

KLINIKINIAI TYRIMAI

Odos navikų fluorescencinė diagnostika naudojant 5-aminolevulininę rūgštį ir jos metilintą esterį

Jurgita Liutkevičiūtė Navickienė, Aleksandras Mordas, Saulė Šimkutė,
Laima Bloznelytė-Plėšnienė

Vilniaus universiteto Onkologijos instituto Lazerinės ir fotodinaminės terapijos laboratorija

Raktažodžiai: fluorescencinė diagnostika, 5-aminolevulininė rūgštis, metilo aminolevulinatas, odos navikai, protoporfirinas IX.

Santrauka. Tyrimo tikslas. Sergamumas piktybiniais epiteliniais odos navikais sparčiai didėja. Siekiant gerų gydymo rezultatų, ypač svarbu kuo anksčiau diagnozuoti navikus ir nustatyti tikslias jų ribas. Mes tyrėme protoporfirino IX fluorescenciją odos piktybiniuose navikuose, lygindami 5-aminolevulininės rūgšties ir jos metilinto esterio aplikacijas.

Tyrimo metodai. Fluorescencinė diagnostika atlikta 126 ligoniams, diagnozuojant ir nustatant tikslias odos plokščialąstelinio, bazoląstelinio vėžio bei ikivėžinių darinių ribas. 5-aminolevulininės rūgšties ar metilo aminolevulinato kremo buvo tepama ant įtartino odos darinio ir laikoma 2–4 val. Tiriamą plotą apšvietus violetine diodo šviesa, buvo įvertinta protoporfirino IX švytėjimo ir morfologinių tyrimų rodmenų koreliacija.

Rezultatai. Atliekant fluorescencinę diagnostiką, navikinis audinys švyti ryškiai raudona-avietine spalva, aiškiomis ribomis melsvai-violetiniame sveikų audinių fone. Naviko ribų fluorescencija, sužadinta 5-aminolevulinine rūgštimi, 30 proc. atvejų buvo nežymiai silpnesnė, lyginant su jos metilintu esteriu sukelta fluorescencija. Įvertintas odos piktybinių navikų aplikacinės fluorescencinės diagnostikos jautrumas – 95,4 proc., specifiskumas – 88,6 proc., teigiama prognostinė vertė – 86,1 proc., neigiama prognostinė vertė – 96,3 proc.

Išvados. 5-aminolevulininės rūgšties ar jos metilinto esterio aplikacinė fluorescencinė diagnostika yra patikimas metodas piktybinių epitelinių odos navikų vaizdinimui. Jis ypač tinkamas ankstyvajai paviršinio odos vėžio diagnostikai, tiksliai naviko ribų nustatymui ir stebėjimui. Po metilo aminolevulinato aplikacijos naviko ribos matomos šiek tiek ryškiau nei naudojant 5-aminolevulininę rūgštį.

Įvadas

Lietuvos vėžio registro duomenimis, Lietuvoje kaip ir visame pasaulyje sergamumas piktybiniais epiteliniais odos navikais sparčiai didėja (1, 2). Siekiant gerų gydymo rezultatų, ypač svarbu kuo anksčiau diagnozuoti navikus. Šiais atvejais labai vertinga fluorescencinė diagnostika (FD), medicinos literatūroje taip pat vadinama fotodinamine diagnostika (FDD) (3, 4), naudojant endogeniškai iš 5-aminolevulininės rūgšties (ALA) sintezuojamo protoporfirino IX (PpIX) fluorescenciją. Fluorescencinės diagnostikos esmė ta, kad piktybinių navikų audiniuose porfirinų susikaupia kur kas daugiau nei sveikuose audiniuose (5, 6), nes pastarieji turi daugiau fermento feroche-

latazės, paverčiančio protoporfiriną IX hemu (7). Be to, navikiniame audinyje šie junginiai išlieka ilgiau nei sveikose ląstelėse (8). Porfirinai, sugėrę tam tikro bangos ilgio šviesos kvantą, turi savybę švytėti (fluorescuoti). Įvedus porfirinus į navikinius audinius ir juos apšvietus tinkamo bangos ilgio šviesa, matoma šių audinių fluorescencija (9,10).

