

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Спектральный анализ брюшной полости в норме и при
патологии

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 434 группы

направления 03.03.02 «Физика» физического факультета

Лысаковой Кристины Сергеевны

Научный руководитель

профессор, д.ф.-м.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание



подпись, дата

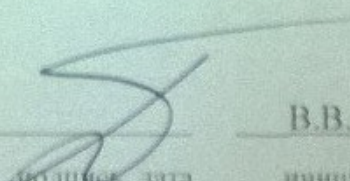
В.И. Кочубей

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой

д.ф.-м.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание



подпись, дата

В.В. Тучин

инициалы, фамилия

Саратов 2017

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»
Кафедра оптики и биофотоники

«Спектральный анализ брюшной полости в норме и при патологии»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

студентки 4 курса 434 группы
направления 03.03.02 «Физика» физического факультета
Лысаковой Кристины Сергеевны

Научный руководитель

<u>профессор, д.ф.-м.н., профессор</u>	_____	<u>В.И. Кочубей</u>
должность, уч. степень, уч. звание	подпись, дата	инициалы, фамилия

Зав. кафедрой

<u>д.ф.-м.н., профессор</u>	_____	<u>В.В. Тучин</u>
должность, уч. степень, уч. звание	подпись, дата	инициалы, фамилия

Саратов 2017

Содержание:

1. Введение.....	5
2. Основное содержание работы.....	21
3. Заключение.....	22
4.Список литературы.....	23

Введение

Важнейшим этапом в лечении заболевания является диагностика. Правильная и своевременная постановка диагноза это первый шаг на пути к выздоровлению. В настоящее время существует новый, перспективный метод диагностики, который позволяет исследовать биоткани практически без вмешательства. После того как стали применять флуоресцентный анализ, открылись огромные возможности и перспективы в развитии качественных и достоверных методов диагностики заболеваний. Достоинство данного метода заключается в том, что он чувствителен к достаточно малым изменениям концентраций флуорофоров, что, несомненно, важно. Но использование флуоресцентного анализа не ограничивается только диагностикой, этот метод может решать широкий круг задач в области молекулярной и клеточной биологии, вирусологии, биофизики мембран. Люминесценция может быть использована для контроля важнейших физиологических процессов, данный метод может применяться для наблюдения за поступлением, превращением и выводом из организма лекарств, для обнаружения значительного числа заболеваний от гриппа до рака. Изучение автофлуоресценции биообъектов используется для диагностики атеросклеротических изменений сосудов[1]. Люминесцентный анализ используют в кардиологии, например, исследование ткани миокарда позволяют установить тонус сердечной мышцы[2]. Автофлуоресцентная спектроскопия применяется для мониторинга ожогов и заживления ран [3], для исследований тканей глаза[4], проводятся исследования в области поиска и нахождения критериев, по которым можно определить злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта [5]. Наряду с изучением спектров автофлуоресценции исследуют спектры отражения. Спектр отраженного от биоткани света содержит большое количество информации о различных слоях исследуемой биоткани. На спектр диффузного отражения могут оказываться влияние, как структурные изменения биоткани, так и изменения происходящее на биохимическом уровне.

Неинвазивная медицинская спектрофотометрия позволяет увидеть изменения оптических свойств биологических тканей и жидкостей, которые в свою очередь зависят от оптических свойств биохимических компонентов (различные виды гемоглобина, билирубин, порфирины, флавины, NAD-H, меланин, вода, жиры, белки). Таким образом исследуя спектры автофлуоресценции и спектры диффузного отражения можно получить оценку функционального состояния биологической ткани, а также проследить изменение поведения спектров при патологии.

Цель исследования:

Повышение эффективности ранней диагностики перитонита с помощью методов автофлуоресцентной и отражательной спектроскопии.

Поставленная цель достигалась путем решения следующих **задач**:

1. Исследование спектров автофлуоресценции *in vivo* и *in vitro*.
2. Сравнение характеристик полученных спектров брюшины при перитоните и в норме.
3. Исследование спектров диффузного отражения брюшины в норме и при патологии.
4. Получение коэффициента патологии.

Актуальность проблемы диагностирования перитонита определяется несколькими факторами.

1. Широкая распространенность патологии.
2. Высокая летальность при распространенном перитоните, по некоторым данным летальность колеблется от 18 до 60%. Чтобы снизить процент летальности нужно своевременно и быстро диагностировать заболевание.
3. Несмотря на применение антибиотиков широкого спектра действия, иммуномодуляторов нового поколения, экстракорпоральных методов детоксикации организма, гипербарической оксигенации, лапаротомии, значительного снижения летальности не наблюдается.

3.Сложностью и многочисленностью нарушений гомеостаза при перитоните, недостаточно изученным патогенезом этого заболевания.Данную патологию важно обнаружить на ранней стадии, что может существенно снизить порог летальности.

Структура и объем работы. Бакалаврская работа изложена на 45страницах, иллюстрирована 18 рисунками, 1 таблицей. Состоит из: введения, обзора литературы, главы о технике и результатах экспериментов, главы об анализе результатов исследований, выводов, списка литературы, включающего 28 источников.

Содержание работы

В первом разделе дипломной работы представлены результаты анализа известных методов диагностики заболеваний с использованием автофлуоресценции и спектров диффузного отражения, рассмотрены их достоинства и недостатки. Также подробно изложено о взаимодействии света

с биотканями, об основных флуорофорах и хромофорах организма. Рассмотрено строение брюшины и сделаны выводы о том, что такая структура вносит определенный вклад в формирование спектра автофлуоресценции.

Во втором разделе описаны материалы и методы исследования, и полученные результаты. Приведена схема установки, обеспечивающая возбуждение и регистрацию спектров автофлуоресценции брюшины. (Рисунок 1)

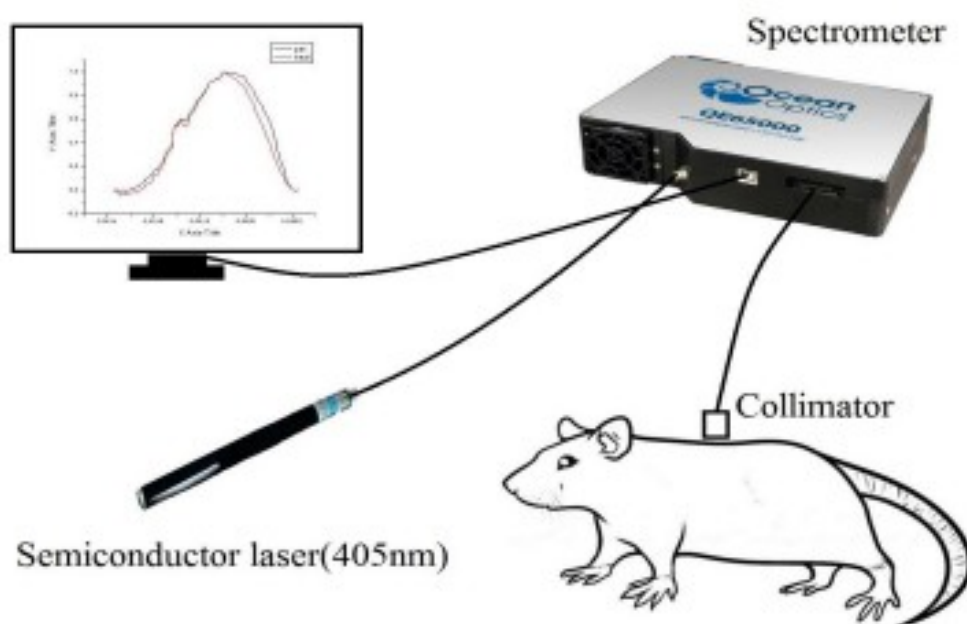


Рисунок 1 –Экспериментальная установка для исследования спектров люминесценции

Экспериментальные исследования проведены на 20 белых лабораторных крысах линии «Вистар» женского пола массой от 220 до 250 г. Все исследования проводили в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1987г.), Федеральному закону о защите животных от жестокого обращения от 01.01.1997г., а также Директиве 86/609ЕЭС, основанной на тексте соглашения «Dr. Robert Hubrecht, Current EU Legislation Controlling Animal Experiments». Моделирование перитонита

