

УДК 577.3

ХРОНИЧЕСКАЯ ГИПОКСИЯ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ ПОВЫШЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ В ЖИВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ

Р.В. Горенков, В.Н. Карпов, Д.А. Рогаткин, В.И. Шумский

*Московский областной научно-исследовательский клинический институт
«МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского»
129110, г. Москва, ул. Щепкина 61/2, email: laserrog@mtu-net.ru*

АННОТАЦИЯ

Обсуждается гипотеза влияния хронической гипоксии в живых биологических тканях на интенсивность вынужденной He-Ne лазером флуоресценции эндогенных порфиринов в тканях в красном диапазоне длин волн оптического спектра. Представлены теоретические предпосылки и возможные механизмы образования повышенного содержания порфиринов в тканях в ряде патологических случаев и при некоторых заболеваниях, сопровождающихся тканевой гипоксией. Описана авторская методика проведения клинических экспериментальных исследований на основе современных методов лазерной неинвазивной флуоресцентной диагностики в медицине для проверки указанной гипотезы. Как имеющиеся теоретические данные, так и полученные новые клинические экспериментальные результаты показывают, что состояние хронической гипоксии может являться одним из факторов появления повышенной вынужденной флуоресценции биологических тканей в диапазоне длин волн 600-800нм, которая ассоциирована с повышенным накоплением в тканях эндогенных порфиринов.

Ключевые слова: лазер, диагностика, флуоресценция, порфирины, гипоксия, патология.

ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом в научных публикациях все более широко обсуждаются вопросы применения в практической медицине методов оптической неинвазивной (in vivo, in situ) диагностики, основанной на принципах спектрофотометрии и лазерного спектрального анализа [1]. Особые перспективы связываются сегодня с методами неинвазивной лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД), которая базируется на регистрации эндогенной флуоресценции (ЭФ) живых биологических тканей, возбуждаемой низкоинтенсивным лазерным излучением [2]. Практически во всех крупных областях медицины – хирургии [3], онкологии и радиологии [4-6], эндоскопии [7,8], ангиологии и гастроэнтерологии [9,10,11] ведутся сегодня кли-

нико-экспериментальные исследования, направленные на изучение информативности ЛФД в различных практических ситуациях. Поврежденные опухолевыми, гнойными или какими-либо иными деструктивными процессами живые биоткани часто обладают значительно повышенной или значительно пониженной ЭФ по сравнению со здоровыми (интактными) тканями в зависимости от выбранных длин волн возбуждения и регистрации ЭФ, что открывает новые возможности по дифференцировке здоровых и патологически измененных биотканей. Так, значительно повышенной по сравнению с нормой в тканях в большинстве случаев обнаруживается «красная» ЭФ в диапазоне длин волн $\lambda=600-800\text{нм}$ при ее возбуждении излучением He-Ne лазера ($\lambda=632\text{ нм}$). Используемая полоса возбуждения и спектральная область регистрируемого сигнала ЭФ однозначно говорят о том [12-14], что основными внутренними источниками ЭФ в биотканях при этом являются эндогенные порфирины и/или их комплексы с белками, которые, видимо, накапливаются в области тканевого дефекта в более высоких концентрациях, чем в интактных тканях. Некоторый вклад в суммарный сигнал ЭФ могут вносить здесь также и липофусцины, имеющие в этой области длинный «шлейф» спектра люминесценции [15], но их вклад в общий сигнал вследствие затухающего характера процесса должен быть существенно меньше вклада от порфиринов.

Между тем, вопрос о причинах повышенного накопления эндогенных порфиринов в патологически измененных биотканях вызывает сегодня много споров, что затрудняет клиническую интерпретацию результатов ЛФД. Ряд литературных источников указывает, например, что порфирины могут являться продуктом жизнедеятельности анаэробной микрофлоры в тканях [16]. Часть работ связывает повышенное содержание порфиринов с общим нарушением цикла синтеза гема в организме и переносом порфиринов с током крови [8, 11]. Максимальное же число авторов, основываясь на фактах значительного накопления порфирина в эмбриональных и злокачественных опухолевых тканях [14], придерживается мнения, что синтез порфирина происходит непосредственно в клетках, обладающих повышенной пролиферативной активностью [5, 14, 17 и др.]. Это дало повод прогнозировать возможность применения ЛФД для неинвазивной дифференцировки злокачественных и доброкачественных новообразований [2, 3, 5-7 и др.], так что ряд авторов даже стал целенаправленно создавать для этого диагностическую аппаратуру [17], а в зарубежной литературе стал часто употребляться в связи с этим новый специальный термин – *оптическая биопсия тканей* [18].

