

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ
І ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ

"УЗГОДЖЕНО"

Директор Департаменту

арктичної допомоги

Хобзей

20іір.

ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕГРАЛЬНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ФОСФОРЕСЦЕНЦІЇ
ПРОТЕЇНІВ СІРОВАТКИ КРОВІ ЯК ПРОГНОСТИЧНОЇ ОСНОВИ РАННЬОЇ
ДІАГНОСТИКИ ОНКОПАТОЛОГІЇ І СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ
ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ
(Методичні рекомендації)

(150.11/123.12.)

Київ - 2011

Установи розробки:

Харківський національний медичний університеті МОЗ України.

Харківська медична академія післядипломної освіти.

Харківський національний фармацевтичний університет МОЗ України

Упорядники: Жуков В.І., д-р мед. наук, проф ,
Бойко В.В, д-р мед. наук, проф..
Капустник В.А., д-р мед. наук, проф .
Криворучко І.А., д-р мед наук, проф..
Красносельський М.Л. д-р мед. наук, проф.,
Наконечна О.А., кайд. мед. наук.,
Вінник Ю.О. д-р мед. наук, проф ,
Кононенко Н.М., д-р мед. наук..
Каліман В.П.. канд. мед. наук.
Зайцева О.В., д-р біол. наук. проф..
Кнігавко В.Г., д-р біол. наук. проф..
Мельник О.Г..
Перепадя С.В..
Моїсеєнко А.С..
Грамаіюк С.М.

Рецензенти:

Директор Донецького обласного клінічного
онкологічного центру академік НАМІ України,
професор

Бондар Г.В

Директор інституту медичної радіології.
д-р мед. наук, професор

Пилипенко М.І.

Затверджено та рекомендовано до впровадження проблемною комісією «Онкологія», протокол № 5 від 21.06.2011 р.

Головний позаштатний спеціаліст МОЗ України з спеціальності «Онкологія» д-р мед. наук, професор Седаков І.С.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

КРР - колоректальний рак

ФЕП - фотоелектронний помножувач

РИК - рак прямої кишки

РСигК - рак сигмовидної кишки

РСлК - рак сліпої кишки

РГТОК - рак поперечно-ободової кишки

РТК - рак товстої кишки

ЗМІСТ

1	ВСТУП	5
2	Обґрунтування можливостей застосування фосфоресценції в клінічній онкології як прогностичного тесту ранньої діагностики розвитку канцерогенезу	7
3	Матеріали і методи дослідження	10
4	Висновки та практичні рекомендації	20
5	Перелік рекомендованої літератури	23

і. Вступ

Молекулярна характеристика патологічних станів людського організму при розвитку канцерогенезу є однією з важливих проблем сучасної онкології. Уявлення про порушення молекулярних основ діяльності різних систем організму в умовах формування патології дозволяє лікареві компетентно проводити патогенетичне лікування, формувати прогноз одужання та опрацьовувати реабілітаційні заходи. Ракова хвороба є однією з тяжких недугів, які знає людство, та медична допомога нерідко безсила, оскільки до сьогодні залишається невідомою причина запуску механізму цього захворювання. За останні роки хірургія і радіобіологія посягли великих успіхів в галузі онкології. Практично, як звані перша і друга стадії ракових захворювань виліковуються на довгі роки, тому актуальним залишається питання як можна раніше виявити появу пухлини, і тоді ліквідація її спасає людину від надвигаючої небезпеки [2, 4]. Масові профілактичні огляди дозволяють виявити велику кількість осіб із початковими стадіями злоякісних пухлин, що забезпечує своєчасне втручання лікарів та перешкоджає розвитку хвороби. Проблема злоякісних новоутворень привертає увагу різних фахівців - медиків, біологів, імунологів та ін. Довідання молекулярних механізмів та закономірностей початкового розвитку ракового процесу зробить можливим використання паралельно з хірургічним ножом ефективного застосування патогенетичного, обґрунтованого, хіміопроменевого лікування. Щодо питання виникнення ракової клітини і багато різноманітних теорій і гіпотез, але поки що жодну з них не можна вважати вичерпною. На жаль ті початкові зміни в обміні речовин, які є характерними для розвитку усіх видів пухлин, мало відомі. Численні дослідження свідчать про те, що при розвитку канцерогенезу спостерігаються в першу чергу порушення білкового обміну, знижується біологічна активність протеїнів, що тісно пов'язано з рівнями просторової організації білкових макромолекул [3, 5]. Тому інтегральне визначення структурно-метаболічної активності протеїнів сироватки крові має велике значення в ранній діагностиці канцерогенезу, стадії тяжкості захворювання, профілактиці розвитку пухлинного процесу, обґрунтуванні патогенетичної терапії та розробці прогностичних основ одужання і реабілітації хворих на онкопатологію. Перспективним у цьому напрямку є застосування люмінесцентного методу - особливо дослідження фосфоресценції, яка віддзеркалює функціональну активність макромолекул білків, їх жорсткість, внутрішньомолекулярну рухливість, структурний рівень компактних структур протеїнів [1.6, 7].

Серед таких методів є доцільним авторський метод визначення інтегральної інтенсивності фосфоресценції протеїнів сироватки крові як прогностичної основи ранньої діагностики онкозахворювань шлунково-кишкового тракту та ступеня тяжкості перебігу хвороби.

Методичні рекомендації призначені для лікарів-онкологів, хірургів, лікарів загальної практики, інтернів, клінічних ординаторів, аспірантів та можуть використовуватись у навчальному процесі для студентів вищих медичних навчальних закладів і видані в Україні вперше.

Наукові та лабораторно-клінічні дослідження і розробка методики т частинною комплексної роботи, яка проводилася на базі Харківського обласного клінічного онкологічного центру. Харківського національного медичного університету і Харківської медичної академії післядипломної освіти з теми «Комбіноване лікування хворих з пухлинними захворюваннями шлунково-кишкового тракту» (№ держреєстрації 01984002285) та пріоритетної теми МОЗ України «Клініко-експериментальне обґрунтування донозологічної діагностики та оптимізації патогенетичної терапії онкопатології товстого кишечника на основі вивчення інтегративних систем контролю гомеостатичної функції організму» (№ держреєстрації 01110U000485).

