

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Husova 3, 306 06 Plzeň



Autoreferát dizertační práce

## **Nové diagnostické metody v dermatologii: neinvazivní diagnostika nemelanomových nádorů kůže**

**New Diagnostic Methods in Dermatology: Non-invasive Diagnosis of Non-melanoma Skin Cancer**

Autor: MUDr. Martin Kříž

Obor: Dermatovenerologie

Plzeň 2013

Dizertační práce byla vypracována v rámci postgraduálního doktorandského studia na lékařské fakultě univerzity Karlovy v Plzni

Uchazeč: MUDr. Martin Kříž  
Svobody 304  
252 63 Roztoky u Prahy

Školitel: Prof. MUDr. Petr Arenberger DrSc., MBA  
Dermatovenerologická klinika, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady  
Šrobárova 50  
100 34 Praha

Oponenti: .....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Stanovisko k dizertační práci vypracovalo vedení Dermatovenerologické kliniky LF UK a FN v Plzni.

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba disertační práce před komisí pro obhajobu dizertačních prací v oboru Dermatovenerologie se koná dne: ..... v ..... hod.

Místo obhajoby: Šafránkův pavilon, posluchárna A, Alej Svobody 31, Plzeň

S dizertační prací je možno se seznámit na děkanátě Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, Plzeň.

Prof. MUDr. Karel Pizinger, CSc.  
Dr. Edvarda Beneše 13, PSC 305 99 Plzeň-Bory  
předseda komise pro obhajobu disertačních prací v oboru dermatovenerologie

## **Přehled současného stavu**

Nemelanomové kožní nádory jsou nejběžnější rakovinou v populaci se světlým typem kůže a jejich výskyt má proporce celosvětové epidemie [SALASCHE, S.J. 2000, TRAKATELLI, M. 2007]. Termín nemelanomové kožní nádory zahrnuje dva hlavní typy nádorů: bazaliom a spinaliom. Tyto dvě formy kožních nádorů představují více než 95 % všech nemelanomových kožních nádorů [TRAKATELLI, M. 2007]. Bazaliom je nejčastější epitelální nádor s nízkým maligním potenciálem. Spinaliom je druhý nejčastější maligní nádor kůže postihující i sliznice a vyznačující se invazivním destruktivním růstem a metastatickým potenciálem [HEENAN, P.J. 1996]. Aktinická keratóza je maligní prekurzor spinaliomů (spinaliom in situ) [EPSTEIN, E. 2004] a odhaduje se, že z 6–10 % aktinických keratóz se vyvine invazivní spaliom [ROSSI, R. 2007]. Rostoucím problémem je tzv. kancerifikace, což je plocha kůže s větším množstvím aktinických keratóz (nemaligních lézí) či spinaliomů (maligních lézí) difúzně rozložených na menších oblastech těla chronicky exponovaných UV záření [SMITS, T. 2007]. Pro stanovení diagnózy se z těchto suspektně maligních lézí musí opakovaně odebírat mnoho bioptických vzorků, což zvýšeně zatěžuje pacienta. V současnosti je podle některých autorů výskyt nemelanomových kožních nádorů společně s aktinickými keratózami vyšší než výskyt všech ostatních rakovin dohromady [HOUSMAN, TS. 2003].

Trendem veřejné zdravotní politiky jednadvacátého století je snaha zabránit rozvoji rakoviny kůže. To je možné prostřednictvím modifikace rizikových faktorů (primární prevence) anebo vylepšením rané detekce a sledování choroby (sekundární prevence) [TRAKATELLI, A. 2006] a tím zamezit následkům kožních nádorových onemocnění a snížit nemocnost a úmrtnost [SMITS, T. 2007]. K usnadnění klinické diagnostiky nemelanomových kožních nádorů již v raném stádiu se stále vyvíjí a

doplňuje rozsáhlý sortiment diagnostických technologií a testů. U rakoviny kůže je za „referenční standard“ stanovování diagnózy považováno histopatologické vyšetření preparátu získaného pomocí invazivní kožní biopsie nebo excize. Odběr takového bioptického materiálu může být časově náročná, drahá a někdy mutilující a bolestivá zkušenost pro pacienta. Předmětem předložené práce jsou nové metody neinvazivní diagnostiky. Tak, jak se vyvíjí nové neinvazivní léčebné strategie, roste i poptávka po metodách neinvazivní diagnostiky.

S cílem zpřesnit a objektivizovat neinvazivní diagnostiku nemelanomových kožních nádorů přichází do kožního lékařství stále nové metody a technologie. Otázkou je, nabízejí-li dostatečnou diagnostickou senzitivitu, a mohou-li se stát vhodným doplňkem klinického vyšetření.

## **Cíle**

Cílem práce je shrnout nová a aktuální data (state-of-art) o metodách neinvazivní diagnostiky nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz a doplnit je o výsledky vlastních pozorování. Z literatury byly vybrány neinvazivní diagnostické přístupy, které jsou v posledních dvou desetiletích nejčastěji zmiňovány v souvislosti s výzkumem nemelanomových kožních nádorů.

