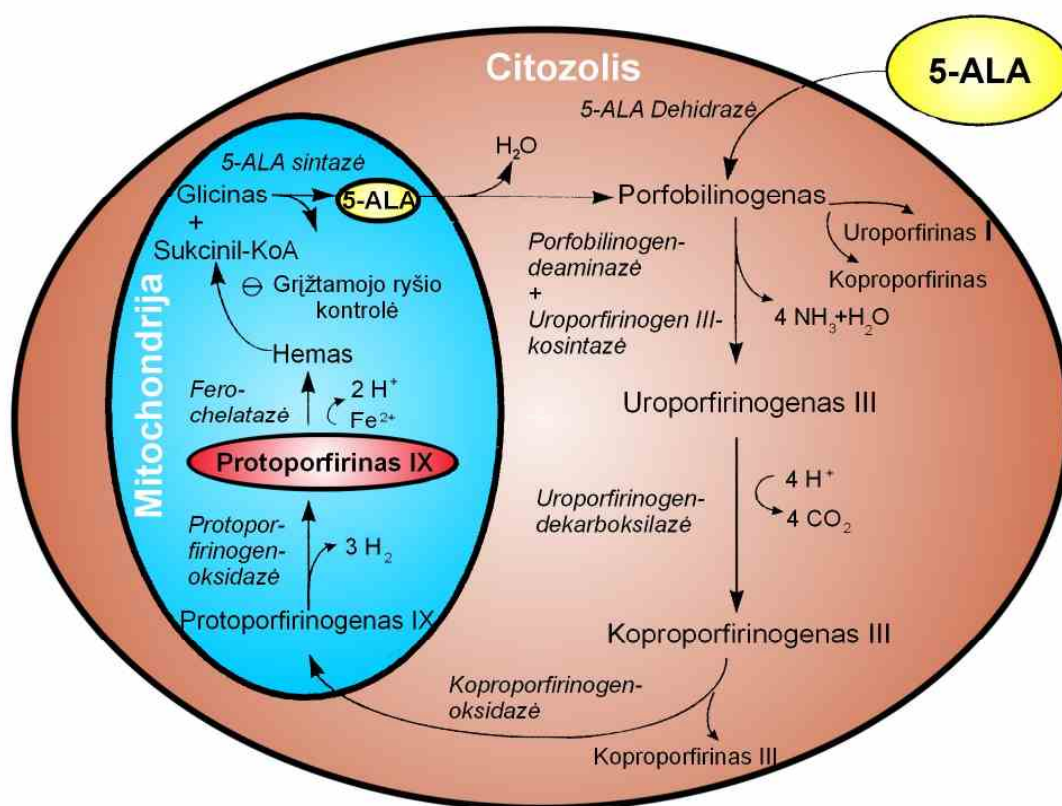


8. FLUORESCENCINĖ DIAGNOSTIKA ENDOGENINIAIS SENSIBILIZATORIAIS

Tobulinant sensibilizuotos terapijos metodą ir ieškant naujų veiksmingesnių ir mažiau nepageidaujamų reiškinį sukeliančių fotosensibilizatorių, buvo susidomėta vidiniais žmogaus organizmo ištekiais. Žmogaus organizme sintetamos porfirininės prigimties molekulės, galinčios atlikti fotosensibilizatoriaus vaidmenį. Pastebėta, kad navikiniai audiniai pasižymi didesne endogeniniams porfirinams būdinga fluorescencija raudonojoje spektro srityje, negu sveiki.



8.1 pav. Hemo biosintezės ciklas ir 5-ALA metabolinė seka

5-aminolevulino rūgštis (ALA) yra hemo sintezės pirmtakas. Į organizmą įterpus egzogeninės ALA, hemo sintezė vyksta intensyviau ir pasigamina daugiau protoporfirino IX (PpIX), priešpaskutinio sintezės ciklo produkto. Paskutiniu ciklo etapu fermentas ferochelatazė PpIX molekulę paverčia hemo molekule, į porfirino žiedą įterpdamas geležies atomą (8.1 pav.). Hemo biosintezės ciklas sveikuose organizmuose sureguliuotas

taip, kad PpIX perteklius ląstelėse nesusikaupia, tačiau paveikus organizmą papildomu ALA kiekiu ciklą galima sutrikdyti. Tokiu atveju fermentai nebespėja paversti viso besigaminančio PpIX hemu ir ląstelėse ima kauptis PpIX perteklius. Navikinėse ląstelėse dėl sumažėjusio fermento ferochelatazės (FeC) aktyvumo (El-Sharabasy ir kt., 1992) arba padidėjusio fermento porfobilinogeno deaminazės (PBGD) aktyvumo (Smith, 1987) ALA-indukuoti porfirinai kaupiasi labiau. Kadangi PpIX yra efektyvus sensibilizatorius, pritaikius navikų gydymui natūralius hemo biosintezės metu ląstelėse vykstančius procesus, susikūrė nauja FNT pakraipa – ALA-FNT (Kennedy ir kt., 1990; Kennedy ir Pottier, 1992). Klinikoje ALA-FNT pirmą kartą taikyta 1990 metais (Kennedy ir kt., 1990) ir šiuo metu yra sparčiai besiplėtojantis perspektyvus tiek navikinių, tiek nenavikinių (tarp jų ir ikinavikinių) darinių gydymo metodas.