2. Обґрунтування можливостей застосування фосфоресценції в клінічній онкології як прогностичного тесту ранньої діагностики розвитку канцерогенезу

Фосфоресценція це особливий тип люмінесценції, який на відміну від флуоресценції характеризується тим, що молекула сполуки випромінює поглинуту енергію у вигляді кванта світла не відразу, а протягом часу до 10 с. Атом, що поглинає квант збуджуючого випромінювання, переходить з основного S_0 енергетичного рівня, який відповідає основній електронній конфігурації, на вищий енергетичний рівень S_1 (S_2), які відповідають збудженим електронним конфігураціям. Рівні S_0 , S_1 , S_2 називаються синглетним перехід між ними відбувається без зміни орієнтації спіна електрона. Час життя молекули у збуджених станах S_1 або S_2 становить $\sim 10^{-4}$ с. Перехід в основний енергетичний стан може здійснюватися у результаті безвипромінювальних переходів або з випромінюванням квантів флуоресценції (короткочасного післясвічення). З певною ймовірністю можливе також обернення спіна збудженого електрона, тобто безвипромінювальний перехід молекули зі збудженого синглетного у збуджений триплетний T стан. Перехід молекули із триплетного в основний стан $T \rightarrow S_0$, заборонений по спіну (у відповідності з принципом Паулі). Таким чином, триплетний рівень є метастабільним. У силу малої ймовірності переходу $T \rightarrow S_0$, молекула може знаходитися у триплетному стані достатньо довго ($10^3 \dots 10^5$ с). Перехід $T \rightarrow S_0$ відбувається лише в результаті попереднього переходу електрона з рівня T на вищерозташований рівень S_3 (цей перехід здійснюється за рахунок енергії теплового руху молекул), а потім вже електрон з випромінюванням кванта світла повертається у стан S_0 (перехід, що дозволений правилами відбору). Випромінювання за таким механізмом називається фосфоресценцією.

Враховуючи високу чутливість та інформативність, фосфоресценція дозволяє визначити наявність молекулярної патології на рівні вивчення електронних збуджених станів молекул, фотохімічних реакцій, динаміки швидких молекулярних переходів, структури і властивостей хімічних і біологічних систем.

Численні дослідження властивостей білків при розвитку канцерогенезу вказують на якісну їх відмінність від білків відповідних нормальних тканин. По мірі розвитку ракової пухлини все більше проявляються особливості й різниця білкового обміну та їх конформаційної компактною структури. За останні роки в літературі з'явилися додаткові дані, які підтверджують факт збудження і риси дедиференціювання білків у злоякісних пухлинах. У клітинах пухлин амінокислоти використовуються переважно для синтезу ядерних білків, особливо гістонів. У нормальних тканинах синтез ядерних білків відбувається з меншою інтенсивністю, а ніж синтез білків у інших структурно-функціональних одиницях клітини. Аналіз білкового обміну в умовах розвитку канцерогенезу свідчить про його порушення на всіх етапах, починаючи з біосинтезу окремих амінокислот і закінчуючи кінцевими продуктами цього обміну - сечовиною. Наукові дослідження переконують у тому, що зміни якісних властивостей білків при пухлинному рості завжди поєднані з порушеннями таких їх основних функцій, як ферментативна, гормональна.

рецепторна, транспортна, структурна, механічна, резервна, субстратно-енергетична, скорочувальна, електроосмотична, енерго-трансформуюча. когенетична, генно-регуляторна, імунологічна, антитоксична, знешкоджувальна та гомеостатична. Важливе значення у формуванні функціональної активності білків належить просторовій структурі поліпептидних ланцюгів, яка обумовлена утворенням водневих зв'язків, електростатичних сил та Ван-дер-ваальсової взаємодії. Це дає змогу білкам згорнутися в унікальний компактний, високоорганізований і функціонально активний стан, отримуючи метаболічно активні структурні форми (другий, третій і четвертий рівні структурно-функціональної організації). Різноманітні шкідливі фізичні, хімічні, біологічні фактори, токсичні продукти обміну речовин здатні змінювати конформаційні властивості білкових молекул, порушуючи при цьому їх функціональну активність. Тому дослідження процесів, що пов'язані зі зміною структурної активності білків, має не тільки теоретичне, але й прогностичне практичне значення в медичній практиці.

Перспективним методичним підходом для ранньої діагностики функціональної активності білків сироватки крові може стати вимірювання інтегральної інтенсивності фосфоресценції сироватки крові. Відомо, що природними хромофорами білків є тирозинові й триптофанові залишки амінокислот, які оголюються в умовах втрати компактно високоорганізованої структури білкової молекули. Завдяки численним дослідженням виявлено, що білки в розчинах практично не дають фосфоресценцію. Основним механізмом гасіння збуджених триплетних станів фосфоресценції при цьому є присутність у розчинах кисню та води. За цих умов не досягається необхідної для виникнення фосфоресценції жорсткості мікрооточення триптофанових і тирозинових амінокислотних залишків. Фосфоресценція білків має місце в тих випадках, коли їх хромофори перебувають у мікрооточенні з високою жорсткістю. Зростання внутрішньомолекулярної динаміки підвищує безвипромінювальну дезактивацію триплетних станів, яка обумовлена непланарною деформацією індольного і фенольного кілець (триптофану і тирозину) за рахунок їх співударів з оточуючими конструктивними елементами білкової глобули. Виразна залежність значень квантового виходу і часу згасання фосфоресценції від молекулярної рухливості оточення хромофорів і відповідно до терміну низькочастотних флуктуацій структури макромолекул білків дозволяє використовувати фосфоресценцію для вивчення внутрішньомолекулярної рухливості білків. Відомо, що агрегація білків, втрата компактно структурно-функціональної організації призводять до суттєвого підвищення жорсткості мікрооточення триптофанових залишків, що поєднано з підвищенням інтенсивності фосфоресценції. Зростання інтенсивності фосфоресценції при інактивації і втраті компактно структури білків спостерігається при їх розгортанні та набутті первинної структури в умовах денатурації поліпептидних ланцюгів та втраті біологічної активності протейнів.

Суттєво впливати на характеристику триптофанової фосфоресценції може локалізація в безпосередній близькості від індольного кільця триптофанового залишка бокових радикалів деяких амінокислот - погашувачів фосфоресценції. За здатністю гасити триптофанову фосфоресценцію бокові ланцюги амінокислотних залишків найбільш активні у сірковмісних (цистеїн, цистин, метіонін), а також у

тирозину та триптофану. Гасіння фосфоресценції боковими групами цих амінокислот можливо, якщо відстань між індольним кільцями і погашуючою групою корелює з величиною (розмірами) Ван-дер-ваальсового радіуса (не перевищує декількох ангстрем). Особлива роль в ефектах молекулярного гасіння належить дисульфідним і сульфгідрильним групам. Їх виражена здатність до гасіння фосфоресценції пояснюється спроможністю сприймати електрон від триптофану в збудженому триплетному стані. Внутрішньомолекулярне гасіння може здійснюватися не тільки при перманентному контакті індольного кільця з боковою групою залишку амінокислоти (статичне гасіння), але і в моменти їх відносно короткочасних контактів, що виникають унаслідок флуктуації структури білка.

