

**Н. А. Маслов<sup>1,3</sup>, И. А. Рожин<sup>1</sup>, А. Н. Малов<sup>1</sup>, А. М. Оришич<sup>1,3</sup>,  
П. М. Ларионов<sup>2,3</sup>, М. М. Потапенко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Институт теоретической и прикладной механики им. С. А. Христиановича СО РАН  
ул. Институтская, 4/1, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения  
им. Акад. Е. Н. Мешалкина  
ул. Речкуновская, 15, Новосибирск, 650055, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский государственный университет  
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия  
E-mail: nmaslov@itam.nsc.ru

## **РАЗРАБОТКА МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

В настоящее время для лазерной медицинской диагностики, как правило, используется видимое и ближнее инфракрасное излучение как глубоко проникающее в ткань и наименее вредное. В данной работе показана перспективность использования и ультрафиолетового излучения. В частности существует диапазон доз излучения 248 нм лазера, в котором оно практически безвредно. При этом оно эффективно возбуждает флуоресценцию биологических тканей, вызывая свечение флуорофоров, не возбуждающихся излучением с большей длиной волны. Исследования спектров флуоресценции миокарда свиньи в процессе хранения показали, что потеря тканью жизнеспособности приводит к изменению ее спектра. На основании этого предложен метод диагностики жизнеспособности трансплантата перед операцией.

*Ключевые слова:* лазерно-индуцированная флуоресценция, эксимерный лазер, трансплантат, жизнеспособность, спектроскопия.

### **Введение**

Сегодня хирургическая медицина, в том числе и кардиохирургия, остро нуждается в новых методах интраоперационной диагностики тканей. Исследования, проводимые на стыке физики, биологии и медицины, открывают новые возможности для создания подобных методов. Многие процессы, происходящие в живом организме, патологические или естественные, приводят к изменениям физико-химических свойств тканей, вариациям агрегатного состояния некоторых ее компонент, механическим превращениям. Регистрация подобных изменений физическими методами дает информацию о происходящих процессах, что, в частности, может использоваться и для медицинской диагнос-

тики. Примеры широко известны: магнитно-резонансная томография, рентгенография, ультразвуковое исследование. В наши дни активно развивается лазерная медицинская диагностика. Основное достоинство оптических методов диагностики – возможность определять состояние тканей в реальном времени. Для этого могут использоваться как рассеяние и поглощение света (спектральные измерения, оптическая когерентная томография, усиленное обратное рассеяние), так и собственная светоиндуцированная флуоресценция. В основе последнего метода лежит известное свойство различных веществ, составляющих биологические ткани, флуоресцировать под воздействием излучения. Любые превращения в тканях, сопровождающиеся разрушением или появлением

флуорофоров, изменением их физико-химического окружения, агрегатного состояния, могут быть зарегистрированы этим методом. Например, люминесцентный метод исследования белков позволяет определять их структуру, состав, состояние, динамические характеристики и пр. [1]. По изменению спектра фотолюминесценции удается идентифицировать ткани, пораженные кальцинозом [2], отличить нормальную аорту от больной атеросклерозом [3]. Для любого из известных методов оптической диагностики, как правило, используется ближнее инфракрасное и видимое излучения как наименее вредные и глубоко проникающие в ткань. Наиболее удобно для возбуждения флуоресценции использовать лазерное излучение.

Отличительной особенностью данной работы является применение ультрафиолетового излучения (248 нм) для возбуждения лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ). Это позволило наблюдать свечение флуорофоров, не возбуждающихся излучением с большей длиной волны и получить дополнительную диагностическую информацию. Мы показали, что, именно благодаря использованию ультрафиолетового лазера, ЛИФ спектроскопию можно использовать для диагностики кальциноза сосудов и клапанов сердца [3], остеопороза [4], в качестве контроля для биотехнологии получения аутографтов – сосудов, состоящих из внеклеточного каркаса донора, заселенного клетками реципиента [5].

Оптические методы диагностики могут найти еще множество применений. Например, для успешной трансплантации очень важна адекватная оценка жизнеспособности тканей или органов, используемых для пересадки. Так, сейчас причиной 15–20 % интраоперационных смертей является исходное неудовлетворительное состояние тканей донорского сердца [6]. К сожалению, в настоящее время не существуют методы определения качества трансплантатов. В экспериментальных работах используются различные подходы для оценки жизнеспособности: оценка редокс потенциала, определение уровня свободных радикалов в клетках, уровня АТФ, фрагментация ДНК. Однако все перечисленные методы инвазивны, и их проведение требует множества дополнительных и часто длительных процедур, что делает эти методы малопривлекательными для реальной практики.