V práci jsou rovněž diskutovány výhody, limitující faktory a použitelnost neinvazivních diagnostických technologií v klinické praxi a další vývoj tohoto odvětví.

## **Zvolené metody zpracování**

Do různých odborných internetových vyhledávačů byla zadána klíčová slova v anglickém jazyce týkající se diagnostiky nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz. Výběr článků byl omezen na ty, které zahrnují lidské studie zveřejněné po roce 1990.

Jednotlivé vyšetřovací metody jsou v práci zhodnoceny a prezentovány se zaměřením na jejich přesnost a spolehlivost. Ve výsledcích je uvedena také histopatologie, jako doposud používaný zlatý standard v diagnostice nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz, s nímž je porovnávána přesnost ostatních metod.

Vlastní pozorování byla detailně zaměřena na dvě vybrané neinvazivní metody – vysokofrekvenční ultrasonografii a bispektrální fluorescenční diagnostiku. V první studii bylo sto předem histologicky nebo dermatoskopicky (Delta 10, Heine, Německo) diagnostikovaných bazaliomů klinicky vyšetřeno prostřednictvím zkušeného atestovaného dermatologa. Tloušťka a velikost byly zaznamenány. Druhé nezávislé vyšetření bylo provedeno pomocí vysokofrekvenčního ultrazvuku (20-MHz hlavice, Atys Médical, Francie). Maximální tloušťka byla digitálně změřena během 2D vizualizace (B-mód). Poté byl na lézi a 10 mm okolí nanesen fotosenzibilizátor - methyl-ester-5-aminolaevulinové kyseliny, oblast na 3 hodiny překryta okluzivním a světlo-nepropustným obvazem. Po odstranění obvazu byla v temné místnosti oblast osvětlena ultrafialovým světlem (Woodova lampa) a rozměry získané fluorescence byly zaznamenány. Výsledky všech měření byly porovnány a statisticky zpracovány.

Ve druhé studii byl použit stejný postup fluorescenčního zobrazení jako v první studii.

## Výsledky

### Literární rešerše

#### Bioptické techniky, histopatologie, molekulární markery a cytologie

Mezi bioptické techniky se řadí shave biopsie a průbojníková biopsie, při kterých se odebere část suspektní léze. Biopsie patří v diagnostice nemelanomových kožních nádorů ke zlatému standardu a přesnost následného histopatologického vyšetření je vysoká. Ještě přesnější data o povaze nádoru mohou být získána, pokud má histopatolog k dispozici celou lézi nebo její velkou část získanou celkovou excizí nádoru [RUSSELL, EB. 1999]. Většina klinických studií prokazujících přesnost neinvazivních diagnostických metod proto porovnává výsledky se závěry histopatologického vyšetření, které slouží jako referenční standard [OLHOFFER, IH. 2002]. Histopatologie je subjektivní posouzení vzorku dermatopatologem. Při histopatologické klasifikaci se mohou objevit rozdíly mezi pozorovateli. Ty jsou často závislé na diagnostické zkušenosti dermatopatologa. Výskyt této chyby se v literatuře pohybuje od 1,2 % až do 7 % [OLHOFFER, IH. 2002]. Cílem dalších aktuálních výzkumů je definovat nemelanomové kožní nádory pomocí fenotypu z hlediska molekulárních abnormalit a takto stanovit přesnější referenční standard pro jejich diagnostiku [ORTONNE, JP. 2002]. K dnešnímu dni zatím nebyly pro nemelanomové kožní nádory specifické a diagnostiku přesné molekulární markery stanoveny.

Méně invazivní, ale také méně přesnou diagnostickou metodou je exfoliativní cytologie. V systematickém přezkumu exfoliativní cytologie v diagnostice bazaliomů ukázala metaanalýza celkovou sensitivitu až 97 % a specifickost 86 %, avšak cytologie neposkytuje žádné informace o podtypu nádoru ani o jeho ohraničení.

## Klinické a fyzikální vyšetření

V dosavadní dermatologické praxi se nejvíce používá klinické a fyzikální vyšetření. Navzdory tomu, že právě klinické vyšetření je tou nejpřístupnější diagnostickou metodou, může její přesnost a správnost díky velké variabilitě vzhledu lézí nemelanomových kožních nádorů a v závislosti na diagnostické zkušenosti vyšetřujícího velmi kolísat [RIPPEY, JJ. 1997]. Ve zkoumaných studiích se celková senzitivita klinické diagnostiky nemelanomových kožních nádorů pohybuje mezi 56 % a 90 % a specifita mezi 75 % až 90 %. Nejvyšší přesnost klinického vyšetření byla dosažena u diagnostiky bazaliomů.