Действительно, в многочисленных исследованиях нашего коллектива и других авторов [2-8] при освещении злокачественных опухолей кожи, слизистых оболочек полости рта и других, доступных для обследования, органов излучением He-Ne лазера часто наблюдалась в области $\lambda=600-800\text{нм}$ ярко выраженная ЭФ порфиринов, которая практически отсутствует у

здоровых тканей. Однако мы также неоднократно сообщали, что у достаточно большого количества онкобольных нами не обнаруживалась сколько-нибудь выраженная красная ЭФ опухоли, в том числе и для опухолей на терминальной стадии развития рака [2, 3, 11]. Более того, было замечено, что у части онкологических больных иногда присутствует повышенный фон ЭФ порфиринов и от окружающих опухоль интактных тканей [19]. Поэтому, существующая основная трактовка природы повышенной красной ЭФ биотканей, увязываемая только с повышенным содержанием порфиринов вследствие повышенной клеточной пролиферации в тканях, представляется нам не вполне обоснованной, или, по крайней мере, не единственно возможной.

Например, последние результаты использования ЛФД в эндоскопии показали, что одной из причин повышенного накопления эндогенных порфиринов в зоне язвенного дефекта может служить состояние хронической гипоксии тканей [8, 20]. В этих работах изучалась эффективность лазерной терапии язв желудка в зависимости от интенсивности ЭФ порфиринов в слизистой желудка до начала курса лечения. Было установлено, что чем меньше начальные уровни ЭФ с области язвы, тем выше эффективность ее последующей лазерной терапии [20]. Поскольку патогенетический механизм лечебного действия лазера во многом связан с усилением микроциркуляции крови в зоне облучения, из полученных результатов можно было сделать вывод, что интенсивность ЭФ коррелирует больше не с пролиферативной клеточной активностью, а с недостатком кровоснабжения тканей.

Для проверки высказанных предположений нами была проведена дополнительная серия клинических экспериментов. Целью работ явился поиск повышенной красной ЭФ от тканей, находящихся в состоянии хронической гипоксии, но заведомо не обладающих повышенной клеточной пролиферацией. Также в ходе работ по литературным данным были проанализированы существующие теоретические предпосылки возможности прямого влияния недостатка кислорода на уровень содержания в тканях эндогенных порфиринов. Представленный далее материал кратко излагает полученные результаты.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ

Достаточно подробные представления о метаболизме порфиринов изложены в [21]. Считается, что до выхода в свет этой книги порфириновый обмен в организме был одним из наименее изученных видов обмена веществ. Связано это может быть с тем, что, входя в состав простетической группы важнейших дыхательных ферментов и обуславливая их специфические функции, порфирины довольно чутко реагируют на любые процессы, нарушающие окислительно-восстановительный баланс в организме [21]. Часто нарушения порфиринового обмена выявляются у больных гипертонической болезнью, а также инфарктом миокарда

[22]. Нарушается обмен порфиринов в условиях пониженного парциального давления кислорода, например, в процессе адаптации организма к высокогорным условиям [21]. Избыточное появление промежуточных форм порфиринов в крови, например, протопорфирина IX, а также ключевых метаболитов биосинтеза порфиринов - альфа- и дельта-аминолевулиновой кислоты (АЛК) - в моче практически повсеместно наблюдается при свинцовой интоксикации организма вследствие подавления ферментов, синтезирующих гем, т.е. вследствие общего нарушения цикла синтеза гема в организме [22, 23]. Автор же работы [24], изучая образование порфиринов, приходит к выводу, что порфирины образуются эндогенно в клетках в связи с синтезом или распадом каких-то Fe-содержащих дыхательных ферментов, что тесно связано с недостаточностью клеточного дыхания (гипоксидоз, анаэробный гликолиз и т.п.).