Значна більшість білків у розчинах у мілісекундному і секундному діапазонах не фосфоресцирують при кімнатній температурі. Це обумовлено перш за все досить високою ефективністю динамічного гасіння фосфоресценції хромофорів. Зростання жорсткості структури білків, не здатних до фосфоресценції внаслідок переходу їх із розчину в твердий агрегатний стан в усіх випадках, приводить до появи добре реєструємої фосфоресценції і супроводжується збільшенням у десятки разів квантового виходу і часу затухання фосфоресценції. Твердим агрегатним станом білків можуть бути їх плівки та кристали. Зростання в декілька разів інтенсивності триптофанової фосфоресценції свідчить про суттєве зниження внутрішньомолекулярної рухливості білка в місцях локалізації залишків триптофани, здатних до фосфоресценції. Причиною такого зростання жорсткості мікрооточення триптофанових залишків є стабілізація структури білка в інактивованому стані поєднаного з розгортанням макроструктури полііпептидних ланцюгів. Підвищення інтенсивності фосфоресценції віддзеркалює процес утворення інактивованого білка при значному розгортанні компактних структур.

Дослідження свідчать, що згортання і розгортання поліпептидних ланцюгів молекули білка тісно пов'язані з інтенсивністю триптофанової фосфоресценції, яка віддзеркалює функціональну активність макромолекул протеїнів, їх жорсткість, внутрішньомолекулярну рухливість, структурно-функціональний рівень компактних структур, що може бути використано при вивченні дії шкідливих факторів на організм, діагностиці ступеня тяжкості захворювання, прогнозуванні одужання хворих та обґрунтуванні патогенетичних механізмів розвитку багатьох метаболічних порушень.

3. Матеріали і методи дослідження

Була досліджена фосфоресценція білків сироватки крові 239 пацієнтів, хворих на рак товстого кишечника та 59 пацієнтів, хворих на аденокарциному шлунка, віком від 35 до 68 років. Діагноз захворювання був підтверджений клінічними і гістоморфологічними методами. Порівняльна група була представлена умовно здоровими пацієнтами відповідного віку та статі, які не мали нарікань на стан здоров'я (11=486). Рак прямої кишки (РПК) виявлений у 54 пацієнтів (29 - чоловіки. 25 - жінки), рак спгмовидної кишки (РОиГК) - у 62 пацієнтів (35 - чоловіки; 29 - жінки), рак сліпої кишки (РСлК) - у 27 пацієнтів (15 - чоловіки. 12 - жінки), рак поперечно-ободової кишки (РПОК) - у 66 пацієнтів (48 - чоловіки. 18 - жінки), рак товстої кишки (РІК) - у 30 пацієнтів (17 чоловіки; 13 - жінки). Залежно від стадії захворювання перша (I) стадія пухлинного процесу діагностована у 28 хворих за наявності поліпозу товстого кишечника, друга (II) - у 56 хворих; третя (III) - у 122 хворих; четверта (IV) - у 33 хворих.

За статевою ознакою серед чоловіків, хворих на РПК. I, II, III та IV стадії виявлені відповідно у 6, 8, 9 та 6 пацієнтів, у жінок - 3, 5, 12 та 5 пацієнтів.

При РСигК I, II, III, IV стадії були виявлені відповідно у 3, 13, 11 і 6 чоловіків та у 4, 7, 14 і 4 жінок. При РПОК I, II, III і IV стадії захворювання діагностовано у 5, 12, 27 і 4 чоловіків і у 2, 4, 9 і 3 жінок відповідно. РІК діагностовано у 2, 3, 10 і 2 чоловіків і 1, 2, 9 і 1 жінки відповідно при I, II, III і IV стадії росту пухлини. РСлК діагностовано у 1, 1, 12 і 1 чоловіка і 1, 1, 9 і 1 жінки відповідно при I, II, III і IV стадії захворювання.

Фосфоресценція при аденокарциномі шлунка вивчалася у 59 пацієнтів (33 чоловіків і 26 жінок). Гістоморфологічними методами дослідження I, II, III і IV стадії захворювання виявлені у 8, 7, 9 і 9 чоловіків та 6, 7, 7 і 6 жінок. Хворих з I стадією виявлено 14 осіб, з II - 14; III - 16 і IV - 15.

Методика дослідження фосфоресценції сироватки крові хворих на рак товстої кишки та аденокарциному шлунка включала два етапи.

Перший етап. Загальноприйнятий у медичній практиці забір крові (5,0 мл) із ліктьової вени хворих та отримання сироватки крові шляхом центрифугування отриманої цілісної крові.

Другий етап. Спостереження і аналіз спектрів фосфоресценції за авторською методикою.

Авторська методика

Дослідження інтенсивності люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові виконувалось після збудження її джерелом світла спектрофлуориметричним методом наступним чином: на кварцеву пластину розміром 5 * 45 мм наносили 50 мкл сироватки крові й Юмкл 3% розчину люмінола і поміщали в термостат. При температурі 30 °C краплини сироватки крові висушувалися протягом 20 хвилин з утворенням твердої плівки. Після цього кварцеву пластину з висушеною сироваткою крові розташовували у фосфороскопі люмінесцентного комплексу

су і вимірювали інтенсивність (I) фосфоресценції. Джерелом збуджуючого світла була ртутна лампа ДРК-120. За допомогою монохроматора ДМР-4 виділялися спектральні лінії з такими довжинами хвиль: λ^* , = 297; 313; 334; 365; 404 і 434 нм. Кванти світла поглиналися плівкою сироватки крові з подальшим випромінюванням квантів післясвітіння (фосфоресценції), що фіксується за допомогою фотоелектронного помножувача (ФЕП-ІЗО). Ширина вихідної щілини монохроматора була 2 мм. Максимальна спектральна чутливість ФЕП відзначалася в ультрафіолетовій і видимій частинах спектра. Реєстрація фосфоресценції здійснювалась при кімнатній температурі в режимі підрахунку фотонів лічильником фотонів СБС-2. Усі процедури вимірювання були автоматизовані, похибка не перевищувала в усіх випадках 3%.

