

Metoda fotodynamicznego leczenia w dermatologii

Photodynamic therapy in dermatology

Mirosław Kwaśny

Instytut Optoelektroniki, Wojskowa Akademia Techniczna

STRESZCZENIE

Metoda terapii fotodynamicznej (PTD) jest obecnie istotnym uzupełnieniem klasycznych metod leczenia nowotworów — radio- i chemioterapii — jak również alternatywą dla resekcji chirurgicznych. Zastosowania PDT obejmują między innymi dermatologię, ginekologię, urologię, stomatologię. Metoda znajduje ponadto coraz większe zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteryjnych, grzybiczych, pasożytniczych i wirusowych. Ponad 70% aplikacji klinicznych dotyczy dermatologii, a jedynymi praktycznie stosowanymi fotouczulaczami są kwas 5-aminolewulinowy (ALA) oraz jego ester metylowy (MAL). W artykule przedstawiono fotochemiczne i fotofizyczne podstawy metody, stosowane obecnie preparaty i źródła światła oraz zakres leczonych chorób skóry. Przedstawiono także aktualny stan metody PDT opartej na ALA (ALA-PDT) w Polsce, perspektywy jej rozwoju, przykłady stosujących ją klinik oraz jej ograniczenia.

Forum Derm. 2018; 4, 4: 138–147

Słowa kluczowe: metoda PDT, fotochemioterapia, fotouczulacz, dermatologia, diody sLED

ABSTRACT

Photodynamic method became an important complement to classical methods of tumors treatment — radio- and chemotherapy — and also on for surgical resections. Applications of the therapy includes *i.e.* dermatology, gynaecology, urology and stomatology. Furthermore, its usage is increasing in the treatment of bacterial, fungal, porastic and viral infections. Over 70% of clinical applications concerns dermatology and the only practically used photosensitizers are 5-aminolevulinic acid (ALA) The article presents photochemical and photophysical foundations of the method, currently used preparations and light sources, and the range of treated skin diseases. The current state of the ALA-PDT method in Poland, the prospects for its development, examples of clinics using this method and its limitations were also presented.

Forum Derm. 2018; 4, 4: 138–147

Key words: PDT method, photochemotherapy, photosensitizer, dermatology, sLED diodes

WSTĘP

Metoda fotodynamicznego leczenia (PDT, *photodynamic therapy*) polega na selektywnym fotoutlenianiu tkanek biologicznych przy jednoczesnym udziale wprowadzonego do organizmu fotouczulacza (PS, *photosensitizer*), absorbowanego przez niego światła i tlenu. W pierwszym etapie podaje się dożylnie lub śródtkankowo barwnik lub jego prekursor, który selektywnie gromadzi się w tkance zmienionej chorobowo. Wzbudzany światłem barwnik reaguje

następnie z tlenem rozpuszczonym w środowisku tkankowym i wytwarza reaktywne formy tlenu (tlen singletowy i wolne rodniki), które niszczą komórki w procesie fotoutleniania. Naświetlenie terapeutyczne następuje po upływie 3–72 godzin po aplikacji, w zależności od rodzaju uczulacza, co jest spowodowane potrzebą jego selektywnej akumulacji w tkankach.

Obok bezpośredniego działania cytotoksycznego doprowadzającego do nekrozy tkanek istnieją dodatkowe

Adres do korespondencji:

dr hab. inż. Mirosław Kwaśny, Instytut Optoelektroniki, Wojskowa Akademia Techniczna, ul. gen. Witolda Urbanowicza 2, 00–908 Warszawa, tel.: 695 903 055, e-mail: miroslaw.kwasny@wat.edu.pl

mechanizmy destrukcji: okluzja naczyń krwionośnych i limfatycznych oraz wpływ PDT na układ immunologiczny, objawiający się uwalnianiem cytokin. Fotouczulacze używane w metodzie PDT wykazują zdolność gromadzenia się w tkankach zmienionych chorobowo w czasie znacznie dłuższym niż w tkankach zdrowych, charakteryzują się wysoką wydajnością generacji stanu trypletowego i wysokimi współczynnikami absorpcji światła w zakresie czerwieni lub bliskiej podczerwieni i nie mogą być toksyczne. Do naświetlania terapeutycznego stosuje się światło czerwone, którego źródłem są lasery barwnikowe, na parach złota i półprzewodnikowe. Do zabiegów powierzchniowych jako źródła światła wykorzystuje się oświetlacze halogenowe, metalohalogenowe, ksenonowe i matryce diod superluminescencyjnych (sLED, *super light-emitting diode*). Natężenie napromieniowania (gęstość mocy) zawiera się w przedziale 50–150 mW/cm², całkowita dawka — 30–150 J/cm², a czasy naświetlań — 10–20 minut.

Metoda PDT odznacza się wieloma bardzo istotnymi zaletami, które korzystnie wyróżniają ją spośród stosowanych obecnie technik terapeutycznych. Pozwala przede wszystkim na miejscowe i wybiórcze niszczenie tkanki chorej, bez zbędnych uszkodzeń tkanek zdrowych, jest metodą mało inwazyjną, ogólnie dobrze tolerowaną, daje dobre efekty kosmetyczne i może być wielokrotnie powtarzana. Ważnym atutem PDT jest możliwość wykorzystania własności fluorescencyjnych używanych barwników do celów diagnostycznych. Lokalizację obszarów nowotworów przeprowadza się metodą fluorescencji wzbudzonej laserami (LIF, *laser induced fluorescence*). Zastosowania PDT obejmują leczenie chorób zarówno nowotworowych (głowy, szyi, płuc, chorób ginekologicznych i dermatologicznych), jak i nienowotworowych (m.in. rógowacenie słoneczne, łuszczyca, reumatoidalne zapalenie stawów, degeneracja plamki żółtej).

