

УДК 618.19-006.6-091.8-073.524

С. В. Пушкарев, С. А. Наумов, С. М. Вовк, Е. С. Смольянинов,
В. В. Удут

(Новосибирск – Томск)

СПЕКТРОСКОПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ (ОБЗОР)

Обсуждаются вопросы применения методов флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения для решения диагностических задач в медицине. Показано, что основные вещества, отвечающие за характер спектров, находятся в сосудистом русле изучаемых объектов.

Проблема диагностики злокачественных опухолей (особенно минимальных размеров) является одной из самых актуальных задач современной медицины. В последнее время для ее решения исследователи применяют различные оптические методы: флуоресцентную спектроскопию, спектроскопию диффузного отражения, комбинационное рассеяние и некоторые другие [1–10]. Все это стало возможным благодаря значительным успехам в развитии современной оптоэлектронной техники [11]. Вместе с тем попытка решения данной проблемы с помощью перечисленных способов поставила перед исследователями ряд вопросов: как корректно, с учетом современных медико-биологических знаний интерпретировать результаты спектроскопических исследований; влияют ли гистологические особенности опухолевой ткани на характер спектров; действительно ли возможна ранняя диагностика злокачественных новообразований; какой из спектральных методов регистрирует метаболические особенности, а какой – морфологическую структуру исследуемых тканей и т. д.

Флуоресцентная спектроскопия. В конце 80-х – начале 90-х годов наибольшее внимание из оптических методов диагностики рака было уделено методу лазерной флуоресцентной спектроскопии. С помощью флуоресцентного метода определяется большой спектр веществ, находящихся в организме человека. Флуоресценция живых тканей в УФ-области спектра определяется в основном аминокислотами, входящими в состав белков: триптофаном, тирозином, фенилаланином [12–14]. Триптофану присущи две полосы поглощения в области 280 и 218 нм. Даже малое содержание этой аминокислоты в белке существенно влияет на характер его спектра. Максимум флуоресценции триптофана находится в области 350 нм, максимум спектра поглощения тирозина – на отметке 222 и 275 нм, а максимум флуоресценции – в диапазоне 303–304 нм. Для фенилаланина максимум поглощения располо-

жен на $\lambda = 257$ нм, а основной максимум в спектре флуоресценции соответствует 282 нм. При наличии в белке всех перечисленных аминокислот в суммарном спектре флуоресценции преобладает люминесценция триптофана.

В красной области спектра флуоресцируют порфириновые соединения: одна наиболее интенсивная полоса – в области 600–650 нм, другая менее интенсивная – в более длинноволновой области [13–15]. Порфирины являются частью молекулы гемоглобина, обнаруживаются в небольших количествах в плазме крови и эритроцитах. Благодаря этому, эритроциты обычно очень слабо люминесцируют красным светом. При недостатках железа и других патологических состояниях красная флуоресценция крови возрастает в сотни раз [14, 15].

Другими веществами, флуоресцирующими в видимой части спектра, являются никотинамидадениндинуклеотидфосфаты (НАД·Н и НАДФ·Н) и флавинопротеиды (ФлП). Данные вещества участвуют в процессах тканевого дыхания, поэтому практически любые, порой незначительные сдвиги в дыхательной цепи отражаются на динамике их люминесцентных свойств. НАД·Н имеет полосы поглощения в области 260 и 340 нм и спектр флуоресценции с максимумом в интервале 455–480 нм. Среди флавинопротеидов прежде всего производные рибофлавина флуоресцируют в области с максимумом 530 нм.

Подходы к флуоресцентной диагностике злокачественных опухолей [16, 17] основаны на особенностях их дыхания [18], нарушениях в строении сосудов [19] и изменениях citoархитектоники эритроцитов [20, 21].

