



**Ewelina Mazur**

**„Terapia fotodynamiczna i ocena jej skuteczności z wykorzystaniem nieinwazyjnych  
metod diagnostycznych w wybranych schorzeniach dermatologicznych”**

**Rozprawa na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,  
w dyscyplinie “nauki medyczne”**

Zakład i Klinika Dermatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Rzeszowski  
Szkola Doktorska, Uniwersytet Rzeszowski

**Promotor**

**Prof. dr hab. n. med. Adam Reich**

**Rzeszów 2025**

## **Spis treści**

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Wykaz stosowanych skrótów .....                                 | 2  |
| 2. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską.....           | 3  |
| 3. Zestawienie publikacji doktoranta.....                          | 4  |
| 4. Wstęp .....                                                     | 8  |
| 5. Cele pracy .....                                                | 10 |
| 6. Materiał i metody.....                                          | 11 |
| 7. Wyniki .....                                                    | 16 |
| 8. Wnioski.....                                                    | 19 |
| 9. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej ..... | 20 |
| 10. Streszczenie w języku polskim.....                             | 70 |
| 11. Streszczenie w języku angielskim .....                         | 73 |
| 12. Bibliografia.....                                              | 76 |
| 13. Oświadczenia współautorów .....                                | 79 |
| 14. Oświadczenie doktoranta.....                                   | 87 |
| 15. Zgoda Komisji Bioetycznej.....                                 | 88 |

## 1. Wykaz stosowanych skrótów

AK - rogowacenie słoneczne (*ang. actinic keratosis*)

BCC - rak podstawnkomórkowy skóry (*ang. basal cell carcinoma*)

EMPD - pozasutkowa postać choroby Pageta (*ang. extramammary Paget's disease - EMPD*)

FC - obszar rakowacenia (*ang. field cancerisation*)

LM - plama soczewicowata złośliwa (*ang. lentigo maligna*)

pAK - podtyp barwnikowy rogowacenia słonecznego (*ang. pigmented actinic keratosis*)

pBCC - podtyp barwnikowy raka podstawnkomórkowego skóry (*ang. pigmented basal cell carcinoma - pBCC*).

PDT - terapia fotodynamiczna (*ang. photodynamic therapy*)

RCM - refleksyjna mikroskopia konfokalna (*ang. reflectance confocal microscopy*)

SCC - rak płaskonabłonkowy (*ang. squamous cell carcinoma*)

## **2. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską**

1. Mazur E, Kijowski R, Reich A. Pozasutkowa choroba Pageta - możliwości zastosowania terapii fotodynamicznej. *Forum Dermatologicum*. 2021;7(2):50-55. doi: 10.5603/FD.a2021.0008. MNiSW 40 pkt.
2. Mazur E, Reich A. Terapia fotodynamiczna w leczeniu rogowacenia słonecznego. *Dermatologia po Dyplomie*. 2022; 1(13):10-15. MNiSW 5 pkt.
3. Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma-A Review. *Biomedicines*. 2023;11(11):3099. doi:10.3390/biomedicines11113099. MNiSW 100 pkt., IF=3.9.
4. Mazur E, Reich A. Photodynamic Therapy is an Effective Treatment of Facial Pigmented Actinic Keratosis. *Dermatol Ther (Heidelb)*.2023;13(6):1265-1276. doi:10.1007/s13555-023-00924-0. MNiSW 100 pkt., IF=3.5.
5. Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Reflectance Confocal Microscopy and Dermoscopy of Facial Pigmented and Non-Pigmented Actinic Keratosis Features before and after Photodynamic Therapy Treatment. *Cancers (Basel)*. 2023;15(23):5598. doi:10.3390/cancers15235598. MNiSW 200 pkt., IF=4.5.

### 3. Zestawienie publikacji doktoranta

| Rodzaj publikacji                      | Liczba    | Impact Factor | Punktacja MEiN |
|----------------------------------------|-----------|---------------|----------------|
| Prace włączone do rozprawy doktorskiej | 5         | 11.9          | 445            |
| Pozostałe prace pełnotekstowe          | 31        | 33.54         | 1135           |
| <b>Razem</b>                           | <b>36</b> | <b>45.44</b>  | <b>1580</b>    |

Liczba cytowań: 1033 (wg Google Scholar)

Lista prac, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej:

1. Alska E, Sysakiewicz M, Buda K, i wsp. Otyłość u osób starszych - mierniki, przyczyny. Zasady żywienia osób starszych. Journal of Health Sciences. 2014; 4(16): 146.
2. Ciesielska N, Sokołowski R, Mazur E, i wsp. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) test better suited than the Mini-Mental State Examination (MMSE) in mild cognitive impairment (MCI) detection among people aged over 60? Meta-analysis. Psychiatr Pol. 2016; 50(5): 1039-1052.
3. Sokołowska N, Sokołowski R, Polak-Szabela A i wsp. Porównanie skuteczności Montreal Cognitive Assessment 7.2 z Mini-Mental State Examination w

- wykrywaniu łagodnych zaburzeń neuropoznawczych u osób po 60 roku życia. Doniesienia wstępne. *Psychiatr Pol.* 2018; 52(5): 843–857.
4. Wiciński M, Leis K, Szyperski P i wsp. Impact of resveratrol on exercise performance: A review. *Sci Sport.* 2018; 33(4): 207-212.
  5. Leis K, Mazur E, Szyperski P i wsp. Carbamazepine - hematologic effects of the use. *Journal of Education, Health and Sport.* 2018; 8(8): 51-60.
  6. Liberski S, Marczak D, Mazur E i wsp. Systemic lupus erythematosus of the urinary tract: focus on lupus cystitis. *Reumatologia.* 2018; 56(4): 255–258.
  7. Sokołowska N, Kasperska P, Sokołowski R i wsp. Ocena postaw młodych dorosłych wobec osób w podeszłym wieku. *Gerontologia Polska.* 2018; 26: 239-245.
  8. Baska A, Kazik J, Bojczuk D i wsp. Cardiac amyloidosis: a review. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019; 9(3): 333-338.
  9. Leis K, Mazur E, Szyperski P i wsp. Metallo-Beta-Lactamases: NDM. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019; 9(6): 27-40.
  10. Leis K, Mazur E, Racinowski M i wsp. Effect of Mirabegron on the Body's Exercise Capacity: A Review. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2020; 20(9): 1448-1455.
  11. Leis K, Baska A, Bereźnicka W, i wsp. Resveratrol in the treatment of neuroblastoma: a review. *Rev Neurosci.* Published online September 14, 2020. doi:10.1515/revneuro-2020-0021.
  12. Leis K, Baska A, Mazur E, i wsp. Schisandrins impact on the efficiency of human body: A review. *Sci Sport,* 2020; 35(5): 271-278.
  13. Jabłońska M, Grzelakowska K, Wiśniewski B i wsp. Pridopidine in the treatment of Huntington's disease. *Rev Neurosci.* 2020; 31(4): 441-451.
  14. Leis K, Mazur E, Racinowski M i wsp. Delusional misidentification syndrome: dissociation between recognition and identification processes. *Acta Neuropsychol.* 2019; 17(4): 455-467.
  15. Leis K, Mazur E, Jabłońska MJ i wsp. Endocrine systems of the skin. *Postepy Dermatol Alergol.* 2019; 36(5): 519-523.
  16. Zastosowanie terapii fotodynamicznej w leczeniu pozasutkowej choroby Pageta - opis przypadku. *Forum Położnictwa i Ginekologii.* 2021; 5. ISSN: 2084-011X.

17. The Case of a Patient with Limited Systemic Sclerosis and Interstitial Lung Disease Overlapping with Systemic Lupus Erythematosus. *Dermato*. 2021; 1(2): 59-70. doi:10.3390/dermato1020009.
18. COVID-19 and postural control – a stabilographic study using rambling-trembling decomposition method. *Medicina (Kaunas)*. 2022; 58(2): 305. doi:10.3390/medicina58020305.
19. Quercetin as a supplement improving endurance exercise capacity – review. *Sci Sport*. 2022; 37(1): 2-9. doi:10.1016/j.scispo.2021.03.014.
20. Tick-borne lymphadenopathy – rickettsial skin infection with local lymphadenopathy and systemic symptoms following a tick bite. *Dermatol Rev/Przegl Dermatol*. 2021; 108: 414–421. doi:10.5114/dr.2021.113159.
21. Itraconazole as a new pharmacotherapy method in haemangiomas. *Postepy Dermatol Alergol*. 2021; 38(6): 1122-1123. doi:10.5114/ada.2021.112284.
22. Mazur E, Reich A. Pęcherzyca. *Wiadomości Dermatologiczne*. 2022; 26: 34-36. ISSN: 1895-7145.
23. YY1 Is a Key Player in Melanoma Immunotherapy/Targeted Treatment Resistance. *Front Oncol*. 2022; 12: 856963. doi:10.3389/fonc.2022.856963.
24. Gałązka P, Leis K, Mazur E, Czajkowski R. Correlation between the WT1 suppressor gene and skin lesions: an alternative diagnostic-differential factor. *Postepy Dermatol Alergol*. 2022; 39(4): 819-820. doi:10.5114/ada.2022.118928.
25. Leis K, Pisanko K, Jundziłł A, i wsp. Resveratrol as a factor preventing skin aging and affecting its regeneration. *Postepy Dermatol Alergol*. 2022; 39(3): 439-445. doi:10.5114/ada.2022.117547.
26. Mazur E, Kijowski R, Reich A. Rozlana melanoza. *Forum Dermatologicum*. 2023; 9 (1): 37–39. doi: 10.5603/FD.a2022.0024.
27. Mazur E, Reich A. Leki biologiczne w praktyce dermatologicznej. *Wiadomości Dermatologiczne*. 2023; 18: 15-18. ISSN: 1895-7145.
28. Korecka K, Kwiatkowska D, Mazur E, i wsp. An Update on Non-Invasive Skin Imaging Techniques in Actinic Keratosis-A Narrative Review. *Medicina (Kaunas)*. 2024; 60(7): 1043. doi:10.3390/medicina60071043.

29. Reich A., Mazur E., Maj J. Metotreksat w dermatologii. Wyd. 2. Warszawa, Polska: PZWL; 2024. ISBN 978-83-01-23580-2, doi:10.53271/wglsmet.2024.1.
30. Anderska A, Kaczmarska-Such A, Mazur E, Reich A. Porokeratoses-A Rare Group of Dermatoses. Medicina (Kaunas). 2024; 60(11): 1876. doi:10.3390/medicina60111876.
31. Pietkiewicz P, Stefaniak A, Giedziun P, i wsp. "One blade, two cuts?" A multidisciplinary survey investigating practice variability of scalpel blade change for simultaneous excision of multiple skin lesions in the same patient. Int J Dermatol. 2025; 64(2): 377-384.. doi:10.1111/ijd.17416.



## 4. Wstęp

Wraz ze starzeniem się populacji światowej, częstość występowania zmian przednowotworowych skóry, w tym rogowacenia słonecznego (*actinic keratosis* - AK) ulega znacznemu zwiększeniu [1]. Szacuje się, że AK dotyczy nawet 31% osób powyżej 60 roku życia (39% mężczyzn oraz 23% kobiet) przy czym częstość występowania wzrasta aż do 79% wśród osób powyżej 90 roku życia [2]. Zgodnie z najnowszymi doniesieniami, szacuje się, że wskaźnik zachorowalności na AK wynosi około 1928 na 100.000 osobolat, co wskazuje jak istotnym problemem zdrowia publicznego staje się ta jednostka chorobowa [3]. Uważa się, że AK jest jedną z najpowszechniejszych chorób dermatologicznych. Klinicznie objawia się jako szorstka, łuszcząca się grudka lub blaszka na rumieniowym podłożu, zwykle zlokalizowana w miejscach przewlekłe ekspozowanych na promieniowanie słoneczne. Wskaźnik progresji AK do raka płaskonabłonkowego (*squamous cell carcinoma* - SCC) jest obliczany jako 0,53% na zmianę/rok [4]. Ze względu na powszechne występowanie AK, a także możliwość progresji do inwazyjnej postaci SCC, AK wymaga leczenia niezależnie od stadium klinicznego. Nie należy też zapominać, że AK nie powinno być traktowane jako pojedyncza zmiana skórna, ale rozważane jako kontinuum procesu tzw. fotokancerogenezy. W procesie tym dochodzi do tworzenia obszarów rakowacenia (*field cancerization* - FC) charakteryzujących się obecnością zmian genetycznych (m.in. utrata ekspresji p53) na obrzeżach klinicznie widocznych ognisk AK i w obrębie obszarów subklinicznych w skórze przewlekłe uszkodzonej przez promieniowanie ultrafioletowe [4, 5].

AK diagnozowane jest głównie na podstawie obrazu klinicznego, cech dermatoskopowych, a także z wykorzystaniem nowych metod nieinwazyjnej diagnostyki obrazowej, takich jak refleksyjna mikroskopia konfokalna (*reflectance confocal microscopy* - RCM) czy optyczna tomografia koherentna. W wyjątkowych przypadkach, gdy diagnoza AK pozostaje niejasna, zmiana nie odpowiada na prowadzone leczenie lub gdy nie można wykluczyć transformacji do SCC, wykonywana jest biopsja diagnostyczna [6]. Na podstawie cech histologicznych można wyróżnić siedem różnych wariantów AK, a mianowicie przerostowy, zanikowy, bowenoidalny, akantolityczny, epidermolityczny, lichenoidalny i barwnikowy, z czego podtyp barwnikowy jest najrzadziej opisywany

w literaturze [7]. W pracy przeglądowej wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej dokonano przeglądu piśmiennictwa na temat patomechanizmu, klasyfikacji, diagnostyki i wykorzystania terapii fotodynamicznej (*photodynamic therapy - PDT*) w leczeniu AK [8]. PDT jest korzystną opcją leczenia AK, ponieważ jest formą terapii ukierunkowaną na leczenie nie tylko pojedynczych zmian skórnych, ale całego FC. Niszczy ona selektywnie chorą tkankę i charakteryzuje się wysoką skutecznością, a także dobrym efektem kosmetycznym [5]. W dostępnej literaturze sugerowano, że PDT może mieć ograniczoną wartość w leczeniu zmian barwnikowych. Melanina konkuruje z protoporfiryną IX pod względem absorpcji światła, zmniejszając reakcję fotochemiczną i pożądany efekt fotodynamiczny [9]. Jednakże żadne prowadzone dotychczas badania nie analizowały skuteczności PDT w różnych podtypach AK, w tym w podtypie barwnikowym. Nie ma również prac dotyczących poprawy cech dermatoskopowych czy w obrazie z mikroskopii konfokalnej po leczeniu z wykorzystaniem PDT w poszczególnych podtypach AK.

PDT, poza AK, wykorzystywana może być również w leczeniu raków podstawnokomórkowych (*basal cell carcinoma - BCC*) niskiego ryzyka [10, 11] a także chociażby w leczeniu pozasutkowej choroby Pageta (*extramammary Paget's disease - EMPD*) [12, 13].

Wspomniane powyżej prace poglądowe [8, 11] oraz opis przypadku [13] autorstwa doktorantki zostały przygotowane jako wstęp do prowadzenia dalszych badań.

## **5. Cele pracy**

Celem rozprawy doktorskiej były:

1. Ocena skuteczności terapii fotodynamicznej w leczeniu podtypu barwnikowego rogowacenia słonecznego.
2. Ocena zastosowania (wideo)dermatoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej w ocenie skuteczności prowadzonej terapii fotodynamicznej w klasycznym i barwnikowym podtypie rogowacenia słonecznego.

## 6. Materiał i metody

Niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o cykl pięciu powiązanych tematycznie publikacji pełnotekstowych poświęconych zastosowaniu terapii fotodynamicznej w leczeniu wybranych schorzeń dermatologicznych.

Prace przeglądowe wchodzące w skład rozprawy doktorskiej dotyczące leczenia z wykorzystaniem PDT w terapii rogowacenia słonecznego [8], podtypu barwnikowego BCC (*pigmented basal cell carcinoma - pBCC*) [11] oraz EMPD [13] należy rozważać jako wstęp do prowadzenia dalszych badań.

Wszyscy uczestnicy badań wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu. Wszystkie badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego (Uchwała nr 6/11/2020, datowana 19 listopada 2020).

### 6.1 Ocena skuteczności terapii fotodynamicznej w leczeniu pAK

Do pierwszej pracy badawczej [14] włączono 16 pacjentów (13 kobiet, 3 mężczyzn) z łącznie 20 zmianami o typie barwnikowego AK (*pigmented actinic keratosis - pAK*) zlokalizowanymi na twarzy. Średni wiek ( $\pm$  odchylenie standardowe) pacjentów wynosił  $74,75 \pm 8,89$  lat. Pacjenci z pAK zostali zdiagnozowani za pomocą badania wideodermatoskopowego (*videodermoscopy - VD*). Aby potwierdzić rozpoznanie i wykluczyć możliwość złośliwej proliferacji, każda zmiana była dodatkowo oceniana za pomocą RCM. Do badania włączono tylko pacjentów z jednoznacznymi zmianami (z cechami typowymi dla pAK) zarówno w ocenie VD, jak i RCM. Zmiany nie mogły wykazywać żadnych cech typowych dla złośliwej plamy soczewicowatej (*lentigo maligna - LM*) w RCM. Zmiany skórne oceniano klinicznie zgodnie z kryteriami Olsena z 1991 roku [15], za pomocą wideodermatoskopu (Canfield D200EVO; Canfield Scientific GmbH, Bielefeld, Niemcy) i RCM (VivaScope 1500/3000; MAVIG GmbH, Monachium, Niemcy) przed (dzień 0) i 1 miesiąc po (dzień 112) trzech kolejnych sesjach PDT.

### **6.1.1. Badanie VD**

Badanie dermatoskopowe składało się z „suchej dermatoskopii” (bez płynu immersyjnego); następnie wykonano „mokrą dermatoskopię” (z żelem do USG). Oceniano obecność i częstość występowania określonych kryteriów dermatoskopowych pAK, w tym: szarych kropek/grudek/ziarnistości, brązowych obszarów bezstrukturalnych, szaro-brązowej pseudosiatki barwnikowej, postrzępionego brzegu zmiany, białych obszarów bezstrukturalnych, wzorca obrączkowato-ziarnistego, siatki barwnika, białych kół, brązowych kół, asymetrycznie wybarwionych ujść mieszków włosowych, hiperpigmentowanej obwódki ujść mieszków włosowych, kropek w linii, tzw. „jelly sign”, powierzchniowej porozrywanej siatki barwnika, czerwonej pseudosiatki barwnikowej, czarnych plam, struktur typu linie papilarne, naczyń w kształcie kropek, szarawych obszarów, wzoru „romboidalnego”, „gwiazdzistego” wyglądu na obrzeżach zmiany, łuski i strupa, tzw. „rozety”, podwójnych białych grudek, tzw. „rogu dermatoskopowego,” okręgu w okręgu, wzoru targetoidalnego, tzw. objawu „truskawki”, ostrego rozgraniczenia, pseudozaskórników, pseudocyst rogowych i żółtych nieprzezroczystych obszarów homogennych [16, 17, 18].

### **6.1.2 Badanie RCM**

Badanie RCM wykonano przy pomocy lasera diodowego o długości wiązki 830 nm. Dla każdej zmiany uzyskano co najmniej trzy mozaiki, odpowiednio na poziomie powierzchniowej warstwy naskórka, połączenia skórno-naskórkowego i warstwy brodawkowatej skóry właściwej; każda mozaika składała się z 16×16 obrazów o wymiarach 500×500 µm. Końcówka 3000 urządzenia używana była w przypadku zmian zlokalizowanych w obszarach, w których użycie końcówki 1500 było technicznie trudne lub niemożliwe do wykonania; w takim przypadku uzyskiwano co najmniej pięć vivastacków z około 25-30 obrazami 750×750 µm.

#### **6.1.2.1 RCM cechy pAK**

Oceniano obecność cech typowych dla pAK, takich jak łuska, zaburzenia/pojedyncze komórki, parakeratoza, pseudocysty rogowe, tzw. “keratin filled invaginations”, atypowe keratynocyty, nieuporządkowany wzór budowy naskórka, tzw. “mottled pigmentation”, komórki targetoidalne, śródnaskórkowe komórki dendrytyczne, tzw. “ringed areas”/małe i jasne brodawki/gęsto upakowane brodawki, policykliczne kontury brodawek, sznury, tzw. “plump bright cells”, skręcone wiązki kolagenu, grube wiązki kolagenu, zwinięte włókna, naczynia przechodzące przez brodawki skórne (tzw. „bottom-hole”) i naczynia linijne [19, 20]. Zgodnie z zaleceniami zaproponowanymi w 2022 roku przez panel ekspertów dotyczący wielodyscyplinarnego postępowania w przypadku raka kolczystokomórkowego skóry, RCM może być stosowany u wybranych pacjentów w diagnostyce różnicowej złożonych zmian, szczególnie w okolicy głowy i szyi [21]. W pracach badawczych włączonych do cyklu, RCM zastosowano w celu wykluczenia rozpoznania LM i oceny atypii keratynocytów.

#### **6.1.2.2 RCM wykluczenie procesu złośliwego**

Aby wykluczyć LM, w pracy zastosowano kryteria RCM zawarte w algorytmie diagnostycznym lentigo maligna zaproponowanym przez Guitera i wsp. [22]. Ocenialiśmy obecność następujących cech: tzw. “non-edged papillae”, okrągłe komórki pagetoidalne  $>20\text{ }\mu\text{m}$ ,  $\geq 3$  atypowe komórki na połączeniu skórno-naskórkowym w pięciu polach  $0,5\times 0,5\text{ mm}^2$ , lokalizacja okołomieszkowa komórek pagetoidalnych i/lub atypowych komórek łączących, komórki jądrzaste w obrębie brodawek skórnych i poszerzony tzw. wzór “plastra miodu” [22].

#### **6.1.2.3 RCM określenie atypii keratynocytów i schemat leczenia**

Aby sklasyfikować obrazy RCM w celu określenia atypii keratynocytów, wykorzystano klasyfikację Seyeda Jafariego i wsp. [23]. Krem 5-ALA 10% (Foto-Dermal® HCl; MagnaPharma, Łódź, Polska) nakładano na zmiany skórne, które wcześniej

odtłuszczono 70% etanolem i odwarstwiono (zmiany hiperkeratotyczne). Następnie nakładano folię i zabezpieczano opatrunkiem osłaniającym przed światłem. Po 180-minutowym okresie inkubacji, opatrunki usuwano, pozostałości preparatu zmywano łagodnym mydłem i wodą, a zmiany naświetlano trybem pulsacyjnym czerwonym światłem 630 nm (Treviolum; MEDlight GmbH, Herford, Niemcy). Każdy pacjent miał wykonane trzy zabiegi PDT w odstępach 4 tygodni. Całkowita dawka światła po trzech sesjach PDT wynosiła 111 J/cm<sup>2</sup> dla każdej zmiany. Pacjenci zostali poinformowani o schemacie postępowania po PDT i unikaniu długotrwałego nasłonecznienia przez 48 godzin po zabiegu. Aby przyspieszyć gojenie i zmniejszyć podrażnienie, zalecono stosowanie kosmetyków zawierających d-pantenol i tlenek cynku.

## **6.2 Ocena zastosowania VD i RCM w ocenie skuteczności prowadzonej terapii fotodynamicznej w AK i pAK**

Do drugiego badania [24] włączono 52 pacjentów (34 kobiety, 18 mężczyzn) z fototypem II w skali Fitzpatricka, u których leczono łącznie 300 AK (25 pAK, 275 AK). Średni ( $\pm$  odchylenie standardowe) wiek pacjentów wynosił 73,61 $\pm$ 10,91 lat. Pacjenci prezentowali AK na twarzy w stopniu II i byli diagnozowani, i oceniani na podstawie typowych cech zarówno w badaniu VD, jak i RCM. Oceny dokonywano przed (dzień 0) i 3 miesiące po (dzień 112) jednym zabiegu PDT. Spośród 300 zmian na twarzy, 45,7% było zlokalizowanych na czole, 33% na policzkach, 17,6% na nosie i 3,7% w okolicy okołoooczodołowej.

### **6.2.1. Badanie VD**

Oceniono obecność i częstość występowania określonych kryteriów dermatoskopowych AK w dniu 0 i w dniu 112 (trzy miesiące) po sesji PDT. W przypadku pAK oceniano takie same cechy, jak w badaniu pierwszym [14].

W przypadku klasycznych zmian AK, oceniano cechy takie, jak czerwona pseudosiatka, powierzchowna porozrywana siatka, naczynia w kształcie kropek, „gwiazdzisty” wygląd na obrzeżach zmiany, romboidalny wzór, łuska i strup, podwójne

białe grudki, tzw. “rozety”, tzw. objaw “truskawki”, białe grudki bezstrukturalne, białe grudki, mikroerozje, drobne faliste naczynia, białe i szerokie otwory ujść mieszków włosowych.

### **6.2.2 Badanie RCM i schemat leczenia**

Badania RCM przeprowadzono zgodnie z protokołem opisanym w badaniu pierwszym [14].

Kryteria RCM, które zostały zanalizowane we wszystkich AK, obejmowały następujące cechy: zaburzenia/pojedyncze komórki/ odczepione keratynocyty, ciemne centralne obszary parakeratozy, pseudocysty rogowe, tzw. “keratin filled invaginations”, atypowe keratynocyty, naskórkowe i skórne nacieki zapalne, nieuporządkowany wzór/utrata prawidłowej budowy naskórka, tzw. “mottled pigmentation”, polaryzacja jąder warstwy kolczystej, komórki targetoidalne, śródnaskórkowe komórki dendrytyczne, tzw. “ringed areas”/małe i jasne brodawki/gęsto upakowane brodawki, policykliczne kontury brodawek, sznury, tzw. “plump bright cells”, skręcone wiązki kolagenu, grube wiązki kolagenu, zwinięte włókna, naczynia przechodzące przez brodawki skórne (tzw. „bottom-hole”), elastoza posłoneczna, zwiększone unaczynienie i naczynia linijne.

Wszystkie oceny przeprowadzono przed (dzień 0) i 3 miesiące po (dzień 112) pojedynczym zabiegu PDT. Zmieniona chorobowo skóra została uprzednio odtłuszczona 70% etanolem i delikatnie odwarstwiona łyżeczką dermatologiczną. Następnie stosowano 10% żel 5-ALA (Ameluz, Biofrontera, Inc., Wakefield, MA, USA), nakładano folię i zabezpieczano opatrunkiem osłaniającym przed światłem. Po 180-minutowym okresie inkubacji, opatrunki usuwano, pozostałości preparatu zmywano łagodnym mydłem i wodą, a zmiany naświetlano trybem pulsacyjnym czerwonym światłem 630 nm. Każdy pacjent miał wykonany jeden zabieg PDT z całkowitą dawką światła równą 37 J/cm<sup>2</sup> dla każdej zmiany.



## 7. Wyniki

### 7.1 Ocena skuteczności terapii fotodynamicznej w leczeniu pAK

W badaniu poświęconym pAK [14] oceniając zmiany klinicznie z 20 zmian włączonych do badania, 19 sklasyfikowano jako stopień 1 w skali Olsena (95%), a jedną zmianę jako stopień 2 w skali Olsena (5%). Po trzech sesjach PDT zaobserwowano całkowite ustąpienie jakichkolwiek klinicznych cech pAK w 80% badanych zmian; pozostałe 20% ognisk chorobowych prezentowało się jako płaskie plamki bez złuszczenia, chociaż nadal były one łatwo wyczuwalne palpacyjnie. Wszystkie oceniane zmiany skórne wykazywały typowe cechy pAK w badaniu dermatoskopowym przed PDT. W badanej populacji najczęstszymi cechami pAK były: wzór romboidalny (80%), łuska (60%), obecność białych globul (50%), tzw. “jelly sign” z powierzchnią pigmentacją (40%), wewnętrzna szara obwódka (35%) i białe koła (30%). Badanie dermatoskopowe wykazało całkowite ustąpienie wszystkich ocenianych cech po trzech sesjach PDT w 65% zmian. Ponadto, takie cechy jak obecność białych globul ustąpiły w prawie połowie zmian (5/11), podczas gdy wzorec obrączkowato-ziarnisty ustąpił w jednej trzeciej zmian (3/9). Wszystkie zmiany (100%) wykazywały różny stopień atypii keratynocytów przed PDT, najczęściej w stopniu 2 (85%) (umiarkowana utrata wzoru “plastra miodu”, z kilkoma zmianami w morfologii keratynocytów i różnymi rozmiarami komórek, obszary z niewyraźnymi granicami komórek), oraz 3 (10% przypadków) (utrata wzoru “plastra miodu”, ciężka atypia komórkowa i utrata morfologii keratynocytów). Najrzadziej (5%) obserwowano atypię w stopniu 1 (minimalne zmiany we wzorze “plastra miodu”, sporadyczne zmiany w morfologii keratynocytów i większość keratynocytów z łatwo wykrywanymi granicami). Po trzech sesjach PDT, zanik atypii komórkowej w badaniu RCM został osiągnięty w 85% zmian ( $n = 17$ ). Tylko trzy zmiany (15%) nadal wykazywały pewną atypię keratynocytów, z minimalnymi zmianami we wzorze “plastra miodu”. Tym samym badanie RCM okazało się najskuteczniejsze w wykrywaniu subklinicznych zmian o typie AK.

## **7.2 Ocena zastosowania VD i RCM w ocenie skuteczności prowadzonej terapii fotodynamicznej w AK i pAK**

W badaniu porównującym częstość występowanie specyficznych cech dermatoskopowych i RCM klasycznego podtypu AK i pAK [24] wszyscy pacjenci odnieśli korzyści z terapii PDT. W grupie z klasycznym AK, jak również w grupie pAK, 76% i 24% wszystkich pacjentów osiągnęło odpowiednio stopień I i 0, zgodnie z kryteriami Olsena. W klasycznym AK najczęstszymi objawami dermatoskopowymi były drobne, faliste naczynia (96,4%), łuska (92%), objaw „rozety” (63,6%), mikroerozje (48%), wzór „truskawki” (36,4%), białe grudki bez struktury (36%) i białe globule (31,6%). Tzw. „jelly sign”, wzór „romboidalny” i „gwiazdzisty” wygląd na obrzeżach zmiany obserwowano rzadziej, odpowiednio w 12,4%, 8% i 7,6% przypadków. Trzy miesiące po jednej sesji PDT, dermatoskopowo obserwowano głównie drobne faliste naczynia (87,6%), łuskę (51,6%), objaw „rozety” (27,6%) i wzór „truskawki” (16%). Liczba zmian z mikroerozjami, białymi grudkami bez struktury i białymi globulami zmniejszyła się (odpowiednio o 44,4%, 32% i 23,2%), podczas gdy tzw. „jelly sign”, wzór „romboidalny” i „gwiazdzisty” wygląd na obrzeżach zmiany całkowicie ustąpiły. W pAK najczęstszymi objawami dermatoskopowymi były wzór „romboidalny” (80%), łuska (60%), białe globule (48%), tzw. „jelly sign” i powierzchowna pigmentacja (40%), wewnętrzna szara obwódka (36%) oraz wzorec obrączkowato-ziarnisty (32%), podczas gdy białe koła, tzw. objaw „rozety”, podwójne białe globule, struktury typu linie papilarne, centralny strup i szarawe obszary nie były tak często obserwowane (odpowiednio w 28%, 24%, 20%, 16%, 5% i 4% zmian). Trzy miesiące po jednej sesji PDT zmiany chorobowe wykazywały głównie białe globule (24%) i wzorec obrączkowato-ziarnisty (20%). Liczba zmian z łuską, tzw. „jelly sign” i powierzchowną pigmentacją, białymi kołami, podwójnymi białymi grudkami i strukturami typu linie papilarne zmniejszyła się (odpowiednio o 56%, 36%, 24%, 16% i 12%), podczas gdy wzór „romboidalny”, wewnętrzna szara obwódka, tzw. objaw „rozety” i centralny strup całkowicie ustąpiły. W klasycznej AK najczęściej obserwowanymi cechami w RCM były: nieprawidłowy wzór „plastra miodu” w warstwie kolczystej (96%), a także naciek zapalny w naskórku i elastoza posłoneczna, które były obecne w 95,6% zmian, podczas gdy ciemne centralne obszary parakeratozy, nieuporządkowana warstwa

kolczysta, zwiększone unaczynienie i naciek zapalny skóry właściwej były obserwowane rzadziej, a mianowicie odpowiednio w 92%, 87,6%, 39,6% i 35,6% zmian. Trzy miesiące po jednym zabiegu PDT zmiany chorobowe charakteryzowały się głównie elastozą posłoneczną (92%), naciekiem zapalnym naskórka (40%) i ciemnymi centralnymi obszarami parakeratozy (28,4%). Liczba zmian z nieprawidłowym wzorem “plastra miodu” w warstwie kolczystej, nieuporządkowaną warstwą kolczystą, skórnym naciekiem zapalnym i zwiększonym unaczynieniem zmniejszyła się (odpowiednio o 72,4%, 68%, 31,2% i 27,6%), podczas gdy oderwane korneocyty, komórki dendrytyczne i okrągłe komórki jądrzaste w warstwie kolczystej całkowicie ustąpiły. W pAK najczęściej obserwowanymi cechami w RCM były ciemne centralne obszary parakeratozy (72%), tzw. “mottled pigmentation” (72%), naciek zapalny skóry właściwej (64%), elastoza posłoneczna (60%) i nieprawidłowy wzór “plastra miodu” w warstwie kolczystej (56%). Z kolei nieuporządkowana warstwa kolczysta, naskórkowy naciek zapalny, polaryzacja jądrowa warstwy kolczystej, oderwane korneocyty i policykliczne kontury brodawek skórnych były obserwowane rzadziej – odpowiednio w 40%, 40%, 36%, 32% i 32% przypadków. Trzy miesiące po jednym zabiegu PDT zmiany chorobowe charakteryzowały się głównie elastozą posłoneczną (52%), naciekiem zapalnym skóry właściwej (32%), zwiększonym unaczynieniem (32%) i tzw. “plump, bright cells” (32%). Liczba zmian charakteryzujących się tzw. “mottled pigmentation”, ciemnymi centralnymi obszarami parakeratozy, nieprawidłowym wzorem “plastra miodu” w warstwie kolczystej, komórkami dendrytycznymi i polaryzacją jądrową warstwy kolczystej zmniejszyła się (odpowiednio o 56%, 44%, 36%, 32% i 32%), podczas gdy utrata wzoru “plastra miodu” nie była już obserwowana w żadnej ze zmian. Jediną cechą, której częstość występowania nieznacznie wzrosła trzy miesiące po PDT, była obecność tzw. “plump bright cells”(z 28% do 32%).