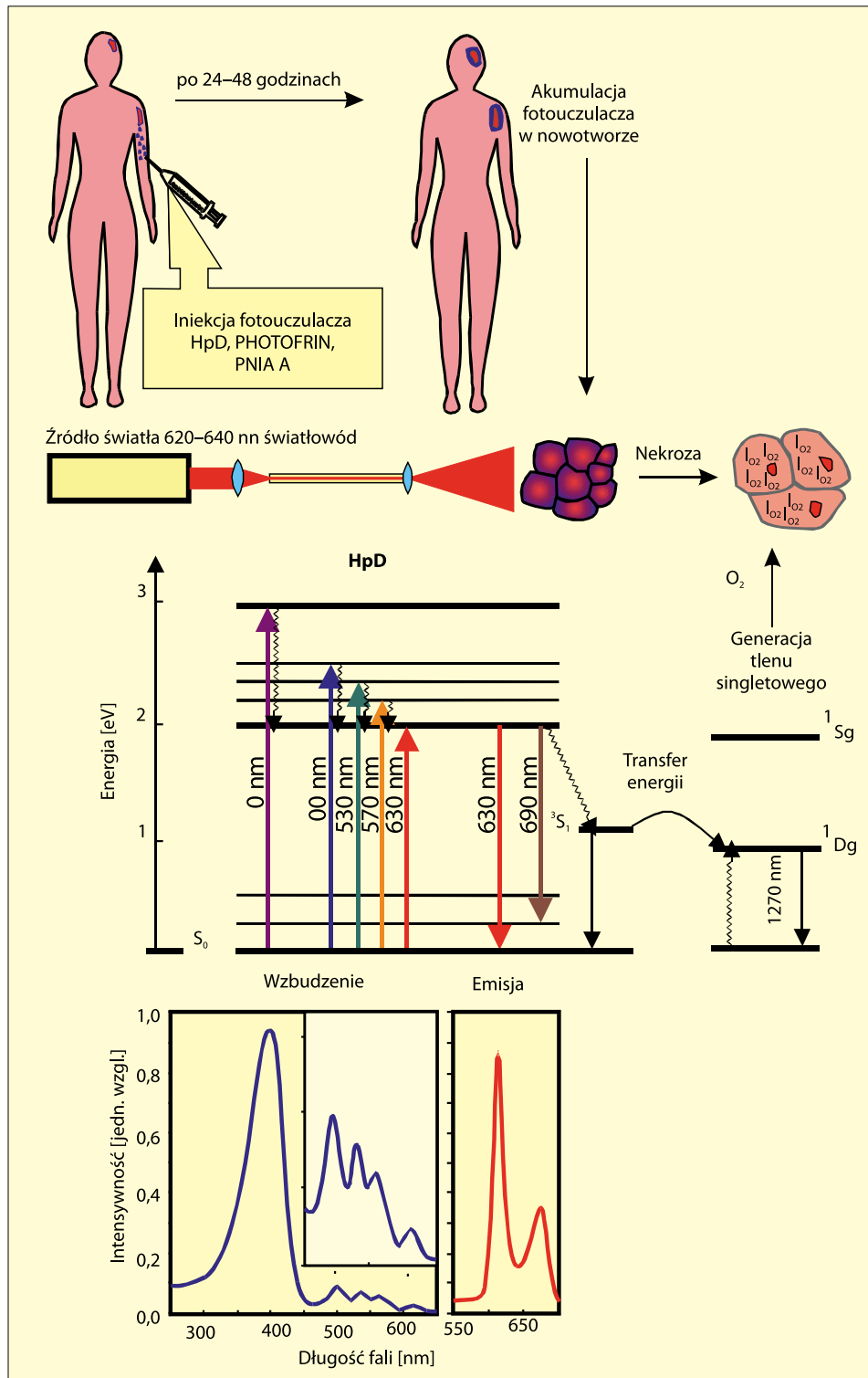
Metoda znajduje ponadto coraz większe zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteryjnych, grzybiczych, pasożytniczych i wirusowych. Nie powoduje wielu niepożądanych skutków ubocznych (jak uszkodzenia szpiku, zaburzenia funkcji wątroby czy nerek) towarzyszących innym nieinwazyjnym metodom leczenia onkologicznego. W przeciwieństwie do operacji chirurgicznych pozwala na zachowanie w całości narządów i otaczających tkanek oraz ich życiowych funkcji. Historia metody PDT zaczęła w 1900 roku, kiedy Raab [1] zaobserwował, że drobnoustroje zanurzone w roztworze oranżu akrydynowego giną po naświetleniu światłem słonecznym, podczas gdy zanurzone w czystej wodzie i naświetlane takim światłem — wciąż żyją. Metoda PDT należy do klasycznych metod fotochemioterapii, jednak — na przykład w odróżnieniu od leczenia psoralenem z naświetlaniem (PUVA, *psoralen ultra-violet A*) — w reakcjach konieczny jest udział tlenu.

Współczesną epokę PDT otworzyły prace Lipsona [2] związane z wyizolowaniem z przeterminowanej masy erytrocytalnej mieszaniny pochodnych porfirynowych znanych w literaturze jako HpD (*hematoporphyrin derivatives*), które selektywnie gromadziły się w tkance nowotworowej i osadzały się w niej kilkadziesiąt godzin. Jednym z ważniejszych momentów w historii rozwoju metody PDT był pomysł z miejscowym wprowadzeniem do organizmu prekursora właściwego uczulacza protoporfiryny IX (PPIX) — kwasu 5-aminolewulinowego (ALA, *aminolevulinic acid*). W 1990 roku Kennedy i Pottier [3] po raz pierwszy zastosowali metodę PDT opartej na ALA (ALA-PDT) w warunkach klinicznych i od tego momentu obserwuje się gwałtowny rozwój ALA-PDT. Szybka eliminacja z ustroju nadmiaru tego kwasu, jak również syntetyzowanej PPIX sprawia, że ryzyko reakcji fotodynamicznej skóry zdrowej jest ograniczone do minimum. Protoporfiryna IX po podaniu ALA gromadzi się głównie w obrębie błon śluzowych, a nie w błonie podśluzowej czy mięśniowej, co daje szansę na selektywne niszczenie komórek nabłonkowych bez wpływu na struktury podporowe tkanek. Kwas 5-aminolewulinowy można podawać doustnie lub miejscowo, w przeciwieństwie do innych uczulaczy podawanych dożylnie lub śródtkankowo.

W latach 80. XX wieku opracowano szereg barwników o właściwościach fotouczulających, takich jak pochodne porfiryn, chloryn i bakteriochloryn. Są one pochodnymi PPIX będącej ligandem dla czerwonego barwnika krwi — hemu — i charakteryzują się płaskim pierścieniem oraz obecnością sprzężonych wiązań podwójnych. Metoda PDT wciąż się rozwija, pozostaje aktualna i omawia ją wiele najnowszych publikacji, także w formie monografii [4–7]. W Polsce początki PDT i metody fotodynamicznej diagnostyki (PDD, *photodynamic diagnostics*) sięgają lat 90. XX wieku [8–11], a ich rozwój trwa do dziś. W artykule przedstawiono podstawy metody PDT, przegląd stosowanych oświetlaczy, aktualnych uczulaczy oraz zastosowania w dermatologii.

FOTOFIZYCZNE I FOTOCHEMICZNE PODSTAWY METODY PDT

Idea klasycznej metody PDT została przedstawiona na rycinie 1. Po aplikacji preparatu fotouczulającego i osiągnięciu jego zwiększonego poziomu w miejscach zmienionych chorobowo następuje etap naświetlania. Fotouczulacz po pochłonięciu kwantu promieniowania przechodzi ze stanu podstawowego singletowego (¹S₀) do pierwszego wzbudzonego stanu singletowego (¹S₁), co pociąga za sobą ciąg procesów. Wzbudzony stan singletowy fotosensybilizatora może tracić energię przez bezpośrednią emisję fotonową i wtedy obserwujemy zjawisko fluorescencji, które jest wykorzystane do diagnostyki (PDD), a częściowo — w przejściu bezpromienistym do wzbudzonego stanu trypletowego

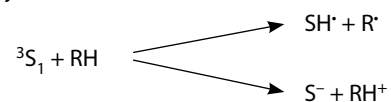


Rycina 1. Zasada metody terapii fotodynamicznej. Mechanizm absorpcji, fluorescencji i generacji tlenu singletowego

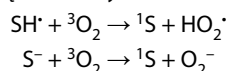
(3T_1), niższego energetycznie od stanu singletowego i o znaczenie dłuższym czasie życia, rzędu dziesiątek mikrosekund.

