

ЛАЗЕРНАЯ ВИДЕОФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДКА

DOI: 10.17691/stm2018.10.4.05

УДК 616.33–073.759

Поступила 3.04.2018 г.



М.В. Лощенов, к.ф.-м.н., научный сотрудник лаборатории лазерной биоспектроскопии¹;
В.В. Левкин, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии №1²;
А.Ф. Черноусов, д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой факультетской хирургии №1²;
Н.А. Калягина, к.ф.-м.н., научный сотрудник лаборатории лазерной биоспектроскопии¹; научный сотрудник³;
С.С. Харнас, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии №1²;
В.Я. Заводнов, к.м.н., зав. межклиническим эндоскопическим отделением²;
К.Г. Линьков, к.т.н., старший научный сотрудник лаборатории лазерной биоспектроскопии¹;
Г.Х. Мусаев, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии №1²;
А.В. Егоров, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии №1²;
Р.В. Карпова, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии №1²;
В.К. Рыбин, к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии №1²;
Т.В. Хоробрых, д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии №1²

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, ул. Вавилова, 38, Москва, 119991;

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119991;

³Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Каширское шоссе, 31, Москва, 115409

Цель исследования — оценить эффективность метода регистрации видеофлюоресценции 5-АЛК-индуцированного протопорфирина IX при заболеваниях желудка и пищевода и адаптировать его для клинических условий — проведения дифференциальной диагностики и выявления предраковых состояний, а также сформулировать рекомендации по дозировкам и времени применения фотосенсибилизатора при диагностике данных заболеваний.

Материалы и методы. Регистрацию флюоресценции в диагностических целях проводили 57 пациентам с заболеваниями желудка и пищевода (преимущественно с раком желудка) с помощью одноканальной (n=50) и двухканальной (n=7) лазерной видеофлюоресцентной системы регистрации. Исследование осуществляли с использованием 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) (препарат Аласенс). Выполнено 39 эндоскопических, 18 интраоперационных/лапароскопических исследований и 7 исследований на макропрепарате.

Результаты. Флюоресценция при использовании обеих установок не регистрировалась при язвенной болезни и хроническом гастрите, в случаях массивных некрозов опухоли и примеси крови в желудке, а также у больного с субкомпенсированным стенозом и стентированием выходного отдела желудка при отсутствии прорастания серозной оболочки желудка и низкой концентрации 5-АЛК. Во всех остальных случаях зарегистрирована отчетливая флюоресценция, данные которой могут быть использованы для постановки точного диагноза и принятия решения о дальнейшей тактике лечения.

Заключение. Лазерная видеофлюоресцентная диагностика является перспективным методом дифференциальной диагностики и установления распространенности опухолевого процесса в желудке и пищеводе и может быть использована в качестве экспресс-метода в диагностически сложных случаях.

Ключевые слова: рак желудка; 5-аминолевулиновая кислота; Аласенс; лазерная диагностика; видеофлюоресценция; лазерная видеофлюоресцентная диагностика.

Как цитировать: Loshchenov M.V., Levkin V.V., Chernousov A.F., Kalyagina N.A., Kharnas S.S., Zavodnov V.Y., Linkov K.G., Musayev G.H., Egorov A.V., Karpova R.V., Rybin V.K., Khorobrykh T.V. Laser video fluorescence diagnosis of stomach diseases. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 42–48, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.05>

English

Laser Video Fluorescence Diagnosis of Stomach Diseases

M.V. Loshchenov, PhD, Researcher, Laboratory of Laser Biospectroscopy¹;
V.V. Levkin, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery No.1²;

Для контактов: Левкин Владимир Вениаминович, e-mail: doctor-levkin@mail.ru

A.F. Chernousov, MD, DSc, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Faculty Surgery No.1²;
N.A. Kalyagina, PhD, Researcher, Laboratory of Laser Biospectroscopy¹; Researcher³;
S.S. Kharnas, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery No.1²;
V.Y. Zavodnov, MD, PhD, Head of the Interclinical Endoscopic Unit²;
K.G. Linkov, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Laser Biospectroscopy¹;
G.H. Musayev, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery No.1²;
A.V. Egorov, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery No.1²;
R.V. Karpova, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery No.1²;
V.K. Rybin, PhD, Associate Professor, Department of Faculty Surgery No.1²;
T.V. Khorobrykh, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery No.1²

¹Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, 38 Vavilov St., Moscow, 119991, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia;

³National Research Nuclear University MEPhI, 31 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115409, Russia

The aim of the study was to assess the efficiency of the method for registration of video fluorescence of 5-ALA-induced protoporphyrin IX in stomach and esophagus diseases, to adapt it for clinical conditions, i.e. for conducting differential diagnosis and detecting precancer conditions, and to formulate recommendations on the best photosensitizer doses and time of application in order to make the diagnostic procedure for these diseases more accurate.

