

Fotodynamische therapie van het mondslijmvlies

Samenvatting. Fotodynamische therapie (PDT) is een nieuwe behandelingsvorm voor dysplastische afwijkingen en planocellulaire carcinomen. PDT berust op de selectieve opname van een lichtgevoelige stof in tumor en dysplastisch weefsel. Wanneer weefsels waarin deze lichtgevoelige stof zich ophoopt, worden belicht met licht van een bepaalde golflengte, treedt er een reactie op tussen de lichtgevoelige stof en het licht. Het gevolg is necrose van tumorweefsel met beperkte schade aan de omringende weefsels. Een tweede eigenschap van de lichtgevoelige stof is dat deze na blootstelling aan laserlicht zelf ook licht kan uitzenden (= fluorescentie), waardoor lokalisatie van tumoren mogelijk is, de zogenaamde fotodetectie (PD). In deze bijdrage wordt een aantal aspecten van PD en PDT belicht.

NAUTA JM. Fotodynamische therapie van het mondslijmvlies. Ned Tijdschr Tandheelkd 1997; 104: 377-80.

Uit de afdeling Mondziekten,
Kaakchirurgie en Bijzondere
Tandheelkunde van het Academisch
Ziekenhuis Groningen.

Trefwoorden: Fotodynamische therapie
Oncologie – Mondslijmvlies

Datum van acceptatie: 24 juni 1997.

Adres: Dr. J.M. Nauta,
AZ Groningen,
postbus 30.001,
9700 RB Groningen.

1 Inleiding

Tumoren van de lippen en de mondholte vormen in Nederland circa 1-2% van alle maligne tumoren. Het merendeel (>90%) betreft planocellulaire carcinomen. Curatieve behandeling van het planocellulaire carcinoom van de mondholte geschiedt alleen door middel van chirurgie, radiotherapie of een combinatie van beide modaliteiten. Beide hebben echter nadelen. Bij chirurgie treedt verlies op van relatief veel gezond omringend weefsel, waardoor functionele of esthetische problemen kunnen ontstaan. Radiotherapie heeft als gevolg dat niet alleen het tumorweefsel, maar ook de zogenaamde normale (= gezonde) weefsels in het bestralingsveld worden beschadigd. Alom bekende bijwerkingen van radiotherapie in het hoofd-halsgebied zijn: mucositis, verlies van smaak, xerostomie, bestralingscariës, necrose van weke delen en kans op oosteoradionecrose.¹

Het zoeken naar nieuwe behandelingsvormen is daarom belangrijk. Fotodynamische therapie (PDT, in het Engels 'photodynamic therapy') is zo'n behandelingsvorm.^{2,3} PDT berust op de selectieve opname van een lichtgevoelige stof in tumor en dysplastisch weefsel. Wanneer weefsels waarin deze lichtgevoelige stof zich ophoopt, worden belicht met licht van een bepaalde golflengte, treedt er een reactie op tussen de lichtgevoelige stof en het licht. Hierdoor treedt er necrose op van tumorweefsel met beperkte schade aan de omringende gezonde weefsels.

Een tweede eigenschap van de lichtgevoelige stof is dat deze na blootstelling aan laserlicht zelf ook licht kan uitzenden (= fluorescentie). Deze eigenschap kan worden gebruikt voor de lokalisatie van tumoren. Deze toepassing kan, in analogie met PDT, met fotodetectie (PD, in het Engels 'photodetection') worden aangeduid.

Het effect van PDT en PD werd in een proefdiermodel bestudeerd.⁴ In dit artikel zullen zowel het proefdiermodel als de effecten van PD en PDT op de door middel van dit model geïnduceerde dysplasie en planocellulaire tumoren worden beschreven. Tevens wordt ingegaan op de mechanismen van PD en PDT.