Оценивая роль порфиринов, как возможных катализаторов ряда окислительно-восстановительных реакций, в [21] на большом эмпирическом материале показано, что в условиях начинающегося анаэробноза на ранних стадиях роста опухоли повышение уровня накопления порфиринов в клетках является одним из звеньев в компенсаторных реакциях организма. Запускаемый же интенсивный синтез порфиринов, считает автор, можно рассматривать как некую «аварийную» ответную реакцию всего организма на развивающийся при опухолевом росте анаэробный гликолиз. С другой стороны, уменьшение содержания порфиринов в тканях на терминальных стадиях раковой интоксикации свидетельствует об угнетении их возможной мобилизации в условиях пониженной реактивности и истощения компенсаторного механизма.

Таким образом, тканевая мобилизация порфирина при нарушении окислительных процессов является, скорее всего, одной из универсальных адаптивных реакций организма в процессе его приспособления к гипоксическим условиям. Прослеживается определенная связь и с анаэробной микрофлорой, и с разными стадиями хронической гипоксии при злокачественности опухолевых процессов. Поэтому, прямое измерение ЭФ порфиринов в живых биотканях, находящихся в состоянии явной хронической гипоксии, с помощью новых методов ЛФД может позволить просто и наглядно экспериментально подтвердить (или опровергнуть) высказанные выше предположения о прямом влиянии недостатка кислорода в тканях на регистрируемые в них уровни ЭФ порфиринов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Все экспериментально-клинические исследования проводились в МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского на базе созданного в 1995г. для целей исследований в области неинвазивной лазерной диагностики межклинического лазерного диагностического кабинета, в котором

ежедневно проходят по разным показаниям плановое обследование пациенты различных клиник института. Для целей данной работы применялась методика фонового наблюдения за пациентами, заключающаяся в дополнительной к основным лечебно-диагностическим мероприятиям регистрации сигналов индуцированной лазером ЭФ порфиринов с области обследования. Для регистрации спектров ЭФ, как и в [20], использовался He-Ne лазер от стандартной физиотерапевтической установки УЛФ-01 («Ягода») и стандартный оптоволоконный медицинский спектроанализатор «ЛЭСА-01 БИОСПЕК» (рег. № 29/05020400/0617-00, базовая конструкция группы Лощенова В.Б.) [20, 25]. Методика «флуоресцентного» обследования всех пациентов была также аналогична разработанной ранее методике обследования больных с язвами желудка [20] за исключением того, что в данном случае обследовались только наружные поверхностные участки кожи – подушечки пальцев рук (см. далее) – и, соответственно, использовалось ручное подведение световода к обследуемой биоткани до легкого контакта с ней. Все пациенты в данном исследовании обследовались только один раз для регистрации самого факта наличия или отсутствия повышенной ЭФ с области обследования. Численные показатели ЭФ оценивались, как и ранее [6, 8, 19, 20], с использованием коэффициента флуоресцентной контрастности K_f :

$$K_f = 1 + (I_f \cdot \beta - I_l) / (I_f \cdot \beta + I_l) \quad (1)$$

где: I_f – интенсивность регистрируемого излучения в максимуме линии флуоресценции с тестируемой области (см. рис. 1); I_l – интенсивность обратно рассеянного лазерного излучения с тестируемой области на длине волны зондирующего лазера; β – приборный коэффициент (для длин волн 600-800нм $\beta \approx 10^3$ [20])¹.

В общей сложности с предполагаемой хронической гипоксией тканей различного генеза обследовано 40 пациентов. 45 добровольных здоровых испытуемых составили группу сравнения. В качестве обследуемых пациентов были выбраны больные с различными бронхо-легочными профессиональными заболеваниями (хронические обструктивные бронхиты, пневмокониозы, бронхиальная астма) пылевой этиологии (15 чел.), пациенты с симптомами профессиональной вибрационной болезни (20 чел.) и пациенты (5 чел.) с повышенным содержанием порфиринов в организме вследствие свинцовых отравлений, вызванных продолжительной работой обследуемых на вредном производстве (черная и цветная металлургия, производство красок и т.п.). Все эти заболевания часто приводят к хронической гипоксии

¹ Методика преддиагностической калибровки аппаратуры аналогична описанной в [20] и подробно изложена в [26]. Надо сказать, что повсеместно используемый в наших работах диагностический критерий K_f , прямо пропорциональный концентрации флуорофоров в среде [26], стал уже достаточно стандартным в практике МОНИКИ и прописан, также, в ряде методических рекомендаций МЗ РФ, выпущенных совместно с МОНИКИ в 1997-2000гг.