Geresnis ALA indukuotų endogeninių porfirinų kaupimasis navikinėse ląstelėse teikia galimybių registruoti navike susikaupusio sensibilizatoriaus fluorescenciją. Tuo pagrįsti fluorescenciniai diagnostavimo metodai, ypač tinkami ankstyvų stadijų navikams ir kai kuriems ikinavikiniams dariniams aptikti. Naudojant ALA arba ALA esterius išoriniu ar sisteminiu būdu, fluorescencinėmis vaizdinimo sistemomis galima aptikti ankstyvų stadijų navikus, nustatyti išplitimą, matmenis, išryškinti naviko kraštus. ALA-indukuoto PpIX fluorescencija naudojama odos, šlapimo pūslės, virškinimo trakto ir plaučių navikams diagnozuoti (Koenig ir kt., 1993, 1999; Kriegmair ir kt., 1996).

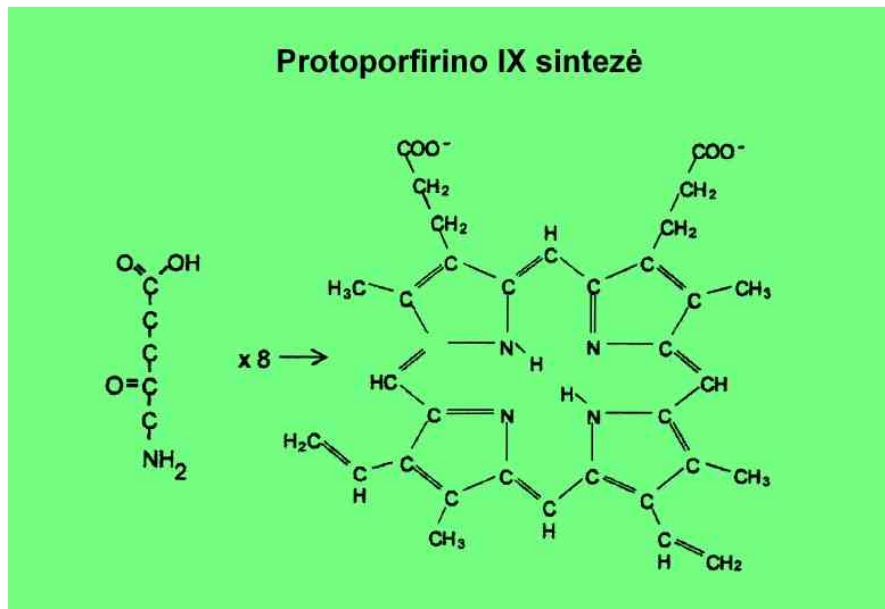
8.1 Endogeninių porfirinų biosintezė

Hemo biosintezė. Pradiniu hemo biosintezės ciklo etapu iš glicino ir sukcinil-kofermento-A katalizuojant 5-ALA-sintaze (ALAS) sintetinama 5-aminolevulino rūgštis (Voet ir Voet, 1995). Kitoje fazėje iš dviejų ALA molekulių susidaro porfobilinogenas (PBG) ir išsiskiria dvi vandens molekulės. Veikiant porfobilinogeno deaminazei (PBGD) ir uroporfirinogeno sintazei keturios PBG molekulės kondensuojamos į uroporfirinogeną III. Toliau vyksta dekarboksilinimo ir oksidavimo reakcijų seka, kol geležies atomas įterpiamas į tetrapirolo žiedą.

Dalis hemo biosintezės vyksta mitochondrijose, dalis – citozolyje (8.1 pav.). Mitochondrijoje susintetinta ALA pernešama į citozolį, ten susidaro PBG, o iš jo –

uroporfirinogenas III. Citozolyje uroporfirinogeno dekarboksilazė atima iš uroporfirinogeno III keturias karboksilo grupes ir taip susidaro koproporfirinogenas III, kurio šoninės propiono rūgšties liekanos, veikiamos koproporfirinogeno oksidazės, yra dekarboksilinamos ir oksiduojamos į vinilo grupes. Šios reakcijos vėl vyksta mitochondrijoje. Katalizuojant protoporfirinogeno oksidazei tetrapirolo žiedo metileno grupės oksiduojamos į metino grupes – susidaro protoporfirinas IX (PpIX). Viena PpIX molekulė pasigamina iš aštuonių ALA molekulių (8.2 pav.).

Katalizuojant ferochelatazei į tetrapirolo struktūros centrą įterpiama Fe(II) – susidaro hemo molekulė, kuri ne fluorescuoja.