Warto zaznaczyć, że zarówno obecność tzw. białych globul czy wzorca obrączkowato-ziarnistego w dermatoskopii, jak i niewielkiego nacieku zapalnego skóry właściwej, zwiększonego unaczynienia i tzw. “plump, bright cells” w RCM są wyrazem prowadzonego leczenia z wykorzystaniem PDT i nie należy traktować ich jako patologii i wyrazu nieskuteczności prowadzonej terapii. Podobnie elastoza posłoneczna jest procesem utrwalonym i nie należy oczekiwać jej wycofywania się w trakcie prowadzonego leczenia.

## 8. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonej analizy wysnuto następujące wnioski:

1. Terapia fotodynamiczna wydaje się być skuteczną metodą leczenia podtypu barwnikowego rogowacenia słonecznego na twarzy u osób o jasnej karnacji. Hipoteza ta wymaga jednak potwierdzenia na większej populacji badanej, najlepiej z grupą kontrolną.
2. Zastosowanie nowych nieinwazyjnych technik obrazowania, takich jak refleksyjna mikroskopia konfokalna i wideodermatoskopia, pozwala lepiej uwidocznć skuteczność prowadzonego leczenia rogowacenia słonecznego zarówno w jego pigmentowanych, jak i bezbarwnikowych podtypach. Co więcej, skuteczność terapii fotodynamicznej w podtypie barwnikowym rogowacenia słonecznego wydaje się być nie gorsza od podtypu klasycznego. Ograniczenia badania obejmują prowadzenie badań tylko u pacjentów rasy kaukaskiej (fototyp Fitzpatricka II) i jednośrodkowy charakter projektu.

## 9. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej

10

TEMAT NUMERU

# Zastosowanie terapii fotodynamicznej w leczeniu rogowacenia słonecznego

- Obraz kliniczny, klasyfikacja i diagnostyka rógowacenia słonecznego (AK)
- Schematy terapeutyczne stosowane w leczeniu AK
- Terapia fotodynamiczna jako leczenie pierwszego rzutu w przypadku zmian I, II stopnia i z tzw. polem rakowacenia



lek.  
Ewelina Mazur



prof. dr hab. n. med.  
Adam Reich

Zakład i Klinika Dermatologii, Uniwersytet Rzeszowski

kontakt@medical-tribune.pl

www.podyplomie.pl/dermatologiapodyplomie • styczeń 2022

## TEMAT NUMERU

**R**ogowacenie słoneczne (AK – actinic keratosis) jest jedną z najczęstszych chorób dermatologicznych, powodowaną przez nadmierną i przewlekłą ekspozycję na promieniowanie ultrafioletowe. Najczęściej (w ok. 75% przypadków) zmiany pojawiają się na fotouszkodzonej skórze, głównie twarzy, głowy, szyi oraz grzbietowych części rąk i przedramion<sup>1</sup>. Według Memona i wsp. AK dotyka w Europie ok. 34% mężczyzn i 18% kobiet w wieku powyżej 70 lat<sup>2</sup>. Chorobę tę stwierdza się coraz częściej z powodu starzenia się światowej populacji<sup>3</sup>.

### Patomechanizm

Promieniowanie UVB (290-320 nm) może powodować tworzenie się dimerów cyklobutanopirymidyny oraz fotoproduktów 6,4-pyrimidyno-pyrimidonu i prowadzić do bezpośredniego uszkodzenia DNA<sup>4,5</sup>. W efekcie dochodzi do zahamowania funkcji białek supresorowych takich jak p53 i do klonalnej ekspansji keratynocytów, co prowadzi do AK<sup>6</sup>. Poprzez indukcję białka p53 keratynocyty stymulują produkcję związku zwanego proopiomelanokortyną, która przekształca się w hormon odpowiedzialny za aktywację melanocytów, co skutkuje syntezą eumelaniny, powodując ciemniejsze zabarwienie skóry<sup>7</sup>. Wydaje się, że rozregulowanie szlaku p53 odgrywa najważniejszą rolę w rozwoju AK, a także raka kolczystokomórkowego (SCC – squamous cell carcinoma)<sup>8</sup>. Z kolei absorpcja promieniowania UVA (320-400 nm) przez chromofory skóry skutkuje wytwarzaniem reaktywnych form tlenu, które utleniają reszty guaniny w DNA, powodując ich mutagenność<sup>9,10</sup>.

Niektóre badania sugerują, że infekcje wirusami brodawczaka ludzkiego działają jako kofaktory rozwoju AK<sup>11</sup>, zwłaszcza w połączeniu ze zmianami DNA wywołanymi promieniowaniem UV<sup>11,12</sup>. Postuluje się, że dzieje się to poprzez zwiększenie ekspresji wirusowych onkoprotein E6 i E7 w zakażonych keratynocytach<sup>14</sup>.

### Diagnostyka

Większość ognisk AK rozpoznaje się na podstawie badania klinicznego i oceny czynników ryzyka. Ogniska AK zazwyczaj występują pod postacią szorstkich łuszczących się plam, blaszek lub grudek na rumieniowym podłożu w miejscu wykazującym oznaki przewlekłego uszkodzenia słonecznego. Zmiany nie przekraczają zwykle 1 cm i przy badaniu palpacyjnym mają teksturę przypominającą papier ścierny<sup>13,16</sup>.

Biopsję skóry należy wykonać, jeśli występuje co najmniej jedna z następujących cech klinicznych (sugerujących SCC lub inne rodzaje raka skóry): naciek, stwardnienie, owrzodzenie, hiperpigmentacja, szybkie powiększanie się i ból<sup>16</sup>. Procedurę tę można rozważyć, jeśli w dermoskopii widoczne są atypowe struktury naczyniowe, takie jak naczynia kłębuszkowate/kropkowane/polimorficzne lub o typie spiniki do włosów i/lub struktury przypominające białe koła bądź białe homogenne obszary<sup>17</sup>. Biopsje są również wymagane u pacjentów, u których nie można uzyskać remisji zmian. W diagnostyce AK wykorzystuje się także nowe techniki obrazowania, takie jak mikroskopia konfokalna czy optyczna tomografia koherentna<sup>18,19</sup>.

### Klasyfikacja

Zmiany AK można klinicznie ocenić na podstawie ich grubości za pomocą klasyfikacji Olsen. Zmiany I stopnia są słabo wyczuwalne, II stopnia – umiarkowanie grube, a III stopnia – bardzo grube i hiperkeratotyczne<sup>20</sup>. Ta klasyfikacja została zaproponowana, aby zapewnić lepszą charakterystykę choroby i rozróżnienie podtypów morfologicznych. Jednak badania, które przeprowadzili Schmitz i wsp., wykazało, że kliniczna klasyfikacja zmian chorobowych za pomocą tego systemu nie koreluje z wynikiem badania histologicznego<sup>21</sup>.

Do oceny nasilenia zmian w przebiegu AK w obrębie głowy stosuje się również skalę AKASI (Actinic Keratosis Area and Severity Index)<sup>22</sup>. Wytyczne International League of Dermatological Societies/European Dermatology Forum dotyczące rogowacenia słonecznego klasyfikują pacjentów pod kątem liczby ognisk AK na obszar lub na region ciała. Klasyfikacja służy do wyboru leczenia. Pacjenci z pojedynczymi zmianami mają od  $\geq 1$  do  $\leq 5$  wyczuwalnych lub widocznych ognisk AK, a ze zmianami mnogimi  $\geq 6$ . Z kolei osoby z obszarem zagrożenia nowotworowego (FC – field cancerization) także mają  $\geq 6$  rozpoznawalnych zmian AK, ale w tym wypadku obserwuje się ponadto przyległe do zmian obszary przewlekłego popromiennego uszkodzenia słonecznego i hiperkeratozy<sup>18</sup>. AK może ulec progresji do nieczerniakowych nowotworów skóry, przede wszystkim SCC<sup>23</sup>. Ryzyko transformacji złośliwej waha się w granicach 0,025-16%<sup>24</sup> i rośnie proporcjonalnie do liczby występujących u pacjenta zmian skórnych (6-20 ognisk AK zwiększa to ryzyko 4-krotnie, a  $>20$  – 11-krotnie)<sup>25</sup>. Nie istnieje żadne użyteczne narzędzie pomocne w przewidywaniu, która zmiana przekształci się w inwazyjnego SCC. Z tego powodu uważa się, że już samo postawienie diagnozy AK obliuguje do podjęcia leczenia<sup>26</sup>.

### Leczenie

Wyróżnia się dwie strategię terapeutyczne: leczenie skierowane na zmianę i leczenie skierowane na obszar zagrożenia nowotworowego. Niektórzy autorzy dzielą drugą z tych strategii w zależności od wielkości obszaru zabiegowego na leczenie skierowane na klaster małego ( $\leq 25$  cm<sup>2</sup>) i dużego ( $>25$  cm<sup>2</sup>) pola<sup>27</sup>. Wszystkie dostępne obecnie schematy leczenia zostały podsumowane w tabelach 1, 2 i 3<sup>27-29</sup>.

### Terapia fotodynamiczna w leczeniu AK

Terapia fotodynamiczna (PDT – photodynamic therapy) jest leczeniem skierowanym na obszar zagrożenia nowotworowego. Bazuje na interakcji pomiędzy fotouczulaczem (kwasem 5-aminolewulinowym [ALA – aminolevulinic acid] lub jego estrem – aminolewulinianem metylu [MAL – methyl aminolevulinat]), odpowiednią długością światła oraz tlenem<sup>30</sup>. Powierzchniowo nałożony ALA lub MAL z łatwością przenika przez warstwę rogową naskórka i omija wewnątrzkomórkowe ograniczenia na drodze syntezy hemu, jest absorbowany przez dysplastyczne komórki i konwertowany do protoporfiryny IX, endogenego fotouczulacza. Ekspozycja na światło widzialne powoduje (przy udziale licznych prostaglandyn i cytokin) transformację tlenu do jego formy singletowej i w efekcie destrukcję dysplastycznych komórek<sup>31</sup>.



Tabela 1. Leczenie rogowacenia słonecznego skierowane na zmianę (za: Piquero-Casals i wsp.<sup>37</sup> oraz Gutierrez i wsp.<sup>38</sup>, z modyfikacjami)

| Leczenie skierowane na zmianę | Schemat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Czas terapii     | Skuteczność                                              | Działania niepożądane                              | Poziom wiarygodności danych      | Wskazówki dla praktyki klinicznej                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kriochirurgia                 | Jeden lub dwa cykle mrożenie-rozmrażanie przy użyciu płynnego azotu (-196°C)<br><br>Działanie zimna celowane na zmiany przez 15-60 s (bleaching)<br><br>Technika natryskowa lub kontaktowa (cryostamp, cryoprobe)<br><br>tytułowanie i/lub elektrokoagulacja<br><br>Ablacja płaska (shave excision)<br><br>Usunięcie w całości | Sekundy do minut | Wskaźniki wygojenia zmian: 41,9-88,0%<br>●●/●●●●         | Ból<br>Zaczernienie<br>Pęcherze<br>Hipopigmentacja | 2 (pacjenci immunokompetentni)   | U pacjentów z grup ryzyka po zakończonej terapii można rozważyć stosowanie retinolu, acyklowiru 25 mg/dzień (w wybranych przypadkach, np. wśród pacjentów po przeszczepieniach) lub nikotynamidu 500 mg 2 x dziennie |
| Techniki operacyjne           | tytułowanie i/lub elektrokoagulacja<br><br>Ablacja płaska (shave excision)<br><br>Usunięcie w całości                                                                                                                                                                                                                          | 5-20 minut       | Wskaźniki wygojenia zmian: brak danych<br>●●●●           | Ból<br>Krwawienie<br>Bliznowacenie                 | Konsensus ekspertów              | Jak wyżej                                                                                                                                                                                                            |
| Techniki laserowe             | Ablacyjne techniki laserowe (np. laser CO <sub>2</sub> , Er:YAG)<br><br>Nieablacyjne techniki laserowe (np. Nd:YAG, laser frakcyjny 1540 nm)                                                                                                                                                                                   | Sekundy do minut | Wskaźniki wygojenia zmian: 72,4-91,1%<br>●●/●●●●<br>●●●● | Ból<br>Rumień<br>Nadżerki<br>Dyspigmentacja        | 2-3 (pacjenci immunokompetentni) | Jak wyżej                                                                                                                                                                                                            |

● – niezbyt skuteczne, ●● – średnio skuteczne, ●●● – skuteczne, ●●●● – bardzo skuteczne; \* – skuteczność oceniana w randomizowanych badaniach kontrolnych, \*\* – skuteczność oceniana na podstawie opinii ekspertów; poziom 1 – przegląd systematyczny, metaanaliza randomizowanych badań kontrolnych, oparte na dowodach wyższej praktyki klinicznej, poziom 2 – dwa lub więcej randomizowanych badań kontrolnych, poziom 3 – kontrolowane badania kliniczne (bez randomizacji)

Tabela 2. Leczenie rogowacenia słonecznego skierowane na obszar zagrożenia nowotworowego (za: Piquero-Casals i wsp.<sup>37</sup> oraz Gutierrez i wsp.<sup>38</sup>, z modyfikacjami)

| Leczenie                                         | Mechanizm działania         | Schemat terapii                                                  | Skuteczność                                       | Działania niepożądane                                     | Poziom wiarygodności danych                                     | Wskazówki dla praktyki klinicznej                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Diklerfenak sodowy 3%, kwas hialuronowy 2,5% żel | Inhibitor cyklooksygenazy 2 | 2 x dziennie przez 60-90 dni<br>Maks. 8 g/dzień                  | Wskaźniki wygojenia zmian: 51,8-81,0%<br>●●       | Rumień<br>Alergia kontaktowa (rzadko)                     | 1 (pacjenci immunokompetentni)<br>3 (pacjenci z immunosupresją) | -                                                                                                                                                                    |
| 5-fluorouracyl (FU) 5% krem                      | Środek cytostaticzny        | 2 x dziennie przez maks. 4 tygodnie<br>Maks. 500 cm <sup>2</sup> | Wskaźniki wygojenia zmian: 47,0-94,0%<br>●●●/●●●● | Reakcje zapalne (rumień, nadżerki, strupy, przebarwienia) | 1 (pacjenci immunokompetentni)                                  | 5% FU może być używany w chemoprewencji SCC. Należy go podawać 2 x dziennie przez 30 dni u pacjentów z grup ryzyka rozwoju SCC. Kurację można powtarzać 2-3 x w roku |

Tabela 2 (cd.). Leczenie ropowiscia słońcowego skierowane na obszar zagrożenia nowotworowego (za: Piquero-Casals i wsp.<sup>27</sup> oraz Gutierrez i wsp.<sup>28</sup>, z modyfikacjami)

| Leczenie                                              | Mechanizm działania                    | Schemat terapii                                                                                                                                                                                                                          | Skuteczność                                                 | Działania niepożądane                                                                 | Poziom wiarygodności danych                                     | Wskazówki dla praktyki klinicznej                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5-fluorouracyl 0,5% z 10% kwasem salicylowym, roztwór | Środek cytostaticzny i keratolityczny  | 1 × dziennie przez 6-12 tygodni<br>Maks. 25 cm <sup>2</sup>                                                                                                                                                                              | Wskaźniki<br>wygojenia<br>zmian:<br>39,4-98,7%<br>●●●       | Reakcje zapalne<br>(rumień,<br>nadżerki,<br>strupy,<br>przebarwienia)                 | 2 (pacjenci immunokompetentni)                                  | Jak wyżej                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Inikwimod 3,75% krem                                  | Agonista receptora toll-podobnego 7    | 1 × dziennie przez 2 tygodnie, następnie przez 2 tygodnie (terapia interwałowa)<br>Maks. 25-200 cm <sup>2</sup>                                                                                                                          | Wskaźniki<br>wygojenia<br>zmian:<br>34,0-81,8%<br>●●●       | Reakcje zapalne<br>(rumień,<br>nadżerki,<br>strupy)<br>Objawy grypopodobne (gorączka) | 2 (pacjenci immunokompetentni)                                  | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Inikwimod 5% krem                                     | Agonista receptora toll-podobnego 7    | 3 × w tygodniu przez 4 tygodnie<br>Maks. 25 cm <sup>2</sup>                                                                                                                                                                              | Wskaźniki<br>wygojenia<br>zmian:<br>45,1-93,6%<br>●●●       | Reakcje zapalne<br>(rumień,<br>nadżerki,<br>strupy)<br>Objawy grypopodobne (gorączka) | 1 (pacjenci immunokompetentni)<br>2 (pacjenci z immunosupresją) | 12-dniowy cykl codziennego aplikowania 5% inikwimodu może być stosowany w miejsce superowanego schematu 4-tygodniowego                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Krem ALA w PDT światłem czerwonym                     | Prekursor protoporfiryny (fotoczułacz) | Nalozenie ALA oraz opatrunku chroniącego przed światłem lub plastru na 3-4 godz., następnie naświetlanie światłem czerwonym przez ok. 10-20 min, można powtórzyć po 4-12 tygodniach                                                      | Wskaźniki<br>wygojenia<br>zmian:<br>58,0-94,3%<br>●●●/●●●●● | Ból<br>Reakcje zapalne<br>(rumień, jaskawe krosty, nadżerki, strupy)                  | 1 (pacjenci immunokompetentni)                                  | 30-40% moczniak lub 10% kwas salicylowy mogą być stosowane 5-7 dni przed PDT w celu zredukowania hiperkeratozy w przebiegu AK. Użyte techniki mechanicznych (podcięcie gazą nasączoną 95% alkoholem, mikrodermabrazja, mydła z drobnkami) powoduje zwiększenie przepuszczalności skóry dla fotoczułacza. Laser frakcyjny, mezoterapia mikroigłowa zwiększają penetrację fotoczułacza |
| Krem MAL w PDT światłem czerwonym                     | Prekursor protoporfiryny (fotoczułacz) | Aplikacja MAL oraz opatrunku zabezpieczającego przed światłem i okluzji na 3 godz. Naświetlanie światłem czerwonym przez ok. 10-20 min. Zabieg można powtórzyć po 4-12 tygodniach                                                        | Wskaźniki<br>wygojenia<br>zmian:<br>67,1-90,3%<br>●●●/●●●●● | Ból<br>Reakcje zapalne<br>(rumień, jaskawe krosty, nadżerki, strupy)                  | 1 (pacjenci immunokompetentni)<br>3 (pacjenci z immunosupresją) | Jak wyżej                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Krem ALA lub MAL w PDT ze spektrum światła dziennego  | Prekursor protoporfiryny (fotoczułacz) | Zastosowanie MAL (30 min) pod okluzją i chemicznego filtru przeciwświatłowego, następnie wystawienie na działanie promieni słonecznych przez 2 godz. Warunki: temperatura zewnętrzna >10°C, bezchmurne lub zachmurzone niebo bez deszczu | Wskaźniki<br>wygojenia<br>zmian:<br>77,2-99,2%<br>●●●       | Reakcje zapalne<br>(rumień, jaskawe krosty, nadżerki, strupy)                         | 2-3 (pacjenci immunokompetentni)                                | Jak wyżej                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

● – niezbyt skuteczne, ●● – średnio skuteczne, ●●● – skuteczne, ●●●● – bardzo skuteczne (skuteczność oceniana w randomizowanych badaniach kontrolnych); poziom 1 – przegląd systematyczny, metaanalizy randomizowanych badań kontrolnych, oparte na dowodach wyryncie praktyki klinicznej; poziom 2 – dwa lub więcej randomizowanych badań kontrolnych; poziom 3 – kontrolowane badania kliniczne (bez randomizacji). ALA – kwas 5-aminolewulinowy; MAL – aminolewulinian metylu; PDT – terapia fotodynamiczna; SCC – rak kolczystokomórkowy



## TEMAT NUMERU

Tabela 3. Leki w II i III fazie badań klinicznych przeznaczone do terapii rogowacenia słonecznego (za: Cramer i wsp.<sup>29</sup>, z modyfikacjami)

| Nazwa związku, postać                    | Mechanizm działania                                                                                                                                | Numer badania klinicznego                      |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Paklitaksel (SOR007), maść 0,15%-2%      | Antagonista $\beta$ -tubuliny, stabilizuje mikrotubule – hamuje podziały komórkowe                                                                 | NCT03083470 (II faza)                          |
| Tirbanibulina (KX2-391), maść 1%         | Inhibitor Src oraz polimerizacji tubuliny – odłącza HK2 od VDAC, prowadząc do apoptozy, zahamowania glikolizy i proliferacji komórek nowotworowych | NCT03285490 (III faza)                         |
| Dobezylan potasu (AM001), krem 7,5%      | Nieznany mechanizm działania                                                                                                                       | NCT03210740 (II faza)                          |
| Furosemid + digoksyna, żel 0,125%        | Inhibitor ATP-azy $\text{Na}^+/\text{K}^+$                                                                                                         | NCT03684772 (II faza)                          |
| Tuwateksyb (VDA-1102), maść 5%, 10%, 20% | Inhibitor heksokinazy 2, antagonist anionowych selektywnych kanałów napciwowo zależnych                                                            | NCT02844777 (II faza)<br>NCT03538951 (II faza) |

W PDT używa się różnych źródeł światła, jednak światło czerwone (ze szczytem absorpcji 630 nm) wykorzystuje się najpowszechniej ze względu na jego głęboką penetrację do tkanek. Jest to szczególnie ważne w leczeniu zmian przednowotworowych i nowotworów złośliwych skóry<sup>32,33</sup>. W ostatnich latach dużą popularność (ze względu na niewielki ból w trakcie terapii) zyskało wykorzystanie światła dziennego (DL-PDT – daylight photodynamic therapy) – w tym wypadku stosuje się światło słoneczne zamiast światła czerwonego<sup>34-36</sup>. Jest ono rekomendowane u pacjentów immunokompetentnych z AK I i II stopnia w obrębie głowy i twarzy<sup>3</sup>. Niektóre badania wykazały jednak większy odsetek nawrotów AK w ciągu 6 miesięcy po zakończeniu terapii wśród pacjentów poddawanych DL-PDT<sup>37,38</sup>. Istnieją również protokoły (FLEXI-PDT czy Phosistos PDT) wykorzystujące do naświetlania skóry włókna emitujące światło (np. biofotoniczne), jednak są one jak dotąd słabo przebadane<sup>39,40</sup>.

Konwencjonalna terapia fotodynamiczna (z użyciem światła czerwonego; c-PDT – conventional PDT) jest leczeniem pierwszej linii w przypadku mnogich AK stopnia I i II (wg Olsen) oraz obszaru zagrożenia nowotworowego<sup>41,42</sup>. Zgodnie z wytycznymi europejskimi powyższe wskazanie ma rekomendację A (silne poparcie dla rekomendacji) i poziom jakości danych 1 (dane z  $\geq 1$  prawidłowo randomizowanego badania kontrolnego). W leczeniu zmian złokalizowanych na skórze głowy i szyi efektywność PDT ocenia się jako podobną lub wyższą w stosunku do innych dostępnych metod. Z kolei w przypadku actinic cheilitis skuteczność terapii szacuje się na 29-47%<sup>35</sup>.

Preparaty miejscowe (ALA, MAL) nakłada się na oczyszczoną skórę (można wcześniej zastosować metody wpływające na większą penetrację preparatu – patrz tab. 2) i pozostawia na mniej więcej 3 godz. pod nieprzepuszczalnym dla światła opatrunkiem (z okluzją lub bez okluzji). Dowiedziono, że zastosowanie opatrunku okluzyjnego wiąże się z wyższą skutecznością terapii, jednak powoduje zwiększoną fototoksyczność i ból<sup>43</sup>. Ponadto istnieją doniesienia, że stężenie 25(OH)D może być jednym z modulatorów odpowiedzi na leczenie z użyciem PDT<sup>44</sup>.

Badania nie wykazują różnic pomiędzy skutecznością poszczególnych fotouczulaczy<sup>45</sup>. Zależy ona wyłącznie od generacji tlenu singletowego i tym samym od jego śródkomórkowej dostępności<sup>46</sup>. Jednak istnieją doniesienia sugerujące, że ALA może powodować większe dolegliwości bólowe. Wynika to z jego absorpcji przez  $\beta$ -aminokwasy i transportery GABA znajdujące się w zakończeniach nerwowych<sup>47</sup>.

Osobną grupę stanowią pacjenci z AK w okolicach kończyn, zwłaszcza górnych. Obejmuje ona osoby z  $\geq 5$  zmianami na kończynach lub nawet z 3 zmianami, ale o powierzchni  $>25 \text{ cm}^2$ . Większość badań w tej grupie dotyczy zastosowania PDT z ALA lub MAL. Wskazują one na znaczącą przewagę tego typu terapii pod względem częściowej lub całkowitej odpowiedzi na leczenie w porównaniu z preparatami miejscowymi<sup>30</sup>.

Czynnikiem wpływającym na osiągnięcie całkowitego wygojenia skóry (ocenianego za pomocą skali LSR – Local Skin Response) jest nasilenie działań niepożądanych leczenia<sup>48</sup>. W piśmiennictwie czas do całkowitego wygojenia skóry po zabiegu PDT szacuje się na 5-10 dni (średnio 8,2 dnia)<sup>49</sup>. Jest on dłuższy u osób stosujących ograniczenia dietetyczne (np. w przypadku diet wegańskich wynosi średnio 21,8 dnia)<sup>50</sup>. Zarówno terapia przy użyciu MAL-PDT, DL-PDT, 5% imikwimodu, jak i regularne stosowanie filtrów przeciwsłonecznych zapobiegają powstawaniu nowych zmian skórnych pod postacią AK po zakończonym leczeniu<sup>30</sup>. Obiecujące wyniki w zapobieganiu nowym zmianom po skutecznie przeprowadzonej PDT uzyskiwano także w przypadku stosowania nowych preparatów, np. fotolizy (photolyase)<sup>51,52</sup>.

Lv i wsp.<sup>53</sup> podkreślili, że zastosowanie PDT może przynosić pacjentom dodatkowe korzyści, ponieważ prowadzi do remodelingu skóry poprzez produkcję prokolagenu typu I oraz III i zwiększanie gęstości kolagenu zawartego w skórze. Ponadto terapia ta zmniejsza produkcję i rozmięszczenie melaniny w skórze oraz zwiększa jej napięcie<sup>5</sup>.

## Podsumowanie

AK jest stanem przednowotworowym, którego rozpoznanie powinno wiązać się z niezwłocznym rozpoczęciem leczenia. PDT znajduje w tym wypadku szerokie zastosowanie i charakteryzuje się wysoką skutecznością. Użycie technik poprawiających penetrację ALA lub MAL zwiększa dodatkowo szanse na powodzenie terapii. Napromienienie przy użyciu światła czerwonego charakteryzuje się największą głębokością działania i dlatego uznaje się je za standard postępowania, jednak światło dzienne jest lepiej tolerowane przez pacjentów z uwagi na znacznie słabiej wyrażone dolegliwości bólowe.

Adres do korespondencji:  
prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
Zakład i Klinika Dermatologii, Uniwersytet Rzeszowski  
ul. F. Szopena 2, 35-055 Rzeszów  
© 2022 Medical Tribune Polska Sp. z o.o.

## TEMAT NUMERU

## ABSTRACT

## The use of photodynamic therapy in dermatology

Actinic keratosis (AK) is one of the most common skin conditions attributable to excessive and chronic exposure to ultraviolet radiation that leads to the production of reactive forms of oxygen, thus causing direct DNA damage. Most focal AK lesions are diagnosed during a clinical examination. There are two therapeutic strategies: a) lesion-oriented and b) field-oriented. Photodynamic therapy (PDT) is a field-oriented method and the first-line treatment for multiple grade I and II AK lesions associated with field cancerization (FC). The mode of action is based on a reaction between photosensitizer 5-aminolevulinic acid (ALA) or the related ester – methyl aminolevulinate (MAL), appropriate wavelength and oxygen. Several light sources are used in PDT; however, red light (with an absorption peak at 530 nm) is both the most common and most effective due to deep tissue penetration.