В таком варианте, если бы особенности обмена веществ злокачественных опухолей представляли собой специфические характеристики, то, возможно, данный вид диагностики мог быть оптимальным. Но, к сожалению, полученные результаты и в эксперименте, и в клинике подтвердили некоторую несостоятельность метода флуоресцентной диагностики. Так, исследование спектров лазерной флуоресценции экспериментальных моделей опухолей позволило выявить некоторые характерные для них особенности спектров, полученные при облучении образцов тканей аргоновым лазером ($\lambda = 488$ нм) (рис. 1). Главные максимумы спектров опухоли простаты крысы

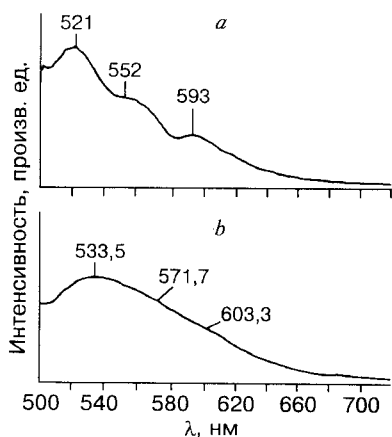


Рис. 1. Спектры флуоресценции опухоли простаты крысы (а) и нормальной простаты (b)

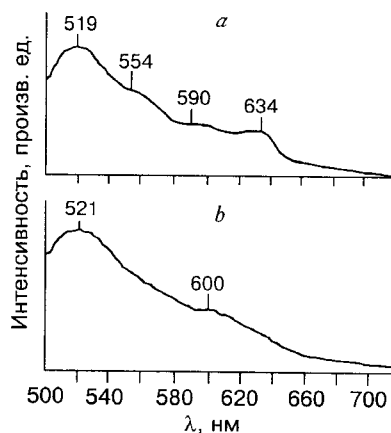


Рис. 2. Спектры флуоресценции опухолей кишки крысы (а) и мыши (b)

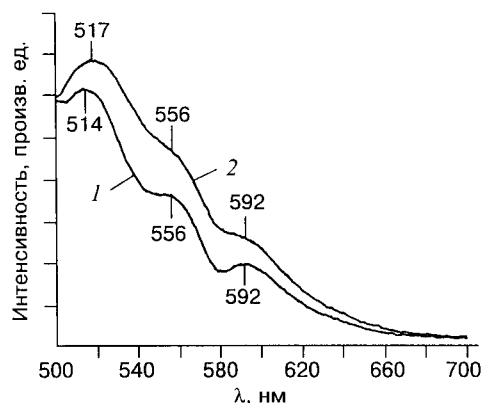


Рис. 3. Спектры флуоресценции ткани МЖ: 1 – нормальная ткань; 2 – опухоль, возбужденная волной 488 нм

(а) и нормальной простаты (b) были зафиксированы в точках 521 и 533,5 нм. Спектр опухоли простаты имеет два дополнительных максимума в области 552 и 593 нм. Для нормальной ткани такие максимумы не обнаружены [6].

Спектр флуоресценции опухоли кишки крысы характеризуется четырьмя пиками: 519, 554, 590 и 634 нм (рис. 2, а), а спектр опухоли кишки мыши имеет два пика – в области 521 и 600 нм (рис. 2, b) [6]. Исследование спектров флуоресценции биоптатов ткани молочной железы (МЖ) человека позволило выявить следующие их особенности: у злокачественно измененной ткани зафиксирован пик в области 517 и 556 нм (рис. 3), причем первый пик сдвинут по сравнению со здоровым участком ткани на 3 нм в красную область спектра. Сглаживание у опухолевой ткани пика в области 592 нм по сравнению со здоровым участком ткани МЖ обусловлено снижением содержания флуорофоров, особенно порфиринов [7]. Исследование спектров флуоресценции опухолей МЖ другими авторами позволило выявить наличие пиков еще и в области 630 нм [22].

Принимая во внимание, что опухолевая ткань представляет собой совокупность стромального и клеточного компонентов и учитывая, что специфическая терапия купирует присутствующее воспаление и выражено влияет на строму (приводя к росту соединительной ткани на местах облитерированных сосудов), предположительной причиной уменьшения флуоресцентных различий между нормальной и патологически измененной тканью следует считать снижение васкуляризации искомого очага. В свою очередь, повышенная чувствительность сосудистого русла опухолевой ткани к специфическим видам терапии определяется давно доказанными особенностями его строения. Так, известно, что сосуды опухолево-измененной ткани либо не имеют мышечной и адвентициальной оболочек, либо эти оболочки имеют определенные дефекты [19]. С учетом этого можно ожидать, что немаловажная часть массива субстратов, ответственных за флуоресценцию, локализована в циркулирующей крови.

