

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



Dizertační práce

Nové diagnostické metody v dermatologii: neinvazivní diagnostika nemelanomových nádorů kůže

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

Autor: MUDr. Martin Kříž

Školitel: Prof. MUDr. Petr Arenberger, DrSc., MBA

Obor: Dermatovenerologie

Plzeň 2013

Abstrakt v českém jazyce

Nemelanomové kožní nádory (= nemelanomové nádory) jsou vůbec nejběžnější rakovinou v populaci se světlým typem kůže. U pacientů s nemelanomovým nádorem 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 nádorů a aktinických keratóz, prezentovat výsledky vlastních pozorování a diskutovat další vývoj tohoto odvětví.

Do různých internetových vyhledávačů byla zadána klíčová slova v anglickém jazyce týkající se diagnostiky nemelanomového nádoru 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 vybrané neinvazivní metody, které se podle provedených rešerší jeví jako nejsnáze využitelné v klinické praxi – vysokofrekvenční ultrazvuk a bispektrální fluorescenční diagnostiku.

Výsledky zpracovaných studií i vlastních pozorování porovnávají diagnostickou přesnost nových diagnostických technologií. Vybrané neinvazivní diagnostické metody -vysokofrekvenční ultrazvuk a fluorescenční diagnostika jsou při diagnostice nemelanomového nádoru vysoce senzitivní a využitelné při demarkaci lézí.

Především vysokofrekvenční ultrazvuk, částečně i bispektrální fluorescenční diagnostika, mají potenciál být v blízké době zavedeny do běžné klinické dermatologické praxe neinvazivní diagnostiky nemelanomových kožních nádorů. Ostatní diskutované metody nadále zůstávají přístupné v okruhu specializovaných pracovišť a k výzkumným účelům. Jejich zavedení do praxe při diagnostice nemelanomových kožních nádorů bude možné teprve po vylepšení jejich sensitivity a/nebo specifity.

Abstract in English

Nonmelanoma skin cancer is the most prevalent cancer in the light-skinned population. Non-invasive treatment is increasingly used for nonmelanoma skin cancer patients, making the development of non-invasive diagnostic technologies highly relevant.

The scope of this article is to present data on the current state-of-art diagnostic methods for different nonmelanoma skin cancer and actinic keratosis, to present results of our own studies and to discuss further development in this field.

Key words concerning nonmelanoma skin cancer and actinic keratosis were searched through different search-engines. Clinical studies were sorted due to diagnostic method and its conclusions were compared based on sensitivity, specificity and positive predictive value. Results of our studies focused on two most promising methods - high frequency ultrasound and bispectral fluorescence are also presented.

Encouraging results from the reviewed diagnostic trials have suggested a high diagnostic accuracy for many of the new technologies. High frequency ultrasound and bispectral fluorescence are sensitive and useful in clinical diagnostics of margins of nonmelanoma skin cancer.

Especially high frequency ultrasound and partially also the fluorescence diagnostics have the potential to be soon introduced to daily clinical diagnostics of nonmelanoma skin cancer. The other modern non-invasive imaging technologies are further on remaining in special clinics and for scientific purposes. Their introduction into daily praxis will be needed to improve the sensitivity and/or specificity.

Předmluva

Prohlašuji, že svoji dizertační práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použité literatury. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s půjčováním této práce a se zařazením do systému SIS.

31.03.2013

MUDr. Martin Kříž

Obsah

Abstrakt v českém jazyce	2
Abstract in English	3
Předmluva	4
Obsah	5
Seznam použitých symbolů a zkratk	6
1 Úvod - Současný stav neinvazivní diagnostiky nemelanomových nádorů kůže	8
1.1 Charakteristika nemelanomových kožních nádorů	8
1.2 Epidemiologie	9
1.3 Diagnostické testy v prevenci nemelanomových kožních nádorů	10
2 Cíl práce	11
3 Metodika	12
4 Popis řešení a výsledky výzkumu	14
4.1 Literární rešerše	14
4.1.1 Bioptické techniky, histopatologie, molekulární markery a cytologie	14
4.1.2 Klinické a fyzikální vyšetření	16
4.1.3 Dermatoskopie	19
4.1.4 Optická koherenční tomografie	22
4.1.5 Konfokální mikroskopie	23
4.1.6 Ramanova spektroskopie	26
4.1.7 Terahertz pulzní zobrazování	27
4.1.8 Elektrická impedance	27
4.1.9 PET, CT a MR	28
4.1.10 Vysokofrekvenční ultrazvuk a Dopplerovská sonografie	29
4.1.11 Fluorescenční diagnostika	32
4.2 Výsledky vlastních pozorování	35
4.2.1 Vysokofrekvenční ultrazvuk a fluorescenční diagnostika při navigaci fotodynamické terapie bazocelulárního karcinomu	35
4.2.2 Fluorescenční diagnostika při navigaci u suspektního análního karcinomu	51
5 Hodnocení a závěr	56
6 Seznam použité literatury	59
7 Poděkování	76

Seznam použitých symbolů a zkratk

- AIN - anální intraepiteliální neoplazie
- ALA - d-aminolevulinová kyselina
- bazaliom - bazocelulární karcinom
- CT - počítačová tomografie
- FD - fluorescenční diagnostika
- FDG - 2-deoxy-2-18F-fluoro-D-glukóza
- HFUS – vysokofrekvenční ultrazvuk
- HPV - lidský papilomavirus
- IKK - interclass korelační koeficient
- IMP - elektrická impedance
- KI - konfidenční interval
- KM - konfokální mikroskopie
- LD - laserové dopplerovské zobrazení
- MAL - methylester d-aminolevulinové kyseliny
- MM - maligní melanom
- MMS - Mohova mikrografická chirurgie
- MR - magnetická rezonance
- NaCl - chlorid sodný
- OCT - optická koherenční tomografie
- PET - pozitronová emisní tomografie
- PL - praktický lékař
- PPH - pozitivní prediktivní hodnota
- PpIX - Protoporfirin IX
- PS-OCT - polarizaci sensitivní optická koherenční tomografie
- PUVA - psoralen a ultrafialové záření typu A
- RM - Ramanova spektroskopie
- spinaliom - spinocelulární karcinom
- SD - směrodatná odchylka
- TEWL - transepidermální ztráta vody

TPI - teraherz pulzní zobrazování

UV - ultrafialové záření

UVB - ultrafialové záření typu B

WHO - světová zdravotnická organizace

1 Úvod - Současný stav neinvazivní diagnostiky nemelanomových nádorů kůže

S cílem zpřesnit a objektivizovat neinvazivní diagnostiku nemelanomových kožních nádorů přicházejí do kožního lékařství stále nové metody a technologie. Některé nabízejí dostatečnou diagnostickou senzitivitu, a proto by se mohli stát vhodným doplňkem klinického vyšetření.

1.1 Charakteristika nemelanomových kožních nádorů

Nemelanomové nádory jsou nejběžnější rakovinou v populaci se světlým typem kůže a jejich výskyt má proporce celosvětové epidemie [MARKS, R. 1995, ENGLISH, DR. 1997, SALSCHE SJ. 2000, DIEPGEN, TL. 2002, TRAKATELLI, M. 2007]. Ačkoliv termín nemelanomový nádor zahrnuje všechny kožní karcinomy s výjimkou maligního kožního melanomu (MM), obvykle odkazuje na dva hlavní typy kožních nádorů: bazocelulární karcinom = bazaliom a spinocelulární karcinom = spinaliom. Tyto dvě formy kožních nádorů představují více než 95 % všech nemelanomových nádorů [TRAKATELLI, M. 2007].

Bazaliom je nejčastější epiteliální nádor s nízkým maligním potenciálem tvořený buňkami, které napodobují bazální vrstvu epidermis. Bazaliom vzniká de novo, což znamená, že neexistují žádné známé prekurzorové léze [TRAKATELLI, M. 2007]. Bazaliom se manifestuje v mnoha různých klinických formách, které se liší svým vzhledem i maligním potenciálem.

Spinaliom je maligní nádor kůže a sliznic, u kterých jednotlivé buňky epidermálních keratinocytů vykazují určitý stupeň dlaždicobuněčné diferenciaci. Jedná se o druhý nejčastější maligní nádor kůže vyznačující se invazivním destruktivním růstem a metastatickým potenciálem [HEENAN, PJ. 1996].

Aktinická keratóza je keratinocytární atypie postihující především keratinocyty bazální vrstvy epidermis. Aktinická keratóza je prekurzorem maligního spinaliomu (spinaliom in situ) [MARKS, R. 1988, JORRIZO, JL. 2004, EPSTEIN, E. 2004] a odhaduje se, že z 6–10 % aktinických keratóz se vyvine invazivní spaliom [DODSON, JM. 1991, ROSSI, R. 2007]. Někteří autoři však aktinickou keratózu od počátku označují jako epiteliální neoplazii [SALASCHE, SJ. 2000, ACKERMAN, AB. 2006]. Podle jiných zdrojů by aktinická keratóza měly být uznány za incidentní spaliom, protože proces vývoje spinaliomu z aktinické keratózy představuje spíše prolínání než transformaci [CEILLY, RI. 2004, OPPEL, T. 2004]. Všichni autoři se ale shodují na tom, že pacienti s aktinickou keratózou by měli být pozorně sledováni v čase a léčeni, aby byl rozvoj invazivního spinaliomu zachycen již v raném stadiu. U takto sledovaných

rizikových lézí jsou pak výsledky léčby velice dobré, nemocnost a náklady na ošetření nižší a úmrtnost nulová [SALASCHE, S.J. 2000]. Rostoucím problémem je především tzv. kancerifikace, tedy plocha kůže s větším množstvím aktinických keratóz (nemaligních lézí) a/či spaliomů (maligních lézí) difúzně rozložených na menší oblasti těla exponované UV záření [SMITS, T. 2007]. Pro stanovení diagnózy se z těchto suspektně maligních lézí musí opakovaně odebírat mnoho bioptických vzorků, což zvýšeně zatěžuje pacienta.

1.2 Epidemiologie

Průměrný meziroční nárůst incidence nemelanomových nádorů u obyvatelstva bílé pleti v Evropě, USA, Kanadě a Austrálii byl od šedesátých let 3–8 % [DIEPGEN, TL. 2002]. V současnosti je podle některých autorů výskyt nemelanomových nádorů společně s aktinickými keratózami vyšší než výskyt všech ostatních rakovin dohromady [HOUSMAN, TS. 2003]. V roce 2002 bylo v USA diagnostikováno více než 1 milion nových případů nemelanomových nádorů [JEMAL, A. 2002]. Spinaliomy tvoří asi 20 % nemelanomových nádorů, ale odpovídají za většinu metastatických onemocnění a úmrtí ve spojení s nemelanomovými kožními nádory [DE LEEUW, J. 2009].

Existuje mnoho důvodů pro celosvětový nárůst incidence nemelanomových nádorů a aktinických keratóz. Etiologické faktory, které se podílejí na rozvoji rakoviny kůže, jsou endogenního i exogenního původu [DIEPGEN, TL. 2002]. Hlavními endogenními faktory jsou věk, genetická predispozice jako je například typ kůže (zejména kůže typů I a II) a výskyt některých genetických chorob (např. Xeroderma pigmentosum). Klíčový environmentální rizikový faktor pro vznik nemelanomových nádorů a aktinických keratóz je ultrafialové záření (UV) z expozice slunečnímu záření, umělým opalovacím zdrojům [ARMSTRONG, BK. 2001, YOUNG, AR. 2004, MAC KIE, RM. 2006, THE INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH. 2006] a jatrogenní expozice psoralenům a ultrafialovému záření typu A (PUVA) anebo ultrafialovému záření typu B (UVB), často používaných při terapii např. psoriázy nebo vitiliga [NIJSTEN, TEC.2003, LIM, JL. 2005]. U osob exponovaných z důvodů profesních nebo rekreačních aktivit, jako jsou například rybáři, dělníci na stavbách, správci parků, zemědělci, piloti letadel, jachtaři, golfisté, lyžaři, horolezci a „osoby na slunci závislé“, se objevuje vyšší výskyt aktinické keratózy než u osob trávících většinu času v budovách [VITASA, BS. 1990, BUJA, A. 2005, MOEHRLE, M. 2008, SCHWARTZ, RA. 2008]. K dalším exogenním faktorům patří chemické karcinogeny (například arsen, pesticidy, dehet, některé průmyslové oleje, barviva a rozpouštědla), ionizujícího záření, infekce lidským papilomavirem (HPV) [MASINI, C. 2003] a imunosuprese, zejména u příjemců orgánových transplantátů [EUVRARD, S. 2003].

Kouření tabáku též zvyšuje výskyt spinaliomu [DE HERTOOG, SAE. 2001] a to především v lokalizaci na rtech a v dutině ústní.

1.3 Diagnostické testy v prevenci nemelanomových kožních nádorů

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]. K usnadnění klinické diagnostiky nemelanomového nádoru již v raném stádiu se stále vyvíjí a doplňuje rozsáhlý sortiment diagnostických technologií a testů. Jejich cílem je zamezit následkům kožních nádorových onemocnění a snížit nemocnost a úmrtnost [SMITS, T. 2007, DE LEEUW, J. 2009, ERICSON, MB. 2003, MARGHOOB, AA. 2003].

Tak, jak se vyvíjí nové neinvazivní léčebné strategie, roste i poptávka po metodách neinvazivní diagnostiky. Základním předpokladem každé nové diagnostické technologie či testu je schopnost rozlišit léze nemaligní a maligní s vysokým stupněm přesnosti. Všechny diagnostické testy by měli být spolehlivé a přesné. Spolehlivost neboli preciznost, srovnatelnost nebo opakovatelnost, odkazuje na shodu v testu. Pokud je diagnostický test proveden několikrát na stejném subjektu se stejným výsledkem, je test spolehlivý. Přesnost popisuje, zda diagnostický test dává správnou nebo nesprávnou hodnotu při porovnání výsledků testu se správnou diagnózou. Přesnost diagnostického testu je často definována pomocí senzitivity, specifity a pozitivní prediktivní hodnoty.

Správné diagnózy nelze dosáhnout absolutně a z toho důvodu je zvolen „zlatý standard“ neboli „referenční standard“ jako představitel pravdy. U rakoviny kůže je za tento „referenční standard“ považováno histopatologické vyšetření preparátu získaného pomocí invazivní kožní biopsie nebo excize. Odběr bioptického materiálu může být časově náročná, drahá a někdy mutilující a bolestivá zkušenost pro pacienta.

Předmětem předložené práce jsou nové metody neinvazivní diagnostiky, které tyto problémy eliminují.

2 Cíl práce

Cílem této práce je shrnout nová a aktuální data (state-of-art) o metodách neinvazivní diagnostiky nemelanomových 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 nemelanomového nádoru. Ve výsledcích je uvedena také histopatologie, jako doposud používaný zlatý standard v diagnostice nemelanomových nádorů a aktinických keratóz, s nímž je porovnávána přesnost ostatních metod.

Vlastní výsledky byly zaměřeny na využití vysokofrekvenčního ultrazvuku a bispektrální fluorescenční diagnostiky (= fluorescenční diagnostika). U obou vybraných metod byly zjišťovány výhody, limitující faktory a použitelnost neinvazivních diagnostických technologií v klinické praxi.

3 Metodika

Některé z neinvazivních vyšetřovacích technologií jsou již známy z jiných oborů medicíny (např. optická koherenční tomografie, sonografie), jiné přístroje jsou nově vyvíjeny pro kožní diagnostiku (např. konfokální mikroskopie). V práci je porovnávána použitelnost neinvazivních diagnostických metod rutinně používaných v jiných odvětvích dermatologie (např. dermatoskopie, elektrická impedance), která nachází uplatnění také v diagnostice nemelanomových nádorů a aktinických keratóz. Práce se proto zaměřila na analýzu získaných dat, které se týkají přesnosti a spolehlivosti jednotlivých metod.

Do různých odborných internetových vyhledávačů byla zadána následující klíčová slova v anglickém jazyce týkající se diagnostiky nemelanomových nádorů a aktinických keratóz: kůže, kožní adnexa, dermis, kutis, epidermis, integumentum, kožní novotvar, kožní tumor, bazocelulární karcinom, spinocelulární karcinom, Bowenova dermatóza, aktinická keratóza, solární keratóza, keratinocytární karcinom; fyzikální a klinické vyšetření, bioptické techniky, histopatologické a molekulární markery, dermatoskopie, dermoskopie, epiluminescenční mikroskopie, mikroskopie kožního povrchu, světelná mikroskopie, vysokofrekvenční ultrazvuk, Dopplerovská sonografie, spektrofotometrie, optická koherenční tomografie, laserová a konfokální mikroskopie, infračervená a Ramanova spektroskopie, fluorescenční diagnostika, terahertzové zobrazování, elektrická impedance, pozitronová emisní tomografie, počítačová tomografie, a magnetické rezonance; senzitivita, specifita a diagnostická přesnost.

Výběr článků byl omezen na ty, které zahrnují lidské studie zveřejněné po roce 1990. Klinické studie byly uspořádány podle typu diagnostické metody a jejich závěry byly porovnány na základě senzitivity, specifity a eventuelně dalších metodických hodnot.

Senzitivita vyjadřuje, jak velká část pacientů s danou diagnózou byla správně diagnosticky rozpoznána. Specifita vyjadřuje, jak velká část pacientů, kteří danou diagnózu nemají, byla správně diagnosticky rozpoznána. Obě se uvádí v rozmezí 0-100%. Z prostudované literatury vyplývá, že naprosto senzitivní, ale málo specifický diagnostický test přináší falešně pozitivní výsledky. Naprosto specifický test s nízkou senzitivitou je potom často falešně negativní.

Vedle senzitivity a specifity se k určení přesnosti vyšetření používají hodnota kappa, interclass korelační koeficient (IKK) a pozitivní prediktivní hodnota (PPH). Hodnota kappa je statistická míra, která určuje pravděpodobnost shody mimo rámec definovaný jako náhodná shoda a pohybuje se mezi hodnotami -1 (absolutní neshoda) a +1 (absolutní shoda). IKK určuje meziskupinovou shodu mezi vyšetřujícími pomocí dvoucestné analýzy změn. Standardní kritéria pro IKK jsou 0.39 = chudá, 0.40-0.59 = lehká, 0.60-0.74 = dobrá, 0.75-1.00 = výborná korelace mezi pozorovateli. PPH, nebo také míra přesnosti, je hodnota vypočítaná na základě

specifity a senzitivity. Udává míru pravděpodobnosti (0 - 100 %) pozitivního výsledku u pacientů, kteří jsou správně diagnostikováni. Je třeba vzít v úvahu, že PPH je závislá na prevalenci a studie provedená na skupině pacientů s vysokou prevalencí pak může mít falešně vyšší PPH.

Vlastní pozorování byla detailně zaměřena na dvě vybrané neinvazivní metody – vysokofrekvenční ultrazvuk a fluorescenční diagnostika. Jejich podrobná metodika je popsána v kapitole 4.2.

4 Popis řešení a výsledky výzkumu

4.1 Literární řešerše

4.1.1 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 nemelanomového nádoru 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]. Histopatologie je subjektivní posouzení vzorku dermatopatologem. Podobně jako u klinického vyšetření se mohou i při histopatologické klasifikaci objevit jako potenciální zdroj chyby rozdíly mezi pozorovateli. Ty jsou často závislé na diagnostické zkušenosti patologa a jejich výskyt se v literatuře pohybuje od 1,2 % až do 7 % [RUSSELL, EB. 1999, LIND, AC. 1995, OLHOFFER, IH. 2002, BROCHEY, L. 2002, KAMIYA, M. 2003, BIESTERFELD, S. 2002, TROTTER, MJ. 2003]. Klinické studie prokazující přesnost jiných diagnostických metod porovnávají výsledky se závěry histopatologického vyšetření, které slouží jako referenční standard [LIND, AC. 1995, OLHOFFER, IH. 2002, BROCHEY, L. 2002, KAMIYA, M. 2003, BIESTERFELD, S. 2002, TROTTER, MJ. 2003].

Posouzení vychází ze zařazení dle mezinárodní klasifikace nemelanomového nádoru, která vymezuje jednotlivé typy lézí. Ideální histopatologická klasifikace nemelanomového nádoru by měla identifikovat podtypy, které korelují s klinickým obrazem a nároky na terapii.