## Pitmiennitwici

1. Danzani C, Conforti C, Gu'Idria R, et al. Current therapies for actinic keratosis. *Int J Dermatol* 2020;59:677-84.
2. Memon AA, Tomenson JA, Bothwell J, et al. Prevalence of solar damage and actinic keratosis in a Merseyside population. *Br J Dermatol* 2000;142:1154-9.
3. Harvey I, Frankel S, Marks R, et al. Non-melanoma skin cancer and solar keratoses: II analytical results of the South Wales Skin Cancer Study. *Br J Cancer* 1996;74:1308-12.
4. Dignam JJ, Krenn KH. Shining a light on xeroderma pigmentosum. *J Invest Dermatol* 2012;132:785-96.
5. Schwarz T, Bossart S. Melanomas in photomicroscopy. *J Invest Dermatol* 2012;132:7-10.
6. Nomura T, Nakajima H, Hongo T, et al. Induction of cancer, actinic keratosis, and specific p53 mutations by UVB light in human skin maintained in severe combined immunodeficient mice. *Cancer Res* 1997;57:2081-4.
7. Liss K, Mazur E, Jablonka M, et al. Endocrine systems of the skin. *Postepy Dermatol Alergol* 2015;35:519-23.
8. Revent-Huber J, Lange-Auschenfeldt B, Stockfleth E, et al. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2007;157, Suppl 2:47-51.
9. Wang SQ, Sefton R, Benwick M, et al. Ultraviolet A and melanoma: a review. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:837-46.
10. Garland CF, Garland FC, Gorham ED. Epidemiologic evidence for different roles of ultraviolet A and B radiation in melanoma mortality rates. *Ann Epidemiol* 2003;13:395-404.
11. Harwood CA, Savarirajan T, McGregor JM, et al. Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J Med Virol* 2003;61:289-97.
12. Lebowitz MG, Rosen T, Stockfleth E. The role of human papillomavirus in common skin conditions: current viewpoints and therapeutic options. *Cutis* 2010;66:1-12.
13. Harbauer M, Akgül B. Molecular mechanisms of human papillomavirus induced skin carcinogenesis. *Viruses* 2017;9:187.
14. Vilario D, Mueller-Dieckmann K, Klotz U, et al. E6 and E7 from beta HPV38 cooperate with ultraviolet light in the development of actinic keratosis-like lesions and squamous cell carcinoma in mice. *PLoS Pathog* 2017;13:e1005215.
15. Goldring LB, Maniatis AJ. Review of actinic keratosis. Part I: etiology, epidemiology and clinical presentation. *J Drugs Dermatol* 2010;9:1125-32.
16. Wenner RN, Jacobs A, Rossmore SC, et al. Methods and results report – evidence and consensus-based (S3) Guidelines for the Treatment of Actinic Keratosis – International League of Dermatology Societies in cooperation with the European Dermatology Forum. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2015;29:e1-66.
17. Zalaudek I, Giacomini J, Schmid K, et al. Dermoscopy of facial actinic keratosis, intraepidermal carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma: a progression model. *J Am Acad Dermatol* 2012;66:589-97.
18. McVeety J. A new vision of actinic keratosis beyond visible clinical lesions. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2015;29, Suppl 1:3-8.
19. Ulshöf M, Thernström L, de Carvalho N, et al. Dynamic optical coherence tomography in dermatology. *Dermatology* 2016;232:298-311.
20. Olbes EA, Abinewit ML, Kulp-Shorten C, et al. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating mesopore cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J Am Acad Dermatol* 1991;24:736-43.
21. Schmitz L, Karl F, Maloney M, et al. Actinic keratosis: correlation between clinical and histological classification systems. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2016;30:1363-7.
22. Dirschka T, Peltzmann G, Micali G, et al. A proposed scoring system for assessing the severity of actinic keratosis on the head: actinic keratosis area and severity index. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2017;31:1295-302.
23. Arenberger P, Arenbergerova M. New and current preventive treatment options in actinic keratosis. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2017;31, Suppl 6:13-7.
24. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:22-4.
25. Feldman SR, Fleischer AB Jr. Progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma revisited: clinical and treatment implications. *Cutis* 2011;67:201-7.
26. Braathen LR, Szemien RM, Basset-Seguin N, et al. Guidelines on the use of photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer: an international consensus. *International Society for Photodynamic Therapy in Dermatology*. 2005. *J Am Acad Dermatol* 2007;56:125-43.
27. Figueroa-Casals J, Morgado-Carrasco G, Gilaberte Y, et al. Management pearls on the treatment of actinic keratosis and field cancerization. *Dermatol Ther (Heidelberg)* 2020;10:983-15.
28. Gutzmer R, Wiggand S, Kahl G, et al. Actinic keratosis and cutaneous squamous cell carcinoma. *Dtsch Arztebl Int* 2019;116:615-26.
29. Crane P, Stockfleth E. Actinic keratosis: where do we stand and where is the future going to take us? *Expert Opin Emerg Drugs* 2020;25:49-58.
30. Mascaiola E, Di Brizio EV, Casali A, et al. Italian expert consensus paper on the management of patients with actinic keratoses. *Dermatol Ther* 2020;33:e13092.
31. Angiero L, Wolfe CM, Green NH, et al. Comparison of Grenz ray and photodynamic therapy for field treatment of actinic keratosis on the forearm: A case series. *Australas J Dermatol* 2021 Feb;62(1):64-8.
32. Morton CA, Szemien RM, Basset-Seguin N, et al. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019. Part 1: treatment delivery and established indications – actinic keratosis, Bowen's disease and basal cell carcinomas. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2019;33:2223-39.
33. Golecka RJ, Jureczny K, Kuckowski P, et al. Photodynamic therapy with green light for the treatment of vulvar lichen sclerosis – preliminary results. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2017;17:185-7.
34. Wegiel SR, Fabianus S, Shender JM, et al. A randomized, multicentre study of directed daylight exposure times of 1% vs. 2% h in daylight-mediated photodynamic therapy with methyl aminolevulinate in patients with multiple thin actinic keratoses of the face and scalp. *Br J Dermatol* 2011;164:1083-90.
35. Ozog DM, Rkein AM, Fabb SO, et al. Photodynamic therapy: a clinical consensus guide. *Dermatol Surg* 2016;42:804-27.
36. Fitzmaurice S, Eisen DB. Daylight photodynamic therapy: what is known and what is yet to be determined. *Dermatol Surg* 2016;42:286-95.
37. Asakkar S, Labrunie A, Kerob D, et al. Daylight photodynamic therapy with methyl aminolevulinate cream is as effective as conventional photodynamic therapy with blue light in the treatment of actinic keratosis: a controlled randomized intra-individual study. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2020;34:1730-5.
38. Fargnoli MC, Piccinini A, Neri L, et al. Conventional vs. daylight methyl aminolevulinate photodynamic therapy for actinic keratosis of the face and scalp: an intra-patient, prospective, comparison study in Italy. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2015;29:1926-32.
39. Vignoni C, Vigon-Dewalle AS, Thouri E, et al. Photodynamic therapy for actinic keratosis of the forehead and scalp: a randomized, controlled, phase II clinical study evaluating the noninferiority of a new protocol involving irradiation with a light-emitting, fabric-based device (the Flexitheralight protocol) compared with the conventional protocol involving irradiation with the Actilite CL 120 lamp. *Br J Dermatol* 2019;180:765-73.
40. Mordon S, Vignoni-Dewalle AS, Abi-Rached H, et al. The conventional protocol vs. a protocol including illumination with a fabric-based biophotonic device (the Phositea protocol) in photodynamic therapy for actinic keratosis: a randomized, controlled, noninferiority clinical study. *Br J Dermatol* 2020;182:76-84.
41. Braathen LR, Morton CA, Basset-Seguin N, et al. Photodynamic therapy for skin field cancerization: an international consensus. *International Society for Photodynamic Therapy in Dermatology*. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2012;26:1063-5.
42. Ferris R, Chazotte-Philon PG, Neri L, et al. Italian expert consensus for the management of actinic keratosis in immunocompetent patients. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2016;30:1077-84.
43. Meisner H, Sili K, Urban MK, et al. The impact of occlusive vs non-occlusive application of 5-aminolevulinic acid (5-APL) on the efficacy and tolerability of photodynamic therapy for actinic keratosis on the scalp and face: A prospective within-patient comparison trial. *Photodermatol Photobiomod Photomed Laser Ther* 2021;37:56-62.
44. Moreno R, Nijera L, Mascareque M, et al. Influence of serum vitamin D level in the response of actinic keratosis to photodynamic therapy with methylaminolevulinate. *J Clin Med* 2020;9:398.
45. de Oliveira ER, Inada NM, Blanco KC, et al. Field cancerization treatment using topical photodynamic therapy: A comparison between two aminolevulinate derivatives. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020;30:101603.
46. Juarez A, Gilaberte Y, González S. Photodynamic therapy (PDT) in oncology. *Cancers (Basel)* 2020;12:3341.
47. Rüd E, Gasteras O, Högst A, et al. 5-aminolevulinic acid, but not 5-aminolevulinic acid esters is transported into endometrial cells by system BETA transporters. *Photochem Photobiol* 2006;77:640-7.
48. Rosen R, Marmur E, Anderson L, et al. A new, objective, quantitative scale for measuring facial skin responses following topical actinic keratosis therapy with ingenol mebutate. *Dermatol Ther (Heidelberg)* 2014;20:7-19.
49. Zane C, Fabiano A, Arisi M, et al. A randomized split-face clinical trial of photodynamic therapy with methyl aminolevulinate versus ingenol mebutate gel for the treatment of multiple actinic keratoses of the face and scalp. *Dermatology* 2016;232:472-7.
50. Fusano M, Zane C, Calzavara-Pinton P, et al. Photodynamic therapy for actinic keratosis in vegan and omnivore patients: the role of diet on skin healing. *J Dermatol Treat* 2021;32:79-83.
51. Mascareque E, Argenteziano G, Longo C, et al. Management of cancerization field with a medical device containing photolysis: a randomized, double-blind, parallel-group pilot study. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2017;31:e471-3.
52. Elbenschütz L, Slipe V, De Simone J, et al. A 9-month, randomized, assessor-blinded, parallel-group study to evaluate clinical effects of film-forming medical devices containing photolysis and sun filters in the treatment of field cancerization compared with sunscreen in patients after successful photodynamic therapy for actinic keratosis. *Br J Dermatol* 2016;175:1291-3.
53. Li T, Huang Z, Wang HW, et al. Evaluation of collagen alteration after topical photodynamic therapy (PDT) using second harmonic generation (SHG) microscopy – in vivo study in a mouse model. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2012;9:164-9.



## Pozasutkowa choroba Pageta — możliwości zastosowania terapii fotodynamicznej

### Extramammary Paget's disease: the utility of photodynamic therapy

Ewelina Mazur<sup>1</sup>, Robert Kijowski<sup>2</sup>, Adam Reich<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Dermatologii, Instytut Nauk Medycznych, Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego

<sup>2</sup>Klinika Dermatologii, Kliniczny Szpital Wojewódzki nr 1 w Rzeszowie

#### STRESZCZENIE

Choroba Pageta o lokalizacji pozasutkowej jest rzadko występującym nowotworem śródskórnym i stanowi około 1% guzów okolicy anogenitalnej. Często ma charakter wieloogniskowy. W badaniu przedmiotowym stwierdza się odgraniczoną rumieniową blaszkę z typową białą łuską i nadżerkami. Z uwagi na niecharakterystyczny obraz kliniczny rozpoznanie to powinno być zawsze brane pod uwagę w przypadkach zmian skórnych z towarzyszącym świądem zlokalizowanych w okolicach bogatych w gruczoły apokrynowe i opornych na stosowane leczenie miejscowe. Złotym standardem w leczeniu EMPD jest całkowita resekcja chorobowo zmienionej skóry wraz z marginesem zdrowej tkanki. Jednak w przypadku dużych zmian, w których interwencja chirurgiczna byłaby dla pacjenta zbyt okaleczająca, terapia fotodynamiczna, zwłaszcza w połączeniu z miejscowo stosowanym imikwimodem, stanowi dobrą alternatywę i poprawia jakość życia pacjentów.

Forum Derm. 2021; 7, 2: 50–55

**Słowa kluczowe:** choroba Pageta, rak gruczołowy, terapia fotodynamiczna, imikwimod

#### ABSTRACT

Extramammary Paget's disease (EMPD) is a rare intraepithelial neoplasm which accounts for about 1% of malignant tumors in the anogenital region. It is often multifocal. Clinically it presents as a delineated erythematous plaque with typical white scales and erosions. Due to the non-specific clinical picture, the EMPD should always be considered as the differential diagnosis of pruritic lesions located in areas rich in apocrine glands and resistant to topical therapy. The golden standard in the EMPD treatment is the complete removal of the lesion with a safety margin. However, in patients with large tumors, when the surgical intervention would be mutilating for the patient, photodynamic therapy, especially in combination with imiquimod, is a good alternative and improves the patient's quality of life.

Forum Derm. 2021; 7, 2: 50–55

**Key words:** Paget's disease, adenocarcinoma, photodynamic therapy, imiquimod

#### WPROWADZENIE

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) Choroba Pageta o lokalizacji pozasutkowej (EMPD, *extramammary Paget's disease*) jest rzadkim śródskórnym nowotworem charakteryzującym się histopatologicznie zaznaczonym wzrostem dużych komórek z apokrynowym lub ekrynowym wzorcem, wywodzącym się ze skóry (pierwotny EMPD) lub będącym śródskórnym naciekem niezdiagnozowanego nowotworu wisceralnego (wtórny EMPD) [1]. Klinicznie EMPD ma charakter odgraniczonej, rumieniowej blaszki, często z łuszczeniem i nadżer-

kami, które dają typowy obraz „truskawek i śmietany” czy „lukru do ciasta” [2–4]. Blaszka ta klinicznie i histologicznie przypomina klasyczną chorobę Pageta, lecz zajmuje okolice bogate w gruczoły apokrynowe, takie jak: srom, okolica anogenitalna, dół pachowy, ale także moszna, penis, dolna powierzchnia brzucha czy pachwiny [1]. Choroba Pageta o lokalizacji pozasutkowej częściej występuje u kobiet (M:F = 1:1,4) rasy kaukaskiej w okresie pomenopauzalnym oraz u mężczyzn rasy azjatyckiej [1, 5–8].

Patogeneza EMPD jest nieznana. Według jednej z teorii EMPD jest wynikiem wieloogniskowej transformacji zło-

#### Adres do korespondencji:

prof. dr hab. Adam Reich, Klinika i Zakład Dermatologii, Instytut Nauk Medycznych, Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego, ul. Szopena 2, 35–055 Rzeszów, tel. 605-076-722, e-mail: adamandrzejreich@gmail.com

ślwej komórek o wspólnym pochodzeniu embrionalnym. W kolejnej sugeruje się, że jest to wynik przerzutów współistniejącej innej choroby nowotworowej do naskórka [9, 10]. Niektórzy autorzy uważają, że komórki Pageta mogą wywodzić się lub różnicować w kierunku komórek gruczołów apokrynowych i zewnętrznych wydzielnicy, popierając w ten sposób tezę, iż EMPD jest śródskórnym przerzutem innego raka gruczołowego gruczołu zewnętrznego wydzielnicy skóry [9, 10]. Przypadki, w których pierwotny w stosunku do EMPD rak gruczołowy nie może zostać odnaleziony, tłumaczy się dużą liczbą małych gruczołów apokrynowych i ekrynowych zlokalizowanych na skórze okolicy genitalnej, co utrudnia bądź uniemożliwia odszukanie tego jednego, zajętego procesem chorobowym [11].

Komórki Pageta mają bogatą kwasochłoną lub amfobilną cytoplazmę oraz pęcherzykowate jądra z zaznaczonymi jąderkami. Zazwyczaj są one rozmieszczone pojedynczo, ale mogą też tworzyć struktury gruczołopodobne lub wyraźnie odgraniczone gniazda. Zajęcie przydatków (przewodów ekrynowych, mieszków włosowych) zdarza się często, z kolei obecność komórek Pageta w skórze właściwej uważa się za mikroinwazję. Jest to zjawisko rzadkie w EMPD sromu, częstsze w lokalizacji okołoodbytniczej [1].

Komórki Pageta w immunohistochemii wybarwiają się kwasem nadjodowym, żelazem koloidalnym i błękitem alcjanu (dzięki wewnątrzcytoplazmatycznej zawartości sialomonucyn) [8]. W badaniu immunohistochemicznym patognomoniczne dla komórek Pageta są dodatnie wyniki dla cytokeratyny 7 (CK7) i nabłonkowego antygenu błonowego (EMA, *epithelial membrane antigen*). Wykazują też obecność glikoproteiny GDCFP 15 (*gross cystic disease fluid protein*), receptora dla kinazy tyrozynowej 2 (ERBB2, *Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2*), antygenu karcynomaembrionalnego (CEA, *carcinoembryonic antigen*), antygenu nowotworowego 125 (CA125, *cancer antigen 125*) oraz receptora androgenowego (AR, *androgen receptor*) [12]. W pierwotnym EMPD stwierdzamy dodatnią ekspresję CK7, EMA, CEA, GDCFP 15, ale bez ekspresji CD20; we wtórnym: CK7+, EMA+, CEA+, CD20+, ale bez ekspresji GDCFP [13–15]. W diagnostyce różnicowej z czerniakiem naciekającym powierzchownie (SSM, *superficial spreading melanoma*) wykonuje się badanie w kierunku obecności białka S100 oraz antygenu HMB45, które w SSM są dodatnie. Warto nadmienić, iż badanie w kierunku białka Melan-A przez wielu autorów nie jest zalecane, gdyż może dawać wyniki fałszywie dodatnie [13].

Choroba Pageta o lokalizacji pozasutkowej może imitować różne dermatozy skórne, dlatego każda zmiana skórna diagnozowana jako infekcyjna czy zapalna, która nie odpowiada na stosowane 4–6-tygodniowe leczenie miejscowe, powinna być poddawana biopsji [15, 16]. W diagnostyce różnicowej należy wziąć pod uwagę między innymi infekcje grzybicze, kontaktowe i łojotokowe zapalenie skóry czy

choroby gruczkowo-złuszczone [5, 6, 9, 10, 14]. Pełna lista chorób przebiegających ze zmianami na skórze okolicy anogenitalnej, które mogą imitować EMPD, została zamieszczona w tabeli 1.

## POZASUTKOWA CHOROBA PAGETA A NOWOTWORY

Uważa się, iż EMPD w 75% jest chorobą pierwotną — guzem śródskórnym wywodzącym się najprawdopodobniej z komórek przewodowych gruczołów apokrynowych, komórek macierzystych keratynocytów lub pochodzącym z komórek Tokera [18, 19]. Pięcioletni wskaźnik przeżywania w tej grupie chorych (poddawanych leczeniu) wynosi ponad 95% [20].

Jednak w 25% przypadków EMPD towarzyszy pierwotnemu guzowi gruczołowemu (wtórna EMPD) [13] i wiąże się z gorszym rokowaniem [20]. Lokalizacja okołoodbytnicza (PPD, *perianal Paget's disease*) stanowi mniej niż 20% wszystkich przypadków EMPD [21]. Pierwotna PPD jest bardzo rzadka. Jest chorobą łagodną, lecz o dużym odsetku nawrotów (ok. 44–60%) [22, 23]. Nawet 60% PPD związanych jest z innymi chorobami nowotworowymi [21], w których komórki Pageta stanowią śródskórną nacień raka gruczołowego przydatków lub nowotworu trzewnego [21, 25–27]. Dlatego w przypadku zdiagnozowania EMPD, zwłaszcza PPD, należy aktywnie poszukiwać innego nowotworu — w zależności od płci należy wykonać mammografię, cytologię, badanie ultrasonograficzne miednicy mniejszej, cystoskopię, kolonoskopię oraz tomografię komputerową brzucha i miednicy (ryc. 1) [21, 25–27].

Ryzyko rozwoju nowotworów proksymalnych, lokalnych, synchronicznych i metachronicznych szacowane jest jako największe w grupie pacjentów z chorobą Pageta w lokalizacji anogenitalnej. Wynosiło ono 18,5% dla nowotworów kolorektalnych oraz 9,3% dla śródnałonkowych nowotworów odbytu. [28, 29]

## LECZENIE POZASUTKOWEJ CHOROBY PAGETA

Nie istnieją wytyczne leczenia EMPD. Szerokie wycięcie chirurgiczne (WLE, *wide local excision*) oraz chirurgia mikrograficzna metodą Mohsa stanowią szeroko rozumiany złoty standard terapii [2, 3]. Wycięcie może mieć charakter radykalnego usunięcia, np. sromu, lub być ograniczone do wycięcia zmian z marginesem bocznym wynoszącym 2 cm oraz głębokim na 0,5 cm. Jednak z uwagi na wieloogniskowy charakter i wzrost siatkowaty zmian w EMPD metody te są obciążone ryzykiem nawrotów sięgającym 30–60% oraz 8–26% odpowiednio w zmianach pierwotnych i wtórnych, co prowadzi do powtórnych i okaleczających operacji mających negatywny wpływ na jakość życia pacjenta [30–32]. Biopsja węzła wartowniczego jest zalecana w przypadku pierwotnego EMPD z potwierdzoną w badaniu histopatologicznym inwazją warstwy brodawkowatej lub siateczko-

Tabela 1. Diagnostyka różnicowa choroby Pageta o lokalizacji pozasutkowej [zak. 17 z modyfikacjami]

| Choroby infekcyjne/<br>/paszytnicze                  | Jednostka chorobowa                                       | Badanie                                                |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                                                      | Paciorkowcowe zapalenie skóry                             | Wymaz                                                  |
|                                                      | Zakażenie gronkowcowe (liszajec)                          | Wymaz                                                  |
|                                                      | Łupież rumieniowy (erythrasma)                            | Lampa Wooda (koralowa lub lososiowa fluorescencja)     |
|                                                      |                                                           | Wymaz                                                  |
|                                                      | Kłykciny płaskie (condylomata lata)                       | Badanie serologiczne w kierunku zakażenia kiłą         |
|                                                      | Kandydoza                                                 | Wymaz: hodowla grzybów, mikroskopia                    |
|                                                      | Grzybica skóry                                            | Zeskrobiny: hodowla grzybów, mikroskopia               |
|                                                      | Opyszczka (Herpes simplex)                                | Obraz kliniczny, ew. PCR lub immunofluorescencja       |
|                                                      | Półpasiec (Herpes zoster)                                 | Obraz kliniczny, ew. PCR lub immunofluorescencja       |
|                                                      | Lamblioza                                                 | Badanie stolca                                         |
| Choroby zapalne                                      | Enterobioza (Enterobius vermicularis)                     | Wymaz z odbytu na obecność jaj pasożytów               |
|                                                      | Łuszczyca odwrócona                                       | Obraz kliniczny, ewentualnie badanie histopatologiczne |
|                                                      | Liszaj prosty przewlekły                                  | Badanie histopatologiczne                              |
|                                                      | Liszaj płaski                                             | Badanie histopatologiczne                              |
|                                                      | Liszaj twardzinowy                                        | Badanie histopatologiczne                              |
|                                                      | Choroby zapalne jelit                                     | Badanie histopatologiczne<br>Endoskopia                |
|                                                      | Trądzik odwrócony                                         | Obraz kliniczny                                        |
|                                                      | Łojotokowe zapalenie skóry                                | Obraz kliniczny                                        |
|                                                      | Kontaktowe zapalenie skóry z podrażnienia                 | Obraz kliniczny                                        |
|                                                      | Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry                     | Testy płatkowe                                         |
| Choroby nowotworowe/<br>/stany przed-<br>nowotworowe | Kłykciny korzyste (condylomata acuminata)                 | Obraz kliniczny<br>Badanie histopatologiczne           |
|                                                      | Choroba Bowena                                            |                                                        |
|                                                      | Bowenoid papulozis                                        |                                                        |
|                                                      | Śródniakowaty nowotwór odbytu (AIN) białakowaty/wypyskowy |                                                        |
|                                                      | Okoloodbytniczy rak podstawonokomórkowy                   |                                                        |
|                                                      | Nowotwór kanału odbytu/brzegu odbytu                      |                                                        |
| Inne                                                 | Czemlak szerzący się powierzchownie                       | Obraz kliniczny<br>Wywiad<br>Badanie histopatologiczne |
|                                                      | Choroba Halley-Halley                                     |                                                        |
|                                                      | Pęcherzyca zwykła                                         |                                                        |
|                                                      | Histiocytoza z komórek Langerhansa                        |                                                        |

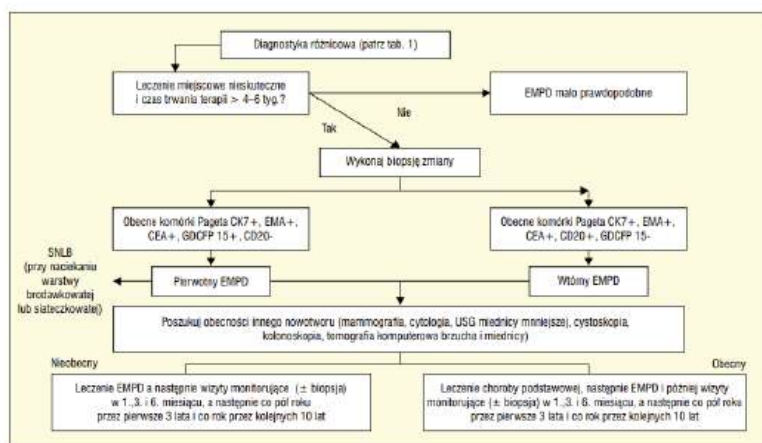
watej skóry właściwej i stanowi złoty standard w wykrywaniu subklinicznych przerzutów do węzłów chłonnych w tej jednostce chorobowej [3].

Ponieważ rokowanie w grupie pacjentów z pierwotnym EMPD jest dobre, poszukuje się niechirurgicznych metod terapii [32]. W tym przypadku najczęściej stosowane są imikwimod, terapia fotodynamiczna (PDT, *photodynamic therapy*), radioterapia, techniki laserowe, 5-fluorouracyl (5-FU) z kalcypotriolem [32], bleomycyna [8], miltetofosyna [31] lub chemioterapia schematem FP (małe dawki 5-FU i cisplatyny), FECOM (5-FU, epirubicyna, karboplatyna, wikrystyna i mitomycyna C), PET (cisplatyna,

epirubicyna i paklitaksel) lub paklitaksel miejscowo czy transtuzumab [33–35].

W metaanalizie z 2020 roku Snast i wsp. [32] oceniali skuteczność metod niechirurgicznych w leczeniu EMPD. Do analizy włączono 43 badania (z łączną liczbą 341 pacjentów). Wśród pacjentów poddawanych terapii imikwimodem 84% pacjentów uzyskało częściową remisję ze zmniejszeniem zmian o 50% lub więcej, z czego u 54% była to całkowita remisja, ale nawrót nastąpił po około 29 miesiącach w 39%. Do najczęstszych działań niepożądanych należało miejscowe podrażnienie (33–100% pacjentów), atrofia skóry i objawy grypopodobne.





**Rycina 1.** Postępowanie diagnostyczne w przypadku podejrzenia pozasutkowej choroby Pageta: EMPD (extramammary Paget's disease) — Choroba Pageta o lokalizacji pozasutkowej; SNLB (sentinel lymph node biopsy) — biopsja węzła wartowniczego

W grupie pacjentów poddawanych radioterapii wszyscy pacjenci osiągnęli częściową, a 97% całkowitą remisję (34% nawrotów w ciągu ok. 60 miesięcy; najwyższy wskaźnik nawrotów dla brachyterapii — 60%, najniższy dla terapii boronowo-neutronowej — 0%). Używano różnych rodzajów naświetlań (promieniowanie X, radioterapię elektronową, brachyterapię, terapię boronowo-neutronową), a dawka całkowita promieniowania wahała się między 10 Gy a 64 Gy dostarczonych w 1–57 frakcjach. Do najczęstszych działań niepożądanych należały zmiany zapalne skóry i śluzówek, niekiedy również biegunka, zapalenie jelit, pęcherza, cewki czy zaburzenia hematologiczne. Terapia fotodynamiczna osiągnęła wskaźnik remisji całkowitych 36% (nawrót u 58% w ciągu ok. 20 miesięcy) i 80% poprawy częściowej. Pacjenci byli zwykle poddawani 1–6 zabiegom w odstępach od 2 dni do 3 tygodni. Wszyscy chorzy zgłaszali objawy uboczne pod postacią podrażnienia skóry i bólu o różnym stopniu nasilenia [32].

Zgodnie z powyższym sugeruje się, iż radioterapia i stosowanie imikwimodu stanowią najbardziej skuteczne metody niechirurgiczne leczenia EMPD [32]. Badanie Snast i wsp. nie oceniało jednak leczenia skojarzonego, np. użycia PDT w połączeniu z innymi metodami (imikwimodem, miejscowymi retinoidami, bleomycyną czy 5-FU), w których osiąga się znacząco lepsze wyniki [36–38]. Przykładowo, połączenie PDT i imikwimodu dawało 100-procentowy wskaźnik remisji i 0% nawrotów w ciągu 6–36 miesięcy po leczeniu; należy jednak zaznaczyć, że badania, w których wykorzystywano



**Rycina 2.** Efekty terapeutyczne leczenia pozasutkowej choroby Pageta terapią fotodynamiczną w połączeniu z miejscowo stosowanym imikwimodem

ww. terapie łączone prowadzone były na bardzo małych populacjach pacjentów [39].

Efekty terapeutyczne leczenia EMPD terapią fotodynamiczną w połączeniu z imikwimodem w klinice autorów niniejszej publikacji przedstawione są na rycinie 2. W terapii wykonano siedem zabiegów PDT (pojedyncza dawka naświetlań: 25–40 J/cm<sup>2</sup>, czas aplikacji kremu z 10-procentowym kwasem aminolewulinowym (ALA) — ok. 2–3 h) oraz zastosowano krem z 5-procentowym imikwimodem 3x/tydz. (przed 5. oraz 6. zabiegiem PDT), uzyskując redukcję średnicy zmiany i ustąpienie dolegliwości subiektywnych (świądu pieczenia, bólu).

## PODSUMOWANIE

Choroba Pageta w lokalizacji pozasutkowej stanowi wyzwanie diagnostyczne. W przypadku większości pacjentów mamy do czynienia z opóźnieniem rozpoznania (od momentu wystąpienia pierwszych objawów do diagnozy). Z tego względu niezwykle ważna jest czułość diagnostyczna i wykonywanie biopsji w przypadkach przewlekłych wykwitów skórnych, niereagujących na stosowane leczenie, a zlokalizowanych w regionach bogatych w gruczoły apokrynowe. Zastosowanie terapii fotodynamicznej w EMPD jest szczególnie polecane w przypadku pacjentów ze zmianami nawrotnymi o dużych rozmiarach lub jako leczenie pierwszej linii w połączeniu z miejscową terapią, na przykład imikwimodem.

**Konflikt interesów**  
Brak.

## PIŚMIENICTWO

- Kacerovska D, Prieto VG, Singh B. Extramammary Paget's disease. In: Elder DE, ed. WHO Classification of Skin Tumours. World Health Organization 2018: 217–218.
- St Claire K, Hoover A, Ashack K, et al. Extramammary Paget disease. *Dermatol Online J* 2019; 25(4). Indexed in PubMed: 31046904.
- Merritt BG, Degesys CA, Brodland DG. Extramammary Paget Disease. *Dermatol Clin* 2019; 37(3): 261–267. doi: 10.1016/j.det.2019.02.002, indexed in PubMed: 31684720.
- Benito L, Blanco V, Fernandez R, et al. Sequential use of topical imiquimod and photodynamic therapy in Extramammary Paget's disease: a case report and review of the literature. doi: 10.22541/au.159060711.15396567.
- Datta R. Etiologic profile of breast dermatoses in Dakin: A prospective study on 125 cas. *Our Dermatology Online*. 2019; 10(3): 244–250. doi: 10.7241/ourd.2019.3.4.
- Olani Y, Ma DL. Extramammary Paget disease of the glans penis. *CMAJ* 2018; 190(38): E1142. doi: 10.1503/cmaj.180348, indexed in PubMed: 30249761.
- Zhao Y, Gong X, Li N, et al. Primary extramammary Paget's disease: a clinicopathological study of 28 cases. *Int J Clin Exp Pathol* 2019; 12(9): 3426–3432, indexed in PubMed: 31934186.
- Leong JY, Chung PH. A primer on extramammary Paget's disease for the urologist. *Transl Androl Urol*. 2020; 9(1): 93–105. doi: 10.21037/tau.2019.07.14, indexed in PubMed: 3265473.
- Yamamoto T. Epidermotropic pagetoid spread and squamous cell carcinoma in situ in the overlying epidermis of Merkel cell carcinoma. *Our Dermatology Online*. 2014; 5(2): 210–211. doi: 10.7241/ourd.2014.2.54.
- Li L, Wang C, Wei M, et al. Mohs micrographic surgery combined local flaps in treatment of EMPD: A retrospective case. *Dermatol Ther* 2018; 31(5): e12663. doi: 10.1111/dth.12663, indexed in PubMed: 30028548.
- Stewart CL, Novoa RA, Seykora YT. Tumors of the epidermal appendages. In: Elder DE, ed. *Lever's histopathology of the skin*. Lippincott Williams&Wilkins 2015: 2196–2199.
- Shi L, Liu P, Liu J, et al. Application of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in common skin diseases. *Translational Biophotonics*. 2020; 2(1–2). doi: 10.1002/tbo.201900028.
- Effimie LG, Costache DO, Uscatu CD, et al. Non-melanoma skin cancer (NMSC): Extramammary Paget's disease. *Int J Qual Health Care*. 2020; 3: 184–189.
- Choi J, Zemek A, Lee GK, et al. Perianal Extramammary Paget's Disease: More Than Meets the Eye. *Dig Dis Sci*. 2018; 63(11): 2853–2857. doi: 10.1007/s10620-018-5089-1, indexed in PubMed: 29906480.
- Fernandez-Flores A, Eranha I, Cuevas J. 'Extramammary-Type' Paget Disease of the Breast. *Am J Dermatopathol*. 2018; 40(10): 711–720. doi: 10.1097/DAD.0000000000001105, indexed in PubMed: 30234560.
- Shepherd V, Davidson EJ, Davies-Humphreys J. Extramammary Paget's disease. *BJOG*. 2005; 112(3): 273–279. doi: 10.1111/j.1471-0528.2004.00438.x, indexed in PubMed: 15711339.
- Woyandt G, Breitkopf C, Werner RM, et al. German S1 guidelines for the diagnosis and treatment of perianal dermatitis (anal eczema). *J Dtsch Dermatol Ges*. 2020; 18(6): 648–657. doi: 10.1111/ddg.14125, indexed in PubMed: 32469472.
- Calonje E. Extramammary Paget disease. In: *Graffius C, ed. Rook's Textbook of Dermatology*, 8th edition, 2010. John Wiley&Sons 2016: 3838–3839.
- Willman JH, Golitz LE, Fitzpatrick JE. Vulvar clear cells of Tokier: precursors of extramammary Paget's disease. *Am J Dermatopathol*. 2005; 27(3): 185–188. doi: 10.1097/01.dad.0000158291.20440.13, indexed in PubMed: 15900115.
- Jones SC, Crandon A, Sanday K. Paget's disease of the vulva: Diagnosis and follow-up key to management: a retrospective study of 50 cases from Queensland. *Gynecol Oncol*. 2011; 122(1): 42–44. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.03.033, indexed in PubMed: 21501860.
- Liao X, Liu X, Fan X, et al. Perianal Paget's disease: a clinicopathological and immunohistochemical study of 13 cases. *Diagn Pathol*. 2020; 15(1): 29. doi: 10.1186/s13000-020-00952-w, indexed in PubMed: 32209119.
- Zell JA, Zeitouni NC. The Roswell Park Cancer Institute experience with extramammary Paget's disease. *Br J Dermatol*. 2000; 142(1): 59–63. doi: 10.1046/j.1365-2133.2000.03242.x, indexed in PubMed: 10651695.
- Weng S, Zhu N, Li D, et al. Clinical Characteristics, Treatment, and Prognostic Factors of Patients With Primary Extramammary Paget's Disease (EMPD): A Retrospective Analysis of 44 Patients From a Single Center and an Analysis of Data From the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Database. *Front Oncol*. 2020; 10: 1114. doi: 10.3389/fonc.2020.01114, indexed in PubMed: 32983958.
- Lam C, Funaro D. Extramammary Paget's disease: Summary of current knowledge. *Dermatol Clin*. 2010; 28(4): 807–826. doi: 10.1016/j.det.2010.08.002, indexed in PubMed: 20883922.
- Morris CR, Hunt EA. Extramammary Paget Disease: A Review of the Literature-Part I: History, Epidemiology, Pathogenesis, Presentation, Histopathology, and Diagnostic Work-up. *Dermatol Surg*. 2020; 46(2): 151–158. doi: 10.1097/DSS.0000000000002064, indexed in PubMed: 31356440.
- Karam A, Dorigo O. Increased risk and pattern of secondary malignancies in patients with invasive extramammary Paget disease. *Br J Dermatol*. 2014; 170(3): 661–671. doi: 10.1111/bjd.12635, indexed in PubMed: 24617434.
- Karam A, Dorigo O. Treatment outcomes in a large cohort of patients with invasive Extramammary Paget's disease. *Gynecol Oncol*. 2012; 125(2): 346–351. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.01.032, indexed in PubMed: 22291043.
- Lee GC, Kunitake H, Stafford C, et al. High Risk of Proximal and Local Neoplasms in 2206 Patients With Anogenital Extramammary Paget's Disease. *Dis Colon Rectum*. 2019; 62(11): 1283–1293. doi: 10.1097/DCR.0000000000001487, indexed in PubMed: 31567917.
- Hutchings D, Windon A, Asarzadegan N, et al. Perianal Paget's disease as spread from non-invasive colorectal adenomas. *Histopathology*. 2021; 78(2): 276–280. doi: 10.1111/his.14218, indexed in PubMed: 32705713.
- Long B, Schmitt AR, Weaver AL, et al. A matter of margins: Surgical and pathologic risk factors for recurrence in extramammary Paget's disease. *Gynecol Oncol*. 2017; 147(2): 358–363. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.05.008, indexed in PubMed: 28933274.
- Asel MA, LeBeveul NR. Extramammary Paget's Disease. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019; 33(1): 73–85. doi: 10.1016/j.hoc.2018.09.003, indexed in PubMed: 30497678.
- Snast L, Sharan E, Kalfory R, et al. Nonsurgical Treatments for Extramammary Paget Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dermatology*. 2020; 239(6): 493–499. doi: 10.1159/000506832, indexed in PubMed: 32289785.
- Phyo AK, Mun KS, Kwan KC, et al. Genitourinary extramammary Paget's disease: review and outcome in a multidisciplinary setting. *Int J Clin Exp Pathol*. 2020; 13: 2369–2376.
- Yoshikawa Y, Itoh M, Nobuyama Y, et al. A Case of Advanced Extramammary Paget's Disease Successfully Controlled by Monthly but Not Weekly Docetaxel Chemotherapy. *Case Rep Oncol*. 2016; 9(1): 6–10. doi: 10.1159/000443234, indexed in PubMed: 26933412.