## Dermatoskopie

Dermatoskopie je neinvazivní vyšetření, pro které se používá více různých označení: dermoskopie, epiluminescenční mikroskopie, světelná mikroskopie a mikroskopie kožního povrchu. Šedohnědé často ovoidní uzlíky a jantarově zbarvené krusty jsou dermatoskopické známky bazaliomů. Mezi dermatoskopické znaky nemelanomových kožních nádorů patří změny cév a jejich popis se nazývá též kapilaroskopie [ARGENZIANO, G. 2004]. Diagnostická přesnost týkající se cévních charakteristik se jeví jako poměrně perspektivní. Senzitivita pro diagnózu bazaliomů se pohybuje od 87 % až 96 % a specifita od 72 % do 92 % [ARGENZIANO, G. 2004]. Dermatoskopy spojené s grafickým mikroskopem a následnou počítačovou analýzou jsou nazývány též "digitální dermatoskopy" [MARGHOOB, AA. 2003]. Dermatoskopie je etablovanou neinvazivní metodou v diagnostice melanomových kožních lézí. Přesná a jasná diagnostická kritéria stanovená pro melanomové léze nelze však použít pro nemelanomové kožní nádory. Přes snahu mnoha autorů o standardizaci dermoskopie, respektive kapilaroskopie

založené na posuzování cévních charakteristik kožních nádorů, se zdá tato metoda v diagnostice nemelanomových kožních nádorů na okraji svých možností. Při určování bazaliomů se dermatoskopie jeví sice jako dostatečně senzitivní, nicméně jasné dermatoskopické charakteristiky pro spinaliomy a aktinické keratózy neexistují. Proto v blízké budoucnosti nepředpokládám začlenění dermatoskopie do neinvazivní diagnostiky nemelanomových kožních nádorů.

### Optická koherenční tomografie

Optická koherenční tomografie (OCT) je neinvazivní optická zobrazovací technologie známá zatím především z očního lékařství. Poskytuje průřezové tomografické obrazy tkání in situ v reálném čase. Nemelanomové kožní nádory a maligní melanomy (MM) byly zkoumány pomocí OCT. Výsledky OCT vyšetření korelují s histologickým obrazem [WELZEL, J. 2001]. Nevýhodou OCT je nízká schopnost diferencovat bazaliomů lézi od kolagenní jizvy [STRASSWIMMER, J. 2004]. Aktuální studie ukazují, že rozlišení novějších přístrojů OCT je pro neinvazivní diferenciální diagnostiku nemelanomových kožních nádorů dostatečné [STRASSWIMMER, J. 2004]. OCT je lepší při detekci cystických lézí než vysokofrekvenční ultrazvuk, ale díky nízké penetraci OCT, nemohou být určeny okraje nádoru v hloubce [STRASSWIMMER, J. 2004]. U dnešních OCT přístrojů se maximální penetrace pohybuje okolo 2 mm [WELZEL, J. 2001]. Právě v této hloubce je však nejdůležitější zobrazení okraje bazaliomu, protože zde se rozhoduje o možnosti neinvazivní terapie a chirurgickou excizí.



### Konfokální mikroskopie

Vyšetření pomocí konfokálního mikroskopu (CM) je metoda, pomocí které je možná v reálném čase neinvazivně zobrazovat struktury pod povrchem kůže s rozlišením na buněčné úrovni. CM má ze všech optických neinvazivních zobrazovacích metod používaných ve výzkumu nemelanomových kožních nádorů v dnešní době nejvyšší rozlišení [KOLLIAS, N. 2002]. Ve studiích se senzitivita CM v porovnání s histopatologií pohybuje mezi 44 % až 100 % a specifita mezi 73 % až 100 %. Nevýhodou je, že při in vivo použití je CM limitována nízkou hloubkou zobrazení tkáně, která je v porovnání s jinými neinvazivními vyšetřovacími metodami nejmenší. U bazaliomů se při vyšetření pomocí CM zobrazují charakteristické znaky [GONZALEZ, S. 2002]. Naproti tomu, znaky spinaliomů v CM jsou nepravidelné [SELKIN, B. 2001]. Pokud bude v blízké budoucnosti vytvořen CM přístroj, který dokáže zobrazit struktury do hloubky cca 6 mm (tak jako např. 20 MHz vysokofrekvenční ultrazvuk), pak by tato metoda mohla nahradit většinu histologických vyšetření a dokonce vytlačit dnes běžnou invazivní probatorní excizi z dermatologické praxe.

### Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie (RS), též nazývána spektroskopie blízkým infračerveným světlem nebo difúzní reflektanční spektroskopie, která poskytuje molekulární informace o tkáni ozářené laserovým paprskem na principu odrazu světla s posunutou frekvencí (Ramanův efekt). Několik studií popsalo charakteristiky Ramanových spekter a využití u in vivo nemelanomových kožních nádorů nebo ex vivo po jejich chirurgické excizi [MCINTOSH, LM. 2001]. In vivo je RS možná, ale přesnost spekter je nízká [MCINTOSH, LM. 2001]. V ex vivo studii lze s předpovědním

modelem zařadit nové vzorky tkáně z bazaliomovými lézemi podle jejich Ramanova spektra se sensitivitou 100 % a specificitou 93 % [GNIADÉCKA, M. 1997]. RS je pro in vivo zobrazování zatím prakticky nedostupná ale pro ex vivo vyšetření preparátu po chirurgické excizi již použitelná. Využití RS v dermatologické praxi je diskutováno teprve v několika posledních letech. Při dalším zdokonalování metody lze předpokládat zvýšení přesnosti in vivo. RS v neinvazivní diagnostice nemelanomových kožních nádorů se ale nedá v blízké budoucnosti předpokládat.