Данная работа посвящена разработке метода диагностики биологических тканей, основанного на использовании ЛИФ, возбуждаемой ультрафиолетовым излучением с длиной волны 248 нм. На примере задачи определения уровня жизнеспособности миокарда донорского сердца рассмотрены этапы создания нового диагностического метода и в целом перспективы применения коротковолнового ультрафиолетового излучения для ЛИФ диагностики.

### Материалы и методы

Для разработки методики необходимо было исследовать ЛИФ образцов миокарда различного уровня жизнеспособности. Поскольку использовать для экспериментов здоровое жизнеспособное сердце человека не представлялось возможным, в качестве экспериментального материала использовали ткани сердца свиньи. Известно, что биохимически свинья – наиболее близкое к человеку животное. Свиное сердце в настоящее время рассматривается как наиболее вероятный объект для ксенотрансплантации человеку [7]. Уже более 10 лет свиные клапаны используются для замещения пораженных клапанов сердца человека [8].

Поскольку ухудшение качества трансплантата происходит в основном в процессе хранения между резекцией у донора и вживлением реципиенту, для моделирования различной жизнеспособности использовали различные сроки хранения. Сердце подопытного животного резецировали непосредственно после забоя. Резецированное сердце помещали в охлажденный физиологический раствор и хранили при температуре 4 °С. В таких условиях жизнеспособность ткани с течением времени постепенно снижается. Таким образом, изменения ЛИФ ткани, происходящие с течением времени, будут отражать потерю тканью жизнеспособности.

Чтобы после забоя доставить сердце в лабораторию, где проводились измерения, требовалось около 30 мин, поэтому динамика изменения ЛИФ тканей прослеживалась, только начиная с данного времени после резекции. Чтобы исследовать более ранний период, проводили эксперименты с сердцем лабораторных крыс линии Вистар, в этом случае сердце попадало на предметный столик через 30–50 с после взятия крысы в руки.

Поскольку каждый из флуорофоров, присутствующих в биологических тканях, как правило, обладает уникальным спектром флуоресценции, изменение состояния ткани, прежде всего, должно отразиться на спектральных характеристиках ЛИФ. В качестве источника излучения, возбуждающего флуоресценцию, использовали КгF эксимерный лазер ( $\lambda = 248$  нм). Длительность импульса излучения лазера составляла 5 нс, энергия 5–10 мДж. Для регистрации использовали спектрограф с голографической дифракционной решеткой, в качестве приемника излучения – ПЗС камеру с усилителем яркости. Образец ткани располагали на предметном столике из слабо флуоресцирующего материала – нержавеющей стали. Флуоресценцию собирали с помощью сферического зеркала, в фокусе которого находилась входная щель спектрографа, т.е. измеряли спектр, усредненный по поверхности образца. Размер области усреднения был порядка  $10 \times 10$  мм. Поскольку нормировка на спектральную чувствительность фотокатода усилителя яркости не проводилась, истинная форма спектра на приведенных графиках искажена, однако относительные изменения на них можно проследить с высокой точностью.

Помимо регистрации спектров ЛИФ, усредненных по поверхности биологической ткани, несущих информацию об изменении характеристик образца как целого, мы проводили измерения, выявляющие, что с течением времени происходит с различными частями образца, поскольку эти спектральные изменения могут быть неравномерными. Поскольку спектры ЛИФ интересующих нас тканей сплошные, с относительно небольшим количеством широких полос, мы измеряли распределение интенсивности флуоресценции по образцу, усредненной по различным спектральным интервалам. Это было реализовано в системе, где для регистрации флуоресценции использовали ПЗС камеру с усилителем яркости и фильтры, вырезающие интересующие нас спектральные полосы.