35. Zhang X, Jin W, Zhu H, et al. Extramammary Paget's Disease in Two Brothers. *Indian J Dermatol*. 2015; 60(4): 423, doi: 10.4103/0019-5154.160541, indexed in Pubmed: 26288451.
36. Dogan A, Hilal Z, Krentel H, et al. Paget's Disease of the Vulva Treated with Imiquimod: Case Report and Systematic Review of the Literature. *Gynecol Obstet Invest*. 2017;82(1):1-7, doi: 10.1159/000449158, indexed in Pubmed: 27655036.
37. Rioli DJ, Samimi M, Beniston N, et al. Efficacy and tolerance of photodynamic therapy for vulvar Paget's disease: a multicentric retrospective study. *Eur J Dermatol*. 2018; 28(3):351-355, doi: 10.1684/ejd.2018.3289, indexed in Pubmed: 29976540.
38. Apalla Z, Lallas A, Tsirova A, et al. Complete response of extramammary Paget's disease with imiquimod and PDT: Report of two cases. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2018; 34(4): 273-275, doi: 10.1111/phpp.12386, indexed in Pubmed: 29575126.
39. Shim PJ, Zetsovini NC. Photodynamic therapy for extramammary Paget's disease: A systematic review of the literature. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020; 31: 101911, doi:10.1016/j.pdpdt.2020.101911, indexed in Pubmed: 32645487.



## Review

# Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma—A Review

Ewelina Mazur <sup>1,2</sup> , Dominika Kwiatkowska <sup>1</sup>  and Adam Reich <sup>1,\*</sup> 
<sup>1</sup> Department of Dermatology, Institute of Medical Sciences, Medical College of Rzeszow University, 35-055 Rzeszow, Poland; dominika.kwiatkowska1808@gmail.com (D.K.)

<sup>2</sup> Doctoral School, University of Rzeszow, 35-959 Rzeszow, Poland

\* Correspondence: adamandrzejreich@gmail.com

**Abstract:** This review summarizes the effectiveness of photodynamic therapy (PDT) in the treatment of the pigmented subtype of basal cell carcinoma (BCC) based on the current literature. PDT is a light-activated treatment, non-invasive, that selectively destroys tumor cells and tissues via the interaction of a photosensitizer, light, and molecular oxygen. It can induce cancer cell death through direct tumor vascular damage or via the induction of immune response. However, human skin is also an absorption and scattering medium since it contains hemoglobin and melanin that act as chromophores. Eumelanin can be considered a light-absorber and an intracellular antioxidant that can neutralize PDT-induced ROS and, therefore, decrease PDT success. Various factors, including tumor depth, the degree of pigmentation in malignant cells, and the individual's skin phototype, can impact the outcome of this intricate biochemical process. It has been widely recognized that PDT exhibits limited efficacy in the treatment of pigmented lesions. However, new combination techniques such as curettage or debulking before PDT show promising results in the treatment of pigmented BCC.

**Keywords:** basal cell carcinoma; BCC; photodynamic therapy; PDT; pigmented tumors



**Citation:** Mazur, E.; Kwiatkowska, D.; Reich, A. Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma—A Review. *Biomedicines* **2023**, *11*, 3099. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11113099>

Academic Editor: Olga Simionescu

Received: 30 October 2023

Revised: 16 November 2023

Accepted: 19 November 2023

Published: 20 November 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

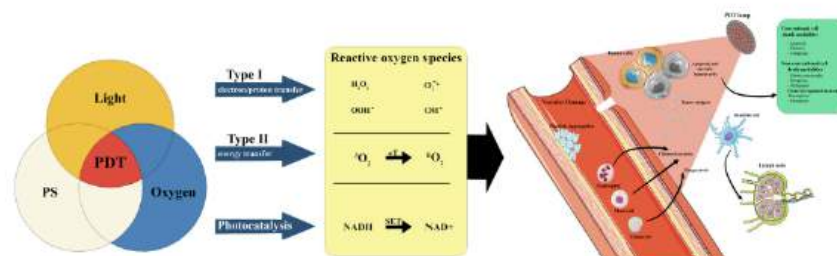
## 1. Introduction

Basal cell carcinoma (BCC) is the most frequent skin cancer, especially in the white skin population, with the incidence rate still increasing worldwide [1]. The most common clinical variants of BCC are nodular and superficial ones. Each of them may present pigmented structures and, thus, become so-called pigmented BCC [2]. As BCC is characterized by a slow progression, rare formation of distinct metastases, and low mortality rate, the most challenging aspect of managing BCC remains the risk of local tumor recurrence. Although surgery is considered the gold standard for invasive subtypes of BCCs, in the case of non-invasive subtypes, many alternative treatment modalities have been introduced throughout the years to limit the disfigurement risk [3]. These methods encompass cryotherapy, curettage, electrodesiccation, topical drugs, and, last but not least, photodynamic therapy (PDT) [4].

PDT is a light-activated treatment modality that is non-invasive and selectively destroys cells and tissues via the interaction of a photosensitizer, light, and molecular oxygen. The excited photosensitizer (PS), through an intersystem crossing process, can undergo transformation into a long-lived excited triplet state and launch two kinds of photochemical reactions with adjacent molecules. In the type I photochemical reaction, PS interacts directly with cell membrane polyunsaturated fatty acids and forms organic radicals that generate cytotoxic reactive oxygen species (ROS) and launch free radical chain reactions. The type II photochemical reaction results in the formation of a powerful oxidizing agent, singlet oxygen ( $^1O_2$ ), via energy transfer to molecular oxygen [5]. In addition, recent studies documented another important mode of PDT action that impedes mitochondrial electron

flow, namely, tandem photocatalysis [6,7]. This process, alternatively to the more classic type II photosensitization pathway, is useful within oxygen-depleted environments.

PDT acts through direct tumor death, vascular damage, and activation of the immune response. First, it leads to direct photodestruction of malignant cells, then to ROS-generated vascular damage, and finally enhanced (T-cell dependent) immunological recognition. Different cell death pathways that mediate the cytotoxicity of PDT may play a role including necrosis, apoptosis, and autophagy. However, non-conventional cell death modalities can also be induced by PDT, such as mitotic catastrophe, paraptosis, pyroptosis, and parthanatos, as well as forms of regulated necrosis such as necroptosis, and ferroptosis (Figure 1) [8,9]. The balance of these cell death mechanisms is driven largely by the sub-cellular localization inherent to a specific photosensitizer and its incubation conditions, as well as the light dose. Therefore, new compounds and innovative methods are still being researched to improve PDT outcomes, especially, to successfully treat deeper lesions. Several PDT modifications have been reported including repeated procedures, new lipophilic compounds, third-generation PS, debulking, laser-assist, and others [10]. However, melanin, which is a natural pigment in the skin, is a known factor decreasing PDT efficacy independently of tumor thickness [11,12]. Interestingly, data aiming to counter the pigmentation in pigmented basal cell carcinoma (pBCC) PDT treatment procedures are limited. Therefore, we have performed a literature review to summarize the current knowledge on the effectiveness of PDT in the treatment of the pigmented subtype of BCC.



**Figure 1.** Schematic illustration of photodynamic reactions (type I, type II, and photocatalysis) and cell death pathways in the process of photodynamic therapy (PDT—photodynamic therapy; PS—photosensitizer; eT—electron transfer; SET—single electron transfer;  $^1O_2$ —singlet excited state;  $^3O_2$ —triplet excited state). The Figure was partly generated using Servier Medical Art, provided by Servier, licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 unported license.

## 2. Melanin in Photodynamic Therapy

The basal layer of the epidermis contains melanocytes (MCs). These cells are responsible for skin pigmentation and protection against UV radiation via melanin formation [13]. Melanin is enzymatically synthesized at approximately 10-nm granular sites that stud the internal walls of organelles known as melanosomes. Melanosomes may contain a variable amount of melanin, i.e., cutaneous melanosomes may contain 1/4th to 1/10th of the melanin concentration of the melanosomes found in the retinal pigmented epithelium.

### 2.1. Melanin as a Light-Absorber

From an optical point of view, human skin is an absorption and scattering medium since it contains hemoglobin (oxygenated and deoxygenated) and melanin which can be considered as chromophores that show distinctive optical absorption properties within the visible wavelength range [14].

The average epidermal absorption coefficient ( $\mu_a$ ) depends on both the melanosomal  $\mu_a$  ( $1.7 \times 10^{12} \text{ nm}^{-1}$  for skin, where nm equals the wavelength in nm) and the volume fraction (fv) of melanosomes within the epidermis. Fv varies depending on the skin color from 1% in pale skin to 5% in darker skin [15]. Some authors, on the other hand, claimed that fv for light-skinned Caucasians equals 1–3%, for well-tanned Caucasians and Mediterraneans 11–16%, and for darkly pigmented Africans 18–43% [16].

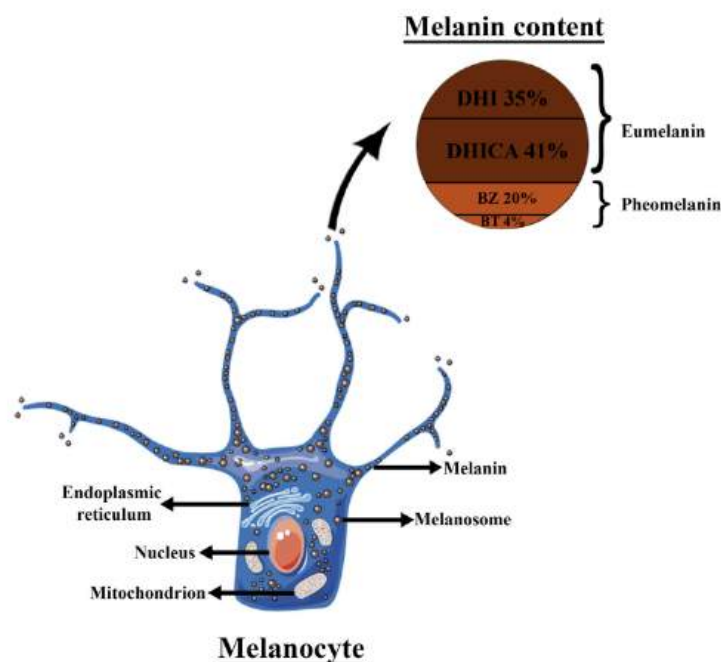
According to Shimojo et al., both  $\mu_a$  ethnic differences and reduced scattering coefficients ( $\mu'_s$ ) have a limited effect on the depth of the PDT treatment. At the same time, the differences present in energy deposition (S) can cause great variances in the production of heat in Asian, Caucasian, and African epidermises. The difference in the values of the  $\mu_a$  in different skin types affects the S of the epidermis. At 700 nm, the epidermal layer is characterized by the maximum S. In Caucasian skin tissue, S is two times lower than that in Asian and four times lower than that in African skin tissue [17]. Moreover, the  $\mu_a$  of sun-protected skin is generally lower than that of sun-exposed areas within each skin type group in the wavelength range from 500 to 900 nm. Furthermore, the  $\mu_a$  spectra of sun-exposed skin type V–VI have a greater slope in the 600–800 nm wavelength region compared to the skin types I–II and III–IV. The average  $\mu'_s$  of the skin type V–VI group is 1–10% higher than those of the skin type I–II and III–IV groups. This phenomenon may be due to the fact that the density of scatterers in the skin, such as melanin, is higher in the skin type V–VI group than in skin type I–II and III–IV groups [18].

Photosensitizers used for PDT to treat dermatologic conditions, such as 5-aminolevulinic acid (5-ALA) and its methyl ester (methyl aminolevulinate—MAL), are mainly metabolized into protoporphyrin IX (PpIX), which has five absorption wavelength peaks: 410 nm, 510 nm, 545 nm, 580 nm, and 630 nm [19]. Red light (630–700 nm), most commonly used in PDT, is known to have the deepest penetration depth, however, the presence of melanin in a stable protein complex with a wide absorption spectrum in the same tissue, competes with PS for photons resulting in inefficient phototoxicity. However, in the typical skin melanin absorption spectrum, only a small peak exists beyond the 650 nm wavelength. Generally, the absorbance values of melanin rise gradually from 750 nm to 600 nm, then moderately from 600 nm to 450 nm, and finally rise sharply from 450 nm to a broad peak at 335 nm [20–22]. Therefore, in recent years, highly active PS absorbing or primed in the near-infrared spectral region (700–900 nm) that might allow the use of PDT even in highly pigmented lesions is being developed [23–25].

## 2.2. Melanin as an Intracellular Antioxidant

Melanins are pigments of high molecular weight formed by oxidative polymerization of phenolic or indolic compounds [26]. Melanin formation starts with the oxidation of tyrosine to dopaquinone. Later, dopaquinone can either undergo cyclization leading, after a further oxidation (to 5,6-dihydroxyindole (DHI) or 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA)) and polymerization, to the creation of melanin pigments brown or dark in color, known as eumelanins. On the other hand, dopaquinone can become entrapped by cysteine (creating benzothiazine (BT) intermediates and benzothiazole (BZ)) and polymerize to synthesize the reddish-brown pigments known as pheomelanins [27]. The human epidermis comprises approximately 76% of eumelanin and 24% pheomelanin (including the 4 moieties ratio: DHI 35%, DHICA 41%, BZ 20%, and BT 4%), regardless of the degree of pigmentation (Figure 2). However, lighter skin phototypes possess low content of photoprotective eumelanin thereby explaining the higher sensitivity toward UV exposure [28,29].





**Figure 2.** Schematic illustration of melanocyte structure and melanin granule content of the human epidermis; DHI—5,6-dihydroxyindole; DHICA—5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid; BT—benzothiazine; BZ—benzothiazole. The Figure was partly generated using Servier Medical Art, provided by Servier, licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 unported license.

Eumelanin can be considered an intracellular antioxidant that can neutralize PDT-induced ROS and decrease PDT success [30]. DHICA-melanin possesses higher antioxidant activity when compared to DHI-melanin. This phenomenon is attributed to its poorly aggregated structure [27,31]. It can act as an efficient antioxidant and hydroxyl radical scavenger, as well as an inhibitor of lipid peroxidation, and can protect the tissue against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity via activation of the Nrf-2 pathway [32–37]. Contrarily, pheomelanin exerts photosensitizing characteristics and leads to the UV-induced production of ROS [38]. In the study by Tanaka et al. on UVA-exposed pheomelanin, BT and BZ monomers showed similar pro-oxidant activities. However, the effects of ROS scavengers exhibited a large difference where BZ monomers were more reactive than BT monomers. Probably, the redox reactions in BZ monomers may proceed via singlet oxygen and in BT monomers via superoxide anions [39,40].

Lawrence et al. demonstrated that wavelengths of 385–405 nm can cause dark cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) formation and, therefore, lead to significant damage, both in vitro and in vivo. This phenomenon is likely caused by oxidative stress generated by chromophores in the skin that absorb strongly in this region, such as melanins, PpIX, and  $\beta$ -carotene [41]. CPDs are the most frequent DNA changes responsible for ultraviolet (UV)

carcinogenesis [42–44]. PDT-induced ROS, however, does not lead to CPD generation in melanin-containing cells [45]. PDT locally generates the intracellular ROS dependent on photosensitizer localization, whereas, in UVA radiation, ROS is generated throughout the whole cell [46]. Additionally, UVA-ROS-induced CPD requires nuclear melanin, while PDT does not result in the formation of melanin monomers and nuclear transport [47].

PDT is known to exert a whitening effect *in vitro* and *in vivo* by reducing melanin content and tyrosinase activity [48]. Melanogenesis can also be inhibited via a paracrine effect when melanocytes are exposed to PDT-treated keratinocytes or dermal fibroblasts. This is likely due to a decreased release of Kit ligand and hepatocyte growth factor which are melanocyte-stimulating cytokines [49]. Furthermore, PDT reduces mottled hyperpigmentation of photoaged patient skin [50,51]. However, some authors found that in heavily pigmented lesions, an increase in the amount of melanin can be observed. This is probably due to the auto-oxidation of melanin precursors present in the lesions via free radicals and *de novo* synthesis of melanin triggered by PDT. Nevertheless, the increase in melanogenesis does not protect against the PDT-induced DNA and cytoskeleton damage [52]. The hyperpigmentation induced by PDT is more pronounced in skin types III and above [53].

### 3. Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma

The literature search followed PRISMA guidelines for systematic reviews [54] and the Cochrane manual [55]. Sources included the PubMed (MEDLINE) and Scopus databases. The initial search was complemented by a manual search of reference lists from retrieved articles. The following search strategy was used: (photodynamic therapy) OR (PDT) AND (basal cell) OR (bcc) AND (melanin) OR (pigment). The search yielded 482 results. Where relevant, articles were read in full, and then the decision about the inclusion of an article was made. A total of 473 references were not relevant to the scope of the review because they did not entail cases of BCCs treated with PDT or did not refer to pigmented variants of BCC. A total of nine studies met the final inclusion eligibility and were included in the review.

Characteristics of pigmented BCC lesions treated with PDT are summarized in Table 1.

#### 3.1. PDT in pBCC without Prior Debulking

In 2005, Kaviani et al. treated 30 cases of BCC, 18 of them pigmented, with PDT. They observed that the pBCCs response rate to a single PDT session was significantly lower than the other subtypes, as it was equal to 14% while it was 100%, 90%, and 62% for ulcerative, nodular, and superficial BCCs, respectively. They suggested that the pigment within the pBCCs may prevent adequate light absorption, hindering the PDT effect in those lesions [56].

Ramirez et al. treated sixteen pBCC lesions with MAL-PDT in two treatment sessions [57]. They obtained a complete response in 50% of treated lesions and a partial response in another 50% of the cases. Ramirez et al. observed that the pigmented region of the BCC absorbs both excitation as well as fluorescence emission from PpIX. According to Ramirez et al., these absorbing regions created a shielding effect during irradiation, reducing the light dosage to the lesion and resulting in a lack of PDT response at the tumor's deep margin. They suggested that similar to nodular BCCs, pBCCs might benefit from prior curettage and/or debulking. The success of this procedure might, however, be greatly dependent on the skills of the physician performing the procedure [57].

In a case report by Lin et al., the success of the sequential use of etretinate and PDT in treating two keratotic, pigmented nodular BCCs was described [58]. A 2-month course of oral etretinate at a dose of 0.5 mg/kg per day was used to decrease superficial scaling. A double PDT was performed on days 0, 3, and 5 with the use of a 2% ALA solution for 16 h before irradiation. These authors were the first ones who used the double irradiation PDT scheme, which was dictated by the fact that the red fluorescence of PpIX initially disappeared after the first PDT irradiation but reappeared 90 min later. It implied a new synthesis of PpIX by deeper, still viable tumor cells [58].

Table 1. Characteristics of pigmented basal cell carcinoma lesions treated with photodynamic therapy.

| Study                       | Patient Number | Sex/Age | Lesion Number | Tumor Localisation                                       | Tumor Subtype      | PS                                         | Number of PDT Sessions | Light Dose per PDT Session | Debulking/Curettage                                                   | Light Length | Response Rate                                                             |
|-----------------------------|----------------|---------|---------------|----------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------|------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Kaviani et al. (2004), [56] | 1              | M/47    | 1–7           | cheek 1<br>cheek 2<br>nose 3<br>eyelid 1<br>eyelid 2     | NS                 | PDT                                        | 1                      | 200 J/cm <sup>2</sup>      | no                                                                    | 632 nm       | no response                                                               |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
|                             | 2              | M/65    | 1–9           | temporal 2<br>forehead 1<br>forehead 2<br>supraorbital 2 | NS                 | PDT                                        | 1                      | 100 J/cm <sup>2</sup>      | no                                                                    | 632 nm       | no response                                                               |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
| Ramirez et al. (2014), [57] | NS             | NS      | 1–16          | NS                                                       | NS                 | MAL 20%                                    | 2                      | 180 J/cm <sup>2</sup>      | yes (surface abatement on the face without local anesthesia for NBCC) | 630 ± 10 nm  | complete response in 50% and partial response in another 50% of the cases |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
| Liu et al. (2009), [58]     | 4              | F/68    | 1–2           | scalp                                                    | nodular            | 2% ALA solution                            | 3                      | 120 J/cm <sup>2</sup>      | 2-month course of and curettage 0.5 mg/kg per day                     | 620 ± 40 nm  | complete response                                                         |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
| Souza et al. (2007), [59]   | 5              | F/75    | 1–2           | scalp                                                    | nodular-ulcerative | PDT                                        | 1                      | 300 J/cm <sup>2</sup>      | curettage                                                             | 630 nm       | complete response *                                                       |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
|                             | 6              | F/60    | 1             | right lower canthus                                      | nodular            | 10% ALA instillation plus 20% ALA emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electro-curettage of pigmentation under local anesthesia              | 630 nm       | complete response                                                         |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
|                             | 7              | M/75    | 1             | nose                                                     | superficial        | 10% ALA instillation plus 20% ALA emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electro-curettage of pigmentation under local anesthesia              | 630 nm       | complete response                                                         |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
| Bibi et al. (2008), [60]    | 8              | F/71    | 1             | right lower eyelid                                       | nodular            | 10% ALA instillation plus 20% ALA emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electro-curettage of pigmentation under local anesthesia              | 630 nm       | complete response                                                         |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
|                             | 9              | F/79    | 1             | head                                                     | superficial        | 10% ALA instillation plus 20% ALA emulsion | 5                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electro-curettage of pigmentation under local anesthesia              | 630 nm       | complete response                                                         |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |
|                             | 10             | M/65    | 1             | right mandibular fold                                    | nodular            | 10% ALA instillation plus 20% ALA emulsion | 4                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electro-curettage of pigmentation under local anesthesia              | 630 nm       | complete response                                                         |
|                             |                |         |               |                                                          |                    |                                            |                        |                            |                                                                       |              |                                                                           |

Table 1. Cont.

| Study                       | Patient Number | Sex/Age | Lesion Number | Tumor Localisation | Tumor Subtype | FS                                                  | Number of PDT Sessions | Light Dose per PDT Session | Debulking/Curettage                                           | Light Length | Response Rate     |
|-----------------------------|----------------|---------|---------------|--------------------|---------------|-----------------------------------------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------|-------------------|
| Jalout et al. (2008), [64]  | 11             | F/56    | 1             | nose               | ulcerative    | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
|                             | 12             | F/78    | 1             | basal              | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
|                             | 13             | M/76    | 1             | right lower eyelid | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | partial response  |
|                             | 14             | M/77    | 1             | right upper eyelid | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 4                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | no response       |
|                             | 15             | M/73    | 1             | left ala nasi      | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
|                             | 16             | M/69    | 1             | left auricle       | ulcerative    | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 5                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
| Ramirez et al. (2014), [53] | 17             | F/76    | 1             | left auricle       | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 4                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
|                             |                |         | 2             | left auricle       | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
|                             | 18             | F/64    | 1             | nose tip           | nodular       | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 4                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |
|                             | 19             | M/85    | 1             | nose               | ulcerative    | 30% ALA<br>infiltration plus<br>20% ALA<br>emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocurettage of<br>pigmentation under<br>local anesthesia | 630 nm       | complete response |



Table 1. Cont.

| Study                                | Patient Number | Sex/Age                                              | Lesion Number | Tumor Localisation                                | Tumor Subtype                    | PS                                         | Number of PDT Sessions | Light Dose per PDT Session | Debulking/Curettage                                         | Light Length | Response Rate                               |
|--------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------|---------------------------------------------|
| Ramirez et al. (2019) [37]           | 20             | M/65                                                 | 1             | left axilla                                       | nodular                          | 10% ALA-insulin (10) plus 20% ALA emulsion | 3                      | 100–500 J/cm <sup>2</sup>  | electrocauterage of pigmented lesion under local anesthesia | 630 nm       | complete response                           |
| García-Cazares et al. (2017) [3]     | # 21–41        | # 12M and 9F aged 40–75 (mean 57.3) (range 33–73.05) | # 1–23        | # Nose 1 Cheek 2 Scalp 5 8Neck 2 8Back 2 9Chest 5 | NS                               | 10% MAL                                    | 2–3                    | 37 J/cm <sup>2</sup>       | curettage with local anesthesia and deeper pigmentation     | 630 nm       | complete response in 20% of treated lesions |
| Ponyska-Rodríguez et al. (2009) [38] | 42             | F/79                                                 | 1–2           | temporal                                          | Nodular, diffusely pigmented     | 10% MAL                                    | 2                      | 37 J/cm <sup>2</sup>       | blade debulking                                             | 630 nm       | complete response                           |
|                                      | 3              | F/73                                                 | 3–4           | frontal 1 8back 1                                 | Superficial, partially pigmented | 10% MAL                                    | 2                      | 37 J/cm <sup>2</sup>       | debridement                                                 | 630 nm       | complete response                           |
|                                      | 4              | F/79                                                 | 5             | cheek                                             | Nodular, partially pigmented     | 10% MAL                                    | 2                      | 37 J/cm <sup>2</sup>       | blade debulking                                             | 630 nm       | complete response                           |
|                                      | 43             | F/56                                                 | 1–13          | upper limbs 8 8trunk 6                            | Nodular                          | 20% MAL                                    | 2                      | 150 J/cm <sup>2</sup>      | blade debulking                                             | 630 nm       | complete response                           |
| Salvo et al. (2021) [35]             | 6              | F/56                                                 | 14–20         | trunk                                             | Superficial                      | 20% MAL                                    | 2                      | 150 J/cm <sup>2</sup>      | blade debulking                                             | 630 nm       | complete response                           |
|                                      | 44             | F/32                                                 | 1–11          | upper limbs 8 8trunk 3                            | Nodular                          | 20% MAL                                    | 2                      | 150 J/cm <sup>2</sup>      | blade debulking                                             | 630 nm       | complete response                           |
|                                      | 45             | F/60                                                 | 1             | high                                              | Superficial                      | 10% MAL                                    | 3                      | 37 J/cm <sup>2</sup>       | fractional CO <sub>2</sub> laser                            | 630 nm       | complete resolution                         |
| Sung et al. (2017) [4]               | 46             | M/59                                                 | 1             | back                                              | Superficial                      | 10% MAL                                    | 4                      | 37 J/cm <sup>2</sup>       | fractional CO <sub>2</sub> laser                            | 630 nm       | complete resolution                         |
|                                      | 47             | M/66                                                 | 1             | shoulder                                          | Superficial                      | 10% MAL                                    | 5                      | 37 J/cm <sup>2</sup>       | fractional CO <sub>2</sub> laser                            | 630 nm       | complete resolution                         |

Abbreviations: ALA—aminolevulinic acid; MAL—methyl aminolevulinate; NS—not specified; PHD—purified hematoporphyrin derivatives; PS—photosensitizer. \* After the second session with ALA-PDT, # a study by García-Cazares et al. [3] had no individual lesion/patient information, data included in this Table refers to the whole study population [32].

### 3.2. PDT in pBCC with Prior Debulking/Curettage

In 2007, Souza et al. treated eighteen lesions in six patients with purified hematoporphyrin derivatives (PHD)-PDT. Two of those 18 lesions were pigmented (one superficial and one nodular subtype). Twelve lesions were treated with PDT alone, while six nodular lesions were selected for prior debulking. The nodular lesion presented with complete response (only superficial pigmentation along the scar border), while the superficial lesion presented with partial response to the treatment. Therefore, the procedure of prior curettage of primary BCC may help to increase the cure rate by either reducing the tumor mass prior to implementation of intravenous PS or improving the transdermal penetration of topical PDT agents [59].

The Japanese group, led by Itoh, treated sixteen pBCCs (eleven nodular, two superficial, and three ulcerative) located in the head and neck area [60]. The PDT procedure was preceded by electro-curettage under local anesthesia. This resulted in the removal of visible pigmentation (either partially or completely) and reduced the tumor volume. Immediately after electro-curettage, ALA-PDT was performed. This procedure was carried out at two or three-week intervals three or more times (curettage was stopped when the lesion's pigmentation became visibly undetectable). In total, fourteen out of sixteen pBCCs showed complete response (two nodular BCCs showing partial or no response were excised). No recurrences were seen up to 6 months after treatment. The additional benefit of the combination of electro-curettage with ALA-PDT was a smaller post-surgery scar compared to standard surgical procedures such as Mohs micrographic surgery [60]. These authors also mentioned that in their previous attempts they tried, with little result, bleaching the pigmentation in a pBCC using a normal-mode ruby laser and Q-switch YAG laser with high power [60].

A Spanish group led by Garcia-Cazana presented a response rate in pBCCs treated with PDT of 76.19% [61]. These results were almost identical to nodular BCCs (76.8%), for which PDT is indicated. However, at the same time, the recurrence rate was established at about 19%. They treated 25 lesions (66.7% in head and neck area) with MAL-PDT. The session was preceded by curettage debulking, up to the point where the macroscopic pigment was completely removed [61].

Pereyra-Rodriguez et al. [62] presented a case in which five pigmented facial BCCs (three superficial and two nodular) were treated in the same patient with a standard regimen of MAL-PDT on day 0 and 7 days after the initial procedure. Superficial lesions were scraped to increase penetration of the PS, whereas nodular lesions were shaved over the tumor margins. All lesions achieved a 100% response, and there were no recurrences at the 12-month follow-up [62].