Diagnostické histologické znaky, které jsou společné pro všechny typy bazaliomů, jsou bazaloidní buňky epidermis s řídkou bledou cytoplasmou obkružující okrouhlá nebo oválná hyperchromatická jádra. Periferní buňky jsou charakteristicky palisádovitě uspořádány, zatímco vnitřní uspořádání buněk je chaotické. Většina nádorů vychází z epidermis a proniká do koria ve formě solidních nebo cystických uzlů nebo pruhovitých výběžků. U větších nádorových uzlů jsou často přítomny centrální nekrózy [HEENAN, PJ. 1996]. Při vytváření klasifikací histologických typů vychází většina autorů ze dvou základních kritérií, a to histologického růstového typu a histologické diferenciaci [SALDANHA, G. 2003, WALLING, HW. 2004]. Sextonova klasifikace [SEXTON, M. 1990] je založená především na vyhodnocení histologického růstového typu nádoru. Definuje šest histologických typů bazaliomu podle rizikovosti nádoru a jeho biologického chování: (1) typ nodulární, (2) superficiální, (3) mikronodulární, (4) infiltrující, (5) sklerotizující a (6) typ smíšený. Dalším někdy popisovaným typem bazaliomu je pigmentovaný bazaliom, který

z pohledu histologa nepředstavuje významnější riziko, avšak klinicky představuje častou záměnou za maligní melanom (MM) problematický typ. I většina optických diagnostických metod nerozliší pigmentovaný bazaliom od MM.

Histologický vzhled kožního spinaliomu je charakterizován přítomností nádorových buněk vycházejících z epidermálních keratinocytů, které invazivně prorůstají do koria. Porušením bazální membrány epidermis pronikají nádorové buňky do cévně vazivového stromatu a tukové tkáně podkoží, šíří se do přilehlých chrupavek, případně do kostí. V průběhu mohou nádory metastazovat do regionálních lymfatických uzlin a vytvářet vzdálené metastázy [NGUYEN, E. 2002]. Spinaliom se histologicky hodnotí podle stupně diferenciaci a buněčných atypií na (1) dobře, (2) středně a (3) málo diferencovaný spaliom. Přejod od dobře po málo diferencovaný spaliom je spojen s úbytkem keratinizace a mezibuněčných můstků, s přibývajícím jadernou pleomorfii a je charakterizován atypickými miózyami [HEENAN, P.J. 1996]. Každý histopatologický popis by měl uvádět histologický typ spaliomu, stupeň diferenciaci nádoru, tloušťku nádoru v milimetrech, vzdálenost nádoru od hranic excize, případnou přítomnost preexistující in situ léze (aktinická keratóza), perineurální infiltrace, lymfatické a vaskulární invaze. Tyto údaje jsou důležité pro prognózu spaliomu [SLATER, D.N. 2002]. Revidovaná WHO klasifikace [LE BOIT, P.E. 2006] z roku 2006 uvádí následující varianty spaliomu: (1) akantolytický typ, (2) větrobuněčný, (3) verukózní a (4) pseudovaskulární typ. Jiní autoři uvádějí ještě další varianty jako samostatné typy karcinomu [WEEDON, D. 2002].

K diagnostickým obtížím může dojít v případě, že se u jednoho vzorku objeví více vzorů růstu. Publikovaná data se v ohledu na poměr nezbytný k určení přítomnosti specifického podtypu liší. Cílem aktuálních výzkumů je definovat nemelanomový nádor pomocí fenotypu z hlediska molekulárních abnormalit a takto stanovit přesnější referenční standard pro jejich diagnostiku [SALDANHA, G. 2003, WALLING, H.W. 2004, LACOUR, J.P. 2002, ORTONNE, J.P. 2002, PARK, W.S. 1996, WONG, C.S. 2003]. K dnešnímu dni zatím nebyly pro nemelanomový nádor specifické a pro diagnostiku přesné molekulární markery stanoveny.

Méně invazivní, ale také méně přesnou diagnostickou metodou je exfoliativní cytologie. V systematickém přezkumu exfoliativní cytologie v diagnostice bazaliomu ukázala metaanalýza celkovou sensitivitu až 97 % (95 % interval spolehlivosti (KI), 94 % – 99 %) a specifitu 86 % (95 % KI, 80 % – 91 %) [BAKIS, S. 2004, VEGAMEMIJJE, E. 2000], avšak cytologie neposkytuje žádné informace o podtypu nádoru a o jeho ohraničení, které je důležité pro rozhodnutí o vhodné terapii.

4.1.2 Klinické a fyzikální vyšetření

V dosavadní dermatologické praxi se nejvíce používají klinická a fyzikální vyšetření. Navzdory tomu, že právě klinické vyšetření je tou nejpřístupnější diagnostickou metodou, jeho přesnost a správnost může velmi kolísat. Díky velké variabilitě vzhledu nemelanomového nádoru a v závislosti na diagnostické zkušenosti vyšetřujícího se přesnost klinické diagnózy pohybuje kolem 60–70 % [RIPPEY, JJ. 1997].

Klinické projevy bazaliomu jsou velmi různorodé. Papulonodulární léze s perličkovým průsvitným lemem, destruktivně se chovající ulcerující léze nazývané ulcus rodens, bledá ložiska bělavé barvy s různým stupněm indurace, erytematózní ložiska s patrnými teleangiektáziemi nebo cystické uzly.

Existuje několik klinických typů spinaliomu. Forma difúzně infiltrující, vytvářející tužší ploché hyperkeratotické ložisko nebo tuhý nodulární útvar, který v dalším vývoji může přecházet do ulcerující formy, vytvářející krvácející a rozpadající se ložiska, anebo naopak postupným zvětšováním vznikají exofyticky rostoucí verukózní léze [HABIF, TP. 2004].

Klinické známky aktinické keratózy jsou nespecifické. Klinicky se projevují jako šupinatá, hnědavá, světlá nebo narůžovělá ložiska drsného povrchu, jejich diferenciální diagnostika zahrnuje mnoho benigních a maligních lézí [ROSSI, R. 2007, DE LEEUW, J. 2009].

Přesnost klinického vyšetření se stanovuje metodou zaslepeného pozorování, jehož závěr je konfrontován s histopatologickým vyšetřením. Provedení zaslepené studie je možné při interindividuálních porovnáváních, při nichž je kožní léze hodnocena více pozorovateli. V případě intraindividuálních rozdílů (přesnost při opakovaném vyšetření jedním pozorovatelem), je provedení zaslepené studie možné pouze hodnocením jedné fotografie kožní léze ve dvou různých časech. Tím se zamezí vzniku chyby způsobené progresí léze v čase [WHITED, JD. 1995, WHITED, JD, 1997].

Výsledky z vybraných publikací jsou uvedeny v tabulce 1. V závěrech studií se vyskytují jak falešně negativní, tak i falešně pozitivní výsledky. Příkladem je studie na velkém vzorku pacientů, kde byla 3 % lézí hodnocených jako benigní, prokázána jako maligní a 40 % suspektně maligních lézí bylo benigní [HALLOCK, GG. 1998]. V uvedených studiích se celková senzitivita klinické diagnostiky nemelanomového nádoru pohybuje mezi 56 % a 90 % a specifita mezi 75 % až 90 %. Nejvyšší přesnost klinického vyšetření byla dosažena u diagnostiky bazaliomu.

Tabulka 1: Přesnost klinického vyšetření

autoři, rok	soubor	počet a patologie	cíl	Výsledek
WHITED, JD. 1995	Dermatologové slepí k pacientově anamnéze	50 nemelanomových nádorů	Ovlivňuje anamnéza klinickou diagnózu?	Kappa 0.04 (u zaslepených) a 0.76 (u pac. s odkrytou anamnézou)
HALLOCK, GG. 1998	plastičtí chirurgové	2058 nemelanomových nádorů odeslaných k excizi tumoru	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatologie	75% benigních lézí bylo potvrzeno (senzitivita 93%, specifita 86%) 60% maligních lézí bylo potvrzeno (senzitivita 73%, specifita 90%) 3% susp. benigních lézí bylo maligní
SCHWARTZBERG, JB. 2005	dermatologové vyplnili před biopsií dotazník se škálou jistoty mezi 1-3	141 bazaliomů	efekt doplňujících dat	PPH byla 80%
MORRISON, A. 2001	dermatologové a PL	493 nemelanomových nádorů	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatologie	PL diagnostikovali správně 22% kožních nádorů před biopsií, dermatolo-

				gové 87%
LEFFELL, DJ. 1993	dva odlišní dermatologové	143 nemelanomových nádorů	shoda vyšetřujících	Kappa 0.78 u aktinické keratózy a 0.38 u spinaliomu
HAR-SHAI, Y. 2001	plastičtí chirurgové	835 nemelanomových nádorů	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatologie	senzitivita 91% a PPH 71%
EK, EW. 2005	plastičtí chirurgové	2582 nemelanomových nádorů	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatologie	bazaliomy a spinaliomy byly diagnostikovány se senzitivitou 89% resp. 56% při PPH 65% (p=0.001)
DAVIS, DA. 2005	77 patologů	výběr mezi aktinickou keratózou a spinaliomech u 15 vzorků	shoda vyšetřujících	u dermatopatologů byl IKK 0.96 a u anatomických patologů a neatestovaných lékařů 0.65
COOPER, SM. 2002	dermatologická diagnóza byla porovnána s histopatologií	102 nemelanomových nádorů po transplantaci ledviny	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatologie	senzitivita byla 90.5% (spaliom), 66.6% (bazaliom), specificita byla 75.3%, resp. 85.6%

WHITED, JD. 1997	PL, dermatolo- gové	190 nemelano- mových nádorů	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatolo- gie	senzitivita u PL byla 57% (95% KI, 44%-68%) a specifita 88% (95% KI, 81%-93%)
WESTBROOK, RH. 2006	PL, dermatolog a patolog	283 nemelano- mových nádorů	diagnostická přesnost klinického vyšetření vs. histopatolo- gie	PL diagnos- tikovali spinaliom u 70, dermato- logové u 24 pac., histologicky bylo potvrzeno 13
bazaliom- bazocelulární karcinom, KI- konfidenční interval, IKK- interclass korelační koeficient, PPH- pozitivní predikční hodnota, PL – praktický lékař, spinaliom- spinocelulární karcinom				

4.1.3 Dermatoskopie

Dermatoskopie je neinvazivní vyšetření, pro které se používá více různých označení: dermoskopie, epiluminescenční mikroskopie, světelná mikroskopie a mikroskopie kožního povrchu. Při dermatoskopii je léze vyšetřována pomocí objektivu se zvětšením 10x až 100x umístěným přímo na kůži. Pro odstranění nežádoucího lomu světla na přechodu kůže-vzduch a získání obrazu se používají imerzní média (voda, olej, atd.). Dermatoskopie má z neinvazivních diagnostických metod největší klinický přínos v diagnostice nových pigmentových kožních lézí a používá se i u nemelanomových nádorů. Doposud v dermatoskopii nemelanomových nádorů stále není zaveden konsensus pro diagnostická kritéria. Diagnostická přesnost týkající se cévních charakteristik u bazaliomu a Bowenovy choroby se nicméně jeví jako poměrně perspektivní. Senzitivita pro diagnózu bazaliomu se pohybuje od 87 % do 96 % a specifita od 72 % do 92 %. Jednotlivé studie jsou zobrazeny v tabulce 2.

Šedohnědé často ovoidní uzlíky a jantarově zbarvené krusty jsou dermatoskopické známky bazaliomu. Mezi další dermatoskopické znaky nemelanomového nádoru patří změny cév a jejich popis se nazývá též kapilaroskopie. Pro bazaliom jsou typické rozvětřující se stonkovité cévy s průměrem až 0,2 mm větřící se nepravidelně do terminálních kapilár o průměru 10 μ m [ARGENZIANO, G. 2004]. U

Bowenovy dermatózy patří k dermatoskopickým znakům uzlíkovité, glomerulární cévy (90 %) a šupinatý povrch (90 %) [ZALAUDEK, I. 2004]. Uzlíkovité cévy jsou tečkovité cévy často soustředěné ve shlucích napodobujících glomerulární aparát v ledvině. Při mechanickém stlačení tyto krevní cévy vymizí. Pro zobrazení cév o průměru až 10 µm je třeba 30 násobné a větší zvětšení [KREUSCH, JF. 2002].

Dermatoskopy spojené s grafickým mikroskopem a následnou počítačovou analýzou jsou nazývány též "digitální dermatoskopy" [MARGHOUB, AA. 2003]. Pilotní studie diagnostiky kožních nádorů, kombinující digitální dermatoskop s dvourozměrným in vivo odrazovým spektrofotometrem, zahrnuje i několik pacientů s bazaliomem a také maligním melanomem [BJERRING, P. 2001]. Nodulární bazaliomy ukázaly charakteristickou koncentraci krevních cév perilezionálně v kombinaci s mírně centralizovanou fibrózou. U pigmentovaných bazaliomů se nezobrazuje pro MM charakteristická eroze dermálního kolagenu.

Tabulka 2: Dermatoskopie

autoři, rok	počet a patologie	cíl	Výsledek
MENZIES, SW. 2002	71 pigmentovaných bazaliomů	charakteristické dermatoskopické známky	rozvětřující cévy nalezeny u 52%, senzitivita byla 93% a specifita 89-92%
KREUSCH, JF. 2002	bazaliomy	diagnostická známka: cévní struktury	senzitivita 96%, specifita 91%
CHIN, CW. 2003	111 vzorků kůže (20 spinaliomů, 50 bazaliomů)	počet krevních cév po imuno-histochemii	signifikantní rozdíl mezi soubory bazaliomů a spinaliomů
NEWELL, B. 2003	12 pacientů (7 bazaliomů)	diagnostická známka: cévní struktury při kapilaroskopii	mikrovaskulární oblasti byly zvětšeny 4,9 x u bazaliomu a 2,5 x u aktinické keratózy v porovnání s normální kůží

ARGENZIANO, G. 2004	531 lézí (117 bazaliomů)	diagnostická známka: vaskulární struktury	rozvětující cévy byly nalezeny u 82% bazaliomů, s PPH 94% ($p < 0.001$), spinaliom in situ: u 13 z 16 lézí byly nalezeny glomerulární cévy, PPH 62%
ZALAUDEK, I. 2004, ZALAUDEK, I. 2005	21 spinaliom in situ (Bowenova nemoc)	charakteristické dermatoskopické známky	glomerulární cévy s vzorovitým rozložením a šupinatý povrch nalezen u 90% všech lézí
ZALAUDEK, I. 2006	165 lézí (20 bazaliomů a pigmentové léze), 150 dermatologů a jiných lékařů	internetová studie na diagnostickou přesnost - tříbodový dotazník (asymetrie, atypická síť, modro-bílé struktury)	senzitivita u bazaliomu byla 86.7% (95% KI, 76.9-92.7%) a specifita 71.9% (95% KI, 56.6-83.3%)
bazaliom- bazocelulární karcinom, KI- konfidenční interval, PPH – pozitivní predikční hodnota, spinaliom- spinocelulární karcinom			

Dermatoskopie je etablovanou neinvazivní metodou v diagnostice pigmentových kožních lézí. Přesná a jasná diagnostická kritéria stanovená pro melanomové léze nelze však použít pro nemelanomové nádory. Přes snahu mnoha autorů o standardizaci dermatoskopie, respektive kapilaroskopie, se zdá tato metoda v diagnostice nemelanomového nádoru na okraji svých možností. Při určování nodulárního bazaliomu se dermatoskopie jeví sice jako dostatečně senzitivní, nicméně jasné dermatoskopické charakteristiky i pro ostatní typy bazaliomu, pro spinaliom a aktinickou keratózu neexistují. V blízké budoucnosti proto nepředpokládám významnější průlom a hlubší začlenění dermatoskopie do neinvazivní diagnostiky nemelanomového nádoru, i když ruční dermatoskop patří k základní výbavě každého dermatologa.

4.1.4 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. OCT je analogická k B-módu ultrasonografického zobrazování, avšak místo akustického vlnění používá k zobrazování vlnění optické. U OCT jsou zaznamenávány hodnoty lineární charakteristiky jako rozptyl, absorpce, dvojlom a index lomu a tím je vytvářen obraz s mikrometrovým rozlišením [TYCHO, A. 2006]. OCT obraz lze generovat z hloubky až 2 mm s laterálním rozlišením okolo 20 μm [WELZEL, J. 2001]. Pokud je v OCT obraze mapována hodnota dvojlomu, je tento obraz označován jako polarizace sensitive OCT (PS-OCT). OCT obrazy mohou být též doplněny Dopplerovským zobrazením. Výhodou OCT je, že poskytuje neinvazivně získané průřezové obrazy struktur pod povrchem tkáně obdobně jako histopatologie [FUJIMOTO, JG. 2000, FUJIMOTO, JG. 2003].

Nemelanomové nádory a MM byly zkoumány pomocí OCT se slibnými výsledky [WELZEL, J. 2001, GAMBICHLER, T. 2005, PIERCE, MC. 2004, WELZEL, J. 1997, STEINER, R. 2003, OLMEDO, JM. 2006]. Pilotní studie naznačují, že by OCT mohlo být použito v klinické diagnostice nemelanomových nádorů [WELZEL, J. 2001, GAMBICHLER, T. 2005, PIERCE, MC. 2004, OLMEDO, JM. 2006, GAMBICHLER, T. 2005], avšak přesná data týkající se senzitivity a specifity nejsou v dostupných studiích definována.

Ve studii o 20 bazaliomech, byla popsána vysoká shoda histologických charakteristik známých ze světelné mikroskopie s OCT obrazy u superficiálního, nodulárního, mikronodulárního a infiltrativního bazaliomu [GAMBICHLER, T. 2005]. Vlastní PPH hodnota OCT u bazaliomu však nemůže být z této studie vypočítána.

V jiné studii o třech superficiálních bazaliomech a třech kožních MM byly porovnány OCT a histologické obrazy. Typickým OCT znakem bazaliomu jsou hnízda buněk, která se velikostí a umístěním podobají těm v histologickém obraze [BECHARA, FG. 2004]. Další studie s 12 bazaliomy popisuje odlišení bazaliomových podtypů pomocí OCT na superficiální a nodulární [JENSEN, LK. 2003].

Nevýhodou OCT je nízká schopnost diferencovat bazaliomové lézi od kolagenní jizvy. Naproti tomu může PS-OCT odlišit jizevnatou tkáň od bazaliomu na základě dvojlomu kolagenu. Ve studii o dvou pacientech s invazivními bazaliomy byla PS-OCT použita k odlišení nádoru od normální kůže [STRASSWIMMER, J. 2004]. V normální kůži lze ve střední hloubce PS-OCT obrazu identifikovat světlý pruh dvojlomného signálu, odpovídající horní retikulární dermis. V PS-OCT obrazech invazivního bazaliomu dochází k dramatickým změnám v signálu dvojlomu, ten téměř mizí u ulcerujícího a invazivního bazaliomu a jeví se nesouvisle u ostatních

bazaliomů. Kromě toho je pomocí PS-OCT možné při postupném přechodu od zobrazování normální tkáně do tkáně nádorové přesně zjistit hranici bazaliomu.

V další studii porovnával Buchwald a spol. OCT a vysokofrekvenční ultrazvuk v diagnostice nádorů očního víčka. Vyšetření 38 pacientů (4 bazaliomy, 1 aktinická keratóza a jiné benigní a maligní nádory) ukázalo, že OCT je lepší při detekci cystických lézí, ale díky nízké penetraci OCT, nemohou být určeny okraje nádoru v hloubce [BUCHWALD, HJ. 2003].

OCT se v posledních letech stala standardem a rutinním vyšetřením v očním lékařství, kde výrazně zlepšila diagnostiku mnoha sítnicových onemocnění. V dermatologii je třeba nadále mírně vylepšit rozlišení, ale hlavně penetraci do hloubky. U dnešních OCT přístrojů se pohybuje maximální penetrace okolo 2 mm [WELZEL, J. 2001]. Právě v této limitní hloubce je však nejdůležitější zobrazení okraje bazaliomu, protože zde se rozhoduje o možnosti neinvazivní terapie nebo chirurgické excizi. Aktuální laboratorní studie ukazují, že rozlišení nových vylepšených přístrojů OCT bude pro neinvazivní diferenciální diagnostiku nemelanomového nádoru dostatečné [STRASSWIMMER, J. 2004, BUCHWALD, HJ. 2003].

