

УДК 615.849.19

Асимов М.М. *, Асимов Р.М. **, Рубинов А.Н. *

Лазерно-индуцированная оксигенация биотканей: новая технология устранения гипоксии в раковых опухолях

Asimov M.M., Asimov R.M., Rubinov A.N.

Laser-induced tissue oxygenation: new technology of elimination of hypoxia in tumours

* Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск;

** ООО «Прикладные системы», Минск, Беларусь

Предотвращение тканевой гипоксии и улучшение степени оксигенации в раковой опухоли остается актуальной проблемой в современной онкологии. В данной работе предложен новый подход в решении проблемы хронической гипоксии, основанный на новой технологии лазерно-индуцированной оксигенации биотканей. Представлены результаты экспериментального исследования и численного моделирования кинетики лазерно-индуцированной локальной оксигенации биоткани. Обосновывается предположение о том, что при дополнительном снабжении опухолевой ткани свободным молекулярным кислородом из артериальной крови можно ожидать значительного повышения эффективности методов фотодинамической, радиационной и химиотерапии. Обсуждаются различные биомедицинские аспекты практического использования предложенной новой технологии устранения локальной гипоксии биотканей. *Ключевые слова:* оксигемоглобин, фотодиссоциация, гипоксия, твердая раковая опухоль, фотодинамическая терапия, оксигенация ткани.

Purpose: To develop a new technique to prevent tissue hypoxia and to improve oxygenation in tumoural tissue. *Material and methods:* The authors have developed a new technique for treating chronic hypoxia which is based on a new technology of laser-induced biotissue oxygenation. This work presents results of experimental study and multiple modellings of kinetics of laser-induced local biotissue oxygenation. The obtained findings have supported the suggestion that additional supply of free molecular oxygen from the arterial blood to tumoural tissue may considerably increase effectiveness of photodynamic, radial and chemio-therapies. Various biomedical aspects for practical application for removing local tissue hypoxia are discussed as well. *Conclusion:* Further research on laser-induced tissue oxygenation in combination with transcutaneous monitoring of oxygen tension in tissues seems perspective for developing new diagnostic methods of assessment of tissue hypoxia and angiogenesis in tumoural tissue. *Key words:* oxyhemoglobin, photodissociation, hypoxia, tumour, photodynamic therapy, tissue oxygenation.

В настоящее время установлено, что одной из аномальных характеристик раковых опухолей является их локализация в гипоксичных (с пониженной концентрацией кислорода) зонах [1–3]. Наличие значительной гипоксии в окрестности раковой опухоли подтверждено прямыми измерениями с помощью кислородного электрода [4, 5]. Дефицит кислорода в ткани раковой опухоли является главным фактором, ограничивающим эффективность методов фотодинамической (ФДТ), лучевой и химиотерапии [6–8]. Гипоксия в злокачественных опухолях, прежде всего, возникает в результате быстрого роста раковых клеток и дезорганизации ангиогенеза. Другим фактором, усугубляющим гипоксию в зоне раковой опухоли, является перевод кислорода в активную синглетную (1O_2) форму, что приводит к гипоксии в зоне облучения, которая усугубляется во время сеанса ФДТ.

Метод ФДТ онкологических заболеваний основан на использовании фотосенсибилизатора, источника света и кислорода для фотохимического разрушения раковых клеток. Механизм фотоиндуцированного разрушения раковой клетки схематично можно представить следующим образом:



где $[^1S_0]$ – концентрация фотосенсибилизатора в раковой опухоли, а $[^3O_2]$ и $[^1O_2]$ – концентрации мо-

лекулярного кислорода и его активной синглетной формы в раковой опухоли. Первая стадия фотохимической реакции включает превращение молекул фотосенсибилизатора лазерным излучением в его активное триплетное 3S_1 состояние. Вторая стадия включает генерацию синглетного кислорода (1O_2) в результате столкновения активированных светом молекул фотосенсибилизатора (3S_1) с окружающими молекулами кислорода 3O_2 . Следует отметить, что при превращении окружающего раковую опухоль кислорода в его активную синглетную форму 1O_2 , во время сеанса ФДТ, образуется тканевая гипоксия. Так как кислород является ключевым элементом в методе ФДТ, то его концентрация в ткани раковой опухоли играет исключительно важную роль [9, 10]. Устранение тканевой гипоксии в раковых опухолях остается актуальной задачей, и решение ее позволило бы существенно повысить эффективность методов лучевой, ФДТ и химиотерапии.