Aplikacinė fotodinaminė terapija (FDT), vartojant egzogeninius fotosensibilizatoriaus pirmtakus: 5-aminolevulininę rūgštį ar metilo aminolevulinatą (MAL), yra pagrįsta fotosensitizacijos principu (11) ir vis plačiau bei efektyviau taikoma paviršiniams odos piktybiniais navikams ir ikivėžiniams dariniams gydyti (12), todėl galimas vis platesnis šios diagnostikos pri-

taikymas praktikoje. Prieš skiriant gydymą, labai naudinga ir būtina nustatyti tikslias navikų ribas, apšviečiant tinkamu šviesos šaltiniu, ir įvertinti pakitusių audinių fluorescenciją.

Nuo 1990 m. fluorescencinei diagnostikai ir fotodinaminei terapijai vartojamas labai perspektyvus fotosensibilizatorius – 5-aminolevulininė rūgštis. 1998 m. susintetintas 5-aminolevulininės rūgšties metilintas esteris, kurio registruota Europoje vaistinė forma aplikacinei FDT – Metvix (metilo aminolevulinatas) (13). Abi šios medžiagos yra PpIX, gana selektyviai besikaupiančio navikiniuose audiniuose, biosintezės pirmtakai, nukonkuravę hematoporfirino darinius (HpD), sukeliančius ilgalaikę (iki 1 mėn.) fotosensibilizaciją (14, 15). Tuo tarpu po ALA aplikacijos įjautrinimas šviesai išlieka ne ilgiau kaip 24 valandas ir tai pasireiškia labai retais atvejais.

Fluorescencinės diagnostikos tikslas – navikinių audinių atpažinimas ir jų ribų nustatymas naudojant sensibilizatorių. Atsižvelgiant į tai, kad nėra pakankamai duomenų apie PpIX sukeltą fluorescenciją pažeistoje bei sveikoje odoje (12), šio tyrimo tikslas – palyginti ALA ir MAL galimybes, fluorescencinėse odos navikų diagnostikose tapatumus bei skirtumus.

Tirtųjų kontingentas ir tyrimai

Fluorescencinė diagnostika atlikta 126 ligoniams Vilniaus universiteto Onkologijos instituto Lazerinės ir fotodinaminės terapijos laboratorijoje, diagnozuojant ir nustatant tikslias plokščialąstelinės, bazoląstelinės karcinomos bei ikivėžinių darinių ribas. Atlikti biomedicininį tyrimą „Odos ir gleivinių navikų fotodinaminė diagnostika“ gautas Lietuvos bioetikos komiteto leidimas (2006-09-08 Nr. 38 ir 2006-12-22 Nr. 62). Kiekvienas pacientas buvo supažindintas su tyrimu ir pasirašė informuoto asmens sutikimo formą.

Tyrimė dalyvavo vyresni nei 18 metų pacientai (vyrų – 42 proc., moterų – 58 proc.), kuriems kliniškai buvo įtartas arba morfologiškai nustatytas odos epitelinis vėžys. Tiriamųjų amžius svyravo nuo 35 iki 91 metų (amžiaus vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis – $68,8 \pm 13,1$ metų). Pusei ligonių buvo tiriamas vienas darinys, kitiems – daugiau nei vienas. Iširti 162 odos dariniai. Darinių skirstinys pagal lokalizaciją ir morfologiją pateikiamas 1 lentelėje.

Aplikacinei fluorescencinei diagnostikai naudoti fotopreparatai: 5-aminolevulininė rūgštis arba metilo aminolevulinatas (MAL). Iš 5-ALA (5-aminolevulinsaurehidrochlorid; Medac; Vokietija) buvo ruošiamas 20 proc. tepalas, riebaus kremo (Excipial) pagrindo. Tepalas mentele tepamas plonu (apie 1 mm)

1 lentelė. Tirtų odos navikų skirstinys atsižvelgiant į lokalizaciją ir morfologiją