8.2 pav. Hemo biosintezės ciklo metu iš aštuonių 5-ALA molekulių sintetinama viena protoporfirino IX molekulė

Hemo biosintezės kontrolė. Hemo sintezės ciklo greitis sureguliuotas taip, kad atitinka hemo pasiūalinimo iš sistemos greitį. Hemo sintezę kontroliuoja grįžtamosios reguliacijos mechanizmas, kuris veikia taip, kad susidaręs laisvo hemo perteklius stabdo ALA sintezę (Sinclair ir Granick, 1975). Jei hemas suvartojamas tokiu pat greičiu kaip ir sintetinamas, laisvo hemo bus nedaug ir ALA sintezė nebus stabdoma. Kai ALA koncentracija padidėja, atitinkamai paspartėja hemo sintezė. Jei hemas sintetinamas greičiau negu pasišalina, susikaupęs jo perteklius stabdo ALA sintezę, o tai savo ruožtu

slopina tolesnę hemo sintezę. Taigi normaliomis sąlygomis hemo poreikis kontroliuoja hemo, o kartu ir PpIX sintezės greitį.

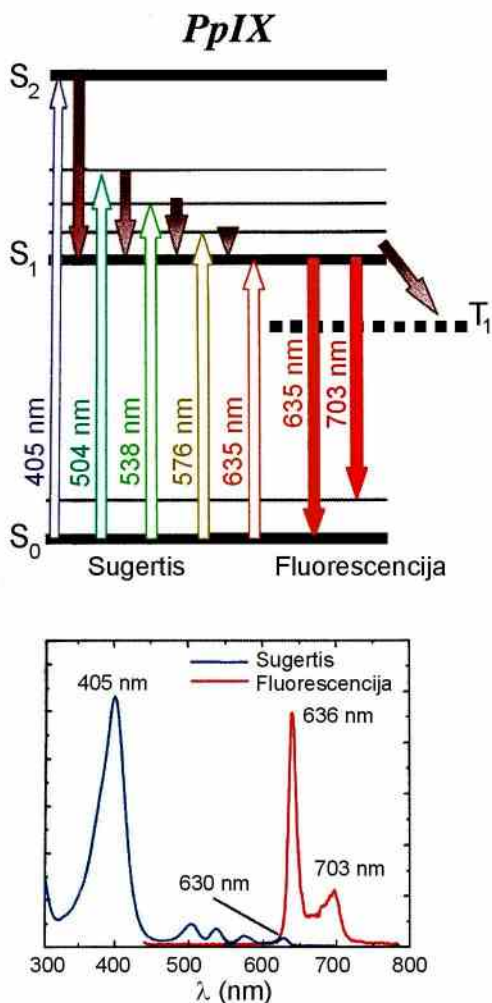
Egzogeninė ALA skatina endogeninių porfirinų kaupimąsi. Didžiausias ALA sintezės greitis visada yra mažesnis už didžiausią kiekvienos kitos ciklo pakopos greitį ir tarpiniai produktai nesikaupia, tačiau ALA perteklius gali sutrikdyti ciklą. Diagnostikai, terapijai ar mokslinių tyrimų tikslams endogeninių porfirinų biosintezė stimuliuojama egzogeniniais pirmtakais – ALA ar ALA esteriais (Peng ir kt., 1997a). Jų dėka apeinama griežtai reguliuojama, viso sintezės kelio greitį lemianti ALAS katalizuojama reakcija ir aktyvinama PBGD (antroji greitį ribojanti stadija) (Gibson ir kt., 1999), todėl ląstelėse intensyviau sintetinami endogeniniai porfirinai.

Kai ALA koncentracija nėra ribojantis veiksnys, pirmojo tarpinio produkto – porfobilinogeno sintezės greitis priklausys nuo šią reakciją katalizuojančių fermentų pajėgumo. Jei porfobilinogeno sintezės greitis viršija kitos ciklo pakopos pajėgumą (uroporfirinogeno sintezę), susikaupia didesnis porfobilinogeno kiekis (Healey ir kt., 1981). Kita vertus, kai uroporfirinogeno sintezės mechanizmas dar turi rezervų, o porfobilinogenas sintetinamas maksimaliu greičiu, uroporfirinogeno sintezės greitį riboja porfobilinogeno sintezės greitis. Tas pat galioja ir kiekvienai paskesnei ciklo pakopai. Jei PpIX virtimas hemo vyksta lėčiau negu PpIX sintezė, susikaups didesnis PpIX kiekis (Bonkovsky ir kt., 1985). Uroporfirinai ir koproporfirinai irgi yra potencialūs sensibilizatoriai (Menon ir kt., 1990). Kadangi uroporfirinai susidaro iš uroporfirinogeno, o koproporfirinai – iš koproporfirinogeno, ALA pertekliui sutrikdžius hemo biosintezės ciklą, gali susikaupti ir šių porfirinų perteklius (El-Far, 1990).