производили следующим образом. Создавали каловую взвесь 20% концентрации путем смешивания измельченного кала и изотонического раствора NaCl. 1 мл данной взвеси в течение 20 минут после приготовления вводили в брюшную полость животного. Экспериментальный перитонит развивался примерно за сутки после операции. После лапаротомии у крыс группы контроля и релапаротомии у крыс с перитонитом, измеряли спектры отражения и люминесценции париетальной брюшины в шести равноудаленных точках. Измерения *in vivo* проводились на 2-е сутки после заражения при помощи спектрометра QE65000 (OceanOptics, USA) в спектральном диапазоне длин волн 400-700 нм. Измерения *in vitro* проводились, также на 2-е сутки при помощи прибора LS 55.

Спектры диффузного отражения брюшины

Если рассматривать брюшину с оптической точки зрения, то она представляет собой поглощающую среду с явными рассеивающими свойствами. Взаимодействие света с брюшиной носит сложный характер. Граница раздела брюшина-воздух является шероховатой, так как она представляет собой слой клеток мезотелия, имеющих полигональную форму и неровные края. Из-за разницы показателей преломления воздуха и брюшины, излучение частично отражается (порядка 5%) и из-за неоднородностей становится диффузным. Большая же часть излучения проходит в брюшину, где свет частично рассеивается и поглощается. Основными хромофорами в выбранной нами спектральной области являются: гемоглобин, билирубин, каротиноиды, порфирины, ФАД.

Кроме поглощения брюшина характеризуется сильным светорассеянием. Рассеяние возникает из-за неоднородности биоткани, при этом характер рассеяния зависит от соотношения размера неоднородностей с длиной волны рассеиваемого излучения. Таким образом, рассеяние и поглощение света в брюшине определяют количество выходящего из нее обратно рассеянного излучения, которое определяет величину диффузного коэффициента отражения.

Величина коэффициента диффузного отражения зависит от глубины, на которую проникает излучение в биоткань. В коротковолновой части видимой области спектра излучение может проникать от 0,9 до 2,3 мм. В этом случае можно говорить о том, что важную роль в формировании обратного рассеяния играют, как поглощение, так и рассеяние. Коэффициент отражения в данной области соответствует 30-45%. Также проявляется ярко выраженный провал в области 405-430 нм, который соответствует присутствию крови. В области длин волн 600 - 800 нм поглощение уменьшается, и сильное влияние на спектр оказывает рассеяние, глубина проникновения света в биоткань увеличивается и может достигать 3 мм. (Рисунок 2) Значение коэффициента отражения достигает 55% и при патологии в данной области угол наклона изменяется. В норме он составляет $7,56 \cdot 10^{-3} \%$ /нм, а при патологии $6,45 \cdot 10^{-4} \%$ /нм. На спектре видны провалы в области 535-575 нм, эти провалы соответствуют полосам поглощения гемоглобина. Таким образом, анализируя спектры диффузного отражения, можно сказать, что в патологическом состоянии явно изменяется светорассеяние брюшины, за счет структурного изменения брюшной стенки[23], что влечет за собой понижение коэффициента диффузного отражения.

Еще одной характеристикой, которая может указывать на патологическое состояние может выступать степень оксигенации гемоглобина.

Степень оксигенации гемоглобина крови может быть рассчитана согласно следующему выражению (1):

$$Y = \alpha \left(\left(\frac{OD_{570} - OD_{557}}{13} - \frac{OD_{557} - OD_{545}}{12} \right) \frac{1}{H} + \beta \right), \quad (1)$$

где α и β -поправочные коэффициенты, H- индекс гемоглобина, рассчитанный по формуле (2)

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25} \quad (2)$$

Согласно Рисунку 3 степень оксигенации в патологическом состоянии увеличивается на 10%. Соответственно можно сделать вывод, что в начальной стадии воспаления идет компенсаторное повышение оксигенации брюшины, а в последующем, при субкомпенсации и декомпенсации наблюдается гипоксия (понижение уровня кислорода в тканях).[23]

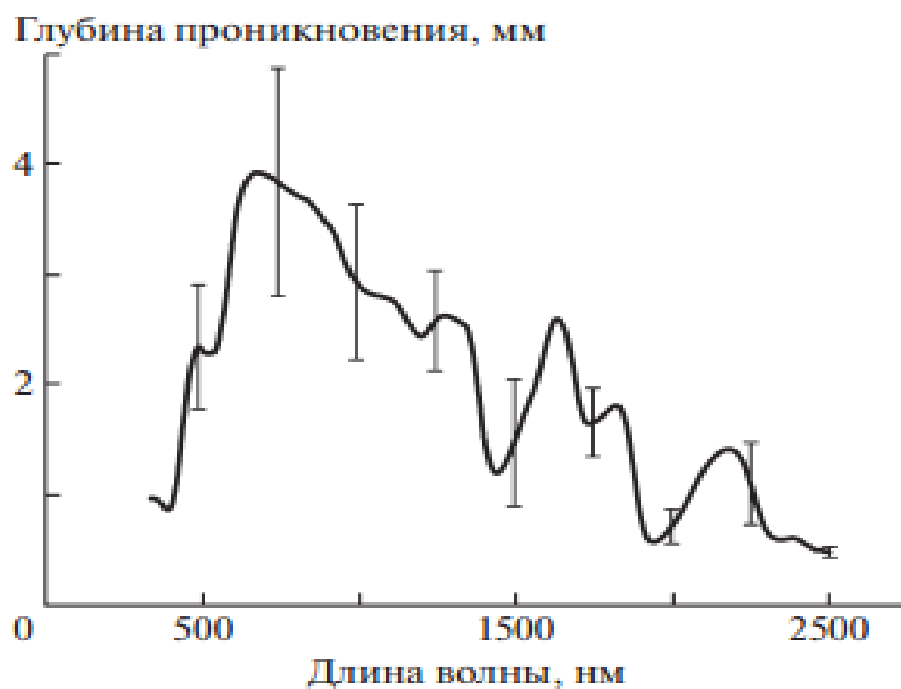


Рисунок 2 -Зависимость глубины проникновения излучения в ткань брюшины от длины волны[24]