Odos navikų lokalizacija ir morfologija	Skaičius (proc.)
Lokalizacija	
Periorbitalinė sritis ir vokai	16
Veidas	38,2
Ausis	6,8
Plaukuotoji galvos dalis ir kaklas	13
Kitos sritys	26
Židinio pobūdis	
Bazoląstelinė karcinoma	48,2
Plokščialąstelinė karcinoma	5,5
Iktivėžiniai dariniai	14,8
Gerybiniai pokyčiai	31,5

sluoksniu ant tiriamojo odos ar gleivinių paviršiaus ir aplinkinių sveikų audinių 5–10 mm atstumu nuo tiriamojo židinio, uždengiamas polietilenine plėvele ir fiksuojamas medicininis pleistru. Laikomas 2–4 val., po to švariai nuvalomas tamponu, sumirkytu fiziologiniame tirpale (16). Ant identiškų darinių tokiu pat principu buvo tepamas MAL (Metvix – registruotas vaistinis PhotoCure ASA (Norvegija) preparatas. Šio kremo aktyvioji sudedamoji dalis 160 mg/g metilo aminolevulinatas (kaip hidrochloridas), ekvivalentas 16,0 proc. metilo aminolevulinato). MAL buvo laikomas 3 val., po to nuvalomas (17).

Tiriamąjį plotą audinius 2–10 sek. apšvietus tinkamo bangos ilgio šviesa (tam pritaikėme labai mažos galios (401 nm ir 405 nm) milivatinių šviesos diodų šviesą, kuri nesukelia jokio pavojaus, nereikia apsaugos priemonių), buvo vertinama fluorescencija. Fluorescencija kiekvieną kartą buvo vertinama atskirai dviejų ar trijų gydytojų, rezultatai sumuojami ir pateikiamas vidurkis. Tyrimo pradžioje kartu buvo atliekama dešimties darinių spektroskopinė analizė, kuria remiantis pavyko sudaryti ir pagrįstai naudoti matomą vaizdinę skalę. Fluorescencija fotografuota skaitmeniniu fotoaparatu, duomenys saugomi kompiuteryje.

FD procedūrų metu iš visų fluorescuojančių sričių, o įtarus piktybinį procesą, tiek iš fluorescuojančių, tiek iš nefluorescuojančių židinių buvo imama medžiagos citologiniams ar biopatas histologiniams tyrimams ir vertinama tiriamojo audinio morfologijos ir fluorescencijos koreliacija.

Statistiniai metodai. Atlikta aprašomoji duomenų analizė. Skaičiavimams naudotas statistinis programų

paketas „SPSS 16.0“ (version for Windows). Apskaičiuoti įprasti testo kokybę charakterizuojantys rodikliai: jautrumas, specifiskumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė (18). Tiriant fluorescencijos intensyvumo ir darinio tipo (plokščialąstelinio, bazoląstelinio vėžio bei darinų) priklausomybę, taikytas chi kvadrato (χ^2) testas. Duomenų skirtumas statistškai reikšmingas, kai $p < 0,05$.

Rezultatai

Ištyrę 162 odos darinius, nustatėme, kad piktybinių navikų audinys fluorescuoja ryškiai raudona-avietine spalva, aiškiais ribomis melsvai-violetiniame sveikų audinių fone, nes PpIX fluorescencijos pikas – 635 nm (raudona spalva).

ALA ir MAL fluorescencija sukelta beveik visiškai nesiskyrė. Galima išskirti tik labai nežymų fluorescavimo skirtumą, kuris užfiksuotas 30 proc. atvejų. Ribas tarp sveiko ir pažeisto audinio buvo galima šiek tiek tiksliau nustatyti aminolevulinatu sukelta fluorescencija, nes ALA sukelta fluorescencija neturėjo tokių aiškių ribų (jos lyginant su MAL sukelta fluorescencija atrodo „išsiliejusios“ (pav.)). Tai buvo labai nežymūs skirtumai, kurie klinikoje gali būti pastebimi tik tuomet, kai specialiai atkreipiamas dėmesys į šį požymį.

Plokščialąstelinės karcinomos (Ca) ir Ca in situ židinių fluorescavimas ryškiai avietine spalva intensyvesnis nei kitų tirtų fluorescuojančių židinių. Du ligoniai su šia patologija buvo imunodeficitinės būsenos dėl šalutinių ligų ir tai galbūt sąlygojo intensyvesnę fluorescavimą.

Šiuo metodu diagnozuotos bazoląstelinės kar-

cinomos – dažniausi odos navikai. Iš viso ištyrėme 78 bazaliomas (iš jų 8 dariniai diagnozuoti fluorescencija). 23 FD nustatėme tiksliai išplitimo ribas prieš gydymą (patvirtinta morfologiniais tyrimais). Tai ypač svarbu siekiant radikalaus gydymo.