тканей легкой и средней тяжести, особенно для кожи пальцев рук при вибрационной болезни, и никак не связаны с повышенной пролиферацией клеток поверхностных тканей.

Регистрация спектров ЭФ порфиринов у всех испытуемых на первых этапах осуществлялась с различных анатомо-топографических точек тела: кожа подушечек пальцев рук, кожа предплечий и живота, мочки уха и др. Однако, поскольку практически у всех пациентов сразу было отмечено наличие повышенной красной ЭФ на коже подушечек пальцев рук, в дальнейшем, во избежание излишней зависимости собранных данных от анатомо-топографических точек, с которых снимаются показания, в качестве унифицированных областей сравнения были оставлены только подушечки пальцев рук.

Объективные подтверждения признаков гипоксии тканей у всех обследуемых пациентов с бронхо-легочными заболеваниями в ходе исследований были получены методами пульсоксиметрии (стандартный прибор «Оксипульс-01») с проведением функциональных проб на физические нагрузки. Нарушения тканевой микроциркуляции крови и обменных процессов в коже пальцев рук для больных вибрационной болезнью подтверждались параллельными исследованиями с помощью лазерной доплерографии, кожной термометрии и реовазографии. Нарушения в порфириновом обмене у пациентов со свинцовой интоксикацией дополнительно независимо контролировалось стандартными лабораторными методами по повышению уровня свинца и протопорфирина в эритроцитах крови, а также свинца, копропорфирина и дельта-АЛК в моче [27, 28].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Пациенты с бронхо-легочными заболеваниями: Для начальных стадий легочной гипоксии у всех больных перед проведением функциональных нагрузок были зарегистрированы с помощью пульсоксиметрии нормальные значения кислородной сатурации артериальной крови (на уровне 97-98%) с ее выраженным уменьшением после выполнения стандартных физических упражнений (до 94-96%). Для больных же с выраженными признаками гипоксии уже начальное значение сатурации артериальной крови было зафиксировано на уровне 93-95%. Таким образом, состояние общей хронической гипоксии было у этой группы пациентов объективно зафиксировано независимыми обследованиями.

Больные вибрационной болезнью: При доплерографических обследованиях и регистрации параметров микроциркуляции крови в пальцах рук у этой категории больных было отмечено общее подавление всех частотных ритмов капиллярного кровотока, понижение общего индекса микроциркуляции до 4-6 перфузионных единиц (при норме 15-20), а также отмечалась слабо выраженная реакция на дыхательную пробу. По результатам кожной тер-

мометрии выявлено исходное снижение температуры подушечек пальцев рук до 28-25⁰С для I-ой (начальной) стадии заболевания и до 22⁰С и ниже для заболевания II-ой стадии (умеренно выраженные трофические нарушения). Как правило, в большинстве случаев визуально фиксировался периферический ангиодистонический синдром – изменение окраски кистей рук (цианотичность, мраморность кожных покровов), гипергидроз кистей, продолжительный синдром «белого пятна» при надавливании на кожу кистей рук, что говорит о стойких нарушениях трофики тканей.

Пациенты со свинцовой интоксикацией: При общей свинцовой интоксикации всего организма у пациентов лабораторными методами регистрировалось: а) свинец в крови до 110 мкмоль/л (норма до 40); б) протопорфирин в эритроцитах крови до 1500 мкг/л; в) свинец в моче до 280 мкмоль/л (норма до 40); г) копропорфирин в моче до 1939 мкг/г креатинина (норма 20-80); д) дельта-АЛК в моче до 31,5 мг/г креатинина (норма до 2,5). Одна из пациенток не имела явно выраженных данных лабораторных исследований по наличию общей свинцовой интоксикации организма (все вышеперечисленные параметры были в пределах нормы), однако поступила с жалобами на слабость и онемение в руках, белый налет на языке, головные боли, боли в шейном отделе позвоночника, повышение артериального давления до 150/100 мм рт.ст. В ходе обследований выяснено, что она на производстве имела продолжительный (26 лет) локальный и непосредственный контакт пальцев рук с красками, содержащими свинец (растирка красок в живописном цехе при производстве Дулевского фарфора). Т.е. в данном случае объективно предполагалась большая вероятность локальной свинцовой интоксикации тканей пальцев рук.

