το 2001, όπως ο Brancalion και οι συνεργάτες του (Brancalion L *et al* 2001) παρατήρησαν υψηλότερη ένταση φθορισμού σε μη-μελανωματικούς όγκους του δέρματος, σε σχέση με το υγιές δέρμα, με τη χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) για διέγερση των υπολειμμάτων τρυπτοφάνης, η οποία μπορεί να είναι αποτέλεσμα της επιδερμικής πάχυνσης στην περιοχή του όγκου. Σε αντίθεση, η ένταση του φθορισμού που σχετίζεται με σταυροδεσμούς κολλαγόνου (collagen cross-links) ήταν χαμηλότερη στους όγκους, λόγω της διάβρωσης και αποικοδόμησης του συνδετικού ιστού και της μείωσης στους σταυροδεσμούς κολλαγόνου και ελαστίνης (Brancalion L *et al* 2001). Ενθαρρυντικά κλινικά αποτελέσματα φωτοδιάγνωσης δερματικών αλλοιώσεων με διέγερση στο υπεριώδες, σε $\lambda=355$ nm, δημοσίευσαν σχετικά πρόσφατα και ο Cheng Haynes και οι συνεργάτες του (Cheng Haynes PH *et al* 2010).

Ο Panjehpour M και οι συνεργάτες του το 2002 μελέτησαν 49 ασθενείς (με BCC, SCC, ακτινική κεράτωση-AK και υγιές δέρμα) και σύγκριναν τη διαγνωστική ακρίβεια που έχει η μέθοδος LIF για τύπους δέρματος I-III, ώστε να καθοριστεί η επίδραση του φωτότυπου στα αποτελέσματα (M. Panjehpour *et al* 2002). Το υγιές δέρμα είχε ισχυρότερη εκπομπή φθορισμού από ότι τα BCC και SCC με 410 nm διέγερση. Η ακρίβεια ταξινόμησης των nMSC ήταν 93% σε δέρμα φωτότυπου I και 78% - για το φωτότυπο III, λόγω της υψηλότερης απορρόφησης της μελανίνης (Koenig F *et al* 1998, Panjehpour M *et al* 2002).

Διαφορετικά μήκη κύματος διέγερσης επέδειξαν χαμηλότερη ένταση σήματος φθορισμού σε BCC όγκους, σε σύγκριση με την ένταση φθορισμού του υγιούς δέρματος, όπως παρατηρείται από πολλούς ερευνητές (Zeng *et al* 1998, Na *et al* 2001, Borisova E *et al* 2006, 2009, Drakaki E *et al* 2009). Επιπλέον αποκαλύφθηκε κατά τη διάρκεια έρευνας οπτικού χαρακτηρισμού των υγιών και κακοήθων ιστών του δέρματος, μετά από διέγερση με laser αζώτου, μια φασματική μετατόπιση του μεγίστου προς το ερυθρό σε BCC ιστών *ex vivo* (Drakaki E *et al* 2009, Drakaki E *et al* 2013).

Η υψηλότερη ένταση φθορισμού που βλέπουμε στους φυσιολογικούς ιστούς, στη φασματική περιοχή των 350 - 450 nm, οφείλεται κυρίως σε μια μετατροπή του κολλαγόνου (εκπομπή περίπου στα

390-405 nm) και της ελαστικής (εκπομπή περίπου στα 400-410 nm) από τους υγιείς στους κακοήθεις ιστούς, ενώ παρατηρούμε και μια μείωση στα επίπεδα του NADH (εκπομπή περίπου στα 440-460 nm) στους κακοήθεις ιστούς (Drakaki E *et al* 2009, Drakaki E *et al* 2013).

Η Borisova και οι συνεργάτες της σχολιάζουν φάσματα αυτοφθορισμού των BCC, SCC, και AK, και καλοήθων βλαβών του δέρματος με τη χρήση LED σε διάφορα μήκη κύματος φωτός ως πηγή διέγερσης (Borisova E *et al* 2009).

Σε μια ξεχωριστή δημοσίευση, η Trovanova και οι συνεργάτες της παρουσίασαν φάσματα αυτοφθορισμού των καλοήθων και δυσπλαστικών σπύλων, καθώς και φάσματα κακοήθους μελανώματος χρησιμοποιώντας ένα laser αζώτου στα 337 nm (Trovanova P *et al* 2006).

Έχουν γίνει διάφορες μελέτες για τις διαφορές στον αυτοφθορισμό που παρουσιάζει ο φυσιολογικός δερματικός ιστός, συγκριτικά με δερματικό ιστό από εθελοντή που πάσχει από βασοκυτταρικό (basal cell) καρκίνωμα, την πιο διαδεδομένη μορφή καρκίνου του δέρματος, καθώς και δερματικό ιστό από εθελοντή που πάσχει από επιθηλιακό (squamous cell) καρκίνωμα, τη δεύτερη πιο διαδεδομένη μορφή καρκίνου.

Ωστόσο το δέρμα είναι ένα πολύπλοκο, ανομοιογενές και με πολλές στοιβάδες όργανο, με διαφορετικές οπτικές ιδιότητες, που περιπλέκουν την ποσοτική ανάλυση των φασμάτων φθορισμού (Richards-Kortum R *et al* 1996). Επιπλέον, η ένταση του σήματος φθορισμού μπορεί να μην είναι μια «συνεπής» παράμετρος για να τη χρησιμοποιήσουμε ως κρίσιμο παράγοντα, αφού η επιφανειακή μορφολογία της απόστασης μεταξύ της επιφάνειας του ιστού και της οπτικής ίνας, μπορεί να επηρεάσει το σήμα.

Για παράδειγμα, ο Debreczeny και οι συνεργάτες του (Debreczeny Martin P *et al* 2011) μέτρησαν τον αυτοφθορισμό στον ώμο από 36 εθελοντές. Όλοι είχαν εκτεθεί για περίπου 40 λεπτά σε φως, στα 450 και 500 nm, με εντάσεις ακτινοβολίας διέγερσης μεταξύ 0,3 - 9 mW/cm². Ο αυτοφθορισμός ήταν ανεξάρτητος από τον τύπο του δέρματος, όταν διεγείρετο στα 450 nm, αλλά εξαρτιόνταν σημαντικά από τον τύπο του δέρματος όταν διεγείρετο στα 500 nm. Περαιτέρω, βρήκαν ότι η έκταση της μείωσης του φθορισμού σε σχέση με την πάροδο του χρόνου σχετιζόταν γραμμικά με την ακτινοβολία στα 500 nm, αλλά στα 450 nm ήταν μη γραμμική. Προκειμένου να διατηρηθεί η τιμή του σήματος φθορισμού εντός του 95% της αρχικής του τιμής κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 30 λεπτών, η διέγερση στα 450 nm, θα έπρεπε να είναι περιορισμένη σε 1,5 mW/cm², ενώ η διέγερση στα 500 nm θα έπρεπε να περιορίζεται στα 5 mW / cm².

Για όλες τις παραπάνω μεταβλητές παραμέτρους έχουν κατασκευασθεί διαγνωστικοί αλγόριθμοι, οι οποίοι είναι σε θέση να συσχετίσουν τα διαφορετικά και ποικίλα φάσματα των κακοήθων όγκων με εκείνα των υγιών (Lohmann W *et al* 1998, Drakaki E *et al* 2009, Mogensen M *et al* 2009, Rajaram N *et al* 2010, Cheng Haynes PH *et al* 2010, Borisova E *et al* 2012).

ΦΩΤΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Ένα σημαντικό επίσης θέμα στη Δερματολογία είναι η μετά την έγκαιρη και ασφαλή διάγνωση θεραπευτική αντιμετώπιση των δερματικών αλλοιώσεων. Εκτός από την έγκαιρη διάγνωση λοιπόν, στις περιπτώσεις που η χειρουργική θεραπεία δεν είναι εφικτή λόγω ανατομικής θέσης, πολυάριθμων ή εκτεταμένων βλαβών, υποτροπής του ακτινοβοληθέντος δερματικού όγκου ή όταν η γενική κατάσταση του ασθενούς δεν επιτρέπει τη χειρουργική αντιμετώπιση, αναζητείται μία εναλλακτική θεραπεία με ικανοποιητική αποτελεσματικότητα. Στον τομέα αυτόν αναζητούνται κατά το δυνατόν μη επεμβατικές/μη χειρουργικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, για λειτουργικούς και αισθητικούς λόγους. Αν μάλιστα οι νέες θεραπευτικές μέθοδοι βασίζονται στον ίδιο φυσικό παράγοντα στον οποίο βασίζεται και η διάγνωση, την φωτεινή ακτινοβολία δηλαδή, ελπίζει κανείς ότι η ιατρική αντιμετώπιση της νόσου θα βελτιστοποιηθεί.

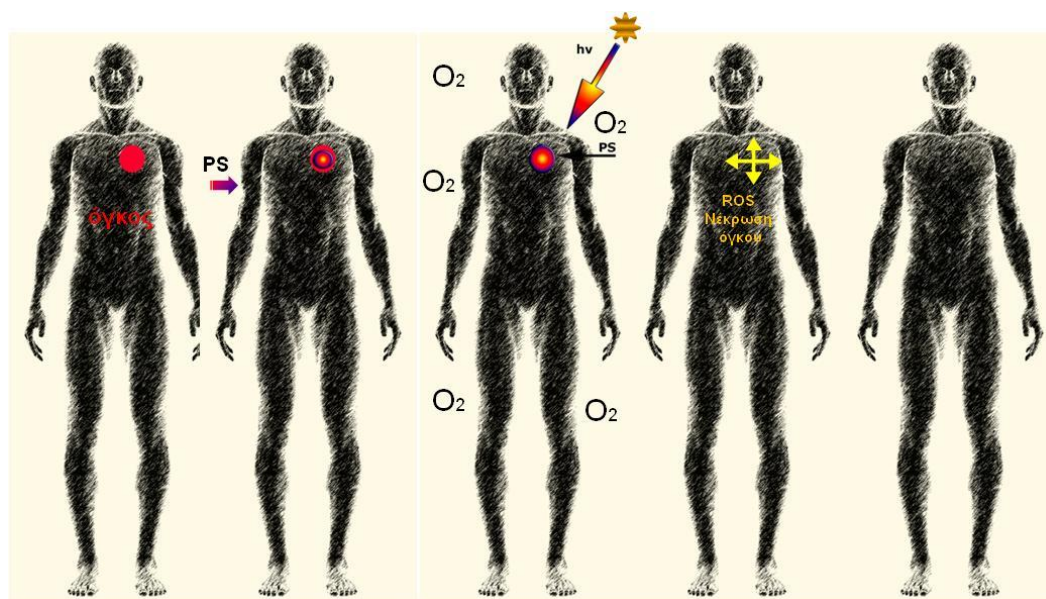
Σε συνέχεια όσων αναφέραμε παραπάνω, προσθέτουμε τα εξής: Όταν η βλάβη του δέρματος είναι τέτοια ώστε το λαμβανόμενο σήμα φθορισμού είναι πολύ αδύναμο για να χρησιμοποιηθεί για διαγνωστικούς σκοπούς, χρησιμοποιούνται εξωγενείς δείκτες φθορισμού (E. Drakaki *et al* 2008). Έτσι, μέσω μιας θεραπείας που κάνει χρήση αυτών των εξωγενών παραγόντων, της φωτοδυναμικής θεραπείας (PDT), εισάγουμε ειδικούς φωτοευαίσθητοποιητές στον υπό έρευνα δερματικό ιστό για διάγνωση, αλλά και θεραπεία, μέσω του μονήρους οξυγόνου που εκλύουν κατά τη διέγερσή τους. Η PDT έχει δείξει ικανή αποτελεσματικότητα και είναι μια βιώσιμη εναλλακτική λύση, όταν η χειρουργική επέμβαση αντενδείκνυται ή μπορεί να επιθυμεί ο ασθενής ή ο γιατρός να διατηρηθεί η φυσιολογική εμφάνιση του δέρματος. Ο φθορισμός κατά τη διάρκεια της PDT είναι ένα σημαντικό δοσιμετρικό εργαλείο για τη διαμόρφωση της θεραπείας (Allison RR *et al* 2004). Μπορούμε να μετρήσουμε τη διαφορά στο φθορισμό, πριν και μετά τη PDT, ώστε να εκτιμήσουμε την επιτυχία ή την

αποτυχία της θεραπείας (Allison RR *et al* 2004).