2 Mechanisme van fotodynamische therapie en fotodetectie

PDT berust op foto-oxidatie van weefsel hetgeen het gevolg is van de interactie tussen de lichtgevoelige stof en licht van geschikte golflengten (voor Photofrin laserlicht van 514,5 of 625 nm).^{2,5} Bij deze interactie worden vrije zuurstofradicalen

gevormd, die cellen en weefsels kunnen beschadigen door een oxidatieve reactie. Na intraveneuze toediening verdeelt Photofrin, een derivaat van hematoporfyrine, zich over het gehele lichaam, waarbij de opname van de lichtgevoelige stof in tumor- en dysplastisch weefsel hoger is dan in omringend gezond weefsel. Photofrin hoopt zich ook op in bijvoorbeeld de huid. Een gevolg van deze ophoping in de huid is dat er na blootstelling aan zon- of ander fel licht een (onbedoelde) reactie van de huid kan ontstaan. Deze huidreactie is een belangrijk nadeel van PDT met Photofrin en kan bij gebruik wel tot acht weken na de behandeling duren. Nieuwe sensitizers hebben deze reactie in veel mindere mate.

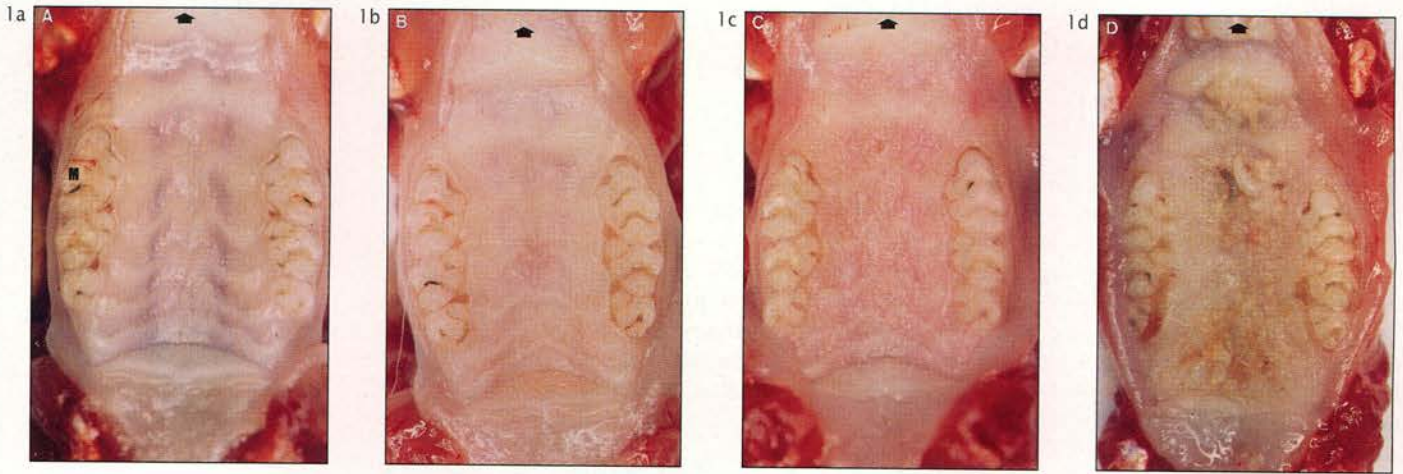
Na geactiveerd te zijn door het (laser)licht, kan Photofrin zelf ook licht gaan uitzenden (= fluorescentie). Deze fluorescentie kan worden gebruikt voor de lokalisatie van tumoren. Voor fluorescentie-doeleinden wordt gebruikgemaakt van excitatielicht met een geringere intensiteit om eventuele fotodynamische schade tot een minimum te beperken. De opbrengst van het fluorescentielicht is daardoor gering, zodat geavanceerde detectie-apparatuur nodig is. Een bijkomend probleem is dat weefsels van nature ook zelf kunnen fluoresceren (= autofluorescentie) waarvoor men moet corrigeren.