4.1.5 Konfokální mikroskopie

Konfokální mikroskopie (KM) nebo také laserová mikroskopie, má ze všech optických neinvazivních zobrazovacích metod používaných ve výzkumu nemelanomového nádoru v dnešní době nejvyšší rozlišení [KOLLIAS, N. 2002]. KM používá bodového zdroje světla pro osvětlení malého místa ve tkáni. „Pinhole“ systém minimalizuje odražené světlo přicházející mimo fokus a umožňuje detekci pouze světla konfokálního. Aktuální systémy KM mají axiální rozlišení 1 až 5 μm a laterální rozlišovací schopnost 0,5 až 1 μm . Maximální hloubka proniknutí je 300 μm .

KM se ukázala, jak ex vivo, tak in vivo, jako potenciálně hodnotná podpora v diagnostice bazaliomu a spinaliomu [SELKIN, B. 2001, CHUNG, VQ. 2004]. Data jsou shrnuta v tabulce 3. Ve studiích se senzitivita KM v porovnání s histopatologií pohybuje mezi 44 % až 100 % a specifita mezi 73 % až 100 %. V Mohově mikrografické chirurgii (MMS) používané při excizi bazaliomu může KM zaujmout roli při analýze nativního bioptického materiálu. Nevýhodou je, že při in vivo použití je KM limitována nízkou hloubkou zobrazení tkáně, která je v porovnání s jinými neinvazivními vyšetřovacími metodami naopak nejmenší.

U bazaliomu se při vyšetření pomocí KM charakteristicky zobrazí hojně krevní cévy navazující na buňky bazaliomu (někdy v silně shloučených hnízdech) a postupné rolování leukocytů podél endoteliální membrány. Bazaliomové buňky jsou spíše oválné, podlouhlé, s prominujícím monomorfně polarizovaným jádrem. Nádorové buňky mají vyšší refrakční index s tmavě se zobrazovaným jádrem, kdežto

cytoplazma se jeví světlá. Některé známky viditelné v KM obraze (např. jednotné polarizace jader bazaliomu, marginace a rolling leukocytů) jsou morfologické známky v histopatologii bazaliomu neznámé [GONZALEZ, S. 2002, GONZALEZ, S. 2004].

Naproti tomu, znaky spinaliomu v KM jsou nepravidelné epiteliální masy s normálními a atypickými keratinocyty proměnlivé velikosti a oblastmi anaplazie. U aktinické keratózy odhaluje KM hyperkeratózu, rozšíření jader ve spodní epidermis a pleomorfismus [SELKIN, B. 2001].

Fluorescenční KM pomocí optického vlákna je nová in vivo technika, při níž jsou morfologické změny v epidermis ilustrovány distribucí fluorescenčně aktivní látky v kůži. Výhoda fluorescenční KM spočívá ve schopnosti zobrazit fluorescenční markery, které se váží na specifické subcelulární molekuly včetně proteinů, a lze tak monitorovat specifické patologie a imunitní procesy v čase [SUIHKO, C. 2005]. Tannous a spol. s úspěchem použil chlorid hliníku ke zvýšení kontrastu KM [TANNOUS, Z. 2003].

Vyšetření pomocí konfokálního mikroskopu (KM) je metoda, pomocí které je možná v reálném čase neinvazivně zobrazovat struktury pod povrchem kůže s rozlišením na buněčné úrovni. Svou rozlišovací schopností stojí KM na prvním místě mezi všemi v současné době používanými neinvazivními zobrazovacími technikami. Jejím limitem je zatím nízká hloubka penetrace zobrazované tkáně. Pokud bude v blízké budoucnosti vytvořen KM přístroj, který dokáže zobrazit struktury do hloubky cca 6 mm (tak jako např. 20 MHz-ový vysokofrekvenční ultrazvuk), pak by tato metoda mohla nahradit většinu histologických vyšetření a dokonce vytlačit dnes běžnou invazivní probatorní excizi z dermatologické praxe.

Tabulka 3: Konfokální mikroskopie

autoři, rok	počet a patologie	cíl	Výsledek
AGHASSI, D. 2000	6 aktinických keratóz, 1 spinaliom	KM diagnostické známky	KM 100% rozliší patologické známky epidermálních neoplazií (pleomorfismus a zvětšení jader)
GONZALEZ, S. 2002	5 bazaliomů	in vivo KM porovnáno s histopatologickým obrazem	charakteristické KM známky ve 100% vzorků

SAUERMAN, K. 2002	12 bazaliomů	diagnostická hodnota KM u vaskulárních vzorců	vaskulární vzorce typické pro bazaliom lze v jejich diagnostice použít
TANNOUS, Z. 2003	5 bazaliomů	in vivo diagnostická přesnost u KM s kontrastem pomocí chloridu hliníku	100% senzitivita při MMS stupně I a 80% senzitivita při MMS stupně II
CHUNG, VQ. 2004	92 bazaliomů, 23 spinaliomů	možnost použití ex vivo KM při MMS stupně I	KM lze použít jako alternativu ke kryostatickým řezům u velkých nodulárních bazaliomů, problém s rozlišením spinaliomu in situ
NORI, S. 2004	152 lézí (83 bazaliomů a benigní)	diagnostická přesnost pěti KM kritérií u in vivo diagnostiky bazaliomu	senzitivita 93.9% a specifita 78.3% při použití tří kritérií a 95.7% resp. 82.9% při pěti kritériích
MARRA, DE. 2005	3 bazaliomy	KM porovnána s histopatologií	KM obraz koreluje s histopatologickým obrazem
GERGER, A. 2005	20 bazaliomů	diagnostická přesnost KM při MMS	senzitivita se pohybovala mezi 44% a 100% a specifita byla 100% u pěti kritérií
bazaliom- bazocelulární karcinom, KM- konfokální mikroskopie, MMS- Mohova mikrografická chirurgie, spinaliom- spinocelulární karcinom			

4.1.6 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie (RM), též nazývána spektroskopie blízkým infračerveným světlem nebo difúzní reflektanční spektroskopie je metoda, která poskytuje molekulární informace o tkáni ozářené laserovým paprskem na principu odrazu světla s posunutou frekvencí (Ramanův efekt).

Světlo, které proniká kožním povrchem, je různě absorbováno různými kožními komponentami zvanými chromofory. Součástí kůže, které po osvětlení laserem emitují záření, jsou označovány jako fluorofory. Optická měření kůže proto mohou být založena na interakcích neionizujícího elektromagnetického záření a kůže [KOLLIAS, N. 2002]. Absorbovaná energie může být pohlcena jako teplo (tkáňová absorpce) nebo reemitována jako záření s vyšší energií (Ramanův rozptyl). Spektroskop rozděluje vrácené světlo do jednotlivých vlnových délek a hodnotí je.

Několik studií popsalo charakteristiky Ramanových spekter u nemelanomového nádoru in vivo nebo ex vivo po jejich chirurgické excizi [NIJSSEN, A. 2002, SIGURDSSON, S. 2004, MC INTOSH, LM. 2001, CHOI, J. 2005, GNIADACKA, M. 1997, MC INTOSH, LM. 1999, GNIADACKA, M. 2004]. In vivo je Ramanova spektroskopie možná, ale přesnost spekter je nízká. In vivo studie o 195 pacientech s různými maligními a benigními kožními lézemi (33 aktinických keratóz, 32 bazaliomů) ukázala potenciální využití spektroskopie blízkým infračerveným světlem pro skrínink kožních lézí. Spektra byla srovnána s histopatologií u všech lézí a statistika ukázala významné rozdíly spekter různých lézí (aktinické keratózy, bazaliomy, dysplastické névy, lentiga, pigmentové névy a seborrhoické keratózy) v porovnání se zdravou kůží, ale také rozdíly mezi spektry jednotlivých lézí. Významné rozdíly spekter však ne vždy korelovaly s diagnostickými rozdíly, a proto nebylo možné definovat spektra typická pro jednotlivé diagnózy [MC INTOSH, LM. 2001].

Choi a spol. v ex vivo studii popsal na 10 bazaliomech signifikantní rozdíly v Ramanových spektrech bazaliomů ve srovnání se zdravou kůží po redukci endogenní autofluorescence pomocí konfokálního přístroje [CHOI, J. 2005]. V další ex vivo studii s 15 bazaliomy byly pseudo-barevné Ramanovy obrazy porovnány s kožní biopsií. V pseudo-barevném obraze je přiřazena oblastem s podobným spektrem stejná barva. Předpovědní model může potom zařadit nové vzorky tkáně bazaliomu podle jejich Ramanova spektra se sensitivitou 100 % a specificitou 93 % [GNIADACKA, M. 1997]. McIntosh a spol. úspěšně rozlišil za použití modelové rozpoznávací techniky léze s přesností vyšší než 80 % [MC INTOSH, LM. 1999]. Jiná studie předpokládala, že analýza neurální sítě pomocí Ramanova spektra může být potenciálně využitelná při ex vivo diagnostice nemelanomového nádoru [GNIADACKA, M. 2004].

Ramanova spektroskopie je pro in vivo zobrazování zatím prakticky nedostupná, ale pro ex vivo vyšetření preparátu po chirurgické excizi již použitelná. Využití Ramanovy spektroskopie v dermatologické praxi je diskutováno teprve v několika posledních letech. Při dalším zdokonalování metody lze předpokládat zvýšení přesnosti in vivo. Ramanova spektroskopie se ale zatím nedá v neinvazivní diagnostice nemelanomového nádoru v blízké budoucnosti předpokládat.

4.1.7 Terahertz pulzní zobrazování

Terahertz pulzní zobrazování (TPI) je nová neinvazivní zobrazovací modalita, používající impulsů elektromagnetického záření v kmitočtovém rozsahu od 0,1 do 10 THz. Voda má silné absorpční vlastnosti v celé THz oblasti a obsah vody v kůži je pak zdrojem kontrastu v obraze [PISKWELL, E. 2004]. TPI má potenciální užití v diagnostice nemelanomového nádoru. Zatím bylo zveřejněno pouze malé množství studií, které však přináší pozitivní výsledky.

Woodward a spol. publikovali práce, v nichž popisují významný rozdíl v odpovědi na THz záření mezi normální kůží a bazaliomem [WOODWARD, RM. 2002, WOODWARD, RM. 2003]. V další studii o 18 bazaliomech (in vivo 5 bazaliomů, ex vivo 13) byla provedena analýza pomocí TPI. U všech vyšetření byly in vivo identifikovány THz-změny dobře korelující s histologií [WALLACE WP. 2004].

TPI se dle mého názoru 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 nádorů.

4.1.8 Elektrická impedance

Elektrická impedance (IMP) nebo také rezistance je elektrická vlastnost kůže, kterou lze popsat pomocí komplexu hodnot odporu a reaktance. IMP je měřena mezi dvěma elektrodami, které jsou v elektrickém kontaktu s epidermis. Výsledná IMP je závislá na prostupu elektrického proudu různými strukturami jako např. nízké rezistanční dermis či epidermis s vysokou rezistancí.

Pilotní studie zjistila statisticky významný ($p < 0,001$) rozdíl mezi hodnotami IMP u bazaliomů v porovnání s normální kůží [EMTESTAM, L. 1998]. Totéž bylo potvrzeno ve studii o 34 bazaliomových pacientech [ABERG, P. 2003]. Rozdíl hodnot IMP mezi bazaliomem a normální kůží byl statisticky významný, avšak bez možnosti hodnotit diagnostickou přesnost.

Systémy pro měření IMP jsou dále vylepšovány. Byl navržen prototyp přístroje s mikroinvasivními elektrodami k obejití bariérové funkce stratum corneum s vysokou impedancí. Tímto přístrojem bylo vyšetřeno 99 benigních névů, 28 bazaliomů a 13 povrchově se šířících MM [ABERG, P. 2005]. Senzitivita při použití neinvazivní sondy k rozlišení bazaliomu od benigního névu byla 96 % a specificita 86 %. Invazivní sonda měla vyšší diagnostickou přesnost než neinvazivní pouze u MM. Volba elektrody je tedy závislá na cíli vyšetření. Studie o 35 pacientech s bazaliomem srovnává IMP, transepidermální ztrátu vody (TEWL) a laserové Dopplerovské zobrazení (LD) v diagnostice nodulárního a superficiálního bazaliomu [KUZMINA, N. 2005]. V souladu s ostatními studiemi byly nalezeny statisticky významné rozdíly IMP mezi bazaliomem a normální kůží ($p < 0,001$), ale nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi různými podtypy bazaliomu. Podobně jako u IMP, i TEWL a LD ukázaly statisticky významné rozdíly mezi bazaliomem a normální kůží. Zvýšené hodnoty TEWL se přisuzují poklesu bariérové funkce kůže, zapříčiněné patologickými procesy při bazaliomu. Předpokládá se, že zvýšené hodnoty LD jsou způsobené zvýšenou angiogenezí a vazodilatací u bazaliomu.

IMP je v dermatologii již používanou metodou. Její přesnost je však velice závislá na okolních faktorech nebo 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 využitelná při každodenní diagnostice nemelanomového nádoru.

4.1.9 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.

PET vyšetření běžně používá intravenózně aplikovanou 2-deoxy-2-¹⁸F-fluoro-D-glukózu (FDG) a zobrazovací algoritmus k neinvazivnímu měření metabolické aktivity tkáně. Nádory bývají metabolicky aktivnější než normální tkáň, a proto jsou detekovatelné pomocí akumulace sledované látky na PET skenu. FDG-PET byl použit k diagnostice nemelanomového nádoru u šesti pacientů s bazaliomem větším než 1 cm [FOSCO, SW. 2003]. Bazaliom bylo možno identifikovat pouze u 50 % z nich. Jiná studie porovnávala FDG-PET diagnostiku s fyzikálním vyšetřením, ultrasonografií a CT [SIGG, MB. 2003]. Ve skupině 56 pacientů (43 spinaliomů) byla při detekci primárního ložiska nádoru senzitivita 95 % (95 % KI, 80 % – 98 %) a specificita 100 % (95 % KI, 62 % – 100 %) a nebyl nalezen žádný statistický rozdíl mezi PET a CT.

Hloubka rezoluce MR je asi 70 μm , což umožňuje rozlišení jednotlivých vrstev kůže [RICHARD, S. 1991]. MR byla použita ke studiu morfologických informací o tvaru, hloubce a umístění spinaliomu. Výsledky MR vyšetření signifikantně korelovaly histopatologií následně excidované léze [QUERLEUX, B. 2006]. Další retrospektivní studie 33 nemelanomových nádorů pacientů (20 bazaliomů, 12 spinaliomů, 1 smíšený) zkoumala přesnost MR a CT při vstupním a opakovaném vyšetření, výsledky byly srovnány s histopatologií [LANKA, B. 2005]. Pomocí MR a CT byly lokalizovány léze u 29 z 33 pacientů, 4 nádory nebyly identifikovány vůbec. Ve studii s 35 pacienty bylo MR použito pro odhad prognózy [WILLIAMS, LS. 2001]. U 18 pacientů bylo prokázáno perineurální šíření bazaliomu a spinaliomu. Pacienti, kteří byli zobrazeni jako pozitivní, měli pětileté přežití 50 % a u pacientů zobrazených jako negativní byla oproti tomu pravděpodobnost pětiletého přežití 86 % ($p = 0.049$).

CT, PET, 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.

4.1.10 Vysokofrekvenční ultrazvuk a Dopplerovská sonografie

Principem vysokofrekvenčního ultrazvuku je emise pulzního svazku ultrazvuku 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.

Signál lze zobrazit ve formě A-skenu (Amplitude mode). Na ose x se zobrazuje zpoždění, tedy vzdálenost vracejícího se ultrazvukového pulzu od sondy a na ose y amplituda, která odpovídá intenzitě vracejícího se pulzu. Zobrazení B-skenem (Brightness mode) je pak generováno při pohybu snímače v sondě laterálně, čímž vzniká dvojrozměrný obraz. Hloubka penetrace ultrazvuku je nepřímo úměrná frekvenci, zatímco rozlišení je frekvenci přímo úměrné. Nejčastější a nejvhodnější vysokofrekvenční ultrazvuk pro dermatologii jsou sondy pracující s frekvencí 20 MHz, které mají axiální rozlišení 50 μm a laterální rozlišení 350 μm . Sonografické charakteristiky nádorů kůže byly široce prozkoumány během posledního desetiletí [JOVANOVIĆ, DL. 2005, KARAMAN, GC. 2001, MOORE, JV. 2003, ALLAN, E. 2002, GUPTA, AK. 1996, HARLAND, CC. 1993, GROPPER, CA. 1993, JEMEC, GB. 2000, LASSAU, N. 1997, MARQUES, J. 2002, VAILLANT, L. 1998, GROSS, U. 1993, COSTA, P. 1992, NITSCHKE, N. 1992, EDWARDS, C. 1989, HOFFMANN, K. 1990, EL GAMMAL, S. 1995, EL GAMMAL, S. 2006, SERUP, J. 2006, WORTSMAN, XC. 2004, BESSOUD, B. 2003]. Závěry studií se shodují na

vysoké přesnosti vysokofrekvenčního ultrazvuku při určování velikosti léze a její hloubky. V tabulce 4 jsou uvedeny příklady studií.

Za pomoci vysokofrekvenčního ultrazvuku se kožní nádory obecně zobrazují jako homogenní hypoechogenní oblast ve srovnání s okolní hyperechogenní dermis. Protože všechny kožní nádory jsou hypoechogenní, není samostatný vysokofrekvenční ultrazvuk vhodný pro diferenciální diagnostiku nemelanomového nádoru [RALLAN, D. 2003, RUOCCO, E. 2004]. vysokofrekvenční ultrazvuk je v diagnostice nemelanomového nádoru do jisté míry schopen odhalit trojrozměrnou velikost, okraje a vztah k sousedním strukturám u podezřelé kožní léze. Lze získat informace o kvalitě (například solidní, cystická nebo kombinovaná) a informace o vnitřní struktuře (homogenní, nehomogenní, hypo- nebo hyperechogenní, kalcifikovaná nebo nekrotická) [SCHMID-WENDTNER, MH. 2005]. Senzitivita vysokofrekvenčního ultrazvuku v diagnostice bazaliomu se udává až 96 % při detekci max. hloubky a senzitivita při měření laterální velikosti nádorů až 84 % [HARLAND, CC. 1993].

Další možností využití ultrazvuku je Dopplerovská technika, kterou lze získat informace o rychlostech pohybu tkání a vaskularizaci kožní léze. Studie zkoumající prokrvení nádoru pomocí Dopplerovské techniky jsou prezentovány v tabulce 4. Senzitivita vyšetření se pohybuje od 58 % do 88 % a jeho specifita mezi 63 % a 88 %.