Materials and Methods. Registration of fluorescence for diagnostic purposes was performed on 57 patients with gastropathology (mainly with stomach cancer) with the help of single-channel (n=50) and dual-channel (n=7) laser video fluorescence registration systems. The study was performed using 5-aminolevulinic acid (5-ALA) (Alasens). 39 endoscopic, 18 intraoperative/laparoscopic investigations, and 7 studies on the macropreparation have been performed.

Results. When both systems were used, no fluorescence was registered in cases of stomach ulcer, chronic gastritis, massive tumor necrosis and blood admixture in the stomach as well as in the patient with subcompensated stenosis and a stented output section of the stomach without serous membrane invasion and low 5-ALA concentration. In all other cases, a distinct fluorescence was recorded, the data of which may be used for establishing exact diagnosis and choosing further treatment tactics.

Conclusion. Laser video fluorescence technique is a promising method for differential diagnosing and definition of the tumor extension process in the stomach and esophagus which can be used as an express method in diagnostically complex cases.

Key words: gastric cancer; 5-aminolevulinic acid; Alasens; laser diagnosis; video fluorescence; laser video fluorescence diagnosis.

Введение

Рак желудка является третьей ведущей причиной смерти от рака во всем мире, при этом только у 28,3% больных достигается пятилетняя выживаемость [1]. Хорошо известно, какую роль в результатах лечения этой нозологии играет своевременная диагностика.

Основным методом диагностики рака желудка, позволяющим получить морфологическое подтверждение, служит эндоскопическое исследование [2]. В последнее время для повышения эффективности стандартной гастроскопии разрабатываются различные уточняющие технологии. Примером такой технологии является метод, основанный на регистрации флюоресценции с возможностью исследования воздействия возбуждающего света на опухолевую ткань. Суть метода заключается в регистрации фотонов, испускаемых веществом при поглощении им квантов лазерного излучения при переходе из возбужденного состояния в основное. Этот процесс получил название флюоресценции и может быть зарегистрирован с помощью специальной аппаратуры или визуально.

Такие методы уже применяются для диагностики и лечения опухолей различных локализаций [3–7]. Их использование в гастроэнтерологии потенциально позволит повысить эффективность стандартного эндоскопического исследования при раке.

Новые возможности метод лазерной флюоресцентной диагностики получил с синтезом 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) [8]. Это соединение не является фотосенсибилизатором, но индуцирует в клетках опухоли синтез и накопление фотоактивного протопорфирина IX (ПП IX) — предшественника гема. Ежедневно в организме человека синтезируется около 350 мг 5-АЛК, что обеспечивает нормальное кроветворение. Известно, что опухолевые клетки способны к повышенному накоплению ПП IX в присутствии экзогенной 5-АЛК [9–12]. Это связывают с большей активностью в опухолевых клетках ферментов начального этапа синтеза гема, а также с дефицитом в них феррохелатазы (фермента, превращающего ПП IX в гем [13, 14]. Таким образом, интенсивность флюоресценции злокачественной опухоли относительно окружающих тканей оказывается существенно выше и это обеспечивает более высо-