В работе [5] показано, что уровень флуоресценции собственно опухолевой ткани значительно выше в диапазоне 650–670 нм, что соответствует флуоресценции порфиринов и их дериватов (рис. 4). Химио- и лучевая терапия ведут к снижению уровня флуоресценции эндогенных флуорохромов. С целью усиления собственной флуоресценции для диагностики РМЖ предло-

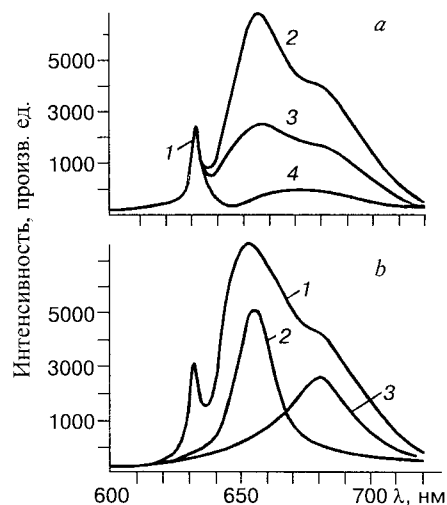


Рис. 4. Аутофлуоресцентные спектры рака губы: *a*: 1 – лазерный пик; 2, 3 – центр и границы опухоли; 4 – уровень флуоресценции нормальных тканей; *b*: 1 – лазерный пик; 2 – уровень флуоресценции над опухолью; 3 – уровень флуоресценции на границе с нормальными тканями

жены методы введения в организм экзогенных флуорохромов: фотофрина, фотосана и других [2].

Флуоресцентный способ диагностики очень чувствительный, и даже изменение степени кровенаполнения оказывает существенное влияние на вид спектров флуоресценции. На рис. 5 показаны спектры флуоресценции кожи *in vivo* в результате последовательного УФ-облучения с интервалом 5 мин на фоне возникновения эритемы [23]. Видно, что степень кровенаполнения ткани выражено влияет на интенсивность и характеристики ее флуоресценции, а это, в свою очередь, доказывает возможность «регулирования» спектрами флуоресценции с помощью фармакологических вазоактивных веществ [24].

Таким образом, высокая чувствительность метода флуоресцентной диагностики опухолей позволяет надеяться на его перспективность, но отсутствие четких и конкретных представлений о специфических отличиях обменных процессов в злокачественно трансформированных тканях и обилие приходящих моментов, выражено влияющих на интенсивность флуоресценции (в том числе и нестабильное кровенаполнение ткани), свидетельствуют о преждевременности использования метода в клинической практике. Вероятным выходом из сложившегося положения может явиться формирование базы данных по спектрам флуоресценции при различных типах опухолевого процесса и различных условиях жизнедеятельности макроорганизма.

Спектроскопия диффузного отражения. В последнее время из оптических методов исследования биоптатов большое внимание уделяется методам спектроскопии диффузного отражения. Большинство исследований в этой области выполнено на образцах тканей и жидкостей *in vitro*. Биоткани представляют собой слабо поглощающие и сильно рассеивающие среды. По показателям диффузного отражения и пропускания определяются такие важные величины, как степень окисления гемоглобина. Кроме того, по данным [4] можно определять концентрацию тотального гемоглобина, холестерина, белка, сахара и т. д. Предпринимаются попытки дифференцировать ткани

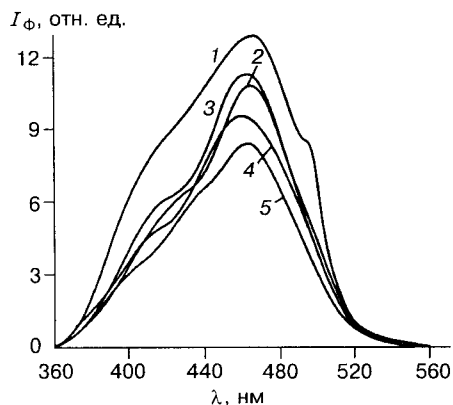


Рис. 5. Последовательные аутофлуоресцентные спектры кожи *in vivo* (кривые 1–5)