3 Proefdiermodel

Door het palatumslimvlies van ratten driemaal per week te bestrijken met het carcinogeen 4-Nitroquinoline-1-oxide (4NQO) worden achtereenvolgens dysplastische afwijkingen en uiteindelijk planocellulaire carcinomen geïnduceerd (afb.1).⁶

Het bepalen van de mate van dysplasie aan de hand van een histologisch preparaat is subjectief en kan sterk variëren tussen verschillende waarnemers. De Epitheliale Atypie Index (EAI), zoals beschreven door Smith en Pindborg,⁷ is een poging tot standaardisatie. Hierbij wordt de mate van dysplasie beoordeeld aan de hand van 13 histologische kenmerken. De mate van dysplasie wordt vervolgens uitgedrukt in een getal zodat vergelijking van verschillende stadia van dysplasie van het slijmvlies mogelijk wordt (afb.2).

Een proefdiermodel dient een zo goed mogelijke afspiegeling te vormen van de humane situatie. Daarom werden 24 gevallen van dysplasie van menselijk mondslijmvlies histologisch vergeleken met die van 24 ratten, die 12, 16, 20 of 26 weken waren bestreken met het 4NQO.⁸ Het bleek dat er een goede overeenkomst bestond tussen geïnduceerde dysplastische afwijkingen van het palatumslimvlies van de rat en dysplastische afwijkingen van humaan mondslijmvlies. Dit dier-



Afb.1. Macroscopisch aspect van het palatum van de onbehandelde controle rat en ratten die verschillende tijden met het carcinogeen 4NQO werden behandeld. a) Macroscopisch aspect van het palatum van een 12 weken oude, onbehandelde controle rat (de pijlpunt wijst in de richting van de neus van de rat, M=molaren). b) Het aspect van het intermolare gebied van het palatum van een rat die 8 weken werd behandeld met 4NQO. Ten opzichte van de onbehandelde rat zijn er macroscopisch nog geen duidelijke veranderingen waarneembaar. c) Aspect van het intermolare gebied na 20 weken 4NQO applicatie. De mucosa vertoont nu een duidelijk verlies van structuur. Het aspect van de rugae gaat steeds meer verloren en multiple papillaire zwellingen worden zichtbaar. d) Na 26 weken applicatie van het carcinogeen worden duidelijk herkenbare, exofytisch groeiende planocellulaire carcinomen zichtbaar op het palatum.

model is daarom representatief voor premaligne afwijkingen en planocellulaire carcinomen van het mondslijmvlies.

4 Schade aan normale weefsels

Ten gevolge van selectieve opname van de lichtgevoelige stof in tumorweefsel zou PDT weinig tot geen schade geven aan omringende normale weefsels. Normale weefsels kunnen echter de lichtgevoelige stof ook opnemen. Hierdoor kunnen deze weefsels beschadigd raken. Een optimale combinatie van de dosis licht- en lichtgevoelige stof zou kunnen bijdragen tot verhoging van de selectiviteit. Daarom werd in een dosis-effectstudie de invloed van PDT op normale weefsels onderzocht.⁹

De resultaten laten zien dat het normale palatum en de omringende structuren zoals bot, gebitselementen, vaten en zenuwen schade ondervonden. De mate van schade bleek afhankelijk van zowel de lichtdosis als de dosis lichtgevoelige stof. Dit aspect dient nader te worden onderzocht voordat PDT kan worden toegepast voor de behandeling van afwijkingen in de mondholte van de mens.

5 Fotodetectie

Zoals onderzocht in het rattenmodel bleek de fluorescentie-intensiteit 24 en 48 uur na toediening van Photofrin toe te nemen met toenemende EAI-waarden.¹⁰ Voor EAI-waarden groter dan 15 (is geringe tot matige dysplasie) bleek er een significant verschil te bestaan tussen de fluorescentiewaarden verkregen na toediening van Photofrin en die zonder Photofrin (autofluorescentie). Deze techniek zou dus kunnen bijdragen tot een vroege detectie, dat wil zeggen reeds voordat macroscopisch veranderingen waarneembaar zijn, van dysplastisch epitheel.