### Результаты

Использование возбуждающего излучения с длиной волны 248 нм позволило наблюдать у различных биологических тканей флуоресценцию в области 300–600 нм. У большинства из них в спектре доминирует пик с мак-

симумом в районе 330 нм. Хорошо известно, что он вызван аминокислотой триптофаном. У некоторых тканей, в том числе и у миокарда, помимо основного максимума нет выраженных особенностей. У прочих присутствует флуоресценция в области 350–500 нм, вызванная наличием соединительных тканей (коллагена, эластина), минерального компонента и пр. Для разработки метода диагностики состояния донорских тканей понадобилось предварительно решить целый ряд вопросов.

В частности, первый вопрос, который возникает при использовании УФ излучения для диагностических целей, – насколько оно безвредно? Квант света с длиной волны 248 нм обладает достаточно высокой энергией, чтобы вызывать сшивки оснований нуклеиновых кислот, разрушение аминокислот, деактивацию белков и прочие нежелательные последствия. В частности, это может приводить к фотовыцветанию – разрушению флуорофоров и уменьшению интенсивности флуоресценции [9; 10]. Чтобы выяснить, насколько облучение изменяет спектральные характеристики ткани, образец помещали неподвижно на предметном столике и подвергали воздействию лазерного излучения. Исследовали различные ткани свиньи: миокард, скелетные мышцы, сосуды, кости. Оказалось, что в данных условиях постепенно снижается интенсивность полосы 330 нм, т.е. происходит разрушение триптофана (рис. 1). При этом скорость изменений зависит от энергии в им-

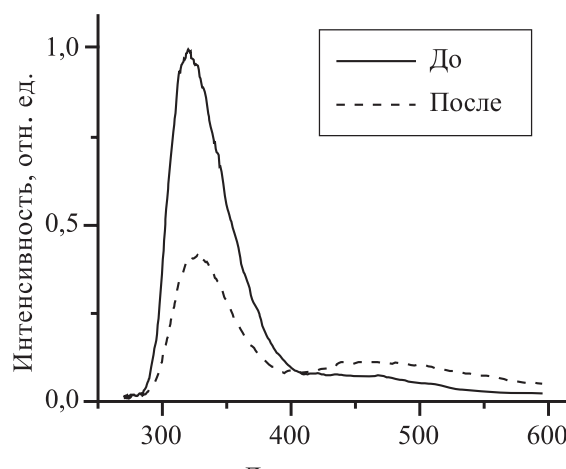


Рис. 1. Спектры ЛИФ поперечно-полосатой мышцы свиньи до (сплошная линия) и после (пунктирная линия) 2 000 импульсов лазерного излучения с плотностью энергии 5 мДж/см<sup>2</sup>

пульсе используемого излучения: при меньшей интенсивности спад происходит медленнее (рис. 2). Таким образом, деструктивные изменения имеют дозозависимый характер, и значит, существует диапазон доз, для которого этими изменениями можно пренебречь – при облучении дозой 200 мДж/см<sup>2</sup> средняя интенсивность триптофанового пика снижается на 3 %, что не превышает случайного разброса данных. Дополнительные исследования, которые мы провели на культурах клеток, подтвердили, что излучение 248 нм небезопасно для них [11]. Однако при дозе облучения менее 200 мДж/см<sup>2</sup> клетки оста-

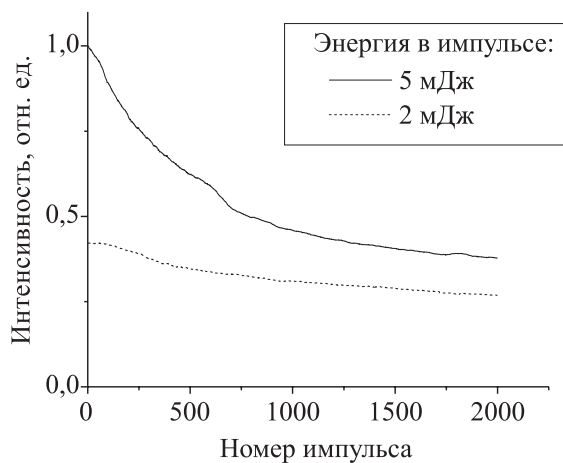


Рис. 2. Интенсивность ЛИФ поперечно-полосатой мышцы свиньи на длине волны 330 нм в зависимости от номера импульса лазерного излучения (сплошная линия – энергия в импульсе 5 мДж и пунктирная линия – 2 мДж)