8.2 Protoporfirino IX fluorescencija

Fluorescencinės diagnostikos vyksmai prasideda fluoroforo molekulei sugėrus fotoną. Sužadinta molekulė grįžta į žemiausią sužadintą lygmenį S_1 (8.3 pav.), o iš jo – į pagrindinį lygmenį S_0 nespindulinės relaksacijos būdu arba išspinduliuodama fotoną. Ši fluoroforo, susikaupusio ligos pažeistuose audiniuose, spinduliuojama fluorescencija ir padeda aptikti navikinius darinius.

PpIX sugerties spektrą sudaro intensyvi juosta ties maždaug 400 nm (taip vadinama Soret juosta) ir keturios mažiau intensyvios juostos regimojoje spektro srityje nuo 500 nm iki 635 nm (vadinamosios Q-juostos). Žadinant PpIX molekules ties 400 nm



8.3 pav. Sužadintoje protoporfirino IX molekulėje vykstantys fotofizikiniai vyksmai ir dėl jų gaunami sugerties ir fluorescencijos spektrai

(arba regimojoje spektro srityje), jos fluorescuoja raudoną šviesą: PpIX fluorescencijos spektrą sudaro dvi juostos ties 635 nm ir 700 nm (8.3 pav.).

ALA-indukuoto PpIX fluorescencijos intensyvumas sveikame ir navikiniam audinyje priklauso nuo farmakologinių ir fiziologinių veiksnių, kurie veikia ALA pasiskirstymą ir kinetikas, lokalių hemo biosintezės greitį ir PpIX pasišalinimo greitį. Duomenys apie skirtingą ALA indukuoto PpIX sintezę sveikuose ir navikinėse ląstelėse *in vitro* yra gana priešaringi, tačiau visi jie patvirtina, kad sintezė priklauso nuo ląstelių rūšies (Peng ir kt., 1997). Atliekant klinikinius tyrimus pastebėta, kad net to paties paciento skirtingose kūno vietose esančios odos plokščialąstelės karcinomos fluorescavo skirtingu intensyvumu (Martin ir kt., 1995).

Manoma, kad geležies ir ferochelatazės (fermento, kuris PpIX paverčia hemu) trūkumas navikinėse ląstelėse skatina didesnę PpIX kaupimąsi negu sveikose (Battle, 1993).

Skirtinga PpIX koncentraciją ikinaviniuose ir navikiniuose audiniuose taip pat gali lemti specifinės ląstelių savybės (Steinbach ir kt., 1995), audinių terpė (Hanania ir Malik, 1992) arba skirtinga ALA difuzija audiniuose (Gauillier ir kt., 1997).

Klinikiniu požiūriu svarbus ALA indukuoto PpIX pranašumas tas, kad junginiai yra endogeniniai, jų metabolizmas greitas, praktiškai nėra šalutinio poveikio. Spektriniu požiūriu – gerai žinomos PpIX spektrinės savybės. Tačiau ALA dozės ir laiko trukmė nuo ALA suleidimo ir fluorescencijos matavimo turi būti optimizuota ir pritaikyta kiekvienam atvejui, nes nuo to labai priklauso sveiko ir navikinio audinio fluorescencijos kontrastas (Mlkvy ir kt., 1995; Sroka ir kt., 1996; Chang ir kt., 1997; Heil ir kt., 1997). Taikant ALA sistemiškai, fluorescencijos intensyvumo maksimumas paprastai pasiekiamas praėjus kelioms valandoms po ALA dozės sušvirkštimo (van der Veen ir kt., 1994; Campbell ir kt., 1996). Didžiausias fluorescencijos intensyvumų santykis tarp eksperimentinių gyvūnų ir žmogaus šlapimo pūslės naviko ir aplinkinio sveiko audinio vidutiniškai yra 10:1 (Kriegmair ir kt., 1994).

Kitaip negu dauguma egzogeninių fluoroforų-fotosensibilizatorių, kurių kaupimasis sveikuose audiniuose yra beveik homogeniškas, ALA indukuotas PpIX skirtingai kaupiasi sveikuose audiniuose. Tai daugiausia priklauso nuo skirtingo hemo sintezės greičio, nuo ALA difuzijos greičio audiniuose, kai ALA vartojama išoriškai: pavyzdžiui, daug didesnės PpIX koncentracijos aptinkamos tuščiavidurių organų gleivinėje negu pogleivio ir raumenų sluoksniuose. Skirtingas PpIX kaupimasis pastebėtas endometriume ir miometriume (Svasaand ir kt., 1996; Steiner ir kt., 1996; Fehr ir kt., 1996). Smegenų baltojoje medžiagoje sintetinami minimalūs PpIX kiekiai, palyginti su pilkąja medžiaga ir smegenų navikais (Lilge ir kt., 1996).