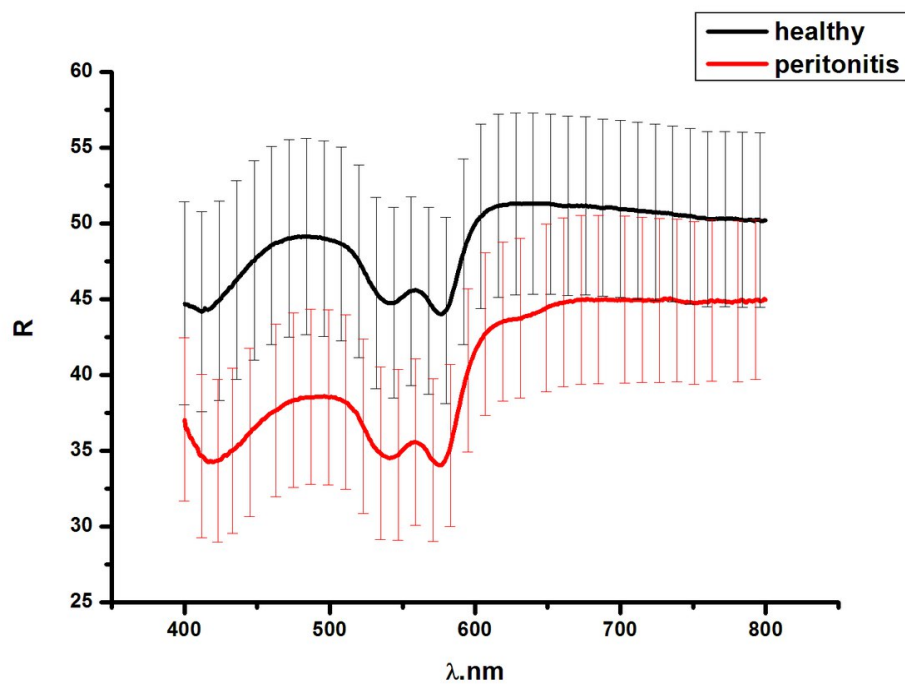


Рисунок 3 – усредненный спектр отражения брюшины крыс в норме и при патологии

Спектры автофлуоресценции брюшины

Экспериментально полученный спектр автофлуоресценции брюшины представлен на Рисунке 4.

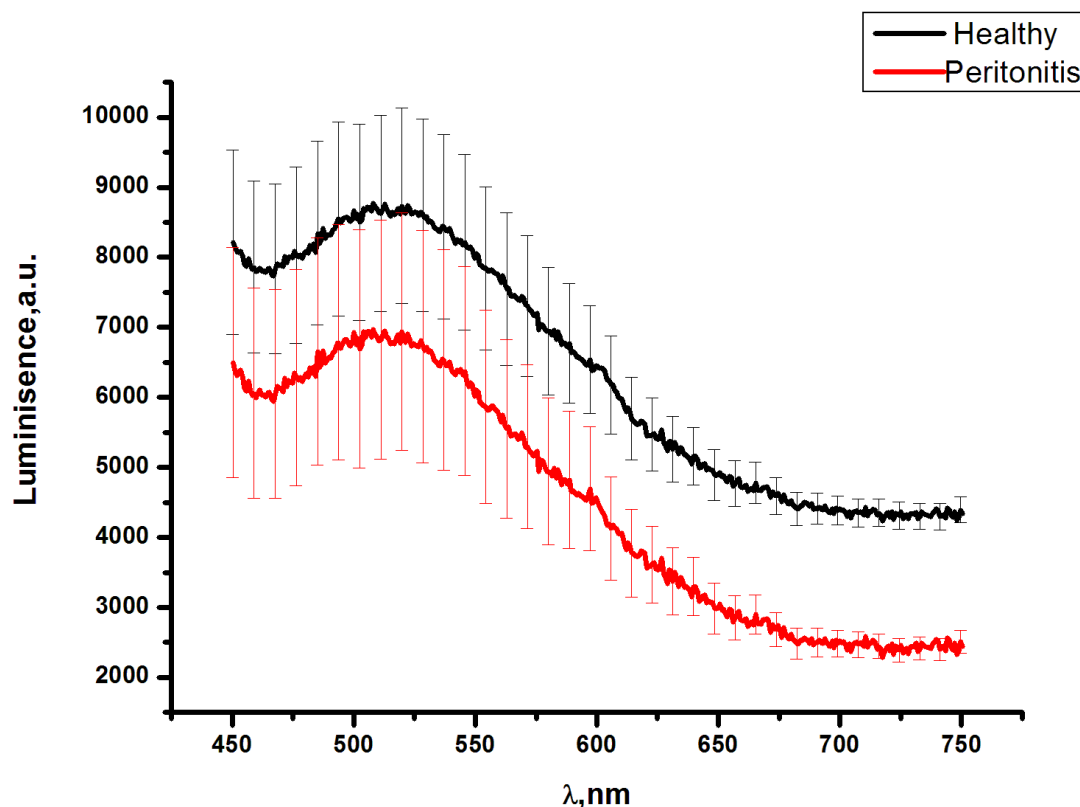
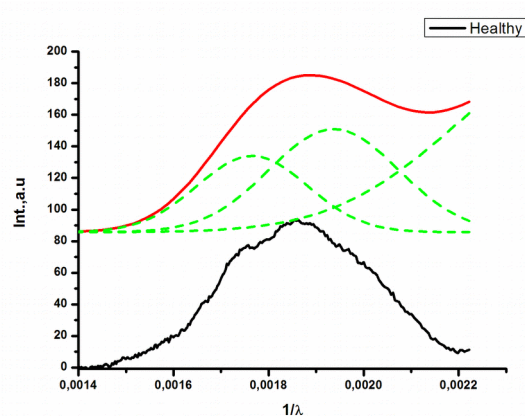


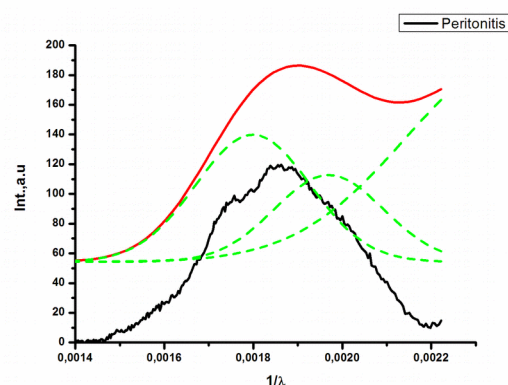
Рисунок 4 – усредненный спектр люминесценции брюшины в норме и в случае перитонита *in vivo*

Коррекция спектра проходила в 2 этапа. На первом этапе спектр корректировался на эффекты поглощения и рассеяния. За корректирующий фактор был принят $\sqrt{R}$ (R-спектр диффузного отражения).[25] Для того чтобы учесть фоновую составляющую спектр раскладывался на составляющие гауссовы полосы и из экспериментально полученного спектра вычиталась аппроксимирующая фоновую составляющую линия. (Рисунок 5) После коррекции были получены спектры представленные на рисунке 6.

Если рассматривать полученный в *in vivo* эксперименте спектр (Рисунок 6), то анализировать широкий колокол люминесценции без дополнительных исследований будет затруднительно. Визуально видно, что в области 470-650 нм есть явные различия в интенсивности. Но какие из флуорофоров или хромофоров вносят вклад в данный результат на данном этапе определить сложно.