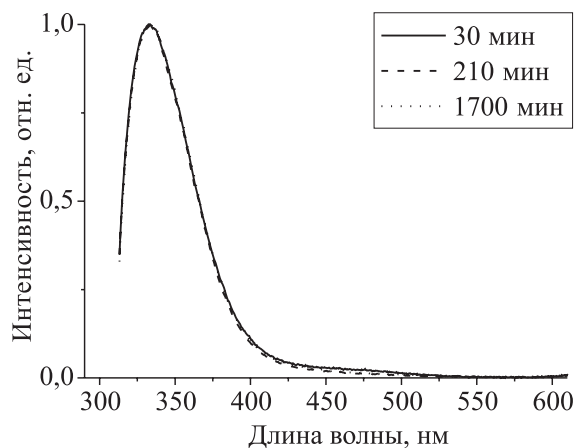


Рис. 3. Спектры среза миокарда свиньи после указанного периода хранения в физиологическом растворе

ются жизнеспособными, а происходящие в них изменения в основном носят обратимый характер. Таким образом, если не превышать критическую дозу облучения, ЛИФ может использоваться для диагностики биологических тканей.

Еще один важный параметр, необходимый для адекватной интерпретации данных диагностики, это глубина проникновения излучения в биологическую ткань. Измерения показали, что для миокарда она составляет 50 мкм. Иначе говоря, диагностическая информация собирается только с поверхностного слоя.

Чтобы выяснить возможность использования флуоресценции для определения жизнеспособности миокарда, исследовали его спектры ЛИФ в процессе хранения образцов. Измерения проводили со стороны эпикарда, эндокарда и со среза миокарда. В первых двух случаях достоверной динамики обнаружено не было, так как на этих поверхностях присутствует достаточно толстый слой относительно стабильной соединительной ткани, флуоресценция которой мало меняется с течением времени. Поэтому для определения состояния миокарда необходимо было исследовать непосредственно сердечную мышцу, делая ее срезы.

В спектрах ЛИФ среза миокарда (рис. 3) доминирует полоса с максимумом 330 нм. При наблюдении множества образцов сравнение абсолютных интенсивностей затруднительно, поскольку на них влияет множество неконтролируемых факторов – геометрия системы, форма поверхности, увлажнение и пр., и для реальной диагностики отрицательно сказывается на достоверности полученных данных. Потому спектры нормировали на интенсивность полосы флуоресценции триптофана, что позволило сравнивать формы спектров. Оказалось, что в процессе хранения происходит изменение интенсивности флуоресценции в области 400–500 нм, которое слабо заметно на фоне мощного триптофанового пика. Для наблюдения упомянутой полосы необходима высокая точность измерений, которая и была достигнута (рис. 4), ошибка среднего не превышала 0,003 отн. ед. для каждой точки спектра. Всего были исследованы 30 сердец, измерения проводили двумя способами:

1. Готовили образец ткани, фиксировали на предметном столике и при комнатной тем-

пературе исследовали во времени динамику его спектра ЛИФ. Так можно проследить, как изменяются характеристики отдельного фрагмента ткани, при этом в течение одной серии измерений не возникает разброса данных, вызванного индивидуальными характеристиками образцов.

2. Сердце хранили при 4 °С, и для каждого измерения готовили новый образец. В таком режиме моделируется хранение сердца как целого, поскольку фрагмент миокарда отделяется непосредственно перед измерением,

На рис. 5 представлена относительная интенсивность полосы 400–500 нм для отдельного образца среза миокарда в зависимости от срока хранения. Видно, что в течение первых двух часов интенсивность флуоресценции снижается и впоследствии остается постоянной. Для остальных образцов динамика была сходной, однако скорость изменения спектра варьировала: иногда время снижения интенсивности доходило до 8 ч, и наоборот, в некоторых случаях с самого начала интенсивность полосы 400–500 нм находилась на «низком» уровне и во времени не менялась. Таким образом, у каждой конкретной сердечной мышцы начальное состояние индивидуально, впрочем, как и скорость процессов деградации.

Измерения спектров различных образцов одного и того же сердца показали, что и они могут отличаться. На рис. 6 представлено распределение по интенсивностям полосы 400–500 нм различных образцов миокарда одного сердца. Видно, что с самого начала существуют образцы с разной интенсивностью в диапазоне 0,01–0,05. В сердце, хранившемся 4 ч, также существуют образцы с разной интенсивностью в том же диапазоне. Однако с течением времени максимум распределения смещается в сторону уменьшения интенсивности. Значит, в среднем имеется динамика такая же, как и для отдельного образца, наблюдаемого непрерывно: снижение во времени интенсивности полосы 400–500 нм.