Η φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) είναι μια σχετικά νέα θεραπευτική τεχνική για την αντιμετώπιση του καρκίνου του δέρματος. Βασίζεται στην επιλεκτική απορρόφηση φωτός από κατάλληλες χημικές ουσίες - φωτοευαισθητοποιητές, παρουσία οξυγόνου, οι οποίες ενεργοποιούν έτσι φωτοδυναμικές αντιδράσεις που μπορούν να καταστρέψουν επιλεκτικά τα γειτονικά τους καρκινικά κύτταρα.

Επισημαίνουμε ότι σε μία φωτοδυναμική αντίδραση πρέπει να συν-υπάρχουν τρεις σημαντικοί παράγοντες: το μόριο της φωτοευαίσθητης ουσίας, η φωτεινή ακτινοβολία στο κατάλληλο μήκος κύματος και η παρουσία του οξυγόνου. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των συστατικών αυτών αποτελεί και το κύριο μέρος της φωτοδυναμικής θεραπείας (Εικόνα 1).

Η PDT συνδυάζει λοιπόν τρία στοιχεία: το οξυγόνο, το κατάλληλο φως και ένα χημικό παράγοντα φωτοευαισθητοποίησης, όπως π.χ. η πορφυρίνη, ώστε να ενεργοποιήσει ενεργά είδη οξυγόνου εντός της στοχευμένης περιοχής του δερματικού ιστού. Όταν συμβεί αυτό, τα καρκινικά κύτταρα καταστρέφονται χωρίς να πειράζουν τα υγιή (PG Lang *et al* 2005). Οι φωτοευαισθητοποιητές είναι φωτοευαίσθητες ουσίες ή πρόδρομες μορφές τους που μεταβολίζονται σε φωτοευαίσθητες ουσίες μέσα στα κύτταρα. Οι φωτοευαισθητοποιητές συσσωρεύονται επιλεκτικά στους παθολογικούς ιστούς και όταν διεγερθούν από ακτινοβολία κατάλληλου μήκους κύματος, την απορροφούν, διεγείρονται και στη συνέχεια, κατά την αποδιέγερσή τους, μεταφέρουν την ενέργεια εκπομπής στο γειτονικό μοριακό οξυγόνο προκαλώντας φωτοχημικές αντιδράσεις. Τα μόρια του φωτοευαισθητοποιητή προσλαμβάνονται από την πλειονότητα των φυσιολογικών και καρκινικών κυττάρων, αλλά παραμένουν για μεγαλύτερο διάστημα στα κακοήθη και τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα.



Εικόνα 1. Διαδικασία Φωτοδυναμικής θεραπείας.

Η φωτοδυναμική θεραπεία τελικά αποσκοπεί στην εκλεκτική νέκρωση του όγκου, χωρίς βλαπτική επίδραση στον περιβάλλοντα υγιή ιστό (Εικόνα 1). Η καταστροφή του παθολογικού ιστού με τη φωτοδυναμική θεραπεία οφείλεται στο συνδυασμό κυτταρικού θανάτου, φωτοευαισθητοποίησης του αγγειακού δικτύου που καταλήγει σε ιστική υποξία, φλεγμονής και ανοσολογικής απόκρισης (Εικόνα 1). Φαίνεται ότι ο συνδυασμός αυτών των μηχανισμών δράσης είναι απαραίτητος για τον μακροχρόνιο έλεγχο της νόσου.

Ο παράγοντας φωτοευαισθητοποίησης, συνήθως το 5-αμινολεβουλινικό οξύ (5-ALA) ή μεθυλ-αμινολεβουλινικό οξύ (MAL) εφαρμόζεται είτε τοπικά είτε εσωτερικά και απορροφάται από φυσιολογικά και κυρίως από μη υγιή κύτταρα του ιστού. Η τοπική μορφή εφαρμογής του φαρμάκου/φωτοευαισθητοποιητή γενικά προτιμάται για δερματικές ασθένειες, επειδή η εσωτερική χορήγηση συνδέεται με παρατεταμένη γενικευμένη φωτοευαισθησία (Nolen *et al* 2011). Η PDT έχει

αποδειχθεί ότι είναι κλινικά αποτελεσματική στη θεραπεία των δερματικών επιφανειακών προκαρκινικών αλλοιώσεων (pre-malignancies), συμπεριλαμβανομένων των επιφανειακών BCC (sBCC) και των λεπτών οζωδών αλλοιώσεων BCC (nBCC).

Η PDT μπορεί επίσης να αποτρέψει την ανάπτυξη ορισμένων μη-μελανωματικών καρκίνων του δέρματος σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή (Braathen *et al* 2007, Kleinpenning 2010). Στις περισσότερες κλινικές μελέτες χρησιμοποιήθηκαν 16% MAL και 20% ALA. Επί του παρόντος, μόνο η εμπορική μορφή της MAL (Metvix®, Galderma, Παρίσι, Γαλλία), έχει εγκριθεί στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες για τη θεραπεία της AK, της ασθένειας Bowens, των επιφανειακών BCC και των μικρών οζωδών BCC.

Ενθαρρυντικά αποτελέσματα υπήρχαν στην οριοθέτηση δερματικών αλλοιώσεων σε 15 ασθενείς με BCC (Ericson *et al* 2005). Άλλοι ερευνητές, όπως ο Souza SC και οι συνεργάτες του (Souza *et al* 2009) ανέφεραν εκκαθάριση του όγκου BCC στους 3 μήνες κατά 91,2% και κατά 63,6% σε 60 μήνες, μετά από φωτοδυναμική θεραπεία με ένα διοδικό laser στα 630 nm, με δόση 100-300 J cm⁻², πυκνότητα ισχύος 130—150 mWcm⁻² με μονή συνεδρία και με 20% 5-ALA μαζί με DMSO και EDTA.

Η κλινική ανταπόκριση και ο χρόνος επανάληψης φαίνεται να σχετίζεται με τη δόση φωτός του laser, τους τύπους του μη μελανωματικού καρκίνου του δέρματος (non-melanoma skin cancer, nMSC), το πάχος και τις διαστάσεις. Ο Souza SC και οι συνεργάτες του κατέληξαν ότι η διπλή συνεδρία για sBCC είναι η καλύτερη, αλλά ακόμη δεν είχαν βρει τεχνικές για τη βελτιστοποίηση της τοπικής PDT για το οζώδες BCC. Ενδιαφέρον επίσης παρουσίασε η πρόωμη επανεμφάνιση sBCC σε σύγκριση με το οζώδες BCC. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να σχετίζεται με το πάχος των nBCC και τα προβλήματα στην κλινική εικόνα. Παρά την πλήρη ανταπόκριση του οζώδους BCC (<1,0 cm) στους 18 μήνες, παρατηρήθηκε καθυστερημένη υποτροπή στους 36 ή 60 μήνες (Souza *et al* 2009).

Η πιο δημοφιλής, το 2000, τοπική ουσία φωτοευαισθητοποιητή για τη θεραπεία του BCC ήταν το 20% ALA σε συνδυασμό με μικρές δόσεις φωτός, μεταξύ 30,5 και 540 J/cm². Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν σε επιφανειακές αλλοιώσεις, με ποσοστά ανταπόκρισης που κυμαίνονται από 79% έως 100% (Kennedy JC *et al* 1992, Wolf P *et al* 1993, Bermudez Moretti M *et al* 1993, Warloe T *et al* 1995, Fijan S *et al* 1995 Calzavara-Pinton PG *et al* 1995, Katrin Kalka *et al* 2000) και μόνο δύο εκθέσεις μελετών περιγράφουν εκπληκτικά χαμηλά ποσοστά ανταπόκρισης περίπου 50% (Cairnduff F *et al* 1994, Lui H *et al* 1995, Katrin Kalka *et al* 2000).

Οζώδη βασοκυτταρικά καρκινώματα:

Η χρήση του φθορισμού της Protoporphyrin IX (PpIX) για τη διάγνωση των nMSC είναι γνωστή ως φωτοδυναμική διάγνωση (PDD). Η τοπική εφαρμογή του 5-αμινολεβουλικού οξέος (5-ALA) οδηγεί σε μία επιλεκτική συσσώρευση της PpIX στα κύτταρα των nMSC. Μια μελέτη από τον Van der Beek και τους συνεργάτες του (Van der Beek *et al* 2012) σύγκρινε το φθορισμό της Protoporphyrin IX, με και χωρίς τη μέτρηση αυτοφθορισμού, μετά από εφαρμογή με 5-ALA και ακτινοβολία στα 407 nm σε 30 ασθενείς με οζώδη βασοκυτταρικά καρκινώματα. Χρησιμοποίησαν συσκευές που μετρούν όχι μόνον τον φθορισμό της PpIX, αλλά επίσης και τον αυτοφθορισμό του δέρματος. Η χρήση του αυτοφθορισμού επέτρεψε τη διάκριση παραγόντων που επηρεάζουν τόσο τον αυτοφθορισμό, όσο και τον φθορισμό της PpIX εξίσου, όπως είναι η κλιμάκωση των συνθέσεων του ιστού, το πάχος της κεράτινης στοιβάδας, ή η αλλαγή της έντασης της ακτινοβολίας, λόγω διακύμανσης της απόστασης μεταξύ του δέρματος και της φωτεινής πηγής. Με αυτό τον τρόπο, η ένταση του φθορισμού σε σχέση τον αυτοφθορισμό της PpIX μπορούσε να υπολογιστεί (μέθοδος κανονικοποίησης) (Brancaleon *et al* 2001, Van der Beek *et al* 2012). Η διακριτική ικανότητα της μη κανονικοποιημένης και της κανονικοποιημένης μεθόδου της μελέτης τους ήταν 27% και 100%, αντίστοιχα, ενώ η ευαισθησία ήταν 39% και 97%, αντίστοιχα (p-τιμή <0.001) (Van der Beek *et al* 2012).

Ο Warloe και συνεργάτες του πέτυχαν ποσοστό πλήρους ανταπόκρισης 67% σε οζώδεις βλάβες με όγκο πάχους μικρότερο από 2 mm, ενώ PDT σε παχύτερους όγκους οδήγησε σε σημαντικά χαμηλότερο πλήρους ανταπόκρισης ή CR 34% (complete response, CR) (Jones CM *et al* 1992, Katrin Kalka *et al* 2000). Παρόμοια τα οζώδη και noduloulcerative BCC παρουσίασαν χαμηλά ποσοστά CR μεταξύ 10% και 50% και σε δημοσιεύσεις από άλλους ερευνητές (Wolf P *et al* 1993, Fijan S *et al* 1995, Calzavara-Pinton PG 1995, Peng Q *et al* 1997).

Η περιορισμένη διεξόδυση του ALA στις βαθύτερες στιβάδες αυτών των όγκων συμβάλλει εν μέρει στην ελλιπή ανταπόκριση στην PDT (Martin A *et al* 1995, Peng Q *et al* 1995, Katrin Kalka *et al* 2000). Η εξέταση των παχιών οζωδών αλλοιώσεων με απεικόνιση μικροσκοπίας φθορισμού *in vivo* /

ex vivo απεκάλυψε σημαντικά μειωμένη εκπομπή ή έλλειψη φθορισμού βαθιά στον όγκο (Martin A *et al* 1995). Τα καλύτερα αποτελέσματα τοπικού ALA-PDT για οζώδη BCC, που έχουν ληφθεί με επαναλαμβανόμενες συνεδρίες θεραπείας, οδηγούν σε ποσοστό πλήρους ανταπόκρισης ή CR 100% (Svanberg K *et al* 1994). Παρομοίως, ο συνδυασμός του ALA με DMSO και EDTA οδηγεί σε ένα ενισχυμένο ποσοστό 77%, πιθανόν λόγω της αυξημένης διείσδυσης του ALA (Orenstein A *et al* 1995, Katrin Kalka *et al* 2000).

Ο Morton και οι συνεργάτες του (Morton CA *et al* 1998) βρήκαν μια σύνδεση μεταξύ της μείωσης της πλήρους ανταπόκρισης και της αύξησης του πάχους του BCC. Στα οζώδη BCC με πάχος <1mm το ποσοστό πλήρους ανταπόκρισης ήταν 100%, ενώ για αλλοιώσεις με πάχος περισσότερο από 2 mm, μετρούμενο μεταξύ του κοκκώδους στρώματος (granular layer) και των βαθύτερων καρκινικών κυττάρων στο χόριο, παρουσιάζουν απουσία πλήρους ανταπόκρισης. Η ασθενέστερη απόκριση οζώδους BCC (nBCC) με ALA-PDT πιθανότατα προέρχεται από το πάχος της αλλοίωσης, το οποίο λειτουργεί ως ένα εμπόδιο για τη διείσδυση του 5-ALA και επηρεάζει την μη ομοιογενή κατανομή του φωτοευαισθητοποιητή ή ακόμη και στην ανεπαρκή διείσδυση φωτός (Ackermann G *et al* 1998, Morton CA *et al* 1998, 2002, Mosterd K *et al* 2008, C.S. Souza *et al* 2009).