In 2021, Salvio et al. published an article regarding the long-term follow-up among patients with multiple pBCCs [63]. This study included two patients with a total of thirty lesions. The pBCC lesions were debulked (removal of the entire tissue above the skin level with a blade), and then a standard MAL-PDT procedure was performed. Immediately after the first illumination, the whole procedure was repeated. However, this time the MAL incubation period was shortened to 90 min. All treated lesions showed a histologically confirmed complete response 30 days after treatment. The clinical follow-up showed no recurrence for all lesions with a mean follow-up time of 24 months. They summarized that as the visible pigmented area was removed, the remaining microscopic pigment probably did not affect the efficacy of PDT [63].

### 3.3. PDT in pBCC with Prior Fractional CO<sub>2</sub> Laser

Sung et al. ablated the epidermis of three histologically confirmed pBCCs using a fractional CO<sub>2</sub> laser (tip size of 120 µm, peak power of 30 W, pulse energy of 50 mJ, and 200 spots/cm<sup>2</sup>) [64]. Next, a 16% MAL-PDT was performed with a shortened incubation time (90 min), a light wavelength of 630 nm, and a light dose of 37 J/cm<sup>2</sup>. Treatment was repeated in four-week intervals until it was no longer palpable and no pigmentation could be observed. All patients achieved complete resolution of pBCCs in an average of

four treatment sessions. Interestingly, despite the full-thickness ablation of the epidermis before PDT, they noted no scar formation. Therefore, PDT may have affected the healing process of the ablated tissue [64].

#### 4. Other Photodynamic Therapy Resistance Factors of Basal Cell Carcinomas

PpIX formation in human skin declines in an age-dependent manner. Nissen et al. found that MAL induced a higher PpIX fluorescence in nondysplastic young skin than in the dysplastic skin of elderly patients [65], a surprising phenomenon because MAL is believed to have a higher affinity for dysplastic lesions [66]. Due to the more lipophilic structure, MAL is believed to have an enhanced penetration through the stratum corneum compared to ALA. However, new nanoformulations of ALA induce more PpIX formation than MAL, suggesting its superior transdermal delivery [65].

In 2017, Garcia-Cazana et al. reported that BCC response to MAL-PDT was independent of age, sex, and both the size and location of the tumor. Although the difference was not statistically significant, the mean age of non-responders was higher, probably due to the age-associated decline in PpIX formation in human skin [61]. In 2019, the same group decided to identify potential biomarkers of BCC responses to MAL-PDT. To this end, they analyzed skin samples from patients with BCC treated with MAL-PDT and also studied the effects of MAL-PDT in two representative BCC murine cell lines. The mean age of non-responders was higher (74.36 years) than in responders (69.22 years) ( $p = 0.007$ ). The authors found that higher response rates were observed in superficial BCCs when compared with nodular BCCs (87.5% vs. 74.5%;  $p = 0.487$ ). The poorest response rate was seen in BCCs located on the nose (62.7%), while the best response rate was for tumors located on the trunk (94.7%) ( $p = 0.003$ ). Moreover, the cure rate was higher for lighter versus darker phototypes (89.1% vs. 66.7%;  $p = 0.034$ ). Of the histological variables, only peritumoral inflammatory infiltrate determined a higher response rate (85.7%;  $p = 0.032$ ). Immunohistochemical variables with a statistically significant association with the response to MAL-PDT were positive p53 immunostaining (observed in 84.6% of responders but only 15.4% of non-responders;  $p = 0.011$ ) and  $\beta$ -catenin immunostaining (moderate or intense expression in 84.6% of responders and in 33.3% of non-responders;  $p = 0.096$ ) with patterns of peripheral reinforcement of basaloid islands [67].

Dermoscopy is a tool helpful in predicting response to therapy or assisting the tumor response to different treatments [68]. It can also help identify structures associated with BCCs' lower response to MAL-PDT. They, as expected, encompass superficial pigmented structures located at the both dermal-epidermal junction as well as the superficial papillary dermis ("spoke wheels", "concentric structures", "leaf-like areas") as well as deeper pigment structures (blue globules, blue "ovoid nests") [69].

#### 5. Future Perspectives

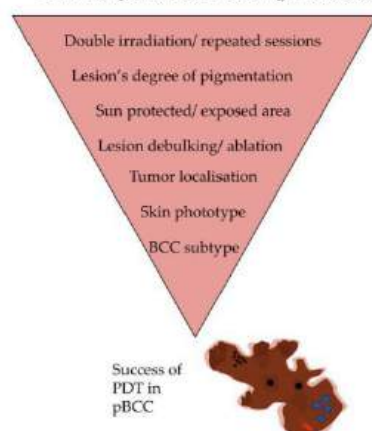
The laser-assisted PDT has gained more interest in recent years. Ablative laser pretreatment disrupts the stratum corneum and on its own adds a therapeutic effect. Several preclinical studies showed that pretreatment with a laser facilitated the accumulation of topical drug formulations, as well as reduced photosensitizer incubation time [70,71]. In the article by Genouw et al., 12 months after treatment, a 100% efficacy was achieved for superficial BCCs in a group treated with a continuous CO<sub>2</sub> laser plus PDT or fractional CO<sub>2</sub> laser plus PDT [72]. However, only one case series in pBCCs was performed by using this method [64]. Thus, further studies are definitely needed.

Currently used photosensitizers (5-ALA, MAL) are characterized by limited skin penetration and inferior luminescence. Therefore, new delivery systems such as microvehicles, nanoparticles, nanoliposomes, and micelles are developed with promising results even in malignant melanoma [73,74]. Similar studies are needed to enhance the PDT treatment efficacy in PBC.

Moreover, as we enter the era of personalized medicine, research should focus on factors contributing to patient resistance to treatment. This would allow physicians to tailor

a specific treatment mode to an individual patient and make them benefit to the fullest from the proposed therapy.

A summary of factors influencing PDT success in pBCC is presented in Figure 3.



**Figure 3.** Schematic representation of pigmented basal cell carcinoma and factors influencing PDT success in this indication. PDT—photodynamic therapy; pBCC—pigmented basal cell carcinoma. The Figure was partly generated using Servier Medical Art, provided by Servier, licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 unported license.

## 6. Conclusions

Taking the above-mentioned facts into consideration, the PDT effect should be more prominent in patients with fair skin and on sun-protected, thin epidermis. Melanin content could be the main driver for decision-making processes. Moreover, a light length of 635 nm, mostly used in PDT, is characterized by a small melanin absorption, which should not pose a significant problem for the treatment effects. Despite the fact that PDT is thought to increase melanogenesis, it does not protect target lesions from DNA and cytoskeleton damage, probably through the keratinocyte paracrine effect. A combination of tumor debulking by either electro-curettage, standard scalpel removal, or laser ablation, increases the success rates of ongoing pBCC therapy. Likewise, procedures using double irradiation in one sitting or repeated techniques (1 or 2 weeks apart), are characterized by higher complete response rates. However, face lesions, especially eyelids, might not be good candidates for PDT, as they achieved the lowest treatment response. Patients with higher phototypes might require higher total light doses and repeated procedures. Dermoscopy is a helpful tool in predicting the tumor response to undergoing treatment. It can also assist BCC debulking techniques by identifying features characteristic of persistent pigment structures.

Nevertheless, there is a need for better-quality studies regarding the use of PDT in pBCCs. Future research should compare existing protocols in a randomized, blinded fashion. Moreover, it should include clinical and/or dermoscopic features that enable classification of the lesions as pigmented ones (by describing specific structures and subtypes) as well as determining the degree of pigmentation. For each lesion, Fitzpatrick skin phototype should be mentioned to assess skin type influence on overall treatment response. Unfortunately, to date, there are no studies that have assessed the response rate to PDT in different Fitzpatrick skin phototypes. New non-invasive diagnostic tools (such



as skin ultrasound, confocal microscopy, or optical coherence tomography) can be used to better assess tumor depth and find features predictive of treatment failure or success. The development and use of new PS that specifically target pBCC cells, together with studies regarding patient-specific treatment resistance factors, should be prompted.

**Author Contributions:** Conceptualization and methodology, E.M.; validation, D.K. and A.R.; writing—original draft preparation, E.M.; writing—review and editing, D.K. and A.R.; visualization, E.M.; supervision, A.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Apalla, Z.; Lallas, A.; Sotiriou, E.; Lazaridou, E.; Ioannides, D. Epidemiological trends in skin cancer. *Dermatol. Pract. Concept.* **2017**, *7*, 1–6. [\[CrossRef\]](#)
- Lesiak, A.; Czuwara, J.; Kamińska-Winciorek, G.; Kiprian, D.; Maj, J.; Owczarek, W.; Placek, W.; Rudnicka, L.; Rutkowski, P.; Sobjanek, M.; et al. Basal cell carcinoma. Diagnostic and therapeutic recommendations of Polish Dermatological Society. *Dermatol. Rev./Przegl. Dermatol.* **2019**, *106*, 107–126. [\[CrossRef\]](#)
- Basset-Seguín, N.; Herms, F. Update in the Management of Basal Cell Carcinoma. *Acta Derm. Venereol.* **2020**, *100*, adv00140. [\[CrossRef\]](#)
- Paoli, J.; Gyllencreutz, J.D.; Fougelberg, J.; Backman, E.J.; Modin, M.; Polesie, S.; Zaar, O. Nonsurgical Options for the Treatment of Basal Cell Carcinoma. *Dermatol. Pract. Concept.* **2019**, *9*, 75–81. [\[CrossRef\]](#)
- Cramer, G.M.; Cengel, K.A.; Busch, T.M. Forging Forward in Photodynamic Therapy. *Cancer Res.* **2022**, *82*, 534–536. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Huang, H.; Banerjee, S.; Qiu, K.; Zhang, P.; Blacque, O.; Malcomson, T.; Paterson, M.J.; Clarkson, G.J.; Staniforth, M.; Stavros, V.G.; et al. Targeted photoredox catalysis in cancer cells. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 1041–1048. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Li, M.; Xu, Y.; Pu, Z.; Xiong, T.; Huang, H.; Long, S.; Son, S.; Yu, L.; Singh, N.; Tong, Y.; et al. Photoredox catalysis may be a general mechanism in photodynamic therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2022**, *119*, e2210504119. [\[CrossRef\]](#)
- Mishechenko, T.; Balalaeva, I.; Gorokhova, A.; Vedunova, M.; Krysko, D.V. Which cell death modality wins the contest for photodynamic therapy of cancer? *Cell Death Dis.* **2022**, *13*, 455. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Moloudi, K.; Abrahamse, H.; George, B.P. Photodynamic therapy induced cell cycle arrest and cancer cell synchronization: Review. *Front. Oncol.* **2023**, *13*, 1225694. [\[CrossRef\]](#)
- Jiang, W.; Liang, M.; Lei, Q.; Li, G.; Wu, S. The Current Status of Photodynamic Therapy in Cancer Treatment. *Cancers* **2023**, *15*, 585. [\[CrossRef\]](#)
- Nelson, J.S.; McCullough, J.L.; Berns, M.W. Photodynamic therapy of human malignant melanoma xenografts in athymic nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **1988**, *80*, 56–60. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Bernstein, E.F.; Thomas, G.F.; Smith, P.D.; Mitchell, J.B.; Glatstein, E.; Kantor, G.R.; Spielvogel, R.L.; Maiese, S.C.; Russo, A. Response of black and white guinea pig skin to photodynamic treatment using 514-nm light and dihematoporphyrin ether. *Arch. Dermatol.* **1990**, *126*, 1303–1307. [\[CrossRef\]](#)
- Jacques, S.L. Optical properties of biological tissues: A review. *Phys. Med. Biol.* **2013**, *58*, R37. [\[CrossRef\]](#)
- Nishidate, I.; Maeda, T.; Nitzeki, K.; Aizu, Y. Estimation of melanin and hemoglobin using spectral reflectance images reconstructed from a digital RGB image by the Wiener estimation method. *Sensors* **2013**, *13*, 7902–7915. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Alaluf, S.; Atkins, D.; Barrett, K.; Blount, M.; Carter, N.; Heath, A. Ethnic variation in melanin content and composition in photoexposed and photoprotected human skin. *Pigment. Cell Res.* **2002**, *15*, 112–118. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Jacques, S.L. Origins of tissue optical properties in the uva, visible, and nir regions. In *OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration*; Optica Publishing Group: Washington, DC, USA, 1996; pp. 364–371.
- Shimojo, Y.; Nishimura, T.; Hazama, H.; Ozawa, T.; Awazu, K. Measurement of absorption and reduced scattering coefficients in Asian human epidermis, dermis, and subcutaneous fat tissues in the 400- to 1100-nm wavelength range for optical penetration depth and energy deposition analysis. *J. Biomed. Opt.* **2020**, *25*, 1–14. [\[CrossRef\]](#)
- Tseng, S.H.; Bargo, P.; Durkin, A.; Kollias, N. Chromophore concentrations, absorption and scattering properties of human skin in-vivo. *Opt. Express.* **2009**, *17*, 14599–14617. [\[CrossRef\]](#)
- Huang, Y.Y.; Vecchio, D.; Avci, P.; Yin, R.; Garcia-Diaz, M.; Hamblin, M.R. Melanoma resistance to photodynamic therapy: New insights. *Biol. Chem.* **2013**, *394*, 239–250. [\[CrossRef\]](#)

20. Bigliardi, P.L.; Rout, B.; Pant, A.; Krishnan-Kutty, V.; Eberle, A.N.; Srinivas, R.; Burkett, B.A.; Bigliardi-Qi, M. Specific Targeting of Melanotic Cells with Peptide Ligated Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 15750. [\[CrossRef\]](#)
21. Sadiq, L.; Kollias, N.; Baqer, A. Spectroscopic observations on human pigmentation. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **2019**, *35*, 415–419. [\[CrossRef\]](#)
22. Masuda, H.; Kimura, M.; Nishioka, A.; Kato, H.; Morita, A. Dual wavelength 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy using a novel flexible light-emitting diode unit. *J. Dermatol. Sci.* **2019**, *93*, 109–115. [\[CrossRef\]](#)
23. Lee, S.Y.; Lee, R.; Kim, E.; Lee, S.; Park, Y.I. Near-Infrared Light-Triggered Photodynamic Therapy and Apoptosis Using Upconversion Nanoparticles With Dual Photosensitizers. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 275. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Chen, L.; Chen, M.; Zhou, Y.; Ye, C.; Liu, R. NIR Photosensitizer for Two-Photon Fluorescent Imaging and Photodynamic Therapy of Tumor. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 629062. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Zhou, X.; Li, H.; Shi, C.; Xu, F.; Zhang, Z.; Yao, Q.; Ma, H.; Sun, W.; Shao, K.; Du, J.; et al. An APN-activated NIR photosensitizer for cancer photodynamic therapy and fluorescence imaging. *Biomaterials* **2020**, *253*, 120089. [\[CrossRef\]](#)
26. de Cássia RGoncalves, R.; Pombeiro-Sponchiado, S.R. Antioxidant activity of the melanin pigment extracted from *Aspergillus nidulans*. *Biol. Pharm. Bull.* **2005**, *28*, 1129–1131. [\[CrossRef\]](#)
27. Micillo, R.; Panzella, L.; Koike, K.; Monfrecola, G.; Napolitano, A.; d'Ischia, M. "Fifty Shades" of Black and Red or How Carboxyl Groups Fine Tune Eumelanin and Pheomelanin Properties. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 746. [\[CrossRef\]](#)
28. Del Bino, S.; Ito, S.; Sok, J.; Nakanishi, Y.; Bastien, P.; Wakamatsu, K.; Bernerd, F. Chemical analysis of constitutive pigmentation of human epidermis reveals constant eumelanin to pheomelanin ratio. *Pigment. Cell Melanoma Res.* **2015**, *28*, 707–717. [\[CrossRef\]](#)
29. Del Bino, S.; Ito, S.; Sok, J.; Wakamatsu, K. 5,6-Dihydroxyindole eumelanin content in human skin with varying degrees of constitutive pigmentation. *Pigment. Cell Melanoma Res.* **2022**, *35*, 622–626. [\[CrossRef\]](#)
30. Vera, R.E.; Lamberti, M.J.; Rivarola, V.A.; Rumie Vittar, N.B. Developing strategies to predict photodynamic therapy outcome: The role of melanoma microenvironment. *Tumour Biol.* **2015**, *36*, 9127–9136. [\[CrossRef\]](#)
31. Napolitano, A.; Panzella, L.; Monfrecola, G.; d'Ischia, M. Pheomelanin-induced oxidative stress: Bright and dark chemistry bridging red hair phenotype and melanoma. *Pigment. Cell Melanoma Res.* **2014**, *27*, 721–733. [\[CrossRef\]](#)
32. Jiang, S.; Liu, X.M.; Dai, X.; Zhou, Q.; Lei, T.C.; Beermann, F.; Wakamatsu, K.; Xu, S.Z. Regulation of DHICA-mediated antioxidant by dopachrome tautomerase: Implication for skin photoprotection against UVA radiation. *Free Radic. Biol. Med.* **2010**, *48*, 1144–1151. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Panzella, L.; Gentile, G.; D'Errico, G.; Della Vecchia, N.E.; Errico, M.E.; Napolitano, A.; Carfagna, C.; D'Ischia, M. Atypical structural and  $\pi$ -electron features of a melanin polymer that lead to superior free-radical-scavenging properties. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 12684–12687. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Blarmino, C.; Mosca, L.; Foppoli, C.; Coccia, R.; De Marco, C.; Rosei, M.A. Lipoygenase/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-catalyzed oxidation of dihydroxyindoles: Synthesis of melanin pigments and study of their antioxidant properties. *Free Radic. Biol. Med.* **1998**, *26*, 446–453. [\[CrossRef\]](#)
35. Silvestri, B.; Vitiello, G.; Luciani, G.; Calcagno, V.; Costantini, A.; Gallo, M.; Parisi, S.; Paladino, S.; Iacomino, M.; D'Errico, G.; et al. Probing the eumelanin-silica interface in chemically engineered bulk hybrid nanoparticles for targeted subcellular antioxidant protection. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 37615–37622. [\[CrossRef\]](#)
36. Cecchi, T.; Pezzella, A.; Di Mauro, E.; Cestola, S.; Ginsburg, D.; Luzi, M.; Rigucci, A.; Santato, C. On the antioxidant activity of eumelanin biopigments: A quantitative comparison between free radical scavenging and redox properties. *Nat. Prod. Res.* **2019**, *34*, 2465–2473. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Liberti, D.; Alfieri, M.L.; Monti, D.M.; Panzella, L.; Napolitano, A. A Melanin-Related Phenolic Polymer with Potent Photoprotective and Antioxidant Activities for Dermo-Cosmetic Applications. *Antioxidants* **2020**, *9*, 270. [\[CrossRef\]](#)
38. Hill, H.Z.; Hill, G.J. UVA, pheomelanin and the carcinogenesis of melanoma. *Pigment. Cell Res.* **2000**, *13*, 140–144. [\[CrossRef\]](#)
39. Panzella, L.; Leone, L.; Greco, G.; Vitiello, G.; D'Errico, G.; Napolitano, A.; d'Ischia, M. Red human hair pheomelanin is a potent pro-oxidant mediating UV-independent contributory mechanisms of melanomagenesis. *Pigment. Cell Melanoma Res.* **2014**, *27*, 244–252. [\[CrossRef\]](#)
40. Tanaka, H.; Yamashita, Y.; Umezawa, K.; Hirobe, T.; Ito, S.; Wakamatsu, K. The Pro-Oxidant Activity of Pheomelanin is Significantly Enhanced by UVA Irradiation: Benzothiazole Moieties Are More Reactive than Benzothiazine Moieties. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 2889. [\[CrossRef\]](#)
41. Lawrence, K.P.; Douki, T.; Sarkany, R.P.E.; Acker, S.; Herzog, B.; Young, A.R. The UV/Visible Radiation Boundary Region (385–405 nm) Damages Skin Cells and Induces "dark" Cyclobutane Pyrimidine Dimers in Human Skin in vivo. *Sci. Rep.* **2018**, *24*, 12722. [\[CrossRef\]](#)
42. You, Y.H.; Lee, D.H.; Yoon, J.H.; Nakajima, S.; Yasui, A.; Pfeiffer, G.P. Cyclobutane Pyrimidine Dimers Are Responsible for the Vast Majority of Mutations Induced by UVB Irradiation in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 44688–44694. [\[CrossRef\]](#)
43. Brash, D.E. UV signature mutations. *Photochem. Photobiol.* **2015**, *91*, 15–26. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Mallet, J.D.; Rochette, P.J. Wavelength-dependent ultraviolet induction of cyclobutane pyrimidine dimers in the human cornea. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2013**, *12*, 1310. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Mudambi, S.; Pera, P.; Washington, D.; Remenyik, E.; Fidrus, E.; Shafirstein, G.; Bellnier, D.; Paragh, G. Photodynamic therapy does not induce cyclobutane pyrimidine dimers in the presence of melanin. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2018**, *22*, 241–244. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)



46. Castano, A.P.; Demidova, T.N.; Hamblin, M.R. Mechanisms in photodynamic therapy: Part three—Photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2005**, *2*, 91–106. [CrossRef]
47. Premi, S.; Wallisch, S.; Manu, C.M.; Weiner, A.B.; Bacchiocchi, A.; Wakamatsu, K.; Bechara, E.J.; Halaban, R.; Douki, T.; Brash, D.E. Chemexcitation of melanin derivatives induces DNA photoproducts long after UV exposure. *Science* **2015**, *80*, 842–847. [CrossRef]
48. Baldea, I.; Danescu, S.; Tabaran, F.; Filip, A.G.; Ion, R.M.; Olteanu, D.E.; Sevastre-Berghian, A.C.; Decea, R.M.; Iacovita, C.; Hanganu, D.; et al. Inhibition of Survival Mechanisms and Cell Death Induction in Melanoma Following Photodynamic Therapy Mediated by Meso-5,10,15,20-tetrakis-(4-hydroxyphenyl)-porphyrin. *Processes* **2023**, *11*, 917. [CrossRef]
49. Kim, S.K.; Oh, S.J.; Park, S.Y.; Kim, W.J.; Kim, Y.S.; Kim, Y.C. Photodynamic therapy inhibits melanogenesis through paracrine effects by keratinocytes and fibroblasts. *Pigment. Cell Melanoma Res.* **2018**, *31*, 277–286. [CrossRef]
50. Sanclemente, G.; Mancilla, G.A.; Hernandez, G. A double-blind randomized controlled trial to assess the efficacy of daylight photodynamic therapy with methyl-aminolevulinate vs. Placebo and daylight in patients with facial photodamage. *Actas Dermosifiliogr.* **2016**, *107*, 224–234. [CrossRef]
51. Zhang, L.; Zhao, Z.; Wang, P.; Zhang, G.; Wang, B.; Shi, L.; Liu, X.; Zhou, Z.; Wang, X. Long-term improvement on photoaging after ALA photodynamic therapy for actinic keratosis: A retrospective study. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2021**, *33*, 102181. [CrossRef]
52. Baldea, I.; Olteanu, D.E.; Bolfa, P.; Tabaran, F.; Ion, R.M.; Filip, G.A. Melanogenesis and DNA damage following photodynamic therapy in melanoma with two meso-substituted porphyrins. *J. Photochem. Photobiol. B* **2016**, *161*, 402–410. [CrossRef] [PubMed]
53. Monfrecola, G.; Procaccini, E.M.; D’Onofrio, D.; Roberti, G.; Liuzzi, R.; Staibano, S.; Manco, A.; De Rosa, G.; Santolanni, P. Hyperpigmentation induced by topical 5-aminolevulinic acid plus visible light. *J. Photochem. Photobiol. B* **2002**, *68*, 147–155. [CrossRef]
54. Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *BMJ* **2009**, *339*, b2535. [CrossRef] [PubMed]
55. Higgins, J.P.T.; Green, S. (Eds.) *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*; Version 5.1.0 [Updated March 2011]; The Cochrane Collaboration: London, UK, 2011; Available online: [www.handbook.cochrane.org](http://www.handbook.cochrane.org) (accessed on 30 September 2023).
56. Kaviani, A.; Ataie-Fashtami, L.; Fateh, M.; Sheikhabaee, N.; Ghodsi, M.; Zand, N.; Djavid, G.E. Photodynamic therapy of head and neck basal cell carcinoma according to different clinicopathologic features. *Lasers Surg. Med.* **2005**, *36*, 377–382. [CrossRef]
57. Ramirez, D.P.; Kurachi, C.; Inada, N.M.; Moriyama, L.T.; Salvio, A.G.; Filho, J.D.V.; Pires, L.; Buzzá, H.H.; de Andrade, C.T.; Greco, C.; et al. Experience and BCC subtypes as determinants of MAL-PDT response: Preliminary results of a national Brazilian project. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2014**, *11*, 22–26. [CrossRef]
58. Lin, M.H.; Lee, J.Y.; Ou, C.Y.; Wong, T.W. Sequential systemic retinoid and photodynamic therapy for multiple keratotic pigmented nodular basal cell carcinomas on the scalp. *J. Dermatol.* **2009**, *36*, 518–521. [CrossRef]
59. Souza, C.S.; Neves, A.B.; Felício, L.A.; Ferreira, J.; Kurachi, C.; Bagnato, V.S. Optimized photodynamic therapy with systemic photosensitizer following debulking technique for nonmelanoma skin cancers. *Dermatol. Surg.* **2007**, *33*, 194–198. [CrossRef]
60. Itoh, Y.; Henta, T.; Ninomiya, Y.; Tajima, S.; Ishibashi, A. Repeated 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy following electrocautery for pigmented basal cell carcinoma. *J. Dermatol.* **2000**, *27*, 10–15. [CrossRef] [PubMed]
61. Gracia-Cazaña, T.; Gonzalez, S.; Juarranz, A.; Gilaberte, Y. Methyl aminolevulinate photodynamic therapy combined with curettage debulking for pigmented basal cell carcinoma. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **2017**, *33*, 228–232. [CrossRef]
62. Pereyra-Rodriguez, J.J.; Bernabew-Wittel, J.J.; Gacto-Sanchez, P.; Conejo-Mir, J. Pigmented basal cell carcinomas treated with photodynamic therapy. *Indian. J. Dermatol. Venereol. Leprol.* **2009**, *75*, 530–531. [CrossRef]
63. Salvio, A.G.; Requena, M.B.; Stringasci, M.D.; Bagnato, V.S. Photodynamic therapy as a treatment option for multiple pigmented basal cell carcinoma: Long-term follow-up results. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2021**, *33*, 102154. [CrossRef] [PubMed]
64. Sung, J.M.; Kim, Y.C. Photodynamic therapy with epidermal ablation using fractional CO<sub>2</sub> laser for treating superficial basal cell carcinoma: A case series. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2017**, *19*, 202–204. [CrossRef]
65. Nissen, C.V.; Philipsen, P.A.; Wulf, H.C. Protoporphyrin IX formation after topical application of methyl aminolevulinate and BF-200 aminolevulinic acid declines with age. *Br. J. Dermatol.* **2015**, *173*, 760–766. [CrossRef]
66. Fritsch, C.; Homey, B.; Stahl, W.; Lehmann, P.; Ruzicka, T.; Sies, H. Preferential relative porphyrin enrichment in solar keratoses upon topical application of delta-aminolevulinic acid methylester. *Photochem. Photobiol.* **1998**, *68*, 218–221. [PubMed]
67. Gracia-Cazaña, T.; Mascaraque, M.; Lucena, S.R.; Vera-Alvarez, J.; Gonzalez, S.; Juarranz, A.; Gilaberte, Y. Biomarkers of basal cell carcinoma resistance to methyl-aminolevulinate photodynamic therapy. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0215537. [CrossRef] [PubMed]
68. Apalla, Z.; Lallas, A.; Tzello, S.; Sidiropoulos, T.; Lefaki, I.; Trakatelli, M.; Sotiriou, E.; Lazaridou, E.; Evangelou, G.; Patsatsi, A.; et al. Applicability of dermoscopy for evaluation of patients’ response to nonablative therapies for the treatment of superficial basal cell carcinoma. *Br. J. Dermatol.* **2014**, *170*, 809–815. [CrossRef]
69. Navarro-Bielsa, A.; Cerro-Muñoz, P.; Almenara-Blasco, M.; Gracia-Cazaña, T.; Gilaberte, Y. Dermoscopic Structures Predictive of Response to Photodynamic Therapy in Basal Cell Carcinoma. *Acta Derm. Venereol.* **2023**, *103*, adv00892. [CrossRef]
70. Ko, D.; Kim, K.; Song, K. A randomized trial comparing methyl aminolevulinate photodynamic therapy with and without Er:YAG ablative fractional laser treatment in Asian patients with lower extremity Bowen disease: Results from a 12-month follow-up. *Br. J. Dermatol.* **2014**, *170*, 165–172. [CrossRef]

71. Kim, S.; Park, J.-Y.; Song, H.; Kim, Y.-S.; Kim, Y. Photodynamic therapy with ablative carbon dioxide fractional laser for treating Bowen disease. *Ann. Dermatol.* **2013**, *25*, 335–339. [[CrossRef](#)]
72. Genouw, E.; Verheire, B.; Ongenaes, K.; De Schepper, S.; Creytsens, D.; Verhaeghe, E.; Boone, B. Laser-assisted photodynamic therapy for superficial basal cell carcinoma and Bowen's disease: A randomized inpatient comparison between a continuous and a fractional ablative CO<sub>2</sub> laser mode. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* **2018**, *32*, 1897–1905. [[CrossRef](#)]
73. Zhang, P.; Han, T.; Xia, H.; Dong, L.; Chen, L.; Lei, L. Advances in Photodynamic Therapy Based on Nanotechnology and Its Application in Skin Cancer. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 836397. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Udrea, A.M.; Smarandache, A.; Dinache, A.; Mares, C.; Nistorescu, S.; Avram, S.; Staicu, A. Photosensitizers-Loaded Nanocarriers for Enhancement of Photodynamic Therapy in Melanoma Treatment. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 2124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



ORIGINAL RESEARCH

## Photodynamic Therapy is an Effective Treatment of Facial Pigmented Actinic Keratosis

Ewelina Mazur · Adam Reich

Received: March 5, 2023 / Accepted: April 11, 2023 / Published online: May 10, 2023  
© The Author(s) 2023

### ABSTRACT

**Background:** Actinic keratosis (AK), or solar keratosis, is a precancerous condition of the skin, mainly caused by excessive and chronic exposure to ultraviolet radiation. Pigmented AK (pAK) is a rare variant of AK. Photodynamic therapy (PDT) is widely used to treat the classical variant of AK, but very limited data are available on the use of PDT in patients with pAK. The objective of this study was to assess the usefulness of PDT in the treatment of pAK. **Methods:** The study included 16 patients with 20 pAK lesions treated with PDT. All skin lesions were clinically and dermatoscopically assessed for typical features characteristic of pAK.

Reflectance confocal microscopy (RCM) was also used to assess keratinocyte atypia, confirm pAK diagnosis, and rule out other disease entities.

**Results:** After three PDT sessions, the complete resolution of all clinical features of pAK was observed in 80% of the studied lesions. Dermatoscopically, 65% of the lesions achieved 100% response and no cellular atypia was seen in the follow-up RCM images of 85% of lesions.

**Conclusions:** Photodynamic therapy is an effective treatment modality for pAK in fair-skinned individuals.

**Keywords:** Pigmented actinic keratosis; pAK; Photodynamic therapy; PDT; Dermatoscopy; Reflectance confocal microscopy; RCM

E. Mazur · A. Reich (✉)  
Department of Dermatology, Institute of Medical  
Sciences, Medical College of Rzeszow University,  
Rzeszow, Poland  
e-mail: adamandzejreich@gmail.com

E. Mazur  
Doctoral School of the University of Rzeszow,  
University of Rzeszow, Rzeszow, Poland

### Key Summary Points

#### Why carry out this study?

Actinic keratosis (AK), or solar keratosis, is a common precancerous condition of the skin, and its treatment with conventional and daylight photodynamic therapies (PDT) has been widely studied with high clearance rates reported.

Little is known about PDT effectiveness in different AK subtypes.

Melanin competes with protoporphyrin IX in light absorption, reducing photochemical reaction and desired photodynamic effect.

There have been no studies analyzing the effectiveness of PDT in pigmented AK (pAK).

#### What has been learned from this study?

PDT has proven to be an effective treatment modality for pAK in fair-skinned individuals.

Reflectance confocal microscopy examination showed superior usefulness in monitoring the PDT results.

several histological subtypes. However, some authors have suggested that in patients with multiple AK subtypes, lesions tend to present the same dermatoscopic pattern [5]. Pigmented AK (pAK) is a rare AK subtype (approx. 1.7% of all AK cases) [4]. Diagnosis of pAK within the face area can be challenging as it can be mistaken for lentigo maligna (LM), solar lentigo, seborrheic keratosis, or lichenoid keratosis [6–12]. Nevertheless, in daily practice, we can monitor the progression of the pAK with non-invasive methods, i.e., dermatoscopy and reflectance confocal microscopy (RCM) [5, 13, 14].