У табл. 1 наведені *результати інтенсивностей люміналі-підсиленої фосфоресценції сироватки крові хворих на КРР та умовно здорових пацієнтів зачежно віо стати.*

Дослідження інтегральної інтенсивності фосфоресценції сироватки крові умовно здорової групи спостереження виявило, що при довжині хвилі збудження $\lambda \gg = 2^{\wedge}7$ нм рівні інтенсивностей перебувають у межах від 3 000 до 3 500 імп/с; при $\lambda^* = 313$ нм - від 280 до 350 імп/с; при $\lambda \gg = 334$ нм - від 600 до 700 імп/с; при 365 нм - від 1 700 до 1 800 імп/с; при $\lambda^* = 404$ нм - від 450 до 550 імп/с і при $\lambda \phi = 434$ нм від 550 до 650 імп/сек. Вірогідної різниці в інтенсивностях фосфоресценції між чоловіками (202 особи) і жінками (284 особи) не виявлено.

При вивченні люміналі-підсиленої фосфоресценції плівок сироватки крові хворих на КРР встановлено найбільш високі рівні післясвітіння порівняно з умовно здоровими пацієнтами в ультрафіолетовій $\lambda^{\wedge} - 297$ нм і видимій $\lambda \gg = 404$ та 434 нм ділянках збуджуючого світла.

Так, при збудженні світлом з довжиною хвилі $\lambda_{,;} = 297$ нм інтенсивність фосфоресценції у чоловіків і жінок підвищувалась на 86,4 і 96,2% відповідно порівно з референтною групою, при $\lambda_{,y} = 404$ нм - на 276,7 і 279,1%; при $\lambda \gg = 434$ нм - на 197,7% і 205,3%. Світлове збудження при довжинах хвиль $\lambda_{,ii} = 313$ нм і 334 нм суттєво не впливало на квантовий вихід фосфоресценції сироватки крові. Так, при $\lambda_{ii} \sim 313$ нм спостерігалось підвищення інтенсивності фосфоресценції на 31,5 і 21,2%; при $\lambda_{,i} = 33$ нм на - 32,2 і 22,2%. відповідно у чоловіків та жінок. Інтенсивність фосфоресценції в ділянці спектральної смуги збудження $\lambda = 365$ нм підвищувалась у чоловіків на 67,7% у жінок на 66,8%. Вірогідної різниці між інтенсивностями фосфоресценції сироватки крові у чоловіків і жінок не виявлено при аналізі всіх спектральних ліній збудження.

Динаміка фосфоресцентного післясвітіння сироватки крові у хворих на КРР підтвердила, що в складній досліджуваьній багатоконпонентній системі є реакційно здатні молекули з високими рівнями електронних збуджених станів. Ці дані свідчать про те, що у хворих на КРР відмічається глибока внутрішньомолекулярна перебудова білків, зміна конформації макромолекул і міжмолекулярної взаємодії, які поєднані з накопиченням у сироватці крові великої кількості молекул із триплетним збудженим станом. Енергія цих молекул витрачається на

утворення тепла, безвипромінювальні переходи, передачу енергії іншим молекулам, фотохімічні реакції і випромінювання кванта фосфоресценції. Визначення високих рівнів фосфоресценції сироватки крові в ультрафіолетовій і видимій ділянках світла вказує на зміну конформаційних властивостей білкових молекул, пов'язану з окислювальною модифікацією протеїнів та розвитком мембранної патології. Структурна перебудова білків обумовлена втратою компактної структури макромолекули, вивільненням фосфоресцируючих амінокислотних залишків, тирозину і триптофану, та свідчить про порушення структурно-функціональної організації білків сироватки - крові, білків-ферментів, білків-гормонів та ін. Довжина хвилі збудження $\lambda_{,6} = 404$ нм. на якій спостерігалася найбільш висока різниця в рівнях фосфоресценції між хворими і умовно здоровими пацієнтами відповідає максимуму спектра поглинання гемоглобіну і може свідчити про втрату цим білком компактної структури і функціональної активності, що може бути наслідком розвитку тканинної гіпоксії.

Таблиця 1

Інтенсивність люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові хворих на КРР і умовно здорових пацієнтів в залежності від статі

Довжина хвилі збуджуючого світла λ (нм)	Інтенсивність фосфоресценції (I, імпл/с), M \pm t			
	Хворі на КРР		Умовно здорові пацієнти	
	Чоловіки n=142	Жінки n=97	Чоловіки n=202	Жінки n=284
297	5884.6 \pm 297,2*	6403,5*348,3'	3156,7 \pm 128,4	3263,5 \pm 145,7
313	405.8 \pm 32,6*	396,7 \pm 41.5*	308,4 \pm 22.5	327.2 \pm 16,8
334	846.3 \pm 28,8*	S15.9 \pm 38.4*	640,3 \pm 47,8	667,5 \pm 31.4
365	2996,4 \pm 123,8*	2893,7 \pm 158,6*	1786,5 \pm 61,7	1734,6 \pm 56,8
404	1873,5 \pm 67,4	1946,4 \pm 73,5*	497,3 \pm 36,5	513,4 \pm 42,3
434	1734,8 \pm 792*	1846,5 \pm 63,7*	582.6 \pm 28,4	604,7 \pm 33,5

Примітка:* - різниця вірогідна порівняно і умовно здоровими. $p < 0,05$

Дослідження інтенсивності фосфоресценції у хворих на КРР залежно від локалізації пухлинного процесу виявило подібну її динаміку в усіх групах спостереження (табл. 2). Найбільш високі рівні фосфоресценції спостерігались при довжині хвилі збуджуючого монохроматичного світла $\lambda^{\wedge} = 297$ нм. Інтенсивність фосфоресценції сироватки крові при цьому підвищувалась на 94,7, 107,8, 86,8 і 109,6% відповідно у хворих на РГК, РПОК, РСЛК і РСигК порівняно з референтною групою. При довжині хвилі збудження $\lambda_{,6} = 404$ нм інтенсивність підвищувалась в 3,8; 3,7; 3,6; рази, тобто на 279,2, 271.4, 274,8. 258.6% відповідно у хворих на РПК, РПОК. РСЛК і РСигК порівняно з групою умовно здорових пацієнтів. Меншою мірою спостерігалася різниця в рівнях фосфоресценції при довжинах хвиль збудження $\lambda_{\Lambda} = 313$ нм, 334 нм і 36 нм. Так, при $\lambda_{,} = 313$ нм інтенсивність зростала на 29,2. 46,2. 37,6 і 52.1%; при $\lambda^* = 334$ нм - на 26,7, 29,4, 23.4% і 21,7; при $\lambda = 365$ нм - на 67,2, 61,0. 71,2 і 62,9% відповідно у хворих РПК. РПОК. РСЛК, РСигК.