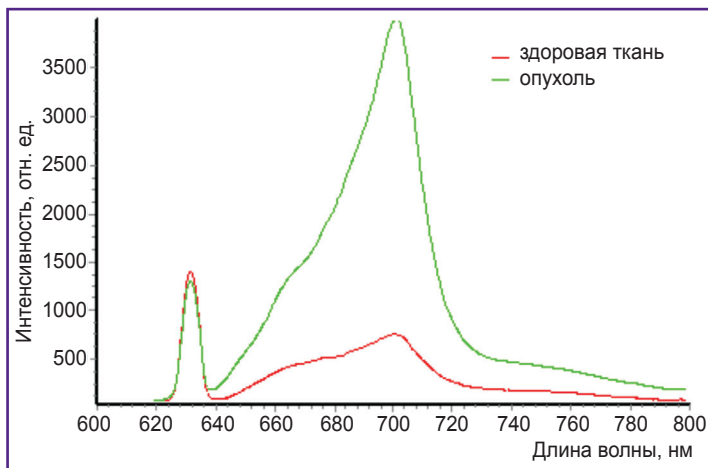


Рис. 1. Типичные спектры фотоактивного протопорфирина IX, индуцированного 5-АЛК

кую по сравнению с аутофлюоресценцией диагностическую результативность метода. Быстрый метаболизм 5-АЛК практически полностью исключает фототоксичность.

Препарат Аласенс удобен для перорального приема, не имеет специфических противопоказаний. Оптимальный интервал времени для диагностики (вне зависимости от характера исследования — эндоскопическое, лапароскопическое или интраоперационное) — 2–4 ч после его приема. Оптимальная доза препарата составляет 20 мг/кг массы тела.

Интенсивность индуцированной 5-АЛК флюоресценции (рис. 1) столь значительна, что ее можно регистрировать не только с помощью спектроанализаторов, но и специальными высокочувствительными камерами, что открывает большие перспективы. Однако задача проведения диагностических исследований верхних отделов желудочно-кишечного тракта с помощью гастроскопических систем видеорегистрации до сих пор не решена.

Цель исследования — оценить эффективность метода регистрации видеофлюоресценции 5-АЛК-индуцированного протопорфирина IX при заболеваниях желудка и пищевода и адаптировать его для клинических условий — проведения дифференциальной диагностики и выявления предраковых состояний, а также сформулировать рекомендации по дозировкам и времени применения фотосенсибилизатора при диагностике данных заболеваний.

Материалы и методы

Авторами созданы два макета анализатора флюоресцентных изображений (одноканального и двухканального), совместимых со стандартным гастродоскопом и не имеющих аналогов в мире. Указанные макеты совместимы и с лапароскопическим оборудованием, что позволяет осуществлять интраоперационную/лапароскопическую оценку распространен-

ности опухолевого процесса и даже выявлять очаги микроканцероматоза [8].

Одноканальное устройство состоит из высокочувствительной черно-белой камеры (0,0003 лк) и системы светофильтров, позволяющей не только выполнять исследование в видимом световом диапазоне, но и регистрировать возбужденную лазером (630 нм, 1,5 Вт) флюоресценцию — система УФФ-630/675-01, одноканальная версия («Биоспек», Россия) (рис. 2). Через специальный переходник волновод гастроскопа подсоединяется к волноводу от светодиодного лазера.

Двухканальная установка позволяет осуществлять осмотр слизистой оболочки желудка в обычном белом свете и одновременно производить облучение лазерным излучением с последующей фиксацией флюоресценции в заданном цвете (например, в зеленом). Кроме того, одновременно происходит измерение коэффициента диагностической контрастности, что позволяет не прибегать к спектроскопии (рис. 2, 3).

Исследования проводили в Клинике факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко совместно с межклиническим эндоскопическим отделением Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова в период с 2003 по 2017 гг. Работа соответствует принципам Хельсинкской декларации (2013) и одобрена Этическим комитетом Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова. От каждого пациента получено информированное согласие. За 2–4 ч до предполагаемого исследования (эндоскопического, лапароскопического или интраоперационного) пациент перорально однократно принимал раствор Аласенса в дозе 10–25 мг/кг массы тела. Фотодерматоза и токсическо-аллергических реакций на введение препарата не отмечено. Если пациент применял антацидные препараты, H₂-гистаминовые блокаторы или блокаторы протонной помпы, их отменяли не менее чем за двое суток до проведения флюоресцентной диагностики.

Регистрацию эндоскопической видеофлюоресценции у 50 пациентов осуществляли с помощью одноканального устройства — насадки для стандартного эндоскопа. Всего на этой установке выполнено 35 эндоскопических видеофлюоресцентных исследований слизистой оболочки желудка, 15 интраоперационных и 7 видеофлюоресцентных исследований макропрепарата.

У 7 пациентов была использована модернизированная двухканальная установка, которая, как уже описывалось выше, позволяет производить осмотр в обычном белом свете с одновременным облучением лазерным излучением и фиксацией флюоресценции в заданном цвете (например, в зеленом). Всего на этой установке было выполнено 4 видеофлюоресцентных эзогастродуоденоскопии, 1 лапароскопическое и 2 интраоперационных исследования.