6 Effect van fotodynamische therapie

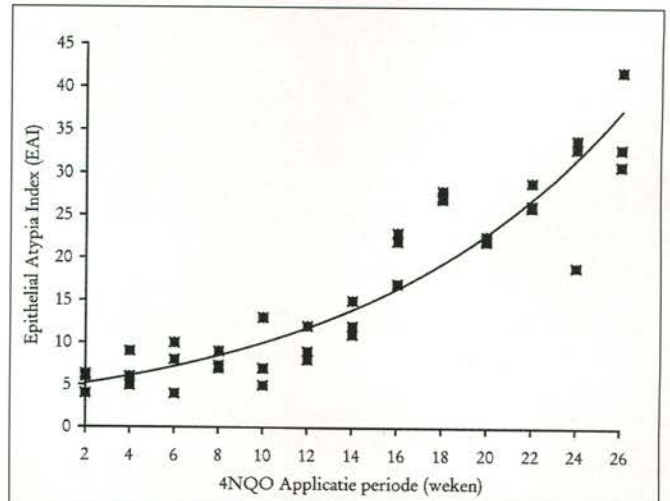
Onderzoek naar het effect van PDT op dysplastische afwijkingen en planocellulaire carcinomen werd bestudeerd in een rattenmodel.¹¹ Twee dagen na PDT vertoonden vrijwel alle ratten een uitgebreide erythemateuze verandering van het dysplastische of maligne getransformeerde palatinale epitheel van het intermolare gebied. Tevens was er sprake van lokale ulceratie en necrose.

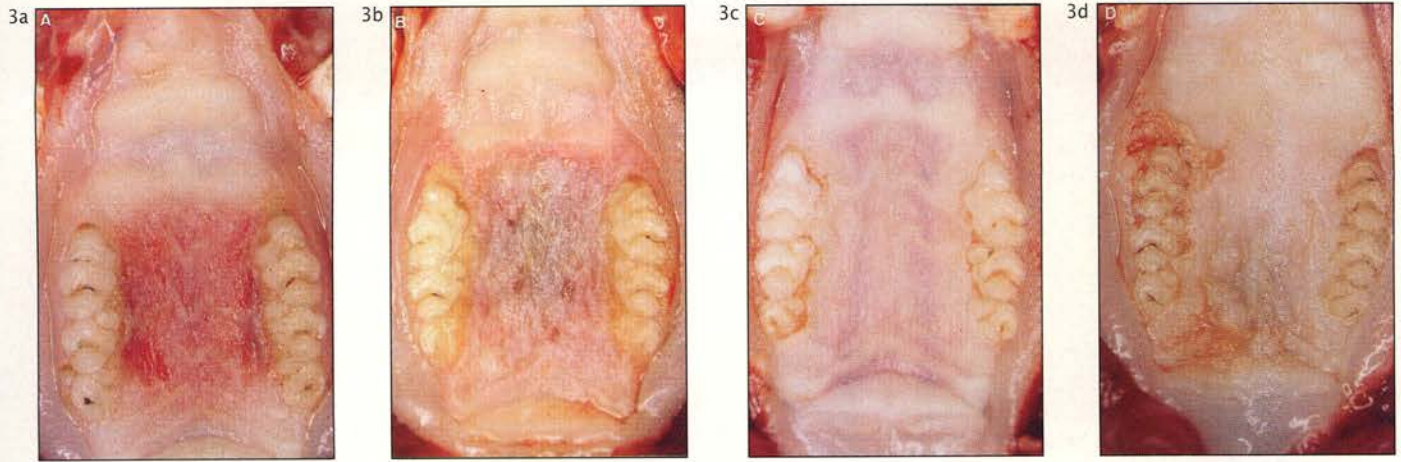
Opvallend was dat het behandelingsresultaat goed overeen kwam met het belichte gebied, waarbij een scherpe afgrenzing ten opzichte van omringend, niet-behandeld weefsel waarneembaar was. Microscopisch bleek ook schade te zijn opgetreden aan normale structuren zoals bloedvaten, zenuwen en palatumbot.