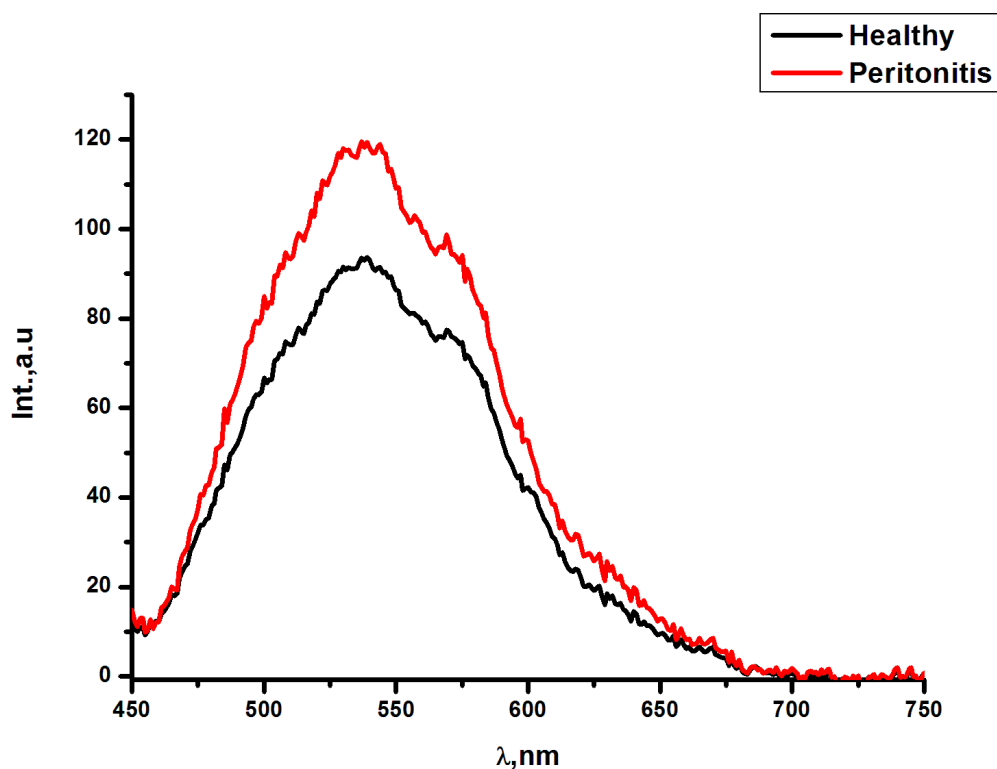


а)



б)

Рисунок 5- разложение спектра автофлуоресценции на составляющие гауссовы полосы, а) в норме, б) при перитоните



Рисуно

к 6- скорректированный спектр автофлуоресценции брюшины в норме и при перитоните in vivo

Для решения данной проблемы, нами были проведены исследования спектров люминесценции брюшины invitro на двух длинах волн: 395 нм и 405 нм. Этот вид измерений проводился с помощью люминесцентного

спектрометра LS 55. Сразу после лапаротомии у животных забирались образцы брюшины, для анализа изменений в спектрах *invitro*. Данные исследования могут помочь в анализе спектров люминесценции *invivo*, за счет повышения чувствительности прибора и уменьшения искажающего влияния гемоглобина на спектры. Полученные спектры также были скорректированы на эффекты поглощения и рассеяния. За корректирующий фактор принимался $\sqrt{R}$ (R-спектр диффузного отражения брюшины *invitro*). На Рисунках 7 и 8 показаны спектры, которые были получены после корректировки.

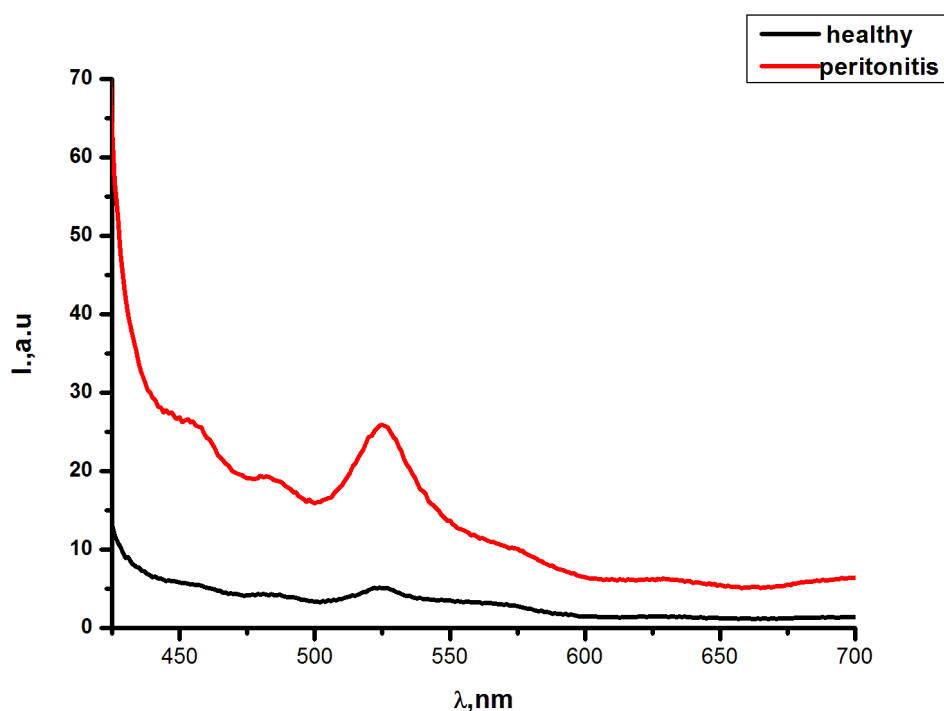


Рисунок 7- скорректированные спектры люминесценции в норме и при перитоните (λ возб.=395 нм)*invitro*

При возбуждении флуоресценции на 405 нм (Рисунок 8) проявляются пики на 455, 480 и 525 нм. Причем пик на 455 нм в норме отсутствует, это может быть связано с тем, что при перитоните NAD-H частично начинает связываться с белками и вследствие этого проявляется данная полоса люминесценции, другие пики при патологии становятся интенсивнее. Таким образом можно судить об увеличении концентрации флуорофоров высвечивающих на данных длинах волн. При возбуждении на 395 нм видно изменение интенсивности

флуоресценции при патологии на 525 нм. Данные длины волн можно отнести к люминесценции NAD-H (480 нм) и флавинов (525 нм).