Tyrimo metu įprastinės violetinės šviesos (skleidžiamos šviesos šaltinio) fone stebėtas arba nestebėtas fluorescavimas, kurio spalva varijavo nuo avietinio iki alyvinio atspalvio, priklausomai nuo tirtojo darinio – ar tai buvo ikivėžiniai, ar piktybiniai odos dariniai. Vieną židinių iš trijų Ca in situ diagnozavome pasitelkę FD.

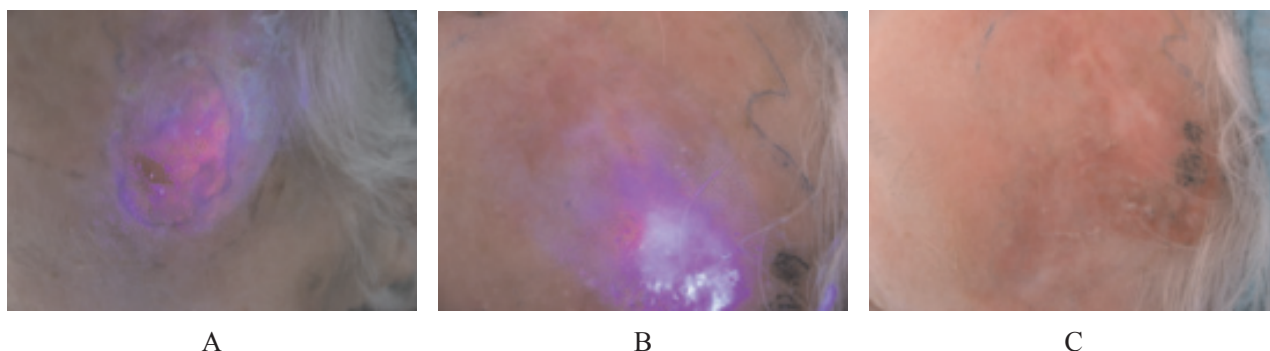
Aktininė keratozė – tai ikivėžinis odos susirgimas. 16 atvejų fluorescavo ir buvo patvirtinta morfologiškai. Ši fluorescencija turėjo labiau alyvinį nei avietinį (būdingą karcinomai) atspalvį.

Reaktyvūs pokyčiai – tai 20 morfologiškai patvirtintų atsakymų. Iš 20 židinių tik keturi fluorescavo ir ne itin intensyviai. Raudona fluorescencija taip pat turėjo labiau alyvinį nei avietinį atspalvį.

Tik vienu atveju registravome šalutinį reiškinį, tai yra neintensyvi skausmą apšvietus akies kampą violetine šviesa ir vertinant fluorescenciją. Daugiau šalutinių reiškinų neužfiksavome.

Fotodinaminę diagnostiką naudojome prieš aplikacinę fotodinaminę terapiją, jos metu ir iškart po jos. Naudojant šią diagnostiką, įvertintas FDT radikalumas.

Tyrimo kokybę charakterizuojantys rodikliai: jautrumas, specifiskumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė pateikiami 2 lentelėje, priklausomybė tarp židinio pobūdžio ir fluorescavimo 3 lentelėje.



Pav. Bazoląstelinės karcinomos fluorescencijos skirtumai

A – bazoląstelinės karcinomos fluorescencija po metilo aminolevulinato (MAL) aplikacijos;
B – fluorescencija po 5-aminolevulininės rūgšties (ALA) aplikacijos, mažiau ryškios ribos tarp piktybinio audinio ir sveikos odos; C – bazoląstelinė karcinoma kaktos-smilkinio srityje.

2 lentelė. Tyrimo kokybę charakterizuojantys rodikliai

Jautrumas	Specifiškumas	Teigiama prognostinė vertė	Neigiama prognostinė vertė
95,4 proc.	88,6 proc.	86,1 proc.	96,3 proc.