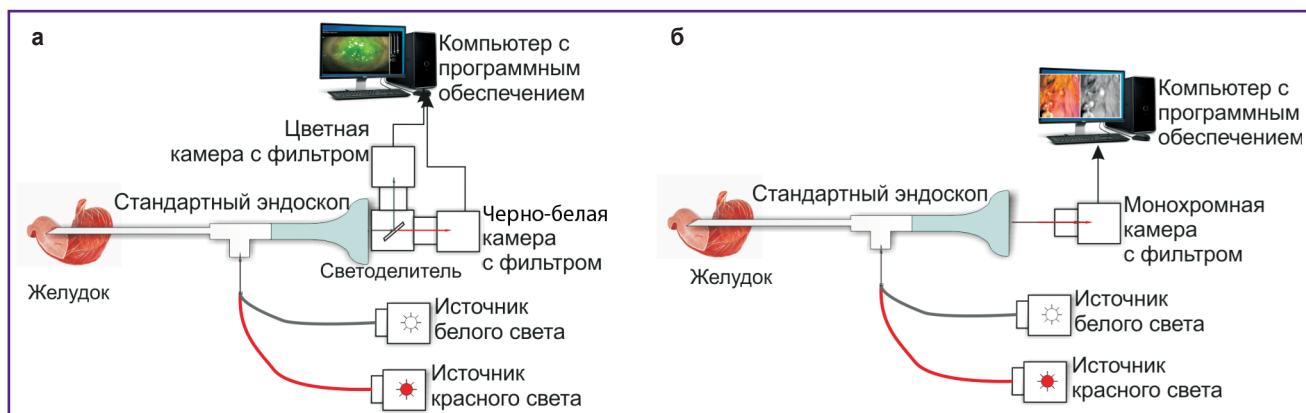


Рис. 2. Схема установки УФФ-630/675-01 для видеофлюоресцентной диагностики:
а — одноканальная версия; б — двухканальная версия

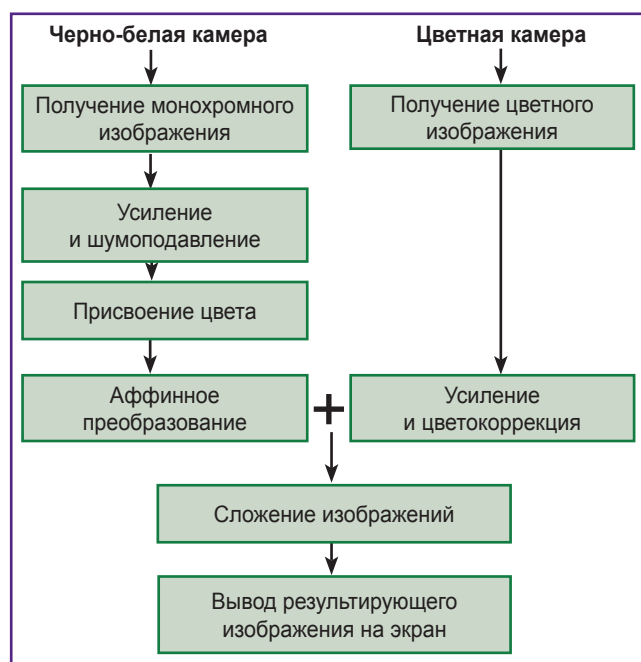


Рис. 3. Схема формирования изображения в двухканальном исполнении флюоресцентной диагностической видеосистемы

При интраоперационном/лапароскопическом исследовании распространенности опухолевого процесса ($n=18$) — прежде всего для обнаружения и верификации участков канцероматоза — применяли аналогичную методику. Для этого использовали стандартный лапароскоп и описанные устройства. Лапароскоп располагали на расстоянии от 1 до 3 см от изучаемой поверхности. Последовательно исследовали стенки желудка со стороны серозной оболочки (при необходимости вскрывали сальниковую сумку), печень, латеральные каналы, брюшину передней брюшной стенки, петли тонкой кишки, малый таз. Если с момента введения Аласенса до выполне-

ния субтотальной резекции желудка или гастрэктомии прошло не более 4–5 ч, проводили исследования макропрепарата как со стороны слизистой, так и со стороны серозной оболочки.