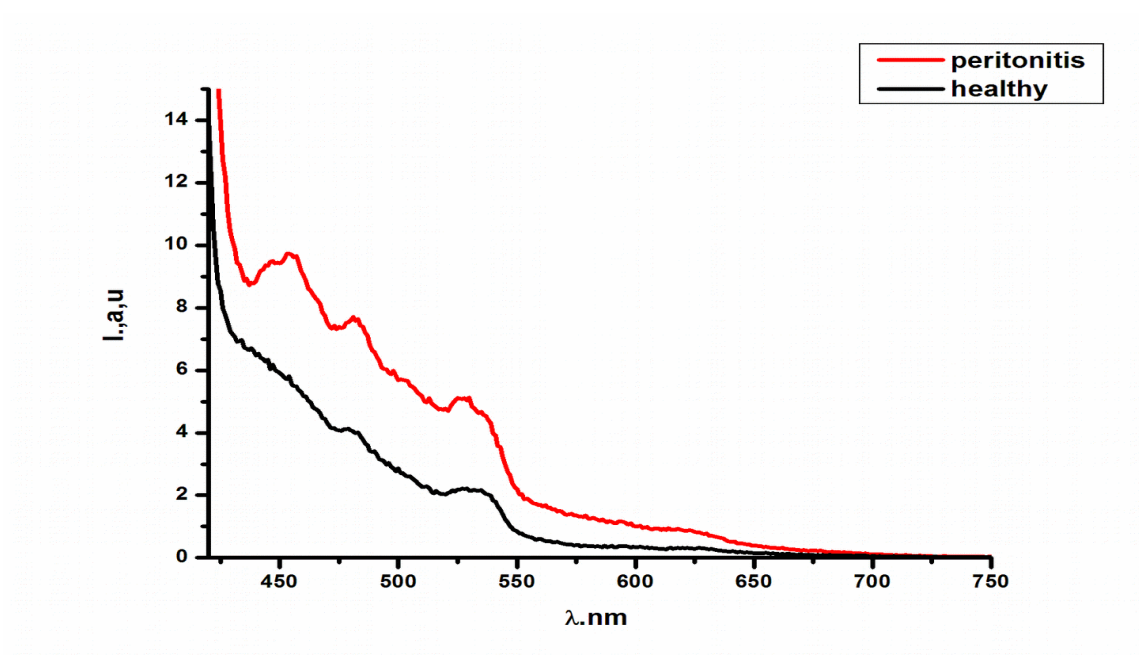


Рисунок 8 – скорректированные спектры люминесценции в норме и при перитоните (λ возб.=405 нм) invitro

Литературные данные говорят о том, что данное заболевание должно сопровождаться накоплением в патологической области порфиринов, но на полученных спектрах люминесценции порфиринов не было обнаружено. Нами было сделано предположение, что лазерное излучение может поглощаться верхними слоями брюшины. Таким образом, если взять более мощное излучение можно регистрировать биохимические изменения глубинных слоев. При соблюдении одинаковых условий эксперимента, но с заменой источника на более мощный (300 мВт) были получены следующие результаты. (Рисунок 9)

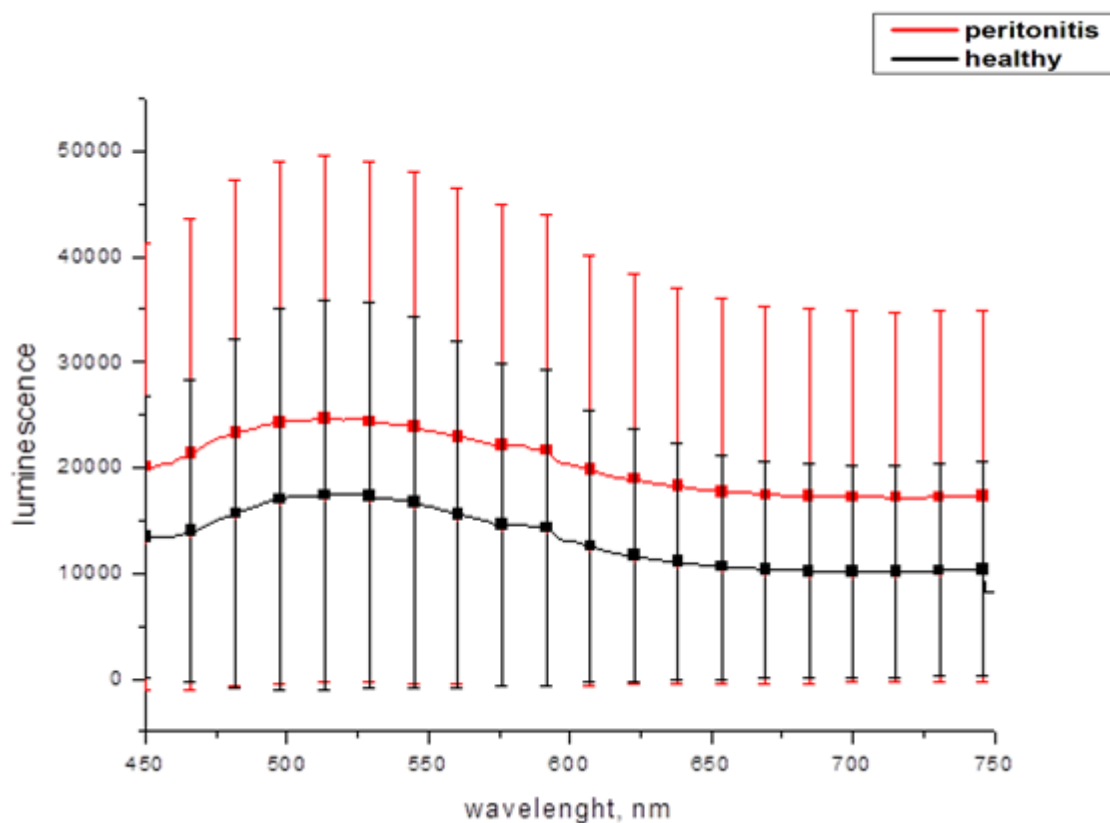


Рисунок 9-усредненный спектр люминесценции в норме и при патологии при мощности лазера 300 мВт (invivo)

Вычитание фона и нормирование данных спектров (Рисунок 10) показывает увеличение вклада в люминесценцию в области 470-510 нм (НАД-Н) и 570-600 нм (порфирины) при патологии.

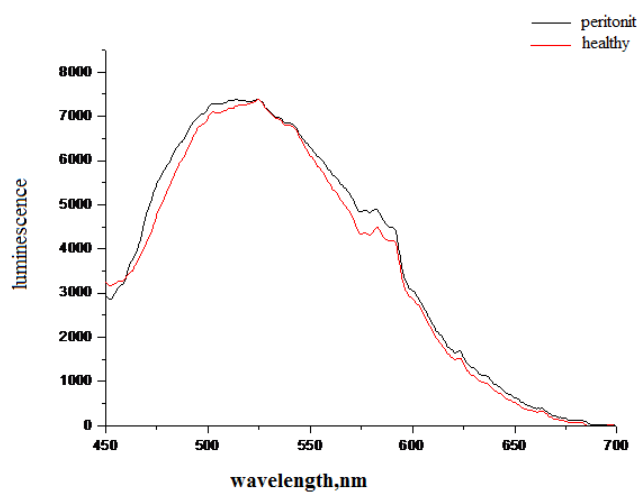


Рисунок 10. Экспериментально полученные спектры люминесценции здоровой брюшины и при перитоните.

Расчет коэффициента наличия патологии

В ряде случаев можно на одном и том же спектре при одной и той же длине волны возбуждения флюоресценции оценивать отношения интенсивностей для разных λ (разных максимумов в спектре флюоресценции). Так, В.Н. Карнаухов в [26] для оценки внутриклеточных энергетических и обменных процессов предлагал оценивать отношения интенсивностей для длин волн $\lambda_f=460$ и $\lambda_f=530$ нм ($I(460)/I(530)$) – так называемый редокс-статус, определяемый отношением флуоресценции восстановленного никотинамида (NADH) к флуоресценции окисленных форм FAD и FMN. Отношение интенсивностей флюоресценции на длинах волн 600 и 580 нм использовалось при диагностике атеросклеротических бляшек [27]. При таком подходе все эти отношения (для не искаженных прибором спектров) в первом приближении можно считать прямо пропорциональными отношениям концентраций регистрируемых веществ в области обследования. [28].