Η τοπική θεραπεία με MAL έχει δείξει αποτελεσματική διείσδυση σε παχείς, οζώδεις BCC αλλοιώσεις. Η φωτοευαισθητοποιήσιμη ουσία MAL έχει μεγαλύτερη διείσδυση στον ιστό σε σχέση με την ALA, λόγω του μειωμένου «φορτίου» της και της αυξημένης λιποφιλικότητας, παρόλο που αυτοί οι παράγοντες δεν έχουν συγκριθεί άμεσα σε κλινικές μελέτες με nBCC (Peng Q *et al* 2001, Lasse R. Braathen *et al* 2007).

Η θεραπεία με MAL-PDT έχει συγκριθεί με το “χρυσό πρότυπο” της χειρουργικής επέμβασης για τα nBCC (Rhodes LE *et al* 2004). Η απόκριση που είχαν οι Rhodes *et al* στους 3 μήνες δεν ήταν καλύτερη από αυτήν που επιτυγχάνονταν με τη χειρουργική επέμβαση (91% σε σύγκριση με το 98% για τη χειρουργική επέμβαση) και το ποσοστό υποτροπής στους 60 μήνες ήταν 14% σε σύγκριση με το 4% με τη χειρουργική επέμβαση (Rhodes LE *et al* 2004).

Τα αισθητικά αποτελέσματα με PDT σε nBCC είναι γενικά πολύ εντυπωσιακά, σε 82% έως 95% των ασθενών (Soler AM *et al* 2001, Wang I *et al* 2001, Horn M *et al* 2003, Torge WD *et al* 2004). Συγκεκριμένα, τα αισθητικά αποτελέσματα με PDT βρέθηκαν να είναι ανώτερα σε σχέση με κρυοθεραπεία (Wang I *et al* 2001) και χειρουργική επέμβαση (Rhodes LE *et al* 2004).

Έτσι η θεραπεία με MAL-PDT έχει εγκριθεί για τη θεραπεία των nBCC στην Ευρωπαϊκή Ένωση, την Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία και τη Βραζιλία (Lasse R. Braathen *et al* 2007). Φυσικά στα οζώδη BCC, η χειρουργική εκτομή είναι ακόμα η θεραπεία πρώτης εκλογής, αλλά σε ασθενείς που αρνούνται τη χειρουργική επέμβαση, εάν η ιστολογική εξέταση αποκαλύψει επιφανειακό υπολειπόμενο όγκο ή εάν το αισθητικό αποτέλεσμα είναι μείζονος σημασίας, τότε η PDT μπορεί να είναι μια καλή θεραπευτική επιλογή -μόνη ή σε συνδυασμό με άλλους τρόπους θεραπείας (A. Sidoroff *et al* 2010). Από την άλλη πλευρά, σχετικά πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η προεγχειρητική διάγνωση φθορισμού για οζώδη BCC στην Η-ζώνη προσώπου δεν δείχνει κανένα επιπλέον όφελος σε σύγκριση με κλινικές παραδοσιακές μεθόδους διάγνωσης (T. Wetzig *et al* 2010).

Στα BCC με χρωστικές πρέπει κανείς να γνωρίζει ότι η χρωστική ουσία απορροφά το φως, εμποδίζοντας έτσι την επίδραση της ακτινοβολίας. Σε πολλές περιπτώσεις αυτών των BCC, η χρωστική βρίσκεται πολύ επιφανειακά και μόνο παρούσα σε μικρές περιοχές του όγκου (Sidoroff A *et al* 2010), οπότε και προτείνεται ότι μπορεί εύκολα να αφαιρεθεί, ώστε να προετοιμαστεί ο όγκος για PDT.

Σε αντίθεση με την ανασκόπηση για το BCC, ο αριθμός των μελετών που έχει αναφερθεί ότι χρησιμοποιούν φωτοευαισθητοποιητές για PDT σε ακανθοκυτταρικά καρκινώματα (SCC) είναι πολύ περιορισμένος. Ο Wolf και ο Kerl ανέφεραν την επιτυχή τοπική PDT του SCC σε μια γυναίκα ασθενή με μελαγχρωματική ξηροδερμία, χρησιμοποιώντας ένα ποσοστό 40% ALA και 90 J/cm² με μη σύμφωνη πηγή φωτός (Wolf P *et al* 1991, Katrin Kalka *et al* 2000). Ανάλογα ποσοστά θεραπείας έως 100% επιτεύχθηκαν με την εφαρμογή της HPD ή porfimer sodium, με υψηλότερες δόσεις φωτός (75-200 J/cm²) και πολλαπλές συνεδρίες θεραπείας (Bissonnette R *et al* 1997, Petrelli NJ *et al* 1992, Keller GS *et al* 1989, Gregory RO *et al* 1986).

Η πλειονότητα των ασθενών με SCC που λάμβαναν PDT με μη σύμφωνες πηγές φωτός, υποβλήθηκαν σε τοπική θεραπεία με 20% ALA σε δόσεις 30 έως 540 J/cm² (Kennedy JC *et al* 1990, Svanberg K *et al* 1992, Wolf P *et al* 1993, Calzavara-Pinton PG *et al* 1995, Orenstein A *et al* 1995, Lui H *et al* 1995, Katrin Kalka *et al* 2000).

Ο Pennington και οι συνεργάτες του αντιμετώπισαν με ενδοφλέβια χορήγηση HPD, 32 περιστατικά SCC με μια συνεδρία ακτινοβολίας και με δέσμη φωτός στα 30 J/cm². Η ιστοπαθολογική αξιολόγηση, στις 6 εβδομάδες μετά τη PDT, αποκάλυψε μικροσκοπικά υπολείμματα SCC στα 6 από τα 32 SCC. Ένα έτος μετά την PDT, περισσότερο από το 50% όλων των βλαβών

επανεμφανίστηκαν. Υποστήριξαν ότι η έλλειψη των επαναλαμβανόμενων συνεδριών PDT και η σχετικά χαμηλή δόση φωτός μάλλον ήταν υπεύθυνη για την ανεπαρκή απόκριση (Pennington DG *et al* 1988, Katrin Kalka *et al* 2000).

Σύμφωνα με τα παρόντα δεδομένα, η τοπική PDT μπορεί να εφαρμόζεται αποτελεσματικά για τη θεραπεία των *in situ* και πρώιμων SCC ως εναλλακτική μέθοδος, όταν συμβατικές μέθοδοι δεν είναι εφαρμόσιμες. Συστηματική ή τοπική φωτοευαισθητοποίηση προχωρημένων SCC φαίνεται να είναι ένα χρήσιμο διαγνωστικό και θεραπευτικό εργαλείο, παρά μια πρωταρχική διαδικασία θεραπείας (Katrin Kalka *et al* 2000).

Ο Kleinpenning και οι συνεργάτες του (Kleinpenning MM *et al* 2010) παρατήρησαν ότι θα μπορούσε να υπάρξει μια πιθανή εφαρμογή της διάγνωσης με φθορισμό με ALA σε προκαρκινικές βλάβες που έχουν την τάση να προχωρήσουν σε SCC και πρώιμο διηθητικό καρκίνο SCC. Παρατήρησαν ότι, καθώς το SCC χαρακτηρίζεται από υπερκεράτωση και εισβολή άτυπων κερατινοκυττάρων στο χόριο και πυκνή φλεγμονώδη διήθηση, είναι πιθανό ότι η διείσδυση του προδρόμου της PpIX καθώς και του φωτός να είναι περιορισμένη.

Η φωτοευαίσθητος ουσία ALA έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την εύρεση περιοχών για βιοψία και την εύρεση υπολειμματικών όγκων μετά τη PDT, σε έναν ασθενή με SCC (X Zhang *et al* 2012). Από την άλλη πλευρά, ο Ericson και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν 20% ALA, ώστε να οριοθετηθούν οι περιοχές του παθολογικού δέρματος μέσω λάμπας Wood πριν τη μικρογραφική επέμβαση Mohs σε 142 ασθενείς με SCC, με νόσο του Bowen ή με BCC και παρατήρησαν ότι δεν επηρέαζε τον αριθμό των απαραίτητων χειρουργικών σταδίων (MB Ericson *et al* 2005).

Η MAL-PDT, με χρήση κόκκινου φωτός ενεργοποίησης (Aktilite, Photocure ASA) εγκρίθηκε από το FDA, για τη θεραπεία της ακτινικής κεράτωσης το 2002. Εντούτοις, σε δοκιμές το 2004, τόσο για επιφανειακό, όσο και για οζώδες BCC, το ποσοστό υποτροπής μετά από τοπική MAL-PDT, στα 2 έτη, ήταν 28% για τη φάση II και υψηλό (34%) στη φάση III των μελετών, βάση των λεγομένων της McGillis (ST McGillis *et al* 2004, FDA.gov website 2004, Photocure 2004). Με βάση αυτά τα δεδομένα, η “Dermatologic and Ophthalmic Drugs Advisory” Επιτροπή, η οποία εκδίδει συστάσεις προς τον οργανισμό FDA, απέρριψε την αίτηση για την MAL-PDT ως θεραπεία πρωτοβάθμιων nBCC βλαβών (Photocure 2004, ST McGillis *et al* 2004).

Το 2004, τα αποτελέσματα μιας μελέτης τετραετούς παρακολούθησης φωτοδυναμικής θεραπείας με MAL σε BCC, στη φάση III, έδειξαν στον ερευνητή Basset-Seguin και τους συνεργάτες του ότι το ποσοστό υποτροπής με MAL ήταν συγκρίσιμο με εκείνο της κρυοθεραπείας (22% για MAL-PDT έναντι 19% για κρυοθεραπεία σε 48 μήνες) (Basset-Seguin N *et al* 2004-2005, Lasse R. Braathen *et al* 2007). Παρατηρήθηκαν ποσοστά υποτροπής ακόμη χαμηλότερα, για βλάβες 1 cm ή μικρότερες σε διάμετρο (με ποσοστό υποτροπής μόνο 6% στους 36 μήνες μελέτης). Το ποσοστό υποτροπής στους 48 μήνες ήταν ίδιο, όπως και εκείνο στους 36 μήνες (Basset-Seguin N *et al* 2004-2005, Lasse R. Braathen *et al* 2007).

Η χρήση ενισχυτών διείσδυσης:

Η χρήση ενισχυτών διείσδυσης ή κλασματικής θεραπείας, ή συνδυασμένης θεραπείας με προηγούμενη απόξεση μπορεί επίσης να βελτιώσει τα αποτελέσματα της τοπικής ALA-PDT (Peng Q *et al* 1997, Soler AM *et al* 1999, Thissen MR *et al* 2000, Soler AM *et al* 2001, Morton CA *et al* 2002, Souza CS *et al* 2009). Η προσθήκη στο σκεύασμα DMSO και EDTA, ως ενισχυτές διείσδυσης στο δέρμα, θα μπορούσε να αυξήσει την απορρόφηση του ALA και συνεπώς να έχουμε μεγαλύτερη παραγωγή του φωτοευαισθητοποιητή της PpIX.

Παρόλα αυτά, ο συνδυασμός του ALA, DMSO και EDTA δεν αύξησε τα ποσοστά πλήρους ανταπόκρισης σε επιφανειακά BCC, αλλά αύξησε σημαντικά τα ποσοστά πλήρους ανταπόκρισης στις οζώδεις αλλοιώσεις (C.S. Souza *et al* 2009).

Η χρήση κλασματικών συνεδριών PDT :

Η χρήση της κλασματικής θεραπείας ALA-PDT (fractionated) είναι μια άλλη προσέγγιση για τη βελτιστοποίηση της θεραπείας. Το πρωτόκολλο κλασματικής θεραπείας, με χρήση μιας μόνο ALA-εφαρμογής, σύμφωνα με τον Souza CS οδηγεί σε λιγότερο δαπανηρή και περισσότερο βολική για τους ασθενείς θεραπεία και θα μπορούσε να είναι μια πιο «φιλική» θεραπεία σε υπηρεσίες υγείας (CS Souza *et al* 2009).

Έτσι μακροχρόνια και πλήρης ύφεση επιτεύχθηκε, μέσω της κλασματικής ALA-PDT των sBCC, η οποία μπορεί να είναι καλύτερη από ότι εκείνη με τη PDT με μια μόνο συνεδρία, αλλά φαίνεται να είναι παρόμοια με εκείνη με μεγαλύτερη πυκνότητα ενέργειας ακτινοβολίας (Star WM *et al* 2006). Ωστόσο, η χειρουργική εκτομή αποδείχθηκε ότι είναι σημαντικά πιο αποτελεσματική από ότι η κλασματική ακτινοβολία με ALA-PDT για nBCC (Mosterd K *et al* 2008, Souza CS *et al* 2009).