Istnieją dwa typy fotoutlenienia sensybilizowanego porfirynami. W mechanizmie I typu sensybilizator oddziałuje bezpośrednio z substratem (RH) w warunkach beztleno-

wych, dając w wyniku przeniesienia wodoru lub elektronu rodniki i jonorodniki.



W środowisku niskotlenowym wytworzone rodniki dalej reagują z tlenem cząsteczkowym:



Porfiryny są podatniejsze na proces przeniesienia elektronu z wytworzeniem jonu nadtlenkowego O_2^- , który może wtórnie wytworzyć wysoko reaktywne rodniki hydroksylowe OH^\cdot . Wzbudzony uczulacz może też reagować z rodnikami nadtlenkowymi O_2^\cdot , dając aniony nadtlenkowe, które następnie mogą tworzyć rodnik hydroksylowy. W środowisku natlenionym cząsteczki fotosensybilizatora, będące we wzbudzonym stanie trypletowym, łatwo przenoszą swoją energię do cząsteczki tlenu, którego stan podstawowy jest stanem trypletowym. Generacja tlenu singletowego (${}^1\text{O}_2$) w tym mechanizmie jest opisana jako fotoreakcja II typu i jej wydajność zależy od stężenia tlenu w środowisku reakcji.

Powstały w wyniku transferu energii tlen singletowy jest bardzo silnym utleniaczem i uruchamia cykl reakcji prowadzących do zniszczenia tkanki nowotworowej. Wzbudzona cząsteczka tlenu singletowego pokonuje w środowisku wodnym drogę około 0,1 μm , a więc porównywalną z rozmiarami komórki. Czas życia tlenu singletowego w rozpuszczalnikach organicznych waha się granicach 10–100 ns, w środowisku wodnym zaś wynosi około 2 ns. Ze względu na tak krótki czas życia ${}^1\text{O}_2$ uszkodzenia wywołane utlenieniem z udziałem wzbudzonego tlenu są zlokalizowane w obszarze nie większym niż grubość membrany komórkowej.

Niszczanie lub uszkodzanie tkanki w reakcji fotodynamicznej jest związane z procesem fotoutleniania w następujących rodzajach reakcji:

- addycja tlenu singletowego do heterocyklu typu dienów (np. histydyna);
- utlenianie pochodnych olefin do wodoronadtlenków (cholesterol i nienasycone kwasy tłuszczowe);
- utlenienie siarczków do sulfotlenków (np. metionina);
- reakcje z substratami bogatymi w podwójne wiązania (np. cholesterol).

Głównym biomolekularnym miejscem ataku dla tlenu singletowego są związki nienasycone zawierające wiązania podwójne, które występują w błonach komórkowych i innych organellach subkomórkowych.

Najszybszą reakcję z tlenem singletowym można obserwować w pierwszej kolejności na błonach cytoplazmatycznych. Błony komórkowe są dobrymi miejscami ataku ze względu na wartość współczynnika podziału woda/lipidy. W błonach tych mogą się lokować sensybilizatory zarówno hydrofilowe, jak i lipofilowe. Pochodne porfiryne w pierwszym etapie są wiązane w błonach plazmatycznych, a następnie migrują do wewnętrznych organelli komórkowych. Uszkodzeniu w wyniku działania PDT ulegają obok błon także organelle wewnątrzkomórkowe, takie jak

mitochondria, lizosomy, aparat Golgiego, a nawet jądra komórkowe. Własności cytotoksyczne barwników zależą od ich struktury chemicznej, własności fizykochemicznych oraz zdolności wnikania i retencji w tkance nowotworowej.

WSPÓŁCZESNE PREPARATY DO METODY PDT

Wśród dostępnych na światowym rynku farmaceutycznym preparatów większość stanowią pochodne porfiryne, chloryn i ftalocyjanin (systematyczny przegląd fotouczulaczy: [12]). Do pierwszej generacji fotouczulaczy należą pochodne hematoporfiryny (HpD, Photofrin). Drugą generację stanowią: ALA i jego estry, pochodna benzoporfiryny (BPD), teksafiryna lutetu, temoporfina (mTHPC, Foscan), cynowa etiopuryna (SnET2) oraz taloporfina sodowa (LS11). Trzecia generacja obejmuje związki będące połączeniami fotouczulaczy z przeciwciałami monoklonalnymi. Pierwszym dostępnym handlowo, dopuszczonym i stosowanym do dziś preparatem jest Photofrin (Axan Pharma Inc.), oparty na pochodnych HpD. Do tej grupy należy też rosyjski Photogem (Moscow Research Oncological Institute). Preparaty podawane są dożylnie w standardowej dawce 2 mg/kg masy ciała. Naświetlanie terapeutyczne promieniowaniem o długości fali około 630 nm następuje po upływie 48 godzin od aplikacji. Zastosowania onkologiczne preparatów obejmują między innymi przełyk Barreta, nowotwory pęcherza moczowego, skóry, płuc, przełyku, głowy i szyi.

Kwas 5-aminolewulinowy jest prolekiem przekształcanym w organizmie do naturalnego prekursora hemu — PPIX stanowiącej w tym przypadku aktywny fotouczulacz i dostępnej pod nazwą handlową Levulan (DUSA Pharmaceuticals, Inc.). Obecnie jest to podstawowy preparat w metodzie PDT/PDD (występuje w ok. 75% zabiegów klinicznych oraz w doniesieniach literaturowych i konferencyjnych). Kwas ten skutecznie zwalcza zmiany powierzchniowe — zarówno nowotworowe, jak i nienowotworowe — szczególnie śluzówek i skóry. Skuteczność niemal na poziomie 100% uzyskuje się między innymi w leczeniu rogowaceń czy choroby Bowena.

Preparat jest aplikowany miejscowo w ginekologii i dermatologii (w postaci kremów), bronchoskopii (inhalacje), urologii (wlew do pęcherza roztworu wodnego), a także doustnie i dożylnie. Podstawową wadą metody ALA-PDT jest ograniczona do nabłonka i naskórka penetracja ALA. Lepszą skuteczność i selektywność wykazują pochodne estrowe ALA, na przykład metylowa (M-ALA), dostępna na rynku w formie kremu (Metvix, PhotoCure ASA). Kwas 5-aminolewulinowy znalazł zastosowanie w neurochirurgii do śródoperacyjnego znakowania obszarów infiltrowanych przez żywe klonogenne komórki glejokowe w strefie granicznej złośliwych glejaków, co pomaga w ich precyzyjnym usunięciu. Ważną grupę fotouczulaczy stanowią pochodne ftalocyjanin (PC, *phthalocyanine*). Preparat Photosens (General Physics Institute), będący mieszaniną di- i trisulfonowych

pochodnych ftalocyjaniny glinowej, znalazł zastosowanie w leczeniu wczesnych zmian zlokalizowanych w obrębie jamy ustnej, gardła, krtani, języka, przełyku. Może być wprowadzany do organizmu w postaci dożylniej oraz aerozolu. Ftalocyjaniny kumulują się głównie w mitochondriach, generują więc głównie apoptyczną śmierć komórek. Ze względu na dużą hydrofobowość są stosowane w postaci liposomalnej.