Таблица 1-Коэффициент наличия патологии

	Норма	Патология	Доверительный интервал($p=0,95$)	
$\frac{I_{700}}{I_{540}}$	0,26	0,15	Норма	Патология
	0.28	0.14	0,232-0,376	0,102-0,204
	0.29	0.17		
	0.32	0.12		
	0.35	0.15		
	0.38	0.2		
	0.29	0.13		
	0.28	0.2		
	0.33	0.14		
	0.26	0.13		

Для определения коэффициента патологии мы выбрали 2 длины волны: 540 нм и 700 нм. Определялась интенсивность на этих длинах волн и находилось отношение интенсивности на 700 нм к интенсивности на 540 нм. Далее был определен доверительный интервал с заданной точностью (95%) по

которому можно судить о том что при патологии рассчитанный коэффициент лежит в интервале от 0,102 до 0,204. (Таблица1)

В дальнейших исследованиях интервал может быть уточнен.

Разложение спектра на гауссовы полосы

Интерпретация экспериментальных спектров при их разнообразии зачастую оказывается проблематичной. Для преодоления трудностей используются различные методы их анализа. Признаки компонентного состава облегчают анализ спектральных контуров. В таких случаях, в зависимости от конкретных обстоятельств, используют методы, основанные на аппроксимации спектров известными функциями (Гаусса, Лоренца, Фанои др.). На практике в большинстве случаев данные функции являются достаточными для аппроксимации кривых. Известно, что гауссова функция описывает неоднородное уширение спектров, а однородное уширение – функция Лоренца.

Для анализа изменения спектров проводилось разложение спектров люминесценции на составляющие гауссовы полосы. Так как гауссова форма полос существует в частотной шкале, длины волн преобразовывались в обратные величины. На всех спектрах, которые были получены с более мощным лазером, наблюдаются узкие полосы в области 580-600 нм, которые могут быть связаны с наличием порфирина. Амплитуда этих полос растет при патологии, что может быть следствием увеличения концентрации порфирина в брюшине. Наличие полос люминесценции, приписываемых порфируну в области 575-589 нм, мешает разложению, поэтому эти области спектра маскировались. Результат отображен на (Рисунок 11).

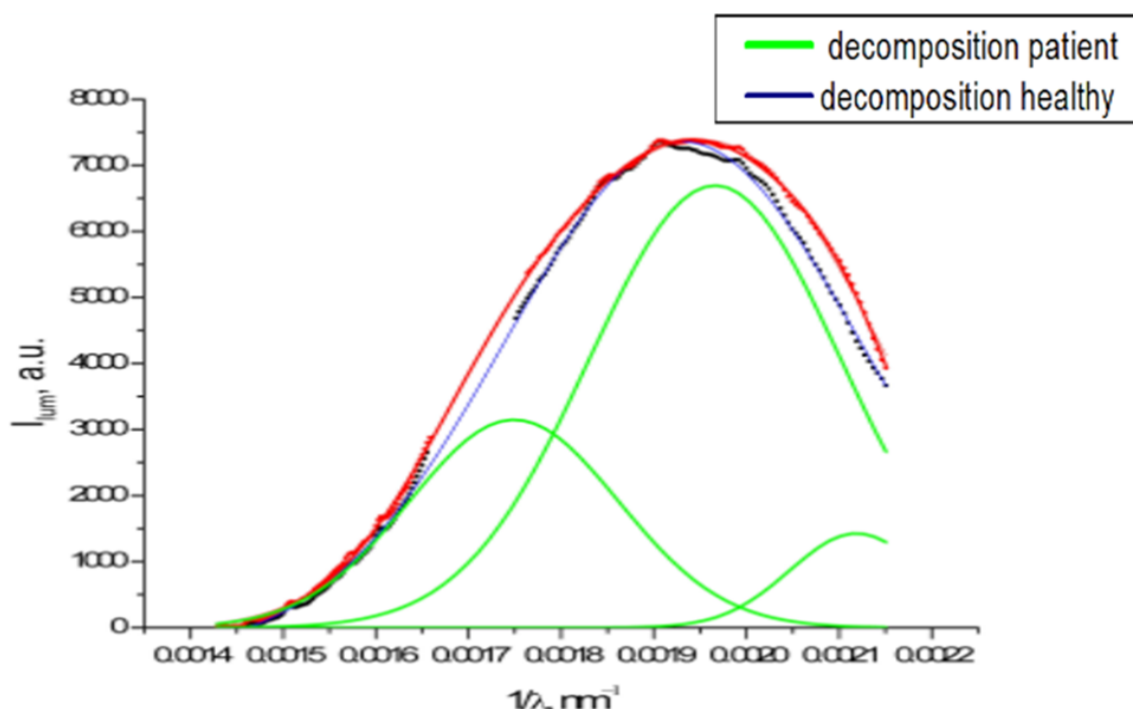


Рисунок 11– разложение спектра люминесценции брюшины на составляющие гауссовы полосы (при мощности лазера 300мВт)

Для нормальной брюшины спектр хорошо аппроксимируется одиночной гауссовой полосой с максимумом на 517 нм, а при патологии спектр раскладывается на три пика с максимумами на 571, 510 и 472 нм. Анализируя эти полосы, можно сказать, что люминесценция в области 510-520 нм, наиболее вероятно, принадлежит коллагену. Известно, что перитонит характеризуется повышенным содержанием в ткани NADHи порфирина, следовательно, в спектре должно отражаться увеличение интенсивности люминесценции данных флуорофоров. Таким образом, появление полосы в области 470 нм согласуется с предположением об увеличении концентрации NAD-H. Возникает сложность с объяснением природы полосы в области 570 нм. Согласно литературным данным, она может быть вызвана как наличием липопигментов, так и вкладом люминесценции гемоглобина и порфирина. Литературные данные об этой люминесценции отсутствуют.

Анализ компонентного состава был проведен и со спектрами люминесценции, которые были получены при лазерном излучении с меньшей мощностью. (Рисунок 12). Нами предполагалось, что при выбранной мощности

мы можем затронуть лишь верхние слои брюшины, таким образом преобладающим флуорофором при данном подходе должен быть коллаген. При патологии в разложении наблюдается еще один пик с максимумом на 500 нм, который наиболее вероятно относится к билирубину. Таким образом, полученный результат согласуется с предположением, о том что при малой мощности лазера излучение не доходит до слоев, отражающих биохимические изменения.