Πηγές και πυκνότητες ισχύος κατά τη PDT:

Η βέλτιστη δόση φωτός στη PDT εξαρτάται από το είδος της βλάβης, ωστόσο οι κατάλληλες δόσεις για τη θανάτωση του όγκου και τη θεραπεία των nMSC κυμαίνονται από 37 έως 540 J cm⁻² (Morton CA *et al* 2002, Ibbotson SH *et al* 2004, Babilas P *et al* 2005). Για πηγές ευρέους φάσματος, με κεντρικό μήκος κύματος το κόκκινο, είναι κατάλληλες οι δόσεις των 100-150 J cm⁻² με πυκνότητα ισχύος 100-200 mWcm⁻².

Για τα LED, οι τιμές είναι σημαντικά χαμηλότερες (37-50 J cm⁻²) (Babilas P *et al* 2005, Blume JE *et al* 2007). Αντίστοιχα με τη χρήση μίας πηγής laser, η απόκριση έναντι της καμπύλης της δόσης της ακτινοβολίας φαίνεται να ακολουθεί ένα σιγμοειδές μοτίβο (sigmoidal pattern). Το ποσοστό ανταπόκρισης πλησιάζει στο 90% με δόσεις γύρω στα 100-150 J cm⁻², ενώ οι δόσεις των 200 J cm⁻² δίνουν υψηλά αρχικά ποσοστά ανταπόκρισης και με δόσεις από 200-300 J cm⁻² δεν υπάρχει καμία βελτίωση (Blume JE *et al* 2007).

Φωτοευαισθητοποιητές:

Υπάρχουν πολλά προϊόντα ως φωτοευαισθητοποιητές, ενώ συνεχώς βρίσκονται νέες βελτιωμένες χημικές ενώσεις. Ωστόσο, πολύ λίγα έχουν δοκιμασθεί σε κλινικές μελέτες και ακόμα λιγότερες ουσίες είναι εύκολα διαθέσιμες στο εμπόριο (Allison RR *et al* 2004). Στον παρακάτω Πίνακα 1 βλέπουμε μερικούς από τους κλινικούς φωτοευαισθητοποιητές που χρησιμοποιούνται και τους κατασκευαστές τους.

Πίνακας 1

Porphyrin Photofrin® HpD	Axcan Pharma, Inc. www.axcan.com
Porphyrin Levulan® ALA	DUSA Pharmaceuticals, Inc. www.dusapharma.com
Porphyrin Metvix® M-ALA	PhotoCure ASA www.photocure.com
Porphyrin Visudyne® Vertiporfin	Novartis Pharmaceuticals www.visudyne.com
Texaphyrin Antrin® Lutexaphyrin	Pharmacylics www.pharmacylics.com
Chlorin Foscan® Temoporfin	Biolitec Pharma Ltd. www.bioletcpharma.com
Chlorin LS11 Talaporfin	Light Science www.lightsciences.com
Chlorin Photochlor	HPPH RPCI www.roswellpark.org
Dye Photosens® Phthalocyanine	General Physics Institute www.gpi.ru
Levulan	http://www.dusapharma.com/levulan-photodynamic-therapy.html
Methyl aminolevulinat (MAL) Metvix	www.photocure.com , www.galderma.com

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΑΝΑΚΛΑΣΗΣ

Παρά τα ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα από τη φασματοσκοπία φθορισμού, υπάρχουν και κάποια προβλήματα που θα πρέπει να αντιμετωπισθούν. Για παράδειγμα, τα φάσματα εκπομπής φθορισμού επηρεάζονται έντονα από την απορρόφηση και τη σκέδαση του φωτός διέγερσης, αλλά και του εκπεμπόμενου φθορισμού, στον ιστό. Ακόμα δεν έχει καθοριστεί ποιές από τις οπτικές ιδιότητες του δερματικού ιστού περιέχουν πραγματικά τις πληροφορίες, τις σχετικές με τη διάγνωση του καρκίνου. Επομένως, απαιτούνται πρόσθετες τεχνικές για να βελτιώσουν την ακρίβεια της απεικόνισης του αυτοφθορισμού (Chang C *et al* 1999). Παραδείγματος χάριν, το διάχυτο φάσμα ανάκλασης «απεικονίζει» τις ιδιότητες σκέδασης και απορρόφησης του δερματικού ιστού, όπου ο συντελεστής απορρόφησης συσχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση των φυσικών φθοροφόρων του ιστού και ο συντελεστής σκέδασης απεικονίζει το μέγεθος και την πυκνότητα των σκεδαστικών κέντρων στον ιστό (Drakaki E *et al* 2009, Drakaki E *et al* 2013).

Δεδομένου ότι το σήμα της διάχυτης ανάκλασης είναι η υπέρθεση από διάχυτη σκέδαση και απορρόφηση από τους ιστούς, το προκύπτον φάσμα μπορεί να αποκαλύψει πληροφορίες σχετικά με τους κύριους απορροφητές, όπως η αιμοσφαιρίνη και η μελανίνη, καθώς και τις παθολογίες τους και μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες, όσον αφορά τόσο στη μορφολογία και τη λειτουργία του

ιστού, όσο και στον εντοπισμό καλοήθων και καρκινικών ή προκαρκινικών αλλοιώσεων του δέρματος, με σκοπό τη μείωση ανεπιθύμητων βιοψιών.

Έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνικές που βασίζονται στη φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης, για την αξιολόγηση των nMSC (Marchesini R *et al* 1991, Mehrübeoğlu M *et al* 2002, Garcia-Uribe A *et al* 2004). Το πλεονέκτημα αυτής της φασματοσκοπίας έγκειται στη δυαδική διάγνωση (καρκίνος / όχι καρκίνος), καθιστώντας την μια ελκυστική μέθοδο παρακολούθησης, η οποία μπορεί να λειτουργήσει με ελάχιστη πρόσθετη εκπαίδευση.

Οι περισσότεροι από τους ερευνητές βρήκαν χαμηλότερες εντάσεις στο φάσμα ανάκλασης σε BCC ιστούς του δέρματος, σε σύγκριση με το αντίστοιχο υγιές δέρμα (N Rajaram *et al* 2010, A.J. Thompson *et al* 2012). Ο Thomson και οι συνεργάτες του (Thompson AJ *et al* 2012) ήταν σε θέση να διαγνώσουν BCC και γειτονικό υγιές δέρμα, χρησιμοποιώντας μια γραμμική ανάλυση, βάση ενός πρωτόκολλου, με ευαισθησία και διακριτική ικανότητα 100% και 71% αντίστοιχα. Ο Rajaram και οι συνεργάτες του (Rajaram N *et al* 2010) βρήκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) στις οπτικές ιδιότητες μεταξύ υγιούς δέρματος και διάφορων ιστολογικών ομάδων, π.χ. για BCC, SCC και ακτινική κεράτωση (AK). Μια εξήγηση, σύμφωνα με τον Rajaram (Rajaram N *et al* 2010), είναι η πιθανή «κατάρρευση» στη μήτρα κολλαγόνου στο χόριο, στη δεδομένη χρονική στιγμή. Η συμβολή του κολλαγόνου στη συνολική σκέδαση υπερβαίνει κατά πολύ εκείνης των κυττάρων και των πυρήνων. Εξαιτίας αυτού, μια μικρή αύξηση στη σκέδαση της επιδερμίδας, λόγω της μεγάλης αύξησης των κακοήθων κυττάρων, θα εξακολουθούσε να συγκαλύπτεται από μια μεγαλύτερη μείωση σκέδασης του κολλαγόνου. Επιπλέον, μία αύξηση στο πάχος της επιδερμίδας με την πρόοδο της κακοήθειας θα μπορούσε να μειώσει την ποσότητα του κολλαγόνου που επιλέγεται από τον ανιχνευτή. Αυτός θα μπορούσε επίσης να οδηγήσει σε μείωση στην σκέδαση από τον κακοήθη ιστό. Αυτή η τάση της σκέδασης από το υγιές στο μη υγιές δέρμα είναι σύμφωνη με μελέτες άλλων ερευνητών σχετικά με το δέρμα, όπου ο συντελεστής σκέδασης ήταν σημαντικά χαμηλότερος για κάθε ομάδα nMSC, σε σύγκριση με το υγιές δέρμα (Garcia-Uribe A *et al* 2005, Salomatina E *et al* 2006). Τα φάσματα από φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης (DRS) από διάφορους ερευνητές (Salomatina E *et al* 2006, Rajaram N *et al* 2010) παρουσίασαν μια μεγάλη πλάτυνση της διάχυτης ανάκλασης περίπου στα 420 nm, που αντιστοιχούσε στην ζώνη απορρόφησης Soret της αιμοσφαιρίνης, ενώ η αλλαγή στο σχήμα της φασματικής γραμμής του BCC έδειξε «κοιλιάδες» (μείωση) στις ζώνες Q (540-575 nm) της απορρόφησης της αιμοσφαιρίνης.

Τα δεδομένα των Narasimhan Rajaram και των συνεργατών του (Narasimhan Rajaram *et al* 2009) έδειξαν επίσης διαφορές στις ιδιότητες απορρόφησης του φυσιολογικού δέρματος και των κακοήθων αλλοιώσεων. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε μια στατιστικά σημαντική τάση στη διάμετρο των αιμοφόρων αγγείων με την πορεία της εξέλιξης από υγιές δέρμα σε SCC και BCC. Η αγγειογένεση είναι ένα γνωστό φαινόμενο και αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι όγκοι τείνουν να προκαλούν παραγωγή ενός δικτύου αιμοφόρων αγγείων και να εμφανίζουν υψηλότερη απορρόφηση (Folkman J 1990).

Εκτός από τις οπτικές ιδιότητες που προέρχονται από τα DRS φάσματα, ο Narasimhan Rajaram και οι συνεργάτες του (Rajaram N *et al* 2009) προσδιόρισαν επίσης τη βιοχημική σύνθεση του ιστού και μελέτησαν τη συμπεριφορά της σε σχέση με την εξέλιξη σε κακοήθεια. Η ανάλυσή τους έδειξε ότι η συμβολή του κολλαγόνου μειώθηκε σημαντικά με την πρόοδο από υγιές δέρμα σε κακοήθεις SCC. Ωστόσο, η τάση δεν ήταν ομοιόμορφη, όταν η συμβολή του κολλαγόνου στις προκαρκινικές AK ήταν υψηλότερη τόσο στο υγιές δέρμα όσο και στο SCC. Αν και η πρόοδος από AK σε SCC μπορεί να εξηγηθεί με λόγους παρόμοιους με εκείνους της σκέδασης, δεν κατανόησαν πλήρως τους λόγους για την αύξηση των επιπέδων φθορισμού από το κλινικός υγιές δέρμα προς AK αλλοιώσεις.

Προηγούμενες μελέτες έχουν αναφέρει μια αύξηση των μεταλλοπρωτεϊνών μήτρας (MMPs), μια ομάδα των κολλαγενασών που διασπούν τις διασταυρωμένες συνδέσεις του κολλαγόνου και οδηγεί σε μείωση του επιπέδου φθορισμού από το κολλαγόνο (Drezek R *et al* 2001). Ο Narasimhan Rajaram και οι συνεργάτες του (Narasimhan Rajaram *et al* 2009) παρατήρησαν επίσης μία μοναδική τάση στην συνεισφορά του NADH. Το NADH είναι ένα υποπροϊόν του κυτταρικού μεταβολισμού και θα περίμενε κανείς να αυξηθεί με μεγάλης κλίμακας πολλαπλασιασμό των κυττάρων, όπως φαίνεται σε κακοήθεις αλλοιώσεις. Ωστόσο, η συμβολή του NADH μειώθηκε στην AK και στο SCC, σε σύγκριση με το υγιές δέρμα. Η ίδια τάση παρατηρήθηκε με BCC και υγιές δέρμα. Η τάση αυτή είναι σε αντίθεση με ό,τι έχει αναφερθεί από άλλους ερευνητές (Georgakoudi I *et al* 2002) Προκαταρκτική ανάλυση τους έδειξε αυτές τις τάσεις στις οπτικές ιδιότητες και στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των υγιών, καρκινικών και κακοήθων ιστών. Οι οπτικές ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά φθοροφόρων έδειξαν σαφή σημάδια της εξέλιξης από το υγιές δέρμα στις κακοήθεις αλλοιώσεις. Διάφορες παράμετροι έδειξαν να είναι διαγνωστικώς σχετικές κατά την ανάλυση τόσο των SCC όσο και των BCC δεδομένων.