В клинической практике для устранения дефицита кислорода в тканях используют различные методы оксигенации. Наиболее распространенными являются:

- **нормобарическая оксигенация** – метод принудительной вентиляции легких чистым O_2 при нормальном атмосферном давлении;
- **гипербарическая оксигенация** (ГБО), которая основана на воздействии чистым кислородом на человека при давлении O_2 , превышающем атмосферное [11, 12];

- **оксигенация искусственными носителями кислорода** – искусственная кровь на основе перфторорганических соединений [13–15] – увеличивает концентрацию O_2 в плазме крови;
- **оксигенация обогащенными кислородом композитными средами** [16] в виде жидкости, гели, крема, пасты порошка и т. п. – увеличивает величину $TcPO_2$ при диффузии O_2 в кожную ткань.

Вместе с тем все перечисленные методы оксигенации биоткани имеют ограничения в широком клиническом использовании. Так, эффективность метода нормобарической оксигенации резко снижается при нарушении вентиляционной функции легких.

Ограниченное использование метода ГБО в клинической практике связано с кислородной токсемией – результат длительное воздействия O_2 на организм при повышенном давлении. Кроме того, метод ГБО не является селективным, и при лечении таких кожных заболеваний, как пролежни, язвы и раны, приходится подвергать оксигенации весь организм. Предпринимались попытки адаптировать метод ГБО для локального воздействия кислородом непосредственно в зоне поражения кожной ткани. Однако этот подход также не находит широкого клинического применения вследствие сложностей технического характера.

Оксигенацию искусственными носителями кислорода осуществляют путем внутривенного введения эмульсии перфтороуглерода в кровь при последующем вдыхании кислорода или смеси 95% кислорода и 5% двуокиси углерода. Растворенный в эмульсии O_2 током крови транспортируется к тканям [14, 15]. Таким образом, использование искусственных заменителей крови позволяет дополнительно снабжать ткани кислородом. Вместе с тем транспортные функции кислорода перфтороуглеродными соединениями при нормальном атмосферном давлении сильно ограничены. Так, если плазма крови при нормальном давлении транспортирует около 6% кислорода к тканям, то в таких же условиях перфтороуглеродные эмульсии доставляют всего лишь 2%.

Существенным недостатком метода оксигенации ткани обогащенными кислородом композитными средами является ограниченная растворимость O_2 в жидкости, и, следовательно, количество его доставки в зоне приложения ограничено. При необходимости длительной подпитки ткани кислородом требуется частая и многократная смена композитной смеси, что создает неудобства и не может не влиять на его эффективность.

Таким образом, проблема устранения локальной гипоксии в биотканях остается актуальной, и ее решение позволит существенно повысить эффективность терапевтических методов.

В 1997 году в Институте физики НАН Беларуси была предложена и развивается технология дополнительного экстрагирования свободного молекулярного кислорода из оксигемоглобина (HbO_2) артериальной крови путем лазерно-индуцированной фотодиссоци-

ации HbO_2 в кожных кровеносных сосудах [17–19]. Отличительной особенностью данной технологии является селективность и локальность воздействия [18]. В ходе исследований была изучена эффективность воздействия лазерного излучения различных длин волн на оксигемоглобин кровеносных сосудов, расположенных на различной глубине кожи [19]. На основе развития математической модели взаимодействия лазерного излучения с кожей определены оптимальные параметры индуцированной фотодиссоциации комплексов гемоглобина в кожных кровеносных сосудах [20]. Кроме того, экспериментально *in vivo* подтверждена температурная зависимость квантового выхода фотодиссоциации оксигемоглобина [21], обнаруженная ранее *in vitro* [22].

Хорошо известно, что кислород играет ключевую роль в усилении *in vivo* широкого спектра биохимических реакций, включая метаболизм клеток. Аэробный метаболизм является первичным механизмом в выработке энергии в тканях. Контролирование этого механизма дает уникальную возможность в стимуляции биологических процессов для достижения желательного терапевтического эффекта. Эта цель может быть достигнута при использовании явления лазерно-индуцированной фотодиссоциации оксигемоглобина в кожных кровеносных сосудах.