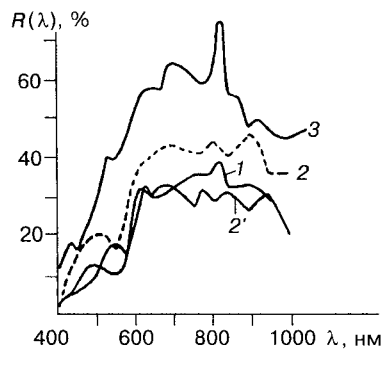


Рис. 6. Спектры диффузного отражения $R(\lambda)$ для различных образцов МЖ: раковые опухоли (1–3), нормальная ткань (2')

больных РМЖ (рис. 6). Спектры диффузного отражения злокачественно измененных тканей по данным ряда авторов [4, 25] содержат наиболее полезную информацию в диапазоне от 400 до 1000 нм. Интерес к области спектра от 600 до 1000 нм обусловлен высоким коэффициентом пропускания биологических тканей, а основным компонентом, ответственным за наблюдаемые спектральные зависимости, является гемоглобин крови, заключенный в эритроцитах [26].

Так как биологическая ткань является многослойной структурой, состоящей из многих поверхностей раздела сред, а оптические свойства этих поверхностей различны, то отражение излучения в исследуемом объеме тканей имеет свойства диффузного и зеркального. Взаимодействуя с тканью, излучение рассеивается на центрах неоднородностей, каковыми могут быть ядра клеток. Хорошо известным фактом является то, что в зависимости от степени малигнизации увеличивается и степень атипичности, т. е. разброса в размерах клеток и их ядер [27], а значит, может изменяться отношение показателей преломления ядро/цитоплазма. При опухолевом росте также меняется соотношение эпителия и стромы, что должно сказаться на оптических свойствах тканей. Примерами, подтверждающими высказанные предположения, являются экспериментальные данные, полученные в [28, 29]. На рис. 7 показаны спектры отражения аденокарциномы желудка при переходе от нормального участка к центру опухоли. Хорошо видно, как в красной области спектра начинается крутой подъем, связанный с усилением кровообращения в опухоли, и два пика меньшей интенсивности в районе 500–520 нм и 575 нм. Авторы

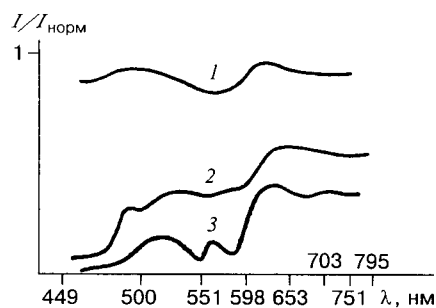


Рис. 7. Изменение спектров отражения патологического участка ткани (низкодифференцированная аденокарцинома) при переходе от края патологии (1) к ее центру (3). Спектры нормированы на спектр отражения нормального участка той же ткани

отмечают, что появление этих особенностей в спектре соответствует определенным видам злокачественных новообразований. По сути дела, полученные различия в спектрах отражения изучаемых участков слизистой желудка представляют собой эффект изменения соотношения стромы и собственно ткани. Конечно, при этом следует учитывать и феномен кровенаполнения, а именно присутствие в сосудистом русле жидкостного компонента, содержащего значительное количество окси- и редуцированного гемоглобина. И хотя гемоглобин представляет собой субстрат, ответственный за немаловажную часть полученных спектральных характеристик, в основе зарегистрированных различий лежит именно изменение соотношения строма/ткань.