Η Juzeniene Asta και οι συνεργάτες της (Juzeniene Asta *et al* 2008) παρατήρησαν αλλαγές στο ανθρώπινο δέρμα, οι οποίες προκαλούνταν από τη PDT με ερυθρό φως διέγερσης και με παρουσία της κρέμας (HAL). Μετρήθηκαν φάσματα ανακλάσεως του δέρματος στην περιοχή μηκών κύματος 300-600 nm πριν και μετά τη θεραπεία, ενώ ένα εξελιγμένο και ανάστροφο μοντέλο μεταφοράς ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε για να προσδιορίσει τις αλλαγές που προκαλούνται σε έναν αριθμό παραμέτρων του δέρματος. Τα κύρια ευρήματα της Juzeniene Asta και των συνεργατών της (Juzeniene Asta *et al* 2008) ήταν ότι η συγκέντρωση του αίματος στο δέρμα είχε αυξηθεί αμέσως μετά την PDT και είχε φτάσει σε ένα μέγιστο μετά από 1-2 ημέρες, ενώ στη συνέχεια είχε μειωθεί. Η οξυγόνωση του αίματος είχε αυξηθεί σημαντικά αμέσως μετά την PDT και στη συνέχεια μειώθηκε. Μετά την PDT, η συγκέντρωση των μελανοσωμάτων (melanosome) στην άνω επιδερμίδα είχε αυξηθεί σταθερά, ενώ καμία από τις παραπάνω μεταβολές δεν παρατηρήθηκε στα σημεία ελέγχου. Τα αποτελέσματα της Juzeniene Asta και των συνεργατών της (Juzeniene Asta *et al* 2008) υποδηλώνουν ότι η HAL-PDT είχε οδηγήσει σε αυξημένη αγγείωση, οξυγόνωση και σχηματισμό μελανίνης στην περιοχή ακτινοβολήσεως από μια πηγή φωτός (μια παλμική λυχνία ξένου).

Παρόμοιες αλλαγές είχαν επίσης παρατηρηθεί για AK και SCC, όμως αυτές δεν βρέθηκαν να είναι στατιστικά σημαντικές (Salomatina E *et al* 2006). Με βάση τη στατιστική και μαθηματική ανάλυση είχαν καθοριστεί οι τιμές της μέσης διαμέτρου των αγγείων τόσο για υγιές δέρμα, όσο και για το BCC και αναφέρθηκε ότι η αλλαγή στη μέση διάμετρο των αγγείων από το υγιές δέρμα ($15 \pm 2 \mu\text{m}$) προς το BCC ($40 \pm 6 \mu\text{m}$) ήταν στατιστικά σημαντική (Salomatina E *et al* 2006, Rajaram N *et al* 2010).

Κατά την ανίχνευση αυτοφθορισμού *in vivo*, οι ερευνητές λοιπόν θα πρέπει να λάβουν υπόψη την επίδραση των δερματικών απορροφητών και σκευαστών, η οποία διαστρεβλώνει τη φασματική μορφή του σήματος αυτοφθορισμού που προέρχεται από τον δερματικό ιστό. Για να αρθούν οι στρεβλώσεις, τα φάσματα φθορισμού μπορούν να αναλυθούν σε συνδυασμό με τις πληροφορίες από τα αντίστοιχα φάσματα ανάκλασης. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να καταγραφεί ο εγγενής (ανόθευτος) φθορισμός του ιστού (Georgakoudi I *et al* 2001). Επιπλέον, η εφαρμογή της DRS θα μπορούσε να συνδυαστεί με την εφαρμογή του φθορισμού όταν έχουμε παρουσία έντονων χρωστικών, οι οποίες εμφανίζουν υπερβολικά μεγάλο σήμα φθορισμού (Drakaki E *et al* 2009, Borisova E *et al* 2012).

Υπήρξαν ορισμένες μελέτες για την ποσοτικοποίηση των οπτικών ιδιοτήτων των φυσιολογικών και καρκινικών ιστών του δέρματος και για τη διαφοροποίηση μεταξύ τους μέσω των μετρήσεων φθορισμού και ανάκλασης. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ένας συνδυασμός πολλαπλών φασματοσκοπικών λεπτομερειών μπορεί να παρέχει βελτίωση στην ευαισθησία και την ικανότητα εξειδίκευσης της οπτικής διάγνωσης. Ένας συνδυασμός της διάχυτης ανάκλασης και της ενδογενούς φασματοσκοπίας φθορισμού έχει χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση του καρκίνου σε *in vivo* μετρήσεις με πολύ βελτιωμένα αποτελέσματα (Zhu C *et al* 2008, Volynskaya Z *et al* 2008).

Η Δρ. Γεωργακούδη και οι συνεργάτες της (Georgakoudi I *et al* 2001) συνδύασαν διάχυτη ανάκλαση, ενδογενή φθορισμό και φασματοσκοπία σκέδασης φωτός για την *in vivo* ανίχνευση προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας. Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε στατιστικές σημαντικές διαφορές στις οπτικές ιδιότητες μεταξύ των κανονικών, καλοήθων και κακοήθων ομάδων ιστών. Υπήρχαν ορατές διαφορές στο μέγεθος και το σχήμα της γραμμής των δύο φασμάτων DRS και IFS των τριών διαφορετικών ομάδων ιστών. Το κλινικώς κανονικό δέρμα έδειξε να έχει την υψηλότερη τιμή διάχυτης ανάκλασης ενώ υπήρχε μια μείωση στην συνολική ένταση των φασμάτων DRS με την εξέλιξη σε κακοήθη SCC και BCC. Ο Anderson και οι συνεργάτες του έχουν αποδείξει ξεχωριστά τη χρήση της ανάκλασης και φθορισμό απεικόνισης επαγόμενο από πηγή λέιζερ για την οριοθέτηση μη-μελανωματικού όγκου (Yaroslavsky AN *et al* 2003-2004, Salomatina E *et al* 2006).

Ωστόσο, καθεμία από αυτές τις τεχνικές χρησιμοποιεί ένα μόνο τρόπο εφαρμογής, είτε DRS ή LIF, για τη διαφοροποίηση μεταξύ των φυσιολογικών και καρκινικών ιστών του δέρματος. Επιπλέον, ο Panjehpour και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι η διαγνωστική ακρίβεια του LIFS μειώνεται δραστικά με την αύξηση του τύπου του δέρματος, υποδεικνύοντας ότι η παρουσία της μελανίνης έχει καταστήσει επιτακτική ανάγκη να μελετηθεί ο εγγενής φθορισμός από καρκίνους του δέρματος, σε αντιδιαστολή με τον φθορισμό επαγόμενο με λέιζερ (Panjehpour M *et al* 2002).

Μια φασματική τυποποίηση των αλλοιώσεων με τις γύρω μη αλλοιωμένες περιοχές του δέρματος παρεμποδίζεται από το γεγονός ότι η ακτινική βλάβη δεν περιορίζεται στις αλλοιώσεις μόνο. Έτσι, η Uwe Wollina και οι συνεργάτες της χρησιμοποίησαν ένα έμμεσο τρόπο με την αντιστάθμιση των εντάσεων φθορισμού μέσω της φασματικής ανάκλασης στο φάσμα εκπομπής (Uwe Wollina *et al* 2007). Με την αξιολόγηση του λόγου μεταξύ φθορισμού και ανάκλασης, λαμβάνονταν διορθωμένα φάσματα. Στο BCC, τόσο ο φθορισμός του NADH όσο και του κολλαγόνου είναι χαμηλότερος στην περιοχή της, σε σχέση με εκείνον στο περιβάλλον δέρμα. Πράγματι, τα BCC χαρακτηρίζονταν από μία μείωση της περιεκτικότητας σε κολλαγόνο του γειτονικού δερματικού ιστού όπως φαινόταν από ανοσοϊστοχημεία (Quatresooz P *et al* 2003, Nijssen A 2002) ή φασματοσκοπία Raman (Braun-Falco O *et al* 1965, Uwe Wollina *et al* 2007).

Η πτώση του φθορισμού του NADH αντανάκλουσε την αλλαγή στον μεταβολισμό γλυκογόνου των BCC (Newell B *et al* 2003). Ο συνδυασμός της ανάκλασης και του φθορισμού παρέχει επιπλέον στοιχεία σχετικά με την τοπική παροχή αίματος. Εσωτερική βιντεομικροσκοπία του BCC και της AK έδειξε μια αποδιοργανωμένη μικροκυκλοφορία του όγκου. Παρατηρήθηκαν αυξημένα τα πλάτη των μικρομεσαίων, η αναλογία της περιοχής και η πυκνότητα σε σύγκριση με το υγιές δέρμα (Chin CW *et al* 2003).

Το πλήθος των αγγειακών συστρωμάτων στα BCC και SCC παρατηρήθηκαν να είναι αυξημένα σε σχέση με ένα υγιές χόριο (Szabo S *et al* 1998). Τα BCC και SCC, σε αντίθεση με τις ακτινικές κερατώσεις AK, αποκαλύπτan μειωμένο ανάκλαση στην διπλή κορυφή αιμοσφαιρίνης υποδεικνύοντας αυξημένη τοπική ροή αίματος. Όσον αφορά τα διορθωμένα φάσματα φθορισμού στην ακτινική κεράτωση, αυτές οι αλλοιώσεις μοιάζαν με εκείνες που φαίνονται από ένα κατεστραμμένο από τον ήλιο δέρμα, παρά από ένα δέρμα με μη μελανωματικούς καρκίνους BCC και SCC (Wollina Uwe *et al* 2007).

Συνεπώς, τα τελευταία χρόνια, υπήρξε αυξανόμενο ενδιαφέρον για την κοινή χρήση του αυτοφθορισμού και της φασματοσκοπία ανάκλασης κυρίως για την ανίχνευση και διαφοροποίηση των καρκινικών και προ-καρκινικών αλλοιώσεων στο ανθρώπινο σώμα.

Δυστυχώς υπάρχει μεγάλη ποικιλία μεταξύ και εντός των ομάδων των φασμάτων της διάχυτης ανάκλασης και επίσης δυσκολία ταξινόμησης λόγω της ετερογένειας των αλλοιώσεων και ανατομικών διαφορών, διαφορών μεταξύ των ασθενών, όπως θέματα φωτοτύπου, επίπεδο έκθεσης στον ήλιο και της ηλικίας. Υπάρχει μία ανάγκη για το χωρικό εντοπισμό του όγκου και στήριξη για ανάπτυξη βελτιωμένων ταξινομητών στις ομάδες των βλαβών (BCC, SCC, AK, etc) (Fendel S *et al* 1998).

Αυτές οι τάσεις είναι ενθαρρυντικές και ένας συνδυασμός των πολλαπλών διαγνωστικών παραμέτρων θα μπορούσε να οδηγήσει σε ένα υψηλό επίπεδο ακρίβειας. Ωστόσο, πριν από την ανάλυση της ακρίβειας της τεχνικής, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τις πηγές τέτοιων τάσεων και τη βάση για τέτοιες διαφορές στις οπτικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, λόγω της συμβολής του κολλαγόνου τόσο φθορισμού και ανάκλασης από ιστό, είναι προφανές ότι υπάρχουν πολλοί λόγοι για αλλαγές σε μειωμένο συντελεστή σκέδασης και συμβολή κολλαγόνου.

Θα μπορούσε λοιπόν να γίνει αναγκαίο να εξετάσει κάνεις την ηλικία και άλλες φυσικές συνθήκες του ασθενούς κατά την επεξεργασία αυτών των δεδομένων, όπως αυτά μπορούν να έχουν επίδραση στο δέρμα και κολλαγόνο. Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας θα μπορούσε να είναι η πάχυνση της επιδερμίδας με την πρόοδο της κακοήθειας. Ως μέρος της μελλοντικής εργασίας μας, έχουμε την πρόθεση να μελετήσει την μορφολογία του ιστού βιοψίας για να προσδιοριστεί η μέση αύξηση στο πάχος του, εάν υπάρχει, με κακοήθεια. Μια τέτοια μελέτη θα μπορούσε να εξηγήσει τις τάσεις της σκέδασης και φθορισμού και να οδηγήσει σε καλύτερη κατανόηση της «οπτικής συμπεριφοράς» των κακοήθων δέρμα.