Conventional and daylight photodynamic therapies (PDT) with 5-aminolevulinic acid (5-ALA) in the form of nanoemulsion or methylaminolevulinate (MAL) have been thoroughly studied for AK treatment, with high clearance rates of the lesions reported [15]. However, Kaviani et al. suggested that PDT may have limited value in pigmented lesions. Melanin competes with protoporphyrin IX in terms of light absorption, reducing the photochemical reaction and desired photodynamic effect [16]. To the best of our knowledge, no studies have analyzed the effectiveness of PDT in different AK subtypes. Therefore, the aim of the study reported here was to assess the usefulness of PDT in treating pAK.

## MATERIALS AND METHODS

### Patients

The study was performed in accordance with the Helsinki Declaration of 1964 and its later amendments. Informed consent was obtained from the patients for participation in the study. The study enrolled 16 patients (13 women, 3 men) with a total of 20 pAKs. Mean ( $\pm$  standard deviation) age of the 16 patients was  $74.75 \pm 8.89$  years. The patients presenting with pAK were diagnosed via (video) dermatoscopic examination based on typical features. To further strengthen the diagnosis and exclude with certainty a possibility of malignant proliferation, each lesion was additionally assessed by RCM. Only patients with unequivocal lesions

## INTRODUCTION

Actinic keratosis (AK), or solar keratosis, is a precancerous skin condition, mainly caused by excessive and chronic exposure to ultraviolet radiation [1]. Clinically, AK presents as a rough, scaly papule or plaque on an erythematous base. Seven distinct AK variants can be distinguished using histological features, namely, hypertrophic, atrophic, bowenoid, acantholytic, epidermolytic, lichenoid, and pigmented [2, 3], among which the pigmented subtype is the least frequently reported in the literature [4]. Interestingly, a single lesion can sometimes manifest an overlap of two or even



(with features typical of pAK) in both the videodermatoscopy and RCM assessments were included in the study. All lesions were located on the face area; the age, gender, phototype, and previous skin cancer history were noted for each participant (Table 1).

### Study Design

A total of 20 skin lesions were assessed clinically according to Olsen's 1991 criteria [18], with a videodermatoscope (Canfield D200EVO; Canfield Scientific GmbH, Bielefeld, Germany) and with RCM (VivaScope 1500/3000; MAVIG GmbH, Munich, Germany) before (day 0) and 1 month after (day 112) three sequential PDT sessions at 1-month intervals for 3 months. We included lesions that presented features typical of pAK in terms of dermatoscopy; for inclusion in the study the lesions could not present any features typical of LM in the RCM. The 5-ALA 10% cream (Foto-Dermal® HCl; MagnaPharm, Gdansk, Poland) was applied onto the skin lesions—which had previously been degreased with 70% ethanol and debrided (hyperkeratotic lesions)—in an occlusive light-shielding dressing. After the 180-min incubation period, the dressings were removed, residues of the preparation were washed off with mild soap and water, and the lesions were illuminated with pulsed 630 nm red light (TreviLux; MEDlight GmbH, Herford, Germany). Each patient received three PDT treatments at intervals of 4 weeks. The total dose of light received after three PDT sessions was 111 J/cm<sup>2</sup> for each lesion. Patients were advised on the post-PDT regimen and to avoid prolonged sunlight for 48 h after the treatment. To expedite healing and decrease irritation we recommended cosmetics containing D-panthenol and zinc oxide.

### Clinical Assessment

Skin lesions were assessed clinically according to Olsen's 1991 criteria [18]. A grade 1 lesion (mild) was defined as a lesion with mild thickness and slight palpability, with the AK better felt than seen. A grade 2 lesion (moderate) was defined as an AK presenting with moderate

thickness that was equally felt and seen, and a grade 3 (severe) was a very thick and/or obvious AK. For study purposes, we added grade 0, which referred to the location of a previous AK lesion that could not be seen and for which no changes could be felt. Clinical cure was claimed when the lesion was not visible by the naked eye and could not be felt with palpation.

### Videodermatoscopy

Skin lesions were assessed using a videodermatoscope (Canfield D200EVO; Canfield Scientific GmbH, Bielefeld, Germany) at 20- to 70-fold magnification. The initial examination consisted of "dry dermatoscopy" (without immersion fluid); this was followed by "wet dermatoscopy" (with ultrasound gel). The presence and prevalence of specific dermatoscopic pAK criteria, including gray dots/globules/granularity, structureless brown pigmentation, gray-brown pseudo-network, moth-eaten borders, structureless white areas, annular granular pattern, pigment network, white circles, brown circles, asymmetrical pigmented follicular openings, a hyperpigmented rim of the follicular opening, dots in the line, jelly sign, superficial broken-up network, red pseudo-network, black blotches, fingerprinting, dotted vessels, grayish areas, rhomboidal pattern, the "star-like" appearance at the periphery of the lesion, scale and crust, rosettes, the double white clods, the dermatoscopic horn, circle in the circle, target-like pattern, "strawberry sign", sharp demarcation, milium-like cysts, comedo-like openings, and yellow opaque homogenous areas, were assessed before (day 0) and after (day 112) the three PDT sessions [8, 13, 19]. On day 112, lesions were considered cured when the videodermatoscopy did not reveal any of the above-mentioned features. To increase the clarity of data presentation in the Results section, we did not include dermatoscopic parameters that were not observed in any of the AK lesions.



**Table 1** Patient characteristics

| Patient number  | Gender | Age (years) | Skin phototype according to Fitzpatrick grading [17] | Previous skin cancer history                           |
|-----------------|--------|-------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1               | Female | 89          | I                                                    | Yes (squamous cell carcinoma)                          |
| 2               | Male   | 88          | II                                                   | Yes (basal cell carcinoma)                             |
| 3               | Female | 83          | II                                                   | No                                                     |
| 4               | Female | 83          | II                                                   | No                                                     |
| 5 <sup>a</sup>  | Female | 81          | II                                                   | No                                                     |
| 6               | Female | 80          | II                                                   | No                                                     |
| 7               | Female | 79          | I/II                                                 | No                                                     |
| 8               | Male   | 77          | II                                                   | No                                                     |
| 9               | Female | 74          | I                                                    | No                                                     |
| 10              | Female | 72          | II                                                   | Yes (basal cell carcinoma)                             |
| 11              | Female | 71          | I                                                    | Yes (squamous cell carcinoma)                          |
| 12 <sup>a</sup> | Female | 68          | II                                                   | No                                                     |
| 13 <sup>a</sup> | Female | 66          | I                                                    | Yes (basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma) |
| 14 <sup>a</sup> | Male   | 63          | II                                                   | No                                                     |
| 15              | Female | 61          | II                                                   | No                                                     |
| 16              | Female | 61          | II                                                   | No                                                     |

pAK Pigmented AK

<sup>a</sup>Patients with two pAK lesions**Reflectance Confocal Microscopy**

Lesions underwent imaging using a near-infrared reflectance confocal laser microscope (Vivascope 1500/3000; MAVIG GmbH, Munich, Germany) that uses a diode laser at a wavelength of 830 nm. A minimum of three mosaics were obtained per lesion, at the superficial epidermal layer, dermo-epidermal junction, and papillary dermal level, respectively; each mosaic consisted of 16 × 16 images of 500 × 500 µm. A 3000 handheld device was used for lesions located in areas where using the 1500 Vivascope device was technically challenging or impossible; in that case, at least five vivastacks were acquired with around 25–30 images of 750 × 750 µm per stack.

The RCM criteria that we had observed in pAKs included such features as scale, disruption/individual cells, parakeratosis, corneal pseudocysts, keratin-filled invagination, atypical keratinocytes, disarranged epidermal pattern, mottled pigmentation, targetoid cells, intraepidermal dendritic cells, ringed areas/small and bright papillae/densely packed papillae, polycyclic papillary contours, cords, plump bright cells, huddled collagen bundles, coarse collagen bundles, curled fibers, vessels traversing dermal papillae ("bottom-hole"), and linear vessels [14, 20]. To exclude LM, we used RCM criteria included in the lentigo maligna diagnostic algorithm proposed by Guitera et al. [21]. We assessed for the presence of the following features: non-edged papillae, round pagetoid cells > 20 µm, ≥ 3 atypical cells at the

dermo-epidermal junction in five  $0.5 \times 0.5$ -mm<sup>2</sup> fields, follicular localization of pagetoid cells and/or atypical junctional cells, nucleated cells within dermal papillae, and broadened honeycombed pattern [21].

To classify the RCM images to determine keratinocyte atypia, we used the classification of Seyed Jafari et al. [22]. According to this classification, an atypia score of “0” corresponds to no cellular atypia, no architectural disruption, normal honeycomb pattern, and well-defined keratinocytes; an atypia score of “1” corresponds to minimal changes to the honeycomb pattern, most keratinocytes with readily detected borders, as well as occasional changes in keratinocyte morphology; an atypia score of “2” corresponds to main characteristics of moderate loss of honeycomb pattern, different cell sizes, areas with blurred cell borders, and several changes with keratinocyte morphology; and atypia score “3” corresponds to the loss of honeycomb pattern, severe cellular atypia, and loss of keratinocyte morphology [22]. Lesions were considered cured when at day 112 the lesion was given a score “0” based on the RCM examination, as proposed by Seyed Jafari et al. [22]

## RESULTS

### Clinical Evaluation

Of the 20 lesions included in the study, 19 were classified as Olsen’s grade 1 (95%) and one lesion as Olsen’s grade 2 (5%). After three PDT sessions, we observed the complete resolution of any clinical characteristics of pAK in 80% of the studied lesions; the remaining 20% still presented as flat maculae with no scale, although they were still easily felt with palpation.

### Videodermatoscopy

All assessed skin lesions showed typical features of pAK on dermatoscopy. In our study population, the most prominent pAK features were rhomboidal pattern (80%), scale (60%),

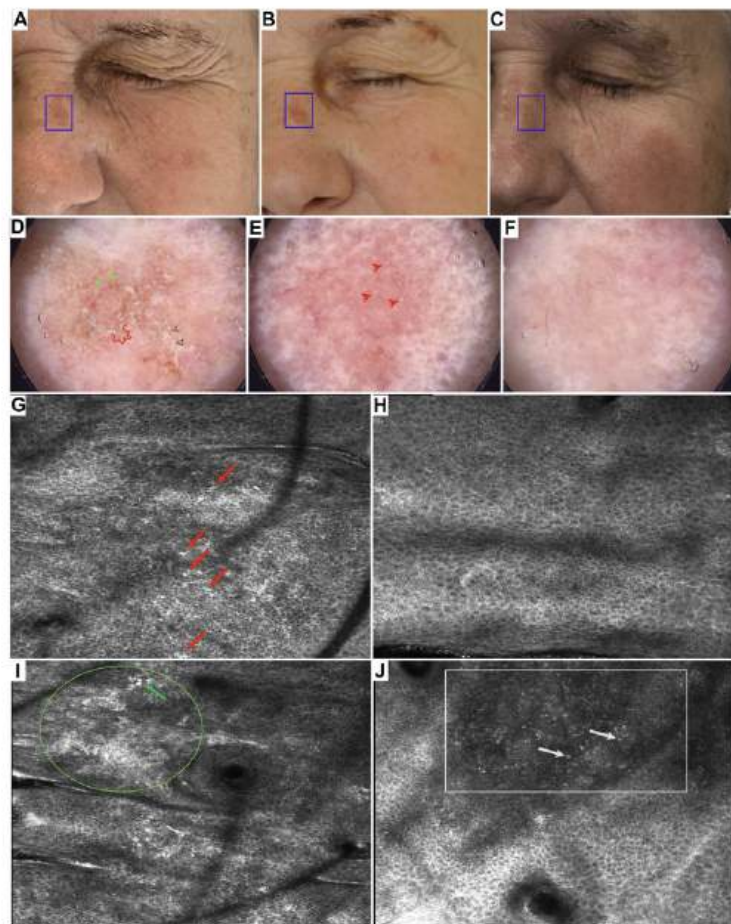
presence of white globules (50%), jelly sign with superficial pigmentation (40%), inner gray halo (35%), and white circles (30%).

The dermatoscopic examination showed complete resolution of all assessed features after three PDT sessions in 65% of the lesions (Fig. 1). In the remaining cases, a significant reduction in the size of the lesions and their color intensity was observed (Fig. 2). In addition, such features as the presence of white globules resolved in almost half of the lesions (5/11), while the annular-granular pattern resolved in one-third of the lesions (3/9). At the same time, the only dermatoscopic feature that presented with an increase in incidence after the three PDT sessions was the presence of grayish areas (5–10% of patients).

### Reflectance Confocal Microscopy and Keratinocyte Atypia

According to the recommendations proposed by the panel of experts on the multidisciplinary management of cutaneous squamous cell carcinoma in 2022, RCM may be used in selected patients for the differential diagnosis of complex lesions, especially in the head and neck area [23]. In our study, RCM was used to exclude the possibility of LM diagnosis and to assess keratinocyte atypia. None of the lesions included in the study showed features typical for LM (20% of the lesions scored 1 point and 80% scored 0 points) as proposed by Guitera et al. in the RCM diagnostic algorithm for LM [21].

All lesions (100%) presented varying degrees of keratinocyte atypia before PDT. The most prevalent keratinocyte atypia (85%) was characterized by keratinocyte atypia score 2 (moderate loss of honeycomb pattern, with several changes in keratinocyte morphology and different cell sizes, areas with blurred cell borders), followed in prevalence (10% of cases) by atypia with score 3 (loss of honeycomb pattern, severe cellular atypia, and loss of keratinocyte morphology). The least observed atypia were those with atypia score 1 (minimal changes to the honeycomb pattern, occasional changes in keratinocyte morphology, and the most keratinocytes with readily detected borders), with a



**Fig. 1** An example of a patient who achieved a complete cure of pigmented actinic keratosis (pAK) lesion after three photodynamic therapy (PDT) sessions. **A–C** Clinical images of pAK on the left side of the nose (blue rectangle) before PDT treatment (**A**), after the first PDT session (**B**), and after the third PDT session showing the disappearance of the lesion (**C**). **D–F** The disappearance of the characteristic dermatoscopic pAK features during PDT treatments, including the rhomboidal pattern (red line), the double white clods (green arrowhead), scale (black arrowheads), white clods (red arrowheads), before PDT (**D**), after the first PDT session (**E**), and after the third PDT session (**F**). **G–J** Single RCM pictures of pAK before (**G**, **I**) and after (**H**, **J**) three PDT sessions, showing keratinocyte atypia with the presence of dendritic cells and processes (red arrows) probably corresponding to Langerhans cells (**G**), normal honeycomb pattern (**H**), presence of pigment incontinence (green circle) and pigment granules (green arrows) in the spinous layer (**I**), and area of numerous melanophages (white rectangle) depicted as small plump bright cells (white arrows) (**J**)

5% prevalence. After three PDT sessions, the absence of cellular atypia was achieved by 85% of lesions ( $n = 17$ ), as determined in the follow-up RCM images. Only three lesions (15%) still presented with some keratinocyte atypia, with minimal changes to the honeycomb pattern of the epidermis (Fig. 3).

#### Overall Cure Rates

Photodynamic therapy success rates according to the different methods of evaluation are summarized in Table 2. In our study of the treatment results, the RCM examination was characterized by the highest pAK cure rates (85%), followed by clinical examination, amounting to 80%. The lowest complete lesion resolutions (65%) were achieved while using dermatoscopy.

#### DISCUSSION

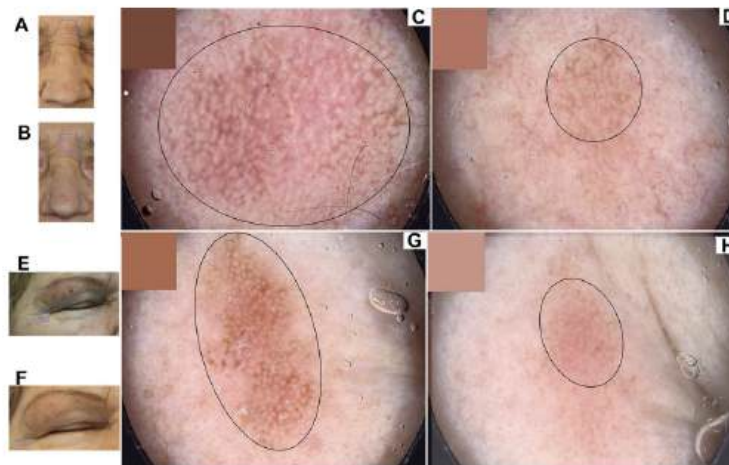
To the best of our knowledge, no studies on PDT for pAK, which is a rare subtype of AK, are available in the literature, particularly on PDT from pAK in fair-skinned individuals [6]. The

etiology of pAK is unclear; nevertheless, several theories have been proposed. Dinehart et al. demonstrated that there are no differences in the number of melanocytes in the basal layer of the epidermis in pigmented versus non-pigmented AK. Electron microscopy studies, on the other hand, showed enhanced melanosome formation in epithelial keratinocytes [24]. According to Labadie et al. [25], pAK color in histopathology is associated with pigment incontinence, basilar pigment presence, and absence of inflammation. Chung et al. studied a series of 167 cases of pAK and reported that histopathologically one-fifth of the lesions (19%) were bona fide pAK and that 81% of the cases were a collision between adjacent or coexisting non-pigmented AK and pigmented lesions (most frequently solar lentigo) [26]. Moscarella et al. also detected in assessed pAKs features typical for solar lentigines and seborrheic keratoses. However, no clear-cut collision pigmented lesions were found [14].

Dermatoscopic and RCM features of pAK have been described previously [5, 13, 14, 27–33]. Similar to our results, Kelati et al. found that the most prevalent dermatoscopic pAK features were a rhomboidal pattern, inner gray halo, scale, jelly sign, and superficial pigmentation. Moreover, researchers noted that the presence of  $\geq 2$  dermatoscopic features from both follicle surroundings (1) and follicle keratosis (2) categories were observed in 99.1% of the lesions. Therefore, the diagnosis of pAK in flat lesions should be based on the presence of a combination of at least two dermatoscopic features rather than on a single criterion. In addition, these authors noted that jelly sign with a superficial pigmentation characterized thin plates of AKs, whereas central crust and scale were more characteristic of thick plates and lower skin phototypes; these results are in agreement with our findings in the present study.

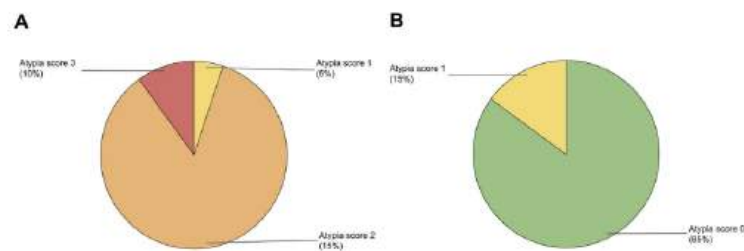
A recently published systematic review and meta-analysis of noninvasive diagnostic techniques for melanoma detection [34] computed RCM performance and found an average sensitivity and specificity of 88.2% and 65.2%, respectively, with small 95% confidence intervals (CI) of 80.3–93.1% and 55–74.2%,





**Fig. 2** An example of a patient achieving a reduction in the size and color of the pAK after three PDT sessions. **A, B, E, F** Clinical images of pAK (blue rectangle) on the nasal bridge (**A, B**) and the left eyelid (**E, F**) before PDT (**A, E**) and after the third PDT session (**B, F**) showing a reduction in the size of the lesions and their color

intensity. **C, D, G, H** Dermoscopic pictures of pAK, showing diminishing of the size (black circle) and color (upper left corner) of pAK before (**C, G**) and after (**D, H**) three PDT treatments



**Fig. 3** Reflectance confocal microscopy keratinocyte atypia before (**A**) and after (**B**) three PDT sessions of pigmented actinic keratosis

respectively. Moreover, RCM achieved the highest performance when paired with dermatoscopy (sensitivity: 98%, 95% CI 92–99%;

specificity: 92%, 95% CI 87–96%) [35], exceeding dermatoscopy-alone diagnostic performance [36].



**Table 2** Clinical, dermatoscopic, and reflectance confocal microscopy complete cure rates and partial effect of photodynamic therapy in pigmented actinic keratosis

| Assessment                      | Complete cure (%) | Partial effect (%) |
|---------------------------------|-------------------|--------------------|
| Clinical                        | 80                | 20                 |
| Dermatoscopic                   | 65                | 35                 |
| Reflectance confocal microscopy | 85                | 15                 |

Pellacani et al. [37] correlated RCM with histopathology for grading keratinocyte atypia in AK. Their findings showed good concordance between raters in terms of grading RCM and histopathological atypia of keratinocytes, for both the detection of keratinocyte atypia and the identification of ‘key’ RCM images; both of these features are usable for grading keratinocyte atypia [37]. Because of the growing number of articles on RCM use in different non-melanocytic skin lesions, Navarete Dechent et al. performed a systematic review pooling all of the literature terms used to describe the same RCM findings. These authors found out that actinic changes in honeycomb, an architectural disorder of the overlying epidermis, mild keratinocyte atypia, and atypical honeycomb pattern were the most frequently used terms to describe keratinocyte atypia in RCM [38]. Curiel-Lewandowski et al. [39] assessed the usefulness of RCM as a non-invasive monitoring tool in AK treatment. According to these authors, RCM has the potential to standardize the therapeutic monitoring of AK over time. Features such as atypical honeycomb patterns, hyperkeratosis, disarranged epidermal patterns, and stratum corneum disruptions in RCM were the most reliable criteria for assessing AK treatment response. These authors also emphasized the importance of the utility of RCM for the non-invasive monitoring of subclinical disease and for the identification of early post-treatment AK recurrence. However, they consistently stressed the importance of simplifying the RCM criteria used to date and the need for extensive standardization efforts [39].

A clearly defined keratinocyte atypia score was proposed by Seyed Jafari et al. [22]. The Swiss team created a grading system in which a score of 0 corresponds to no cellular atypia; a score of 1 corresponds to occasional changes in morphology (< 10%), with minimal changes to the honeycomb pattern; a score of 2 represents several changes in keratinocyte morphology and moderate loss of honeycomb pattern (10–50%), with blurred cell borders and different cell sizes; and a score of 3 corresponds to a loss of keratinocyte morphology ( $\geq 50\%$ ) and honeycomb pattern with severe cellular atypia as the most important characteristics. The study showed acceptable intra/inter-rater agreement with an intraclass coefficient (ICC) > 0.7, and the Spearman correlation coefficient showed a significant positive correlation with clinical response ( $p = 0.006$ ,  $r = 0.619$ ) [22].

We found RCM to be the most helpful device for monitoring PDT results in pAK. To the best of our knowledge, this is the first study to present an evaluation of the disappearance or diminishing of videodermatoscopic and RCM keratinocyte atypia features of pAK during PDT treatment. We hypothesize that the low resolution of the “annular granular pattern” in our dermatoscopic analysis together with the increase in the presence of so-called “grayish areas” might be explained by the Tyndall effect, possibly evoked by the presence of melanophages in the upper layer of the dermis that became activated during the PDT sessions. Thus, the remaining minimal dermatoscopic features of pAK do not necessarily mean that the treatment was ineffective, and RCM may help to properly assess the doubtful lesions, as used in our study when four of seven patients with residual dermatoscopic abnormalities no longer demonstrated any keratinocyte atypia.

Although we consider our treatment results valid and encouraging, they have to be considered with some caution. Limitations of the current study include small sample size, single-center design, and inclusion of only Caucasian patients (Fitzpatrick skin phototype I–II). Thus, further research is needed to reliably evaluate the applicability of PDT in the treatment of pAK and of non-invasive skin imaging methods in its treatment monitoring.

## CONCLUSIONS

Photodynamic therapy seems to be an effective treatment modality for facial pAK in fair-skinned individuals, and RCM examination is a useful tool for monitoring PDT results. However, this hypothesis needs to be supported by a larger study population, preferably with a control group.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the participants of the study.

**Funding.** No funding or sponsorship was received for this study or publication of this article.

**Authorship.** All named authors meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship for this article, take responsibility for the integrity of the work as a whole, and have given their approval for this version to be published.

**Author Contributions.** Ewelina Mazur conceived the research idea, designed the study, supervised the data collection and analysis, interpreted the results, redacted the scientific content of the manuscript, and reviewed and validated the final version. Adam Reich supervised the study, redacted the scientific content of the manuscript, and reviewed and validated the final version.

**Disclosures.** Ewelina Mazur declares that she has no conflict of interest. Adam Reich is a member of the journal's Editorial Board.

**Compliance with Ethics Guidelines.** The study was performed in accordance with the Helsinki Declaration of 1964 and its later amendments. Informed consent was obtained from the patients for participation in the study and publication of the article, including the publication of clinical photographs.

**Data Availability.** The datasets generated during and/or analyzed during the current

study are available from the corresponding author on reasonable request.

**Open Access.** This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License, which permits any non-commercial use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

## REFERENCES

1. Eisen DB, Asgari MM, Bennett DD, et al. Guidelines of care for the management of actinic keratosis: executive summary. *J Am Acad Dermatol*. 2021;85(4):945–55. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2021.05.056>.
2. Mihm MC Jr, James C, Martinka M, Soyer HP. Actinic keratosis. In: Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R, editors. *WHO classification of tumors*, vol. 11. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2018. p. 51.
3. Rosen T, Lebwohl MG. Prevalence and awareness of actinic keratosis: barriers and opportunities. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(1 Suppl 1):S2–9. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.09.052>.
4. Şahin N, Bozdağ Z, Erkiş S, Aydın NE, Şener S. Histopathological subtyping of actinic keratosis and its coexistence with nonmelanotic skin cancers in Gaziantep and Malatya regions. *Turkderm Turk Arch Dermatol Venereol*. 2016;50:103–8. <https://doi.org/10.4274/turkderm.53765>.
5. Reinehr CPH, Bakos RM. Actinic keratoses: review of clinical, dermoscopic, and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol*. 2019;94(6):637–57. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2019.10.004>.

6. Abudu B, Calame A, Cohen PR. Pigmented actinic keratosis: case report and review of an uncommon actinic keratosis variant that can mimic melanoma. *Cureus*. 2019;11(5):e4721. <https://doi.org/10.7759/cureus.4721>.
7. Connolly KL, Giordano C, Dusza S, Busam KJ, Nehal K. Follicular involvement is frequent in lentigo maligna: implications for treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80(2):532–7. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.07.071>.
8. Lallas A, Tschandl P, Kyrgidis A, et al. Dermoscopic clues to differentiate facial lentigo maligna from pigmented actinic keratosis. *Br J Dermatol*. 2016;174(5):1079–85. <https://doi.org/10.1111/bjd.14355>.
9. Akay BN, Kocayigit P, Heper AO, Erdem C. Dermoscopy of flat pigmented facial lesions: diagnostic challenge between pigmented actinic keratosis and lentigo maligna. *Br J Dermatol*. 2010;163(6):1212–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.10025.x>.
10. Tschandl P, Gambardella A, Boespflug A, et al. Seven non-melanoma features to rule out facial melanoma. *Acta Derm Venereol*. 2017;97(10):1219–24. <https://doi.org/10.2340/00015555-2759>.
11. Micantonio T, Neri L, Longo C, et al. A new dermoscopic algorithm for the differential diagnosis of facial lentigo maligna and pigmented actinic keratosis. *Eur J Dermatol*. 2018;28(2):162–8. <https://doi.org/10.1684/ejd.2018.3246>.
12. Gouda G, Pyne J, Dicker T. Pigmented macules on the head and neck: a systematic review of dermoscopy features. *Dermatol Pract Concept*. 2022;12(4):e2022194. <https://doi.org/10.5826/dpc.1204a194>.
13. Kelati A, Baybay H, Moscarella E, Argenziano G, Gallouj S, Mermis FZ. Dermoscopy of pigmented actinic keratosis of the face: a study of 232 cases. *Actas Dermosifiliogr*. 2017;108(9):844–51. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2017.05.002>.
14. Moscarella E, Rabinovitz H, Zalaudek I, et al. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of pigmented actinic keratoses: a morphological study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(2):307–14. <https://doi.org/10.1111/jdv.12532>.
15. Morton CA, Szeimies RM, Basset-Seguin N, et al. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 part I: treatment delivery and established indications—actinic keratoses, Bowen's disease and basal cell carcinomas. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(12):2225–38. <https://doi.org/10.1111/jdv.16017>.
16. Kaviani A, Ataie-Fashtami L, Fateh M, et al. Photodynamic therapy of head and neck basal cell carcinoma according to different clinicopathologic features. *Lasers Surg Med*. 2005;36(5):377–82. <https://doi.org/10.1002/lsm.20186>.
17. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988;124:869–71.
18. Olsen EA, Abernethy ML, Kulp-Shorten C, et al. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating masoprocol cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J Am Acad Dermatol*. 1991;24(5 Pt 1):738–43. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(91\)70113-g](https://doi.org/10.1016/0190-9622(91)70113-g).
19. Ozbacivan O, Akarsu S, Ikiz N, Semiz F, Fetil E. Dermoscopic differentiation of facial lentigo maligna from pigmented actinic keratosis and solar lentigines. *Acta Dermatovenereol Croat*. 2019;27(3):146–52.
20. Farretani F, Manfredini M, Chester J, et al. Reflectance confocal microscopy in the diagnosis of pigmented macules of the face: differential diagnosis and margin definition. *Photochem Photobiol Sci*. 2019;18:963–9. <https://doi.org/10.1039/c8pp00525g>.
21. Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, et al. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the diagnostic accuracy of lentigo maligna and equivocal pigmented and nonpigmented macules of the face. *J Invest Dermatol*. 2010;130(8):2080–91. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.84>.
22. Seyed Jafari SM, Timchik T, Hunger RE. In vivo confocal microscopy efficacy assessment of daylight photodynamic therapy in actinic keratosis patients. *Br J Dermatol*. 2016;175(2):375–81. <https://doi.org/10.1111/bjd.14517>.
23. Stanganelli I, Spagnolo F, Argenziano G, et al. The multidisciplinary management of cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive review and clinical recommendations by a panel of experts. *Cancers (Basel)*. 2022;14(2):377. <https://doi.org/10.3390/cancers14020377>.
24. Dinehart SM, Sanchez RL. Spreading pigmented actinic keratosis. An electron microscopic study. *Arch Dermatol*. 1988;124(5):680–3.
25. Labadie JG, Compres E, Sunshine JC, et al. Actinic keratosis color and its associations: a retrospective photographic, dermoscopic, and histologic evaluation. *Dermatol Surg*. 2022;48(1):57–60. <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000003281>.
26. Chung HJ, McGulgan KL, Osley KL, Zendeli K, Lee JB. Pigmented solar (actinic) keratosis: an



- underrecognized collision lesion. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(4):647–53. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.10.050>.
27. Ciudad C, Avilés JA, Suárez R, Lázaro P. Utilidad de la dermatoscopia en el diagnóstico de las queratosis actínicas pigmentadas [Diagnostic utility of dermoscopy in pigmented actinic keratosis]. *Actas Dermosifiliogr*. 2011;102(8):623–6. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2010.11.005>.
  28. Nascimento MM, Shitara D, Enokihara MM, Yamada S, Pellacani G, Rezza GG. Inner gray halo, a novel dermoscopic feature for the diagnosis of pigmented actinic keratosis: clues for the differential diagnosis with lentigo maligna. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(4):708–15. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2014.05.025>.
  29. Tschandl P, Rosendahl C, Kittler H. Dermatoscopy of flat pigmented facial lesions. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2015;29(1):120–7. <https://doi.org/10.1111/jdv.12483>.
  30. Zalaudek I, Giacomel J, Schmid K, et al. Dermatoscopy of facial actinic keratosis, intraepidermal carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma: a progression model. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(4):589–97. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2011.02.011>.
  31. Giacomel J, Lallas A, Argenziano G, Bombonato C, Zalaudek I. Dermoscopic, “signature” pattern of pigmented and nonpigmented facial actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(2):e57–9. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2014.10.043>.
  32. Peris K, Micantonio T, Piccolo D, Fargnoli MC. Dermoscopic features of actinic keratosis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2007;5(11):970–6. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2007.06318.x>.
  33. Jaimes N, Zalaudek I, Braun RP, Tan BH, Busam KJ, Marghoob AA. Pearls of keratinizing tumors. *Arch Dermatol*. 2012;148(8):976. <https://doi.org/10.1001/archdermatol.2011.3475>.
  34. Blundo A, Cignoni A, Banfi T, Ciuti G. Comparative analysis of diagnostic techniques for melanoma detection: a systematic review of diagnostic test accuracy studies and meta-analysis. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:637069. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.637069>.
  35. Alarcon I, Carrera C, Palou J, Alos L, Malvehy J, Puig S. Impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the number needed to treat melanoma in doubtful lesions. *Br J Dermatol*. 2014;170:802–8. <https://doi.org/10.1111/bjd.12678>.
  36. Skvara H, Teban L, Fiebiger M, Binder M, Kittler H. Limitations of dermoscopy in the recognition of melanoma. *Arch Dermatol*. 2005;141:155–60. <https://doi.org/10.1001/archderm.141.2.155>.
  37. Pellacani G, Ulrich M, Casari A, et al. Grading keratinocyte atypia in actinic keratosis: a correlation of reflectance confocal microscopy and histopathology. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2015;29(11):2216–21. <https://doi.org/10.1111/jdv.13215>.
  38. Navarrete-Dechent C, DeRosa AP, Longo C, et al. Reflectance confocal microscopy terminology glossary for nonmelanocytic skin lesions: a systematic review. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80(5):1414–1427.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.12.007>.
  39. Curiel-Lewandrowski C, Myrdal CN, Saboda K, et al. In vivo reflectance confocal microscopy as a response monitoring tool for actinic keratosis undergoing cryotherapy and photodynamic therapy. *Cancers (Basel)*. 2021;13(21):5488. <https://doi.org/10.3390/cancers13215488>.