Так как молекулярный кислород является основной компонентой в фотодинамическом разрушении раковых клеток, то можно существенно повысить эффективность метода ФДТ, если одновременно индуцировать *in vivo* фотодиссоциацию (HbO_2) в кожных кровеносных сосудах. Этот подход открывает новые перспективы, если учесть результаты работы [22], в которых были определены оптимальные условия для повышения локальной концентрации свободного молекулярного кислорода в тканях.

В данной работе предложено использование технологии лазерно-индуцированной оксигенации тканей для устранения гипоксии в раковых опухолях. Предполагается, что эффективность методов лучевой, фотодинамической химиотерапии могут быть существенно повышены благодаря дополнительному снабжению кислородом ткани раковой опухоли путем лазерно-индуцированной фотодиссоциации HbO_2 в артериальной крови кожных кровеносных сосудов. Представлены результаты математического моделирования кинетики оксигенации ткани при диффузии кислорода из артериальной крови в биоткань.

Методика эксперимента

В медицинской практике важное место занимает контроль процесса газообмена между организмом и окружающей средой. Контроль газов в крови включает определение содержания растворенного кислорода и углекислого газа. Наиболее широкое применение в клинической практике получил мониторинг уровня оксигенации крови, позволяющий диагностировать наличие гипоксемии и гипоксии ткани. Устранение

этих факторов играет огромную роль в терапии патологий, связанных с ними или усугубляющих ими медикаментозное лечение. Среди неинвазивных методов диагностики наиболее достоверную информацию можно получить методами полярографического транскутантного мониторинга напряжения кислорода в биоткани и пульсоксиметрии для определения степени насыщения артериальной крови кислородом.

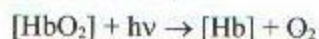
Метод пульсоксиметрии

Как известно, методика пульсоксиметрии основана на использовании принципов фотоплетизмографии для выделения артериальной составляющей поглощенного света и вычисления степени оксигенации артериальной крови. Измерение этой составляющей дает возможность использовать спектрофотометрию для неинвазивного чрескожного мониторинга насыщения артериальной крови кислородом.

Важной характеристикой оксигенации крови, широко используемой в системах клинического мониторинга, является величина степени насыщения гемоглобина крови (Hb) кислородом (HbO₂) – сатурация артериальной крови кислородом (SaO₂). Определение данного параметра имеет некоторые особенности, связанные с тем, что кровь взрослого человека кроме восстановленного Hb и HbO₂ содержит, по крайней мере, еще два вида гемоглобина, не участвующих в транспорте кислорода: метгемоглобин (MtHbO₂) и карбоксигемоглобин (HbCO). При нормальных условиях значения MtHbO₂ и HbCO малы и величина SaO₂ определяется следующим соотношением:

$$SaO_2 = \{[HbO_2] / ([HbO_2] + [Hb])\} \cdot 100.$$

Фотодиссоциация HbO₂ при воздействии лазерным излучением приводит к высвобождению кислорода в плазму крови (рис. 1):



и, следовательно, изменению соотношения между концентрациями [HbO₂] и [Hb].

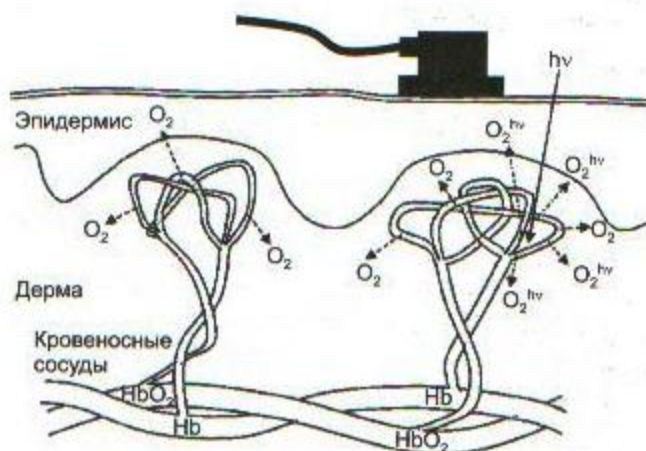


Рис. 1. Иллюстрация повышения степени оксигенации кожной ткани путем дополнительной экстракции кислорода из HbO₂ артериальной крови кожных кровеносных сосудов с помощью лазерного излучения

Эффект проявляется в уменьшении величины SaO₂ под воздействием лазерного излучения:

$$\Delta SaO_2 = SaO_2 - SaO_2^{hv},$$

где, SaO₂ – сатурация без воздействия и SaO₂^{hv} – при облучении лазерным излучением. Для измерения величины ΔSaO₂ нами был использован специально разработанный высокочувствительный пульсоксиметр [22], с помощью которого осуществляли контроль процесса дополнительного высвобождения O₂ в плазму артериальной крови. Величину оксигенации ткани в процессе диффузии кислорода из плазмы в биоткань измеряли полярографическим методом.