3 lentelė. Priklausomybė tarp židinio pobūdžio ir fluorescavimo

Židinio pobūdis	Fluorescencija (proc.)			Iš viso (proc.)
	intensyvi	nežymi	nėra	
Bazoląstelinė karcinoma	58 (74,3)	18 (23,1)	2 (2,6)	78 (100,0)
Plokščialąstelinė karcinoma	8 (88,9)	0 (0,0)	1 (11,1)	9 (100,0)
Iktivėžinis darinys	7 (29,1)	16 (66,7)	1 (4,2)	24 (100,0)
Gerybinis darinys	1 (2,0)	10 (19,6)	40 (78,4)	51 (100,0)
Iš viso	74 (45,8)	44 (27,1)	44 (27,1)	162 (100,0)

Rezultatų aptarimas

Įvertinę ALA ir MAL galimybes epitelinių odos navikų fluorescencinėje diagnostikoje, įrodėme, kad abu fotovaistai yra tinkami piktybinio proceso išplitimui ir tikslioms riboms nustatyti. Turint galimybę, reikėtų rinktis metilo aminolevulinatą tikslesnių ribų nustatymui, tačiau pasirodo duomenų, jog MAL labiau linkęs sukelti kontaktines alergines reakcijas nei ALA (19). Svarbu pažymėti, kad tyrimų metu stebėta fluorescencija visada turėjo labai aiškias ribas, naudojant MAL, o kiek labiau „išsiliejusias“ – panaudojus ALA. Tai būtų galima sieti su didesniu 5-ALA esterių lipofiliškumu, dėl kurio pastarieji geriau prasišverbia per ląstelės membraną (20) ir didesniu specifiškumu pažeistoms bei pakitusioms ląstelėms nei normaliai odai (21). Tačiau fluorescuojantį darinį visais atvejais galima buvo išskirti milimetro dalių tikslumu.

Pastebėjome, kad, laikant ALA trumpesnę laiką, t. y. 2 val. (22), piktybinių audinių fluorescavimas būna panašesnis į sukeltą MAL, t. y. navikiniai audiniai ryškiau apriboti nefluorescuojančios sveikos odos. Tai galima susieti su PpIX sukeltu fluorescavimu, kuris palaipsniui, per ilgą laiką, atsiranda ir sveikoje odoje, patepus ją 5-aminolevulinine rūgštimi (12). Todėl, atliekant fluorescencinę diagnostiką, 5-aminolevulininės rūgšties tepalą rekomenduotina laikyti 2–3 val., neviršijant 4 valandų, ryškesnėms riboms tarp sveiko ir pažeisto audinio nustatyti.

Atlikus tyrimą, nustatyta, jog tyrimo kokybę charakterizuojantys rodikliai beveik sutampa su Y. Won ir jo bendraautorių paskelbtais analogiškais rodikliais, jų nustatytas jautrumas – 95 proc., specifiškumas – 88 proc. (23). Kiek skirtingus šiuos duomenis būtų

galima paaiškinti tuo, kad jie tyrė tik bazoląstelinės karcinomos fluorescenciją, sukeltą MAL. Kitų lokalizacijų fluorescencinės diagnostikos rodikliai taip pat labai aukšti: burnos ertmės plokščialąstelinio vėžio jautrumas ir specifiškumas atitinkamai – 99 proc. ir 60 proc. (24), o gerklų – 89 proc. ir 100 proc. (25). Geri rezultatai aprašomi ir neurochirurgų: FD padeda tiksliau nustatyti galvos smegenų naviko ribas ir atlikti radikalesnę operaciją (26, 27).

Įdomu tai, kad skirtingo histologinio tipo dariniai skleidė kiek skirtingo atspalvio fluorescenciją. Kadangi šie skirtumai buvo labai nežymūs, mes manome, kad reikalingi tolesni ir išsamesni tyrimai. Jau žinoma, kad atskirų žmonių odos savitosios fluorescencijos spektrai yra skirtingi (28), galbūt tai būdinga ir skirtingo histologinio tipo dariniams.

Šio tyrimo metu nustatėme tik vieną šalutinį reiškinį – neintensyvų skausmą. Tačiau negalima pamiršti šalutinių reiškinų jautriems pacientams skiriant ALA ar MAL. Jie gali pasireikšti odos jautrumu šviesai (15), kuris trunka iki 24 val., kontaktiniu dermatitu (0,4 proc. gydomų Metvix'u) (17), pykimimu. Labai retai gali atsirasti praeinanti bilirubinurija.