## Article

# Reflectance Confocal Microscopy and Dermoscopy of Facial Pigmented and Non-Pigmented Actinic Keratosis Features before and after Photodynamic Therapy Treatment

Ewelina Mazur <sup>1,2</sup> , Dominika Kwiatkowska <sup>1</sup>  and Adam Reich <sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Dermatology, Institute of Medical Sciences, Medical College of Rzeszów University, 35-959 Rzeszów, Poland; dokwiatkowska@ur.edu.pl (D.K.);

<sup>2</sup> Doctoral School, University of Rzeszów, 35-310 Rzeszów, Poland

\* Correspondence: adamandrzejreich@gmail.com

**Simple Summary:** Actinic keratosis (AK) is a very prevalent precancerous condition that can progress to an invasive form of squamous cell carcinoma. Photodynamic therapy (PDT) is a relatively new therapeutic method, and it has become widely used to treat skin cancer of non-melanoma type, particularly because of its good cosmetic outcome. New noninvasive imaging techniques, such as in vivo reflectance confocal microscopy (RCM) or (video)dermoscopy, can help practitioners make a diagnosis and assess the efficacy of the ongoing treatment. Nevertheless, there are no studies with in vivo RCM assessing the effect of PDT on characteristic features of different AK subtypes. Our objective was to evaluate the prevalence of specific (video)dermoscopy and RCM features of pigmented and classical subtypes of AK before and after photodynamic therapy (PDT) treatment. New noninvasive imaging techniques such as RCM and (video)dermoscopy can help practitioners better visualize the efficacy of the ongoing PDT treatment in either classical or pigmented AKs subtypes.



**Citation:** Mazur, E.; Kwiatkowska, D.; Reich, A. Reflectance Confocal Microscopy and Dermoscopy of Facial Pigmented and Non-Pigmented Actinic Keratosis Features before and after Photodynamic Therapy Treatment. *Cancers* **2023**, *15*, 5598. <https://doi.org/10.3390/cancers15235598>

**Academic Editors:** Paola Savoia and Erika Zavattaro

**Received:** 1 November 2023

**Revised:** 22 November 2023

**Accepted:** 24 November 2023

**Published:** 27 November 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Actinic keratosis (AK), due to its widespread prevalence, as well as the possibility of progression to an invasive form of squamous cell carcinoma, requires treatment regardless of the clinical stage. New imaging techniques, such as in vivo reflectance confocal microscopy (RCM), significantly increase the accuracy of diagnosis and allow noninvasive evaluation of the therapeutic efficacy of the ongoing treatment. Our objective was to evaluate the prevalence of specific (video)dermoscopy and RCM features of pigmented and classical subtypes of AK before and after photodynamic therapy (PDT) treatment. We included patients with facial grade II AKs (25 pigmented, 275 non-pigmented) were included in the study. Skin lesions were evaluated by (video)dermoscopy and RCM at the baseline and three months after PDT. In classic AK, the most frequent dermoscopic findings were fine wavy vessels (96%), scale (92%), microerosions (48%), and “strawberry” pattern (36%), while pigmented AK was characterized mostly by “rhomboidal pattern” (80%), scale (60%), white globules (48%), “jelly sign”, and superficial pigmentation (40%). RCM’s most characteristic classic AK findings were abnormal honeycomb pattern in the spinous layer, epidermal inflammatory infiltrate, and solar elastosis that were present in 96% of lesions. Pigmented AKs presented mostly with dark central areas of parakeratosis (72%), mottled pigmentation (72%), dermal inflammatory infiltrate (64%), solar elastosis (60%), and abnormal honeycomb pattern in the spinous layer (56%). Dermoscopically, PDT resulted in complete disappearance of the “rhomboidal pattern” in both classical and pigmented AKs, “starburst pattern” and “jelly sign” in classical AKs, and inner gray halo, “rosette sign” and central crust in pigmented AKs. Three months after one PDT session, RCM evaluation showed mostly solar elastosis in both classical and pigmented AK subtypes, epidermal inflammatory infiltrate in classical AKs, and dermal inflammatory infiltrate in pigmented AKs. New noninvasive imaging techniques such as RCM and (video)dermoscopy can help practitioners better visualize the efficacy of the ongoing PDT treatment in either classical or pigmented AK subtypes.



**Keywords:** reflectance confocal microscopy; RCM; dermoscopy; actinic keratosis; AK; photodynamic therapy; PDT

## 1. Introduction

Actinic keratosis (AK), also known as solar keratosis, is a very commonly diagnosed skin pathology among Europeans [1,2]. Sun-exposed areas are prone to be affected by AK lesions, especially on the face, scalp, or dorsum of the hands [3]. Cumulative, lifelong ultraviolet (UV) exposure increases the risk of developing AK. Fair-skinned (Fitzpatrick I or II), older individuals are the most commonly affected [1,2]. This association is further strengthened because AK is considered a precursor to cutaneous squamous cell carcinoma (SCC) [4]. AK and SCC lesions share similar genetic abnormalities in, among others, UVB-related mutations in p53 [5]. The basal layer of the epidermis seems to be particularly affected by the UVB rays, as it damages its DNA and catalyzes the SCC formation [6]. UVA radiation, while deeper-penetrating into the skin (dermis), promotes injury through the free (hydroxyl) radicals formation, but contrary to UVB, it is not associated with keratinocyte dysplasia [7]. Apart from UVR-mediated oncogenic properties, chronic sun exposure demonstrated the ability to create a state of epidermal immunosuppression [8].

AKs present several clinical variants, such as hyperkeratotic AK, atrophic, pigmented, lichenoid AK, cutaneous horn, and actinic cheilitis [9]. Based on histopathological examination, it is also possible to categorize AKs into seven subtypes: hypertrophic, atrophic, bowenoid, acantholytic, epidermolytic, lichenoid, and pigmented, that may overlap in a single lesion [10,11]. On the other hand, the most simple classification, easy to use in a clinical setting, is the one that differentiates between non-pigmented and pigmented lesions [12,13]. Different therapeutic strategies have been implemented regarding different AK subtypes [14,15]. Photodynamic therapy (PDT) is an ideal treatment option for AKs because it is a field-directed treatment that targets the field of cancerization. It destructs selectively diseased tissue and is characterized by a good cosmesis, and limited downtime [16]. In vivo reflectance confocal microscopy (RCM) as a noninvasive diagnostic tool that generates characteristics correlating with histopathologic features. In the case of AK, those features encompass atypical keratinocytes, parakeratosis, and vascular alterations. The main RCM features of pigmented AKs are the presence of scaling and parakeratosis, atypical keratinocytes; bright, small, dermal papillae with enlarged interpapillary space; increased epidermal thickness and intraepidermal dendritic cells referable to Langerhans cells [17]. Recently, RCM has been more commonly used for monitoring treatments of AK, including PDT, with good accuracy [18,19]. Our team published an article regarding the PDT treatment of facial pigmented AKs [15]. Nevertheless, there are no studies with in vivo RCM assessing the effect of PDT on characteristic features of different AK subtypes.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Patients

The study was performed in accordance with the Helsinki Declaration of 1964 and its later amendments. Informed consent was obtained from the patients for participation in the study. The study enrolled 52 patients (34 women, 18 men), Fitzpatrick phototype II, with a total of 300 AKs treated. The mean ( $\pm$ standard deviation) age of the patients was  $73.61 \pm 10.91$  years. Patients presenting with facial AKs grade II were diagnosed and assessed based on typical features via both (video)dermoscopic as well as RCM examination.

### 2.2. Study Design

This is a prospective study of patients with facial AK lesions treated from May 2022 to June 2023 at the Dermatology Clinic of Clinical University Hospital, Rzeszow, Poland. A total of 300 facial skin lesions (25 pigmented AKs, 275 non-pigmented AKs) grade II according to Olsen's 1991 criteria [20] were assessed with a (video)dermatoscope (Canfield

D200EVO; Canfield Scientific GmbH, Bielefeld, Germany) and RCM (VivaScope 1500/3000; MAVIG GmbH, Munich, Germany). Out of the 300 facial lesions, 45.7% were located on the forehead, 33% on cheeks, 17.6% on the nose, and 3.7% in the perioral area. All assessments were performed before (day 0) and 3 months after (day 112) the PDT session. The lesional skin was previously degreased with 70% ethanol and gently debrided with a curette. Later, the 5-ALA 10% gel (Ameluz, Biofrontera, Inc., Wakefield, MA, USA) was applied. We removed the occlusive, light-shielding dressings after 180 min of incubation period and washed off residues of the preparation with mild soap and water. Next, AK lesions were illuminated with light (TreviLux; MEDlight GmbH, Herford, Germany, pulsed red light, 630 nm). Each patient received one PDT treatment with a total dose of light equal to  $37 \text{ J/cm}^2$  for each lesion.

### 2.3. Videodermoscopy

Three hundred skin lesions (25 pigmented and 275 non-pigmented), Olsen's grade II, were assessed using the (video)dermatoscope (Canfield D200EVO; Canfield Scientific GmbH, Bielefeld, Germany) at 20- to 70-fold magnification. First, the assessment was performed without immersion fluid ("dry dermoscopy"), then with the use of the ultrasound gel ("wet dermoscopy"). The presence and prevalence of specific dermoscopic AK criteria were assessed. For the pigmented AK lesions following, gray granularity/globules/dots, gray-brown pseudo-network, structureless brown pigmentation, annular granular pattern, hyperpigmented rim of the follicular opening, asymmetrical pigmented follicular openings, as well as jelly sign were assessed. For the classic AK lesions, features such as red pseudo-network, superficial broken-up network, dotted vessels, the "star-like" appearance at the periphery of the lesion, rhomboidal pattern, scale and crust, the double white clods, rosettes, "strawberry sign", white structureless clods, white globules, microerosions, fine wavy vessels, white and wide follicular openings were assessed at day 0 and at day 112 (three months) after the PDT session.

### 2.4. Reflectance Confocal Microscopy

All analyzed lesions (275 non-pigmented, 25 pigmented) underwent imaging with a near-infrared (diode laser at a wavelength of 830 nm) reflectance confocal microscope (VivaScope 1500/3000; MAVIG GmbH, Munich, Germany). Per each lesion, a minimum of three mosaics ( $16 \times 16$  images of  $500 \times 500 \mu\text{m}$ ) were obtained, at the superficial epidermal layer, dermo-epidermal junction, and papillary dermal level, respectively. In technically challenging areas, a 3000 handheld device was used. In that case, at least 5 vivastacks (25–30 images of  $750 \times 750 \mu\text{m}$ ) were acquired.

The RCM criteria, that we analyzed in all AKs, included the following features: disruption/individual cells/detached corneocytes, dark central areas of parakeratosis, keratin-filled invagination, corneal pseudocysts, atypical keratinocytes, epidermal and dermal inflammatory infiltrates, disarranged/loss of epidermal pattern, mottled pigmentation, nuclear polarization of spinous layer, intraepidermal dendritic cells, targetoid cells, ringed areas/small and bright papillae or densely packed papillae, presence of cords, polycyclic papillary contours, plump bright cells, vessels traversing dermal papillae ("bottom-hole"), solar elastosis, linear vessels, and increased vasculature.

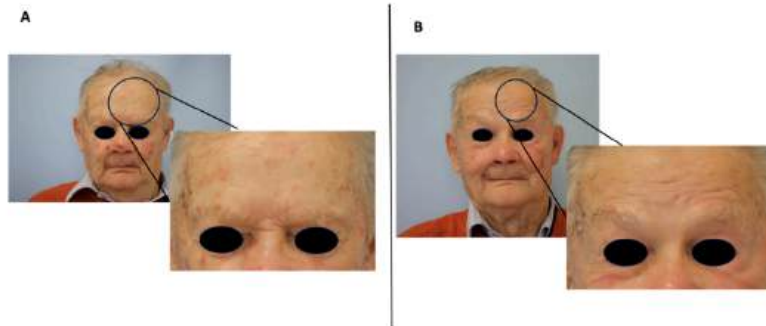
All clinical, dermoscopic, and RCM examinations were performed in an independent manner by two dermatologists (E.M. and D.K.) with experience in dermoscopy and RCM. Cohen's kappa coefficient was used to calculate interobserver agreement between the researchers using Statistica® 13.0 Software for Windows Software (Statsoft Polska, Kraków, Poland). Any discrepancies were discussed until a consensus was reached.

## 3. Results

Cohen's kappa value of interobserver agreement between researcher E.M. and D.K. regarding clinical, dermoscopy, and RCM features of AK before and after PDT treatment was good, equal to 0.78.

### 3.1. Clinical Assessment

All patients benefited from PDT therapy. In the group of classic AK, as well as in the pigmented AK group, 76% and 24% of all patients achieved grade I and 0, respectively, according to Olsen's criteria (Figure 1).



**Figure 1.** Clinical improvement of classic AK after three months of photodynamic therapy treatment (PDT). (A) Before PDT, (B) 3 months after PDT.

### 3.2. Videodermoscopy

A total of 300 skin lesions (275 non-pigmented, 25 pigmented) were assessed using the videodermoscope (Canfield D200EVO; Canfield Scientific GmbH, Bielefeld, Germany). The presence and prevalence of specific dermoscopic pigmented and classic AK criteria were assessed before (day 0) and after (day 112) the PDT session and are summarized in Table 1. To increase the clarity of data presentation, dermoscopic parameters that were not observed in any of the lesions are not included in Table 1.

**Table 1.** Change in frequency of dermoscopic classic and pigmented actinic keratosis (AK) criteria at the baseline and three months after single photodynamic therapy treatment (PDT).

| Criterion                 | Classic AK        |                                        | Pigmented AK      |                                        |
|---------------------------|-------------------|----------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|
|                           | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment |
| Fine wavy vessels         | 96.4 (265)        | 87.6 (241)                             | 0 (0)             | 0 (0)                                  |
| Scale                     | 92 (253)          | 51.6 (142)                             | 60 (15)           | 4 (1)                                  |
| Rosette sign              | 63.6 (175)        | 27.6 (76)                              | 24 (6)            | 0 (0)                                  |
| Microerosions             | 48 (132)          | 3.6 (10)                               | 0 (0)             | 0 (0)                                  |
| Strawberry pattern        | 36.4 (100)        | 16 (44)                                | 0 (0)             | 0 (0)                                  |
| White structureless clods | 36 (99)           | 4 (11)                                 | 0 (0)             | 0 (0)                                  |
| White globules            | 31.6 (87)         | 8.4 (23)                               | 28 (7)            | 4 (1)                                  |
| Jelly sign                | 12.4 (34)         | 0 (0)                                  | 40 (10)           | 4 (1)                                  |
| Rhomboidal pattern        | 8 (22)            | 0 (0)                                  | 80 (20)           | 0 (0)                                  |
| Starburst pattern         | 7.6 (21)          | 0 (0)                                  | 0 (0)             | 0 (0)                                  |
| White globules            | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 48 (12)           | 24 (6)                                 |

Table 1. Cont.

| Criterion                | Classic AK        |                                        | Pigmented AK      |                                        |
|--------------------------|-------------------|----------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|
|                          | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment |
| Inner gray halo          | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 36 (9)            | 0 (0)                                  |
| Annular granular pattern | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 32 (8)            | 20 (5)                                 |
| White circles            | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 28 (7)            | 4 (1)                                  |
| Double white clods       | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 20 (5)            | 4 (1)                                  |
| Fingerprinting           | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 16 (4)            | 4 (1)                                  |
| Central crust            | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 4 (1)             | 0 (0)                                  |
| Grayish areas            | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 4 (1)             | 4 (1)                                  |

Abbreviations: AK—actinic keratosis, n—number of lesions, PDT—photodynamic therapy.

### 3.2.1. Classic AK

In classic AK, the most frequent dermoscopic findings were fine wavy vessels (96.4%), scale (92%), “rosette sign” (63.6%), microerosions (48%), “strawberry” pattern (36.4%), white structureless clods (36%), and white globules (31.6%). “Jelly sign”, “rhomboidal pattern”, and “starburst pattern” were observed less frequently, in 12.4%, 8%, and 7.6% of cases, respectively.

Three months after one PDT session, lesions presented mostly with fine wavy vessels (87.6%), scale (51.6%), “rosette sign” (27.6%), and “strawberry pattern” (16%). A number of lesions presenting with microerosions, white structureless clods, and white globules diminished (by 44.4%, 32%, and 23.2%, respectively), while “jelly sign”, “rhomboidal pattern”, and “starburst pattern” disappeared completely.

### 3.2.2. Pigmented AK

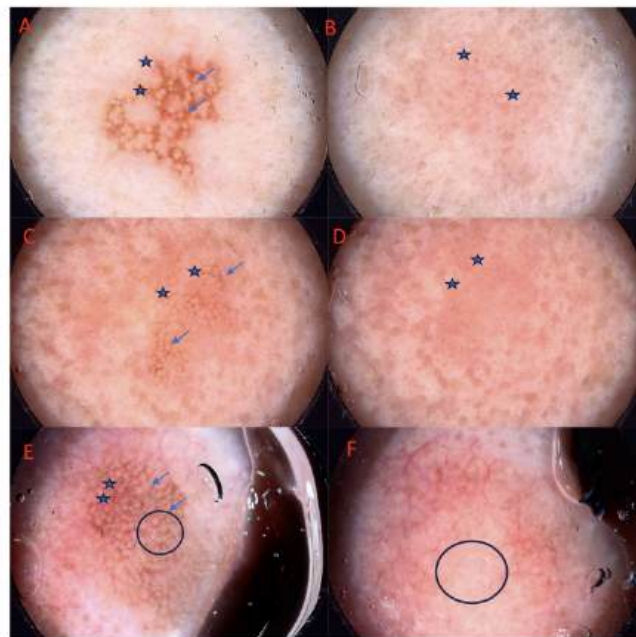
In pigmented AK, the most frequent dermoscopic findings were “rhomboidal pattern” (80%), scale (60%), white globules (48%), “jelly sign” and superficial pigmentation (40%), inner gray halo (36%), “annular granular pattern” (32%), while white circles, “rosette sign”, double white clods, fingerprinting, central crust, and grayish areas were not as commonly observed (in 28%, 24%, 20%, 16%, 5%, and 4% of lesions, respectively).

Three months after one PDT session, lesions presented mostly with white globules (24%) and an “annular granular pattern” (20%). A number of lesions presenting with scale, “jelly sign” and superficial pigmentation, white circles, double white clods, and fingerprinting diminished (by 56%, 36%, 24%, 16%, and 12%, respectively), while “rhomboidal pattern”, inner gray halo, “rosette sign”, and central crust disappeared completely (Figure 2).

### 3.3. Reflectance Confocal Microscopy

Three hundred AK lesions (275 non-pigmented, 25 pigmented) underwent RCM imaging with a near-infrared reflectance confocal microscope (VivaScope 1500/3000; MAVIG GmbH, Munich, Germany). The median time spent on one AK lesion acquisition was around 120 s for VivaScope 1500 and about half that time for the 3000 device. However, the assessment of a single patient usually lasted about 30 min, including about 5 min for videodermoscopy and 20–25 min for RCM. Specific RCM pigmented and classic AK criteria, and their prevalence, were assessed before at day 0 and at day 112 after the PDT session. To increase the clarity of data presentation, RCM parameters that were not observed in any of the lesions are not included in this paragraph. Selected features of RCM characteristic of AK are presented in Figure 3.





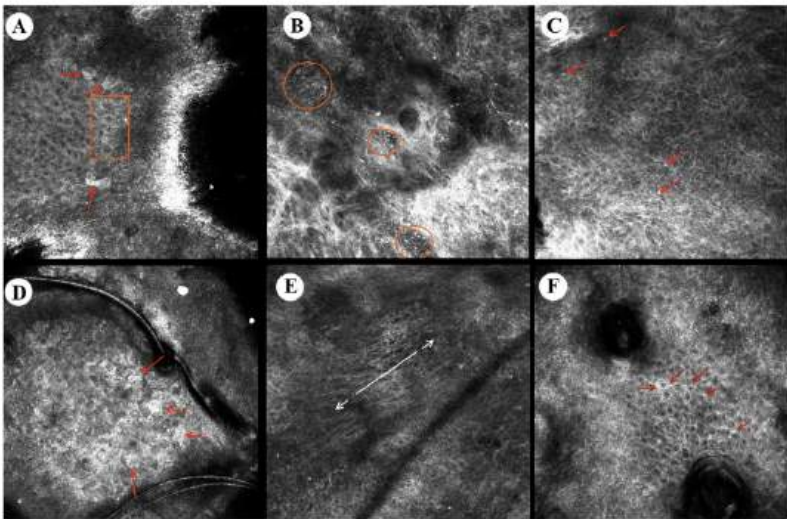
**Figure 2.** Improvement of pigmented AK after three months of photodynamic therapy treatment (PDT). From left to right: (A) asterisk—superficial pigmentation, jelly sign, arrows—rhomboidal pattern, (B) asterisks—grayish areas, (C) asterisk—superficial pigmentation, jelly sign, arrows—rhomboidal pattern, (D) asterisk—jelly sign, (E) arrows—superficial pigmentation, rhomboidal pattern, asterisk—grayish areas, circle—inner gray halo, (F) circle—white globules.

### 3.3.1. Classic AK

In classic AK, the most frequent RCM findings were abnormal honeycomb patterns in the spinous layer (96%), as well as epidermal inflammatory infiltrate and solar elastosis that were present in 95.6% of lesions, whereas dark central areas of parakeratosis, disarranged spinous layer, increased vasculature, and dermal inflammatory infiltrate were observed less frequently, namely in 92%, 87.6%, 39.6%, and 35.6% of lesions, respectively (Table 2).

Three months after one PDT session, lesions presented mostly with solar elastosis (92%), epidermal inflammatory infiltrate (40%), and dark central areas of parakeratosis (28.4%). A number of lesions presenting with abnormal honeycomb pattern in the spinous layer, disarranged spinous layer, dermal inflammatory infiltrate, and increased vasculature diminished (by 72.4%, 68%, 31.2%, and 27.6%, respectively), while detached corneocytes, dendritic processes, and round nucleated cells in the spinous layer disappeared completely.





**Figure 3.** Reflectance confocal microscopy images of actinic keratosis. From left to right: (A) detached corneocytes (arrows), parakeratosis (quadrangle), (B) dermal inflammatory infiltrate with round lymphocytes (circles), (C) epidermal inflammatory round cells (arrows), (D) detached corneocytes (arrows), (E) nuclear polarization (arrows) in the spinous layer, (F) increased intracellular space in stratum granulosum (arrows).

**Table 2.** Change in frequency of reflectance confocal microscopy classic and pigmented actinic keratosis (AK) criteria at the baseline and three months after photodynamic therapy treatment (PDT).

| Criterion                                   | Classic AK        |                                        | Pigmented AK      |                                        |
|---------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|
|                                             | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment |
| Abnormal honeycomb pattern in spinous layer | 96 (264)          | 23.6 (65)                              | 56 (14)           | 20 (5)                                 |
| Epidermal inflammatory infiltrate           | 95.6 (263)        | 40 (110)                               | 40 (10)           | 20 (5)                                 |
| Solar elastosis                             | 95.6 (263)        | 92 (253)                               | 60 (15)           | 52 (13)                                |
| Dark central areas of parakeratosis         | 92 (253)          | 28.4 (77)                              | 72 (18)           | 28 (7)                                 |
| Disarranged spinous layer                   | 87.6 (241)        | 19.6 (54)                              | 40 (10)           | 16 (4)                                 |
| Increased vasculature                       | 39.6 (109)        | 12 (33)                                | 52 (13)           | 32 (8)                                 |
| Dermal inflammatory infiltrate              | 35.6 (98)         | 4.4 (12)                               | 64 (16)           | 32 (8)                                 |
| Nuclear polarization of spinous layer       | 24.4 (67)         | 4 (11)                                 | 36 (9)            | 4 (1)                                  |
| Dendritic processes                         | 24 (66)           | 0 (0)                                  | 44 (11)           | 12 (3)                                 |

Table 2. Cont.

| Criterion                              | Classic AK        |                                        | Pigmented AK      |                                        |
|----------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|
|                                        | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment | % (n) at Baseline | % (n) Three Months after PDT Treatment |
| Loss of honeycomb pattern              | 20 (55)           | 3.6 (10)                               | 8 (2)             | 0 (0)                                  |
| Detached corneocytes                   | 16.4 (45)         | 0 (0)                                  | 32 (8)            | 4 (1)                                  |
| Round nucleated cells in spinous layer | 4.4 (12)          | 0 (0)                                  | 24 (6)            | 4 (1)                                  |
| Mottled pigmentation                   | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 72 (18)           | 16 (4)                                 |
| Polycyclic papillary contours          | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 32 (8)            | 12 (3)                                 |
| Plump bright cells                     | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 28 (7)            | 32 (8)                                 |
| Small and bright papillae              | 0 (0)             | 0 (0)                                  | 24 (6)            | 4 (1)                                  |

Abbreviations: AK—actinic keratosis, n—number of lesions, PDT—photodynamic therapy.

### 3.3.2. Pigmented AK

In pigmented AK, the most frequent RCM findings were dark central areas of parakeratosis (72%), mottled pigmentation (72%), dermal inflammatory infiltrate (64%), solar elastosis (60%), and abnormal honeycomb pattern in the spinous layer (56%). On the other hand, disarranged spinous layer, epidermal inflammatory infiltrate, nuclear polarization of spinous layer, detached corneocytes, and polycyclic papillary contours were observed less frequently—in 40%, 40%, 36%, 32%, and 32% of cases, respectively.

Three months after one PDT session, lesions presented mostly with solar elastosis (52%), dermal inflammatory infiltrate (32%), increased vasculature (32%), and plump bright cells (32%).

A number of lesions presenting with mottled pigmentation, dark central areas of parakeratosis, abnormal honeycomb pattern in the spinous layer, dendritic processes, and nuclear polarization of the spinous layer diminished (by 56%, 44%, 36%, 32%, and 32%, respectively), while loss of honeycomb pattern was no longer observed in any of the lesions. The only feature that slightly increased in prevalence three months after PDT was plump bright cells (from 28% to 32%) (Table 2).

## 4. Discussion

As early as in 2009, a group of German researchers decided to test the applicability of RCM for noninvasive monitoring of actinic field cancerization. Patients participating in this study applied imiquimod 5% cream in a defined study area three times weekly for a total of four weeks. Serial RCM evaluations were performed at baseline, two weeks after initiation of therapy, and four weeks after the end of treatment. RCM was able to identify subclinical AK by visualization of residual cellular and nuclear atypia within the spinous cell layer. This suggests that RCM may aid in the detection of incomplete lesion clearance, increasing diagnostic accuracy compared to clinical evaluation alone. According to Ulrich et al., the adjunct use of noninvasive optical techniques may increase the therapeutic efficacy of AK treatments [21]. Those findings are in concordance with our results, in which a single session of PDT treated around 75–80% of the studied lesions; however, in the remaining percentage of lesions, we could still observe features characteristic of AK in both dermoscopy and RCM [21]. Histopathological diagnosis has always been the gold standard in dermatological diagnosis of many disease entities. In 2018, Ishioka et al. assessed the RCM accuracy, sensibility, and specificity for AK in 5% 5-fluorouracil treatment, comparing it with the histopathological examination [22]. A total of 50 lesions located on forearms were enrolled. After initial RCM evaluation, topical occlusive treatment with 5% 5-FU cream was prescribed to the affected region (wrist to elbow) every 12 h for a minimum period of four weeks. Another RCM assessment was carried out thirty days after the end of treatment and a biopsy was taken from the studied sites. The concordance of RCM and

pathologists' diagnosis was substantial ( $\kappa = 0.637$ ,  $p < 0.001$ ). This study validated RCM as a noninvasive method capable of monitoring AK therapeutic response with efficacy comparable to histological examination [22].

Over the last decade, new therapeutic options for AK have emerged—e.g., Da Silva Sousa et al. in 2019 evaluated the efficacy of daylight PDT (dl-PDT) in facial and scalp AKs using RCM [23]. The examination was conducted in six patients before, one week after, and three months after the dl-PDT session. The presence of the following RCM AK criteria was assessed: scale, nucleated cells in stratum corneum, intraepithelial nucleated cells, atypical honeycomb pattern, dermal inflammatory cells, actinic elastosis. The study demonstrated a normalization of the honeycomb pattern (mean cure rate 74%) and resolution of AKs faster than the clinical evaluation. Interestingly, according to the authors, PDT results were already seen one week after the therapy and have lasted up to the next RCM examination (three months after the treatment) [23].

RCM can be also used to compare different treatment regimens and assess their supremacy. Mota et al. in 2020, used RCM to collate two different cryotherapy protocols for AK [24]. Grade II AKs on the forearms were subjected to a freezing and thawing time of 10 s for one cycle (group A) or two cycles (group B). At baseline and four weeks after treatment, the same dermatologists assessed RCM pictures. Two cycles induced a more marked improvement in parakeratosis and inflammation in the epidermis. On the other hand, there was no statistically significant variation in hyperkeratosis, keratinocyte atypia, dyskeratosis, dermal inflammation, and fibrosis. Therefore, two cycles of cryotherapy, according to RCM, did not generate more side effects (such as fibrosis) while yielding better results [24].

As definitions and assessments of different RCM features of AK may vary among the researchers, several papers were published to unify the topic of nomenclature in RCM keratinocyte atypia examination [25–27]. In 2011, Gareau et al. created a computer model that was able to noninvasively evaluate keratinocyte populations as a quantitative morphometric diagnosis in skin cancer detection. It evaluated the cytoarchitectural disorganization and provided objective and quantitative data for dyskeratosis detection and quantification [25]. However, even though automatic identification of epidermal keratinocytes is a promising technique, it is not yet universally available.

Pellacani et al. created a visual representation of different degrees of keratinocyte atypia in AK and correlated them with corresponding histopathological images [26]. They achieved a good assessor correlation between the RCM and histopathology data that demonstrated that trained raters are able to consistently distinguish different levels of cytological atypia. According to the authors, the identification of 'key' RCM images (representative lesional horizontal section of the epidermis at the stratum spinosum level) may represent a reference standard for grading keratinocyte atypia through RCM examination. Pellacani et al. created five different grades of atypia, in which raters should focus on assessing irregularity within the honeycomb pattern, keratinocyte contours, their size, shape, and presence of the nucleus [26]. Seyed Jafari et al. on the other hand, to better correspond to the histopathological examination, proposed a classification with only three degrees of atypia, based on irregularities in the honeycomb pattern, architectural disruption, keratinocyte borders, and their morphology [27].

In recent years, an effort has been made to identify reliable AK response criteria. Curiel-Lewandrowski et al. across different AK severity grades, made a comparison of their clinical and RCM responses [18]. The study included twenty patients randomized to receive either PDT or cryotherapy. The assessments (clinical and RCM) were performed in both AK lesions as well as photodamaged skin at baseline, three and six months. They observed significant reductions in many of the RCM criteria. The authors suggested that features such as hyperkeratosis, atypical honeycomb patterns, stratum corneum disruptions, and disarranged epidermal patterns are the most useful criteria when assessing AK response to treatment. They displayed the highest baseline OR and regardless of AK grade or treatment modality were suggestive of significant response to treatment. The authors made the



conclusion that RCM may in the future standardize the therapeutic monitoring of AK. However, a uniform RCM measurement protocol of AK treatment response is needed [18].

In our previous study, we found that PDT is an effective treatment modality for facial pAKs in fair-skinned individuals [15]. In dermoscopy, we observed the low resolution of the “annular granular pattern” and the increase in the presence of so-called “grayish areas”. We proposed that this phenomenon can correspond to the Tyndall effect, possibly created by the PDT-related activation of melanophages in the upper layer of the dermis. Further analysis with RCM focused on different AK features and confirmed our suspicion, as we also observed that the treatment with PDT in pAKs leads to the increase in the presence of so-called “plump bright cells” corresponding to melanophages.