В этом плане еще более убедительны эксперименты, выполненные *in vivo* [28, 30]. Пусть они не касаются собственно диагностики злокачественно трансформированных тканей, но зато полностью подтверждают предположение о том, что и в спектрах поглощения немаловажную роль играет соотношение строма/ткань. Кожа как объект для исследования спектров отражения *in vivo* является наиболее удачной. Коэффициент отражения кожи определяется содержанием в ней хроматофоров: меланина, сильно поглощающего свет практически во всем диапазоне, и гемоглобина, имеющего характерные полосы поглощения в спектральных областях 420 и 545–575 нм. Существенный вклад в состав рассеянного кожей света дает коллаген, содержащийся в дерме и подкожно-жировой клетчатке.

На рис. 8 приведены спектры отражения нормального участка кожи и гиперемизированного, т. е. видно, как гиперемия усиливает поглощение света, давление на кожу приводит к увеличению коэффициентов отражения в области спектра от 540 до 575 нм [30]. Таким образом, использование методологии активного эксперимента путем воздействия на сосудистое русло кожи вызывает выраженные изменения в спектрах диффузного отражения. Данные изменения хорошо моделируются с помощью математических методов.

Достаточно убедительны в диагностическом плане работы, демонстрирующие выраженные отличительные признаки в спектрах диффузного отражения целого ряда тканей [31]. С целью изучения оптических свойств внутренних органов были исследованы оптические характеристики модели ткани *in vitro*, состоящей из нескольких слоев: кожа – мышца – печень, кожа – мышца – легкое, кожа – мышца – мышца. Исследования проведены в диапазоне 600–800 нм, где пропускание света биологических тканей наиболее вы-

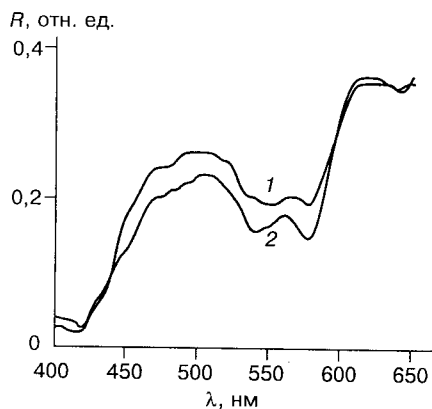


Рис. 8. Спектры отражения нормального участка кожи (1) и участка кожи с эритемой (2)

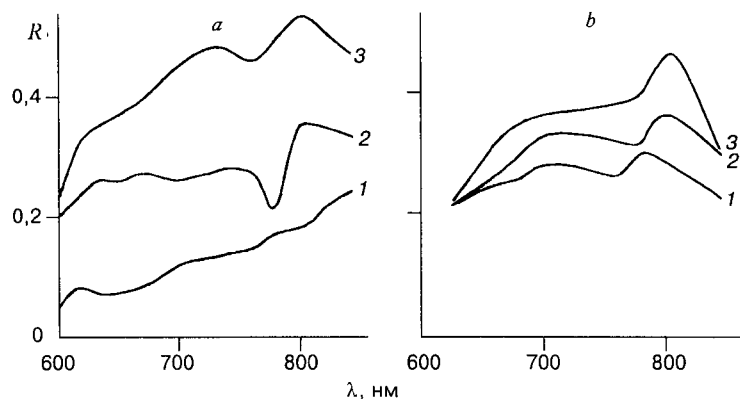


Рис. 9. Спектральные зависимости коэффициентов диффузного отражения одно- и многослойных биологических тканей: *a*: 1 – печень, 2 – мышечная ткань, 3 – легкое ($l_1 = 1$ см); *b*: 1 – мышечная ткань с кожей + легкое, 2 – мышечная ткань с кожей + мышечная ткань, 3 – мышечная ткань с кожей + печень ($l_{\text{общ}} = 2$ см, $l_1 = 1$ см)

соко (рис. 9). Однако, несмотря на определенные достоинства такой экспериментальной методики, полученные данные не всегда совпадали с результатами расчетов, а самое главное – представляется затруднительной реализация такого метода диагностики на практике.