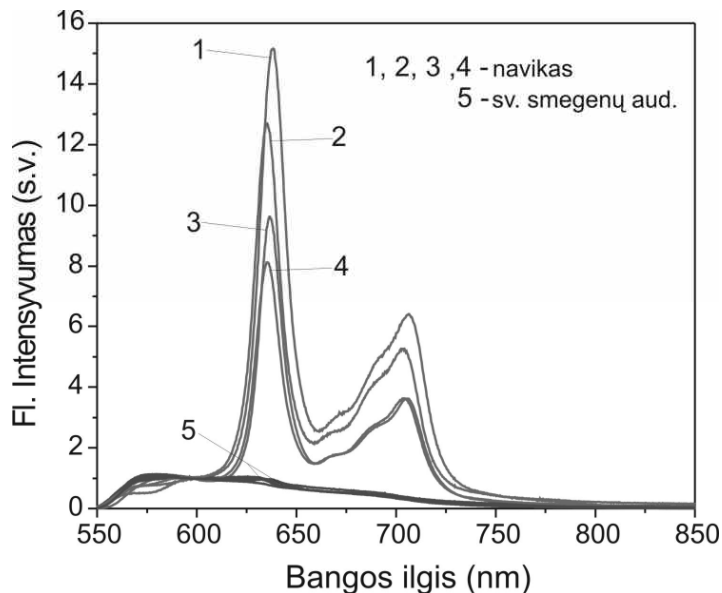
8.3 ALA indukuoto PpIX fluorescencija navikams diagnozuoti

Odos vėžys. Odos ligos yra matomos plika akimi, bet fluorescencinė diagnostika gali būti naudinga nustatant pažaidų ribas ar įvertinant jų piktybiškumą. Odos vėžio diagnostikai paprastai vartojamas specialus tepalas, į kurio sudėtį įeina ALA. Šis būdas mažiausiai veikia organizmą, nes tepama tik tam tikra odos vieta. ALA indukuota PpIX fluorescencija buvo taikyta plokščialąstelei karcinomai diagnozuoti ir jos riboms nustatyti (Rhodes ir kt., 1997; Heyerdahl ir kt., 1997). Sveikos ir naviko pažeistos odos fluorescencijos selektyvumas priklauso nuo ALA tepalo užtepimo trukmės (Meijnders ir kt., 1996). Ne visos plokščialąstelės karcinomos kaupia PpIX, o susikaupusio PpIX

plokščialąstelėje karcinomoje pasiskirstymas nėra homogeniškas (Martin ir kt., 1995). Taikant ALA indukuoto PpIX fluorescenciją plokščialąsteliui vėžiui (mažesniau nei 3 mm) nustatyti, visi tirti atvejai (iš viso 21) buvo teisingai diagnozuoti, o sveikų ir navikinių audinių fluorescencijos intensyvumų kontrastas buvo keliskart didesnis negu naudojant fotofriną (Warloe ir kt., 1992).

Plaučių vėžys. Siekiant anksti diagnozuoti plaučių vėžį taikyta fluorescencinė bronchoskopija. Septyniems pacientams, kuriems buvo įtariamas plaučių vėžys, tačiau nepatvirtintas įprasta bronchoskopija, buvo inhaliuotas 5-10% ALA tirpalas NaCl ir po 3 valandų atlikta fluorescencinė bronchoskopija. ALA indukuoto PpIX fluorescencija padėjo tiksliai nustatyti pažeistas vietas (Baumgartner ir kt., 1996). Intensyvi PpIX fluorescencija buvo matoma navikų, epitelio displazijos ar stipraus uždegimo vietose tiriant kitą septynių pacientų, kuriems įtariamas plaučių navikas, grupę praėjus 3 valandoms po ALA tirpalo inhaliacijos (Huber ir kt., 1996). Sveiki audiniai fluorescavo labai silpnai.

Panaudojius ALA sistemiškai (25-60 mg/kg), mėginta diagnozuoti ankstyvą



8.4 pav. Intraoperacinės spektrofluorimetrijos metu registruoti 5-ALA indukuoto PpIX spektrai. 1, 2, 3 ir 4 spektrai matuoti nuo naviko, 5 – nuo sveikų smegenų baltosios medžiagos

plaučių karcinomą *in situ* penkiems pacientams (Awadh ir Lam, 1996). Autoriai nurodo,