Полярографический метод транскутантного мониторинга кислорода

Экспериментальные измерения повышения степени оксигенации кожной ткани при воздействии лазерным излучением получены [24] полярографическим методом с использованием кислородного монитора TCM-2 фирмы «Radiometer Ltd.» (Дания). Выбор данного метода был обусловлен тем, что транскутантный мониторинг кислорода (TCOM) позволяет непосредственно определить напряжение O₂ в коже TcPO₂ в величинах мм рт. ст.

Известно, что для оценки напряжения кислорода в артериальной крови прямым методом проводят анализ проб крови. Для этой цели используют сенсор Кларка, представляющий собой электролитическую ячейку, отделенную от исследуемой крови кислородопроницаемой мембраной. Кислородный электрод содержит платиновый катод и серебряный анод, соединенные с источником напряжения. Кислород, проникая через мембрану в результате электрохимической реакции (O₂ + 2H₂O + 4e⁻ → 4OH⁻), образует гидроксильные ионы у платинового электрода. Величина тока в цепи зависит от количества присоединенных электронов, которые в свою очередь определяют количество кислорода, диффундирующим в электролитическую ячейку. В этом случае ток, регистрируемый в цепи электрода, пропорционален величине PO₂ в исследуемой пробе плазмы крови.

Для транскутантного метода определения PO₂ используют мембранные датчики, содержащие электрод Кларка и нагревательный элемент. Мембрана электрода приводится в соприкосновение с кожей, которая нагревается до температуры около 44 °С. Под действием температуры кислород из капиллярных сосудов диффундирует в эпидермис, а затем в электролитическую ячейку, где и происходит измерение.

Значения напряжения кислорода в крови, измененные транскутантно (TcPO₂), соответствуют величинам PO₂, определенным в пробах плазмы артериальной крови.

Ошибки при определении значений TcPO₂ зависят от толщины кожи, подкожного кровотока и физио-

логических факторов, влияющих на доставку O_2 к поверхности кожи (уменьшение сердечного выброса, артериального давления крови, возникновение центральной вазоконстрикции – уменьшение просвета кровеносных сосудов). В результате величина $TcPO_2$ может оказаться заниженной по сравнению с соответствующим артериальным значением, определенным пульсоксиметрическим методом. Поэтому для уменьшения ошибок определения $TcPO_2$ датчик прибора располагают на поверхности кожи в местах с высоким капиллярным давлением и минимальным нарушением кровеносных сосудов. Схема измерений напряжения кислорода в биоткани при лазерном облучении показана на рис. 2.

Для локального облучения крови в кожных кровеносных сосудах было выбрано излучение He-Ne-лазера с длиной волны 632,8 нм, которая, как было показано в модельных расчетах, попадает в эффективную полосу поглощения HbO_2 и проникает достаточно глубоко в кожную ткань. Выходное излучение лазера составляло 1,1 мВт при диаметре луча 2,5 мм, что обеспечивало мощность облучения $\sim 225 \text{ Вт/м}^2$.

Исследование эффекта лазерного излучения на степень оксигенации проводили на кожной ткани предплечья добровольцев в условиях, исключающих предшествующую физическую и эмоциональную нагрузку, в положении сидя при комнатной ($22,5^\circ\text{C}$) температуре. Эти меры необходимы, чтобы исключить влияние указанных факторов на результаты измерений.

Первоначально, до воздействия лазерным облучением, определяли величину $TcPO_2$ для каждого из трех пациентов, которая и характеризует индивидуальную начальную напряженность O_2 в тканях. Затем в эту же зону направляли лазерное излучение и измеряли зависимость величины $TcPO_2$ от времени воздействия. Сеанс облучения лазерным излучением во времени проводили до момента достижения оксигенации ткани максимальной величины.