Интересны результаты работ по изучению спектров диффузного отражения образцов тканей МЖ [1]. Так, в диапазоне 420–950 нм было показано, что в спектральной области 450–580 нм коэффициент диффузного отражения для раковых опухолей существенно превышает (в 1,5–3 раза) значения данного коэффициента для нормальных тканей (рис. 10). В области спектра, превышающей 600 нм, абсолютные значения коэффициента отражения для раковых и нормальных тканей сопоставимы по величине. При длине волны более 850–900 нм коэффициент пропускания злокачественных тканей на 80 % больше, чем нормальных, что, безусловно, имеет практическое значение. Наблюдаемые закономерности авторы объясняют различным содержанием гемоглобина в опухоли и нормальной ткани, большей диоксигенацией опухолей по сравнению с нормальными тканями, а также энергетическими осо-

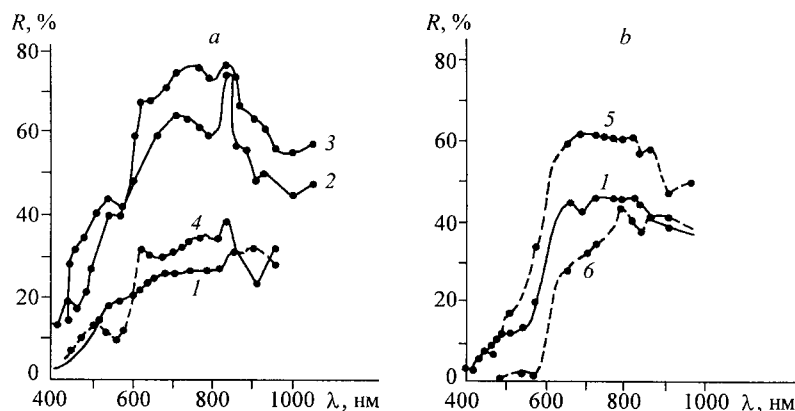
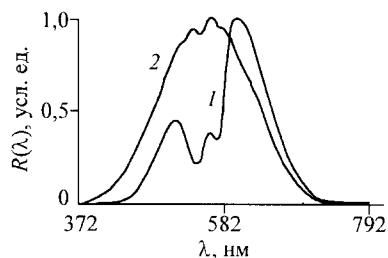


Рис. 10. Спектральные зависимости коэффициентов отражения R : *a* – для раковых опухолей МЖ (кривые 1–4), *b* – для нормальных тканей МЖ (кривые 1, 5, 6)

Рис. 11. Спектры диффузного отражения здорового участка (кривая 1) и опухоли (кривая 2)



бенностями опухолевой ткани, выраженными в изменении соотношений ферментов дыхательной цепи. На основе полученных результатов и приведенных выше предположений о ключевых моментах соотношения

стромы и клеточного состава при формировании различий в спектрах отражения нормальных и патологически измененных тканей МЖ изучены диагностические возможности метода регистрации и анализа спектров диффузного отражения. Вряд ли подлежит сомнению, что спектры диффузного отражения содержат интегральные характеристики взаимодействия света и ткани и, следовательно, в приближенном варианте демонстрируют строение изучаемого объекта [30, 31].

Созданная установка, представляющая собой источник светового излучения широкого спектра, световоды и фотоприемник, позволила снимать, регистрировать и анализировать информацию о данных спектральных характеристик диффузного отражения в диапазоне длин волн 450–800 нм.

На рис. 11 показан типичный спектр диффузного отражения биоптата, взятого из участков опухолевой и нормальной тканей МЖ. Исследования, выполненные *in vitro*, позволили установить следующее: профили спектров диффузного отражения злокачественно трансформированной ткани существенно отличаются от профилей спектров здоровых ее участков. Специфическим видом спектров диффузного отражения является двухпиковый профиль с выраженным повышением интенсивности отражения в областях 500 и 600 нм и характерным умеренно выраженным «провалом» в области 550 нм. Для нормальной ткани вышеуказанный «провал» интенсивности отражения более глубокий и обусловлен прежде всего полосой поглощения гемоглобина циркулирующей крови.