#### Teraherz pulzní zobrazování

Teraherz pulzní zobrazování (TPI) je nová neinvazivní zobrazovací modalita, používající impulsů elektromagnetického záření v kmitočtovém rozsahu od 0,1 do 10 THz. Obsah vody v kůži je pak zdrojem kontrastu v obraze [PICKWELL, E. 2004]. Malé množství zatím publikovaných prací popisuje významný s histologií korelující rozdíl v odpovědi na THz záření mezi normální kůží a bazaliomy [WALLACE, VP 2004]. TPI se i přes zatím slibné výsledky do dermatologické praxe pro svou náročnost v nejbližší budoucnosti nedostane. Zatím bylo zveřejněno pouze malé množství studií a až v budoucnu se ukáže, jestli se tato neinvazivní metoda měření osvědčí a bude přínosná v diagnostice nemelanomových kožních nádorů.

#### Elektrická impedance

Elektrická impedance (IMP) nebo také rezistance je elektrická vlastnost kůže, kterou lze popsat pomocí komplexu hodnot odporu a reaktance. Studie, které se týkají IMP, popisují statisticky významné rozdíly mezi hodnotami IMP u bazaliomů v porovnání s normální kůží [EMTESTAM, L.

1998]. Senzitivita při použití neinvazivní sondy k rozlišení bazaliomů od benigního névu byla 96 % a specificita 86 % [ABERG, P. 2005]. Srovnání IMP, transepidermální ztráty vody (TEWL) a laserové Dopplerovské zobrazení (LD) v diagnostice nodulárního a superficiálního bazaliomu ukázalo statisticky významné rozdíly mezi bazaliomy a normální kůží [KUZMINA, N. 2005]. IMP je v dermatologii již používanou metodou. Její přesnost je však velice závislá na okolních faktorech a jiných vlivech, které doposud nelze buď přesněji definovat, nebo při vyšetření eliminovat. Systémy pro měření IMP jsou však dále vylepšovány a v budoucnu je možné, že bude i tato metoda využita při diagnostice nemelanomových kožních nádorů.

### PET, CT a MR

Pozitronová emisní tomografie (PET) je zobrazovací technika, která detekuje emitované pozitrony z radioaktivních látek a přináší průřezové fyziologické informace, Počítačová tomografie (CT) je založena na principu rentgenu a magnetická rezonance (MR) využívá magnetické vlastnosti jádra vodíku. Principy PET, CT a MR byly pokusně použity k diagnostice nemelanomových kožních nádorů. PET s 2deoxy-2-18F-fluoro-D-glukózou (FDG-PET), u šesti pacientů s bazaliomem větším než 1 cm, identifikoval pouze u 50 % z nich [FOSKO, SW. 2003]. V jiné studii porovnávající FDG-PET s fyzikálním vyšetřením, ultrasonografií a CT [SIGG, MB. 2003] byla při detekci primárního ložiska nádoru senzitivita 95 % (95 % CI, 80 % – 98 %) a specificita 100 % (95 % CI, 62 % – 100 %) a nebyl nalezen žádný statistický rozdíl mezi PET a CT. CT, PET a MR jsou metody v jiných oborech nezastupitelné. Jejich využití v běžné dermatologické praxi se zdá však jako velice nepravděpodobné. Rozlišení těchto vyšetření není pro potřeby dermatologa dostatečné. Nutnost speciálně vybavených a uzpůsobených prostor, personálu,

samotná velikost a nákladnost jednotlivých přístrojů posouvá tyto metody mimo rámec kožní praxe.

## **Vlastní výsledky**

### Vysokofrekvenční ultrasonografie a Dopplerovská sonografie

Principem vysokofrekvenčního ultrazvuku je emise pulzního svazku ultrazvuku (US) ze sondy a registrace intenzity echa vracejícího se do téže sondy zpět. Struktury s vysokou intenzitou odrazu jsou definovány jako hyperechogenní, struktury s nízkou intenzitou odrazu jako hypoechogenní. Sonografické charakteristiky nádorů kůže byly široce prozkoumány během posledního desetiletí [MARQUES, J. 2002]. Závěry studií se shodují na vysoké přesnosti vysokofrekvenčního ultrazvuku při určování velikosti léze a její tloušťky [HARLAND, CC. 1993]. Samostatný vysokofrekvenční ultrazvuk není vhodný pro diferenciální diagnostiku nemelanomových kožních nádorů, protože se všechny kožní nádory zobrazují jako hypoechogenní [RUOCCO, E. 2004]. Vysokofrekvenční ultrazvuk je v diagnostice nemelanomových kožních nádorů schopen odhalit trojrozměrnou velikost kožní léze a získat informace o vnitřní struktuře [RUOCCO, E. 2004]. Senzitivita vysokofrekvenčního ultrazvuku v diagnostice bazaliomů se udává až 96 % při detekci max. tloušťky a senzitivita při měření laterální velikosti nádorů až 84 % [HARLAND, CC. 1993].