Tabulka 4: Vysokofrekvenční ultrasonografie

autoři, rok	počet a patologie	cíl	Výsledek
MOORE, JV. 2003	181 bazaliomů před a po fotodynamické terapii	tloušťka nádoru	tloušťka bazaliomu vypovídá o morbiditě jeden rok po fotodynamické terapii
ALLAN, E. 2002	60 bazaliomů	korelace 20 MHz ultrazvuku s klinickým obrazem při sledování po fotodynamické terapii	HFUS obraz koreluje s klinickými známkami recidiv po fotodynamické terapii
GUPTA, AK. 1996	9 bazaliomů	porovnání 20 a 40 MHz HFUS	20 i 40 MHz HFUS pomáhá klinickému vyšetření, ale nenahrazuje kožní

			biopsii
HARLAND, CC. 1993	16 bazaliomů, 1 granulom po TBC vakcinaci	porovnání 20 MHz HFUS s histopatologickým vyšetřením	senzitivita 96 % při detekci max. hloubky a senzitivita 84 % při měření laterální velikosti bazaliomu
LASSAU, N. 1997	38 susp. MM, 32 susp. bazaliomů	diagnostika pomocí HFUS porovnána s dermatohistopatologií	velikost lézí ve HFUS odpovídá dermatohistopatologii, pro diferenciální diagnostiku HFUS nelze použít
NITSCHE, N. 1992	21 kožních nádorů	porovnání 20-MHz HFUS s dermatohistopatologií	velikost i vnitřní struktura nádorů koreluje s dermatohistopatologií
EDWARDS, C. 1989	bazaliomy, pigmentové névy, hypertrofické jizvy, seborrhoidní keratózy	typické známky A-skenu ultrazvuku pro jednotlivé diagnózy	velikost i struktury na ultrazvuku odpovídají dermatohistopatologii
HOFFMANN, K. 1990	75 bazaliomů	obraz bazaliomu v 20-MHz ultrazvuku	20-MHz ultrazvuk dává dostatek informací o velikosti, tloušťce a struktuře bazaliomu
SCHMID-WENDTNER, MH. 2005	metastázy v periferních lymfatických uzlinách	diagnostika metastáz pomocí ultrazvuku (7,5 – 10 MHz)	senzitivita 99.2 %, specifita 99.7%
LONT, AP. 2003	33 spinaliomů	HFUS porovnáván s MR u spinaliomu penisu	u spinaliomu penisu prokázala HFUS diagnostickou hodnotu při stagingu nemoci, PPH infiltrace korpus

			kavernosum byla 67% (HFUS) a 75% (MR)
STUCKER, M. 1999	16 bazaliomů 27 MM	Dopplerovské zobrazení perfúze	hodnoty perfúze v nádoru jsou vyšší než v okolní tkáni, u bazaliomu je perfúze podobná v celém nádoru, u MM je perfúze vyšší v centru nádoru
SCHRODER, RJ. 2001	81 klinicky invazivních nemelanomových nádorů	Dopplerovské zobrazení perfúze s a bez kontrastu	senzitivita byla 75% a specifita 79% pokud bylo v tumoru vidět tři až pět cév, senzitivita 58% a specifita 88% byla pokud "procentuelní cévní plocha" přesáhla 5%
KARAMAN, GC. 2001	19 benigních, 32 bazaliomů, 15 spinaliomů	Power Doppler	při diagnostice založené jen na obrazech vaskularizace byla specifita 63% a senzitivita 88%
bazaliom- bazocelulární karcinom, HFUS- vysokofrekvenční ultrazvuk, MM- maligní melanom, MR - magnetická rezonance, PPH- pozitivní predikční hodnota, spinaliom- spinocelulární karcinom			

4.1.11 Fluorescenční diagnostika

Fluorescenční diagnostika je, obdobně jako KM 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.

Fluorescenční diagnostika patří v dnešní době k nejčastěji diskutovaným a po klinickém vyšetření a biopsii v praxi nejvíce používaným metodám v diagnostice nemelanomového nádoru. K plošnému rozšíření této metody přispívá nízká náročnost na přístrojové vybavení. Zdroj záření blízkého, pro fluorescenční

diagnostiku 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 kýženou fluorescenci. V neposlední řadě je třeba pacienta obeznámit s lokální fytotoxicitou přetrvávající asi 24 hodin po lokální aplikaci fotosenzibilizátoru.

Normální kůže se při ozáření modrým světlem zobrazí zeleně. Tato autofluorescence je typicky silnější než fluorescenční emise bazaliomu a spinaliomu [NA, R. 2001]. Tím se stává fluorescenční zobrazování potenciální diagnostickou technikou pro přesné ohraničení nemelanomového nádoru. Samotná fluorescenční diagnostika je však vzhledem k velkému kolísání intenzit fluorescence nedostačující pro stanovení algoritmu v diagnostice nemelanomového nádoru [STERENBORG, NJ. 1995].

Bispektrální fluorescenční diagnostika je technika kombinující kožní autofluorescenci s fluorescencí d-aminolevulinové kyseliny (ALA). ALA je prekurzor protoporfirinu IX, aplikuje se ve formě masti, krému, gelu či infekčně a ve zvýšené míře se vychytává v nádorových buňkách. V buňce působí Protoporfirin IX jako fotosenzibilizátor a po ozáření modrým světlem o vlnové délce 405 nm emituje světlo červené barvy (630 nm) a tím pomáhá lépe odhalit velikost, tvar a polohu nádoru. [SVAASAND, LO. 1996]. Bispektrální fluorescenční diagnostika ve studii o 48 bazaliomech byla popsána senzitivita 97 % a specifita 98 % [STENQUIST, B. 2006]. Jak vyplývá z tabulky 5, je přesnost fluorescenční diagnostiky pro praxi použitelná při vyšetřeních na sliznici. Pro ohraničení kožních lézí zvláště bazaliomů je výrazně vyšší senzitivita až 97 % dosažena při bispektrální fluorescenční diagnostice.

Tabulka 5: Fluorescenční diagnostika

autoři, rok	počet a patologie	cíl	Výsledek
INAGUMA, M. 1999	78 orálních spinaliomů	odlišení normální tkáně od nádorové pomocí FD	85% spinaliomů se zobrazilo pomocí FD
ONIZAWA, K. 2000, ONIZAW, K. 2003	55 orálních spinaliomů	vymezení nádorů pomocí FD	intenzita FD koreluje s patologií a kategorizací spinaliomů (p<0.01)
NA, R. 2001	80 bazaliomů	intenzita fluorescence	intenzita fluorescence

		bazaliomu	bazaliomu je výrazně nižší než okolní normální kůže
BRANCALEON, L. 2001	20 bazaliomů, 5 spinaliomů	FD porovnání mezi nemelanomovým nádorem a normální kůží, okraje kontrolovány histopatologicky	FD bazaliomu byla 2.9 +-1.9 SD a pro spinaliomu 2 +-0,9 SD krát nižší než normální kůže. Značná ztráta fluorescence ve střední části nádoru byla zaznamenána u 78 % nemelanomových nádorů
STENQUIST, B. 2006	48 bazaliomů	porovnání hranic nádoru pomocí bispektrální FD s MMS	senzitivita 97 % a specifita 98 % bispektrální FD při ohraničení bazaliomu
ERICSON, MB. 2005	15 bazaliomů	vymezení kožní léze pomocí bispektrální FD	ohraničení pomocí bispektrální FD koreluje s histopatologií
ANDEKMSON-ENGELS, S. 2000	bazaliomy	vymezení bazaliomu	pomocí techniky bispektrální FD lze ohraničit bazaliom
PANJEHPOUR, M. 2002	49 pacientů (bazaliomy, spinaliomy, aktinické keratózy, normální kůže)	vliv kožního typu na FD	přesnost FD u nemelanomových nádorů byla nejvyšší (93 %) u kožního typu I

bazaliom- bazocelulární karcinom, FD – fluorescenční diagnostika, MMS – Mohova mikrografická chirurgie, spinaliom- spinocelulární karcinom, SD- směrodatná odchylka

4.2 Výsledky vlastních pozorování

4.2.1 Vysokofrekvenční ultrazvuk a fluorescenční diagnostika při navigaci fotodynamické terapie bazocelulárního karcinomu

Cílem studie bylo pomocí neinvazivních diagnostických metod získat dostatek informací ke správné indikaci terapie bazaliomu. Zaměřili jsme se na použití vysokofrekvenčního ultrazvuku k zobrazení tloušťky léze a fluorescenční diagnostiky k určení plošného rozměru léze a získaná data jsme porovnali se závěry klinického vyšetření. Výsledky studie byly využity ke zpřesnění indikace fotodynamické terapie, která je úzce spjata s fluorescenční diagnostikou.

V dermatologii používaná fotodynamická terapie s fotosenzibilizátory ALA nebo metylesterem ALA (Metvix, Galderma) - (MAL) je neinvazivní terapie, která patří podle klinických doporučení ke standardní léčbě nemelanomového nádoru [LEHMAN, P. 2007, BRAATHE, LR. 2007]. Novou galenickou formou pro lokální aplikaci je liposomálně vázaný fotosenzibilizátor 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].

Principem fotodynamické terapie je vyvolání selektivní buněčné nekrózy světelným zářením. K nekróze dochází pouze v patologicky změněných buňkách, které zvýšeně vychytávají předem aplikovaný fotosenzibilizátor. Lékař i pacient volí fotodynamickou terapii pro její neinvazivnost, bezproblémovou opakovatelnost a především výborné kosmetické výsledky [WESTON, A. 2004, NIELSEN, KP. 2005]. Použití fotodynamické terapie má ovšem dva limitující faktory, jimiž jsou dostatečná koncentrace fotosenzibilizátoru v cílové tkáni a dostatečný prostup světla celou lézí.

Prvním limitujícím faktorem fotodynamické terapie je tloušťka nádoru. Fotodynamická terapie v kombinaci s MAL je efektivní u bazaliomu do tloušťky 2 mm [SZEIMIES, RM. 2005]. Tím je omezena fotodynamická terapie jen na povrchové bazaliomy. Předpokládáme, že neinvazivní klinická diagnostika s pomocí dermatoskopu není dostatečná pro určení hloubky tumoru před léčbou. Probatorní excize nebo totální excize jsou sice velice přesné, ale invazivní. Vysokofrekvenční ultrazvuk je neinvazivní diagnostický přístroj s rozlišením a přesností dostatečnými pro použití v dermatologii při diagnostice nemelanomového nádoru [ALTMAYER, P. 1992].

Druhou zásadní otázkou při indikaci fotodynamická terapie je plošný rozměr léze. V terapeutických standardech pro fotodynamickou terapii je doporučováno aplikovat fotosenzibilizující krém na lézi a okraj přesahující 5 mm přes viditelnou hranici léze [MORTON, CA. 2003]. Během třech hodin okluze vcestuje fotosenzibilizátor MAL do kůže a naváže se v metabolicky aktivních nádorových a dysplastických buňkách [PENG, Q. 2001, PERVAIZ, S. 2006], zde je metabolizován na fotosenzibilní protoporfirin IX (PpIX) [HENDEKMON, BW. 1992]. Fluorescenční emise PpIX lze detekovat pomocí UV světla či modrého světla o vlnové délce 405 nm. [WENBERG, AM. 1999]. Tento princip je základem fluorescenční diagnostiky.

4.2.1.1 Metodika

Studie vznikla na pracovišti dermatovenerologické kliniky Fakultní nemocnice Královské Vinohrady v Praze, kde jsem v letech 2006 až 2008 působil jako lékař. Všichni pacienti byli vyšetřeni na dermatologické klinice této nemocnice. Vstupním kritériem pro zařazení pacienta do studie byla klinická diagnóza jednoho či více bazaliomu, přičemž u všech pacientů byl minimálně jeden primární tumor histologicky ověřen. Mezi vylučovací kritéria patřil histologický nále z sklerodermiformního nebo pigmentovaného bazaliomu.

Do prospektivní studie bylo zařazeno 100 lézí od 50 pacientů. Všichni pacienti byli světlého typu kůže. Průměrný věk pacientů byl 69.7 ± 11.9 let (rozmezí 18–85 let). Dvě třetiny pacientů tvořili muži (74%), jednu třetinu ženy (26%). Studie zahrnuje jak primární bazaliomy (46%), tak recidivy (20% bazaliomů nereagující na fotodynamickou terapii a 34% recidivy bazaliomu po excizi nebo kryoterapii). Léze byly rozmístěny na různých částech těla, jak je patrné z tabulek 6 a 7.

Tabulka 6: Rozmístění lézí

celkový počet lézí	100
obličej	52 %
hlava a krk	8 %
tělo	24 %
horní a dolní končetiny	16 %

V rámci studie bylo 100 lézí, předem histologicky nebo dermatoskopicky (Delta 10, Heine, Německo) diagnostikovaných bazaliomů, klinicky vyšetřeno zkušeným atestovaným dermatologem (tabulka 7).

Tabulka 7: Dermatoskopické a histologické nálezy

číslo pacienta/léze	přesná lokalizace	dermatoskopický nálezy	histologický nálezy
pacient 1/1	tvář vlevo	teleangiektázie, erytém, ulcerace, krusty	exulcerovaný adenoidní bazaliom
pacient 1/2	nad okem vpravo mediálně	teleangiektázie, erytém, krusty	bez histologie
pacient 1/3	nad okem vpravo laterálně	teleangiektázie, erytém, krusty	bez histologie
pacient 1/4	za krkem	teleangiektázie, erytém, ulcerace, krusty	bez histologie
pacient 1/5	lopatka vpravo	teleangiektázie	bez histologie
pacient 1/6	sakrum	perličkový lem, erytém	bez histologie
pacient 1/7	levý loket	erytém, krusty	bez histologie
pacient 1/8	levá ruka mediálně	teleangiektázie, erytém, ulcerace, krusty	bez histologie
pacient 1/9	levá ruka laterálně	erytém, ulcerace, krusty	bez histologie
pacient 2/1	kořen nosu vlevo	perličkový lem	cystický bazaliom
pacient 2/2	dekolť vlevo	erytém	bez histologie
pacient 2/3	holeň vpravo	ohraničený erytém	multicentrický bazaliom
pacient 3/1	levé čelo	teleangiektázie, perličkový lem	nodulární, místy multicentrický bazaliom
pacient 3/2	pravé čelo	perličkový lem, erytém	nodulární bazaliom
pacient 3/3	kštica	perličkový lem, teleangiektázie, ulcerace, erytém	bez histologie
pacient 4/1	hrudník	teleangiektázie, erytém	mikronodulární bazaliom
pacient 4/2	pravé ruka	perličkový lem	bez histologie
pacient 5/1	nos	perličkový vzhled, teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 6/1	čelo vlevo	perličkový lem, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 7/1	čelo vpravo	teleangiektázie	exulcerovaný, nodulární bazaliom
pacient 8/1	levé rameno mediálně	perličkový lem, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 8/2	záda uprostřed	perličkový lem	bez histologie

	vlevo		
pacient 8/3	hrudník	perličkový lem, teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 9/1	nos	perličkový lem, teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 10/1	hrudník vpravo	ohraničený erytém	nodulární bazaliom
pacient 10/2	bérec vlevo	perličkový lem, ulcerace, krusty	exulcerovaný, nodulární bazaliom
pacient 11/1	nos vpravo	perličkový lem, erytém, ulcerace	exulcerovaný, cystický bazaliom
pacient 12/1	čelo vpravo	teleangiektázie	cystický bazaliom
pacient 12/2	čelo vlevo	perličkový lem	bez histologie
pacient 12/3	lýtko laterálně vpravo	perličkový lem	bez histologie
pacient 13/1	hrudník	teleangiektázie, krusty, ulcerace	exulcerovaný, adenoidní bazaliom
pacient 14/1	čelo uprostřed kaudálně	perličkový lem, teleangiektázie, ulcerace, krusty	exulcerovaný, mikronodulární bazaliom
pacient 14/2	čelo uprostřed centrálně	perličkový lem	mikronodulární bazaliom
pacient 14/3	čelo uprostřed kraniálně	perličkový lem, teleangiektázie	mikronodulární bazaliom
pacient 14/4	dekolť vlevo	teleangiektázie	bez histologie
pacient 15/1	tvář vlevo	erytém, ulcerace, krusty	exulcerovaný, multicentrický bazaliom
pacient 16/1	kštica	erytém, krusty	multicentrický bazaliom
pacient 16/2	zápěstí dorsálně vpravo	ohraničený erytém	multicentrický bazaliom
pacient 17/1	spánek	teleangiektázie, erytém	nodulární bazaliom
pacient 17/2	pravé rameno	teleangiektázie, erytém	bez histologie
pacient 17/3	hrudník	teleangiektázie, erytém	bez histologie
pacient 18/1	čelo vlevo	teleangiektázie, erytém	adenoidní bazaliom
pacient 19/1	týl uprostřed	perličkový lem, erytém	nodulární bazaliom
pacient 19/2	záda dole vpravo	teleangiektázie, ulcerace, krusty	nodulární bazaliom
pacient 19/3	záda nahoře vpravo	teleangiektázie, erytém	mikronodulární bazaliom
pacient 20/1	čelo vpravo	teleangiektázie, perličkový lem, krusty	multicentrický bazaliom
pacient 20/2	čelo vlevo	perličkový lem, krusty	multicentrický bazaliom
pacient 21/1	čelo vlevo	teleangiektázie, ulcerace, krusty	exulcerující, mikronodulární

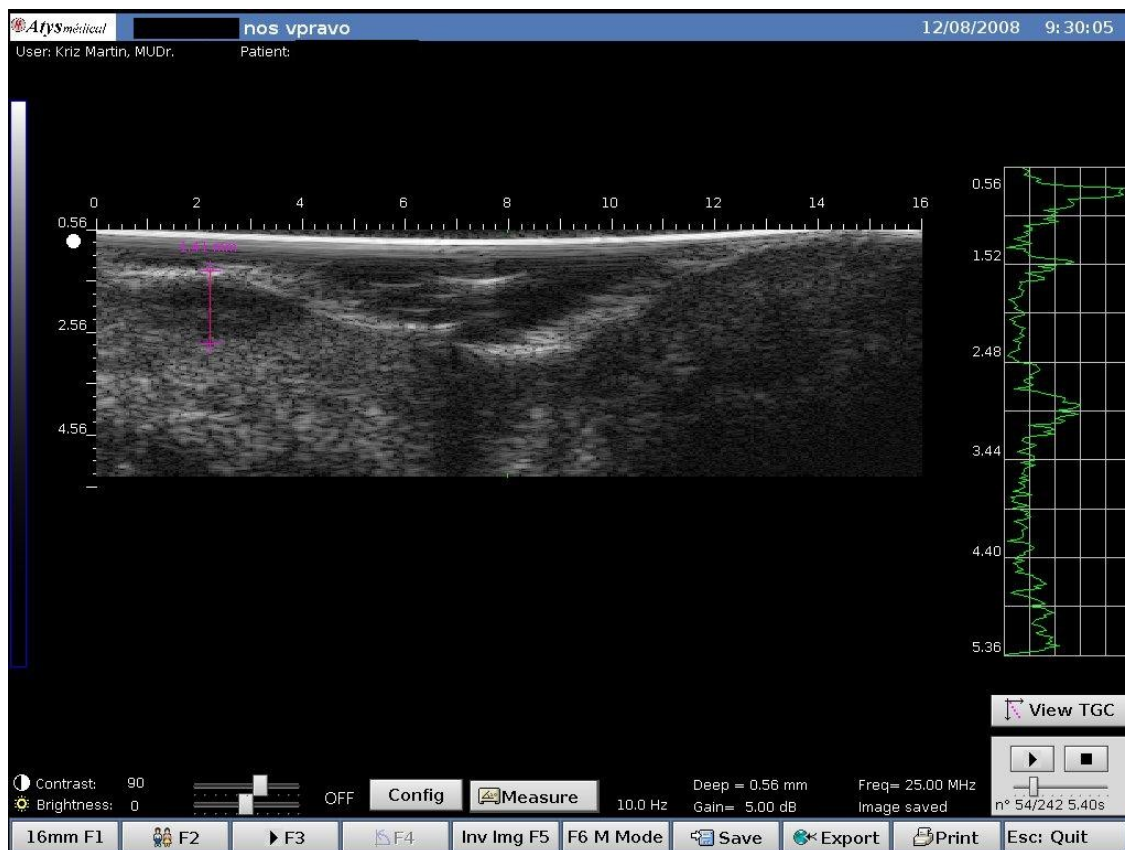
			bazaliom
pacient 22/1	levá tvář	teleangiektázie, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 22/2	nos	teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 23/1	vertex vlevo	krusty, ulcerace	exulcerující, nodulární bazaliom
pacient 24/1	apex nosu	perličkový lem, teleangiektázie, erytém	cystický bazaliom
pacient 24/2	kořen nosu nahoře	erytém, krusty	bez histologie
pacient 24/3	předloktí dorsálně vlevo	erytém, teleangiektázie	bez histologie
pacient 25/1	spánek vlevo	perličkový lem, teleangiektázie, krusty	nodulární bazaliom
pacient 26/1	čelo vpravo	perličkový lem, teleangiektázie, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 27/1	spánek vlevo	teleangiektázie	multicentrický bazaliom
pacient 28/1	rameno	teleangiektázie, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 29/1	levá tvář	perličkový lem, teleangiektázie, krusty, ulcerace	nodulární bazaliom
pacient 29/2	pravá tvář	teleangiektázie	adenoidní bazaliom
pacient 29/3	levá holeň nahoře vně	teleangiektázie, krusty, ulcerace	adenoidní bazaliom
pacient 30/1	prso vpravo nahoře	lesklý erytém	nodulární bazaliom
pacient 30/2	záda vpravo nahoře	krusty, erytém	bez histologie
pacient 31/1	kořen nosu	teleangiektázie	adenoidní bazaliom
pacient 31/2	apex nosu	teleangiektázie	bez histologie
pacient 31/3	záda	erytém, krusty	bez histologie
pacient 32/1	vertex	teleangiektázie, erytém	mikronodulární bazaliom
pacient 33/1	tvář vpravo	teleangiektázie	cystický bazaliom
pacient 34/1	tvář vpravo	perličkový lem	multicentrický bazaliom
pacient 35/1	čelo vlevo	perličkový lem, teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 35/2	tvář vpravo	perličkový lem, teleangiektázie, erytém	nodulární bazaliom
pacient 36/1	tvář vlevo	perličkový lem, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 36/2	levé ucho	perličkový lem, teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 36/3	dekolt uprostřed	teleangiektázie	bez histologie

pacient 37/1	záda	teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 37/2	nárt vpravo	teleangiektázie, perličkový vzhled	bez histologie
pacient 38/1	tvář vlevo	perličkový lem, teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 39/1	tvář vlevo	erytém, krusty	multicentrický bazaliom
pacient 39/2	krk	teleangiektázie	bez histologie
pacient 39/3	hrudník	perličkový lem, teleangiektázie, erytém	bez histologie
pacient 40/1	nos vlevo	teleangiektázie, perličkovitý lem	adenoidní bazaliom
pacient 40/2	nosní křídlo vlevo	teleangiektázie, erytém	bez histologie
pacient 40/3	loket laterálně	teleangiektázie, erytém, krusty	bez histologie
pacient 41/1	tvář vlevo	teleangiektázie, erytém	mikronodulární bazaliom
pacient 42/1	čelo vpravo	teleangiektázie, erytém, krusty	exulcerovaný, nodulární bazaliom
pacient 42/2	záda vlevo uprostřed	teleangiektázie, erytém	bez histologie
pacient 43/1	záda	perličkový lem, teleangiektázie, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 44/1	pravá dolní končetina laterálně	perličkový lem	multicentrický bazaliom
pacient 45/1	vertex vpravo vpředu	teleangiektázie, erytém	mikronodulární bazaliom
pacient 45/2	temeno	teleangiektázie	nodulární bazaliom
pacient 46/1	čelo vpravo	perličkový lem, erytém	multicentrický bazaliom
pacient 46/2	spánek vpravo	lesklý erytém, perličkový lem	multicentrický bazaliom
pacient 47/1	záda nahoře vlevo	teleangiektázie	multicentrický bazaliom
pacient 47/2	záda uprostřed	erytém	bez histologie
pacient 47/3	záda dole vpravo	ohraničený erytém	bez histologie
pacient 48/1	tvář vlevo	teleangiektázie	adenoidní bazaliom
pacient 48/2	čelo vlevo	perličkový vzhled	bez histologie
pacient 49/1	apex nosu	ohraničený erytém	multicentrický bazaliom
pacient 50/1	nosní křídlo vlevo	teleangiektázie, krusty	nodulární bazaliom
pacient 50/2	dekolt vpravo	teleangiektázie, erytém	bez histologie