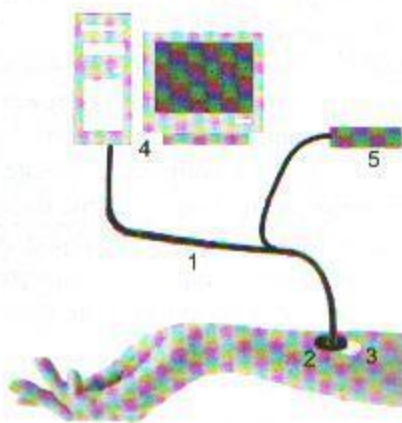


Рис. 2. Схема измерений напряжения кислорода в биоткани при облучении He-Ne-лазером: 1 – кислородный датчик Кларка, 2 – электролитическая ячейка, 3 – зона облучения, 4 – монитор TCOM, 5 – He-Ne-лазер

Модель диффузии кислорода в биоткани

Для изучения диффузии кислорода через ткань мы использовали простую модель, представленную на рис. 3. В этой модели рассматривается, что ткань имеет гомогенную структуру с одинаковой плотностью по всему объему, а кровеносные сосуды (артериальные и венозные) расположены на глубине 0,5 мм. Кислород, высвобожденный из HbO_2 плазмы артериальной крови, диффундирует через кожную ткань к $TcPO_2$ электроду. Для данной модели и проведено решение уравнения диффузии.

Экспериментально было показано [22], что скорость высвобождения кислорода из HbO_2 артериальной крови при воздействии лазерным излучением достаточно высока и остается постоянной в течение всего периода облучения.

В наших расчетах мы учитывали это обстоятельство и принимали во внимание, что дополнительное поступление кислорода в плазму артериальной крови происходит в течение всего периода воздействия лазерным излучением. При этом часть кислорода диффундирует из плазмы в окружающие ткани и частично уносится током крови. Поэтому интересно было путем численного моделирования определить условия, при которых достигается наибольшее соответствие с экспериментальными данными [24]. При этом наибольший интерес представляло определение кинетики оксигенации ткани в зависимости от времени воздействия лазерным излучением. Переменными параметрами являлись коэффициент диффузии и количество дополнительно высвобожденного молекулярного кислорода в плазму артериальной крови.

Результаты и обсуждение

На рис. 4 представлены результаты расчетов по кинетике оксигенации тканей при воздействии лазерным излучением. Как видно из рисунка, напряженность кислорода в ткани возрастает с различной скоростью для трех исследуемых добровольцев и в пределе достигает насыщения спустя 10 минут облучения. Значение $TcPO_2$ возрастает в 1,6 раза по

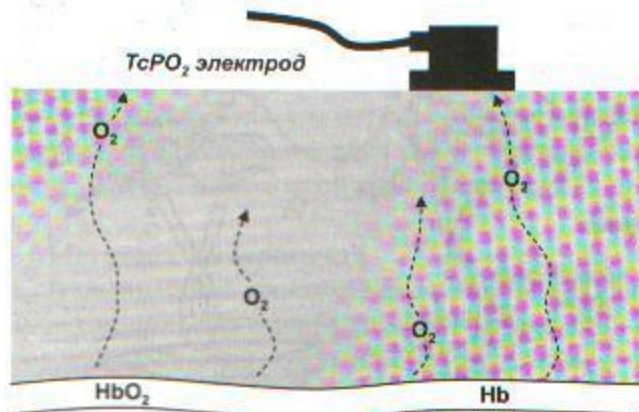


Рис. 3. Модель диффузии в биоткань кислорода, высвобожденного при лазерно-индуцированной фотодиссоциации HbO_2 артериальной крови

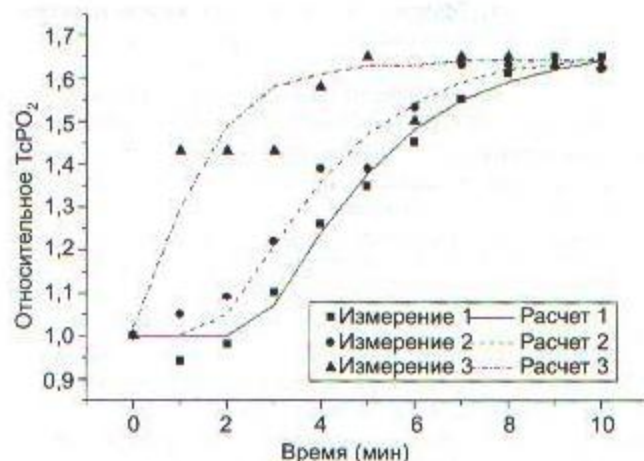


Рис. 4. Кинетика лазерно-индуцированной оксигенации ткани

сравнению с начальным значением до сеанса облучения лазером.