Сводные данные по ЭФ на основе ЛФД: Типовые спектральные распределения интенсивности ЭФ порфиринов, полученные в описываемых экспериментах с помощью спектроанализатора «ЛЭСА-01», приведены на рис. 1. Для пациентов со свинцовой интоксикацией приведен график (4) пациентки, имевшей локальный контакт пальцев рук с красками, содержащими свинец. Там же для сравнения приведен ранее обследованный нами случай плоскоклеточного рака языка III степени (график 5 [6]). Общие сводные данные, полученные в описываемой серии экспериментов, приведены в таблице 1. Как видно из представленных результатов, для всех групп обследованных пациентов наблюдается повышенное значение ЭФ порфиринов кожи в красном диапазоне длин волн. Таким образом, хроническая гипоксия тканей, как и предполагалось, приводит к хорошо регистрируемым повышенным уровням красной флуоресценции эндогенных порфиринов в этих тканях по сравнению с нормальными, здоровыми тканями.

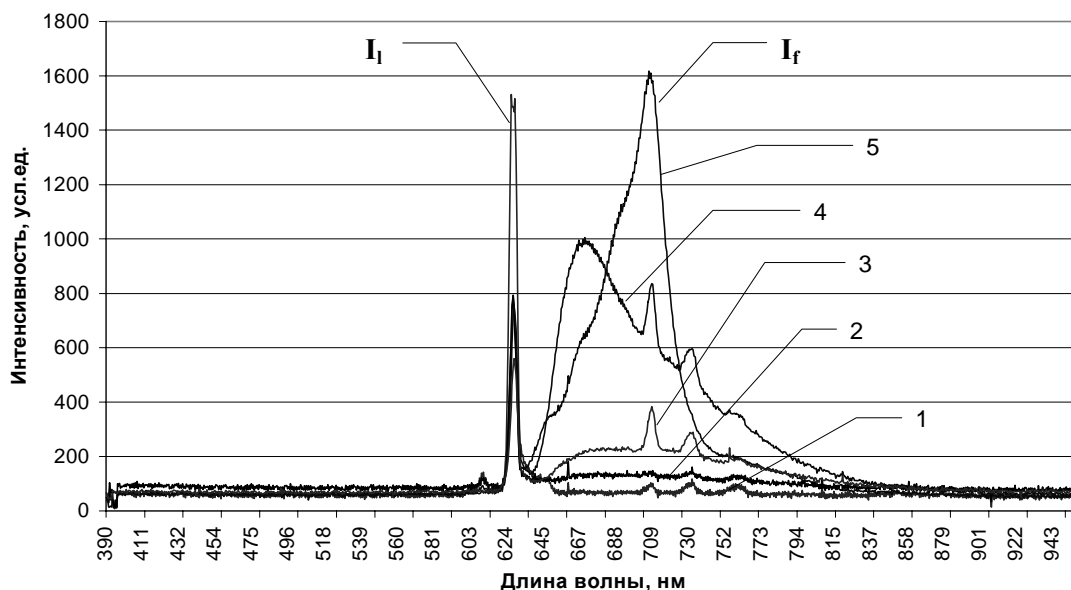


Рис. 1. Примеры регистрируемых спектров ЭФ порфиринов в живых тканях. 1 – здоровый испытуемый; 2 – легкая стадия хронического обструктивного бронхита; 3 – вибрационная болезнь; 4 – локальная свинцовая интоксикация кожи пальца руки; 5 – плоскоклеточный рак языка III-й степени (для сравнения); I_l – регистрируемый сигнал обратно рассеянного кожей излучения на длине волны возбуждения ЭФ; I_f – регистрируемый сигнал спектра флуоресценции эндогенных порфиринов.

Таблица 1.