Išvados

1. Mūsų duomenimis, fotodinaminė diagnostika, naudojant 5-aminolevulininės rūgšties ar jos metilinto esterio aplikaciją, yra informatyvus diagnostikos metodas nustatant tiek pirminius piktybinius epitelinius odos navikus, tiek galimus jų ataugimus po gydymo bei tikslinant neaiškias piktybinio proceso ribas.

2. MAL nedaugeliu atvejų tinkamesnis fluorescencinei diagnostikai nei ALA, tikslesnių piktybinio proceso ribų nustatymui.

Fluorescence diagnostics of skin tumors using 5-aminolevulinic acid and its methyl ester

Jurgita Liutkevičiūtė Navickienė, Aleksandras Mordas, Saulė Šimkutė,
Laima Bloznelytė-Plėšnienė

Laboratory of Laser and Photodynamic Treatment, Institute of Oncology, Vilnius University, Lithuania

Key words: fluorescence diagnostics; 5-aminolevulinic acid; methyl aminolevulinate; skin tumors; protoporphyrin IX.

Summary. Objective. The incidence of malignant skin tumors is rapidly increasing. Early diagnosis, determining the margins of the tumor, is extremely important to achieve good treatment results. We investigated fluorescence of protoporphyrin IX in skin carcinomas. The study aimed to compare the effectiveness of topical 5-aminolevulinic acid and methyl-aminolevulinate in determining the exact margins of skin tumors.

Materials and methods. Fluorescence measurements were performed in 126 patients with malignant, premalignant, and benign skin lesions for detection of the margins of squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma. 5-Aminolevulinic acid or its methyl ester was applied to the skin lesion for 2–4 h, and the data of evaluated protoporphyrin IX fluorescence were correlated with the data of morphological tissue examination.

Results. Malignant tissue shows a specific red fluorescence when illuminated with blue-violet light, whereas no fluorescence was observed in normal skin. In 30% of cases, the delineation of neoplastic lesions excited by 5-aminolevulinic acid was slightly weaker than using methyl-aminolevulinate. A sensitivity of 95.4% and a specificity of 88.6% as well as positive and negative predictive values of 86.1% and 96.3%, respectively, were obtained.

Conclusions. Fluorescence diagnostics can be used for complete visualization of malignant skin lesions after topical application of 5-aminolevulinic acid or methyl aminolevulinate. It has been shown to be highly effective in the diagnostics of malignant superficial skin lesion. This method is applicable for detecting early superficial tumors, margins of tumors, and follow-up after therapy. Topical application of methyl aminolevulinate is slightly superior to 5-aminolevulinic acid in detection of lesion margins.

Correspondence to J. Liutkevičiūtė Navickienė, Institute of Oncology, Vilnius University, Santariškių 1, 08660 Vilnius, Lithuania. E-mail: jurgita.navickiene@vuo.lt

Literatūra

1. Ceilley RI, Del Rosso JQ. Current modalities and new advances in the treatment of basal cell carcinoma. *Int J Dermatol* 2006;45:489-98.
2. Devirgiliis V, Panasiti V, Curzio M, Gobbi S, Rossi M, Roberti V, et al. Complete remission of nodular basal cell carcinoma after combined treatment with photodynamic therapy and imiquimod 5% cream. *Dermatol Online J* 2008;14(2):25.
3. Calzavara-Pinton PG, Venturini M, Sala R. Photodynamic therapy: update 2006. Part 2: Clinical results. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21:439-51.
4. Fritsch C, Ruzicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy in dermatology from experimental state to clinic standard methods. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006;25:425-40.
5. Calzavara-Pinton PG, Venturini M, Sala R. Photodynamic therapy: update 2006. Part 1: Photochemistry and photobiology. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21:293-302.
6. Lukšienė Z, de Witte PA. Hypericin as novel and promising photodynamic therapy tool: studies on intracellular accumulation capacity and growth inhibition efficiency. *Medicina (Kaunas)* 2003;39:677-82.
7. Peng Q, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Nesland JM. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research. *Photochem Photobiol* 1997;65(2):235-51.
8. Akramienė D, Gražienė G, Didžiapetrienė J, Kėvelaitis E. Treatment of Lewis lung carcinoma by photodynamic therapy and glucan from barley. *Medicina (Kaunas)* 2009;45:480-5.
9. Vereecken P, Da Costa CM, Steels E, De Lathouwer O, Heenen M, De Mey A. Fluorescence diagnosis of face-located basal cell carcinomas: a new dermatological procedure which may help the surgeon. *Acta Chir Belg* 2007;107:205-7.
10. Hillemanns P, Reiff J, Stepp H, Soergel P. Lymph node metastasis detection of ovarian cancer by porphyrin fluorescence photodetection: case report. *Lasers Med Sci* 2007;22:131-5.
11. Labanauskienė J, Šatkauskas S, Kirvelienė V, Venslauskas M, Atkočius V, Didžiapetrienė J. Enhancement of photodynamic tumor therapy effectiveness by electroporation in vitro. *Medicina (Kaunas)* 2009;45:372-7.
12. Ibbotson SH, Jong C, Lesar A, Ferguson JS, Padgett M, O'Dwyer M, et al. Characteristics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in human skin in