**Інтенсивність люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові
хворих на КРР і умовно здорових пацієнтів
залежно від локалізації пухлин**

Довжина хвилі збуджуючого світла λ^* (нм)	Інтенсивність фосфоресценції (1, імп/с). М±т				
	Хворі на КРР (чол + жін) n=223				Умовно здорові (n=486)
	РПК (11=54)	РПОК (n=66)	РСЛк (n=27)	РСигК (n=62)	
297	6253,41387 5	6673.21318.7"	5997.8*364,5"	6731,41356 7"	3210,71137,5
313	410 6173,8*	465,7154,3*	437 6165.7*	483.5±76.8*	317,8±19 6
334	825.7159.3*	846 2145 8'	807.4153.6*	796,3±68.4*	653.9139.6
365	2945.3±178,4	2835 41126.3*	3014 5±186,3'	2868.7±154.3*	1760.5±59,2
404	1916,21128.6	1876,71105,4*	1894 3±145,8·	1812.41133,6*	505.3139,4
434	1784,61132.5	1843 6198.5"	1826 41103,7*	1938.611452*	593,6±30,9

Примітка * - різниця вірогідна порівняно з умовно здоровими, p: 0.05

У табл. 3 наведені *результати дослідження інтенсивностей фосфоресценції сироватки крові у хворих на КРР шчежно від ступеня тямкості захворювання (I. IV стадії)*

Таблиця 3

**Інтенсивність люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові
хворих на КРР залежно від стадії розвитку пухлинного процесу**

Довжина хвилі збуджуючо- го світла λ^* (нм)	Інтенсивність фосфоресценції (I, імп/с), MIm				Умовно здорові (n=486)
	Стадії КРР η				
	I (n=28)	II (n=56)	III (n=122)	IV (n=33)	
297	5706,31127,5*	6157,81104,5'	6508,31118,6*	6837,41162,7*	3210,71137,5
313	394.8123.6'	415,6132,7*	488,9142,7*	520.6143,8'	317.8119.Є
334	762.5133,8'	794,3126.5*	825,6153,2*	863.7129 4*	653 9139,6
365	2796,8175,3'	2837,6183,4*	2925 8177,4*	3097,61105,8"	1760,5159,2
404	1754,6156,3*	1814,3±76,S"	1897,2183,6"	1972,4163.5	505.3139.4 J
434	1710,3164.5*	1794,8+73,6*	1923.81105,4*	1586,7184.3'	593.6130 9

Примітка.* різниця вірогідна порівняно з умовно здоровими. p=0.05

Рівні інтенсивностей фосфоресценції сироватки крові хворих на КРР в умовах збудження монохроматичним світлом довжиною хвилі $\lambda^{\wedge} = 297$ нм підвищувались на 77,7, 91,7, 102,3 і 112,3%; при $\lambda^* = 313$ нм - на 24,2, 30,7, 53,8 і 63,8%; при $\lambda^{\wedge} = 334$ нм - на 16,6, 21,4, 26,2 і 32,0%; при $\lambda^{\wedge} = 365$ нм - на 58,8, 61,2, 66,2 і 75,9%; при $\lambda^* = 404$ нм - на 247,2% (в 3,5 рази), 259,5% (в 3,6 рази), 275,0% (в 3,75 рази) і 290,3% (в 3,4 рази); при $\lambda^* = 434$ нм - на 188,1% (в 2,9 рази), 102,3% (в 3,02 рази), 224,1% (в 3,24 рази) і 234,6% (в 3,35 рази) відповідно до I; II; III та IV стадій пухлинного процесу порівняно з умовно здоровими пацієнтами. Звертає на себе увагу той факт, що відзначалось підвищення інтенсивності фосфоресценції більше ніж на 200% при спектрах збудження 404 і 434 нм. Суттєвим було і підвищення рівнів фосфоресценції при довжині хвилі збудження $\lambda^* = 297$ нм.

Вплив на сироватку крові збуджувачим світлом $5 \lambda_{\Delta} = 365$ нм виявило підвищення інтенсивності фосфоресценції більше ніж на 60% порівняно з групою умовно здорових пацієнтів. В усіх групах спостереження і при різних спектральних лініях збудження спостерігалась залежність між інтенсивністю фосфоресценції і стадією розвитку пухлинного процесу.

Дослідження свідчать, що виникнення при даних хвилях збудження значної кількості молекул у триплетному стані може вказувати на роз'єднання окислювального фосфорилування і тканинного дихання, гальмування процесів біоенергетики, які супроводжуються неефективним використанням енергії, розсіюванням її у вигляді тепла, зниженням продукції АТФ, що є характерним для мітохондріальної патології. Присутність високих енергетичних рівнів збуджених електронних станів, обумовлених наявністю неспарених електронів у активній молекулі, вказує на зміну реакційної здатності й конформаційних властивостей білків, нуклеїнових кислот та інших біологічно активних молекул-ферментів, гормонів. Відомо, що фотони ультрафіолетового спектра поглинаються в основному ароматичними амінокислотами (тирозин - при $\lambda_{\text{тм}}^{\text{тм}} = 280$ нм, триптофан - при $\lambda_{\text{тп}} = 220$ нм), білками $\lambda_{\text{погл}} = 280-300$ нм), нуклеїновими кислотами і нуклеотидами ($\lambda_{\text{пол}} = 260$ нм), які можуть бути присутні в сироватці крові. Аналіз результатів дозволяє судити про те, що у хворих на КРР спостерігаються глибокі структурно-метаболичні і конформаційні зміни з боку великих полімерних молекул й їх мономерних компонентів. Підвищення у видимій ділянці світла ($\lambda = 404$ 434 нм) інтенсивності фосфоресценції сироватки крові може вказувати на зростання в ній рівня позаеритроцитарного гемоглобіну, порушення його компактної структури, конформаційних властивостей і вмісту гемінів ($\lambda = 404$ нм), як результат розвитку у хворих на КРР вільно радикальної мембранної патології, що лежить в основі формування гіпохромної анемії при канцерогенезі.

У табл. 4, 5, 6 наведені результати дослідження інтенсивностей іомінолпосійеної фосфоресценції сироватки крові у хворих на аенокарциному шлунка залежно від статі, локалізації пухлини й стадії захворювання віОновібно.

Так, залежно від статі (*табл -1*) порівняно з референтною групою спостерігалось підвищення інтенсивностей у чоловіків на 94,5%; 41,9%; 44,5%; 73,95%; 286,8%; 217,9% при спектральних лініях збудження, відповідно λ^{\wedge} = 297; 313; 334, 365; 404 і 434 нм. У жінок інтенсивність фосфоресценції при тих же довжинах хвиль збудження підвищувалась на 93,2%, 33,7%, 29,6%, 67,4%, 286,7% і 216,7%. Найбільш значущими були показники фосфоресценції при лініях судження = 297 нм, 404 нм і 434 нм.