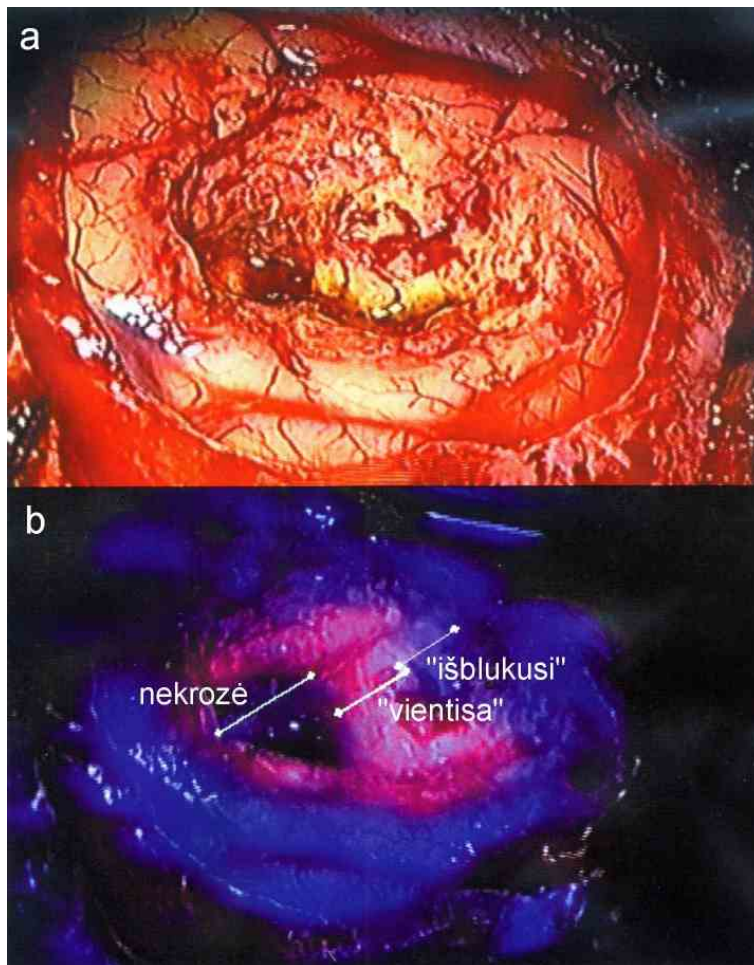
kad ALA indukuoto PpIX fluorescencija nebuvo selektyvi, PpIX švytėjimas buvo matomas ne tik navikiniuose bet ir uždegiminiuose bet metaplaziniuose audiniuose.

Smegenų navikai. Viena iš pagrindinių mirštamumo nuo piktybinių galvos smegenų gliomų priežasčių yra naviko atsinaujinimas iš infiltruotų, makroskopiškai sveikai atrodančių smegenų sričių, esančių aplink pašalinto naviko guolį. Navikas infiltruoja aplinkinius sveikus audinius, o kadangi navikiniai audiniai labai panašūs į sveikus, operacijos metu juos aptikti, identifikuoti ir preciziškai pašalinti labai sunku. Todėl labai reikalingi metodai, kurie operuojant smegenų navikus padėtų sėkmingai kontroliuoti naviko ribas. Tiriant ALA indukuoto PpIX selektyvų kaupimąsi eksperimentinių gyvūnų smegenų gliomose, nustatyta, kad PpIX fluorescencijos intensyvumas sveikame smegenų audinyje ir navike svyravo nuo 1:1,4 iki 1:8,7 (Skauminas ir kt., 2003). Gyvūnams buvo suleidžiama ALA tirpalo (300 mg/kg) ir po 6 valandų atlikus abipusę dekompresinę kraniotomiją buvo registruoti PpIX fluorescencijos spektrai nuo sveikų smegenų baltosios medžiagos ir nuo naviko (8.4 pav.)

Trims pacientams, sergantiems polimorfine glioblastoma, prieš tris valandas iki operacijos buvo duota išgerti ALA tirpalo (10mg/kg) (Stummer ir kt., 1996). Sveiki smegenų audiniai ne fluorescavo visiškai, o naviko audiniai, infiltravę aplinkinius sveikus audinius, švytėjo raudona šviesa. Histopatologiniam tyrimui buvo paimti 35 biopsinės medžiagos mėginiai iš fluorescuojančių, aplinkinių ir ne fluorescuojančių audinių. Paaikškėjo, kad metodo specifiškumas diagnozuojant gliomos infiltracijas siekia 100%.

Tie patys autoriai, siekdami geriau nustatyti smegenų navikų ribas operacijos metu, pritaikė specifinę šviesos šaltinių ir filtrų sistemą, kuri labai palengvina identifikuoti navikinių audinių ribas (Stummer ir Baumgartner, 2000). Naudojant šią sistemą buvo matomas naviko pakraščiuose susikaupusio PpIX švytėjimas. Jis padėjo atpažinti naviko liekanas, kurių buvo neįmanoma identifikuoti baltoje šviesoje (8.5 a ir b pav.). Glioblastomai būdinga centro nekrozė ne fluorescuoja, nes šioje srityje PpIX paprastai nesikaupia. Gyvybingiems proliferuojantiems naviko audiniams būdinga ryški raudona fluorescencija, o infiltruojantys navikiniai audiniai švyti silpnesne rožine šviesa. Išgyvenimo duomenų analizė parodė, kad tokių ligonių prognozė tiesiogiai priklauso nuo to, kaip gerai bus pašalinti skirtingai fluorescuojantys audiniai. Blogiausia prognozė tu

pacientų, kuriems “vientisai” fluorescuojančios sritys nepašalintos, geriausia – tų, kuriems visi fluorescuojantys audiniai pašalinti (Stummer ir Baumgartner, 2000).