Z naší studie vyplývá, že pomocí klinického a/nebo dermatoskopického vyšetření nezíská vyšetřující dostatek informací pro rozhodnutí o nejvhodnější terapii bazaliomů. Vysokofrekvenční ultrazvuk se ukázal být důležitý pro neinvazivní stanovení hloubky bazaliomů a tím doplňuje klinické vyšetření o důležité hodnoty, které jsou nepostradatelné pro následné rozhodování o nejvýhodnější terapii. Výsledkem je, že hraniční

nálezy dříve řešené excizí, mohou být na základě přesnější diagnostiky léčeny neinvazivními terapeutickými přístupy (např. fotodynamickou terapií - PDT). To pak méně zatěžuje pacienta a přináší lepší kosmetické výsledky.

Další možností využití US je Dopplerovská technika, kterou lze získat informace o rychlostech pohybu tkání a vaskularizaci kožní léze. Studie zkoumající prokrvení nádoru pomocí Dopplerovské techniky ukazují senzitivitu vyšetření od 58 % do 88 % a specifitu mezi 63 % a 88 % [KARAMAN, GC. 2001].

### Fluorescenční diagnostika

Fluorescenční diagnostika je, obdobně jako RS založena na principu detekce záření emitovaného kožními strukturami (fluorofory). Při fluorescenci je elektromagnetické záření reemitováno s nižší energií a delší vlnovou délkou. Část dopadajícího světla je též absorbována melaninem obsaženým v kůži.

Z pozorování vyplývá, že přesnost fluorescenční diagnostiky je pro praxi použitelná při vyšetřeních na sliznici. Pro ohraničení kožních lézí zvláště bazaliomů je výrazně vyšší senzitivita až 97 % dosažena při bispektrální fluorescenční diagnostice [NA, R. 2001].

V autorské studii o 100 bazaliomech byla porovnána bispektrální fluorescenční diagnostika a klinické vyšetření při ohraničení bazaliomů. Bispektrální fluorescenční diagnostika nespécificky, ale s vysokou senzitivitou zobrazuje okraje lézí. Vysokou senzitivitu fluorescenční diagnostiky jsem s úspěchem použil v další vlastní případové studii k demarkaci hranic nádoru a navigaci biopsie u análního karcinomu a Pagetovy choroby.

Fluorescenční diagnostika patří v dnešní době k nejčastěji diskutovaným a po klinickém vyšetření a biopsii v praxi nejvíce používaným metodám v diagnostice nemelanomových kožních nádorů. K plošnému rozšíření této metody přispívá nízká náročnost na přístrojové vybavení. Zdroj záření blízkého ideální vlnové délce 405 nm je součástí většiny dermatologických praxí. Hlavní nevýhodou bispektrální fluorescenční diagnostiky je její časová náročnost. Nejprve je třeba nanést fotosenzibilizátor na povrch léze a její okolí a až po 3-5 hodinách inkubace pod okluzivním a fotoprotektivním obvazem je možné ideálně v tmavé místnosti vyvolat červenou fluorescenci. V neposlední řadě je třeba pacienta obeznámit s lokální fytotoxicitou přetrvávající asi 24 hodin po lokální aplikaci fotosenzibilizátoru. Novou galenickou formou pro lokální aplikaci je liposomálně vázaný fotosenzibilizátor 5-aminolaevulinová kyselina (ALA). Liposomálně vázaná ALA vyvolává při čtyřicetinásobně nižší koncentraci fotosenzibilizátoru stejně intenzivní fluorescenci jako doposud používané krémy nebo gely. Navíc byla popsána vyšší selektivita a nižší fototoxicita při použití této formy [DE LEEUW, J. 2009].

Naše studie s bispektrální fluorescenční diagnostikou u 100 bazaliomů zobrazila u téměř poloviny případů větší plochu nádoru ve srovnání s plochou označenou při klinickém vyšetření. Tato vyšší hodnota je částečně způsobena falešně pozitivní fluorescencí okolní dysplastické a reaktivní tkáně, ale částečně též ukazuje skutečnou klinicky nerozpoznanou nádorovou tkáň.

## Závěry

Jak je patrné z rešeršovaných studií, jsou data popisující senzitivitu a specifitu jednotlivých neinvazivních vyšetřovacích metod i v rámci jedné metody rozdílná. Reprodukovatelnost výsledků je možná pouze při bližším porovnání metodik a designů jednotlivých studií. Výpovědní hodnotu u některých studií snižuje fakt, že design studie a počet pacientů do ní zařazených není dostatečný. Ke spolehlivému posouzení přesnosti diagnostický testů jsou potřeba další pozorování na zdravých jedincích, randomizované a velké kohortové studie [GLUUD, C. 2005].