ΔΟΣΙΜΕΤΡΙΑ

Η δοσιμετρία είναι συνήθως ένας ξένος όρος για τους περισσότερους γιατρούς. Ωστόσο, η δοσιμετρία είναι η πιο σημαντική και η λιγότερο κατανοητή πτυχή της φωτοδυναμική θεραπείας. (Allison RR *et al* 2004). Η δόση της ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται στην PDT, συνήθως δίνεται σε joule ανά τετραγωνικό εκατοστό, είναι εμπειρική και ποικίλλει ευρέως ανάλογα με την τοποθεσία, το μέγεθος, και ιστοπαθολογική κατάσταση της βλάβης.

Η δοσιμετρία επιτρέπει μία ομοιογενή ή μη ομογενή κατανομή της δόσης πάνω από την περιοχή που θα έχουμε PDT και επίσης αξιολογεί με ποσοτική δοσολογία και αριθμούς τους φυσιολογικούς ιστούς. Είναι σαφές ότι η ιδανική δόση για την PDT θα παράγει θανατηφόρα αποτελέσματα πάνω από την κακοήθη περιοχή, ενώ θα έχουμε ελαχιστοποίηση των βλαβών στην υγιή περιοχή. Με άλλα λόγια, αρκεί συγκεκριμένη ποσότητα ακτινοβολίας για να έχουμε κάλυψη όλου του όγκου του ιστού υπό θεραπεία. Δυστυχώς δεν υπάρχει σύστημα δοσιμετρίας που να μετράει σε πραγματικό χρόνο. (Allison RR *et al* 2004). Η χρήση του ίδιου φάρμακου, ίδιας δόσης έγχυσης, ίδιας δόσης φωτός μπορεί να οδηγήσει σε ανόμοια αποτελέσματα ακόμα και στον ίδιο ασθενή, που μπορεί να έχουν πολλαπλές βλάβες (Allison RR *et al* 2008).

Σε μια ακριβή και άμεση μέθοδο δοσιμετρίας, η δόση κατωφλίου της PDT ορίζεται ως ο ελάχιστος αριθμός των φωτονίων που απορροφούνται από τον φωτοευαίσθητοποιητή ανά μονάδα όγκου ιστού που απαιτείται για την νέκρωση του ιστού. Αντίθετα, μια έμμεση δοσιμετρία PDT βασίζεται στη μέτρηση μιας μεταβλητής που εξαρτάται αρκετά ευαίσθητα από ένα ευρύ φάσμα απόκρισης παραγόντων που καθορίζουν τη θεραπεία. Η διακύμανση της εκπομπής φθορισμού ενός φωτοευαίσθητοποιητή μπορεί σε μερικές περιπτώσεις να συσχετιστεί με την ανταπόκριση των ιστών και είναι επομένως ένας κορυφαίος υποψήφιος για σιωπηρή δοσιμετρία

Το κλειδί για τη μεγιστοποίηση του αποτελέσματος είναι ένα αξιόπιστο σύστημα δοσιμετρίας

που περιλαμβάνει όλες τις σχετικές μεταβλητές σε μια θεραπεία. Το σύστημα δοσιμετρίας θα πρέπει να καθοδηγεί και να βελτιώνει την θεραπεία. Οι επιδράσεις και παρενέργειες της θεραπείας είναι ιδιαίτερα προβλέψιμες, αφού πρέπει να οφείλεται εν μέρει σε ένα ακριβές σύστημα δοσιμετρίας με βάση την αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας και της ύλης (Allison RR *et al* 2008).

Τόσο από πρακτικής όσο και θεωρητικής απόψεως, τα πρωτόκολλα δοσιμετρίας στη PDT σχεδιάζονται για να διαπιστωθεί η χαμηλότερη δυνατή δόση φωτοευαισθητοποιητή (για τη μείωση των επιπτώσεων στο υγιές δέρμα και τη μείωση της συνολικής φωτοευαισθησία) και η μέγιστη δόση ακτινοβολίας (για να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή διείσδυση στους ιστούς). Η βελτίωση της PDT βασίζεται στην συλλογική εργασία φυσικών, βιοχημικών και κλινικών επιστημών. Μια καλύτερη κατανόηση της φωτεινής κατανομής στους ιστούς θα συνεισφέρει στην ακριβή ορισμό και την τυποποίηση της δοσιμετρίας του φωτός.

Τρέχοντα πρωτόκολλα θεραπείας PDT προβλέπουν τέσσερις ποσότητες που καθορίζουν τη χορηγούμενη δόση: η χορηγηθείς συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή, η προσπίπτουσα πυκνότητα ενέργειας, ο ρυθμός πυκνότητα ενέργειας και το χρονικό διάστημα αναμονής μέχρι την ακτινοβολία. Συνταγές δοσιμετρίας που κάνουν χρήση μόνο αυτές τις παραμέτρους, έχουν, ωστόσο αποδειχθεί ασυνεπείς στην πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας της θεραπεία. Επιπρόσθετα με τις ανομοιογένειες από βλάβη σε βλάβη, αμφοτέρως στις οπτικές ιδιότητες και στην ιστολογία αλλοίωσης, έχουμε και άλλους περιορισμούς στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας από το γεγονός ότι η PDT είναι μια δυναμική και πολυμεταβλητή διαδικασία κατά την οποία οι συγκεντρώσεις του οξυγόνου, η συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή και ακόμα και ρυθμός πυκνότητα ενέργειας εντός του ιστού μπορεί να ποικίλουν.

Τα μοντέλα για τη Φωτοδυναμική δοσιμετρία προσφέρουν μια ποσοτική βάση για τη βελτίωση της PDT και των πρωτόκολλων θεραπείας και απαιτούν ακριβείς μετρήσεις των οπτικών ιδιοτήτων του ιστού για την εφαρμογή τους. Εκτός από τα χαρακτηριστικά της πηγής ακτινοβολίας, η διάδοση του φωτός σε ένα βιολογικό μέσο επηρεάζεται από τους οπτικές ιδιότητες του. Αυτές οι οπτικές ιδιότητες ποικίλουν ανάλογα με το μήκος κύματος φωτός διεγέρσεως και τη σύνθεση και μορφολογία του ιστού. Ως εκ τούτου η μοντελοποίηση μετάδοσης του φως θα πρέπει να λάβει υπόψη όλα αυτά για να πάρει ένα ακριβές αποτέλεσμα. Επιπλέον είναι επιθυμητό να ληφθεί υπόψη η δυναμική φύση των εμπλεκόμενων φωτοχημικών αντιδράσεων, για να πάρουμε τη χωρική και χρονική συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή και την επιρροή του στην απορρόφηση της ακτινοβολίας διεγερσης.

Για να ρυθμιστεί η τρέχουσα δοσιμετρία ώστε να έχουμε μια καλύτερη έκβαση της θεραπείας, η ανάπτυξη ακριβών μοντέλων πρόβλεψης έχει αναδειχθεί ως ένα πολύτιμο εργαλείο για την επίτευξη νέων πρωτόκολλων. Αρκετές προσπάθειες έχουν γίνει για την ανάπτυξη μοντέλων που λαμβάνουν υπόψη κύριες φωτοφυσικές διαδικασίες που εμπλέκονται στην PDT όπως η κατανομή του φωτοευαισθητοποιητή, η μετάδοση της ακτινοβολίας εντός του ιστού, η παροχή οξυγόνου και διάφορες φωτοχημικές αλληλεπιδράσεις. Όσο αφορά τη μετάδοση του φωτός, τα περισσότερα μοντέλα χρησιμοποιούν Monte Carlo για να ληφθεί η απορρόφηση φωτός στο ιστό στόχο, λαμβάνοντας υπόψη τις οπτικές ιδιότητες του ιστού. Ωστόσο, η επίδραση της κατανομής του φωτοευαισθητοποιητή στις οπτικές παραμέτρους δεν έχει ληφθεί υπόψη μέχρι τώρα, και θα μπορούσε να έχει μεγάλο ενδιαφέρον για την ακριβή εκτίμηση όχι μόνο της κατανομής του φωτός εντός του ιστού, αλλά επίσης για τη μελέτη της «απόσβεσης» του φωτοευαισθητοποιητή σε μία *in vivo* εφαρμογή PDT.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Για τη θεραπεία του μη-μελάνωματικού καρκίνου του δέρματος εκτός από τη χειρουργική εκτομή υπάρχουν αρκετές εναλλακτικές λύσεις για τη διάγνωση και τη θεραπεία του. Ο φθορισμός, επαγόμενος από μια πηγή φωτός, έχει προταθεί ως διαγνωστική μέθοδος αφού ο εκπεμπόμενος αυτοφθορισμός από φυσιολογικό ιστό είναι διαφορετικής έντασης από το φθορισμό μη φυσιολογικού ιστού. Η φασματοσκοπία ανάκλασης μπορεί να αποκαλύψει πληροφορίες σχετικά με τους κύριους απορροφητές, και μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες στον εντοπισμό καλοηθών και καρκινικών ή επιρρεπείς σε καρκίνο βλαβών του δέρματος.

Η Φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) είναι μια μη επεμβατική, αποτελεσματική θεραπεία επιλογής για ορισμένους τύπους όγκων του δέρματος, με ένα εξαιρετικό αισθητικό αποτέλεσμα. Κάθε χρόνο η δερματολογική της χρήση γίνεται όλο και πιο διαδεδομένη. Η απεικόνιση του φθορισμού και της ανάκλασης αποκαλύπτουν υψηλής ευκρίνειας φασματικές πληροφορίες που είναι χρήσιμες για την ταξινόμηση των κακοήθων όγκων του δέρματος. Συμπληρωματικά με τη φασματοσκοπία φθορισμού και ανάκλασης για διαγνωστικούς σκοπούς η Φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) είναι ιδιαίτερα κατάλληλη ακόμη και για μια θεραπεία σε συνδυασμό με χειρουργικές μεθόδους και για μια πιο ακριβή εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της χειρουργικής θεραπείας.

Αυτό το θέμα της έρευνας είναι επίκαιρο και καινοτόμο, στον βαθμό που έρχεται να αντιμετωπίσει σημαντικότερα προβλήματα στην ιατρική πράξη, στον χώρο της δερματολογίας, τα οποία σχετίζονται αφ' ενός μεν με την πρόωγη διάγνωση κακοηθών καρκίνων του δέρματος, όσο και με την συμβολή στην βελτίωση της Φωτοδυναμική Θεραπείας. Αξιοποιούνται συνδυαστικά σύγχρονες μέθοδοι της οπτικής φασματοσκοπίας ανάκλασης και φθορισμού, της τεχνολογίας νέων οπτικών πηγών, της επεξεργασίας εικόνας και σήματος με υπολογιστικές μεθόδους με τις καθιερωμένες τεχνικές και μεθόδους της ιατρικής επιστήμης. Είναι φανερό ότι η βελτίωση της υγείας πρέπει να βασίζεται σε έγκαιρη διάγνωση και όσο το δυνατόν μη επεμβατική θεραπεία που και τα δυο απαιτούν διεπιστημονικές προσεγγίσεις.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ: Αυτή η μελέτη χρηματοδοτείται από το ερευνητικό πρόγραμμα «ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ ΙΙΙ: Ενίσχυση Ερευνητικών Ομάδων στα ΤΕΙ», Νο 021215, Κωδικός MIS: 379389, με αγγλικό τίτλο “FluDiaPhoSkin Therapy” του ΤΕΙ ΑΘΗΝΑΣ χρηματοδοτούμενο από το Υπουργείο Παιδείας, & Θρησκευμάτων, Πολιτισμού & Αθλητισμού στα πλαίσια του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) 2007 – 2013.