Результаты вычислений показывают следующее. У всех трех добровольцев мы наблюдали практически одинаковое увеличение скорости высвобождения кислорода из HbO_2 артериальной крови при воздействии лазерным излучением. Вместе с тем коэффициент диффузии кислорода в тканях добровольцев отличается примерно в два раза.

Для того, чтобы достичь экспериментально измеренный рост TcPO_2 в 1,6 раза, то, как показывают вычисления, дополнительное высвобождение кислорода должно привести к росту величины PO_2 в плазме артериальной крови в 4,3 раза. Так, кислород, высвобожденный из HbO_2 , первоначально существенно повышает PO_2 в плазме крови, а затем происходит диффузия кислорода в ткань. При этом высвобожденный кислород диффундирует в трех направлениях: к поверхности кожи, внутрь к мышечным тканям и частично уносится током крови. Если считать, что во все указанные направления уносится одинаковое количество кислорода, то увеличение на поверхности кожи в 1,6 раза дает прирост O_2 в плазме артериальной крови в 4,8 раза. Так, расчетное значение повышения величины PO_2 в плазме крови в 4,3 раза хорошо согласуется с этим значением. Интересно отметить, что рост величины PO_2 в плазме крови сопоставим с тем, что достигается в методе гипербарической оксигенации.

Величина TcPO_2 в зоне облучения зависит от времени облучения и плотности кожи. Полученные результаты показывают, что, используя кинетику TcPO_2 в зависимости от времени воздействия лазерным излучением, возможно определить коэффициент диффузии кислорода в биоткани. Это означает, что можно рассчитать и определить, каким образом достичь необходимого уровня TcPO_2 в зонах, где нарушена микроциркуляция крови и ткани находятся в состоянии гипоксии, таких, как, например, раковые образования, ожоги, раны и язвы. Установлено, что при значении $\text{TcPO}_2 > 40$ мм рт. ст. заживление ран

идет успешно; умеренное заживление происходит при величине TcPO_2 от 20 до 40 мм рт. ст., а при величине TcPO_2 ниже 20 мм рт. ст. заживление ран происходит крайне трудно.

Таким образом, открывается новая возможность определения оптимальных параметров лазерного облучения, принимая во внимание тот объем, который должен быть дополнительно снабжен кислородом, и время облучения.

Заключение

Полученные результаты показывают, что мониторинг напряжения кислорода в ткани TcPO_2 позволяет контролировать процесс лазерно-индуцированной оксигенации ткани. Это имеет весьма важное практическое значение во всех случаях, связанных с тканевой гипоксией, и особенно в раковых опухолях.

Примечательно то, что эффективность предложенной технологии лазерно-индуцированной оксигенации в аспекте повышения концентрации кислорода, как в плазме крови, так и биоткани, оказывается сравнимой с методом гипербарической оксигенации. Вместе с тем предложенный нами метод отличается преимуществом, обусловленным локальностью воздействия.

Представляется перспективным дальнейшее исследование по лазерно-индуцированной оксигенации тканей в сочетании транскутантного мониторинга напряжения кислорода в тканях в направлении развития новых диагностических методов определения тканевой гипоксии и ангиогенеза в раковых опухолях.