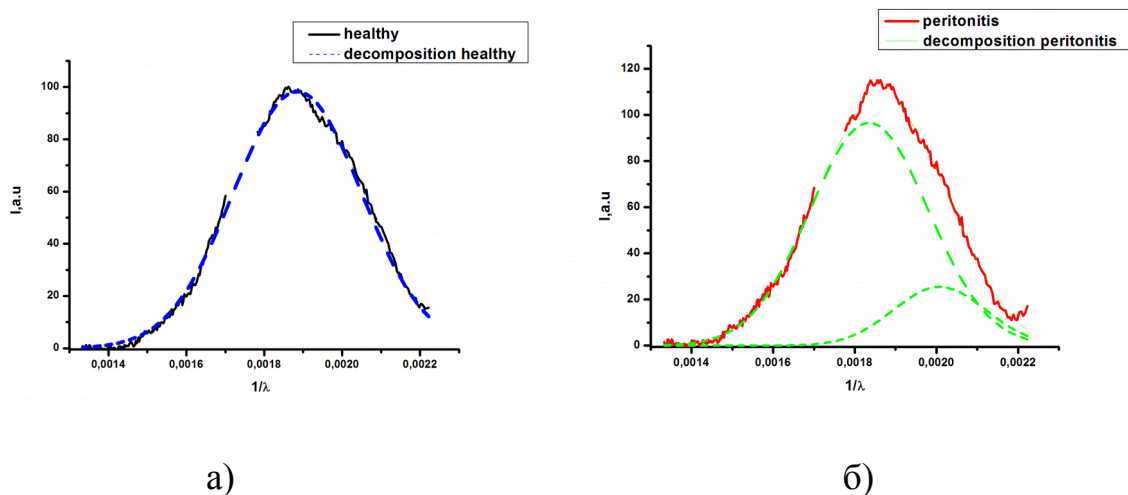


Рисунок 12-разложение на гауссовы полосы спектра автофлуоресценции при мощности лазера 100 мВт; а)в норме б)при перитоните

Применение дифференциальной спектроскопии для анализа спектров.

В основе идеи производной спектроскопии (спектроскопии с помощью регистрации производных) лежит идея замены исходного массива спектральных данных его производными. При этом наблюдается ряд положительных эффектов (сужение линий и полос, подавление фона), которые упрощают проведение спектроаналитических процедур. Особенно эффективной производная спектроскопия представляется при разделении плохо разрешенных пиков спектров. В результате сужения линий при дифференцировании наблюдается улучшение разрешения.

При более детальном рассмотрении спектра наблюдаются повторяющиеся неоднородности, независимые от наличия или отсутствия патологии. Для их

анализа было проведено дифференцирование спектров. Для вторых производных спектров полуширина полос сужается, что позволяет выделить их из общего спектра. Полосы поглощения гемоглобина в областях 533 и 560 нм проявляются в виде направленных вверх пиков. Направление полос при дифференцировании меняется на обратное (Рисунок 13)

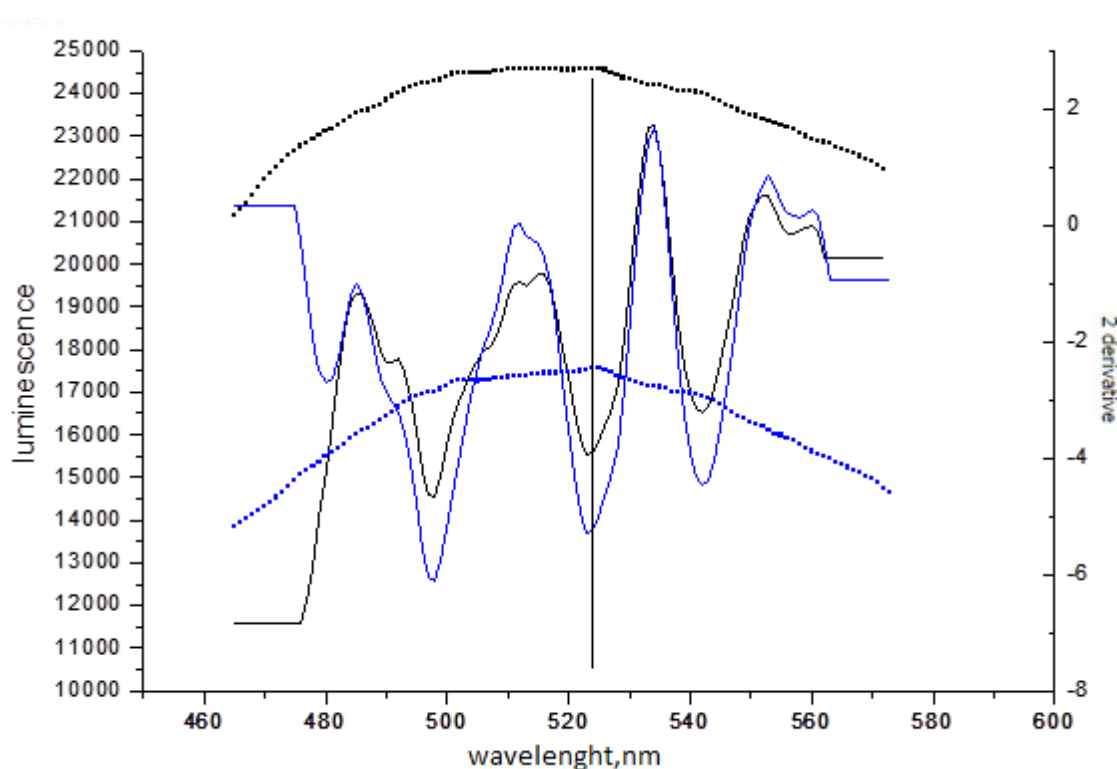


Рисунок 13 - 2-я производная части спектра люминесценции (мощность лазера 300мВт)

В то же время область спектра 480-520 нм плохо анализируется, т.к. не удалось найти полосы поглощения на 485 и 510 нм. Наиболее вероятно, что в этой области видна полоса люминесценции NAD-H направленная вниз.

При детальном анализе спектра люминесценции, полученного с менее мощным лазером (Рисунок 14) проявляется полоса поглощения на 505 нм, которая была не видна в предыдущем спектре. При различных патологических процессах, в основе которых лежит синдром хронической гипоксии, повышается уровень порфиринов, которые имеют несколько пиков поглощения, приходящихся на длины волн 400–410, 510, 610–630 нм, таким образом данный пик мы можем отнести к поглощению порфиринов. Также мы наблюдаем

полосы поглощения на 520 и 560 нм, которые принадлежат гемоглобину. В спектре видна полоса люминесценции на 498 нм. Полосу с максимумом на 498 нм скорее всего можно отнести к билирубину.