Βιβλιογραφία:

- Ackermann G, Abels C, Baumler W, Langer S, Landthaler M, Lang EW, Szeimies RM. (1998) “Simulations on the selectivity of 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence in vivo”. *J Photochem Photobiol B*, 47(2-3):121-128.
- Allison R.R., Downie G.H., Cuenca R., Xin-Hua Hu., Childs C.J.H, Sibata C.H, (2004). “Photosensitizers in clinical PDT”, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 1(1) : 27-42.
- Asta Juzeniene, Kristian Pagh Nielsen, Lu Zhao, Gennady A. Ryzhikov, Marina S. Biryulina, Jakob J. Stamnes, Knut Stamnes, Moan J. (2008) “Changes in human skin after topical PDT with hexyl aminolevulinat”, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 5: 176-181.
- Babilas P, Karrer S, Sidoroff A, Landthaler M, Szeimies RM. (2005). “Photodynamic therapy in dermatology-an update”. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 21(3):142—149.
- Basset-Seguín N, Ibbotson S, Emtestam L, Tarstedt M, Morton C, Maroti M, Calzavara-Pinton P, Varma S, Roelandts R, Wolf P, Saksela O, Rosdahl I. (2004). “MAL-PDT versus cryotherapy in primary sBCC: results of 36 months follow-up”. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 18(suppl 2):412.
- Basset-Seguín N, Ibbotson S, Emtestam L, Tarstedt M, Morton C, Maroti M, Calzavara-Pinton P, Varma S, Roelandts R, Wolf P, Saksela O, Rosdahl I. (2005). “MAL-PDT vs. cryotherapy in primary sBCC: results of 48-month follow up. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 19(Suppl 2):237.
- Bermudez Moretti M, Correa Garcia SR, Stella C, Ramos EH, Battle A. (1993). “Delta-aminolevulinic acid transport in *saccharomyces cerevisiae*”. *Int J Biochem* 25(12):1917-1924.
- Bigio J. and Mourant J. R. (1997). “Ultraviolet and Visible Spectroscopies for Tissue Diagnostics: Fluorescence Spectroscopy and Elastic-scattering Spectroscopy,” *Phys. Med. Biol.*, 42(5): 803-814.
- Bissonnette R, Lui H. (2007). “Current status of photodynamic therapy in dermatology”. *Dermatol Clin* 15(3):507-519.
- Blume JE, Oseroff AR. (2007). “Aminolevulinic acid photodynamic therapy for skin cancers”. *Dermatol Clin*. 25(1):5-14.
- Borisova E.G., Troyanova P.P., Stoyanova V.P. and Avramov L.A. (2005). “Laser-induced fluorescence spectroscopy of benign and malignant cutaneous lesions”. *Proc. SPIE*. 5830: 394-398.
- Borisova E., Troyanova P. and Avramov L. (2006). “Optical Biopsy of Non-Melanin Pigmented Cutaneous Benign and Malignant Lesions” *Proc. SPIE*, 6257: 62570U-1-8.
- Borisova E., Dogandjiiska E., Bliznakova I., Avramov L., Pavlova E. and Troyanova P. (2009). “Multispectral autofluorescence diagnosis of non-melanoma cutaneous tumors”. *Proc. SPIE*. 7368: 736823.
- Borisova E., Avramov L., Pavlova E., Pavlova P. (2010). “Qualitative Optical Evaluation of Malignancies Related to Cutaneous Phototype”. *Proc. SPIE*, 7563: 75630X.

Borisova E., Pavlova P., Pavlova E., Troyanova P., Avramov L. (2012). "Optical Biopsy of Human Skin – A Tool for Cutaneous Tumours' Diagnosis" *Int. J. Bioautomation*. 16(1), 53-72

Braathen Lasse R, Szeimies Rolf-Markus, Basset-Seguín N., Bissonnette R., Foley P., Pariser D., Roelandts R., Wennberg A.M. and Morton C.A. (2007). "Guidelines on the use of photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer: An international consensus". *J. Am. Acad. Dermatol.* 56(1):125-143.

Brancaleon L., Bamberg M.P., Sakamaki T., Kollias N. (2001). "Attenuated total reflection-Fourier transform infrared spectroscopy as a possible method to investigate biophysical parameters of stratum corneum *in vivo*". *J Invest. Dermatol.* 116(3): 380-386.

Braun-Falco O, Petzold D. (1965). "Über die Histotopie von NADH und NADPH-Tetrazoliumreduktase in menschlicher Haut. II. Pathologisch veränderte Haut und Hauttumoren". *Arch klin exp Dermatol.* 221: 410–432.

Cairnduff F, Stringer MR, Hudson EJ, Ash DV, Brown SB. (1994). "Superficial photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid for superficial primary and secondary skin cancer". *Br. J. Cancer.* 69(3):605-608.

Calzavara-Pinton PG. 1995 "Repetitive photodynamic therapy with topical delta-aminolevulinic acid as an appropriate approach to the routine treatment of superficial nonmelanoma skin tumors". *J Photochem. Photobiol. B.* 29(1):53-57.

Cheng Haynes P.H., Svenmarker P., Xie Haiyan, Tidemand-Lichtenberg P., Jensen O.B., Bendsoe N., Svanberg K., Petersen P. M., Pedersen C., Andersson-Engels S., Andersen P.E. "Autofluorescence of pigmented skin lesions using a pulsed UV laser with synchronized detection: clinical results". *Proc. SPIE.* 7715: 77151K.

Chin C.W., Foss A.J, Stevens A. and Lowe J. (2003). "Differences in the vascular patterns of basal and squamous cell skin carcinomas explain their differences in clinical behavior". *J. Pathol.* 200(3): 308–313.

Chwirot B.W., Chwirot, S., Sypniewska, N., Michniewicz, Z., Redzinski, J., Kurzawski, G. and Ruka, W. (2001). "Fluorescence In Situ Detection of Human Cutaneous Melanoma: Study of Diagnostic Parameters of the Method," *Journal of Investigative Dermatology*, 117(6): 1449-1451.

Debreczeny M.P., Bates R., Fitch R.M., Galen K.P., Jiajia Ge, Dorshow R.B. (2011). "Do show "Human Skin Auto-fluorescence Decay as a Function of Irradiance and Skin Type". *Proc. SPIE.* 7897:78971T.

Drakaki E., Vergou Th. , Dessinioti Cl., Stratigos A.J., Salavastru C., Antoniou C. (2013). "Spectroscopic methods for the photodiagnosis of nonmelanoma skin cancer" *Journal of Biomedical Optics* 18(6), 061221.

Drakaki E., Makropoulou M. and Serafetinides A.A. (2008). "In vitro fluorescence measurements and Monte Carlo simulation of laser irradiation propagation in porcine skin tissue". *Lasers. Med. Sci.* 23(3) 267-276.

Drakaki E., Kaselouris E., Makropoulou M., Serafetinides A.A., Tsenga A., Stratigos A.J., Katsambas A.D., Antoniou C. (2009). "Laser-induced fluorescence and reflectance spectroscopy for the discrimination of basal cell carcinoma from the surrounding normal skin tissue". *Skin Pharmacol Physiol* 22(3): 158-165.

Drake L.A., Ceilley R.I., Cornelison R.L., Dobes W.A., Dorner W., Goltz R.W., Lewis C.W., Salasche S.J., Turner M. L., Graham G. F. (1992). "Guidelines of care for basal cell carcinoma. The American Academy of Dermatology Committee on Guidelines of Care". *J. Am. Acad. Dermatol.* 26(1):117-120.

FDA.gov website. Retrieved on March 13, 2004. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/03/slides/1>

Fijan S., Hoenigsmann H., Ortel B. (1995). "Photodynamic therapy of epithelial skin tumors using delta-aminolevulinic acid and desferrioxamine". *Br J Dermatol* 133(2):282-8.

Gregory R.O., Goldman L. (1986). "Application of photodynamic therapy in plastic surgery". *Lasers. Surg. Med.* 6(1):62-66.

Georgakoudi I, Jacobson B.C., Van Dam J., Backman V., Wallace M.B., Müller M.G., Zhang Q., Badizadegan K., Sun D., Thomas G.A., Perelman L.T., Feld M.S. (2001). "Fluorescence, reflectance, and light-scattering spectroscopy for evaluating dysplasia in patient with Barrett's esophagus". *Gastroenterology.* 120(7): 1620–1629.

Georgakoudiet I., Sheets E.E., Müller M.G., Backman V., Crum C.P., Badizadegan K., Dasari R.R., Feld M.S. (2002). "Trimodal spectroscopy for the detection and characterization of cervical precancers *in vivo*," *Am. J. Obstet. Gynecol.* 186(3): 374–382.

Gillies R., Zonios G., Anderson R.R. and Kollias N. (2000) "Fluorescence excitation spectroscopy provides information about human skin *in-vivo*". *J. Invest. Dermatol.* 115(4): 704-707.

Horn M, Wolf P, Wulf HC, Warloe T, Fritsch C, Rhodes LE, Kaufmann R., De Rie M., Legat F.J., Stender I.M., Solér A.M., Wennberg A.M., Wong G.A., Larkö O. (2003). "Topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy in patients with basal cell carcinoma prone to complications and poor cosmetic outcome with conventional therapy". *Br. J. Dermatol.* 149(6):1242-1249.

Jones CM, Mang T, Cooper M, Wilson BD, Stoll HL Jr. (1992). "Photodynamic therapy in the treatment of Bowen's disease". *J Am. Acad. Dermatol.* 27(6 Pt1):979-982.

Ibbotson SH, Moseley H, Brancalion L, Padgett M., O'Dwyer M., Woods J.A., Lesar A., Goodman C., Ferguson J. (2004). "Photodynamic therapy in dermatology: Dundee clinical and research experience". *Photodiagn Photodyn Ther.* 1(3):211-223.

Katika K.M. and Pilon L. (2006). "Steady-state directional diffuse reflectance and fluorescence of human skin" *Appl.Opt.* 45(17): 4174-4184.

Karpenter K.L. (2004). "A Novel Skin Imaging Technique and the Transdermal Delivery of Melanin", PhD Thesis, Department of Engineering – Chemical Engineering, Florida State University.

Kalka K., Merk H. and Mukhtar H. (2000). "Photodynamic therapy in dermatology", *J Am. Acad. Dermatol.* 42(3):389-413.

Kennedy J.C. and Pottier R.H. (1992). "Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy". *J Photochem Photobiol B.* 14(4):275-292.

Keller G.S., Razum N.J. and Doiron D.R. (1989). "Photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer". *Facial Plast. Surg.* 6(3):180-184.

Koenig F., McGovern F.J., Enquist H., Larne R., Deutsch T.F. and Schomacker K.T. (1998) "Autofluorescence guided Biopsy for the Early Diagnosis of Bladder-Carcinoma". *J. Urology.* 159(6): 1871-1875.

Kollias N., Gillies R., Moran M., Kochevar I.E., Anderson R.R. (1998). "Endogenous skin fluorescence includes bands that may serve as quantitative markers of aging and photoaging". *J Invest. Dermatol.* 111(5):776-780.

Kollias N., Zonios G. and Stamatas G. (2002). "Fluorescence Spectroscopy of Skin". *Vibrat. Spectrosc.* 28(1), 17-24.

Lohmann W. and Paul E. (1988). "In situ Detection of Melanomas by Fluorescence Measurements" *Naturwissenschaften.* 75(4): 201-202.

Lui H., Salasche S, Ariz T., Kollias N, Wimberly J., Flotte T., McLean D., Anderson R.R. (1995). "Photodynamic therapy of nonmelanoma skin cancer with topical aminolevulinic acid: a clinical and histologic study". *Arch Dermatol.* 131(6):737-738.

Martin A, Tope WD, Grevelink JM, Starr JC, Fewkes JL, Flotte TJ, Deutsch T.F, Anderson R.R. (1995). "Lack of selectivity of protoporphyrin IX fluorescence for basal cell carcinoma after topical application of 5-aminolevulinic acid: implications for photodynamic treatment". *Arch. Dermatol. Res.* 287(7):665-674.

McGillis S. Teri, and Fein H. (2004). "Topical Treatment Strategies for Non-Melanoma Skin Cancer and Precursor Lesions". *Semin. Cutan. Med. Surg.* 23(3):174-183.

Mogensen M. and Jemec G.B.E. (2009). "Accuracy in the Diagnosis of Non-Melanoma Skin Cancer, Non-Surgical Treatment of Keratinocyte Skin Cancer," Chap. 6 in *Non-Surgical Treatment of Keratinocyte Skin Cancer*, Gregor B.E. Jemec, Lajos Kemeny, Donald Miech, Eds., Springer.

Mosterd K., Thissen M.R., Nelemans P., Kelleners-Smeets NW, Janssen RL, Broekhof KG, Neumann HA, Steijlen PM, Kuijpers D.I. (2008). "Fractionated 5-aminolevulinic acid-photodynamic therapy vs. surgical excision in the treatment of nodular basal cell carcinoma: results of a randomized controlled trial". *Br. J. Dermatol.* 159(4):864—70.

Morton C.A., Brown S.B., Collins S., Ibbotson S, Jenkinson H, Kurwa H, Langmack K, McKenna K, Moseley H, Pearse AD, Stringer M, Taylor DK, Wong G, Rhodes LE. (2002). "Guidelines for topical photodynamic therapy: report of a workshop of the British Photodermatology Group". *Br. J. Dermatol.* 146(4):552-567.

Morton CA, MacKie RM, Whitehurst C., Moore J.V., McColl J.H. (1998). "Photodynamic therapy for basal cell carcinoma: effect of tumor thickness and duration of photosensitizer application on response". *Arch. Dermatol.* 134(2):248-249.