Закономерно возникает вопрос, связаны ли спектральные изменения в процессе сохранения тканей с потерей жизнеспособности. То, что это так, показало сравнение спектров с результатами исследования тканей с помощью клинических гистофлуоресцентных методик [12]. Этот эксперимент также проводили с отдельными образцами, и оказа-

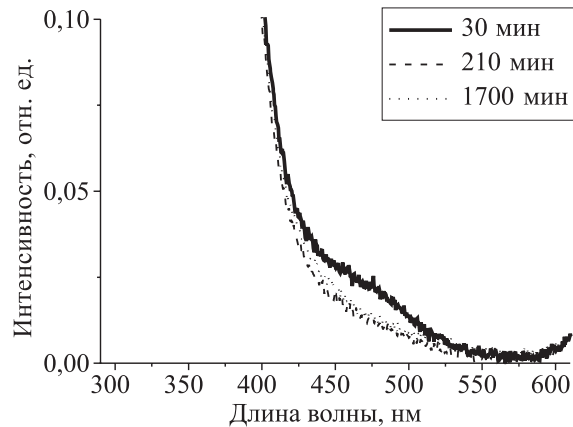


Рис. 4. Спектры среза миокарда свиньи после указанного периода хранения в физиологическом растворе (увеличенный фрагмент полосы 400–500 нм)

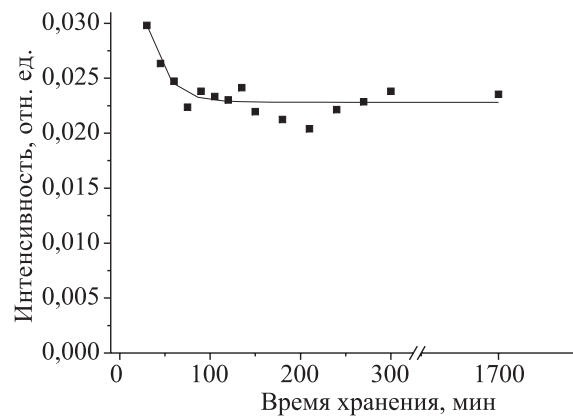


Рис. 5. Интенсивность флуоресценции миокарда свиньи в полосе 400–500 нм в зависимости от срока хранения

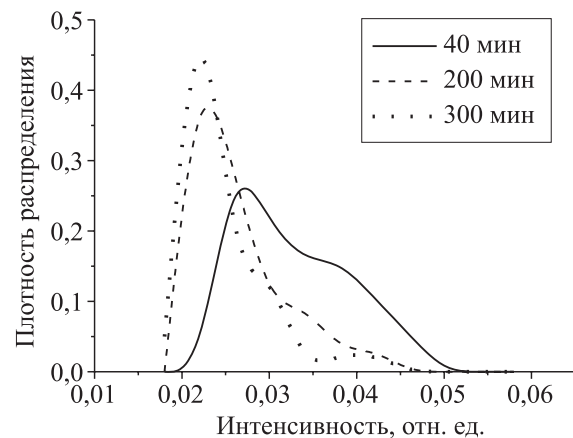


Рис. 6. Распределение образцов миокарда по интенсивности ЛИФ в полосе 400–500 нм после указанного периода хранения

лось, что характерное время изменения спектра согласуется с результатами определения уровня тканевого дыхания, ионов кальция, фрагментации ДНК.

Таким образом, можно сделать вывод, что снижение жизнеспособности миокарда в процессе хранения в физиологическом растворе приводит к характерному изменению его спектра ЛИФ. Однако начальный уровень жизнеспособности индивидуален у каждого конкретного сердца, и изменения в нем происходят неравномерно во времени и зависят от локализации исследуемого участка.

Чтобы установить характер неоднородности ЛИФ, получили изображения флуоресценции ткани с использованием фильтров, пропускающих полосу флуоресценции триптофана (поскольку яркость флуоресцен-

ции триптофана велика, использовали бесцветное стекло) и изменяющийся во времени «хвост» (использовали фильтр, пропускающий свет с длиной волны от 400 нм и выше). Для этих экспериментов использовали сердца крыс, измерения проводили как со стороны эпикарда, так и со стороны среза.