Результаты

Флюоресцентные изображения желудка при эндоскопическом исследовании на одноканальной системе показали отчетливую флюоресценцию опухоли у 21 из 24 пациентов (87,5%) (см. таблицу). У 3 больных флюоресценция отсутствовала из-за субтотального поражения желудка, что привело к недостаточной степени всасывания препарата Аласенс. Соответственно и коэффициент диагностической контрастности при проведении спектроскопии у них был низким. У 4 больных (у 2 — язвенная болезнь, у 1 — хронический атрофический гастрит и у 1 — полип желудка) флюоресценция отсутствовала и диагноз рака желудка был исключен (ложноположительных результатов не зарегистрировано). Из 7 видеофлюоресцентных исследований при пищеводе Барретта флюоресценция отмечена у трех пациентов. В ходе гистологического исследования у них обнаружена тяжелая степень дисплазии, опухолевого роста не выявлено.

При использовании двухканальной установки получены следующие результаты: отчетливое свечение отмечено у 1 больного раком желудка и у 1 — с малигнизированным полипом, у 2 больных раком желудка отчетливо зафиксировать флюоресценцию не удалось из-за массивных поверхностных некрозов опухоли и наличия примеси крови в желудке.

При интраоперационном/лапароскопическом исследовании на одноканальной установке отчетливую флюоресценцию наблюдали в случае, если опухоль проросла серозный покров желудка или инфильтрировала близлежащие органы и ткани (при наличии канцероматоза). Указанные изменения отмечены в 8 наблюдениях. Если опухоль не проросла сквозь

Результаты видеофлюоресцентных исследований желудка и пищевода

Вид исследования	Исследования (n=57)			
	Эндоскопические (n=39)		Интраоперационные/лапароскопические (n=18)	
	Одноканальная (n=35)	Двухканальная (n=4)	Одноканальная (n=15+7 дополнительных исследований на макропрепарате)	Двухканальная (n=3)
<i>Заболевание (количество пациентов) и присутствие (+) или отсутствие (-) флюоресценции</i>				
Рак желудка	24 (+21, -3)	3 (+1, -2)	15 (+9, -4, 2 — сомнительный результат)	3 (-3)
Хронический атрофический гастрит	1 (-1)	—	—	—
Полип желудка	1 (-1)	—	—	—
Пищевод Барретта	7 (+3, -4)	—	—	—
Язвенная болезнь	2 (-2)	—	—	—
Малигнизированный полип	—	1 (+1)	—	—

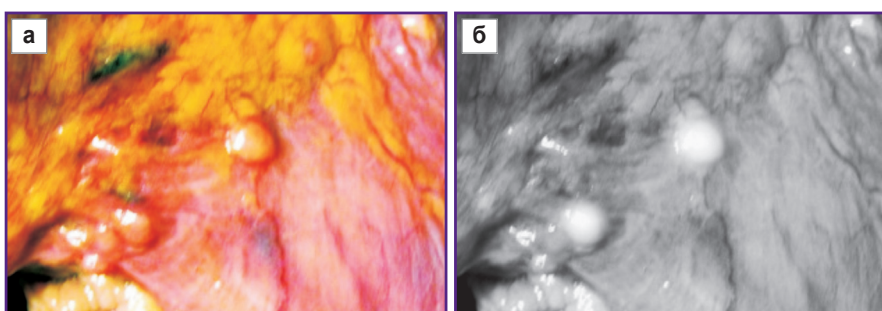


Рис. 4. Пациент Б., рак желудка; осмотр брюшной полости во время лапароскопии

Выявляется метастатическое поражение лимфатических узлов по большой кривизне желудка; а — изображение в видимом свете; б — видеофлюоресцентное изображение

все слои стенки желудка, зарегистрировать флюоресценцию не удавалось (4 наблюдения), в 2 случаях результаты исследования расценены как сомнительные: флюоресценция была видна нечетливо (при гистологическом исследовании опухоль прорастала субсерозную оболочку, но инвазии серозного покрова не отмечено). У одного пациента опухоль не прорастала серозную оболочку, но при этом обнаружены метастазы в регионарные лимфатические узлы, флюоресценция которых была отчетливо зафиксирована (рис. 4). При исследовании 7 макропрепаратов отчетливая флюоресценция отмечена в 1 наблюдении, в остальных случаях она либо отсутствовала, либо была признана сомнительной.