Metody nejbližší klinickému použití při diagnostice nemelanomových kožních nádorů jsou kromě vlastního klinického vyšetření, již zavedená dermatoskopie jejíž další rozvoj se z důvodů optických limitů nepředpokládá. Z literárních rešerší se pro účel neinvazivní diagnostiky nemelanomových nádorů a aktinických keratóz předpokládá zečlenění vysokofrekvenčního ultrazvuku a bispektrální fluorescenční diagnostiky nejpravděpodobnější. Lze předpokládat, že neustálé zdokonalování i ostatních neinvazivních přístupů povede ke zvýšení jejich diagnostické přesnosti. Potvrzení tohoto faktu ve velkých randomizovaných studiích bude následně pouze otázkou času.

Vlastní výsledky se zaměřily na dvě pro praxi aktuálně nejperspektivnější metody a jsou prezentovány ve dvou studiích. První studie ukázala na výhody vysokofrekvenčního ultrazvuku a bispektrální fluorescenční diagnostiky při neinvazivním definování hranic bazaliomů. Druhá studie se zabývá přínosem bispektrální fluorescenční diagnostiky k přesnému ohraničení maligního nádoru kůže, čímž lze minimalizovat radikalitu následné léčebné excize.

V naší studii o 100 bazaliomových lézích jsme použili vysokofrekvenční ultrazvuk pro neinvazivní měření tloušťky bazaliomů. Výsledky ukazují, že vysokofrekvenční ultrazvuk pomáhá při výběru vhodné terapie, jelikož

tloušťka léze je jedním z důležitých faktorů rozhodujících o terapii bazaliomů. Léčba bazaliomů pomocí PDT bez předchozího vyšetření vysokofrekvenčním ultrazvukem by, podle našich závěrů, měla být považována za non lege artis a doporučujeme využít vysokofrekvenční ultrazvuk při vyšetření všech bazaliomu před neinvazivní léčbou. Vysokofrekvenční ultrazvuk je možné použít i po částečné ablacii nádoru (laserem, kyretáží, elektrodestrukcí, PDT). Vysokofrekvenční ultrazvuk má potenciál změnit terapeutické PDT protokoly a standard při terapii bazaliomů. Touto cestou je možné se přiblížit ideálu dermatologické terapie. Tím je ze strany dermatologa dokonalé odstranění léze a ze strany pacienta terapie s minimálními kosmetickými následky. Současným limitem zavedení většiny ze zde popsaných neinvazivních vyšetřovacích metod do klinické praxe je též cenová dostupnost. V mnoha lékařských praxích jsou k dispozici US přístroje se sondami nižších frekvencí. Pokud se doplní stávající přístroj o novou vysokofrekvenční sondu, stane se tato metoda velice přístupnou.

Jak ukazuje naše případová studie análního karcinomu, vysoká senzitivita bispektrální fluorescenční diagnostiky může být použita v navigaci biopsie nebo demarkace hranic již známého nádoru. Pomocí bispektrální fluorescenční diagnostiky byla u pacienta vyznačena místa s nejvyšší aktivitou. Následné biopsie odebrané z takto označených částí léze vyloučily suspektní nádorové změny. U jiného pacienta s diagnózou extramamárního Pagetova karcinomu byl pomocí fluorescenční diagnostiky zobrazen rozsah nádoru. Následná minimálně mutilující chirurgická excize do zdravé tkáně zachovala anatomickou i fyziologickou funkci oblasti.

Referenční standard je v současnosti kožní biopsie a histopatologické odečtení. S postupujícím časem bude tento přístup nadále vytlačován na



okraj diagnostiky nemelanomových kožních nádorů, ale vždy zůstane nenahraditelným například u hraničních nebo pokročilých nálezů.

Ze všech studovaných metod je vysokofrekvenční ultrazvuk praktickému každodennímu použití při diagnostice nemelanomových kožních nádorů nejbližší. Použití fluorescenční diagnostiky pak nejspíše i nadále zůstane ve specializovanějších pracovištích jako metoda doplňková, používaná při sporných a nejasných případech.

### **Seznam nejdůležitějších publikovaných prací:**

KRIZ, M., HEGYI, J., RUZICKA, T., et al. Fluorescence diagnostics as a guide for demarcation and biopsy of suspected anal cancer. *Int J Dermatol.* 2012, vol.51:p.31-34.

- dosud žádný ohlas

SMUCLER, R., KRIZ, M., LIPPERT, J., et al. Ultrasound Guided Ablative-Laser Assisted Photodynamic Therapy of Basal Cell Carcinoma (Us-aL-PDT). *Photomed Laser Surg.* 2012, Apr;30(4):200-5.