## 5. Conclusions and Limitations

The current study demonstrates that the use of new noninvasive imaging techniques such as RCM and videodermoscopy can better visualize the efficacy of the ongoing AK treatment. Moreover, it can facilitate the diagnosis of subclinical lesions. It also suggests that the efficacy of PDT in pAKs is not inferior to non-pigmented AKs. RCM and videodermoscopy are useful tools in evaluating the efficacy of ongoing PDT in the treatment of solar keratosis in both its pigmented and non-pigmented subtypes. The current study limitations include only Caucasian patients (Fitzpatrick phototype II) as a study population and single-center design.

**Author Contributions:** Conceptualization and methodology, E.M.; validation, E.M., D.K. and A.R.; formal analysis, E.M.; investigation, E.M. and D.K.; writing—original draft preparation, E.M.; writing—review and editing, D.K. and A.R.; visualization, E.M.; supervision, A.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was performed in accordance with the Helsinki Declaration of 1964 and its later amendments, and it was approved by the Bioethics Committee of the University of Rzeszow (6/11/2020 dated 19 November 2020).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from the patients for participation in the study and publication of the article, including the publication of clinical photographs.

**Data Availability Statement:** The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

**Acknowledgments:** We thank the participants of the study.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Ferrándiz, C.; Plazas, M.J.; Sabaté, M.; Palomino, R.; EPIQA Study Group. Prevalence of actinic keratosis among dermatology outpatients in Spain. *Actas Dermosifiliogr.* **2016**, *107*, 674–680. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Schaefer, I.; Augustin, M.; Spehr, C.; Reusch, M.; Kornek, T. Prevalence and risk factors of actinic keratoses in Germany—analysis of multisource data. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2014**, *28*, 309–313. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Richard, M.A.; Amici, J.M.; Basset-Seguín, N.; Claudel, J.P.; Cribier, B.; Dreno, B. Management of actinic keratosis at specific body sites in patients at high risk of carcinoma lesions: Expert consensus from the AKTeam<sup>TM</sup> of expert clinicians. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2018**, *32*, 339–346. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Ahmady, S.; Jansen, M.H.E.; Nolemans, P.J.; Kessels, J.; Arits, A.; de Rooij, M.J.M.; Essers, B.A.B.; Quaedvlieg, P.J.F.; Kelleners-Smeets, N.W.J.; Mosterd, K. Risk of Invasive Cutaneous Squamous Cell Carcinoma after Different Treatments for Actinic Keratosis: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Dermatol.* **2022**, *158*, 634–640. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Zalaudek, I.; Piana, S.; Moscarella, E.; Longo, C.; Zendri, E.; Castagnetti, F.; Pellacani, G.; Lallas, A.; Argenziano, G. Morphologic grading and treatment of facial actinic keratosis. *Clin. Dermatol.* **2014**, *32*, 80–87. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Kamstrup, M.R.; Gniadecki, R.; Skovgaard, G.L. Putative cancer stem cells in cutaneous malignancies. *Exp. Dermatol.* **2007**, *16*, 297–301. [\[CrossRef\]](#)
7. Oliveira, E.C.V.; Motta Valéria, R.V.; Pantoja, P.C.; de Ilha, C.S.O.; Magalhães Renata, F.; Galadari, H.; Leonardi, G.R. Actinic keratosis—Review for clinical practice. *Int. J. Dermatol.* **2019**, *58*, 400–407. [\[CrossRef\]](#)
8. Berman, B.; Perez, O.A.; Zell, D. Immunological strategies to fight skin cancer. *Skin Ther. Lett.* **2006**, *11*, 1–7.

9. Moy, R.L. Clinical presentation of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2000**, *42*, Pt 2, 8–10. [CrossRef]
10. Rosen, T.; Lebwohl, M.G. Prevalence and awareness of actinic keratosis: Barriers and opportunities. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2013**, *68* (Suppl. 1), S2–S9. [CrossRef]
11. Roewert-Huber, J.; Stockfleth, E.; Kerl, H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis—An update. *Br. J. Dermatol.* **2007**, *157* (Suppl. 2), 18–20. [CrossRef] [PubMed]
12. Sgouros, D.; Theofilis, M.; Zafeiropoulou, T.; Lallas, A.; Apalla, Z.; Zaras, A.; Liopyris, K.; Pappa, G.; Polychronaki, E.; Kousta, F.; et al. Dermoscopy of Actinic Keratosis: Is There a True Differentiation between Non-Pigmented and Pigmented Lesions? *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 1063. [CrossRef] [PubMed]
13. Balcer, A. Dermatoscopy of Facial Non-Pigmented Actinic Keratosis and Intraepidermal Carcinoma. In *Dermatoscopy*; IntechOpen: London, UK, 2022. [CrossRef]
14. Mohanna, M.T.; Hofbauer, G.F. Bowenoid Actinic Keratosis and Bowen's Disease Treated Successfully with Ingenol Mebutate. *Dermatology* **2016**, *232* (Suppl. 1), 14–16. [CrossRef] [PubMed]
15. Mazur, E.; Reich, A. Photodynamic Therapy is an Effective Treatment of Facial Pigmented Actinic Keratosis. *Dermatol. Ther.* **2023**, *13*, 1265–1276. [CrossRef] [PubMed]
16. Galitzer, B.I. Photodynamic Therapy for Actinic Keratoses of the Upper Extremities using 10% Aminolevulinic Acid Gel, Red Light, and Adapalene Pretreatment. *J. Clin. Aesthetic Dermatol.* **2021**, *14*, 19–24.
17. Stanganelli, I.; Spagnolo, F.; Argenziano, G.; Ascierio, P.A.; Bassotto, F.; Bossi, P.; Donato, V.; Massi, D.; Massone, C.; Patuzzo, R.; et al. The Multidisciplinary Management of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Comprehensive Review and Clinical Recommendations by a Panel of Experts. *Cancers* **2022**, *14*, 377. [CrossRef] [PubMed]
18. Curiel-Lewandrowski, C.; Myrdal, C.N.; Saboda, K.; Hu, C.; Arzberger, E.; Pellacani, G.; Legat, F.J.; Ulrich, M.; Hochfellner, P.; Oliviero, M.C.; et al. In Vivo Reflectance Confocal Microscopy as a Response Monitoring Tool for Actinic Keratoses Undergoing Cryotherapy and Photodynamic Therapy. *Cancers* **2021**, *13*, 5488. [CrossRef] [PubMed]
19. Nguyen, K.P.; Peppelman, M.; Hoogedoorn, L.; Van Erp, P.E.; Gerritsen, M.P. The current role of in vivo reflectance confocal microscopy within the continuum of actinic keratosis and squamous cell carcinoma: A systematic review. *Eur. J. Dermatol.* **2016**, *26*, 549–565. [CrossRef]
20. Olsen, E.A.; Abernethy, M.L.; Kulp-Shorten, C.; Callen, J.P.; Glazer, S.D.; Huntley, A.; McCray, M.; Monroe, A.B.; Tschien, E.; Wolf, J.E. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating masoprocol cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J. Am. Acad. Dermatol.* **1991**, *24*, Pt 1, 738–743. [CrossRef]
21. Ulrich, M.; Krueger-Corcoran, D.; Roewert-Huber, J.; Sterry, W.; Stockfleth, E.; Astner, S. Reflectance confocal microscopy for noninvasive monitoring of therapy and detection of subclinical actinic keratoses. *Dermatology* **2010**, *220*, 15–24. [CrossRef]
22. Ishioka, P.; Maia, M.; Rodrigues, S.B.; Lellis, R.F.; Hirata, S.H. In vivo Confocal Laser Microscopy for monitoring of actinic keratosis treatment: A comparison with histopathologic assessment after treatment with topical 5% 5-fluorouracil. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2018**, *32*, 1155–1163. [CrossRef] [PubMed]
23. Sousa, A.C.D.S.; Campos, M.A.C.; Baptista, A.M.; Menezes, N.M.B.V.N. Daylight photodynamic therapy in 25 patients with actinic keratosis and evaluation of efficacy by confocal microscopy. *Photodiatr. Photodyn. Ther.* **2019**, *25*, 414–416. [CrossRef] [PubMed]
24. Mota, A.N.C.M.; De Carvalho, N.; Pellacani, G.; de Faria, P.C.P.; Melo, D.F.; Pineiro-Maceira, J.M.; Barcaui, C.B. Reflectance confocal microscopy in actinic keratosis-Comparison of efficacy between cryotherapy protocols. *Skin Res. Technol.* **2020**, *26*, 876–882. [CrossRef] [PubMed]
25. Gareau, D. Automated identification of epidermal keratinocytes in reflectance confocal microscopy. *J. Biomed. Opt.* **2011**, *16*, 030502. [CrossRef]
26. Pellacani, G.; Ulrich, M.; Casari, A.; Prow, T.W.; Carnillo, F.; Benati, E.; Losi, A.; Cesinaro, A.M.; Longo, C.; Argenziano, G.; et al. Grading keratinocyte atypia in actinic keratosis: A correlation of reflectance confocal microscopy and histopathology. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2015**, *29*, 2216–2221. [CrossRef]
27. Seyyed Jafari, S.M.; Timchuk, T.; Hunger, R.E. In vivo confocal microscopy efficacy assessment of daylight photodynamic therapy in actinic keratosis patients. *Br. J. Dermatol.* **2016**, *175*, 375–381. [CrossRef]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



## 10. Streszczenie w języku polskim

### Wprowadzenie

Niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o cykl pięciu powiązanych tematycznie publikacji pełnotekstowych poświęconych terapii fotodynamicznej w leczeniu wybranych schorzeń dermatologicznych.

Rogowacenie słoneczne (*actinic keratosis* - AK) jest najczęstszym stanem przednowotworowym skóry. Ze względu na powszechne występowanie AK, a także możliwość progresji do inwazyjnej postaci raka płaskonabłonkowego (*squamous cell carcinoma* - SCC), jego rozpoznanie wymaga leczenia niezależnie od stadium klinicznego. Terapia fotodynamiczna (*photodynamic therapy* - PDT) jest metodą stosowaną w leczeniu AK, charakteryzującą się wysoką skutecznością i dobrym efektem kosmetycznym. W dostępnej literaturze sugerowano, że PDT może mieć ograniczoną wartość w leczeniu zmian barwnikowych. Jednakże, żadne prowadzone dotychczas badania nie analizowały skuteczności PDT w różnych podtypach AK, w tym w podtypie barwnikowym. Nie ma również prac dotyczących poprawy cech dermatoskopowych czy w obrazie z mikroskopii konfokalnej (*reflectance confocal microscopy* - RCM) po leczeniu z wykorzystaniem PDT w poszczególnych podtypach AK.

PDT, poza AK, wykorzystywana może być również w leczeniu raków podstawnokomórkowych (*basal cell carcinoma* - BCC) niskiego ryzyka, a także w pozasutkowej chorobie Pageta (*extramammary Paget's disease* - EMPD).

### Cele pracy

Celem pierwszego etapu prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej była ocena skuteczności PDT w leczeniu barwnikowego podtypu AK. W drugim etapie oceniono zastosowanie (wideo)dermatoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej w ocenie skuteczności prowadzonej PDT w klasycznym i barwnikowym podtypie AK.

## **Material i metody**

Do pierwszej pracy badawczej włączono 16 pacjentów z 20 zmianami o charakterze podtypu barwnikowego AK (*pigmented actinic keratosis - pAK*) leczonymi PDT. Wszystkie zmiany skórne oceniono klinicznie i dermatoskopowo pod kątem typowych cech charakterystycznych dla pAK. RCM została również wykorzystana do oceny atypii keratynocytów, potwierdzenia diagnozy pAK i wykluczenia innych jednostek chorobowych.

Następnie, w drugim etapie prac do badania włączono pacjentów z AK na twarzy stopnia II (25 pigmentowanych, 275 bezbarwnikowych). Zmiany skórne oceniano za pomocą (wideo)dermatoskopii i RCM na początku badania i trzy miesiące po PDT.

## **Wyniki**

W pierwszym etapie prac po trzech sesjach PDT całkowite ustąpienie wszystkich cech klinicznych pAK zaobserwowano w 80% badanych zmian. Dermatoskopowo, 65% zmian osiągnęło 100% odpowiedź, a w kontrolnych obrazach RCM w 85% zmian nie zaobserwowano atypii komórkowej.

W drugim etapie prac zaobserwowano, iż w klasycznym AK najczęstszymi objawami dermatoskopowymi były drobne faliste naczynia (96%), łuska (92%), mikroerozje (48%) i tzw. wzór „truskawki” (36%), podczas gdy pAK charakteryzował się głównie wzorem romboidalnym (80%), łuską (60%), białymi globulami (48%), tzw. „jelly sign” i powierzchowną pigmentacją (40%). Najbardziej charakterystyczne dla RCM klasyczne objawy AK to nieprawidłowy wzór „plastra miodu” w warstwie kolczystej, naciek zapalny naskórka i elastozą posłoneczną, które były obecne w 96% zmian. W pAK najczęściej obserwowanymi cechami w RCM były ciemne centralne obszary parakeratozy (72%), tzw. „mottled pigmentation” (72%), naciek zapalny skóry właściwej (64%), elastozą posłoneczną (60%) i nieprawidłowy wzór „plastra miodu” w warstwie kolczystej (56%). Dermatoskopowo, PDT spowodowało całkowite ustąpienie wzoru romboidalnego zarówno w klasycznym podtypie AK, jak i pAK, „gwiazdzystego” wyglądu na obrzeżach zmiany i tzw. „jelly sign” w klasycznych AK oraz wewnętrznej szarej obwódki, tzw. „rosette sign” i centralnie położonego strupa w pAK. Trzy miesiące po jednej sesji PDT ocena RCM wykazała głównie elastozę posłoneczną zarówno w klasycznych podtypach AK, jak i pAK,

naciek zapalny naskórka w klasycznych podtypach AK i naciek zapalny skóry właściwej w pAK stanowiące odpowiedź na prowadzone leczenie.

### **Wnioski**

Terapia fotodynamiczna wydaje się być skuteczną metodą leczenia podtypu barwnikowego rogowacenia słonecznego na twarzy u osób o jasnej karnacji. Zastosowanie nowych nieinwazyjnych technik obrazowania, takich jak RCM i wideodermatoskopia, pozwala lepiej wizualizować skuteczność prowadzonego leczenia AK zarówno w jego barwnikowych, jak i klasycznych podtypach.

## **11. Streszczenie w języku angielskim**

### **Introduction**

This dissertation is based on five thematically related full-text publications on photodynamic therapy in the treatment of selected dermatological conditions.

Actinic keratosis (AK) is considered the most prevalent precancerous skin condition. Due to the high prevalence of AK, as well as the possibility of progression to invasive squamous cell carcinoma (SCC), its diagnosis requires treatment regardless of clinical stage. Photodynamic therapy (PDT) is used to treat this condition, with high efficacy and good cosmetic results. The available literature has suggested that PDT may be of limited value in the treatment of pigmented lesions. However, no studies conducted to date have analyzed the efficacy of PDT in various AK subtypes, including the pigmented subtype. There is also no work on the improvement of dermoscopic features or abnormalities in reflectance confocal microscopy (RCM) images after treatment with PDT in the different AK subtypes.

PDT, in addition to AK, can also be used to treat low-risk basal cell carcinoma (BCC) and also, for example, extramammary Paget's disease (EMPD).

### **Aims**

The aim of the first stage of the work was to analyze the current state of knowledge about new therapeutic options for AK, the place of PDT in this indication and also the use of PDT in the treatment of the pigmented subtype of BCC of the skin. The second part of the PhD thesis evaluated the effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of the pigmented subtype of solar keratosis. The final stage evaluated the use of (video)dermoscopy and reflectance confocal microscopy in assessing the efficacy of guided PDT in classic and pigmented AK (pAK) subtypes.

### **Material and methods**

The first study included 20 lesions of the pAK in 16 patients treated with PDT. All skin lesions were evaluated clinically and dermoscopically for typical pAK features. RCM



was also used to confirm the diagnosis of pAK, and exclude other diseases, as well as to evaluate keratinocyte atypia.

Then, in the second stage of work, patients with AKs on the face of grade II (25 pigmented, 275 non-pigmented) were included in the study. Skin lesions were evaluated by (video)dermoscopy and RCM at the beginning of the study and three months after PDT.

## **Results**

In the first stage of work, after three sessions of PDT, complete resolution of all clinical features of pAK was observed in 80% of the lesions studied. Dermoscopically, 65% of the lesions achieved a total (100%) response, and no cellular atypia was observed in control RCM images in 85% of the lesions.

In the second stage of the work, it was observed that in classic AK the most common dermoscopic signs were small wavy vessels (96%), scaling (92%), microerosions (48%) and the so-called “strawberry” pattern (36%), while pAK was mainly characterized by a rhomboid pattern (80%), scaling (60%), white globules (48%), the superficial pigmentation and the so-called “jelly sign” (40% each). For the classic AK, the most characteristic RCM features were as follows: abnormal “honeycomb” pattern in the stratum spinosum, inflammatory infiltration of the epidermis, and solar elastosis, which were present in 96% of lesions. In pAK, the most common features observed in RCM were dark central areas of parakeratosis (72%), so-called “mottled pigmentation” (72%), inflammatory infiltration of the dermis (64%), solar elastosis (60%), and an abnormal “honeycomb” pattern in the spinous layer (56%). Dermoscopically, PDT resulted in complete resolution of the rhomboid pattern in both classic AK and pAK subtypes, the starburst pattern and so-called “jelly sign” in classic AK, and the inner gray halo, so-called “rosette sign” and crust in pAK. Three months after one PDT session, RCM evaluation showed mainly solar elastosis in both classic AK and pAK, inflammatory infiltration of the epidermis in classic AK, and inflammatory infiltration of the dermis in pAK - representing a response to the ongoing treatment.

## **Conclusions**

Photodynamic therapy appears to be an effective treatment for the pigmented subtype of solar keratosis on the face in fair-skinned individuals. The use of new non-invasive imaging techniques, such as RCM and videodermoscopy, can better visualize the efficacy of ongoing treatment of AK in both its pigmented and classic subtypes.

## 12. Bibliografia

1. Memon AA, Tomenson JA, Bothwell J, Friedmann PS. Prevalence of solar damage and actinic keratosis in a Merseyside population. *Br J Dermatol*. 2000; 142(6): 1154-1159. doi:10.1046/j.1365-2133.2000.03541.x
2. Eder J, Prillinger K, Korn A, Geroldinger A, Trautinger F. Prevalence of actinic keratosis among dermatology outpatients in Austria. *Br J Dermatol*. 2014; 171(6): 1415-1421. doi:10.1111/bjd.13132.
3. George CD, Lee T, Hollestein LM, Asgari MM, Nijsten T. Global epidemiology of actinic keratosis in the general population: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. 2024; 190(4): 465-476. doi:10.1093/bjd/ljad371.
4. Kandolf L, Peris K, Malvehy J, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for diagnosis, treatment and prevention of actinic keratoses, epithelial UV-induced dysplasia and field cancerization on behalf of European Association of Dermato-Oncology, European Dermatology Forum, European Academy of Dermatology and Venereology and Union of Medical Specialists (Union Européenne des Médecins Spécialistes). *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2024; 38(6): 1024-1047. doi:10.1111/jdv.19897.
5. Reich A, Lesiak A, Narbutt J, et al. Actinic keratosis – diagnostic and therapeutic recommendations of the Polish Dermatological Society. *Dermatol Rev/Przegl Dermatol*. 2024; 111(2): 81-96. doi:10.5114/dr.2024.142720.
6. Du Thanh A, Guillot B. Kératoses actiniques: quand biopsier ? [Actinic keratosis: when is a skin biopsy necessary?]. *Eur J Dermatol*. 2012; 22 Suppl 1: 13-16. doi:10.1684/ejd.2012.1874.
7. Şahin N, Bozdağ Z, Erkiliç S, Aydın NE, Şener S. Histopathological subtyping of actinic keratosis and it's coexistence with nonmelanotic skin cancers in Gaziantep and Malatya regions. *Turkderm Turk Arch Dermatol Venereol*. 2016; 50: 103-108. doi: 10.4274/turkderm.53765.

8. Mazur E, Reich A. Terapia fotodynamiczna w leczeniu rogowacenia słonecznego. *Dermatologia po Dyplomie*. 2022; 1(13): 10-15.
9. Kaviani A, Ataie-Fashtami L, Fateh M, et al. Photodynamic therapy of head and neck basal cell carcinoma according to different clinicopathologic features. *Lasers Surg Med*. 2005; 36(5): 377–382. doi: 10.1002/lsm.20186.
10. Morton CA, Szeimies RM, Basset-Séguin N, et al. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 2: emerging indications - field cancerization, photorejuvenation and inflammatory/infective dermatoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020; 34(1): 17-29. doi:10.1111/jdv.16044.
11. Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma-A Review. *Biomedicines*. 2023; 11(11): 3099.
12. Morton CA, Szeimies RM, Basset-Séguin N, et al. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 2: emerging indications - field cancerization, photorejuvenation and inflammatory/infective dermatoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020; 34(1): 17-29. doi:10.1111/jdv.16044.  
doi:10.3390/biomedicines11113099.
13. Mazur E, Kijowski R, Reich A. Pozasutkowa choroba Pageta - możliwości zastosowania terapii fotodynamicznej. *Forum Dermatologicum*. 2021; 7(2): 50-55. doi: 10.5603/FD.a2021.0008.
14. Mazur E, Reich A. Photodynamic Therapy is an Effective Treatment of Facial Pigmented Actinic Keratosis. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2023; 13(6): 1265-1276. doi:10.1007/s13555-023-00924-0.
15. Olsen EA, Abernethy ML, Kulp-Shorten C, et al. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating masoprocol cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J Am Acad Dermatol*. 1991; 24(5 Pt 1): 738–743. doi: 10.1016/0190-9622(91)70113-g.
16. Lallas A, Tschandl P, Kyrgidis A, et al. Dermoscopic clues to differentiate facial lentigo maligna from pigmented actinic keratosis. *Br J Dermatol*. 2016; 174(5): 1079-1085. doi: 10.1111/bjd.14355.

17. Kelati A, Baybay H, Moscarella E, Argenziano G, Gallouj S, Mernissi FZ. Dermoscopy of pigmented actinic keratosis of the face: a study of 232 cases. *Actas Dermosifiliogr.* 2017; 108(9): 844-851. doi: 10.1016/j.ad.2017.05.002.
18. Ozbagcivan O, Akarsu S, Ikiz N, Semiz F, Fetil E. Dermoscopic differentiation of facial lentigo maligna from pigmented actinic keratosis and solar lentigines. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2019; 27(3): 146-152.
19. Moscarella E, Rabinovitz H, Zalaudek I, et al. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of pigmented actinic keratoses: a morphological study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015; 29(2): 307-314. doi: 10.1111/jdv.12532.
20. Farnetani F, Manfredini M, Chester J, et al. Reflectance confocal microscopy in the diagnosis of pigmented macules of the face: differential diagnosis and margin definition. *Photochem Photobiol Sci.* 2019; 18: 963-969. doi: 10.1039/c8pp00525g.
21. Stanganelli I, Spagnolo F, Argenziano G, et al. The multidisciplinary management of cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive review and clinical recommendations by a panel of experts. *Cancers (Basel)* 2022; 14(2): 377. doi: 10.3390/cancers14020377.
22. Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, et al. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the diagnostic accuracy of lentigo maligna and equivocal pigmented and nonpigmented macules of the face. *J Investig Dermatol.* 2010; 130(8): 2080-2091. doi: 10.1038/jid.2010.84.
23. Seyed Jafari SM, Timchik T, Hunger RE. In vivo confocal microscopy efficacy assessment of daylight photodynamic therapy in actinic keratosis patients. *Br J Dermatol.* 2016; 175(2): 375-381. doi: 10.1111/bjd.14517.
24. Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Reflectance Confocal Microscopy and Dermoscopy of Facial Pigmented and Non-Pigmented Actinic Keratosis Features before and after Photodynamic Therapy Treatment. *Cancers (Basel).* 2023; 15(23): 5598. doi:10.3390/cancers15235598.



### 13. Oświadczenia współautorów

Rzeszów, 07.02.2025 r.

dr n. med. Robert Kijowski  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Kijowski R, Reich A. Pozasutkowa choroba Pageta - możliwości zastosowania terapii fotodynamicznej. Forum Dermatologicum. 2021;7(2):50-55. doi: 10.5603/FD.a2021.0008 wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



Rzeszów, 07.02.2025 r.

dr n. med. Dominika Kwiatkowska  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:

Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Reflectance Confocal Microscopy and Dermoscopy of Facial Pigmented and Non-Pigmented Actinic Keratosis Features before and after Photodynamic Therapy Treatment. Cancers (Basel). 2023;15(23):5598. doi:10.3390/cancers15235598 wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur polegał na:

**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



Rzeszów, 07.02.2025 r.

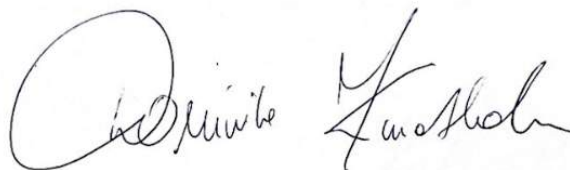
dr n. med. Dominika Kwiatkowska  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma-A Review. Biomedicines. 2023;11(11):3099. doi:10.3390/biomedicines11113099  
wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.



Rzeszów, 07.02.2025 r.

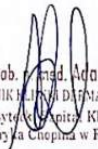
Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Reflectance Confocal Microscopy and Dermoscopy of  
Facial Pigmented and Non-Pigmented Actinic Keratosis Features before and after  
Photodynamic Therapy Treatment. Cancers (Basel). 2023;15(23):5598.  
doi:10.3390/cancers15235598 wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur  
polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej  
wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w  
postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje  
indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu  
części eksperymentalnej, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej  
pracy.

  
Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
KIEROWNIK KLINIKI DERMATOLOGII  
Uniwersytet Medyczny  
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

Rzeszów, 07.02.2025 r.

Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Reich A. Photodynamic Therapy is an Effective Treatment of Facial Pigmented Actinic Keratosis. Dermatol Ther (Heidelb).2023;13(6):1265-1276. doi:10.1007/s13555-023-00924-0 wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
KIEROWNIK ZAKŁADU DERMATOLOGII  
Uniwersytet Medyczny  
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie



Rzeszów, 07.02.2025 r.

Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Reich A. Terapia fotodynamiczna w leczeniu rogowacenia słonecznego.  
Dermatologia po Dyplomie. 2022; 1(13):10-15 wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek.  
Eweliny Mazur polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej  
wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w  
postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje  
indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, pisaniu  
manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
KIEROWNIK ZAKŁADU DERMATOLOGII  
Uniwersytet Medyczny  
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

Rzeszów, 07.02.2025 r.

Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Kijowski R, Reich A. Pozasutkowa choroba Pageta - możliwości zastosowania terapii fotodynamicznej. Forum Dermatologicum. 2021;7(2):50-55. doi: 10.5603/FD.a2021.0008 wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
KIEROWNIK KLINIKI DERMATOLOGII  
Uniwersytecki Szpital Kliniczny  
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

Rzeszów, 07.02.2025 r.

Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
Zakład Dermatologii  
Wydział Medyczny  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Szopena 2  
35-055 Rzeszów

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w publikacji:  
Mazur E, Kwiatkowska D, Reich A. Photodynamic Therapy in Pigmented Basal Cell Carcinoma-A Review. Biomedicines. 2023;11(11):3099. doi:10.3390/biomedicines11113099  
wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Mazur polegał na:  
**nadzorze merytorycznym w trakcie pisania manuskryptu oraz weryfikacji finalnej wersji pracy do druku.**

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lek. Ewelinę Mazur publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Eweliny Mazur przy opracowywaniu koncepcji, pisaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy.

  
Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
KIEROWNIK ZAKŁADU DERMATOLOGII  
Uniwersytecki Szpital Kliniczny  
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

Załącznik nr 4 do Zarządzenia nr 228/2021 Rektora Uniwersytetu  
Rzeszowskiego z dnia 1 grudnia 2021 roku w sprawie ustalenia  
procedury antyplagiatowej w Uniwersytecie Rzeszowskim

**OŚWIADCZENIE DOKTORANTA/ OSOBY UBIEGAJĄCEJ SIĘ O NADANIE STOPNIA DOKTORA**

Ewelina Anna Mazur  
Imię (imiona) i nazwisko

Szkoła Doktorska UR  
Nazwa jednostki

Nauki Medyczne  
nazwa dyscypliny

Oświadczam, że moja rozprawa doktorska pt.: „Terapia fotodynamiczna i ocena jej skuteczności z wykorzystaniem nieinwazyjnych metod diagnostycznych w wybranych schorzeniach dermatologicznych”

- 1) została przygotowana przeze mnie samodzielnie\*,
- 2) nie narusza praw autorskich w rozumieniu ustawy z dnia 4 lutego 1994 roku o prawie autorskim i prawach pokrewnych (t.j. Dz.U. z 2021 r., poz. 1062) oraz dóbr osobistych chronionych prawem cywilnym,
- 3) nie zawiera danych i informacji, które uzyskałem/am w sposób niedozwolony,
- 4) nie była podstawą nadania tytułu zawodowego lub stopnia naukowego ani mnie ani innej osobie.

Ponadto oświadczam, że treść pracy przedstawionej przeze mnie do obrony, zawarta na przekazywanym nośniku elektronicznym, jest identyczna z wersją drukowaną.

Dziękuję; 10.02.2025r.  
(miejscowość, data)

Ewelina Anna Mazur  
(czytelny podpis autora pracy)

\* uwzględniając merytoryczny wkład promotora pracy



KOMISJA BIOETYCZNA UNIwersYTETU RZESZOWSKIEGO  
UNIwersYTET RZESZOWSKI  
Kolegium Nauk Medycznych  
al. mjr. W. Kopisto 2a, 35-959 Rzeszów

**UCHWAŁA Nr 6/11/2020**

**Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Rzeszowskim**

**19/11/2020**

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Rzeszowskim, działając na podstawie art. 29 ust. 3 pkt 2 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza (Dz. U. z dnia 26 marca 1997 roku, Nr 28, poz. 152), zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 roku (Dz. U. Nr 47 poz. 480 z 1999 roku) w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania Komisji Bioetycznych oraz działając zgodnie z zasadami GCP (Good Clinical Practice) i ustawą z dnia 6 września 2001 roku Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2019 r. poz. 499 z późn. zm.), po zapoznaniu się z wnioskiem złożonym przez wnioskodawcę, w wyniku przeprowadzonej dyskusji i głosowania (dn. 19 listopada 2020 r.) przeprowadzonych w formie zdalnej liczbą 9 głosów akceptujących spośród 9 oddanych głosów

**postanawia**

projekt badawczy: „Analiza parametrów klinicznych i molekularnych oraz badania nad nowymi lekami w chorobach skóry.”

**zaopiniować pozytywnie.**

**Uwagi:** Uchwała jest ważna na okres objęty planem badań.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej UR

*Beata Sas-Korczyńska*  
dr hab. med. Beata Sas-Korczyńska, prof. UR

Do wiadomości:

Wnioskodawca: Prof. dr hab. n. med. Adam Reich, dr n. med. Magdalena Żychowska, lek. Klaudia Tutka, lek. Joanna Muda – Urban, lek. Ewelina Mazur, lek. Marta Kołt – Kamińska, lek. Kamila Jaworecka



Rzeszów, 12.03.2025 r.

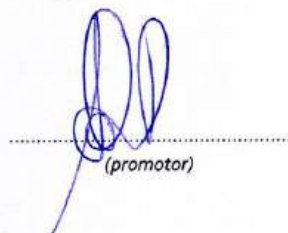
#### OŚWIADCZENIE

**Ewelina Anna Mazur**  
Imię (imiona) i nazwisko

Szkoła Doktorska UR  
Nazwa jednostki

Nauki Medyczne  
nazwa dyscypliny

Ja, niżej podpisana Ewelina Mazur, oświadczam, że przygotowana dysertacja pt. **"Terapia fotodynamiczna i ocena jej skuteczności z wykorzystaniem nieinwazyjnych metod diagnostycznych w wybranych schorzeniach dermatologicznych"**, którą przedkładałam w przewodzie doktorskim procedowanym w Uniwersytecie Rzeszowskim została przygotowana i w pełni odpowiada założeniom projektu badawczego pt. "Analiza parametrów klinicznych i molekularnych oraz badania nad nowymi lekami w chorobach skóry.", który uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego (Uchwała nr Nr 6/11/2020 wydana w dniu 19/11/2020).



(promotor)



(składający oświadczenie)