В случае использования модернизированной двухканальной установки при лапароскопии у больного с прорастанием серозной оболочки и массивным канцероматозом брюшины флюоресценция отсутствовала. Причиной этому послужило наличие у больного стента, установленного по поводу субкомпенсированного стеноза, что привело к быстрой эвакуации 5-АЛК из желудка и к отсутствию ее всасывания. В 2 интраоперационных исследованиях флюоресценция не зарегистрирована из-за отсутствия прорастания серозной оболочки. Видеофлюоресцентных исследований на макропрепаратах не проводили.

Обсуждение

В последние десятилетия отмечается бурное развитие эндоскопических технологий. Тем не менее в ряде случаев провести дифференциальную диагностику между доброкачественными и злокачественными изменениями в желудке бывает непросто, как и оценить истинную распространенность процесса при лапароскопии или интраоперационно. Такая ситуация обуславливает разработку новых и совершенствование имеющихся технологий. Одним из наиболее перспективных методов для решения данной задачи является лазерная спектро- и видеофлюоресцентная диагностика. Процедура флюоресцентной диагностики лишь незначительно удлиняет время эзогастродуоденоскопии (в отличие от хромоэндоскопии), лапароскопии или операции, а заключение о характере патологического процесса может быть получено сразу, в процессе проведения исследования. Комплекс аппаратуры, применяемой для проведения флюоресцентной диагностики, достаточно компактный и мобильный (вне зависимости от модификации установки).

Метод спектральной видеофлюоресцентной диагностики показан в сложных диагностических ситуациях при подозрении на рак желудка и в силу своей относительной простоты и безопасности в перспек-

тиве может стать стандартным этапом эндоскопического исследования. Нецелесообразно использовать флюоресцентные методы больным с заведомо установленным диагнозом рака желудка, а также при подозрении на тотально-субтотальное поражение органа из-за возможного нарушения всасывания препарата. Кроме того, массивные некротические изменения на поверхности опухоли при запущенных стадиях рака не позволяют осуществить полноценную спектральную и видеофлюоресцентную диагностику. В то же время при преимущественно подслизистом характере роста опухоли, когда результаты стандартного эндоскопического исследования и данные биопсии обычно мало информативны, флюоресцентная диагностика может служить весьма эффективным методом исследования.

Исследование видеофлюоресценции с применением 5-АЛК-индуцированного ПП IX можно рекомендовать для использования в клинике как экспресс-метод диагностики, в том числе ранней диагностики злокачественных заболеваний желудка, а также для интраоперационной оценки распространенности опухоли и выявления очагов канцероматоза при лапароскопии.

Заключение

Регистрация видеофлюоресценции с применением разработанных анализаторов флюоресцентных изображений позволяет с высокой степенью точности проводить дифференциальную экспресс-диагностику заболеваний желудка, осуществлять раннюю диагностику рака и выявлять предракочные состояния.

Первый опыт применения видеофлюоресцентной диагностики рака желудка с препаратом 5-АЛК Аласенс продемонстрировал ее достаточно высокую диагностическую значимость и перспективность. Повышение чувствительности методики и улучшение качества изображения позволят создать серийные образцы оборудования и способствовать внедрению метода в широкую клиническую практику.

Финансирование исследования. Исследование не финансировалось какими-либо источниками.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие финансовых и других конфликтных интересов, способных оказать влияние на их работу.

Литература/References

1. Marqués-Lespier J.M., González-Pons M., Cruz-Correa M. Current perspectives on gastric cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 2016; 45(3): 413–428, <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.04.002>.
2. Waddingham W., Graham D., Banks M., Jansen M.F. The evolving role of endoscopy in the diagnosis of premalignant gastric lesions. *F1000Res* 2018; 7: 715, <https://doi.org/10.12688/f1000research.12087.1>.

3. Соколов В.В., Чиссов В.И., Филоненко Е.В., Телегина Л.В., Трахтенберг А.Х., Франк Г.А., Булгакова Н.Н. Флюоресцентная диагностика раннего центрального рака легкого. *Пульмонология* 2005; 1: 107–116. Sokolov V.V., Chissov V.I., Filonenko E.V., Telegina L.V., Trakhtenberg A.Kh., Frank G.A., Bulgakova N.N. Fluorescence detection of early central lung cancer. *Pul'monologiya* 2005; 1: 107–116.