Исследование спектров диффузного отражения через оптический зонд во время проведения диагностической пункционной биопсии *in vivo* позволило установить высокую степень различия опухоли и нормальной ткани МЖ. Несмотря на определенные достоинства метода, использование разработанного устройства в случае прижизненной спектральной оценки состояния тканей МЖ приводило к значительному числу диагностических ошибок, в ряде случаев превышающих 15 % (рис. 12, а). Дальнейшие исследования позволили сформировать методические приемы повышения чувствительности и, следовательно, диагностической эффективности этого способа оценки состояния тканей МЖ [24, 32]. Применение функциональных проб с вазоактивными веществами, предвещающих регистрацию спектров диффузного отражения, привело к снижению числа диагностических ошибок до 6 % (рис. 12, б).

Таким образом, исследования показали принципиальную возможность использования оптоэлектронных методов в процедурах прижизненной диагностики состояния тканей.

Вместе с тем для повышения эффективности диагностики опухолей методами оптической спектроскопии, а главное для создания перспектив их широкого внедрения в клиническую практику следует направить усилия на

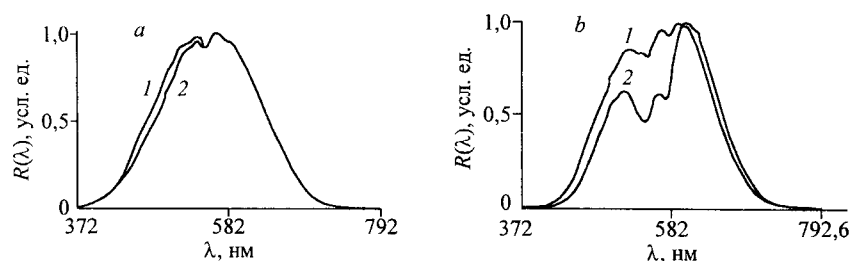


Рис. 12. Спектры диффузного отражения до пробы с адреналином (а) и после пробы (б) злокачественных опухолей (кривые 1) и нормальных тканей (кривые 2)

создание спектроскопической базы данных *in vivo* (по видам патологического процесса – воспаление, пролиферация, дегенерация; по типам нормальной ткани – с учетом возраста и т. д.), а также базы данных спектров различных участков ткани МЖ.

Авторы выражают благодарность академику РАМН Н. В. Васильеву, канд. физ.-мат. наук В. И. Петрову (ГОИ им. С. И. Вавилова) и профессору В. П. Сметанникову (НИКИЭТ) за участие в обсуждении данной темы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Королевич А. Н., Олейник Т. В., Севковский Я. И., Хайруллина А. Я. Особенности спектров диффузного отражения и пропускания нормальных и опухолевых тканей // Журн. прикл. спектроскопии. 1993. 58, № 5–6. С. 555.
2. Норманский В. Е. Перспективы использования фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики при раке молочной железы // Маммология. 1993. № 2. С. 38.
3. Полсачев В. И., Лазарев В. В., Степаняц Г. Р. и др. Возможности применения флуоресцентного анализа в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы // Там же. № 3. С. 30.
4. Хайруллина А. Я., Олейник Т. В., Буй Л. М. и др. Банк данных по оптическим и биофизическим свойствам крови биотканей и биожидкостей в видимой и ближней ИК-областях спектра // Оптический журн. 1997. 64, № 3. С. 34.
5. Шенталь В. В., Пачес А. И., Лощенов В. Б. Аутофлуоресцентная диагностика злокачественных опухолей головы и шеи // Вестник АМН. 1996. № 1. С. 13.
6. Пат. 4930516 США. Метод определения раковой ткани с помощью видимого естественного свечения /R. Alfano. Оpubл. 05.06.90.
7. Alfano R. R., Tang G. C., Pradan A. et al. Shoy and elana opher fluorescence spectra from cancerous and normal human breast and lung tissues // IEEE J. Quantum Electron. 1987. QE-23. P. 1806.
8. Пушкарев С. В., Наумов С. А., Вовк С. М., Воловоденко В. А. Оптический комплекс для диагностики патологических состояний ткани молочной железы *in vivo* // Автометрия. 1998. № 6. С. 109.
9. Барабой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. 1991. 111, вып. 6. С. 923.
10. Chused T. M., Wilson H. A., Seligman B. E., Tsien R. Application of fluorescence biomedical sciences /Eds. Lansing T. D. et al. N. Y.: Alan R. Liss, Inc, 1986. P. 251.
11. Лощенов В. В., Тратонников А. А., Волкова А. И., Прохоров А. М. Портативная спектроскопическая система для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля за фотодинамической терапией // Химический журн. 1998. XLII, № 5. С. 50.
12. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. М., 1986.
13. Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1976.