- dosud žádný ohlas

## Seznam použité literatury

1. **ABERG**, P., GELADI, P., NICANDER, I., et al. Non-invasive and microinvasive electrical impedance spectra of skin cancer: a comparison between two techniques. *Skin Res Technol*, 2005, vol.11, p.281–286.
2. **ARGENZIANO**, G., ZALAUDEK, I., CORONA, R., et al. Vascular structures in skin tumors: a dermoscopy study. *Arch Dermatol*, 2004, vol. 140, p. 1485–1489.
3. **DE LEEUW**, J., VAN DER BECK, N., NEUGEBAUER, WD., et al. Fluorescence Detection and Diagnosis of Non-Melanoma Skin Cancer at an Early Stage. *Laser in Surg and Med*, 2009, vol. 41, p. 96-103.
4. **EMTESTAM**, L., NICANDER, I., STENSTROM, M., et al. Electrical impedance of nodular basal cell carcinoma: a pilot study. *Dermatology*, 1998, vol.197, p. 313–316.
5. **EPSTEIN** E. Quantifying actinic keratosis: Assessing the evidence. *Am J Clin Dermatol*, 2004, vol. 5, p. 141–144.
6. **FOSKO**, SW., HU, W., COOK, TF., et al. Positron emission tomography for basal cell carcinoma of the head and neck. *Arch Dermatol*, 2003, vol. 139, p. 1141–1146.
7. **GLUUD**, C. and GLUUD, LL. Evidence based diagnostics. *BMJ*, 2005, vol. 330, p.724–726.
8. **GNIADACKA**, M., WULF, HC., NIELSEN, OF., et al. Distinctive molecular abnormalities in benign and malignant skin lesions: studies by Raman spectroscopy. *Photochem Photobiol* , 1997, vol. 66, p. 418–423.

9. **GONZALEZ**, S. and **TANNOUS**, Z. Real-time, in vivo confocal reflectance microscopy of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*, 2002, vol. 47, p. 869–874.
10. **HARLAND**, CC., **BAMBER**, JC., **GUSTERSON**, BA., et al. High frequency, high resolution B-scan ultrasound in the assessment of skin tumours. *Br J Dermatol*, 1993, vol. 128, p. 525–532.
11. **HEENAN**, PJ., **ELDER**, DE. and **SOBIN**, LH. Histological Typing of Skin Tumors (WHO). Berlin: Springer, 1996, p. 48–51.
12. **HOUSMAN**, TS., **FELDMAN**, SR., **WILLIFORD**, PM., et al. Skin cancer is among the most costly of all cancers to treat for Medicare population. *J Am Acad Dermatol*, 2003, vol. 48, p. 425–429.
13. **KARAMAN**, GC., **KARAMAN**, CZ., **SENDUR**, N., et al. Power Doppler ultrasonography for the evaluation of skin tumors other than malignant melanoma. *Eur Radiol*, 2001, vol. 11, p. 1111–1116.
14. **KOLLIAS**, N. and **STAMATAS**, GN. Optical non-invasive approaches to diagnosis of skin diseases. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 2002, vol. 7, p. 64–75.
15. **KUZMINA**, N., **TALME**, T., **LAPINS**, J., et al. Non-invasive preoperative assessment of basal cell carcinoma of nodular and superficial types. *Skin Res Technol*, 2005, vol.11, p. 196–200.
16. **MARGHOOB**, AA., **SWINDLE**, LD., **MORICZ**, CZ., et al. Instruments and new technologies for the in vivo diagnosis of melanoma. *J Am Acad Dermatol*, 2003, vol. 49, p. 777–797.
17. **MARQUES**, J., **CUETO**, L., **ROLDAN**, F., et al. Ultrasound study of skin tumors. *Radiologia*, 2002, vol. 44, p. 55-60.

18. **MC INTOSH**, LM., SUMMERS, R., JACKSON, M., et al. Towards non-invasive screening of skin lesions by near-infrared spectroscopy. *J Invest Dermatol*, 2001, vol. 116, p. 175–181.
19. **NA**, R., STENDER, IM. and WULF, HC. Can autofluorescence demarcate basal cell carcinoma from normal skin? A comparison with protoporphyrin IX fluorescence. *Acta Derm Venereol*, 2001, vol. 81, p. 246–249.
20. **OLHOFFER**, IH., LAZOVA, R. and LEFFELL, DJ. Histopathologic misdiagnoses and their clinical consequences. *Arch Dermatol*, 2002, vol.138, p.1381–1383.
21. **ORTONNE**, JP. From actinic keratosis to squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol*, 2002, vol.146, Suppl 61, p. 20–23.
22. **PICKWELL**, E., COLE, BE., FITZGERALD, AJ., et al. In vivo study of human skin using pulsed terahertz radiation. *Phys Med*, 2004, vol. 49, p. 1595–1607.
23. **RIPPEY**, JJ. and RIPPEY, E. Characteristics of incompletely excised basal cell carcinoma. *Med J Aust*, 1997, vol. 166, p. 581–583.
24. **ROSSI**, R., MORI, M. and LOTTI, T. Actinic keratosis. *Int J Dermatol*, 2007, vol. 46, p. 895–904.
25. **RUOCCO**, E., ARGENZIANO, G., PELLACANI, G., et al. Noninvasive imaging of skin tumors. *Dermatol Surg*, 2004, vol. 30, p. 301–310.
26. **RUSSELL**, EB., CARRINGTON, PR. and SMOLLER, BR. Basal cell carcinoma: a comparison of shave biopsy versus punch biopsy techniques in subtype diagnosis. *J Am Acad Dermatol*, 1999, vol. 41, p. 69–71.