Таблиця -1

Інтенсивність люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові хворих на аденокарциному шлунка залежно від статі

Довжина хвилі збуджувачого світла λ^{\wedge} (нм)	Інтенсивність фосфоресценції (I, імп/с). М \pm т			
	Хворі		Умовно здорові	
	Чоловіки (n=33)	Жінки (n=26)	Чоловіки (n=202)	Жінки (n=284)
297	6142,4 \pm 310,7*	6307,5 \pm 284,7*	3156,7 \pm 128,4	3263,5 \pm 145,7
313	437,8 \pm 40,6*	450,6 \pm 50,8*	308,4 \pm 22,5	327,2 \pm 16,8
334	925,3 \pm 37,8**	865,2 \pm 43,5*	640,3 \pm 47,8	667,5 \pm 31,4
365	3106,8 \pm 135,7*	2904,3 \pm 166,7*	1786,5 \pm 61,7	1734,6 \pm 56,8
404	1923,8 \pm 76,5*	1980,2 \pm 94,3*	497,3 \pm 36,5	513,4 \pm 42,3
434	1852,3 \pm 68,7*	1915,6 \pm 71,4'	582,6 \pm 28,4	604,7 \pm 33,5

Примітка: * - різниця вірогідна порівняно і умовно здоровими, $p < 0,05$

При аденокарциномі шлунка не встановлено (табл. 5) вірогідної різниці у рівнях фосфоресценції як між чоловіками і жінками, так і залежно від локалізації пухлини. Показниковими були величини інтенсивностей фосфоресценції при довжинах хвиль збуджуючого світла $\lambda^* = 297; 404$ і 434 нм. Так, при аденокарциномі тіла шлунка, кардіального і субкардіального відділу інтенсивність фосфоресценції сироватки крові підвищувалась на 98.7% (в 1,98 рази); 95,4% (в 1.93 рази) при довжині хвилі збудження $\lambda_v = 297$ нм порівняно з референтною групою. Збуджуюче світло з $\lambda^* = 313; 334$ і 365 нм не давало статистичної різниці в інтенсивностях фосфоресценції сироватки крові хворих і умовно здорових (табл. 5). Слід зазначити, що в усіх випадках при довжинах хвиль збудження $\lambda = 404$ і 434 нм рівень інтенсивностей фосфоресценції зростав більше ніж на 200% (табл. 5).

Таблиця 5

інтенсивність люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові хворих на аденокарциному шлунка залежно від локалізації пухлин

Довжина хвилі збуджуючого світла λ^* , (нм)	Інтенсивність фосфоресценції (1, імп/с), М \pm т			
	Хворі на рак шлунка (чол.±жін), n=59, локалізація			Умовно здорові (n=486)
	Тіло шлунка (n=32)	Кардіальний, субкардіальний відділ (n=11)	Пре- і пілоричний відділ (n=16)	
297	6382,7±354,8*	6273,8±295,7*	6185,4±3057*	3210,7±137,5
313	449,5±62,3*	478,4±46,7*	463,7±72,8*	317,8±19,6
334	873,6±52,4*	905,3±76,8*	893,7±65,4*	653,9±39,6
365	296S,8±195,6"	2826,4±163,7"	2896,3±172,8"	1760,5±59,2
404	1994,7± 135,2*	1987,3±148,6*	1956,2±129,4*	505,3±39,4
434	1920,4H 46,7*	1910,8±148,9*	1835,6±123,6*	593,6±30,9

Примітка:* - різниця вірогідна порівняно з умовно здоровими, р<0.05

Так, при $\lambda_{\text{в}} = 404$ нм інтенсивність фосфоресценції сироватки крові хворих на рак тіла шлунка, кардіальною і суокардіального, пре- і цілорічного відділів порівняно з референтною групою підвищувалась відповідно на 294,7% (в 3,95 рази); 293,2% (в 3,93 рази); 287,1% (в 3,9 рази); при $\lambda_{\text{в}} = 434$ нм - на 223,5% (в 3,24 рази); 221,9% (в 3,22 рази); 209,7% (в 3,1 рази). Аналіз досліджень підтвердив, що локалізація пухлинного процесу при аденокарциномі шлунка практично не впливає на рівень фосфоресценції ($p < 0.05$).

Чітка залежність інтенсивності фосфоресценції спостерігалась від стадії розвитку канцерогенезу (таб.ч. б).

Таблиця 6

Інтенсивність люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові хворих на аденокарциному шлунка залежно від стадії онкопатології

Довжина хвилі збуджуючого світла λ^* (нм)	Інтенсивність фосфоресценції (I, імп/с). $M \pm \sigma$				Умовно здорові (n=486)
	Стадія аденокарциноми шлунка (п)				
	I (n=14)	II (n=14)	III (n=16)	IV (n=15)	
297	5204,2±128,6*	5865,7±122,4*	6673,4±98,2*	6808,3±154,3*	3210,7±137,5
313	378,6±30,5*	452,3±42,6'	510,7±29,3*	560,5±42,7*	317,8±19,6
334	734,3±127,6'	760,5±37,4*	838,6±25,4*	927,4±36,5"	653,4±39,6
365	2692,7±64,3*	2824,5±72,3*	2972,4±83,6*	3116,8±94,2*	1760,5±59,2
404	1653,7±46,5"	1826,8±66,4*	1943,6±58,7'	2012,6±70,3*	505,3±139,4
434	1698,6±53,2*	1783,7±46,4*	1852,3±65,2*	1996,5±182,7*	593,6±30,9

Примітка.* - різниця вірогідна порівняно і умовно здоровими. $p < 0,05$

Найбільш високі її рівні відмічались при довжинах хвиль збудження монохроматичним світлом $\lambda_{06} = 297; 404$ і 434 нм. Так, при $\lambda_{06} = 297$ нм інтенсивність фосфоресценції підвищувалась порівняно з групою умовно здорових пацієнтів на 62.1%; 82.6%; 107.8% і 112.5% відповідно у хворих з I, II, III, IV стадіями пухлинного росту. Подібна динаміка фосфоресцентного післясвітіння виявлена і при $\lambda_{06}^* = 404$ і 434 нм. Так, інтенсивність фосфоресценції при $\lambda_{06} = 404$ нм підвищувалась на 227.2% (в 3,3 рази); 261.5% (в 3,6 рази); 284,4% (в 3.8 рази); 298,2% (в 3.98 рази) відповідно при I, II, III і IV стадіях онкозахворювання; при $\lambda_{06}^* = 434$ нм цей показник зростав на 186,1% (в 2.86 рази); 200.4% (в 3,0 рази); 212.1% (в 3,1 рази); 236,3% (в 3.4 рази). Як бачимо, встановлена в усіх випадках пряма залежність інтенсивності фосфоресценції від ступеня тяжкості перебігу хвороби.