Dużą grupę fotouczulaczy stanowią pochodne chloryny — związki charakteryzujące się dużą wydajnością generacji tlenu singletowego. Duża ich hydrofilowość umożliwia dotarcie do odpowiedniego miejsca docelowego w organizmie i warunkuje nieco odmienne od pozostałych preparatów działanie, opierające się na niszczeniu układu naczyń krwionośnych w obrębie guza. Chloryny są aktywowane światłem o długości fali około 660 nm. Do ważnych ich zalet należy krótki czas od chwili aplikacji do naświetlania terapeutycznego, w granicach 2–4 godzin. Do preparatów opartych na pochodnej chloryn — talaporfinie — należą: Litx, Photolon, Apoptosin, Laserporphyrin (Ligt Sciences).

Jednym z kryteriów poszukiwań nowych uczulaczy jest występowanie silnych pasm absorpcji przy jak najdłuższych długościach fali ze względu na głębokość penetracji promieniowania w tkankach. Do preparatów takich należą pochodne teksaporfiryny, na przykład metoksafina lutetu (Antri, Lu-Text, firmy Pharmacylics), absorbujące światło przy długości fali około 730 nm. Związki te mają własności hydrofilowe, łatwo ulegają dystrybucji po podaniu dożylnym, mogą być wprowadzane miejscowo oraz są szybko wydalane z organizmu — po 24 godzinach nie wykazują fotoaktywności. Preparaty mogą być stosowane do leczenia nowotworów piersi i prostaty. Są ponadto przydatne w radioterapii nowotworów jako czynnik zwiększający wrażliwość komórek guza na promieniowanie. Inny kompleks teksafiryny z gadolinem (Xcytrin) służy jako środek diagnostyczny dla potrzeb rezonansu magnetycznego, jako radiouczulacz i chemouczulacz. Rozpowszechnionym i wydajnym preparatem z grupy chloryn jest Foscan (Biolitec Pharma Ltd). Jego zastosowania onkologiczne obejmują leczenie paliatywnych stanów nowotworów jamy ustnej, głowy i szyi. Stosowano go również do leczenia nowotworów przełyku, żołądka, trzustki, sutka. Do pochodnych chloryn należą bakteriochloryny, które również znajdują zastosowanie w PDT. Przykładami są hydrofobowa padorfina — dostępna jako Tookad, WST9 (The Weisman Institute of Science) — i hydrofilowa padeloporfin (WST11). Oba te leki działają w obrębie naczyń i po naświetleniu prowadzą do zamknięcia przepływu naczyniowego. Ważnymi zaletami tych preparatów są: absorpcja światła o długości fali około 760 nm, fakt, że naświetlanie prowadzi się zaraz po podaniu leku, krótko utrzymująca się fotowrażliwość przez 3 godziny oraz szybkie wydalanie z krwi — w czasie poniżej 20 minut.

Ostatnią grupę fotouczulaczy stanowią benzoporfiryny, dostępne pod nazwą handlową Visudyna (Novartis Pharmaceuticals). Lek ma charakter hydrofobowy, stosuje się go więc w postaci liposomalnej. Jest aktywowany światłem o długości fali około 690 nm; naświetlanie jest możliwe już po 30 minutach od aplikacji, eliminacja z organizmu następuje szybko, a zwiększona wrażliwość na światło utrzymuje się do 2 dni. Związek jest skuteczny w niszczeniu sieci naczyń krwionośnych zlokalizowanych w obrębie gałki ocznej i znalazł zastosowanie w leczeniu degeneracji plamki żółtej.

PRZEGLĄD ŹRÓDEŁ ŚWIATŁA DLA METODY PDT

W większości klinicznych zastosowań PDT z aktualnymi uczulaczami wymagane dawki światła i natężenia napromienienia akceptowalne dla pacjenta wynoszą $50\div 200\text{ J/cm}^2$, a dawki gęstości napromienienia — $50\div 150\text{ mW/cm}^2$ dla długości fal 630, 650 i 670 nm [13]. W warunkach klinicznych limitowany jest także czas naświetlania do 15–20 minut, źródło światła powinno więc mieć moc co najmniej 1 W. Dla małych powierzchni, do 2 cm^2 , wystarczają źródła o mocy 200–500 mW. Moc światła o wartościach 1,5–3 W jest konieczna do naświetlania dużych powierzchni (pęcherz moczowy, płuca, obszerne zmiany skórne). Ogólnie źródła światła stosowane w metodzie PDT można podzielić na laserowe i niekoherentne. Lasery są niezbędne do wprowadzenia światła do światłowodu i naświetlania organów wewnętrznych. Podstawową dziedziną zastosowania PDT jest dermatologia, na którą przypada ponad 90% leczonych dotychczas przypadków. Wynika to możliwości miejscowej aplikacji fotosensybilizatora, precyzyjnego skierowania źródła światła na leczony obszar skóry i zastąpienie laserów niekoherentnymi źródłami.

Dla celów PDT stosowane jest praktycznie promieniowanie z zakresu długości fal:

- 390–410 nm — do fotodiagnostyki i terapii zmian superpowierzchnowych (np. trądzik);
- 625–640 nm — do terapii (uczulacze I generacji: HpD, Fotofrin, PPIX);
- 650–670 nm — do terapii (uczulacze II generacji: chloryny, ftalocyjaniny).

Początkowo, w latach 80.–90. XX wieku, standardowymi źródłami w metodzie PDT były lasery barwnikowe pompowane argonowymi o mocy $25\div 50\text{ W}$ (firmy Spectra Physics, Coherent, Meditec). Moc wyjściowa światła czerwonego osiągnięta za światłowodem dochodzi do $2\div 3\text{ W}$. Wykorzystywano również lasery barwnikowe pompowane II harmoniczną lasera Nd:YAG (Multilase Dye 600, Technomet Int.), laserem miedziowym i ekscymerowym.

Laser diodowy (630 nm, 2 W, Diomed) wraz z innymi obecnie stosowanymi źródłami przedstawiono na rycinie 2.

Obecnie lasery diodowe praktycznie wyparły inne źródła laserowe. Emitują promieniowanie o długościach fal od



Rycina 2. Przykłady współczesnych źródeł światła dla metody terapii fotodynamicznej — od lewej: laser diodowy, oświetlacz metalohalogenowy Waldmanna, matryca sLED, oświetlacz halogenowy Photodyne 750, oświetlacz fluorescencyjny

375 nm do zakresu bliskiej podczerwieni (NIR, *near infrared*). Jako źródła nielaseryowe dla metody PDT wykorzystywano lampy halogenowe, ksenonowe metalohalogenkowe i rtęciowe, głównie w warunkach laboratoryjnych. Następnym krokiem było ich przystosowanie do warunków klinicznych i zastosowanie lamp ksenonowych o wysokiej jasności.