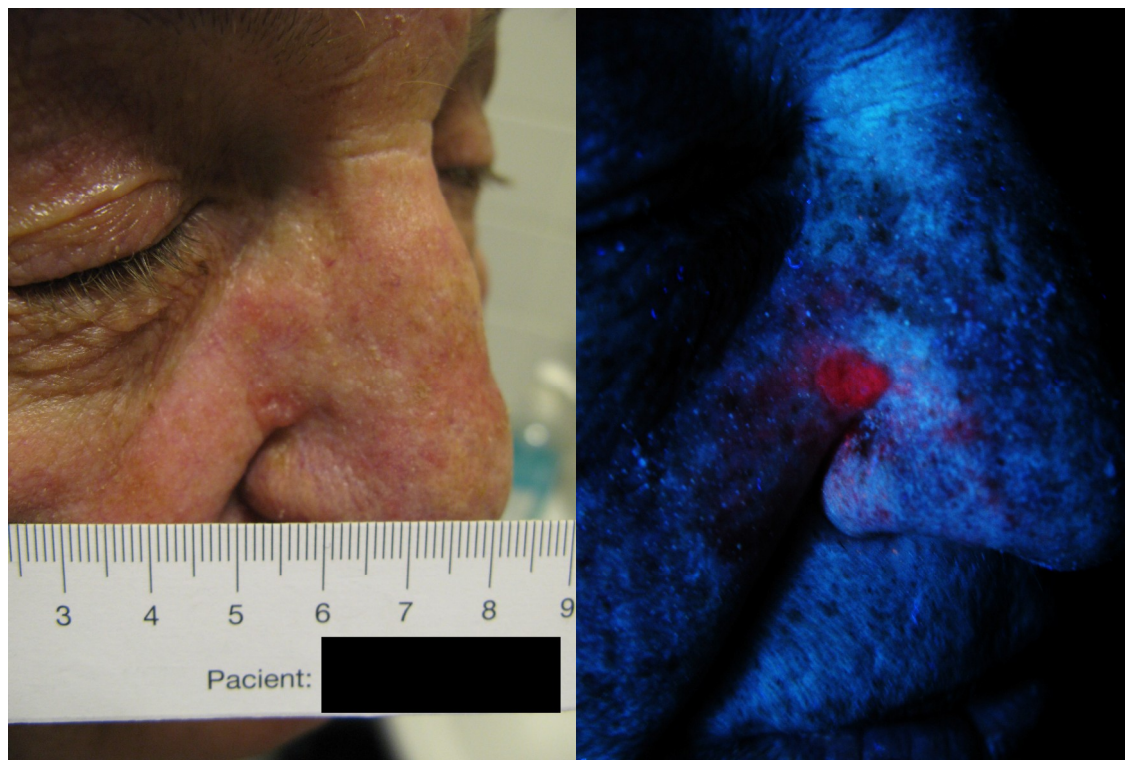
Zkušený, atestovaný dermatolog definoval tloušťku léze (metoda A1) a změřil maximální velikost léze (metoda B1), data byla zaznamenána. Druhé nezávislé vyšetření jsem provedl pomocí vysokofrekvenčního ultrazvuku (20-MHz hlavice, Atys Médical, Francie). Maximální tloušťku bazaliomu jsem změřil během 2D zobrazení (B-mód), (metoda A2). Bazaliom se ve vysokofrekvenčním ultrazvuku zobrazil jako hypoechogenní léze ohraničená hyperechogenním lemem reaktivní tkáně. Tloušťku hypoechogenní tkáně jsem změřil pomocí digitálního měřidla a zaznamenal (obrázek 1). Poté jsem na lézi a minimálně 10 mm v okolí nanesl, dle doporučení výrobce, fotosenzibilizátor MAL a lézi přikryl neprodyšným a světlu nepropustným obvazem na 3 hodiny. Po sejmutí obvazu jsem zbytky krému odstranil vodním roztokem NaCl. Lézi jsem v tmavé místnosti osvětlil modrým světlem. MAL se vychytil v metabolicky aktivní tkáni (v našem případě nádorové a prekancerózní buňky) a produkt jeho přeměny PpIX se v modrém světle zobrazil jako červená homogenní oblast (obrázek 2). Maximální rozměr červeně fluoreskující oblasti jsem změřil a zaznamenal.

Hodnoty metod A1 a A2, a poté B1 a B2 vyšetření byly zaznamenány, u některých pacientů též obrazově dokumentovány. Výsledky byly porovnány a statisticky vyhodnoceny.

Obrázek 1: Příklad stanovení tloušťky léze pomocí ultrazvuku u pacienta č. 11 / léze č. 1



Obrázek 2: Příklad porovnávání velikosti léze klinicky (vlevo) a pomocí fluorescenční diagnostiky (vpravo) u pacienta č.11 / léze č.1



4.2.1.2 Výsledky

Výsledky měření u jednotlivých pacientů jsou shrnuty v tabulkách 8 a 9.

Tabulka 8: Porovnání klinické evaluace tloušťky atestovaným dermatologem (metoda A1) a ultrasonograficky změřené maximální tloušťky léze (metoda A2)

číslo pacienta/léze	tloušťka léze klinicky (mm)	tloušťka léze ultrazvukem (mm)	rozdíl (mm)
pacient 1/1	1,20	2,13	0,93
pacient 1/2	1,00	1,92	0,92
pacient 1/3	1,20	1,45	0,25
pacient 1/4	2,00	2,30	0,30
pacient 1/5	5,00	6,61	1,61
pacient 1/6	0,50	1,46	0,96
pacient 1/7	5,00	5,45	0,45

pacient 1/8	3,00	5,20	2,20
pacient 1/9	2,50	4,93	2,43
pacient 2/1	0,80	1,79	0,99
pacient 2/2	3,00	3,86	0,86
pacient 2/3	0,50	0,40	0,10
pacient 3/1	1,50	2,43	0,93
pacient 3/2	1,00	1,60	0,60
pacient 3/3	2,50	1,92	0,58
pacient 4/1	0,50	0,81	0,31
pacient 4/2	0,50	0,33	0,17
pacient 5/1	0,50	2,31	1,81
pacient 6/1	0,50	0,39	0,11
pacient 7/1	0,50	1,68	1,18
pacient 8/1	0,50	0,22	0,28
pacient 8/2	2,00	3,74	1,74
pacient 8/3	2,50	1,93	0,58
pacient 9/1	1,00	1,42	0,42
pacient 10/1	2,00	3,68	1,68
pacient 10/2	4,50	6,00	1,50
pacient 11/1	1,00	1,41	0,41
pacient 12/1	0,50	1,19	0,69
pacient 12/2	1,50	1,90	0,40
pacient 12/3	4,50	4,89	0,39
pacient 13/1	4,00	5,70	1,70
pacient 14/1	2,00	2,18	0,18
pacient 14/2	3,00	4,10	1,10
pacient 14/3	2,00	2,30	0,30
pacient 14/4	3,50	3,95	0,45
pacient 15/1	0,50	0,23	0,27
pacient 16/1	0,50	0,80	0,30
pacient 16/2	1,00	0,72	0,28
pacient 17/1	1,50	1,98	0,48
pacient 17/2	1,00	1,73	0,73
pacient 17/3	0,50	0,58	0,08
pacient 18/1	1,00	2,40	1,40
pacient 19/1	0,50	0,80	0,30
pacient 19/2	1,50	1,98	0,48
pacient 19/3	2,00	2,94	0,94
pacient 20/1	0,50	0,27	0,23
pacient 20/2	0,50	0,27	0,23

pacient 21/1	1,50	2,24	0,74
pacient 22/1	0,50	0,83	0,33
pacient 22/2	0,50	1,29	0,79
pacient 23/1	1,50	2,63	1,13
pacient 24/1	0,50	0,96	0,46
pacient 24/2	3,50	4,23	0,73
pacient 24/3	2,00	3,78	1,78
pacient 25/1	1,00	1,56	0,56
pacient 26/1	0,50	0,40	0,10
pacient 27/1	0,50	0,29	0,21
pacient 28/1	0,50	0,42	0,08
pacient 29/1	1,00	1,63	0,63
pacient 29/2	1,50	1,66	0,16
pacient 29/3	1,50	1,56	0,06
pacient 30/1	1,00	1,50	0,50
pacient 30/2	3,00	4,78	1,78
pacient 31/1	1,50	1,39	0,11
pacient 31/2	1,50	2,44	0,94
pacient 31/3	0,50	0,45	0,05
pacient 32/1	0,50	0,63	0,13
pacient 33/1	1,00	1,83	0,83
pacient 34/1	1,00	1,48	0,48
pacient 35/1	1,50	1,90	0,40
pacient 35/2	1,00	1,68	0,68
pacient 36/1	0,50	0,58	0,08
pacient 36/2	1,00	1,37	0,37
pacient 36/3	3,00	3,70	0,70
pacient 37/1	0,50	0,83	0,33
pacient 37/2	2,00	3,67	1,67
pacient 38/1	3,00	4,80	1,80
pacient 39/1	0,50	0,39	0,11
pacient 39/2	1,00	1,90	0,90
pacient 39/3	1,00	1,50	0,50
pacient 40/1	1,50	2,40	0,90
pacient 40/2	3,50	1,96	1,54
pacient 40/3	4,00	5,18	1,18
pacient 41/1	0,50	1,43	0,93
pacient 42/1	1,00	1,75	0,75
pacient 42/2	3,50	3,62	0,12
pacient 43/1	0,50	0,76	0,26

pacient 44/1	0,50	0,47	0,03
pacient 45/1	1,50	1,64	0,14
pacient 45/2	1,00	0,96	0,04
pacient 46/1	0,50	0,44	0,06
pacient 46/2	1,50	1,69	0,19
pacient 47/1	0,50	0,90	0,40
pacient 47/2	0,50	0,64	0,14
pacient 47/3	1,00	0,90	0,10
pacient 48/1	4,00	3,20	0,80
pacient 48/2	2,00	2,43	0,43
pacient 49/1	0,50	0,37	0,13
pacient 50/1	1,00	0,34	0,66
pacient 50/2	1,50	1,84	0,34

Tabulka 9: Porovnání maximální velikosti léze změřené atestovaným dermatologem (metoda B1) a maximální velikosti léze určené flourescenční diagnostikou (FD) (metoda B2)

číslo pacienta/léze	velikost léze klinicky (mm)	velikost léze dle FD (mm)	rozdíl (mm)
pacient 1/1	45,00	68,00	23,00
pacient 1/2	7,00	7,00	0,00
pacient 1/3	10,00	10,00	0,00
pacient 1/4	6,00	10,00	4,00
pacient 1/5	8,00	20,00	12,00
pacient 1/6	15,00	32,00	17,00
pacient 1/7	20,00	25,00	5,00
pacient 1/8	18,00	20,00	2,00
pacient 1/9	8,00	10,00	2,00
pacient 2/1	38,00	50,00	12,00
pacient 2/2	28,00	42,00	14,00
pacient 2/3	11,00	12,00	1,00
pacient 3/1	70,00	95,00	25,00
pacient 3/2	75,00	105,00	30,00
pacient 3/3	8,00	10,00	2,00
pacient 4/1	5,00	18,00	13,00
pacient 4/2	8,00	22,00	14,00
pacient 5/1	7,00	7,00	0,00
pacient 6/1	4,00	8,00	4,00
pacient 7/1	4,00	15,00	11,00

pacient 8/1	18,00	20,00	2,00
pacient 8/2	17,00	26,00	9,00
pacient 8/3	7,00	7,00	0,00
pacient 9/1	7,00	10,00	3,00
pacient 10/1	27,00	36,00	9,00
pacient 10/2	12,00	15,00	3,00
pacient 11/1	8,00	5,00	3,00
pacient 12/1	8,00	10,00	2,00
pacient 12/2	15,00	20,00	5,00
pacient 12/3	31,00	41,00	10,00
pacient 13/1	10,00	10,00	0,00
pacient 14/1	11,00	35,00	24,00
pacient 14/2	9,00	70,00	61,00
pacient 14/3	13,00	30,00	17,00
pacient 14/4	25,00	44,00	19,00
pacient 15/1	48,00	53,00	5,00
pacient 16/1	35,00	40,00	5,00
pacient 16/2	43,00	53,00	10,00
pacient 17/1	7,00	7,00	0,00
pacient 17/2	8,00	10,00	2,00
pacient 17/3	7,50	10,00	2,50
pacient 18/1	8,00	25,00	17,00
pacient 19/1	3,00	3,00	0,00
pacient 19/2	35,00	43,00	8,00
pacient 19/3	12,00	22,00	10,00
pacient 20/1	5,00	5,40	0,40
pacient 20/2	2,00	3,60	1,60
pacient 21/1	9,00	25,00	16,00
pacient 22/1	7,00	12,00	5,00
pacient 22/2	5,00	5,00	0,00
pacient 23/1	3,00	4,00	1,00
pacient 24/1	5,00	23,00	18,00
pacient 24/2	6,00	28,00	22,00
pacient 24/3	4,00	21,00	17,00
pacient 25/1	8,00	15,00	7,00
pacient 26/1	15,00	30,00	15,00
pacient 27/1	20,00	40,00	20,00
pacient 28/1	25,00	30,00	5,00
pacient 29/1	7,00	20,00	13,00
pacient 29/2	13,00	30,00	17,00

pacient 29/3	18,00	35,00	17,00
pacient 30/1	40,00	65,00	25,00
pacient 30/2	36,00	57,00	21,00
pacient 31/1	25,00	25,00	0,00
pacient 31/2	4,00	5,00	1,00
pacient 31/3	12,00	20,00	8,00
pacient 32/1	20,00	45,00	25,00
pacient 33/1	3,00	3,00	0,00
pacient 34/1	18,00	35,00	17,00
pacient 35/1	7,00	10,00	3,00
pacient 35/2	12,00	35,00	23,00
pacient 36/1	25,00	32,00	7,00
pacient 36/2	7,00	23,00	16,00
pacient 36/3	3,00	18,00	15,00
pacient 37/1	18,00	21,00	3,00
pacient 37/2	25,00	34,00	9,00
pacient 38/1	70,00	95,00	25,00
pacient 39/1	13,00	20,00	7,00
pacient 39/2	14,00	30,00	16,00
pacient 39/3	15,00	25,00	10,00
pacient 40/1	6,00	6,00	0,00
pacient 40/2	7,00	12,00	5,00
pacient 40/3	20,00	34,00	14,00
pacient 41/1	3,00	10,00	7,00
pacient 42/1	65,00	100,00	35,00
pacient 42/2	58,00	72,00	14,00
pacient 43/1	17,00	20,00	3,00
pacient 44/1	9,00	26,00	17,00
pacient 45/1	17,00	35,00	18,00
pacient 45/2	16,00	23,00	7,00
pacient 46/1	3,00	12,00	9,00
pacient 46/2	16,00	28,00	12,00
pacient 47/1	43,00	55,00	12,00
pacient 47/2	32,00	50,00	18,00
pacient 47/3	19,00	32,00	13,00
pacient 48/1	68,00	98,00	30,00
pacient 48/2	18,00	25,00	7,00
pacient 49/1	8,00	9,00	1,00
pacient 50/1	35,00	30,00	5,00
pacient 50/2	76,00	95,00	19,00

Porovnání metod A1 a A2 ukázalo statisticky významný rozdíl v tloušťce léze ($p=0,01$). Tloušťka naměřená pomocí vysokofrekvenčního ultrazvuku byla průměrně 0.51 ± 0.48 mm větší než tloušťka stanovená při klinickém vyšetření (tabulka 10).

Tabulka 10: Výsledky měření tloušťky

	metoda A1	metoda A2
průměrná tloušťka	1,51±0,94 mm	2,02±1,21 mm
maximální tloušťka	5,0 mm	6,61 mm
minimální tloušťka	0,5 mm	0,22 mm
tloušťka přes 2 mm	20 lézí (20%)	34 lézí (34%)

Zkušený dermatolog označil dvě (2%) léze za tlustší než 2 mm, zatímco jejich vyšetření pomocí vysokofrekvenčního ultrazvuku ukázalo tloušťku menší než 2 mm. Na druhou stranu 16 (16%) lézí bylo označeno za tenčí než 2 mm, ale vysokofrekvenční ultrazvuk ukázal tloušťku větší než 2 mm. V této skupině bylo 6 (6%) lézí přesahující dokonce 2,5 mm.

Druhá část výsledků porovnává metody B1 a B2. Zde byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi oběma použitými metodami ($p=0,003$). Tabulka 11 ukazuje závěry měření léze při klinickém vyšetření zkušeným dermatologem a maximální rozměr fluorescenčně aktivní zóny během fluorescenční diagnostiky.

Tabulka 11: Výsledky měření plošných rozměrů

	metoda B1	metoda B2
průměrný maximální rozměr	18.75±13.16 mm	29.28±18.41 mm
maximální rozměr největší léze	70.0 mm	105.0 mm

Výsledky ukázaly u 44 lézí (44%), že hranice léze při fluorescenční diagnostice přesahují 10 mm přes klinicky definované okraje.