Исследования показали, что в триптофановой области спектра поверхность и эпикарда, и среза флуоресцирует равномерно, и со временем эта картина не меняется (рис. 7). При использовании второго фильтра обнаружено, что постепенно поверхности начинают флуоресцировать неравномерно (рис. 8). Это заметно даже при наблюдении эпикарда, поскольку у крысиного сердца он достаточно тонкий и излучение может проникнуть сквозь него.

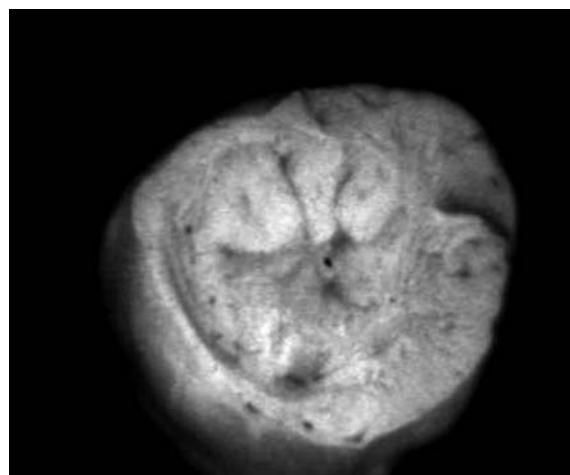
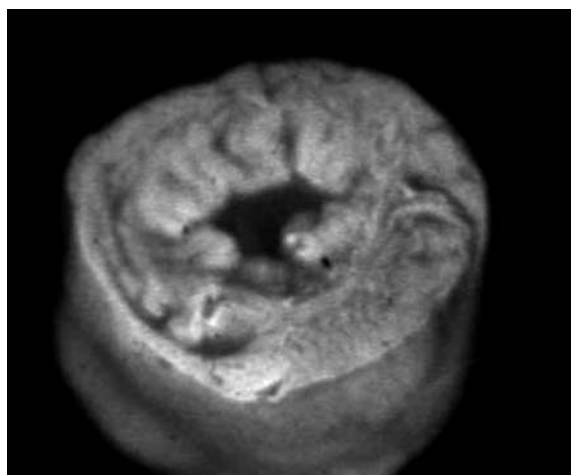


Рис. 7. Изображение флуоресценции среза миокарда крысы в полосе 300–1 000 нм спустя 5 и 250 мин после резекции

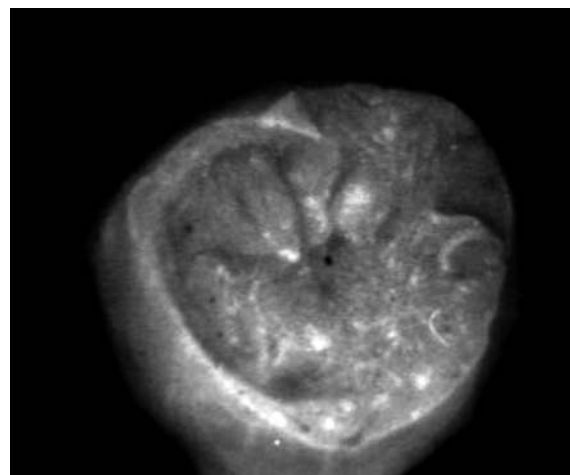
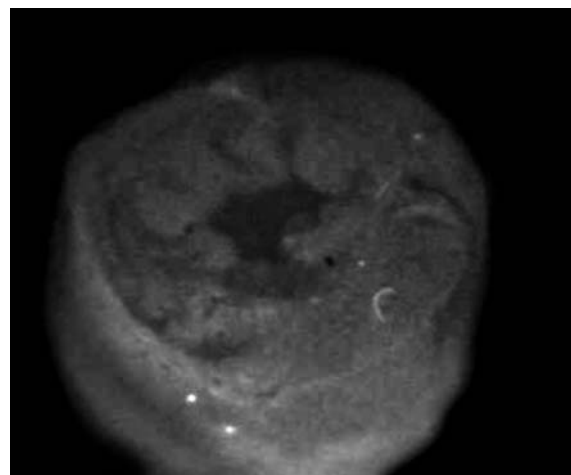


Рис. 8. Изображение флуоресценции среза миокарда крысы в полосе 400–1 000 нм спустя 5 и 250 мин после резекции

## Обсуждение

Наше исследование показало, что коротковолновое УФ излучение перспективно для медицинской диагностики. Оно в определенных дозах безвредно и при этом эффективно возбуждает флуоресценцию биологических тканей.