Литература

1. Vaupel P. Oxygenation of Human Tumors // *Strahlenther, Onkol.* 1990. Vol. 166. P. 377–386.
2. Adams G.E. The Clinical Relevance of Tumor Hypoxia // *Onkol.* 1990. Vol. 26 (4). P. 420–421.
3. Vaupel P., Kallinowski F. et al. Tumor Tissue Oxygenation as Evaluated by Computerized- PO_2 -Histography // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1990. Vol. 19. P. 953–961.
4. Gatenby R.A. et al. Oxygen Distribution in Squamous Cell Carcinoma Metastases and Its Relationship to Outcome of Radiation Therapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988. Vol. 14. P. 831–838.
5. Lui H., Anderson R.R. Photodynamic therapy in dermatology: recent developments // *Dermatol. Clin.* 1993. Vol. 11. P. 1–13.
6. Fuchs J., Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy // *Free Radic. Biol. Med.* 1998. Vol. 15. P. 835–847.
7. Georgakoudi I., Nichols M.G., Foster T.H. The mechanism of Photofrin photobleaching and its consequences for photodynamic dosimetry // *Photochemistry and Photobiology.* 1997. Vol. 65. P. 135–144.
8. Джагаров Б.М., Жаврид Э.А., Истоин Ю.П., Чалов В.Н. Двухцветная лазерная фотодинамическая терапия опухолей // *Журн. прикл. спектр.* 2001. Т. 68. С. 151–153.
9. Pass H.J. Photodynamic therapy in oncology: mechanism and clinical use // *J Natl. Cancer Inst.* 1993. Vol. 85. P. 443–456.
10. McCaughan J.S.Jr. Photodynamic Therapy: a review // *Drugs Aging.* 1999. Vol. 15. P. 49–68.
11. Ефунт С.Н. Руководство по гипербарической оксигенации. — М.: Медицина, 1986.

12. Grim P.S. Hyperbaric Oxygen Therapy // JAMA. 1990. Vol. 263. P. 2216–2220.
13. Ивашицкий Г.Р. Биофизические основы перфторуглеродных сред и газотранспортных заменителей // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. Пушкино-2001. С. 4–48.
14. Martin D.F. et al. Enhancement of Tumor Radiation Response by the Combination of a Perfluorochemical Emulsion and Hyperbaric Oxygen // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1987. Vol. 13. P. 747–751.
15. Teicher B.A., Rose C.M. Perfluorochemical Emulsion Can Increase Tumor Radiosensitivity // Science. 1984. Vol. 223. P. 934–936.
16. McGrath et al. Compositions and method of tissue superoxygenation. U.S. Pat. No. 6, 649, 145. 2003.
17. Асимов М.М., Асимов Р.М., Рубинов А.Н. Применение лазеров в медицине: о механизме биостимуляции и терапевтического действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Тр. III конф. по лазерной физике и спектроскопии. 2–4 июля 1997 г. Гродно, Республика Беларусь. Минск, 1997. С. 169–172.
18. Asimov M.M., Asimov R.M., Rubinov A.N. Investigation of the efficiency of laser action on hemoglobin and oxyhemoglobin in the skin blood vessels // Proceedings of SPIE Laser-Tissue Interaction IX. 01.27–01.29. 98. San Jose, CA, USA. 1998. Vol. 3254. P. 407–412.
19. Асимов М.М., Асимов Р.М., Рубинов А.Н. Спектр действия лазерного излучения на гемоглобин кровеносных сосудов // Журн. прикл. спектр. 1998. Т. 65. С. 877–880.
20. Asimov M.M. Laser-induced Photodissociation of Hemoglobin Complexes with Gas Ligands and its Biomedical Applications // Proceedings of «LTL Plovdiv 2005». IV International Symposium Laser Technologies and Lasers. October 8.10–11.10. Plovdiv, Bulgaria. 2005. P. 3–11.
21. Wilma A. Saffran, Quentine H. Gibson. Photodissociation of Ligands from Hem and Hem Proteins: Effect of Temperature and Organic Phosphate // J of Biol. Chem. 1977. Vol. 252. P. 7955–7958.
22. Асимов М.М., Асимов Р.М., Рубинов А.Н., Мамиллов С.А., Плаксий Ю.С. Влияние температуры на квантовый выход лазерно-индуцированной фотодиссоциации оксигемоглобина *in vivo* // ЖПС. 2006. Т. 73. № 1. С. 90–93.
23. Kravchenko V.I., Mamilov S.A., Minov O.N., Plaksey Yu.S. Investigations of correlation of optical signals during measuring an arterial blood oxygen saturation // The Ukrainian Journal of Medical Technique and Technologies. 1999. Vol. 1. С. 59–61.
24. Асимов М.М., Королевич А.Н., Константинова Е.Е. Кинетика оксигенации кожной ткани под воздействием низкоинтенсивного лазерного излучения // ЖПС. 2007. Т. 74. № 1. С. 120–125.

Поступила в редакцию 04.06.2007 г.