4.2.1.3 Diskuze k použité metodě

Výsledky studie 100 lézí ukázaly nedostatečnost samotného klinického vyšetření při rozhodování o tloušťce léze. Tento fakt není překvapující. Cílem studie bylo představit neinvazivní vyšetřovací postupy vhodné pro přesnější indikaci adekvátní terapie. Při výběru léčebného postupu u bazaliomu je právě tloušťka rozhodujícím parametrem pro indikaci, jelikož fotodynamické terapie jsou účinné pouze do tloušťky 2 mm. Jak již bylo dokladováno, vysokofrekvenční ultrazvuk ve studii ukázal tloušťku větší než 2 mm v 16% případech, u kterých určil lékař tloušťku menší. U 6% lézí přesahovala ultrazvukově stanovená tloušťka dokonce 2,5 mm. To je o 0,5 mm více

než kritická hranice tloušťky rozhodující při volbě správné terapie. Tento fakt může mít vysoký dopad na výsledky terapie. Je-li tloušťka bazaliomu při klinickém vyšetření nejistá, preferuje se bezpečná, avšak invazivní terapie excizí. Použití vysokofrekvenčního ultrazvuku v diagnostice bazaliomu umožňuje přesněji volit léčbu pomocí neinvazivních terapeutických postupů, což znamená velký přínos pro pacienta.

Také při určení plošných hranic léze ukázaly výsledky studie významné rozdíly mezi klinickým vyšetřením v porovnání s fluorescenční diagnostikou. Pomocí fluorescenční diagnostiky bylo zjištěno, že 44% lézí přesahovalo o více než 10 mm přes klinicky detekované hranice. To může být zapříčiněno vysokou senzitivitou metody, jelikož fluorescenční diagnostika zobrazuje i oblasti dysplastické tkáně. Ale při fotodynamické terapii lze i tuto tkáň léčit. U jiných, hlavně invazivních, terapeutických postupů je právě ponechání této dysplastické tkáně zodpovědné za mnoho pozdních recidiv. Je však třeba zdůraznit, že při fotodynamické terapii je potřeba MAL aplikovat plošněji nejlépe na celé anatomické jednotky a tím obsáhnout i klinicky nerozpoznané okraje léze, i s vědomím zvýšené lokální fototoxické reakce po fotodynamické terapii. Při správném obeznámení pacienta s maximální fotoprotekcí po fotodynamické terapii, společně s prováděním fotodynamické terapie v pozdních odpoledních hodinách (tak jako v uvedené studii) je tento nežádoucí účinek dobře zvládnutelný. Plošné nanášení MAL na jednu stranu prodraží jednotlivou léčbu, ale v důsledku přinese úsporu, jelikož bude méně recidiv.

Adekvátní neinvazivní diagnostika je velice důležitá, ba i klíčová k přijetí fotodynamické terapie jako terapie první volby pro bazaliom. Precizní diagnostika může však též vylepšit i výsledky jiných metod terapie nemelanomového nádoru (excise, imunoterapie).

4.2.1.4 Závěr

Ze studie 100 lézí vyplývá, že pomocí klinického a/nebo dermatoskopického vyšetření nezíská vyšetřující dostatek informací pro rozhodnutí o nevhodnější terapii bazaliomu. Vysokofrekvenční ultrazvuk se ukázal být důležitý pro neinvazivní stanovení tloušťky bazaliomu a tím doplňuje klinické vyšetření o důležité hodnoty, které jsou rozhodující pro následné určení nevhodnější terapie. Při hloubce vyšší než 2 mm je třeba nádor léčit chirurgickou excizí, avšak povrchnější nádory lze v ideálním případě léčit neinvazivně. Výsledkem je, že hraniční nálezy dříve řešené excizí, mohou být na základě přesnější diagnostiky léčeny neinvazivními terapeutickými přístupy (např. fotodynamickou terapií). To pak méně zatěžuje pacienta a přináší lepší kosmetické výsledky.

Studie zobrazila u téměř poloviny případů plochu fluorescence přesahující 10 mm přes klinicky viditelný okraj. Tato vyšší hodnota je částečně způsobena falešně

pozitivní fluorescencí okolní dysplastické a reaktivní tkáně, ale částečně též ukazuje skutečnou klinicky nerozpoznanou nádorovou tkáň.

Plošný rozměr mnoha lézí přesahuje 10 mm okraj od klinicky detekovatelných hranic, a proto je třeba před léčbou provádět fluorescenční diagnostiku nebo aplikovat MAL při fotodynamické terapii plošně. Indikace k fotodynamické terapii za pomoci fluorescenční diagnostiky a vysokofrekvenčního ultrazvuku významně zlepšují klinické i kosmetické výsledky fotodynamické terapie a dovolí neinvazivně léčit i doposud sporné léze.

4.2.2 Fluorescenční diagnostika při navigaci u suspektního análního karcinomu

Maligní epiteliální tumory perianální oblasti a anální karcinom jsou poměrně vzácné [SCHOLEFIELD, JH. 2005]. Mezi mnoha histologickými variantami se nejčastěji vyskytují spinocelulární karcinom, ale také verukózní karcinom (asociovaný s infekcí lidským papilomavirem – HPV) a bazocelulární karcinom [FENGER, C. 2000]. Chronické rány, ekzém, kouření cigaret, věk, infekce HPV, anální sex a promiskuita patří mezi rizikové faktory análního karcinomu. Prekancerózní změny, jako dysplasie ohraničené na buňky epidermis, jsou známé jako anální intraepiteliální neoplasie (AIN). Z vysokého stupně AIN se s vysokou pravděpodobností vyvine invazivní karcinom. Morbus Bowen je typ tzv. carcinoma in situ, kdežto Morbus Paget je typ intraepidermalního tumouru s postižením adnex (apokrinní žlázozy karcinom) [NEIL, AS. 2007]. Mapovací biopsie přináší nejpřesnější posouzení závažnosti, celkového rozsahu a distribuce AIN. Většina expertů doporučuje u AIN chirurgickou excizi [SCHOLEFIELD, JH. 2005, ABBASAKOOR, F. 2005]. I přesto je riziko recidiv stále vysoké, často jako následek residua po operaci [ABBASAKOOR, F. 2005]. Chirurgické řešení zahrnující lokální excizi, širokou excizi, tkáňovou transplantaci, lalokovou plastiku, či biopsii s následnou ablací [SCHOLEFIELD, JH. 2005, REYNOLDS, VH. 1984, RASMUSSEN, OO. 1989, SARMIENTO, JM. 1997, MARCHESA, P. 1997, CHANG, GJ. 2002]. Správné předoperační ohraničení postiženého je náročné, ale důležité k minimalizaci velikosti defektu a zachování funkčnosti oblasti.

Mechanismus fotodynamické terapie za použití 5-aminolevulinátu (ALA) je založen na intracelulární transformaci ALA na protoporfirin IX (PpIX) a následné světelné expozici, jež indukuje fototoxickou reakci. Vedle použití v fotodynamické terapii, může být ALA použita i při diagnostice [WAGNIERES, GA. 1998]. Transformaci ALA lze neinvazivně monitorovat [FRITSCH, C. 1998]. Pomocí osvětlení modrým světlem vlnové délky 405nm (+-3nm) lze vyvolat fluorescence PpIX vlnové délky 630nm (+-5nm) [SVAASAND, LO. 1996] a tuto detekovat pomocí digitálního záznamového zařízení (CCD fotoaparát) se žlutým filtrem z důvodu redukce reflexe modrého světla (Curalux, Curalux Co., Germany) [PENG, Q. 2001]. Fluorescence kůže po aplikaci ALA je výsledkem komplexní interakce mezi penetrací, buněčnou absorpcí a metabolickou transformací ALA v PpIX a její eliminace [SVAASAND, LO. 1996, MOAN, J. 2001, ACKERMANN, G. 1998].

4.2.2.1 Metodika

Pro topické použití ALA byl použit 16% methyl-aminolevulinát (MAL) (Metvix, Galderma, Germany). MAL byl za účelem standardizace procedury nanesen na tři

hodiny a kryt pro vzduch i světlo nepropustným obvazem (Tegaderm, 3M, Germany) [MORTON, CA. 2002].

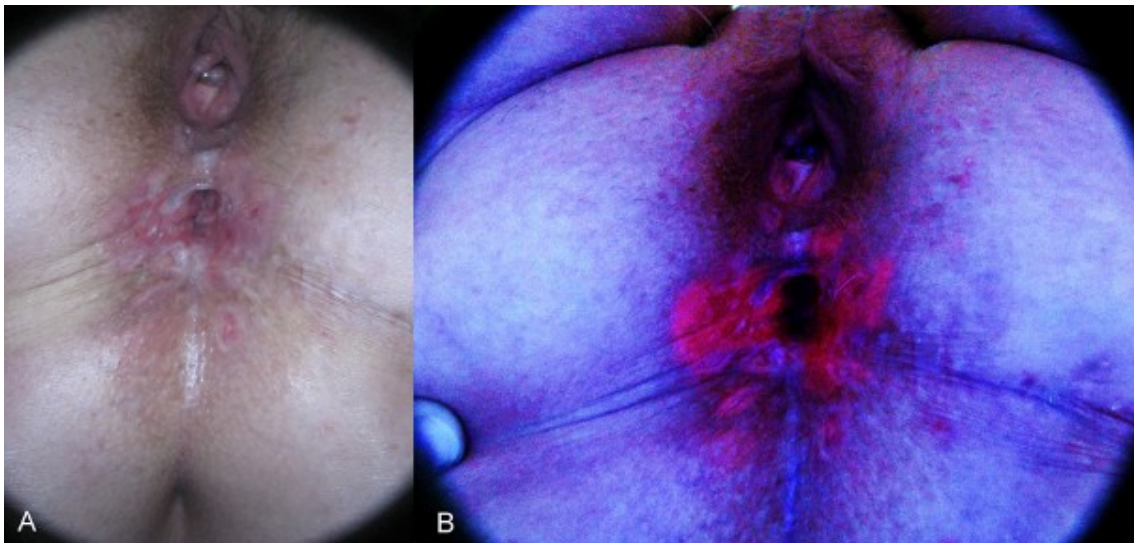
Studie vznikla na pracovišti dermatovenerologické kliniky univerzitní nemocnice Ludwig-Maximilian univerzity v Mnichově, kde jsem pracoval od roku 2008 do roku 2009 jako lékař.

4.2.2.2 Výsledky

Představuji případy dvou pacientů, u nichž bylo podezření na anální karcinom. V obou případech jsme použili fluorescenční diagnostiku k identifikaci (pre-)maligní tkáně před chirurgickou intervencí.

U 54leté pacientky s podezřením na recidivující anální karcinom popisující chronické svědění a bolest anální oblasti potvrdily opakované biopsie extramammární Morbus Paget. Jelikož pacientka v minulosti podstoupila mnohočetné operace i ozařování v perianální oblasti byla provedena fluorescenční diagnostika (obrázek 3 A, B) k zjištění rozsahu nádoru. Oblast fluorescence byla označena a pacientka podstoupila chirurgickou excizi této oblasti.

Obrázek 3: nativní fotografie (A) a fluorescenční fotografie (B) u pacientky



Histopatologická kontrola ukázala, že nádor nepřesahuje okraje excize. Defekty byly kryty pomocí lalokových plastik. Pacientka se zotavila, je plně kontinentní a následné sledování ukazuje již 9 měsíců bez recidivy.

79-letý pacient s podezřením na anální karcinom popisující mnoho let anální ekzém. Nově pálení a svědění v anální oblasti v posledních 2 měsících. Pacient podstoupil mnoho bioptických vyšetření s rozdílnými výsledky od lichenoidního ekzému po atypicky proliferující epitel. Aktuálně byla doporučena totální excize. Z důvodu nejasných histologických výsledků byla naplánována nová biopsie. Pro identifikaci optimálního místa biopsie byla provedena fluorescenční diagnostika (obrázek 4 A, B).

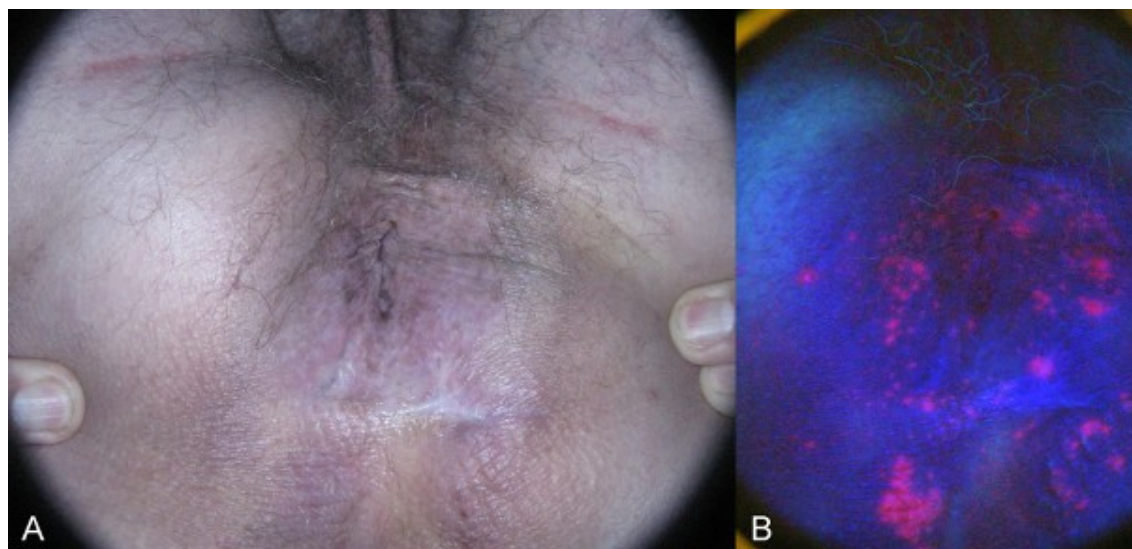
Biopsie provedené ze třech míst s nejsilnější fluorescencí neukázaly žádné nádorově suspektivní buňky. Pacient dostal lokální léčbu (adstringentní, desinfekční) a byl nadále dispenzarizován.

Obrázek 4: nativní (A) a fluorescenční (B) fotografie u pacienta



Následné kontroly ukázaly subjektivní i objektivní ústup obtíží (obrázek 5 A). Po třech měsících byla provedena kontrolní fluorescenční diagnostika, která ukázala jen nespecifickou nízkou aktivitu (obrázek 5 B). Lokální terapie byla postupně redukována.

Obrázek 5: nativní (A) a fluorescenční (B) fotografie u pacienta po třech měsících lokální terapie



4.2.2.3 Diskuze k použité metodě

Uvedené případy ukázaly dva pacienty s obdobnými potížemi v perianální oblasti, ale se zcela odlišnou konečnou diagnózou a terapií. Diferenciální diagnostika análního karcinomu zahrnuje mnoho benigních i maligních lézí, jak shrnuje tabulka 12 [PLEIMES, M. 2009].

Tabulka 12: diferenciální diagnostika análního karcinomu

atopický ekzém	anální intraepiteliální neoplasie (AIN)
alergický kontaktní ekzém	morbus Bowen
iritativní kontaktní ekzém	spinocelulární karcinom
lichen planus	extramamární morbus Paget
lichen sclerosus et atrophicus	bazocelulární karcinom
lichen simplex chronicus	
psoriasis inversa	

Klinická diagnostika análního karcinomu je náročná a často vyžaduje mnohočetná biotická vyšetření k získání správné diagnózy. Opakované chirurgické výkony v této oblasti významně zatěžují pacienta [SMITS, T. 2007]. Je třeba využívat inovativních metod detekce a přesného ohraničení nádorů v časně fázi. Tím lze zamezit následkům pozdní, nepřesné či neadekvátní léčby [TRAKATELLI, A. 2008]. Fluorescenční diagnostika je neinvazivní vyšetřovací metoda naplňující potřeby moderní diagnostiky.

Na předchozích příkladech lze též demonstrovat limitace fluorescenční diagnostiky. Senzitivita při ohraničování metabolicky aktivních, patologických míst je velice vysoká. PpIX se akumuluje především v rychle proliferujících buňkách a jeho fluorescence pak ukazuje markantní rozdíl mezi patologickou a normální tkání [ANDEKMSON-ENGELS, S. 1995]. Takto lze ohraničit tumor nebo označit místo pro cílenou biopsii. Na druhou stranu fluorescence dává pouze velice omezené informace ohledně stupně malignity léze. V prvním případě se pomocí fluorescenční diagnostiky zobrazila maligní tkáň, v druhém chronicky zánětlivá oblast.

4.2.2.4 Závěr

Fluorescenční diagnostika je neinvazivní, topicky aplikovaná, nebolestivá metoda použitelná k ohraničení patologického procesu i v anatomicky složitých oblastech. Může se opakovat, aniž by poškodila vyšetřovanou nebo okolní tkáň. Fluorescenční diagnostiky nabízí nový diagnostický postup suspektního análního karcinomu, přispívá ke zpřesnění plánu léčby s možností redukovat následky léčby včetně zachování funkčnosti oblasti a tím podporuje lepší kvalitu života pacienta.

5 Hodnocení a závěr

Senzitivita samotného klinického vyšetření je variabilní a často závislá na diagnostických zkušenostech vyšetřujícího. Referenční standard, kožní biopsie a histopatologické odečtení jsou zatím nenahraditelnou metodou diagnostiky nemelanomových nádorů zejména pro svou nejvyšší specifitu.

S cílem zpřesnit a objektivizovat neinvazivní diagnostiku nemelanomového nádoru se uplatňují v kožním lékařství nové metody a diagnostické technologie. Neustálé zdokonalování neinvazivních přístrojů a metodik zvyšuje postupně jejich diagnostickou přesnost a senzitivitu.

Některé z neinvazivních vyšetřovacích technologií jsou využívány v jiných oborech medicíny (např. optická koherenční tomografie, sonografie), jiné přístroje (např. konfokální mikroskopie) jsou nově vyvíjeny právě pro kožní diagnostiku. Přínos předložené práce spočívá mimo jiné v porovnání použitelnosti různých neinvazivních diagnostických metod pro diagnostiku nemelanomových nádorů a aktinických keratóz. Klinické studie zveřejněné po roce 1990 byly uspořádány podle typu diagnostické metody a analýza získaných dat se zaměřila zejména na přesnost a spolehlivost jednotlivých metod.

Dermatoskopie, respektive kapilaroskopie je finančně nenáročná metoda především proto, že ruční dermatoskop patří do základní výbavy dermatologa. Metoda má největší klinický přínos v diagnostice nových pigmentových kožních lézí, avšak v diagnostice nemelanomových nádorů se jeví na okraji svých možností. V blízké budoucnosti proto nepředpokládám významnější průlom a hlubší začlenění dermatoskopie do neinvazivní diagnostiky nemelanomových nádorů.

Optická koherenční tomografie (OCT) jako neinvazivní optická zobrazovací technologie je známá zatím především z očního lékařství, kde poskytuje průřezové tomografické obrazy tkání in situ v reálném čase. Její nevýhodou je nízká hloubka zobrazení, u dnešních OCT přístrojů se pohybuje maximální penetrace okolo 2 mm. Právě v této limitní hloubce je však nejdůležitější zobrazení okraje bazaliomu, protože zde se rozhoduje o možnosti neinvazivní terapie nebo chirurgické excizi. OCT v dermatologii tedy čeká zejména na vylepšení penetrace do hloubky.

Vyšetření pomocí konfokálního mikroskopu (KM) je metoda velice precizní, svou rozlišovací schopností je v současné době nejlepší z používaných neinvazivních zobrazovacích technik. Jejím limitem při diagnostice nemelanomových nádorů je však podobně jako u OCT nízká hloubka penetrace zobrazované tkáně. Pokud bude vyvinut KM přístroj, který dokáže zobrazit struktury do hloubky cca 6 mm, pak by tato

metoda mohla nahradit většinu histologických vyšetření a dokonce vytlačit invazivní probatorní excizi z dermatologické praxe.

Využití Ramanovy spektroskopie (RM) v dermatologické praxi je diskutováno teprve v několika posledních letech. RM je pro in vivo zobrazování zatím prakticky nedostupná, a proto se nedá v neinvazivní diagnostice nemelanomového nádoru v blízké budoucnosti předpokládat. Při dalším zdokonalování metody však lze předpokládat zvýšení přesnosti in vivo.

Terahertz pulzní zobrazování (TPI) je nová neinvazivní zobrazovací modalita, takže zatím bylo zveřejněno malé množství studií. TPI se dle mého názoru i přes slibné výsledky do dermatologické praxe pro svou přístrojovou a finanční náročnost v nejbližší budoucnosti nedostane.