Вивчення інтенсивності фосфоресценції сироватки крові хворих на КРР і аденокарциному шлунка дозволяють виявити порушення структурних і конформаційних властивостей біологічно важливих макромолекул (білків, нуклеїнових кислот, гемоглобіну, глікопротеїнів та ін.). Присутність шочної кількості електронно збуджених молекул, що здатні активувати вільнорадикальні процеси і роз'єднувати окислювальне фосфорилування формують енергетичний голод, тканинну гіпоксію і мембранно-молекулярну патологію, яка є патогенетичним чинником розвитку канцерогенезу товстого кишечника та шлунка. Рівні інтегральної інтенсивності люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові при довжинах хвиль збудження $\lambda_{06} = 297; 404; 434$ нм можуть бути прогностично значущими показниками в діагностиці ступеня тяжкості захворювання, стану біоенергетичних процесів і визначення, вибору об'єму хірургічного втручання та патогенетичної терапії. Високі рівні інтенсивностей фосфоресценції на першій стадії канцерогенезу свідчать про досить тривалий термін існування зміни компактної структури і біологічної активності білків, що передують розвитку пухлинного процесу та є прогностичним чинником розвитку онкопатології і раннім діагностичним її критерієм.

Завдяки високій чутливості та інформативності фосфоресценції, у хворих на КРР і аденокарциному шлунка виявлено в сироватці крові наявність білкових молекул з їх втратою компактної структури, а звідси і біологічної активності. Суттєве підвищення інтегральної інтенсивності фосфоресценції на ранніх стадіях розвитку канцерогенезу та незначне, але динамічне її зростання в процесі формування тяжкості перебігу хвороби свідчить, що цей патологічний стан розвивається на фоні існуючих давніх порушень конформаційної структури білків і наявності мембранної патології, яка супроводжується інгібуванням біоенергетичного гомеостазу. Прогностично значущими монохроматичними спектральними хвилями збудження при оцінці стану біологічної активності сироваткових білків були $\lambda_{06} = 297$ нм; 404 нм і 434 нм, на яких прослідковується зміна третинної структурно-функціональної організації макромолекул (білків, нуклеїнових кислот, гемоглобіну та ін.), що відіграє важливу роль у патогенезі розвитку онкозахворювань. Одержані результати підтверджують можливість визначити за допомогою фосфоресценції наявність структурно-метаболічної основи формування канцерогенезу ще на етапах розвитку передпатологічних станів при донозологіч-

ній діагностиці онкопатології. Результати дослідження вказують на те, що конформаційна рухливість білкової молекули може бути чутливим показником визначення біологічної активності сироватки крові й перспективним методичним підходам ранньої діагностики і профілактики онкозахворювань. Визначення агрегації білків, втрати їх компактної структури, підвищення жорсткості макромолекул і втрата біологічної активності сироватки крові поєднані з активацією фосфоресценції сироватки крові, що може мати вирішальне значення для ранньої донозологічної діагностики канцерогенезу.

4. Висновки та практичні рекомендації

Підвищення інтегральної інтенсивності фосфоресценції сироватки крові свідчить, що у онкохворих відбуваються внутрішньомолекулярні процеси перебудови макромолекул, які поєднані з накопиченням великої кількості молекул у триплетному збудженому стані з двома неспареними електронами на зовнішній орбіті. Ці молекули з часом випромінюють квант енергії і переходять на низький незбуджений синглетний рівень. При опроміненні сироватки крові світлом із довжинами хвиль $\lambda = 404$ і 434 нм поява підвищеної кількості молекул у триплетному стані може вказувати на роз'єднання окислювального фосфорилування і тканинного дихання, що завжди супроводжується розсіюванням теплової енергії та розвитком мітохондріальної патології, які є патогенетичними чинниками формування канцерогенезу. Зростання інтенсивності фосфоресценції сироватки крові у хворих на КРР і аденокарциному шлунка при дії збуджуючого світла з довжиною хвилі $\lambda^* = 404$ нм віддзеркалює підвищення наявності вільних гемінів - небілкових компонентів гемоглобіну, що підтверджує втрату цим білком компактною структури і біологічної активності. Підвищення фосфоресцентного світіння сироватки в ультрафіолетовій ділянці збудження $\lambda = 297$ нм вказує також на високі рівні триплетних збуджених станів молекул та свідчить про зміну компактною структури білків і нуклеїнових кислот.

При оцінці компактності структури і біологічної активності сироватки крові інформативними були монохроматичні спектральні хвилі збудження з довжинами $\lambda^* = 297$; 404 і 434 нм. При довжині хвилі збудження $\lambda = 297$ нм фізіологічні рівні інтенсивностей люмінол-підсиленої фосфоресценції сироватки крові знаходяться в межах $3\ 070$ до $3\ 350$ імп/с; при $\lambda^* = 404$ нм - від 460 до 540 імп/с і при $\lambda_{-jj} = 434$ - від 560 до 630 імп/с.

Дослідження виявили, що у хворих на КРР і аденокарциному шлунка (398 пацієнтів) рівні інтенсивностей фосфоресценції сироватки крові при $\lambda = 297$ нм при I, II, III та IV стадіях пухлинного процесу були відповідно в межах від $5204,2 \pm 128,6$ до $5706,3 \pm 127,5$ імп/с; від $5865,4 \pm 122,4$ до $6157,8 \pm 140,5$ імп/с; від $6508,3 \pm 118,6$ до $6673,4 \pm 98,2$ імп/с і від $6808,3 \pm 154,3$ до $6837,4 \pm 162,7$ імп/с, тоді як фізіологічні показники фосфоресценції були в межах від $3\ 070$ до $3\ 350$ імп/с. В усіх випадках стадійності розвитку пухлин спостерігалась фосфоресценція білків з інтенсивністю більше ніж $5\ 000$ імп/с, досягаючи при IV стадії канцерогенезу рівня $6837,4 \pm 162,7$ імп/с. Зростання інтенсивності при $\lambda_{...} = 297$ нм від верхньої межі фізіологічного рівня $3348,2$ імп/с до величини $5204,2 \pm 128,6$ імп/с (I стадія) ще не супроводжувалася стадійністю розвитку пухлин, проте вказує на порушення конформаційної структури білків і свідчить про формування передракового стану, який характеризується зміною метаболічної активності сироватки крові та її макромолекулярних полімерних субстратів. Ці дані свідчать про можливість донозологічної діагностики передракового метаболічного стану організму, який передедує розвитку онкопатології.