Полученные сводные результаты по группам испытуемых

Обследуемая группа испытуемых		Кол-во человек в группе	Коэффициент флуоресцентной контрастности K_f и разброс в группе
Контрольная группа (здоровые испытуемые)		45	0.06 ± 0.05
Пациенты с бронхолегочными патологиями	Начальная и легкая стадии заболевания	7	0.10 ± 0.07
	Средняя степень тяжести	8	0.14 ± 0.08
Больные вибрационной болезнью	Начальная стадия	12	0.17 ± 0.08
	Выраженные трофические нарушения	8	0.23 ± 0.09
Пациенты со свинцовой интоксикацией	Генерализованный процесс	4	0.16 ± 0.1
	Локальная (местная) интоксикация кожи пальца руки	1	$1.1 \pm 0.01^*$

* Вычисленное значение для единственной испытуемой

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В совокупности с многочисленными полученными ранее результатами по *in situ* регистрации ЭФ порфиринов злокачественных новообразований кожи и слизистых оболочек полости рта [2, 6, 26], слизистых тканей желудка и 12-перстной кишки [8, 20, 26] представленные выше результаты полностью подтверждают высказанную гипотезу о существовании механизма возникновения повышенной ЭФ живых биологических тканей в красной области оптического спектра, запускаемого недостаточным снабжением тканей кислородом. Этот механизм реализуется через повышенную продукцию эндогенных порфиринов (локально в клетках тканей или в организме в целом) в условиях хронической гипоксии и, соответственно, приводит к повышенным уровням содержания порфиринов в клетках тканей, что и проявляется повышенными уровнями регистрируемой ЭФ. Начальные (легкие) стадии гипоксии, вызванные, например, начальными проявлениями вибрационной болезни или начальными стадиями бронхо-легочных заболеваний проявляются в виде небольшой фоновой ЭФ, лишь ненамного превышающей уровни ЭФ здоровых тканей, хорошо снабжаемых кислородом. Более тяжелые гипоксические состояния приводят уже к достаточно большим уровням ЭФ, превышающим уровни здоровых тканей в 3-5 и более раз. Причем, важно отметить, что такие уровни ЭФ порфиринов при генерализованных процессах по всему организму (бронхо-легочные патологии, свинцовая интоксикация) могут регистрироваться практически с любых участков кожи пациента. Максимальные же уровни ЭФ, превышающие нормальные уровни в 10 и более раз, фиксируются лишь локально в участках биотканей, непосредственно сильно страдающих от стойкой гипоксии (отдельные участки злокачественных опухолей, язвы, ткани, подверженные некрозу, и т.п.). Такие уровни хронической гипоксии и такие уровни мобилизации эндогенных порфиринов для всего организма уже, видимо, недостижимы, т.к. не совместимы с жизнью.

Конечно, надо обязательно подчеркнуть, что интенсивность ЭФ любых тканей зависит, в общем случае, не только от концентрации содержащихся в них флуорофоров, но также и от квантового выхода флуоресценции для каждой молекулы флуорофора. Для молекул порфирина, например, квантовый выход флуоресценции сильно зависит от температуры и кислотности среды, наличия рядом тушащих флуоресценцию других молекул и т.п. [12, 13]. Но в данном случае (на пальцах рук при комнатной температуре) все эти условия проведения эксперимента были примерно одинаковы для всех пациентов. Тушащим же флуоресценцию агентом часто является молекулярный кислород, которого, как раз, и ощущается недостаток в состояниях гипоксии. Кроме того, как эмпирические данные других авторов, так и собранные теоретические предпосылки по общему метаболизму порфиринов в организме, говорят,