Elektrická impedance (IMP) je při diagnostice nemelanomových nádorů nepřesná a velice závislá na okolních vlivech, které doposud nelze buď přesněji definovat, nebo při vyšetření eliminovat.

Pozitronová emisní tomografie (PET), počítačová tomografie (CT) a magnetická rezonance (MR) jsou metody finančně náročné a pro diagnostiku nemelanomových nádorů nedostatečně sensitivní.

S ohledem na to, že limitem zavedení zde diskutovaných neinvazivních vyšetřovacích metod nemelanomových nádorů do klinické praxe je jejich cenová dostupnost, senzitivita a specifita, se dá předpokládat, že pouze metoda s nejlepším poměrem cena a diagnostická přesnost se dostane do běžné klinické praxe. Jak je patrné ze souborného přehledu současného stavu poznání, jsou data popisující senzitivitu a specifitu jednotlivých časově a finančně náročných neinvazivních vyšetřovacích metod zatím reprodukovatelná pouze s jistou rezervou. Výpovědní hodnotu u mnoha studií snižuje především fakt, že design studie a počet pacientů do ní zařazených není dostatečný. Ke spolehlivému posouzení přesnosti diagnostického testu jsou potřeba další pozorování na zdravých jedincích, randomizované a velké kohortové studie. Rychlejšímu rozvoji a širšímu použití v klinické praxi brání především finanční náročnost většiny zkoumaných metod.

Dvě metody, které se jeví pro klinickou praxi jako nejpřístupnější, jsou bispektrální fluorescenční diagnostika a vysokofrekvenční ultrazvuk. Dalším přínosem předložené práce je klinické ověření těchto dvou vybraných metod.

Ze všech studovaných metod je vysokofrekvenční ultrazvuk praktickému každodennímu použití při diagnostice nemelanomových nádorů nejbližší, proto byla tato metoda zvolena k ověření v klinické praxi. Dle výsledků ve vlastní studii o 100 bazaliomech byl použit vysokofrekvenční ultrazvuk pro neinvazivní měření tloušťky bazaliomu. Výsledky statisticky prokazují, že vysokofrekvenční ultrazvuk pomáhá při výběru vhodné terapie, jelikož tloušťka léze je jedním z důležitých faktorů

rozhodujících o terapii bazaliomu. Léčba bazaliomu pomocí fotodynamické terapie bez předchozího měření tloušťky za pomoci např. vysokofrekvenčního ultrazvuku by, podle této studie, měla být považována za non lege artis, a proto je doporučeno využít vysokofrekvenční ultrazvuk při vyšetření všech suspektně hraničních bazaliomů. V porovnání s ostatními zkoumanými metodami má vysokofrekvenční ultrazvuk potenciál změnit terapeutické protokoly fotodynamické terapie a standard při terapii bazaliomu. 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. Zmiňovaný problém cenové dostupnosti lze elegantně řešit velmi jednoduše. V praxích často přítomné ultrazvukové přístroje je možné doplnit o novou vysokofrekvenční hlavici ke stávajícímu přístrojovému vybavení.

Jak ukázala vlastní případová studie análního karcinomu, vysoká sensitivita bispektrální fluorescenční diagnostiky může být použita v navigaci biopsie nebo demarkace hranic již známého nádoru [KRIZ, M. 2012]. 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 extramammárního Pagetova karcinomu byl pomocí fluorescenční diagnostiky zobrazen rozsah nádoru. Následná minimálně mutilující chirurgická excize do zdravé tkáně zachovala anatomickou i fyziologickou funkci oblasti. Značnou nevýhodou fluorescenční diagnostiky je její časová náročnost. Z tohoto důvodu je fluorescenční diagnostika stále metodou doplňkovou, používanou při sporných, diagnosticky náročných a nejasných případech.

6 Seznam použité literatury

1. **ABBASAKOOR**, F., BOULOS, PB. Anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg*, 2005, vol. 92, p. 277-290.
2. **ABERG**, P., GELADI, P., NICANDER, I., et al. Non-invasive and microinvasive electrical impedance spectra of skin cancerFa comparison between two techniques. *Skin Res Technol*, 2005, vol.11, p.281–286.
3. **ABERG**, P., NICENDER, I., HOLMGREN, U., et al. Assessment of skin lesions and skin cancer using simple electrical impedance indices. *Skin Res Technol*, 2003, vol.9, p. 257–261.
4. **ACKERMAN**, AB. and MONES, JM. Solar (actinic) keratosis is squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol*, 2006, vol.155, p. 9–22.
5. **ACKERMANN**, G., ABELS, C., BAUMLER, W., et al. Simulations on the selectivity of 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence in vivo. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 1998, vol. 47, p. 121–128.
6. **AGHASSI**, D., ANDEKMON, RR. and GONZALES, S. Confocal laser microscopic imaging of actinic keratoses in vivo: a preliminary report. *J Am Acad Dermatol*, 2000, vol. 43,p. 42–48.
7. **ALLAN**, E., PYE, DA., LEVINE, EL., et al. Non-invasive pulsed ultrasound quantification of the resolution of basal cell carcinomas after photodynamic therapy. *Lasers Med*, 2002, vol.17, p. 230–237.
8. **ALTMAYER**, P., EL-GAMMAL, S., HOFFMANN, K., et al. Ultrasound in Dermatology. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1992.
9. **ANDEKMONSON-ENGELS**, S., BERG, S., SVANBERG, K., et al. Multi-colour fluorescence imaging in connection with photodynamic therapy of delta-aminolevulinic acid (ALA) sensitised skin malignancies. *Bioimaging*, 1995, vol. 3, p. 134-143.
10. **ANDEKMONSON-ENGELS**, S., CANTI, G., CUBEDDU, R., et al. Preliminary evaluation of two fluorescence imaging methods for the detection and the delineation of basal cell carcinomas of the skin. *Lasers Surg Med*, 2000, vol. 26, p. 76–82.

11. **ARGENZIANO**, G., ZALAUDEK, I., CORONA, R., et al. Vascular structures in skin tumors: a dermoscopy study. *Arch Dermatol*, 2004, vol. 140, p. 1485–1489.
12. **ARMSTRONG**, BK. and KRICKER, A. The epidemiology of UV induced skin cancer. *J Photochem Photobiol, B: Biol*, 2001, vol.63, p. 8–18.
13. **BAKIS**, S., IRWIG, L., WOOD, G., et al. Exfoliative cytology as a diagnostic test for basal cell carcinoma: a meta-analysis. *Br J Dermatol*, 2004, vol.150, p. 829–836.
14. **BECHARA**, FG., GAMBICHLER, T., STUCKER, M., et al. Histomorphologic correlation with routine histology and optical coherence tomography. *Skin Res Technol*, 2004, vol. 10, p. 169–173.
15. **BESSOUD**, B., LASSAU, N., KOSCIELNY, S., et al. High-frequency sonography and color Doppler in the management of pigmented skin lesions. *Ultrasound Med Biol*, 2003, vol.9, p. 875–879.
16. **BIESTERFELD**, S. and JOSEF, J. Differential diagnosis of keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the epidermis by MIB-1 immunohistometry. *Anticancer Res*, 2002, vol. 22, p. 3019– 3023.
17. **BJERRING**, P., OBITZ, ER. and COTTON S. In vivo spectrophotometric evaluation of skin tumours using a new chromophore imaging system SIAscope. *Melanoma Res*, 2001, vol.11, p.180.
18. **BRAATHEN**, LR., et al. Guidelines on the use of photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer: an international consensus. *J Am Acad Dermatol*, 2007, vol. 56, p. 125–143.
19. **BRANCALEON**, L., DURKIN, AJ., TU, JH., et al. In vivo fluorescence spectroscopy of nonmelanoma skin cancer. *Photochem Photobiol*, 2001, vol. 73, p. 178–183.
20. **BROCHEZ**, L., VERHARGHE, E., GROSSHANS, E., et al. Inter-observer variation in the histopathological diagnosis of clinically suspicious pigmented skin lesions. *J Pathol*, 2002, vol. 196, p. 459–466.
21. **BUCHWALD**, HJ., MULLER, A., KAMPMEIER, J., et al. Optical coherence tomography versus ultrasound biomicroscopy of conjunctival and eyelid lesions. *Klin Monatsblatter Augenheilkunde*, 2003, vol. 220, p. 822–829.

22. **BUJA, A., LANGE, JH., PERISSINOTTO, E., et al.** Cancer incidence among male military and civil pilots and flight attendants: An analysis on published data. *Toxicol and Health*, 2005, vol. 21, p. 273–282.
23. **CEILLY, RI.** Modalities and mechanisms of action. In: The field treatment of actinic keratosis. *Skin Aging*, 2004, Suppl, p. 3–5.
24. **COOPER, SM. and WOJNAROWSKA, F.** The accuracy of clinical diagnosis of suspected premalignant and malignant skin lesions in renal transplant recipients. *Clin Exp Dermatol*, 2002, vol. 27, p. 436–438.
25. **COSTA P, GHILANI M, PAPADIA F, et al.** Superficial ultrasound in the assessment of skin tumours: indications and limitations. *Riv Ital Chir Plast*, 1992, vol. 24, p. 263–269.
26. **DAVIS, DA., DONAHUE, JP., BOST, JE., et al.** The diagnostic concordance of actinic keratosis and squamous cell carcinoma. *J Cutan Pathol*, 2005, vol. 32, p. 546–551.
27. **DE HERTOOG, SAE., WENSVEEN, CAH., BASTIAENS, MT., et al.** Leiden skin cancer study. Relation between smoking and skin cancer. *J Clin Oncol*, 2001, vol. 19, p. 231–238.
28. **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.
29. **DIEPGEN, TL. and MAHLER, V.** The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol*, 2002, vol. 146, Suppl. 61, p. 1–6.
30. **DODSON, JM., DE SPAIN, J., HEWETT, JE., et al.** Malignant potential of actinic keratoses and the controversy over treatment: A patient-oriented perspective. *Arch Dermatol*, 1991, vol. 127, p. 1029–1031.
31. **EDWARDS, C., AL-ABOOSI, MM. and MARKS R.** The use of A-scan ultrasound in the assessment of small skin tumours. *Br J Dermatol*, 1989, vol. 121, p. 297–304.
32. **EK, EW., GIORLANDO, F., SU, SY., et al.** Clinical diagnosis of skin tumours: how good are we? *ANZ J Surg*, 2005, vol. 75, p. 415–420.
33. **EL GAMMAL, S., AUER, T., HOFFMANN, K., et al.** High-resolution ultrasound of the human epidermis. In: *Non-invasive methods of the skin*. Boca Raton (FL), CRC Press, 1995.

34. **EL GAMMAL, S., EL GAMMAL, C., ALTMAYER, P.J., et al.** High resolution sonography of the skin. In: *Non-invasive methods of the skin*. 2nd ed. Boca Raton (FL), CRC Press, 2006.
35. **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.
36. **ENGLISH, DR., ARMSTRONG, BK., KRICKER, A., et al.** Sunlight and cancer. *Cancer Causes Control*, 1997, vol. 8, p. 271–283.
37. **ESTEIN E.** Quantifying actinic keratosis: Assessing the evidence. *Am J Clin Dermatol*, 2004, vol. 5, p. 141–144.
38. **ERICSON, MB., SANBERG, C., GUDMUNDSON, F., et al.** Fluorescence contrast and threshold limit: Implications for photodynamic diagnosis of basal cell carcinoma. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2003, vol. 69, p. 121–127.
39. **ERICSON, MB., UHRE, J., STRANDEBERG, C., et al.** Bispectral fluorescence imaging combined with texture analysis and linear discrimination for correlation with histopathologic extent of basal cell carcinoma. *J Biomed Opt*, 2005, vol. 10, p. 034009.
40. **EUVRARD, S., KANITAKIS, J. and CLAUDY, A.** Medical progress: Skin cancers in organ transplant recipients. *N Engl J Med*, 2003, vol. 348, p. 1681–1691.
41. **FENGER, C., FRISCH, M., MARTI, MC., et al.** Tumors of the anal canal. In: HAMILTON, SR., AALTONEN, LA., editors. *World Health Organisation classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of digestive system*. Lyon (France), IARC Press, 2000, p. 146-155.
42. **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.
43. **FRITSCH, C., LANG, K., NEUSE, W., et al.** Photodynamic diagnosis and therapy in dermatology. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 1998, vol. 11, p. 358–373.
44. **FUJIMOTO, JG.** Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nat Biotechnol*, 2003, vol. 21, p. 1361–1367.

45. **FUJIMOTO**, JG., PITRIS, C., BOPPART, SA., et al. Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia*, 2000, vol. 2, p. 9–25.
46. **GAMBICHLER**, T., BOMS, S., STUCKER, M., et al. Comparison of histometric data obtained by optical coherence tomography and routine histology. *J Biomed Opt*, 2005, vol. 10, p. 44008.
47. **GAMBICHLER**, T., MOUSSA, G., SAND, M., et al. Applications of optical coherence tomography in dermatology. *J Dermatol Sci*, 2005, vol. 40, p. 85–94.
48. **GERGER**, A., HORN, M., KOLLER, S., et al. Confocal examination of untreated fresh specimen from basal cell carcinoma: implications for microscopically guided surgery. *Arch Dermatol*, 2005, vol. 141, p. 1269–1274.
49. **GLUUD**, C. and GLUUD, LL. Evidence based diagnostics. *BMJ*, 2005, vol. 330, p.724–726.
50. **GNIADOCKA**, M., PHILIPSEN, PA., SIGURDSSON, S., et al. Melanoma diagnosis by Raman spectroscopy and neural networks: structure alterations in proteins and lipids in intact cancer tissue. *J Invest Dermatol*, 2004, vol. 122, p. 443–449.
51. **GNIADOCKA**, 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.
52. **GONZALEZ** ,S., GILABERTE-CALZADA, Y., GONZALEZ-RODRIGUES, A., et al. In vivo reflectance-mode confocal scanning laser microscopy in dermatology. *Adv Dermatol*, 2004, vol. 20, p. 371–387.
53. **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.
54. **GROPPER**, CA., STILLER, MJ., SHUPACK, JL., et al. Diagnostic highresolution ultrasound in dermatology. *Int J Dermatol*, 1993, vol. 32, p. 243–250.
55. **GROSS**, U., SUTER, L. and HUNDEIKER, M. 20-MHz sonography as a planning aid in the therapy of skin tumours. *Akt Dermatol*, 1993, vol. 19, p. 32–35.

56. **GUPTA, AK., TURNBULL, DH., FOSTER, FS., et al.** High frequency 40-MHz ultrasound: a possible noninvasive method for the assessment of the boundary of basal cell carcinomas. *Dermatol Surg*, 1996, vol. 22, p. 131–136.
57. **HABIF, TP.** Clinical Dermatology: A color guide to diagnosis and therapy, Edinburgh: Mosby, 2004, p. 724–753.
58. **HALOCK, GG. and LUTZ DA.** Prospective study of the accuracy of the surgeon's diagnosis in 2000 excised skin tumors. *Plast Reconstr Surg*, 1998, vol. 101, p. 1255–1261.
59. **HARLAND, CC., BAMBER, JC., GUSTEKMON, 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.
60. **HAR-SHAI, Y., HAI, N., TARAN, A., et al.** Sensitivity and positive predictive values of presurgical clinical diagnosis of excised benign and malignant skin tumors: a prospective study of 835 lesions in 778 patients. *Plast Reconstr Surg*, 2001, vol. 108, p.1982–1989.
61. **HEENAN, PJ., ELDER, DE. and SOBIN, LH.** Histological Typing of Skin Tumors (WHO).Berlin: Springer, 1996, p. 48–51.
62. **HENDEKMON, BW., DOUGHERTY, TJ.** How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol*, 1992, vol. 55, p. 145-157.
63. **HOFFMANN, K., STUCKER, M., EL-GAMMAL, S., et al.** [Digital 20MHz sonography of basalioma in the B-scan]. *Hautarzt*, 1990, vol. 41, p. 333–339.
64. **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.
65. **CHANG, GJ., BERRY, JM., JAY, N., et al.** Surgical treatment of high-grade anal squamous intraepithelial lesions. A prospective study. *Dis Colon Rectum*, 2002, vol. 45, p. 453–458.
66. **CHIN, CW., FOSS, AJ., STEVENS, A., et al.** Differences in the vascular patterns of basal and squamous cell skin carcinomas explain their differences in clinical behaviour. *J Pathol*, 2003, vol. 200, p. 308–313.
67. **CHOI, J., CHOO, J., CHUNG, H., et al.** Direct observation of spectral differences between normal and basal cell carcinoma (BCC) tissues using confocal Raman microscopy. *Biopolymers*, 2005, vol.77, p. 264–272.

68. **CHUNG**, VQ., DWYER, PJ., NEHALI, KS., et al. Use of ex vivo confocal scanning laser microscopy during Mohs surgery for nonmelanoma skin cancers. *Dermatol Surg*, 2004, vol. 30, p.1470–1478.
69. **INAGUMA**, M. and HASHIMOTO, K. Porphyrin-like fluorescence in oral cancer: in vivo fluorescence spectral characterization of lesions by use of a near-ultraviolet excited autofluorescence diagnosis system and separation of fluorescent extracts by capillary electrophoresis. *Cancer*, 1999, vol. 86, p. 2201–2211.
70. **JEMALI**, A., THOMAS, A., MURRAY, T., et al. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 2002, vol. 52, p. 23–47.
71. **JEMEC**, GB., GNIADECKA, M. and ULRICH, J. Ultrasound in dermatology. Part I. High frequency ultrasound. *Eur J Dermatol*, 2000, vol. 10, p. 492–497.
72. **JENSEN**, LK., THRANE, L., ANDEKMEN, PE., et al. Optical coherence tomography in clinical examination of non-pigmented skin malignancies. *Proc of SPIE-OSA Biomed Optics*. SPIE, 2003, no. 5140, p. 160–167.
73. **JORIZZO**, JL., CARNEY, PS., KO, WT., et al. Treatment options in the management of actinic keratosis. *Cutis*, 2004, vol.74, Suppl 6, p. 9–17.
74. **JOVANOVIC**, DL., KATIC, V. and JOVANOVIC, B. Value of preoperative determinativ of skin tumor thickness with 20-MHz ultrasound. *Arch Dermatol*, 2005, vol. 141, p. 269–270.
75. **KAMIYA**, M., ICHIKI, Y., KAMYIA, H., et al. Detection of nonmelanoma skin cancer micrometastases in lymph nodes by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction for keratin 19 mRNA. *Br J Dermatol*, 2003, vol. 149, p. 998–1005.
76. **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.
77. **KNOTTNERUS**, JA. The evidence base of clinical diagnosis. London: BMJ Books; 2002.
78. **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.

79. **KREUSCH**, JF. Vascular patterns in skin tumors. *Clin Dermatol*, 2002, vol. 20, p.248–254.
80. **KRIZ**, M. Fluorescence diagnostics as a guide for demarcation and biopsy of suspected anal cancer. *Int J Dermatol*, 2012, vol. 1, p. 31-4.
81. **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.
82. **LACOUR**, JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetics and molecular mechanisms. *Br J Dermatol*, 2002, vol. 146, Suppl 61, p. 17–19.
83. **LANKA**, B., TURNER, M., ORTON, C., et al. Cross-sectional imaging in non-melanoma skin cancer of the head and neck. *Clin Radiol*, 2005, vol. 60, p. 869–877.
84. **LASSAU**, N., SPATZ, A., AVRIL, MF., et al. Value of high-frequency US for preoperative assessment of skin tumors. *Radiographics*, 1997, vol. 17, p. 1559–1565.
85. **LEBOIT**, PE., BURG G., WEEDON, D., et al. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumours. IARC Press, Lyon, 2006, p. 10–33.
86. **LEFFELL**, DJ., CHEN, YT., BERWICK, M., et al. Interobserver agrément in a community skin cancer screening setting. *J Am Acad Dermatol*, 1993, vol. 28, p. 1003–1005.
87. **LEHMAN**, P. Methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy: a review of clinical trials in the treatment of actinic keratoses and nonmelanoma skin cancer. *British Journal of Dermatology*, 2007, vol. 156, p. 793-801.
88. **LIM**, JL. and STERN, KM. High levels of ultraviolet B exposure increase the risk of non-melanoma skin cancer in psoralen and ultraviolet A-treated patients. *J Invest Dermatol*, 2005, vol. 124, p. 505–513.
89. **LIND**, AC., BEWTRA, C., HEALY, JC., et al. Prospective peer review in surgical pathology. *Am J Clin Pathol* , 1995, vol. 104, p. 560–566.
90. **LONT**, AP., BESNARD, AP., GALLEE, MP., et al. A comparison of physical examination and imaging in determining the extent of primary penile carcinoma. *BJU Int*, 2003, vol. 91, p. 493-495.