4. Ягудаев Д.М., Сорокатый А.Е., Мартов А.Г., Гейниц А.В., Маркова М.В. Фотодинамическая терапия аденомы предстательной железы. *Урология* 2007; 4: 34–37. Yagudaev D.M., Sorokaty A.E., Martov A.G., Heinitz A.V., Markova M.V. Photodynamic therapy of prostatic adenoma. *Urologiya* 2007; 4: 34–37.

5. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Молочков В.А., Миронов А.Ф., Романко Ю.С., Капинус В.Н., Третьякова Е.И., Сухова Т.Е. О применении фотодинамической терапии в лечении солитарных и множественных базалиом. *Российский журнал кожных и венерических болезней* 2000; 4(10): 4–12. Tsyb A.F., Kaplan M.A., Molochkov V.A., Mironov A.F., Romanko Yu.S., Kapinus V.N., Tretyakova Ye.I., Sukhova T.Ye. Use of photodynamic therapy in the treatment of solitary and multiple basal-cell carcinomas. *Rossijskij zurnal koznyh i venericeskih boleznej* 2000; 4(10): 4–12.

6. Новикова Е.Г., Трушина О.И., Соколов В.В., Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия предопухоловой патологии начальной формы рака шейки матки. *Российский онкологический журнал* 2005; 6: 28–33. Novikova E.G., Trushina O.I., Sokolov V.V., Filonenko E.V. Fluorescent diagnosis and photodynamic therapy of pretumor pathology and an initial form of uterine cervix cancer. *Rossijskij onkologiceskij zurnal* 2005; 6: 28–33.

7. Ягудаев Д.М., Гейниц А.В., Мартов А.Г., Сорокатый А.Е. Первые результаты применения фотодинамической терапии при раке мочевого пузыря. *Лазерная медицина* 2004; 8(3): 242. Yagudajev D.M., Geinitz A.V., Martov A.G., Sorokaty A.E. The first results of PDT used for urinary bladder cancer. *Lazernaja medicina* 2004; 8(3): 242.

8. Лощенов В.Б., Линьков К.Г., Савельева Т.А., Лощенов М.В., Модель С.С., Бородкин А.В. Аппаратурное и инструментальное обеспечение флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика* 2013; 3: 17–25. Loschenov V.B., Linkov K.G., Savelieva T.A., Loschenov M.V., Model S.S., Borodkin A.V. Hardware and tool equipment for fluorescence diagnostics and photodynamic therapy. *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika* 2013; 3: 17–25.

9. Chen W.R., Jassemnejad B., Crull J., Knobbe E.T., Nordquist R.E. Detection and characterization of chemical-induced abnormal tissue and rat tumors at different stages using fluorescence spectroscopy. *Proc. SPIE 2679, Advances in Laser and Light Spectroscopy to Diagnose Cancer and Other Diseases III: Optical Biops* 1996, <https://doi.org/10.1117/12.237570>.

10. Cheng C.W., Lau W.K., Tan P.H., Olivo M. Cystoscopic diagnosis of bladder cancer by intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence — the Singapore experience. *Ann Acad Med Singapore* 2000; 29(2): 153–158.

11. Curnow A., Mclroy B.W., Postle-Hacon M.J., Porter J.B., MacRobert A.J., Bown S.G. Enhancement of 5-aminolevulinic acid-induced photodynamic therapy in normal rat colon using

hydroxypyridinone iron-chelating agents. *Br J Cancer* 1998; 78(10): 1278–1282, <https://doi.org/10.1038/bjc.1998.671>.

12. Campbell D.L., Gudgin-Dickson E.F., Forkert P.G., Pottier R.H., Kennedy J.C. Detection of early stages of carcinogenesis in adenomas of murine lung by 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence. *Photochem Photobiol* 1996; 64(4): 676–682, <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1996.tb03123.x>.

13. Battersby A.R., Fookes C.J., Matcham G.W., McDonald E. Biosynthesis of the pigments of life: formation of the macrocycle. *Nature* 1980; 285(5759): 17–21, <https://doi.org/10.1038/285017a0>.

14. Shemin D., Russell C.S. δ -aminolevulinic acid, its role in the biosynthesis of porphyrins and purines. *J Am Chem Soc* 1953; 75(19): 4873–4874, <https://doi.org/10.1021/ja01115a546>.