все же, в пользу меняющихся уровней накопления порфиринов в тканях. Поэтому в данной работе есть все основания говорить об уровнях накопления порфиринов. Это может явиться основой для разработки новых методик ЛФД по неинвазивной оценке недостатка снабжения тканей кислородом вследствие их поражения заболеваниями различной этиологии и патогенеза, которые приводят к состоянию хронической гипоксии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г.* // Мед. техника. 2003. №4. С.31-36.
2. *Рогаткин Д.А.* // Лазерная медицина. 2000. Т.4. №1. С.30-35.
3. *Дадвани С.А., Харнас С.С. и др.* // Хирургия. 1999. №10. С.75-79.
4. *Hung J., Lam S. et al.* // Las. Surg. Med. 1991. Vol. 11. P. 99-105.
5. *Konig K., Meyer H. et al.* // Las. Med. Sci. 1993. Vol.8. P.127-132.
6. *Rogatkin D.A., Polyakov P.Yu., Vyshenkov O.A., Stepanenko E.A.* // SPIE Proc. 2002. Vol. 4707. P.236-243.
7. *Кузин М.И., Кузин Н.М., Шкроб О.С. и др.* // Хирургия. 1995. №5. С.35-37.
8. *Rogatkin D.A., Tereshenko S.G., Lapaeva L.G., Gorenkov R.V.* // SPIE Proc. 2002. Vol. 4613. P. 286-294.
9. *Keijzer M., Richrds-Kortum R.R., Feld M.S.* // Appl. Optics. 1989. Vol. 28. P. 4286-4292.
10. *Kittrell C. et. al.* // Appl. Optics. 1985. Vol.24. P.2280-2281.
11. *Самойлов В.О., Барский И.Я., Бигдай Е.В. и др.* // Мед. техника. 1997. №3. С.3-7.
12. *Гуринович Г.П., Севченко А.Н., Соловьев К.Н.* Спектроскопия порфиринов // УФН. 1963. Т.LXXIX. Вып.2. С.173-234.
13. *Юденфренд С.* Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. М.: Мир. 1965. 484с.
14. *Аскарлов К.А., Березин Б.Д., Быстрицкая Е.В. и др.* Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение. М.: Наука. 1987.
15. *Карнаухов В.Н.* Люминесцентный спектральный анализ клетки. М.: Наука. 1981.
16. *Пашков Е.П.* Лазерно-флюоресцентный метод экспресс-индикации микроорганизмов при гнойно-воспалительных заболеваниях и другой патологии микробной этиологии // Автореф. ... д.м.н. М.: ММА им. И.М. Сеченова. 2002. 84с.
17. Патент №2169922 Россия, МПК⁷ G 01 N 33/52. Способ диагностики областей пролиферации и устройство для его осуществления / *Трушин А.И., Виноградов А.В., Стаханов М.Л.* - №2000112934/14. Заяв. 02.12.99; Опубли. 27.06.01. Бюл. №6. 2001. Приоритет 12.02.99.
18. *Optical Biopsy and Tissue Optics* // Ed. By I. Bigio et. al. / SPIE Proc. 2000. Vol. 4161.
19. *Рогаткин Д.А., Приснякова О.А. и др.* // Измер. техника. 1998. №7. С.58-61.

20. Клебанов Г.И., Рогаткин Д.А., Терещенко С.Г. // Биофизика. 2004. Т.49. Вып. 5. С.941-947.
21. Кубатиев А.А. Порфирины, витамин В-12 и рак. Тула: Приокское кн. изд. 1973. 222с.
22. Кузнецова Н.П., Панков Б.С. и др. Порфирии. М.: Медицина. 1981. 192с.
23. Монаенкова А.М., Архипова О.Г., Сорокина Н.С. и др. Клиника, диагностика, лечение, вопросы экспертизы трудоспособности и профилактики свинцовых интоксикаций // Метод. рекомендации МЗ РФ. М.: МЗ РФ. 1986. 25с.
24. Medras K.I. // Nat. Cancer Inst. 1960. Vol. 25. №3. P.465-472.
25. Лоценов В.Б., Стратонников А.А. и др. // Росс. Хим. Журнал. 1998. т.XLII. №5. С.50-53.
26. Ргаткинн Д.А. Аппаратное, программное и методическое обеспечение неинвазивной спектрофотометрической диагностики // Дисс. ... д.т.н. М.: МОНИКИ. 2004. 407с.
27. Любченко П.Н. Особенности диспансеризации рабочих свинцовых производств // Методические рекомендации МЗ РФ. М.: МЗ РФ - МОНИКИ. 1985. - 22с.
28. Павловская Н.А. и др. // Лабораторное дело. 1982. №1. С. 26-29.

Использованные в статье сокращения:

АЛК – аминолевулиновая кислота;

ЭФ – эндогенная флуоресценция;

ЛФД – лазерная флуоресцентная диагностика.