8.5 pav. a – smegenų glioblastoma baltoje šviesoje: centre esanti nekrozė gerai matoma; aplinkinių gyvybingų navikinių audinių neįmanoma atskirti nuo sveikų; b – tas pats vaizdas violetinėje-mėlynoje šviesoje, matomas per atitinkamus filtrus: gyvybingi navikiniai audiniai švyti raudonai. Proliferuojantis vientisas navikas fluorescuoja “vientisai”, infiltraciniam navikui būdinga mažiau intensyvi, blanki rožinė fluorescencija. Naviko centro nekrozė, kuri gerai matoma baltoje šviesoje, nefluorescuoja

Šlapimo pūslės vėžys. Dažniausiai ALA indukuota PpIX fluorescencija taikoma šlapimo pūslės vėžio diagnostikai, nes PpIX daug geriau kaupiasi navikiniame audinyje nei sveikame urotelyje (Datta ir kt., 1998).

Apie 70% atvejų šlapimo pūslės navikai yra paviršiniai ir išsidėstę pūslės gleivinėje ir pogleivio sluoksnyje. Dauguma tų navikų yra papildiniai egzofitai, jie auga į

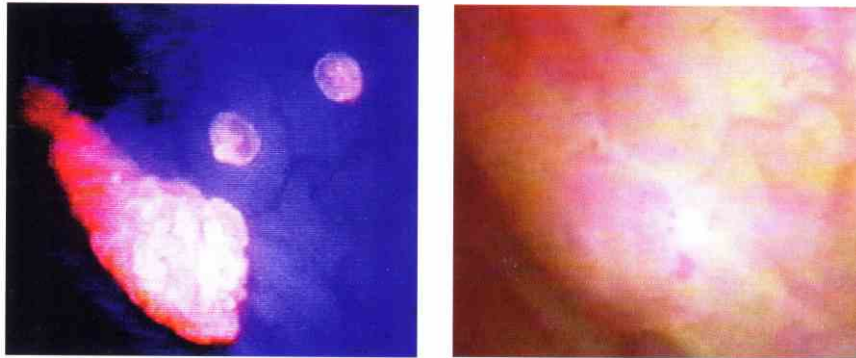
šlapimo pūslės ertmę. Šie navikai paprastai lengvai aptinkami endoskopiškai. Tačiau greta papildinių egzofitinių darinių, šlapimo pūslėje gali būti plokščių neoplazijų, displazijų ar karcinomų *in situ*, kurias aptikti endoskopiškai labai sunku (Kriegmair ir kt., 1994). Dariniai jau gali būti susiformavę tose pūslės srityse, kurios dar atrodo visiškai sveikos. Kad gydymas būtų sėkmingas, labai svarbu aptikti neoplazinius darinius, tokius kaip displazijos ar karcinoma *in situ*. Tačiau didelė tikimybė, kad šie maži papildiniai egzofitiniai dariniai, ypač jei navikas daugiažidininis, gali likti nepastebėti. Recidyvų skaičius po šlapimo pūslės vėžio rezekcijos yra didelis – iki 75%. Per antrąją endoskopinę apžiūrą, praėjus kelioms savaitėms po papildinio naviko pašalinimo, naviko liekanos aptinkamos maždaug trečdaliui pacientų. Todėl stengiamasi sukurti efektyvesnius diagnostikos metodus, padedančius aptikti neoplazijas *in vivo*. Nuo 1992 metų urotelio navikinių darinių fluorescenciniam vaizdinimui taikoma ALA indukuoto PpIX fluorescencija.

Ypač daug šioje srityje yra nuveikę Miuncheno (Vokietija) universitetinės ligoninės mokslininkai ir gydytojai. Į šlapimo pūslę instiliavus 3% ALA tirpalo ir po 2–3 valandų atlikus fluorescencinę cistoskopiją, žadinant ALA-indukuotą PpIX kriptono jonų lazerio spinduliuote (406,7 nm), urotelio pažeidimai švytėjo raudona šviesa (Kriegmair ir kt., 1994; Kriegmair ir kt., 1996). Pažeistos vietos ir normalaus urotelio fluorescencijos intensyvumų santykis buvo 17:1. Tiriant 104 pacientus, sergančius šlapimo pūslės karcinoma, naviko diagnozavimas fluorescencine cistoskopija buvo gerokai tikslesnis (96,9%), palyginti su įprasta baltos šviesos cistoskopija (72,7%) (Kriegmair ir kt., 1996).