Bardzo wydajne i silne są źródła metalohalogenowe. Przykładem układu terapeutycznego z lampą metalohalogenową o mocy 1200 W (MSR 1200, Philips B.V.) jest oświetlacz Waldmanna (ryc. 2). Emisję światła w zakresie 600–800 nm zapewniają odcinające filtry dichroiczne. W zależności od odległości między źródłem a powierzchnią naświetlaną natężenie napromienienia zmienia się od 30 do 240 mW/cm², a maksymalna powierzchnia oświetlana wynosi 300 cm². Do praktyki klinicznej wdrożono mniejsze, bardziej labilne źródło metalohalogenowe, z możliwościami zmiany filtrów optycznych i obserwacji czerwonej fluorescencji. Natężenie napromienienia jest regulowane odległością głowicy od powierzchni naświetlanej (30–100 mW/cm²); czas naświetlania, po którego upływie lampa zostaje automatycznie wyłączona, jest obliczany na podstawie wybranej wartości dawki i zmierzonego natężenia. Zastosowany bardzo szeroki filtr czerwony (570–725 nm) pozwala wykorzystać do fotosensybilizacji produkty rozpadu PPIX tworzące się podczas naświetlania i mające pasma absorpcji około 660 nm.

Przy superpowierzchniowych schorzeniach o głębokości skóry (0,1–0,2 mm) odpowiednią penetrację zapewnia już promieniowanie niebieskie. Firma Dusa oferuje lampy fluorescencyjne (zestaw uformowanych w półokrąg świetłówek) o długości fali 410 nm i napromienieniu 10 mW/cm² do naświetleń zrogowacenia popromiennego skóry.

Wynalezienie diod świecących o wysokich mocach, sLED, zadecydowało o wyborze tego typu źródeł dla metody PDT jako najbardziej perspektywicznych. Diody sLED łączą w sobie zalety tak zwanych LED-ów i diod laserowych, charakteryzują się wysoką sprawnością emisji światła (1 W/A), wysoką koherencją przestrzenną i niską koherencją czasową.

Na rynku światowym istnieje kilka firm oferujących profesjonalne oświetlacze oparte na matrycach LED. Przykładem jest oświetlacz *Beam pro* firmy MedLight.

Konstrukcja głowicy składa się z trzech składanych ruchomych części, umożliwiających dopasowanie się powierzchni emitującej światło do kształtu elementu ciała (głowy, ręki, tułowia). Powierzchnia oświetlana wynosi co najmniej 20 cm², a wysokość głowicy jest regulowana w zakresie 102–182 cm. Urządzenie jest wyposażone w 78 diod LED. Długość fali emitowanego promieniowania wynosi około 630 nm (+/-5nm). Maksymalna gęstość mocy promieniowania jest na poziomie 100–120 mW/cm². Obsługa urządzenia odbywa się przez ekran dotykowy. Dotychczas jest to jedyne urządzenie na świecie, które zapewnia między innymi pulsacyjny tryb pracy i tak zwany miękki start, co oznacza, że w trakcie pierwszych czterech minut (1–4 min) moc wzrasta w trakcie naświetlania od 40 do 100 maksymalnej wartości. To bardzo istotna zaleta; taki tryb pracy chroni w początkowym okresie ekspozycji przed nadmiernym rozkładem fotouczulacza, a tryb pulsacyjny zapewnia wyrównywanie poziomu oksyhemoglobiny zużywanej podczas naświetlania do fotoutleniania struktur komórkowych.

Na rycinie 3 przedstawiono widok źródła APRO i jego wcześniejszych wersji PRO⁺.

W aplikacjach dermatologicznych bardzo przydatne są punktowe lub małe źródła światła do naświetlania części twarzy czy małych zmian na skórze. Do naświetlania wewnętrznych miejsc organizmu (jama ustna, sfery ginekologiczne) niezbędne jest skonstruowanie źródła z wyjściem światłowodowym.

KLINICZNE WYKORZYSTANIE PDT W DERMATOLOGII

Metoda PDT w dermatologii jest przeprowadzana praktycznie jedynie z ALA (lub jego estrowymi pochodnymi), będącym prekursorem właściwego fotouczulacza (PPIX). W organizmie ALA jest wyjściowym związkiem do biosynte-



Rycina 3. Widok oświetlacza *Beam pro+* APRO i wcześniejszych wersji *Beam pro*

zy hemu. Pierwszy etap na drodze biosyntezy hemu stanowi tworzenie się ALA, a jego dopuszczalne stężenie kontrolowane jest w sprzężeniu zwrotnym przez poziom wewnątrzkomórkowego wolnego hemu. Efekt akumulacji PPIX pod wpływem zewnętrznie wprowadzonego ALA rozpoczyna się od ominięcia mechanizmu sprzężenia zwrotnego, bariery blokującej wzrost stężenia kwasu w plazmie. Ostatnim etapem syntezy hemu jest wprowadzenie jonu żelaza Fe^{2+} do wnętrza pierścienia PPIX. Etap ten jest katalizowany ferrochelatazą — enzymem matrycy mitochondrialnej. Przy dodaniu egzogennego ALA PPIX może być kumulowana w komórkach z powodu przekroczenia wydolności ferrochelatazy.

Inną formą chemiczną jest ester metylowy ALA — aminolewulinian metylu (MAL, *methyl amonolaevulinate*) — który na szlaku biosyntezy hemu ulega również konwersji do PPIX i aktywacji pod wpływem światła o odpowiedniej długości, wytwarzając reaktywne formy tlenu, przede wszystkim tlenu singletowego. Selektywny wychwyty proleku prawdopodobnie zależy od zmienionej przepuszczalności powierzchni w obrębie zmiany i różnej szybkości metabolizmu porfiryn, z aktywacją limfocytów, które również akumulują fotouczulacze.

Stopień wyleczenia metodą ALA-PDT zależy głównie od rodzaju raka skóry: podstawnocomórkowego (BCC, *basal cell carcinoma*) — powierzchniowy (sBCC, *superficial BCC*), guzkowy, wrzodziejący — i kolczystokomórkowego (SCC, *squamous cell carcinoma*) — powierzchniowy, gruczołowy. Najlepsze wyniki osiąga się w przypadku postaci powierzchniowej BCC.

Częstotliwość nawrotów po PDT jest zwykle porównywalna do tej po innych istniejących metodach leczenia, ale wyższa niż po leczeniu chirurgicznym guzkowej postaci BCC. Nie zaleca się PDT w leczeniu inwazyjnej postaci SCC. Leczenie jest zasadniczo dobrze tolerowane, ale w trakcie PDT pacjenci często odczuwają parestezje i dolegliwości bólowe.

W związku z coraz powszechniejszym stosowaniem tej metody opracowywane są wytyczne Międzynarodowego

Towarzystwa Terapii Fotodynamicznej w Dermatologii w celu promowania bezpiecznych i skutecznych procedur w przypadku stosowania miejscowej PDT we wskazaniach dermatologicznych [14–16]. Na podstawie obszernej literatury naukowej pochodzącej z wiodących ośrodków badawczych w tej dziedzinie, w tym także polskich, potwierdzono wysoką skuteczność PDT w takich schorzeniach, jak rógowacenie słoneczne bez hiperkeratozy, choroba Bowena, powierzchowne BCC, niektóre cienkie guzkowe SCC [17–22]. Obok klasycznych już zastosowań metoda PDT jest wykorzystywana w leczeniu wirusowego brodawczaka ludzkiego [23] czy fotoodmładzania [24]. Do nowych wskazań stosowania metody ALA-PDT należą także:

- nieczerniakowy rak skóry u biorców przeszczepów;
- zapobieganie nieczerniakowemu rakowi skóry u biorców narządów;
- obszary rakowacenia;
- skórny chłoniak T-komórkowy;
- odporne na leczenie brodawki rąk i stóp;
- brodawki narządów płciowych;
- lejszmanioza skórna.