Результаты подтвердили, что ЛИФ может использоваться для определения уровня жизнеспособности тканей. Известно, что миокард остается жизнеспособным в течение приблизительно 4 часов хранения в физиологическом растворе при температуре +4 °С [13]. Если использовать различные сохраняющие растворы, это время может быть увеличено. Однако из-за индивидуальных особенностей (строения, морфологии, разной интенсивности метаболических процессов) это время может сильно варьировать от случая к случаю. Более того, электрофизиологические исследования показывают, что даже различные отделы миокарда «умирают» по-разному [14].

Все вышеперечисленное согласуется с результатами данного исследования. Выяснено, что характер флуоресценции миокарда зависит от его состояния: хранение в физиологическом растворе и сопутствующее снижение жизнеспособности миокарда приводит к изменению его спектра ЛИФ. Сегодня известно несколько флуоресцирующих молекулярных групп, присутствующих в биологических тканях: аминокислоты (триптофан, тирозин и фенилаланин), флавинаденин-динуклеотид, никотинамидаденин-динуклеотид (NADH), пиридоксин, липопигменты, поперечные связи между мономерами коллагена и эластина [15]. При возбуждении излучением с длиной волны 248 нм основной вклад в флуоресценцию миокарда вносит триптофан, благодаря ему в спектре присутствует пик с максимумом 330 нм. На его фоне в процессе хранения отслеживаются относительно небольшие изменения в области 400–500 нм. Из флуорофоров, участвующих в метаболизме клеток, в данном спектральном интервале флуоресцирует только NADH. Максимум поглощения NADH приходится на 340 нм, максимум излучения на 450 нм [15]. Повышенная концентрация NADH говорит о снижении производства АТФ, например вследствие кислородного голодания клетки или нарушения

метаболизма. С помощью мониторинга флуоресценции NADH возможен контроль состояния трансплантата во время операции [16]: нарушения в дыхательной цепи приводят к быстрому и заметному возрастанию уровня NADH и, соответственно, интенсивности флуоресценции. Однако маловероятно, что изменения спектра ЛИФ миокарда при возбуждении излучением с длиной волны 248 нм вызваны этим флуорофором. Мы показали [17], что в процессе хранения ткани динамика флуоресценции NADH имеет несколько другой характер: при возбуждении излучением с длиной волны 337 нм наблюдается плавное снижение интенсивности флуоресценции в течение 6 часов в отличие от достаточно резкого, в течение часа, изменения в нашем случае. К тому же спектральный интервал 400–500 нм, в котором происходят изменения при возбуждении флуоресценции 248 нм лазером, шире, чем полоса флуоресценции NADH. Поэтому можно утверждать, что в спектре ЛИФ миокарда присутствует излучение другого флуорофора, который пока не удалось установить.

Тем не менее, характерное время изменения спектра совпадает со временем, которое показывают методы, использующие флуоресцентные красители, а также со временем, определенным эмпирически, в течение которого сердце признается пригодным для пересадки. В отличие от гистохимической диагностики, требующей подчас нескольких часов для получения необходимых данных, ЛИФ измерения могут быть сделаны за секунды, и хотя ответственный за наблюдаемые спектральными изменениями флуорофор пока не установлен, можно утверждать, что ЛИФ может быть использована для контроля жизнеспособности миокарда. Поскольку диагностическую информацию несут только измерения из толщи ткани, то для клинического применения нужен прибор, в котором для доставки излучения и сбора флуоресценции используется световодный зонд, например в виде иглы, вводимый в глубину ткани, и так как спектральные изменения происходят неравномерно внутри сердца, для получения адекватной информации необходимо множество измерений, которые могут быть проведены даже в течение одного прокола, если регистрирующая система будет собирать данные непрерывно, пока зонд проникает в ткань.