Mosterd K., Thissen M.R., Nelemans P., Kelleners-Smeets N.W., Janssen R.L., Broekhof K.G., Neumann H.A., Steijlen P.M., Kuijpers D.I. (2008). "Fractionated 5-aminolevulinic acid-photodynamic therapy vs. surgical excision in the treatment of nodular basal cell carcinoma: results of a randomized controlled trial". *Br. J. Dermatol.* 159(4):864-70.

Na R., Stender I.-M., Henriksen M., Wulf H.C. (2001). "Autofluorescence of human skin is age-related after correction for skin pigmentation and redness". *J Invest. Dermatol.* 116(4): 536-540

Na R., Stender I.M. and Wulf H.C. (2001). "Can autofluorescence demarcate basal cell carcinoma from normal skin? A comparison with protoporphyrin IX fluorescence". *Acta Derm. Venereol.* 81(4):246-249.

Newell B., Bredlow A.J., Cliff S., Drysdale S.B., Stanton A.W., Mortimer P.S. (2003). "Comparison of the microvasculature of basal cell carcinoma and actinic keratosis using intravital microscopy and immunohistochemistry". *Br. J. Dermatol.* 149(1): 105-110.

Nijssen A., Bakker Schut T.C., Heule F., Caspers P.J., Hayes D.P., Neumann M.H., Puppels G.J. (2002). "Discriminating basal cell carcinoma from its surrounding tissue by Raman spectroscopy". *J. Invest. Dermatol.* 119(1): 64-69.

Orenstein A., Kostenich G., Tsur H., Roitman L., Ehrenberg B., Malik Z. (1995). "Photodynamic therapy of human skin tumors using topical application of 5-aminolevulinic acid, DMSO and EDTA". *Proc. SPIE.* 2325:100-105.

Panjehpour M., Julius CE, Phan MN, Vo-Dinh T (2002). "Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy for *In Vivo* Diagnosis of Non-melanoma Skin Cancers". *Lasers Surg. Med.* 31(5):367-373.

Pena A., Strupler M., Boulesteix T., and Schanne-Klein M. (2005). "Spectroscopic Analysis of Keratin Endogenous Signal for Skin Multiphoton Microscopy". *Opt. Express*, 13(16): 6268-6274.

Peng Q., Warloe T., Berg K., Moan J., Kongshaug M., Giercksky K.E., Nesland J.M. (1997). "5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. Clinical research and future challenges". *Cancer* 79(12):2282-2308.

Peng Q., Warloe T., Moan J., Heyerdahl H., Steen H.B., Nesland J.M., Giercksky K.E. (1995). "Distribution of 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins in noduloulcerative basal cell carcinoma". *Photochem. Photobiol.* 62(5):906-913.

Peng Q., Soler A.M., Warloe T., Nesland J.M., Giercksky K.E. (2001). "Selective distribution of porphyrins in skin thick basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate". *J Photochem. Photobiol. B* 62(3):140-145.

Pennington D.G., Waner M., Knox A. (1988). "Photodynamic therapy for multiple skin cancers". *Plast. Reconstr. Surg.* 82(6):1067-1071.

Petrelli N.J., Cebollero J.A., Rodriguez-Bigas M., Mang T. (1992). "Photodynamic therapy in the management of neoplasms of the perianal skin". *Arch. Surg.* 127(12):1436-1438.

Photocure.com website. Retrieved on March 13, 2004. <http://www.photocure.com/>

Rajaram N., Reichenberg J.S., Migden M.R., Nguyen T.H., Tunnell J.W. (2010). "Pilot clinical study for quantitative spectral diagnosis of non-melanoma skin cancer." *Lasers Surg. Med.* 42(10): 716-727

Ramanujam N. (2000). "Fluorescence Spectroscopy of Neoplastic and Non-neoplastic Tissues," *Neoplasia*, 2(1-2): 89-117

Haddad R., Neshet E., Weiss J., Skornick Y., Kashtan H. (2004). "Photodynamic therapy for Bowen's disease and squamous cell carcinoma of the skin". *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(3): 225-230.

Richards-Kortum R. and Sevick-Muraca E. (1996). "Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnostics". *Annu. Rev. Phys. Chem.* 47: 555-606.

Rhodes L.E., de Rie M., Enstrom Y., Groves R., Morken T., Goulden V., Wong G.A., Grob J.J., Varma S., Wolf P. (2004). "Photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate vs surgery for nodular basal cell carcinoma: results of a multicenter randomized prospective trial". *Arch Dermatol.* 140(1):17-23.

Sandby-Moller J., Thieden E., Philipsen P.A., Heydenreich J. and Wulf H.C. (2004). "Skin autofluorescence as a biological UVR dosimeter". *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 20: 33-40.

Sidoroff A., Thaler P. (2010). "Taking treatment decisions in non-melanoma skin cancer—The place for topical photodynamic therapy (PDT)". *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 7 : 24-32

Soler AM, Warloe T, Tausjo J, Berner A. (1999). "Photodynamic therapy by topical aminolevulinic acid, dimethylsulphoxide and curettage in nodular basal cell carcinoma: a one-year follow-up study ». *Acta Derm Venereol*. 79:204—206.

Soler AM, Warloe T, Berner A, Giercksky KE. (2001). "A follow-up study of recurrence and cosmesis in completely responding superficial and nodular basal cell carcinomas treated with methyl 5-aminolaevulinic-based photodynamic therapy alone and with prior curettage. *Br. J. Dermatol*. 145:467-471.

Souza C.S., Felicio L.B.A., Ferreirab J. C., Kurachib M.V.B., Bentleyc A.C. and Tedescod V.S. (2009). "Long-term follow-up of topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy diode laser single session for non-melanoma skin cancer". *Bagnatob Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 6:207—213.

Star WM, van't Veen AJ, Robinson DJ, Munte K., de Haas E.R., Sterenberg H.J. (2006). "Topical 5-aminolevulinic acid mediated photodynamic therapy of superficial basal cell carcinoma using two light fractions with a two-hour interval: long-term follow-up". *Acta. Derm. Venereol*. 86(5):412-417.

Svanberg K., Andersson T., Killander D. (1992). "Photodynamic therapy of human skin malignancies and laser-induced fluorescence diagnostics utilizing Photofrin and delta-aminolevulinic acid". In: Spinelli P, Fante MD, Marchesini R. *Photodynamic therapy and biomedical lasers*. Amsterdam: Elsevier Science; p. 436-440.

Svanberg K., Andersson T., Killander D., Wang I., Stenram U., Andersson-Engels S., Berg R., Johansson J., Svanberg S. (1994). "Photodynamic therapy of nonmelanoma malignant tumours of the skin using topical daminolevulinic acid sensitization and laser irradiation". *Br. J. Dermatol*. 130(6):743-51.

Szabo S, Sandor Z. (1998). "The diagnostic and prognostic value of tumor angiogenesis". *Eur. J. Surg. (Suppl*. 582): 99-103.

Takema, Y., Yorimoto, Y., Ohsu, H., Osanai, O. and Kawai, M. (1997). "Age-related discontinuous changes in the *in vivo* fluorescence of human facial skin". *J. Dermatol. Sci*. 15(1): 55-58

Telfer N.R., Colver G.B., Bowers P.W. (1999) "Guidelines for the management of basal cell carcinoma. British Association of Dermatologists". *Br. J. Dermatol*. 141(3):415-423.

Thissen M.R., Schroeter C.A., Neumann H.A. (2000). "Photodynamic therapy with delta-aminolaevulinic acid for nodular basal cell carcinomas using a prior debulking technique". *Br. J. Dermatol*. 142(2): 338-339.

Tope W.D., Menter A., El-Azhary R.A., Lowe N.J., Jarratt M., Pariser D.M., Oseroff A. and Gibson L.E. (2004). "Comparison of topical methyl aminolevulinic acid photodynamic therapy versus placebo photodynamic therapy in nodular BCC". *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol*. 18(Suppl 2):413-414.

Troyanova P., Borisova E., Stoyanova V. and Avramov L. (2006). "Laser-induced autofluorescence spectroscopy of benign and dysplastic nevi and malignant melanoma," *Proc. SPIE*. 6284: 62840K.

Utz S. (2000). "Skin optics", in *Low-level laser therapy*, ed. S. Moskvina, V. Builin, Moscow, TOO "Tehnika" pp. 58-71.

Quan Liu. (2011). "Role of optical spectroscopy using endogenous contrasts in clinical cancer diagnosis". *World J. Clin. Oncol*. 2(1): 50-63.

Quatresooz P., Martalo O., Pierard G.E. (2003). "Differential expression of alpha1(IV) and alpha5(IV) collagen chains in basal-cell carcinoma". *J. Cutan. Pathol*. 30: 548-552.

Zeng H., McLean D.I., MacAulay C.E., Palcic B. and Lui H. (1998). "Autofluorescence of basal cell carcinoma". *Proc. SPIE*. 3245: 314-317.

Zeng H. and MacAulay C., (2003) in *Handbook of Biomedical Fluorescence*, pp. 315-360 (Marcel Dekker Eds.).

Zeng H., McLean D.I., MacAulay C.E. and Lui H. (2000). "Autofluorescence properties of skin and applications in dermatology," *Proc. SPIE*. 4224: 366-373.

Zeng H., Lui H., MacAulay C., Palcic B. and McLean D.I. (1999). "Spectrometer system for diagnosis of skin diseases". United States Patent #6,008,889, December 28.

Utz S. (2000). "Skin optics, in Low-level laser therapy", ed. S. Moskvina, V. Builin, Moscow, TOO "Tehnika" p. 58-71.

Wollina U., Nelskamp C, Scheibe A, Fassler D, Schmidt WD., (2007). "Fluorescence–remission sensing of skin tumours: preliminary results". *Skin. Research. and Technology.* 13(4): 463–471.

Vo-Dinh T., Panjehpour M., Overholt B. F., Julius C. E., Overholt S. and Phan M.N. (2003). "Laser-induced fluorescence for the detection of esophageal and skin cancer". *Proc. SPIE.* 4958: 67-70.

Wagnieres G.A., Star W.M. and Wilson B.C. (1998). "*In vivo* fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications". *Photochem. Photobiol.* 68(5): 603–663.

Warloe T., Peng Q., Heyerdahl J., Moan J., Steen B., Giercksky K.E. (1995). "Photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid induced porphyrins and DMSO/EDTA for basal cell carcinoma". *Proc. SPIE.* 2371:226-235.

Wolf P., Rieger E., Kerl H. (1993). "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.* 28(1):17-21.

Wolf P., Kerl H. (1991). "Photodynamic therapy in a patient with xeroderma pigmentosum". *Lancet.* 337 (8757):1613-1614.

Wang I., Bendsoe N., Klinteberg C.A., Enejder A.M., Andersson- Engels S., Svanberg S., Svanberg K.(2001). "Photodynamic therapy vs. cryosurgery of basal cell carcinomas: results of a phase III clinical trial". *Br. J. Dermatol.* 144(4):832-840.

Review of recent studies on the diagnosis and treatment of non-melanoma cancers with the use of the non-invasive spectroscopic techniques of fluorescence and reflectance

Eleni Drakaki¹, Myrsini Makropoulou¹, Alexander A. Serafetinidis¹,
Jannis Sianoudis²

¹Department of Physics, School of Applied Mathematical and Physical Sciences,
National Technical University of Athens, 15780, Zografou, Athens, Greece

²Department of Physics, Chemistry and Materials Technology, TEI of Athens, Ag. Spyridon Egaleo
122 10, Athens Greece

e-mail: edrakaki@central.ntua.gr,¹, mmakro@central.ntua.gr¹, jansian@teiath.gr²

ABSTRACT

In the last decades, the need for non-invasive diagnostic and treatment in dermatology in the diagnosis of non-melanoma skin cancer has significantly increased. Technological advances have led to the development of various analytical tools, allowing the examination of in vivo skin. An important role in the dermatological diagnosis and the monitoring of non-melanoma skin cancers have played promising spectroscopic techniques such as fluorescence induced by laser and the diffuse reflectance.

As part of the “Archimedes III” project in TEI of Athens, achievement of adequate spectral separation of various skin lesions is studied (eg, benign, precancerous and cancerous lesions) with the above methods of optical spectroscopy, in order to develop an effective diagnostic system, with the possibility of its application in medical practice. Additional aim is the study of the dosimetry of photodynamic therapy (PhotoDynamic therapy, PDT) in patients with benign dermatoses, precancerous lesions and cancerous lesions, and the comparison of PDT with traditional healing methods, based on histopathological examinations.

In this paper, we present an overview and an update of knowledge on these two spectroscopic techniques and discuss new research results and recommendations that have been published in the international literature.

Keywords: spectroscopy of laser-induced fluorescence, diffuse reflectance spectroscopy, non-melanoma skin cancer, non-invasive photodiagnosis.