Šioje ligoninėje sukonstruota speciali fluorescencinė diagnostinė sistema, sudaryta iš modifikuotų įprastinių komponentų (šviesos šaltinio, endoskopų, CCD kameros). Mėlyną fluorescencijos žadinimo šviesą spinduliuoja specialiai tam tikslui sukurta didelio galingumo šviesos sistema. Ši sistema, vadinama “D-LIGHT”, gali būti naudojama ir kaip baltos šviesos šaltinis. Tiek mėlynos, tiek baltos šviesos intensyvumą galima tolygiai keisti. Prireikus balta šviesa gali būti perjungta į fluorescenciją žadinančią mėlyną šviesą ir atvirkščiai. Prietaisą galima sujungti su visais įprastais endoskopiniais instrumentais, tam tereikia specialios optikos. Integruoti šviesolaidžiai leidžia atlikti endoskopinę apžiūrą žiūrint tiesiai arba 30 laipsnių kampu. Prie okuliario tvirtinamas stebėjimo filtras, kurio paskirtis – blokuoti didžiąją dalį išsklaidytos atspindėtos žadinimo

šviesos, kad geriau išryškėtų raudona fluorescencija. Galima ne tik matyti plika akimi, bet ir fiksuoti rezultatus jautria CCD kamera (8.6 pav.).

Šia aparatūra tiriant 328 ligonius rezekcijos metu arba atliekant apžiūrą,



8.6 pav. Didelis egzofitinis ir maži antriniai navikai: fluorescencinis vaizdinimas ir endoskopinis vaizdas baltoje šviesoje

fluorescencinis vaizdinimas padėjo aptikti 82 neoplazijas, kurios nebuvo matomos baltoje šviesoje (Kriegmair ir kt., 1999). Panašius rezultatus fluorescencinės cistoskopijos būdu gavo ir kiti autoriai (Jichlinski ir kt., 1997; Koenig ir kt., 1999). Didelis metodo pranašumas tas, kad į šlapimo pūslę instiliavus ALA tirpalo nepastebėta jokių šalutinių fototoksinių reakcijų (Filbeck ir kt., 2000).

Galvos ir kaklo navikai. Kasmėt vis daugiau žmonių suseraga burnos ertmės, ryklės ir gerklų vėžiu. Dažniausiai tai esti karcinomos, sarkomos, limfomos ir piktybinės melanomos. Beveik 90% atvejų sudaro plokščialąstelės karcinomos. Tačiau anksti aptikti pirminės ir antrinės karcinomas beveik neįmanoma nei mikroskopiniais tyrimais, nei vaizdinimo metodais. Displazijos ir karcinomos *in situ* dažnai atrodo kaip labai plokščios gleivinės pažaidos ir retai turi navikams būdingų morfologinių požymių. Todėl operuojančiam chirurgui yra labai sudėtinga tiksliai nustatyti naviko ribas, galimus išsišakojimus ir preciziškai pašalinti visą naviką.

Nuo 1995 metų Miuncheno universitetinės ligoninės burnos ertmės navikų skyriuje burnos ertmės karcinomų fluorescencijai sukelti imta naudoti ALA (Leunig ir kt., 1996). Aminolevulino rūgšties tirpalu mineraliniame vandenyje (0,4%) 15 minučių skalaujama burnos ertmė. Praėjus maždaug 1,5–2 valandoms naviko pažeistas plotas

švyti raudonai ir gerai išsiskiria žalsvai atrodančiame sveikų audinių fone. Kiekybiniam navikinių ir sveikų audinių fluorescencijos intensyvumų skirtumams įvertinti ir jų lokalizacijai nustatyti buvo išmatuoti fluorescencijos spektrai. Navikinių audinių fluorescencijos spektre matoma PpIX būdinga juosta su smaile ties 635 nm, kuri sveikų audinių spektre yra daug mažesnė. Praėjus pusantros valandos po ALA įterpimo į organizmą burnos ertmėje esančios karcinomos *in situ* lokalizacijos vietoje PpIX fluorescencijos intensyvumas buvo dešimt kartų didesnis negu aplinkinių sveikų audinių.

Diagnostuojant gerklų ir balso stygų navikus 0,6% ALA tirpalo įpurškiama specialiu inhaliatoriumi. Tačiau spektrofluorimetriniais matavimais įvertinus PpIX fluorescencijos intensyvumų (iš intensyvumo ties 635 nm atėmus savitosios fluorescencijos intensyvumą) navikinio darinio centre ir aplinkinėje sveikoje gleivinėje santykį pastebėta, kad jis didesnis, kai burna skalaujama ALA tirpalu. Po skalavimo fluorescencijos kontrastas tarp navikinio ir sveiko audinio buvo beveik dešimt, o po inhaliacijos – tik du kartus didesnis (Leunig ir kt., 2000).

Taikydami ALA indukuoto PpIX fluorescenciją galvos ir kaklo navikams diagnozuoti gerų rezultatų pasiekė Švedijos mokslininkai (Svanberg ir kt., 1995). Pacientams buvo sugirdoma ALA dozė (5–15 mg/kg) ir po 6–8 valandų atliekamas sveikų, nepiktybinių navikų pažeistų, ikinavikinių ir navikinių audinių fluorescencinis vaizdinimas, matuojami audiniuose susikaupusio PpIX fluorescencijos spektrai. Didžiausias PpIX fluorescencijos intensyvumas buvo plokščialąstelės karcinomos ir displazijos pažeistuose audiniuose, palyginti su nepiktybinių navikų pažeistais audiniais.