Данные результаты были получены, поскольку излучение 248 нм вызывает свечение флуорофоров, не возбуждающихся излучением с большей длиной волны. Возможно, что медицинская диагностика с использованием коротковолнового УФ-излучения перспективна не только для определения жизнеспособности тканей и найдет применение в других областях, где использование ближнего УФ, видимого и ИК-излучения, а также прочих методов не дало результатов.

### Список литературы

1. Демченко П. Люминесценция и динамическая структура белков. Киев, 1988.
2. Larionov P. M., Malov A. N., Maslov N. A. et al. Influence of mineral components on laser-induced fluorescence spectra of calcified human heart-valve tissues // *Applied Optics*. 2000. Vol. 39. No. 22. P. 4031–4036.
3. Morguet A. J., Gabriel R. E., Buchwald A. B. et al. Single-laser approach for fluorescence guidance of excimer laser angioplasty at 308 nm: evaluation in vitro and during coronary angioplasty // *Lasers Surg. Med.* 1997. Vol. 20. P. 382–393.
4. Фомичев Н. Г., Петренко П. П., Фаламеева О. В. и др. Лазерно-индуцированная флюоресценция как метод диагностики остеопороза при переломах грудных и поясничных позвонков // *Хирургия позвоночника*. 2004. № 3. С. 53–59.
5. Ларионов П. М., Субботин Д. В., Боярских У. А. и др. Динамика изменений спектральных характеристик лазерно-индуцированной флюоресценции (диагностической нанотехнологии) на этапах биотехнологии ацеллюлярного клапансодержащего графта аорты кролика (модель гомографта) // *Медицинская консультация*. 2004. Т. 45, № 4. С. 18–22.
6. Hyde J. A. J., Rooney S. J., Pitt M. P. I. et al. Immunohistochemical identification of complement membrane attack complex and subclinical ischemia in donor hearts // 12<sup>th</sup> Annual Meeting of the EACTS, 1998.
7. Novak K. US FDA to issue new rules of xenotransplantation // *Nature Medicine*. 1998. Vol. 4.
8. Gott J. P., Pan-Chih, Dorsey L. M. et al. Calcification of porcine valves: a successful new method of antimineralization // *Ann. Thorac. Surg.* 1992. Vol. 53 (2). P. 207–215.
9. Marcu L., Grundfest W. S., Maarek J. M. Photobleaching of arterial fluorescent compounds: characterization of elastin, collagen and cholesterol time-resolved spectra during prolonged ultraviolet irradiation // *Photochemistry and Photobiology*. 1999. Vol. 69. P. 713–721.
10. Larionov P. M., Malov A. N., Maslov N. A. et al. The effect of UV radiation dose on biological tissues' laser-induced fluorescence spectra // *Proceedings of SPIE*. 2003. Vol. 5474. P. 385–388.
11. Fatyukhina O. E., Kolokoltsova T. D., Troshkova G. P. et al. The approaches to developing a new method to control the viability of cells and tissues using laser – induced fluorescence, the study of the UV-radiation effect on native tissues and cells // XII International Conference on the Method of Aerophysical Research, Novosibirsk, Russia. 23 June – 3 July 2004: Proceedings. Novosibirsk, 2004. Part 4.
12. Ларионов П. М., Малов А. Н., Мандрик М. М. и др. Исследование изменения спектра лазерно-индуцированной флюоресценции ткани миокарда по мере снижения ее жизнеспособности // *Журнал прикладной спектроскопии*. 2003. Т. 70, № 1. С. 38–42.
13. Онищенко Н. А. Трансплантология: Руководство / Под ред. В. И. Шумакова. М.: Медицина, 1995.
14. Мандрик М. М., Туров А. Н., Ларионов П. М. и др. Исследование электрофизиологического состояния донорского сердца перед трансплантацией (экспериментальная работа) // *Вестн. аритмологии*. 2005. № 40. С. 59–63.
15. Wagnieres G. A., Star W. M., Wilson B. C. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications // *Photochem. and Photobiol.* 1998. Vol. 68. P. 603–632.
16. Mayevsky A. et al. Real time monitoring of intraoperative allograft vitality // *Transplantation Proceedings*. 2000. Vol. 32. P. 684–685.
17. Фомин В. М., Караськов А. М., Ларионов П. М. и др. Определение жизнеспособности миокарда по его спектру лазерно-индуцированной флюоресценции // *Докл. Академии наук*. 2003. Т. 391. С. 296–298.