- vivo. Photodermatol Photoimmunol Photomed 2006;22:105-10.
13. Jungersted JM, Dam TN, Bryld LE, Agner T. Allergic reactions to Metvix (ALA-ME). Contact Dermatitis 2008;58:184-6.
14. Babilas P, Landthaler M, Szeimies RM. Photodynamic therapy in dermatology. Eur J Dermatol 2006;16:340-8.
15. Bloznelytė-Plėšnienė L, Rutkovskienė L. Photodynamic therapy of malignant and benign tumours in Lithuania. Acta Medica Lituanica 2007;14:193-200.
16. Liutkevičiūtė-Navickienė J, Bloznelytė-Plėšnienė L, Mordas A. Topical photodynamic therapy in skin and mucosal lesions. Acta Medica Lituanica 2002;9(Suppl):73-6.
17. Smucler R, Vlk M. Combination of Er:YAG laser and photodynamic therapy in the treatment of nodular basal cell carcinoma. Lasers Surg Med 2008;40:153-8.
18. Hruđey SE, Leiss W. Risk management and precaution: insights on the cautious use of evidence. Environ Health Perspect 2003;111:1577-81.
19. Wulf H C, Philipsen P. Allergic contact dermatitis to 5-aminolaevulinic acid methylester but not to 5-aminolaevulinic acid after photodynamic therapy. Br J Dermatol 2004;150:143-5.
20. Kloek J, Beijersbergen van Henegouwen MJ. Prodrugs of 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy. Photochem Photobiol 1996;64:994-1000.
21. Fritsch C, Homey B, Stahl W, Lehmann P, Ruzicka T, Sies H. Preferential relative porphyrin enrichment in solar keratoses upon topical application of 5-aminolevulinic acid methylester. Photochem Photobiol 1998;68:218-21.
22. Leunig A, Betz CS, Heinrich P, Janda P, Baumgartner R. Fluorescence staining of oral and laryngeal cancer after application of 5-aminolevulinic acid. Laryngorhinootologie 2002;81:807-14.
23. Won Y, Hong SH, Yu HY, Kwon YH, Yun SJ, Lee SC, et al. Photodetection of basal cell carcinoma using methyl 5-aminolaevulinate-induced protoporphyrin IX based on fluorescence image analysis. Clin Exp Dermatol 2007;32:423-9.
24. Leunig A, Betz CS, Mehlmann M, Stepp H, Arbogast S, Grevers G, et al. Detection of squamous cell carcinoma of the oral cavity by imaging 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence. Laryngoscope 2000;110:78-83.
25. Rydell R, Eker C, Andersson-Engels S, Krogdahl A, Wahlberg P, Svanberg K. Fluorescence investigations to classify malignant laryngeal lesions in vivo. Head Neck 2008;30:419-26.
26. Bogaards A, Varma A, Collens CP, Lin A, Giles A, Yang VXD, et al. Increased brain tumor resection using fluorescence image guidance in a preclinical model. Lasers Surg Med 2004;35:181-90.
27. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler O, Zanella F, Reulen H. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. Lancet Oncol 2006;7(5):392-401.
28. Rotomskis R, Streckytė G. Fluorescencinė navikų diagnostika. (Fluorescence diagnostics of tumors.) Medicina (Kaunas) 2004;40:1219-30.

Straipsnis gautas 2008 11 10, priimtas 2009 12 07

Received 10 November 2008, accepted 7 December 2009