Twee maanden na PDT was er sprake van een grotere verscheidenheid aan klinische manifestaties van het epitheel van het intermolare gebied. Deze bestond uit: intact epitheel met aanwijzingen voor littekenweefsel, lokaal blootliggend bot omgeven door intact epitheel en gevallen waarin sprake was van tumorgroei (afb.3). Microscopie toonde een onregelmatiger opbouw van het epitheel, een dicht bindweefsel in de submucosa en epitheliale cysten in de submucosa. In meerdere gevallen bleek er sprake van partieel verlies van palatumbot. Vasculaire veranderingen bestonden voornamelijk uit hypertrofie van de vaatwand, vasculaire rekanalisatie, tot volledig verlies van de grote vaten van het palatum (afb.4). In een kwart van de met PDT behandelde ratten bleek sprake te zijn van tumorgroei.

Het bleek dat PDT (in dit model, met de hier gekozen behandelingsparameters) niet in staat was om in alle gevallen dysplasie en planocellulaire carcinomen afdoende te behandelen. Naast (beoogde) schade aan het epitheel, trad er ook

Afb.2. De epitheliale atypie-indices (EAI) als functie van de 4NQO-applicatieperiode. Bij alle ratten die 26 weken waren behandeld met het 4NQO werden planocellulaire carcinomen waargenomen.