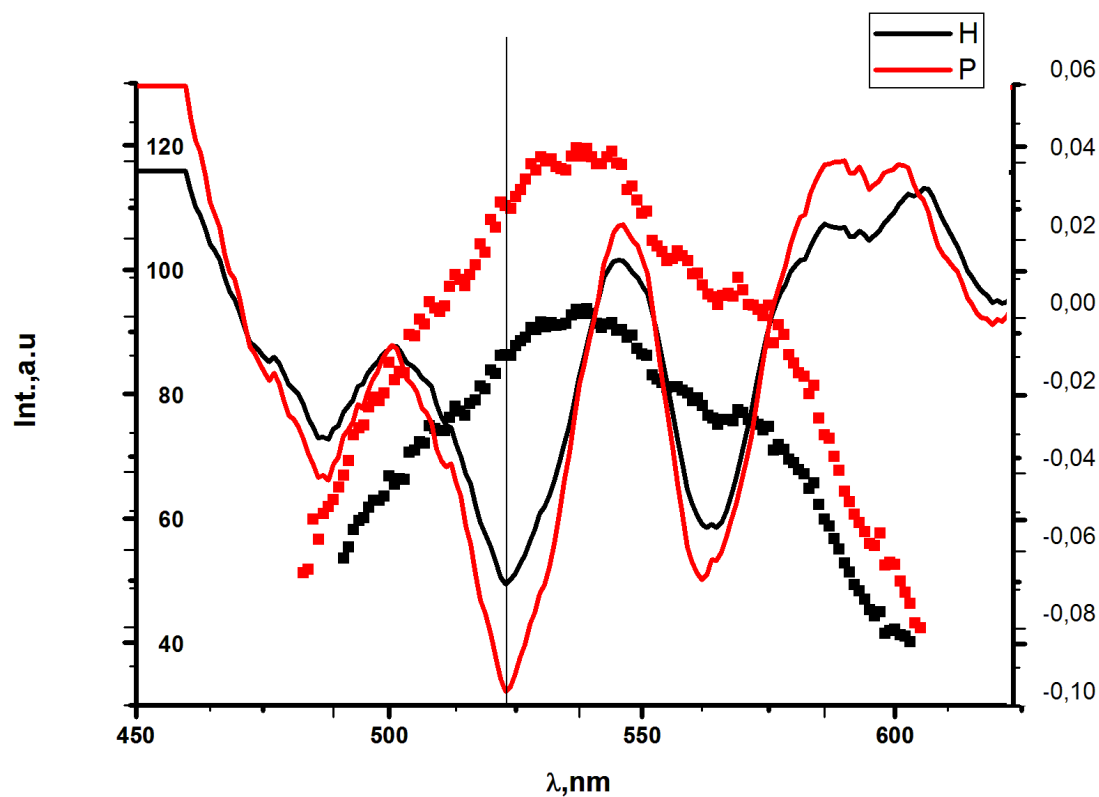


Рисунок 18-2-я производная части спектра автофлуоресценции брюшины при мощности лазера 100мВт

Выводы

Состав люминесценции таких сложных спектров можно проанализировать только методами разложения спектров на составляющие и дифференциальной спектроскопии. При анализе было показано, что для получения из спектров информации о биохимических изменениях, происходящих в тканях при заболевании, нужно корректно подбирать осветитель. Было установлено, что отражение брюшины при заболевании падает, что происходит вследствие структурного изменения (меняется рыхлость брюшины). Также показано увеличение концентрации HAD-H и порфирина при патологии. Кроме того, показано, что спектры искажаются перепоглощением люминесценции гемоглобином крови. В ходе работы спектры были скорректированы на эффекты внутреннего поглощения и рассеяния. Был получен диапазон значений коэффициента наличия патологии, который в последствии может быть расширен для формирования групп по степени риска. Таким образом, по изменению поведения спектров отражения и автофлуоресценции можно судить о наличии или отсутствии патологии.

Автофлуоресцентная спектроскопия является простым, безопасным, неинвазивным методом и может быть рекомендована в качестве экспресс-диагностики для выявления перитонита.

Литература

1. Ораевский А.А., Летохов В.С., Рагимов С.Э. и др. Спектральная диагностика атеросклеротических бляшек в сосудах человека // Изд. АНССР. Сер. Физическая. - 1990. - Т. 54. - № 10. - С. 1900-1903.
2. Lohmann W., Mussmann J., Lohmann C., Kunzel W. Native fluorescence of the cervix uteri as a marker for dysplasia and invasive carcinoma // Europ. J. of Obstet. & Gynecol. and Reprod. Biol. - 1989. - Vol. 31. - P.249-253.
3. Yang Y., Mitchel L.D., Alfano R.R. Fluorescence spectroscopy of dermal wounds in rats // J.Biomed. Opt. - 1997. - Vol. 2. - N 1. P. 53 - 57.
4. Yappert M.C., Borchman D., Byrdwell W.C. Comparison of specific blue and green fluorescence in cataractous versus normal human lens fractions // Invest. Ophthalm. Vis. Sci. - 1993. - Vol. 34. - N 3. P. 630-636.
5. Svanderg S. New developments in laser medicine // Phys. Scripta. - 1997. - Vol. T72. P. 69-75.
6. Зайдель А. Н., Основы спектрального анализа, //изд.Москва., 1965;350 с
7. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Филимонов М.И., М.:Изд. Литтерра, 2006, 208 с
8. Глумов В.Я., Острый перитонит: органопатология, пато- и танатогенез//М.: Изд.ИУУ, 1993, 238 с
9. Самусев Р.П., Сентябрьев Н.Н., Атлас анатомии и физиологии человека//М. Мир и Образование, 2015, 768 с
10. Тучин В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / М.: ФИЗМАТЛИТ, 2012. 812 с.
11. Дж.С. Доувер Лазеро- и светолечение. /М:РидЭлсивер 2010.120 с.
12. А. Б. Рубин. Биофизические методы в экологическом мониторинге. Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2003//ИЗД.МГУ 226 с
13. Черницкий Е.А., Слобожанина Е.И. Спектральный люминесцентный анализ в медицине./Мн. «Наука и техника». 1989.141 с.
14. Афонина О.И., Автофлуоресцентная диагностика онкологических заболеваний гортани и глотки/Автореферат диссертации на соискание ученой

степени кандидата медицинских наук/Саратов,2010,22 с.

15.Mayevsky A, Rogatsky G.G. Mitochondrial function in vivo evaluated by NADH fluorescence: from animal models to human studies. Am. J. Physiol. Cell 292: 2007,640 с.

16.Калниня И.Э., Блума Р.К. // Флуоресцентные методы исследования и клинической диагностики: сб. науч. трудов. – 1991. – № 1. – С. 29–39.

17.Шерстнев К.Б., Милютина Н.П., Эстрин В.В. //Люминесцентный анализ в медицине и биологии и его аппаратное обеспечение: тез. докл. – Рига: РМИ, 1985. – С. 102–103.

18.Чучалин А.Г., Бражникова Н.А., Новиков Ю.А. и др. // Сов.медицина. – 1985. – № 10. – С. 28–30.

18.Добрецов Г.Е., Баглаев Т.Н., Балякин С.О. и др. // Иммунология. – 1981. – № 6. – С. 68–71.

19.Добрецов Г.Е., Красовицкий В.М. // Органические люминесцентные материалы: сб. науч. трудов. – Харьков, 1988. – С. 158–161

20.Барский И.Я., Папаян Г. В., Щедрунов В.В и др. // Люминесцентный анализ в медико-биологических исследованиях. – Рига, 1982. – Т. 33, № 4. – С. 35–37.

21.Гайнулина Э.Т., Кондратьев К.В., Рыжиков С.Б. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 142, №12. – С. 710–711.

22.Андреева О.Л., Цвиренко С.В., Вишницкий Д.А. // Клин.лабораторная диагностика– 2003– № 8– С. 19–21.

23.Моррисон.В.В, Чеснокова, Н.П.//Патологическая физиология.- С.Издательство Саратовского медицинского университета,-2008, 680с

24.А. Н. Башкатов, Э. А. Генина, М. Д. Козинцева, В. И. Кочубей, С. Ю. Городков, В. В. Тучин Оптические свойства биологических тканей брюшины