Obecnie PDT jest oficjalnie dopuszczona do leczenia określonych nieczerniakowych raków skóry (NMSC, *non-melanoma skin cancers*), a w Europie oficjalne zezwolenie otrzymały wyłącznie trzy substancje fotosensytyzujące. Jedną z nich jest MAL (Metvix[®], Metvixia[®]; Galderma, Lausanne, Szwajcaria), stosowany w świetle czerwonym w leczeniu rógowacenia słonecznego bez hiperkeratozy — rógowacenia popromiennego (AK, *actinic keratosis*) — choroby Bowena (BD, *Bowen's disease*), powierzchownego i guzkowego BCC, mimo że oficjalne wskazania różnią się w zależności od kraju. Plaster zawierający 8 mg ALA (Alacare[®]; Spirig AG, Egerkingen, Szwajcaria) jest dopuszczony do stosowania w leczeniu umiarkowanie nasilonych zmian AK w formie pojedynczej sesji zabiegowej z ekspozycją na światło czerwone, bez wstępnego przygotowania zmiany. Zezwolono również na stosowanie BF-200 ALA (Ameluz[®]; Biofrontera AG, Leverkusen, Niemcy) w PDT w świetle czerwonym. Inną postać 5-ALA, Levulan (DUSA Pharmaceuticals, Wilmington, MA, USA) zarejestrowano w Ameryce Północnej oraz w niektórych innych krajach w leczeniu zmian AK, w protokole wykorzystującym światło niebieskie. W wielu oryginalnych badaniach dotyczących miejscowej PDT wykorzystywano niestandardowe preparaty ALA przygotowywanego w aptekach przyszpitalnych, dlatego zaleca się zachować ostrożność przy porównywaniu wyników. Pierwszym polskim preparatem dla fotoodmładzania skóry metodą PDT jest krem o stężeniu ALAX HCl zarejestrowany w 2018 roku pod nazwą Foto-Dermal HCl przez zakłady farmaceutyczne Magnapharma. W Polsce do terapii PDT są również dopuszczone preparaty Ameluz i Alcare.

Kwas aminolewulinowy ma charakter hydrofilowy, podczas gdy MAL jest bardziej lipofobowy i z tego względu może penetrować głębiej do zmiany, mimo że w badaniach, w których porównywano te substancje w przypadku AK i guzkowej postaci BCC, nie wykazano różnic w odpowiedzi na leczenie. Zwiększenie penetracji fotouczulacza pod wpływem jontoforezy lub wspomagających substancji chemicznych może poprawić skuteczność PDT, ale nadal jest to metoda eksperymentalna. Podwyższenie temperatury skóry podczas aplikacji ALA również może zwiększyć skuteczność, ponieważ wytwarzanie PPIX jest procesem zależnym od temperatury.

W leczeniu BCC BD MAL-PDT stosuje się w standardowym protokole w postaci dwóch zabiegów z 1-tygodniowym odstępiem, a w leczeniu AK — jako jeden wstępny zabieg, z możliwością powtórzenia po upływie 3 miesięcy (tylko jeśli jest to potrzebne). Aminolewulinian metylu jest zwykle aplikowany na 3 godziny, ale Levulan ALA, mimo że został oficjalnie dopuszczony do aplikacji na 18–24 godzin, jest szeroko stosowany w krótszym czasie — około 1 godziny.

Rogowacenie słoneczne

Jedynym schorzeniem skóry dopuszczonym przez Agencję Żywności i Leków (FDA, *Food and Drugs Administration*) do leczenia metodą PDT jest AK — przednowotworowa zmiana skóry wywołana ekspozycją promieniowania słonecznego, zwykle występująca na głowie, twarzy i dłoniach. Do naświetlania terapeutycznego AK w Stanach Zjednoczonych dopuszczono świetlówkę emitującą światło o długości fali 417 nm i energii napromienienia 10 mW/cm². Związane jest to powierzchniowym charakterem zmian skóry. Większość pozostałych zmian nabłonkowych można też skutecznie naświetlać światłem fioletowym lub zielonym, które wywołuje mniejszy efekt oparzeniowy niż światło czerwone.

Skuteczność metody zależy od miejsca zmian na ciele. Przypadki AK umiejscowionych na twarzy, głowie i szyi pozwalają na całkowite wyleczenie na poziomie ponad 90%, podczas gdy dla zmian znajdujących się na ramieniu czy dłoniach wartość remisji całkowitej (CR, *complete remission*) wynosi około 50%. Zgodnie z aktualnymi zaleceniami w przypadku AK należy stosować MAL-PDT w formie jednego zabiegu z powtórzeniem, jeśli jest to potrzebne, po 3 miesiącach. Tak jak wspomniano wcześniej, stosuje się wiele nowych metod aplikacji PDT w leczeniu AK, do których należą: przyklejanie samoprzylepnych plastrów, ekspozycja na światło dzienne, stosowanie w warunkach ambulatoryjnych przenośnych źródeł światła i frakcjonowanej ekspozycji na promieniowanie świetlne. W ostatnim czasie dopuszczono do stosowania metodę PDT z wykorzystaniem BF-200 ALA, która okazała się skuteczniejsza niż MAL. Zgodnie z wytycznymi PDT jest skuteczną metodą w przypadku AK zarówno

w miejscowym leczeniu pojedynczych zmian, jak i w leczeniu większych obszarów, i wydaje się, że może odgrywać pewną rolę w licznych i/lub zlewających się AK, w miejscach cechujących się złym gojeniem lub w których obserwowano słabą odpowiedź na inne formy terapii miejscowej.

Choroba Bowena

U pacjentów można spodziewać się ustąpienia 86–93% zmian BD (rak kolczystokomórkowy *in situ*) po 3 miesiącach — po jednym lub dwóch cyklach.

Terapia MAL-PDT jest skuteczna w leczeniu zmian o rozmiarze ponad 3 cm, z 96-procentowym ustąpieniem zmian po 3 miesiącach po jednym cyklu dwóch zabiegów w 7-dniowym odstępie i tylko z trzema nawrotami po 1 roku [14]. Terapia PDT powodowała ustąpienie zmian BD w obrębie palców rąk, brodawek sutkowych i pod paznokciami oraz w miejscach gorszego gojenia się ran (podudzia, pęcherzowe oddzielanie się naskórka i popromienne zapalenie skóry [14]. Może stanowić alternatywę dla leczenia śród nabłonkowej neoplazji prącia (PIN, *penile intraepithelial neoplasia*). Zgodnie z wytycznymi terapeutycznymi PDT zaleca się jako metodę z wyboru zarówno w dużych, jak i małych zmianach BD w miejscach gorzej się gojących, co odpowiada większości zmian tego typu, oraz jako dobry wybór w leczeniu dużych zmian w miejscach z prawidłowym gojeniem. Stopień atypii komórkowej jest negatywnym czynnikiem prognostycznym, który sugeruje, że słabo zróżnicowane keratynocyty są mniej podatne na PDT. Ze względu na potencjał do dawania przerzutów i niższe wskaźniki skuteczności nie można obecnie zalecać PDT w inwazyjnej postaci SCC.