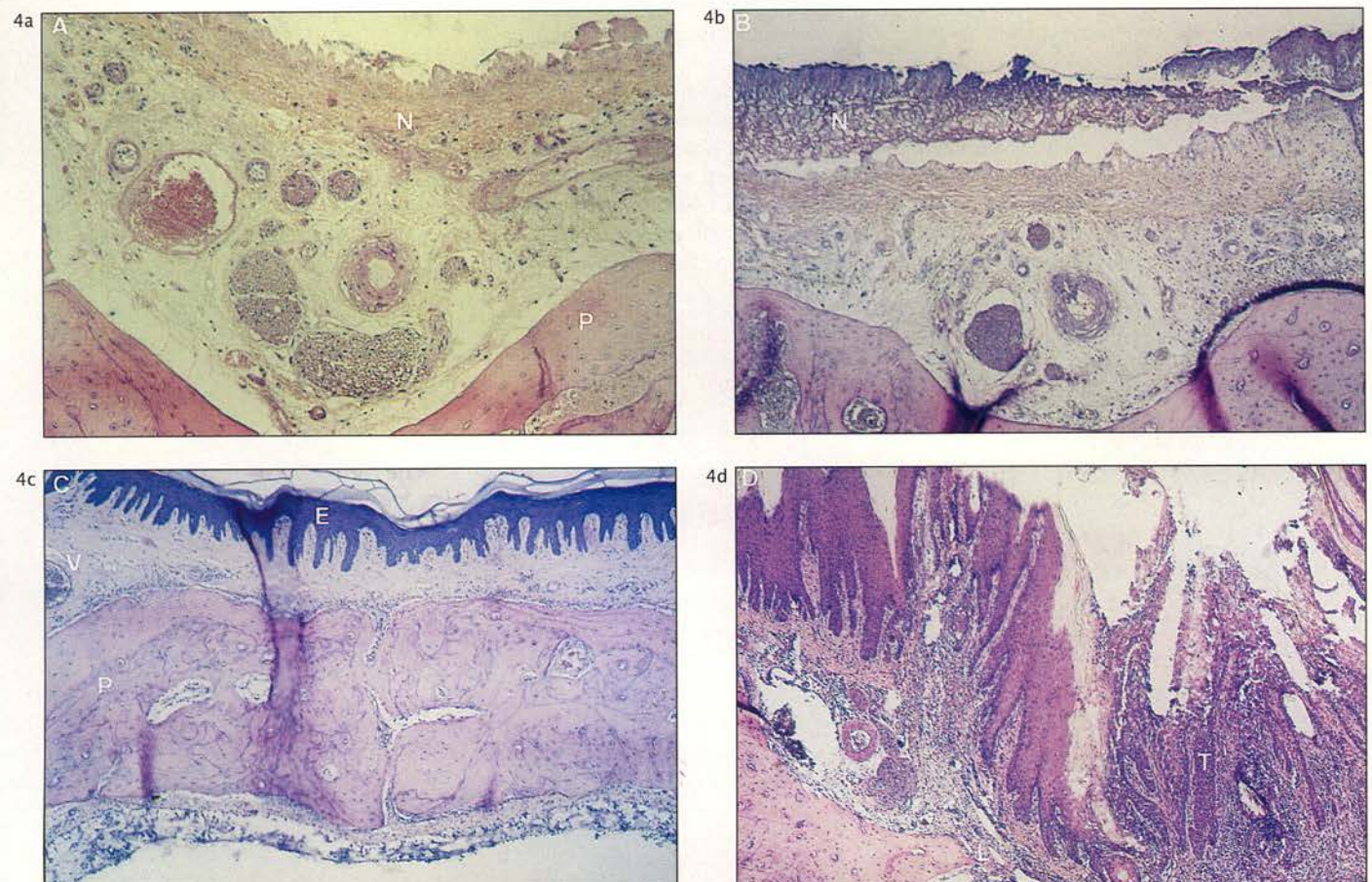


Afb.3. Het macroscopische aspect van het palatum van de rat 2 dagen en 2 maanden na PDT-behandeling. a) Twee dagen na PDT, golflengte 514,5 nm, 12 weken 4NQO applicatie. Duidelijke demarcatie van het behandelde gebied met hyperemie. b) Twee dagen na PDT, golflengte 625 nm, 20 weken 4NQO applicatie. Hyperemische mucosa met focaal duidelijke necrose. c) Twee maanden na PDT, golflengte 514,5 nm, 12 weken 4NQO applicatie. Goede genezing van het epitheel, hoewel er wel sprake is van dikker epitheel duidend op littekenweefsel. d) Twee maanden na PDT, golflengte 625 nm, 20 weken 4NQO applicatie. Weliswaar genezing van het epitheel, maar tumorgroei rond de rechter molaren en centraal op het palatum.

irreversibele schade op aan weefsel in de nabijheid van het epitheel. De hoge incidentie van dysplasie en planocellulaire carcinomen, 2 maanden na de behandeling, is mogelijk mede te verklaren uit een nadeel van het diermodel. Na applicatie van het carcinogeen 4NQO treedt er verspreiding van het carcinogeen op door de mondholte en blijft het effect niet

beperkt tot het intermolare gebied. Regeneratie van het epitheel van het intermolare gebied na PDT komt deels voort uit ingroei van epitheel vanuit de wel door 4NQO veranderde, maar niet door PDT behandelde randen. Het is daarom moeilijk om het echte behandelingsresultaat van PDT voor dysplasie en planocellulair carcinoom in dit diermodel vast te stellen.

Afb.4. Het microscopische aspect van het palatum van de rat 2 dagen en 2 maanden na PDT behandeling. a) Twee dagen na PDT, golflengte 514,5 nm, 12 weken 4NQO applicatie. N=necrose van het epitheel, P=palatum bot, (HE, 64x). b) Twee dagen na PDT, golflengte 625 nm, 20 weken 4NQO applicatie. N=necrose van het epitheel, (HE, 64x). c) Twee maanden na PDT, golflengte 514,5 nm, 12 weken 4NQO applicatie. E=intacte epitheel laag met littekenweefsel in de submucosa, P=intact palatum bot, V=hypertrofie van de vaatwand, (HE, 64x). d) Twee maanden na PDT, golflengte 625 nm, 20 weken 4NQO applicatie. T=tumor, L=verlies van palatumbot, (HE, 64x).