14. Лисовская В. А., Щедрунов В. В., Барский И. Я. Люминесцентный анализ в гастроэнтерологии. Л.: Наука, 1984.
15. Черницкий Е. А., Слобожанина Е. И. Спектральный люминесцентный анализ в медицине. Минск: Наука и техника, 1989.
16. Наумов С. А., Пушкарев С. В., Вовк С. М. и др. Оптическая спектроскопическая *in vivo* диагностика состояния тканей молочной железы // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1999. № 1.
17. Пушкарев С. В., Наумов С. А., Вовк С. М. и др. Методы лазерной флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения в диагностике состояний ткани молочной железы // Автометрия. 1999. № 2. С. 84.
18. Сейц И. Ф., Князев П. Г. Молекулярная онкология: Руководство для врачей. Л.: Медицина, 1986.
19. Дикштейн Е. А., Василенко И. В., Данильченко С. А., Шевченко Н. И. Ультраструктура сосудов рака молочной железы // Архив патологии. 1990. 52, № 11. С. 41.
20. Ионов Б. В. Морфофункциональные особенности эритроцитов в условиях нарушения микроциркуляции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1984.
21. Селезнев С. А., Назаренко Г. И., Зайцева В. С. Клинические аспекты микроциркуляции. Л.: Медицина, 1985.
22. Пат. 4556057 США. Аппарат для диагностики рака с использованием импульсного лазерного излучения /Н. Teguо et al. Оpubл. 03.12.95.
23. Утц С. П., Синичкин Ю. П., Пилипенко Е. А. *In vivo* лазерная флуоресцентная спектроскопия кожи человека: влияние эритемы // Оптика и спектроскопия. 1994. 76, № 5. С. 864.
24. Пушкарев С. В., Наумов С. А., Смольянинов Е. С. и др. Реакция сосудов ткани молочной железы на вазоактивные вещества в норме и при патологии // Бюл. СО РАМН. 1997. № 1. С. 91.
25. Хайруллина А. Я. Определение размеров больших «мягких» частиц по диффузному отражению и пропусканию толстых слоев в разреженной и плотноупакованных средах // Журн. прикл. спектроскопии. 1987. 46, № 6. С. 1000.
26. Иванов А. П., Макаревич С. А., Хайруллина А. Я. Об особенностях распространения излучения в тканях и биожидкостях при плотной упаковке частиц // Журн. прикл. спектроскопии. 1987. 47, № 4. С. 662.
27. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: Руководство в двух томах /Под ред. Н. А. Краевского, А. В. Смольяникова, Д. С. Саркисова. М.: Медицина, 1993. С. 560.
28. Козлов В. К., Красильников Д. М., Туркин В. В. Реализация проблем применения многофункциональной лазерной медицинской техники // Бюл. оптич. об-ва. 1996. № 1–2. С. 3.
29. Шабаров В. Л., Жогун В. Н., Иванов А. В. и др. Рассеяние оптического излучения биологическими тканями // Журн. прикл. спектроскопии. 1987. 47, № 5. С. 825.
30. Синичкин Ю. П., Утц С. П., Пилипенко Е. А. Спектроскопия кожи человека *in vivo*. I. Спектры отражения // Оптика и спектроскопия. 1996. 80, № 2. С. 260.
31. Хайруллина А. Я., Олейник Т. В., Кацев И. Л. О возможности оптической диагностики одно- и многослойных структур, моделирующих органы человека // Оптика и спектроскопия. 1993. 75, вып. 1. С. 130.
32. Кассиль Г. Н. Внутренняя среда организма. М.: Наука, 1983.

*Новосибирская государственная
медицинская академия*

*Поступила в редакцию
14 апреля 1999 г.*

*Техноцентр «Лазерная диагностика
и чистые технологии» НИКИЭТ*