Powierzchniowy rak podstawno-komórkowy

Po 3 miesiącach po zastosowaniu terapii MAL-PDT obserwowano wskaźniki ustąpienia zmian w zakresie 92–97% w przypadku pierwotnych powierzchniowych BCC po zastosowaniu protokołów z jednym pojedynczym zabiegiem lub dwoma zabiegami w 7-dniowych odstępiach.

Porównanie ALA-PDT z krioterapią w BCC wykazuje taką samą skuteczność, jednak z lepszymi wynikami kosmetycznymi. Terapia MAL-PDT jest tak samo skuteczna jak leczenie chirurgiczne w przypadku sBCC (92% vs 99% początkowego ustąpienia zmian, 9% i 0% nawrotów po upływie 1 roku), ale gorsza od metod chirurgicznych w leczeniu nBCC, gdy porównywano wskaźniki nawrotów (91% vs 98% początkowego ustąpienia zmian, 14% i 4% nawrotów po 5 latach) [14].

Metoda PDT jest potencjalnie przydatną opcją dla pacjentów z zespołem nabłoniaków znamionowych (NBCCS, *naevoid BCC syndrome*). Potwierdzono to w seriach oraz opisach przypadków i w dużej kohorcie 33 pacjentów poddanych leczeniu za pomocą PDT — miejscowej (gdy grubość zmiany w ocenie ultrasonograficznej < 2 mm) lub

systemowej (gdy grubość zmiany > 2 mm) [14]. Metoda MAL-PDT w NBCCS może wpłynąć na poprawę zadowolenia pacjentów i zmniejszyć konieczność wykonywania procedur chirurgicznych. Miejscowa PDT jest zalecana w pierwotnych, powierzchownych i cienkich guzkowych postaciach BCC niskiego ryzyka, ale raczej nie w zmianach obciążonych wysokim ryzykiem, jak na przykład twardzinopodobny rak podstawnokomórkowy. Uważa się, że PDT najlepiej sprawdza się w leczeniu zmian guzkowych, w których istnieją względne przeciwwskazania do wycięcia chirurgicznego, lub gdy preferencje pacjenta (na podstawie wywiadu dotyczącego wcześniejszego leczenia), choroby współistniejące i/lub względy natury kosmetycznej wiążą się z możliwością zaakceptowania wyższego ryzyka nawrotu choroby. Zaleca się, aby pacjenci, u których stosuje się miejscową PDT w leczeniu guzkowego BCC, byli kontrolowani przynajmniej przez 1 rok w celu wykluczenia nawrotu choroby.

Trądzik

Interesujący przypadek wykorzystania ALA-PDT stanowi trądzik pospolity. Za rozwój tej choroby odpowiedzialne są Gram-dodatnie bakterie *Propionibacterium acnes*, które syntetyzują PPIX, koproporfirynę i porfiryne cynkową. Terapia fotodynamiczna z wykorzystaniem tych endogennych porfiryne prowadzi do destrukcji bakterii. Terapia ALA-PDT jest przeprowadzana coraz częściej z wykorzystaniem kilku różnych źródeł światła: BLU-U (10 mW/cm², 417 nm), PDL (595 nm, 3–7 J/cm², 6–10 ms), IPL (2,4 ms, 24–27 J/cm²), i przy stosowaniu preparatów zarówno z ALA, jak i MAL. Prowadzone są także liczne badania z wykorzystaniem źródeł światła czerwonego i mocy ciągłej (635 nm, 37 J/cm², 37–70 mW/cm²) [25]. Stosuje się różne czasy aplikacji preparatów — od 30 minut do 3 godzin — i powtarza procedury w odstępach 2 tygodni. Obserwuje się zmniejszenie znaczne (do 60–70%) zapalnych wykwitów trądzikowych. Niekiedy dochodzi także do hamowania wytwarzania łoju poprzez uszkodzenie gruczołów łojowych. Niedrożność mieszka może się zmniejszać na skutek zmienionego złuszczenia się keratynocytów oraz hiperkeratozy przy krótkich czasach aplikacji. Terapia wykazuje także działanie immunomodulacyjne. Uzyskanie zahamowania wydzielania łoju wymaga silniejszych warunków naświetlania niż sama inaktywacja komórek bakteryjnych.

Inne jednostki chorobowe

Metoda PDT znajduje coraz większe zastosowanie w leczeniu także innych dermatologicznych. Dobrą skuteczność obserwuje się przy fotoodmładzaniu skóry. Publikowane są badania wskazujące, że odmładzający wpływ PDT polega na 500-krotnie większym nagromadzeniu kolagenu typu III w miejscach poddanych naświetleniu w porównaniu

z miejscami nieleczonymi. Obiecujące wyniki uzyskuje się w liszaju twardzinowym, w *rosacea*, w niektórych postaciach łuszczycy. Kwas 5-aminolewulinowy charakteryzuje się wybiórczym powinowactwem do komórek ulegających szybkim podziałom w przebiegu choroby i zdolnością do indukowania apoptozy limfocytów T w obrębie zmian łuszczycowych. W wyniku naświetlania dochodzi do zmniejszenia proliferacji keranocytów i normalizacji różnicowania się komórek naskórka. Większość badań klinicznych wskazuje jednak na 50-procentową poprawę stanu leczonych miejsc. Za główną przyczynę oporności łuszczycy na metodę PDT uważa się słabą penetrację ALA i brak jednolitej jej absorpcji.

Akumulacja PPIX po podaniu ALA występuje w przypadkach chorób rozrostowych skóry, takich jak wyłysienie plackowate czy brodawka wirusowa. W przypadku odpornej brodawki wirusowej doskonale rezultaty osiąga się przy naświetlaniu światłem białym. Metodę ALA-PDT próbowano zastosować z dobrym skutkiem do takich schorzeń, jak zespół Gorlina i łuszczycy. W przypadku łuszczycy podstawowym problemem jest wyjątkowa nierównomierność akumulacji PPIX i wpływ rodzaju choroby na skuteczność leczenia.

Słabe rezultaty leczenia lub ich zupełny brak obserwuje się w wypadku nowotworów piersi melanomy i odpornej w leczeniu brodawki pospolitej. Miejscowa lub ogólnoustrojowa aplikacja ALA powoduje gromadzenie się PPIX nie tylko w naskórku, ale również w jego przydatkach (mieszki włosowe, gruczoły łojowe) u myszy, psów i ludzi. Wyniki wstępnych badań wykazały, że metoda oparta na miejscowej aplikacji kremu z ALA może znaleźć zastosowanie do usuwania nadmiernego owłosienia. Dodatkowa biosynteza PPIX pod wpływem zewnętrznego ALA wzmacnia efekt terapeutyczny. Podejmowane są próby stosowania PDT w leczeniu bielactwa i albinizmu z wykorzystaniem światła słonecznego.

DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

W trakcie PDT często odczuwa się ból/pieczenie, chociaż jego nasilenie jest bardzo zróżnicowane. Objaw ten pojawia się zwykle w ciągu kilku minut od rozpoczęcia ekspozycji na światło i przypuszczalnie odzwierciedla stymulację nerwów i/lub uszkodzenie tkanek przez reaktywne formy tlenu, co prawdopodobnie nasila się w wyniku przegrzania. Większość pacjentów dobrze znosi PDT bez konieczności znieczulenia, ale doświadczanie bólu jest bardziej prawdopodobne w przypadku poddawania zabiegowi większych powierzchni skóry, zwłaszcza w dobrze unerwionych okolicach (twarz, skóra głowy, ręce, krocze), oraz częstsze podczas usuwania zmian o charakterze AK niż w chorobie Bowena. Pacjenci z wrażliwym typem skóry wydają się bardziej podatni na ból. Drugi zabieg w dwuzabiegowym cyklu może być bardziej bolesny.

Nie udało się potwierdzić, że miejscowe leki znieczulające, żel z tetrakainą, mieszanek lidokainy 2,5% i prilokainy 2,5% lub żel z morfiną w istotny sposób zmniejszają ból w trakcie PDT. W badaniu dotyczącym ALA-PDT w przypadku BD i BCC znieczulenie strumieniem zimnego powietrza o temperaturze -35°C skracало czas odczuwania bólu i stopień nasilenia dolegliwości bólowych, chociaż schładzanie może spowalniać reakcję fotodynamiczną. Przeskórna stymulacja nerwów wydaje się mieć ograniczony efekt. W zabiegach na większych powierzchniach przydatne są blokady nerwów (np. skóra czoła, cała skóra głowy), które wykazywały wyższą skuteczność niż znieczulenie zimnym powietrzem w kontrolowanym badaniu połówkowym twarzy dotyczącym MAL-PDT w leczeniu licznych AK w okolicy czołowej.

Metoda PDT z wykorzystaniem światła o niższym natężeniu (światło dzienne) jest mniej bolesna, ale czas trwania terapii ulega wydłużeniu. Przy wykorzystaniu różnych pulsacyjnych źródeł światła PDT wiązała się z mniejszymi dolegliwościami bólowymi w porównaniu ze standardową MAL-PDT.

Często po PDT pojawiają się rumień i obrzęk z nadżerkami, tworzeniem się strupków i gojeniem w ciągu 2–6 tygodni, ale rzadko dochodzi do owrzodzeń. Po PDT miejscowa nadwrażliwość na światło może utrzymywać się przez 48 godzin. Rzadko obserwuje się przypadki pozapalnych odbarwień i przebarwień.

PIŚMIENNICTWO

1. Raab O. Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. *Z Biol.* 1900; 39: 524–546.
2. Lipson RL, Baldes EJ, Olsen AM. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection. *J Natl Cancer Inst.* 1961; 26: 1–11.
3. Kennedy JC, Pottier RH. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experiences. *J Photochem Photobiol B.* 1990; 6: 143–148.
4. Abdel-Kader MH. Photodynamic therapy. From theory to applications. Springer, Verlag, Berlin, 2014.
5. Rapozzi V, Jori G. Resistance to photodynamic therapy in cancer. Springer, Heidelberg, 2015.
6. Gomer CJ. Photodynamic therapy. Methods and protocols. Springer, New York, 2010.
7. Fritch C, Rizicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of skin disease. Springer, Wien, 2003.
8. Kwaśny M, Graczyk A. Hematoporfiryny jako fotosensybilizatory w fotodynamicznej metodzie diagnostyki i terapii nowotworów. *Wiad Chem.* 1990; 44: 147–161.
9. Graczyk A. Fotodynamiczna metoda rozpoznawania i leczenia nowotworów. Bellona, Warszawa, 1999.
10. Sieroń A, Cieślak G, Adamek M, Laitl-Kobierska A, Szyguła M, Kawczyk-Krupka A. Zarys fotodynamicznej diagnostyki i terapii nowotworów. Alpha-medica Press, Katowice, 1997.
11. Podbielska H, Sieroń A, Stręg W. Diagnostyka i terapia fotodynamiczna. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław, 2004.
12. Naurecka M, Sierakowski B, Kwaśny M. Spectroscopic properties of second generation photosensitizers for photodiagnostic and photodynamic therapy. *Proc. SPIE.* 2016; 10159, doi: 10.1117/12.2261946.
13. Kwaśny M, Mierczyk Z. Współczesne źródła światła dla metody PDT. *Terapia Fotodynam.* 2015; 1(1): 10–26.
14. Morton CA, Szeimies RM, Sidoroff A, Braathen LR. European guidelines for photodynamic therapy part 1: current indications. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013; 27: 536–544.
15. Braathen LR, Szeimies RM, Basset SN, et al. Guidelines on the use of photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer: an international consensus. *J Am Acad Dermatol.* 2007; 56: 125–143.
16. Morton CA, McKenna KE, Rhodes LE. Guidelines for topical photodynamic therapy. *Br J Dermatol.* 2008; 159: 1245–1266.
17. Sieroń A, Kawczyk-Krupka A, Adamek M, et al. Photodynamic therapy (PDT) using topically applied d-aminolevulinic acid (ALA) for the treatment of malignant skin tumors. *Photodiagn Photodyn.* 2004; 1(1): 311–317.
18. Polak-Pacholczyk I, Lassota-Falczewska M, Kaszuba A. Zastosowanie terapii fotodynamicznej w leczeniu chorób skóry. *Dermat Prakt.* 2011; 3(2): 24–32.
19. Kaszuba A, Polak-Pacholczyk I, Lassota-Falczewska M. Terapia fotodynamiczna w leczeniu stanów przedrakowych i nieczerniakowych nowotworów skóry. *Post Derm Alergol.* 2008; 25 Suppl. 1: 90–97.
20. Polak-Pacholczyk I, Kaszuba A, Lassota-Falczewska M, Bartkowiak R, Kaszuba A. Terapia fotodynamiczna stanów przednowotworowych i nieczerniakowych nowotworów skóry przy zastosowaniu metylowej pochodnej kwasu aminolewulinowego (MAL-PDT), doświadczenia własne. *Prz Derm.* 2007; 94(5): 599–605.
21. Raszewska-Famielec M, Piłat P, Sajdak-Wojtaluk A, Borzęcki A. Pozanowotworowe wskazania do zastosowania w praktyce dermatologicznej. *Dermat Estet.* 2014; 16(1): 24–27.
22. Piłat P, Raszewska-Famielec M, Borzęcki A, Sajdak-Wojtaluk A. Zastosowanie terapii fotodynamicznej (PDT) w leczeniu nieczerniakowych nowotworów skóry. *Dermat Estet.* 2013; 15(5–6): 310–331.
23. Polak-Pacholczyk I, Kaszuba A. Metoda fotodynamiczna w leczeniu zakażeń skóry wirusami brodawczaka ludzkiego. *Prz Derm.* 2009; 96(2): 168–173.
24. Polak-Pacholczyk I, Lassota-Falczewska M, Kaszuba A. Fotodynamiczne odmładzanie skóry twarzy. *Przegląd piśmiennictwa. Dermat Prakt.* 2012; 4(6): 30–33.
25. Ross EV jr, Uebelhoefer NS, Rohrer TE. Trądzik. [in:] *Lasery i światło.* Goldberg D, Rohrer TE, Kaszuba A (ed.), Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2010.