Ook dient te worden opgemerkt dat Photofrin vermoedelijk niet de meest geschikte stof is voor PDT. Vooral de langdurige lichtgevoeligheid van de huid is een beperkende factor voor klinische toepassing. Voordat PDT veilig en effectief zal kunnen worden toegepast voor curatieve behandeling van premaligne en maligne afwijking van het mondslijmvlies is aanvullend onderzoek nodig.

7 Conclusies

PDT lijkt vooral toepasbaar te zijn voor de behandeling van kleine, oppervlakkig groeiende tumoren. Ook dysplastische afwijkingen lijken goed met PDT behandeld te kunnen worden. Nader proefdieronderzoek is een vereiste alvorens PDT in de kliniek voor mondholtetumoren kan worden toegepast. Voorts kan fotodetectie in de toekomst mogelijk een rol spelen bij de vroegtijdige diagnostiek van premaligne en maligne afwijkingen van het mondslijmvlies.

Literatuur

- 1 Jansma J, Vissink A, Spijkervet FKL, et al. Protocol for the prevention and treatment of oral sequelae resulting from head and neck radiation therapy. *Cancer* 1992; 70: 2171-80.
- 2 Pass HI. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical

- use. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 443-56.
- 3 Henderson BW, Dougherty TJ. How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol* 1992; 55: 145-57.
- 4 Nauta JM. Photodynamic therapy and photo-detection of dysplastic lesions and squamous cell carcinomas of the oral mucosa. Groningen: Rijksuniversiteit Groningen, 1996. Academisch proefschrift.
- 5 Nauta JM, Leengoed HLLM van, Star WM, Roodenburg JLN, Witjes MJH, Vermey A. Photodynamic therapy of oral cancer. A review of basic mechanisms and clinical applications. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 69-81.
- 6 Nauta JM, Roodenburg JLN, Nikkels PGJ, Witjes MJH, Vermey A. Epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma of the rat palatal mucosa: the 4NQO model. *Head Neck* 1996; 18: 441-9.
- 7 Smith CJ, Pindborg JJ. Histological grading of oral epithelial atypia by the use of photographic standards. Copenhagen: C. Hamburger, 1969.
- 8 Nauta JM, Roodenburg JLN, Nikkels PGJ, Witjes MJH, Vermey A. Comparison of epithelial dysplasia of the 4NQO rat palate model and human oral mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1995; 24: 53-8.
- 9 Nauta JM, Leengoed HLLM van, Witjes MJH, et al. Photofrin mediated photodynamic therapy of rat palatal mucosa: normal tissue effects and light dosimetry. *Lasers Med Sci* 1996; 11: 163-74.
- 10 Nauta JM, Speelman OC, Leengoed HLLM van, et al. *In vivo* photodetection of chemically induced premalignant lesions and squamous cell carcinomas of the rat palatal mucosa. *J Photochem Photobiol B; Biol* 1997; (in press).
- 11 Nauta JM, Leengoed HLLM van, Witjes MJH, et al. Photofrin mediated photodynamic therapy of chemically induced premalignant lesions and squamous cell carcinomas of the rat palatal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997; (in press).

Summary

PHOTODYNAMIC THERAPY OF THE ORAL MUCOSA

Key words: Photodynamic therapy - Oral mucosa - Oncology

Photodynamic therapy (PDT) is a new therapeutic modality in head and neck oncology. PDT is based on the accumulation of a photosensitive dye in (pre)malignant tissue. When sensitizer containing tissue is exposed to light of a proper wavelength and dose, a photochemical reaction between the dye and the light will occur. The result may be tumornecrosis. Besides a tumor destructive effect, photosensitizers are also capable to show fluorescence, when stimulated by light of an appropriate wavelength. This fluorescence photo-detection (PD) can be used for early detection and localization of tumors or even premalignant epithelial changes, in tissues exposed to the delivered light. In this study several aspects of PDT and PD are described.