91. **MAC KIE**, RM. Long-term health risk to the skin of ultraviolet radiation. *Prog Biophys Mol Biol*, 2006, vol. 92, p. 92–96.
92. **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.
93. **MARCHESA**, P., FAZIO, VW., OLIART, S., et al. Perianal Bowen's disease: a clinicopathologic study of 47 patients. *Dis Colon Rectum*, 1997, vol. 40, p. 1286–1293.
94. **MARKS**, R. An overview of skin cancers. Incidence and causation. *Cancer*, 1995, vol. 75, p. 607–612.
95. **MARKS**, R. and RENNIE, G. Malignant transformation of solar keratoses to squamous cell carcinoma. *Lancet*, 1988, p.795–797.
96. **MARQUES**, J., CUETO, L., ROLDAN, F., et al. Ultrasound study of skin tumors. *Radiologia*, 2002, vol. 44, p. 55-60.
97. **MARRA**, DE., TORES, A., SCHANBACHER, CF., et al. Detection of residual basal cell carcinoma by in vivo confocal microscopy. *Dermatol Surg*, 2005, vol. 31, p. 538–541.
98. **MASINI**, C., FUCHS, PG., GABRIELLI, F., et al. Evidence for the association of human papillomavirus infection and cutaneous squamous cell carcinoma in immunocompetent individuals. *Arch Dermatol*, 2003, vol. 139, p. 890–894.
99. **MC INTOSH**, LM., JACKSON, M., MANTSCH, HH., et al. Infrared spectra of basal cell carcinomas are distinct from non-tumor-bearing skin components. *J Invest Dermatol*, 1999, vol. 112, p. 951–956.
100. **MC INTOSH**, LM., SUMMEKM, 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.
101. **MENZIES**, SW. Dermoscopy of pigmented basal cell carcinoma. *Clin Dermatol*, 2002, vol. 20, p. 268–269.
102. **MOAN**, J., MA, LW., LANI, V. On the pharmacokinetics of topically applied 5-aminolevulinic acid and two of its esters. *Int J Cancer*, 2001, vol. 92, p. 139–143.
103. **MOEHRLE**, M. Outdoor sports and skin cancer. *Clin Dermatol*, 2008, vol. 26, p. 12–15.

104. **MOORE**, JV. and **ALLAN**, E. Pulsed ultrasound measurements of depth and regression of basal cell carcinomas after photodynamic therapy. relationship to probability of 1-year local control. *Br J Dermatol*, 2003, vol. 149, p. 1035–1040.
105. **MORRISON**, A., **O'LOUGHLIN**, S. and **POWELLI**, FC. Suspected skin malignancy: a comparison of diagnoses of family practitioners and dermatologists in 493 patients. *Int J Dermatol* , 2001, vol. 40, p. 104–107.
106. **MORTON**, CA. Methyl aminolevulinate (Metvix[®]) photodynamic therapy - practical pearls. *J Dermatolog Treat*, 2003; vol. 14 (Suppl. 3), p. 23-26.
107. **MORTON**, CA., **BROWN**, SB., **COLLINS**, S., et al. Guidelines for topical photodynamic therapy: report of workshop of the British Photodermatology Group. *Br J Dermatol*, 2002, vol. 146, p. 552-567.
108. **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.
109. **NEIL**, AS. Anal intraepithelial neoplasia and other neoplastic precursor lesions of anal canal and perianal region. *Gastroenterol Clin N Am*, 2007, vol. 36, p. 969-987.
110. **NEWELL**, B., **BEDLOW**, AJ., **CLIFFS**, M., et al. Comparison of the microvasculature of basal cell carcinoma and actinic keratosis using intravital microscopy and immunohistochemistry. *Br J Dermatol*, 2003, vol. 149, p. 105–110.
111. **NGUYEN**, P., **VIN-CHRISTIAN**, K., **MING**, ME., et al. Aggressive squamous cellcarcinomas in persons infected with the human immunodeficiency virus. *Arch Dermatol*, 2002, vol. 138, p.758–763.
112. **NIELSEN**, KP., **JUZENIEM**, A., **JUZENAS**, P., et al. Choice of optimal wavelength for PDT: The significance of Oxygen depletion. *Photochemistry and Photobiology*, 2005; vol. 81, p. 1190-1194.
113. **NIJSSEN**, A., **BAKKER SCHUT**, TC., **HEULE**, F., et al. Discriminating basal cell carcinoma from its surrounding tissue by Raman spectroscopy. *J Invest Dermatol*, 2002, vol. 119, p. 64–69.
114. **NIJSTEN**, TEC. and **STERN**, KM. The increased risk of skin cancer is persistent after discontinuation of psoralenþ ultraviolet A: A cohort study. *J Invest Dermatol*, 2003, vol. 121, p. 252–258.

115. **NITSCHKE**, N., **HOFFMANN**, K. and **IRO**, H. Ultrasound diagnosis of skin tumours. *HNO*, 1992, vol. 40, p. 97–100.
116. **NORI**, S., **RIUS-DIAZ**, F., **CUEVAS**, J., et al. Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J Am Acad Dermatol*, 2004, vol. 51, p. 923–930.
117. **OLHOFFER**, IH., **LAZOVA**, R. and **LEFFELL**, DJ. Histopathologic misdiagnoses and their clinical consequences. *Arch Dermatol*, 2002, vol.138, p.1381–1383.
118. **OLMEDO**, JM., **WAKMCHAW**, KE., **SCHMITT**, JM., et al. Optical coherence tomography for the characterization of basal cell carcinoma in vivo: a pilot study. *J Am Acad Dermatol*, 2006, vol. 55, p. 408–412.
119. **ONIZAWA**, K., **OKAMURA**, N., **SAGINOYA**, H., et al. Characterization of autofluorescence in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2003, vol. 39, p.150–156.
120. **ONIZAWA**, K., **YOSHIDA**, H. and **SAGINOYA**, H. Chromatic analysis of autofluorescence emitted from squamous cell carcinomas arising in the oral cavity: a preliminary study. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2000, vol. 29, p. 42–46.
121. **OPPEL**, T. and **KORTING**, HC. Actinic keratosis: The key event in the evolution from photodaged skin to squamous cell carcinoma. *Skin Pharmacol Physiol*, 2004, vol.17, p. 67–76.
122. **ORTONNE**, JP. From actinic keratosis to squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol*, 2002, vol.146, Suppl 61, p. 20–23.
123. **PANJEHPOUR**, M., **JULIUS**, CE., **PHAN**, MN., et al. Laser-induced fluorescence spectroscopy for in vivo diagnosis of non-melanoma skin cancers. *Lasers Surg Med*, 2002, vol.31, p. 367–373.
124. **PARK**, WS., **LEE**, HK., **LEE**, JY., et al. p53 mutations in solar keratoses. *Hum Pathol*, 1996, vol. 27, p. 1180–1184.
125. **PENG**, Q., **SOLER**, AM., **WARLOE**, T., et al. Selective distribution of porphyrins in skin thick basal cell carcinoma after topical application of methyl-5-aminolevulinate. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2001, vol. 62, p. 140–145.
126. **PERVAIZ**, S., **OLIVO**, M. Art and science of photodynamic therapy. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2006, vol. 33, p. 551–556.
127. **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.

128. **PIERCE**, MC., STRASSWIMMER, J., PARK, BH., et al. Advances in optical coherence tomography imaging for dermatology. *J Invest Dermatol*, 2004, vol. 123, p. 458–463.
129. **PLEIMES**, M., WIEDEMEYER, K., HARTSCHUH, W. Lichen simplex chronicus of the anal region and its differential diagnoses. *Hautarzt*, 2009, vol. 60, p. 907-912.
130. **QUERLEUX**, B. Nuclear magnetic resonance (NMR) examination of the skin in vivo. In: *Non-invasive methods of the skin*. 2nd ed. Boca Raton (FL), CRC Press, 2006.
131. **RALLAN**, D. and HARLAND, CC. Ultrasound in dermatology: basic principles and applications. *Clin Exp Dermatol*, 2003, vol. 28, p. 632–638.
132. **RASMUSSEN**, OO., CHRISTIANSEN, J. Conservative management of Bowen's disease of the anus. *Int J Colorectal Dis*, 1989, vol. 4, p. 164-166.
133. **REYNOLDS**, VH., MADDEN, JJ., FRANKLIN, JD., et al. Preservation of anal function after total excision of the anal mucosa for Bowen's disease. *Ann Surg*, 1984, vol. 199, p. 563-568.
134. **RICHARD**, S., QUERLEUX, B., BITTOUN, J., et al. In vivo Proton Relaxation Times Analysis of the Skin Layers by Magnetic Resonance Imaging, *J Invest Derm*, 1991, vol. 97, p. 120-125.
135. **RIPPEY**, JJ. and RIPPEY, E. Characteristics of incompletely excised basal cell carcinoma. *Med J Aust*, 1997, vol. 166, p. 581–583.
136. **ROSSI**, R., MORI, M. and LOTTI, T. Actinic keratosis. *Int J Dermatol*, 2007, vol. 46, p. 895–904.
137. **RUOCCO**, E., ARGENZIANO, G., PELLACANI, G., et al. Noninvasive imaging of skin tumors. *Dermatol Surg*, 2004, vol. 30, p. 301–310.
138. **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.
139. **SALASCHE**, SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*, 2000, vol. 42, p. 54–57.
140. **SALDANHA**, G., FLETCHER, A. and SLATER, DN. Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol*, 2003, vol. 148, p. 195–202.

141. **SARMIENTO**, JM., WOLFF, BG., BURGART, LJ., et al. Perianal Bowen's disease: associated tumors, human papillomavirus, surgery, and other controversies. *Dis Colon Rectum*, 1997, vol. 40, p. 912–918.
142. **SAUERMANN**, K., GAMBICHLER, T., WILMERT, M., et al. Investigation of basal cell carcinoma [correction of carcionoma] by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol*, 2002, vol.8, p. 141–147.
143. **SELKIN**, B., RAJADHYAKSHA, M., GONZALEZ, S., et al. In vivo confocal microscopy in dermatology. *Dermatol Clin*, 2001, vol. 19, p. 369–377.
144. **SERUP**, J., KEIDING, J., FULLERTON, A., et al. High-frequency ultrasound examination of the skin. In: *Non-invasive methods of the skin*. 2nd ed. Boca Raton (FL), CRC Press, 2006.
145. **SEXTON**, M., JONES, DB. and MALONEY, ME. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. Study of a series of 1039 consecutive neoplazma. *J Am Acad Dermatol*, 1990, vol. 23, p. 1118–1126.
146. **SCHMID-WENDTNER**, MH. and BURGDORF W. Ultrasound scanning in dermatology. *Arch Dermatol*, 2005, vol. 141, p. 217–224.
147. **SCHOLEFIELD**, JH., CASTLE, MT., WATSON, NFS. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg*, 2005, vol. 92, p. 1133-1136.
148. **SCHRODER**, RJ., MAURER, J., ZLOWODSKI, M., et al. Vascularization of malignant and benign skin tumours measured by D-galactosebased signal-enhanced colour Doppler sonography. *Acta Radiol*, 2001, vol. 42, p.294–301.
149. **SCHWARTZ**, RA., BRIDGES, TM., BUTANI, AK., et al. Actinic keratosis: An occupational and environmental disorder. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2008, Suppl., p. 1–9.
150. **SCHWARTZBERG**, JB., ELGART, GW., ROMANELLI, P., et al. Accuracy and predictors of basal cell carcinoma diagnosis. *Dermatol Surg*, 2005, vol. 31, p. 534–537.
151. **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.

152. **SIGURDSSON**, S., PHILIPSEN, PA., HANSEN, LK., et al. Detection of skin cancer by classification of Raman spectra. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2004, vol. 51, p. 1784–1793.
153. **SLATER**, DN. and MC KEE, PH. Minimum dataset for the histopathological reporting of common skin cancers. London, The Royal College of Pathologists, 2002, p. 1–22.
154. **SMITS**, T., KLEINPENNING, MM., BLOKX, WAM., et al. Fluorescence diagnosis in keratinocytic intraepidermal neoplasias. *J Am Acad Dermatol*, 2007, vol. 57, p. 824–831.
155. **STEINER**, R., KUNZI, RK. and SCHARFFETTER, KK. Optical coherence tomography: clinical applications in dermatology. *Med Laser Application*, 2003, vol. 18, p. 249–259.
156. **STENQUIST**, B., ERICSON, MB., STRANDEBERG, C., et al. Bispectral fluorescence imaging of aggressive basal cell carcinoma combined with histopathological mapping: a preliminary study indicating a possible adjunct to Mohs micrographic surgery. *Br J Dermatol*, 2006, vol.154, p. 305–309.
157. **STERENBORG**, NJ., THOMSEN, S., JACQUES, SL., et al. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging of human skin tumors. *Dermatol Surg*, 1995, vol. 21, p.821–822.
158. **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.
159. **STUCKER**, M., HOKMTMANN, I., NUCHELI, C., et al. Blood flow compared in benign melanocytic naevi, malignant melanomas and basal cell carcinomas. *Clin Exp Dermatol*, 1999, vol. 24, p.107–111.
160. **SUIHKO**, C., SWINDLE, LD., THOMAS, SG., et al. Fluorescence fibreoptic confocal microscopy of skin in vivo: microscope and fluorophores. *Skin Res Technol*, 2005, vol. 11, p.254–267.
161. **SVAASAND**, LO., WYSS, P., WYSS, MT., et al. Dosimetry model for photodynamic therapy with topically administered photosensitizers. *Lasers Surg Med*, 1996, vol. 18, p.139–149.

162. **SZEIMIES**, RM., MORTON, CA., SIDOROFF, A., et al. Photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer. *Acta Derm Venereol (Stockh)*, 2005, vol. 85, p. 483–490.
163. **TANNOUS**, Z., TORRES, A. and GONZALEZ, S. In vivo real-time confocal reflectance microscopy: a noninvasive guide for Mohs micrographic surgery facilitated by aluminum chloride, an excellent contrast enhancer. *Dermatol Surg*, 2003, vol. 29, p. 839–846.
164. **THE INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER WORKING GROUP ON ARTIFICIAL ULTRAVIOLET LIGHT AND SKIN CANCER**. The association of use of sunbeds with cutaneous malignant melanoma and other skin cancers: A systemic review. *Int J Cancer*, 2006, vol. 120, p.1116–1122.
165. **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.
166. **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.
167. **TROTTER**, MJ., BRUECKES, AK. Interpretation of skin biopsies by general pathologists: diagnostic discrepancy rate measured by blinded review. *Arch Pathol Lab Med*, 2003, vol. 127, p.1489–1492.
168. **TYCHO**, A., ANDEKMEN, P., THRANE, L., et al. Optical coherence tomography in dermatology. In: *Non-invasive methods and the skin*. 2nd ed. Boca Raton (FL), CRC Press, 2006.
169. **VITASA**, BC., TAYLOR, HR., STRICKLAND, PT., et al. Association of non-melanoma skin cancer and actinic keratosis with cumulative solar ultraviolet exposure in Maryland watermen. *Cancer*, 1990, vol. 65, p. 2811–2817.
170. **VAILLANT**, L., GROGNARD, C., MACHET, L., et al. High resolution ultrasound imaging to assess skin tumors prior to cryosurgery. *Ann Dermatol Venereol*, 1998, vol.125, p.500–504.
171. **VEGA-MEMIJE**, E., MARTINEZ-DE-LARIOS, N., WAXTEIN, LM., et al. Cytodiagnosis of cutaneous basal and squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol*, 2000, vol. 39, p.116–120.

172. **WAGNIERES**, GA., STAR, WM., WILSON, BC. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochem Photobiol*, 1998, vol. 68, p. 603–632.
173. **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.
174. **WALLING**, HW., FOSKO, SW., GERAMINEJAD, PA., et al. Aggressive basal cell carcinoma: presentation, pathogenesis, and management. *Cancer Metastasis Rev*, 2004, vol. 23, p. 389–402.
175. **WEEDON**, D. Squamous cell carcinoma. In Weedon, D. and Strutton, J., (Eds.): *Skin pathology*, Second Edition, Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002, p. 772–777.
176. **WELZEL**, J. Optical coherence tomography in dermatology: a review. *Skin Res Technol*, 2001, vol.7, p. 1–9.
177. **WELZEL**, J., LANKENAU, E., BIRNGRUBER, R., et al. Optical coherence tomography of the human skin. *J Am Acad Dermatol*, 1997, vol. 37, p. 958–963.
178. **WENNBERG**, AM., GUDMUNDSON, F., STENQUIST, B., et al. In vivo detection of basal cell carcinoma using imaging spectroscopy. *Acta Dermatol Venereol*, 1999, vol. 79, p. 54-61.
179. **WESTBROOK**, RH., GOYAL, N., GAWKRODGER, DJ. Diagnostic accuracy for skin cancer: comparison of general practitioner with dermatologist and dermatopathologist. *J Dermatolog Treat*, 2006, vol. 17, p. 57–58.
180. **WESTON**, A., FITZGERALD, P. Discrete choice experiment to derive willingness to pay for methyl aminolevulinate photodynamic therapy versus simple excision surgery in basal cell carcinoma. *Pharmacoeconomics*, 2004, vol. 22, p. 1195–1208.
181. **WHITED**, JD. and Hall, RP. Diagnostic accuracy and precision in assessing dermatologic disease: problem or promise? *Arch Dermatol*, 1997, vol. 133, p.1409–1415.
182. **WHITED**, JD., HALL, RP., SIMEL, DL., et al. Primary care clinicians' performance for detecting actinic keratoses and skin cancer. *Arch Intern Med*, 1997, vol.157, p.985–990.

183. **WHITED**, JD., HORNER, RD., HALL, RP., et al. The influence of history on interobserver agreement for diagnosing actinic keratoses and malignant skin lesions. *J Am Acad Dermatol*, 1995, vol. 33, p. 603–607.
184. **WILLIAMS**, LS., MANUSCO, AA. and MENDENHALL, WM. Perineural spread of cutaneous squamous and basal cell carcinoma. CT and MR detection and its impact on patient management and prognosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, vol. 49, p.1061–1609.
185. **WOODWARD**, RM., COLE, BE., WALLACE, VP., et al. Terahertz pulse imaging in reflection geometry of human skin cancer and skin tissue. *Phys Med*, 2002, vol. 47, p. 3853–3863.
186. **WOODWARD**, RM., WALLACE, VP., PYE, RJ., et al. Terahertz pulse imaging of ex vivo basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol*, 2003, vol. 120, p. 72–78.
187. **WONG**, CS., STRANGE, RC. and LEAR, JT. Basal cell carcinoma. *BMJ*, 2003, vol. 327, p.794–798.
188. **WORTSMAN**, XC., HOLM, EA., WULF, HC., et al. Real-time spatial compound ultrasound imaging of skin. *Skin Res Technol*, 2004, vol.10, p.23–31.
189. **YOUNG**, AR. Tanning devices-fast track to skin cancer? *Pigment Cell Res*, 2004, vol.17, p.2–9.
190. **ZALAUDEK**, I. Dermoscopy subpatterns of nonpigmented skin tumors. *Arch Dermatol*, 2005, vol.141, p. 532.
191. **ZALAUDEK**, I., ARGENZIANO, G., LEINWEBER, B., et al. Dermoscopy of Bowen's disease. *Br J Dermatol*, 2004, vol.150, p.1112–1116.
192. **ZALAUDEK**, I., ARGENZIANO, G., SOYER, HP., et al. Three-point checklist of dermoscopy: an open internet study. *Br J Dermatol*, 2006, vol. 154, p.431–437.

7 Poděkování

Poděkování patří mému školiteli za připomínky a cenné rady nejen při zpracování této dizertační práce. Dále děkuji své rodině, bez jejíž pomoci a podpory by tato práce nevznikla.