Аналіз фосфоресценції сироватки крові при $\lambda = 404$ нм підтвердив, що при I стадії розвитку пухлини рівні її інтенсивностей були в межах від $1653,7 \pm 46,5$ до $1754,6 \pm 56,3$ імп/с; при II - від $1818,3 \pm 76,8$ до $1826,8 \pm 66$ імп/с, при III - від $1897,2 \pm 83,6$ до $1943,6 \pm 58,7$ імп/с та при IV стадії хвороби від $1972,4 \pm 63,5$ до $2012,6 \pm 70,3$ імп/с. Результати дослідження вказують, що при $\lambda_{\text{ф}} = 404$ нм стадійність розвитку пухлини спостерігалась у межах від $1653,7 \pm 46,5$ до $2012,6 \pm 70,3$ імп/с. Зростання інтенсивності фосфоресценції при $\lambda^* = 404$ нм від верхньої межі фізіологічного рівня 544 імп/с до $1653,7 \pm 46,5$ імп/с (I стадія) ще не супроводжувалось розвитком стадійності пухлини, проте свідчило про наявність передракового метаболічного стану, що передує формуванню канцерогенезу.

Інтенсивність фосфоресценції при $\lambda_{\text{ф}} = 434$ нм при I стадії канцерогенезу була в межах від $1698,6 \pm 53,2$ до $1710,6 \pm 64,5$ імп/с; при II - від $1783,7 \pm 46,4$ до $1794,8 \pm 73,6$ імп/с; при III - від $1852,3 \pm 65,2$ до $1938,8 \pm 105,4$ імп/с та при IV стадії розвитку пухлини від $1986,7 \pm 84,3$ до $1996,5 \pm 82,7$ імп/с. Результати дослідження вказують, що при $\lambda^* \sim 434$ нм інтенсивність фосфоресценції підвищується від $1698,6 \pm 53,2$ до $1996,5 \pm 82,7$ імп/с. відповідно для I і IV стадій канцерогенезу. В межах інтенсивності фосфоресценції від верхнього фізіологічного рівня $624,5$ імп/с до $1698,6 \pm 53,2$ імп/с ріст пухлин не спостерігався, проте це також свідчило про значні порушення компактної структури білків, активності сироватки крові і наявність передракового метаболічного стану. Слід відмітити, що інтенсивність фосфоресценції динамічно зростала при $\lambda^* = 297$ нм. $\lambda \gg 404$ нм і $\lambda^{\wedge} = 434$ нм в усіх випадках, починаючи з I і закінчуючи IV стадією розвитку пухлин та мала високий кореляційний зв'язок із тяжкістю перебігу хвороби (табл ?).

Таким чином, фосфоресценція як високочутливий метод дослідження здатна на ранніх стадіях розвитку пухлинного процесу діагностувати наявність протеїнопатії, яка виступає патогенетичним чинником формування канцерогенезу і може бути застосована в клінічній онкологічній практиці. Оцінка за допомогою фосфоресценції конформаційної структури білків та метаболічної активності сироватки крові є прогностичним донозологічним критерієм діагностики передракових станів, які передують розвитку пухлинного процесу.

**Референтні рівні інтенсивності
люмінол-підсиленої фосфоресценції
при діагностиці онкопатології (імп/с)**

Довжина хвилі збуджуючого світла λ , нм	Фізіологічні рівні інтенсивності фосфоресценції (імп/с), (n=486)	Порушення конформації структури білків і метаболічної активності сироватки крові	
		Передраковий метаболічний стан - розвиток онкопатології (донозологічна діагностика)	Стадії розвитку пухлин від I до IV включно (n=398)
$\lambda_{\delta} = 297$ нм	інтервал від 3070.0 до 3350,0: середнє вибіркоче 3210,7+137.5	від 3210,7±137,5 до 5204.2±128.6 (імп/с)	від 5204,2+128.6 до 6837.4± 162,7 (імп/с)
$\lambda_{\mu} = 404$ нм	інтервал від 460 до 540: середнє вибіркоче 505,3±39,4	від 505,3±39.4 до 1653,7±46,5 (імп/с)	від 1653,7±46,5 до 2012±70.3 (імп/с)
$\lambda_{\sigma} = 434$ нм	Інтервал від 560 до 630; середнє вибіркоче 593,6±30,9	від 593,6+30.9 до 1698,6±53,2 (імп/с)	від 1698,6±53,2 до 1996.5±82,7 (імп/с)

5. ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Багнич С.А. Влияние матрицы на фосфоресценцию ароматических соединений в пористых золь-гелевых стеклах / С.А. Багнич, И.М. Мельниченко, В.Н. Нодденежный // Опт. и спектр. 1995. Т. 79. №6. С. 936-941.
2. Зайцева О.В. Изучение фосфоресценции сыворотки крови больных колоректальным раком и ее диагностическое значение / О.В. Зайцева, В.И. Жуков, С.В. Перепади, А.С. Моисеенко, Ю.А. Винник // У Вісник проблем біології і медицини. 2010. -Вип. 3. -С. 136-141.
3. Левшин Л.В. Люминесценция и ее измерения. Молекулярная люминесценция / Л.В. Левшин, А.М. Сапецкий И.М. Изд-во МГУ. 1989. 272 с.
4. Летута Г.Н. Кинетика замедленной флюоресценции - как метод диагностики рака молочной железы / С.Н. Легута, В.С. Маряхина // Матер. VI Междунар. науч.-технич. конф. «Актуальные вопросы теоретической и прикладной биофизики, физики и химии». Севастополь, 2010. С. 222-224.
5. Мажуль В.М. Фосфоресценция при комнатной температуре аморфных агрегатов и амилоидных фибрил, образующихся в результате неправильного фолдинга белков / В.М. Мажуль, Е.М. Зайцева, М.М. Шавновский [и др.] // Цитология. 2005. Т. 47, №1 - С. 978-987.
- (>) Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия рака - новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей / А.Ф. Миронов // Соросовский образовательный журнал. 1996. №8. С. 32-39.
7. Рехарская Е.М. Фосфоресценция некоторых лекарственных препаратов нафталинового ряда в водных средах / Е.М. Рехарская, Т.В. Поленова, А.Г. Борзенко // Вести. Моек. ун-та. Сер. 2. Химия. 2004. Т. 45. №2. С. 112-116.