27. **SALASCHE**, SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*, 2000, vol. 42, p. 54–57.
28. **SELKIN**, B., RAJADHYAKSHA, M., GONZALEZ, S., et al. In vivo confocal microscopy in dermatology. *Dermatol Clin*, 2001, vol. 19, p. 369–377.
29. **SIGG**, MB., STEINERT, H., GRATZ, K., et al. Staging of head and neck tumors: [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography compared with physical examination and conventional imaging modalities. *J Oral Maxillofac Surg*, 2003, vol. 61, p. 1022–1029.
30. **SMITS**, T., KLEINPENNING, MM., BLOKX, WAM,, et al. Fluorescence diagnosis in keratinocytic intraepidermal neoplasias. *J Am Acad Dermatol*, 2007, vol. 57, p. 824–831.
31. **STRASSWIMMER**, J., PIERCE, MC., PARK, BH., et al. Polarization-sensitive optical coherence tomography of invasive basal cell carcinoma. *J Biomed Opt*, 2004, vol. 9, p. 292–298.
32. **TRAKATELLI**, A., GEROCHRISTOS, I., TRAKATELLI, M. The programme of community action in the field of health (2007-2013). *Pharm Policy Law*, 2008, 2005, 2006, vol. 8, p. 3–11.
33. **TRAKATELLI**, M., ULRICH, C., DEL MARMOL, V., et al. Epidemiology of nonmelanoma skin cancer (NMSC) in Europe: Accurate and comparable data are needed for effective public health monitoring and interventions. *Br J Dermatol*, 2007, vol. 156, Suppl. 3, p. 1–7.
34. **WALLACE**, VP., FITZGERALD, AJ., SHANKAR, S., et al. Terahertz pulsed imaging of basal cell carcinoma ex vivo and in vivo. *Br J Dermatol*, 2004, vol. 151, p. 424–432.

35. **WELZEL J.** Optical coherence tomography in dermatology: a review.  
*Skin Res Technol*, 2001, vol.7, p. 1–9.

## **Résumé in English**

Non-melanoma skin cancer (NMSC) is the most prevalent cancer in the light-skinned population. New less- or non-invasive treatments are increasingly used for NMSC patients, making the development of non-invasive diagnostic technologies highly relevant.

The scope of this work is to present data on the current state-of-art in diagnostic methods for NMSC and actinic keratosis. Different key words were searched through scientific search-engines. Results of the two of our studies are presented.

Encouraging results from the reviewed diagnostic trials have suggested a high diagnostic accuracy for many of the new technologies.

New imaging technologies have the capability of providing new or additional data or enough information in vivo to understand of NMSC development and to help the clinical diagnostics. Some of the new technologies, especially the high frequency ultrasonography described in the paper have the potential to be used in the daily praxis of NMSC diagnostic. The fluorescence diagnostic brings in our point of view a great merit in second line diagnostics of advanced and not clear cases.



## **Resumé v českém jazyce**

Nemelanomové kožní nádory jsou vůbec nejběžnější rakovinou v populaci se světlým typem kůže. U pacientů s nemelanžovým kožním nádorem nebo aktinickou keratózou se stále častěji používají metody neinvazivní terapie, což přináší poptávku po vývoji nových neinvazivních vyšetřovacích metod.

Cílem této práce je shrnout nová a aktuální data (state-of-art) v metodách diagnostiky nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz. Do různých vědeckých internetových vyhledávačů byla zadána klíčová slova v anglickém jazyce týkající se diagnostiky nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz. Klinické studie byly uspořádány podle typu diagnostické metody a jejich závěry byly porovnány na základě senzitivity, specifity a pozitivní prediktivní hodnoty. Vlastní pozorování se zaměřila na dvě z literatury nejperspektivnější neinvazivní metody – vysokofrekvenční ultrazvuk a bispektrální fluorescenční diagnostiku.

Výsledky zpracovaných studií i vlastních pozorování porovnávají diagnostickou přesnost nových diagnostických technologií. Ukazuje se, že moderní neinvazivní zobrazovací technologie poskytují nové a doplňující údaje v diagnostice nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz. Vysokofrekvenční ultrazvuk ukazuje vysoký potenciál při využití v každodenní klinické praxi při diagnostice nemelanomových nádorů a aktinických keratóz. Bispektrální fluorescenční diagnostiky je též již dostupnou metodou, jejíž použití zůstane jako metoda druhé volby při demarkaci těžko ohraničitelných a složitých nálezů. Ostatní diskutované metody nadále zůstávají přístupné v okruhu specializovaných pracovišť a hlavně k výzkumným účelům. Jejich zavedení do praxe při diagnostice nemelanomových kožních nádorů a aktinických keratóz bude možné teprve po vylepšení jejich sensitivity a/nebo specifity.