

Флуоресцентная спектроскопия плазмы крови и спинномозговой жидкости для диагностики глиом головного мозга

© П.К. Нурғалиева¹, О.П. Черкасова^{2,3}, Б.П. Якимов^{1,4}, Е.В. Ступак⁵, В.М. Готов⁵,
В.В. Ступак⁵, Е.А. Ширшин¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

² Институт автоматизации и электрометрии СО РАН,
Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный технический университет,
Новосибирск, Россия

⁴ Лаборатория клинической биофотоники, научно-технический парк биомедицины,
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
Москва, Россия

⁵ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна,
Новосибирск, Россия

e-mail: nurgalieva.pk17@physics.msu.ru

Поступила в редакцию 27.01.2025 г.

В окончательной редакции 05.02.2025 г.

Принята к публикации 07.04.2025 г.

Исследована возможность применения флуоресцентной спектроскопии плазмы крови и спинномозговой жидкости для диагностики глиом головного мозга. Обнаружено, что отношение вкладов аминокислотных остатков тирозина и триптофана в сигнал автофлуоресценции плазмы крови понижено для пациентов с онкозаболеванием относительно контрольной группы, в качестве которой выступали пациенты с черепно-мозговыми травмами. При возбуждении в области 320 нм наблюдался сдвиг в длинноволновую область спектров флуоресценции плазмы крови пациентов с опухолями 4-й степени злокачественности относительно группы пациентов с меньшей степенью. Также было установлено, что анализ параметров кинетики затухания флуоресценции спинномозговой жидкости при возбуждении в области 280 нм позволяет разделить образцы пациентов с глиомами и контрольной группы.

Ключевые слова: автофлуоресцентная спектроскопия, время-разрешенная флуоресцентная спектроскопия, плазма крови, спинномозговая жидкость.

DOI: 10.61011/OS.2025.05.60794.31-25

1. Введение

Онкологические заболевания головного мозга являются одними из самых сложных для ранней диагностики и выбора тактики лечения, характеризуются агрессивным течением и плохим прогнозом. По частоте появления глиомы составляют около 80% злокачественных опухолей головного мозга [1]. Примерно в 48% случаях всех глиом диагностируется самая агрессивная форма опухоли, называемая мультиформной глиобластомой (ГБ) (G4) [2]. Прогноз у пациентов с первично выявленной ГБ в настоящее время неутешительный, а медиана выживаемости в среднем составляет чуть более одного года [3]. Основная проблема заключается в поздней постановке диагноза, когда прогноз излечения неблагоприятен [4]. Актуальным является выявление злокачественной опухоли на раннем этапе. Однако применяемые в настоящее время методы визуализации, такие, как магнитно-резонансная томография [5], компьютерная томография [6], позитрон-эмиссионная томография [7] неэффективны при малом размере опухоли

и не могут быть использованы для ранней диагностики. Вместе с тем при возникновении и развитии раковой опухоли значительно изменяется молекулярный состав жидкостей организма [8]. Например, было показано, что при развитии глиом в кровь, спинномозговую жидкость (СМЖ), слюну и другие жидкости организма выделяются различные биомаркеры [9]. Это могут быть опухолевые клетки, циркулирующие дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая кислоты (РНК), микроРНК, экзосомы, содержащие генетический материал опухоли, различные белки и метаболиты. Биомаркеры могут быть обнаружены в жидкостях организма еще до появления диагностических признаков онкологии. Наивысшие концентрации биомаркеров обнаружены в СМЖ.

Методы оптической спектроскопии позволяют проводить исследования жидкостей организма без каких-либо дополнительных трудоемких процедур подготовки образцов. При этом в качестве индикативного признака можно использовать эндогенный контраст, т.е. сигнал, исходно присутствующий у молекул биожидкостей — например, колебательные спектры или автофлуорес-

ценцию. Известно применение методов колебательной спектроскопии таких, как инфракрасная [10,11] и терагерцовая [12] спектроскопия, а также спектроскопия комбинационного рассеяния света [13] для диагностики глиом, дифференциации глиобластомы от черепно-мозговых травм [14], а также для контроля эффективности хирургической операции по удалению опухоли по анализу сыворотки или плазмы крови [15]. В то же время возможности сигнала автофлуоресценции биожидкостей для диагностики глиом головного мозга остаются малоисследованными.

Автофлуоресцентная спектроскопия биожидкостей является эффективным методом диагностики заболеваний благодаря наличию селективно возбуждаемых эндогенных флуорофоров, флуоресцентный сигнал которых чувствителен к протеканию патологических процессов. Одним из наиболее перспективных объектов для диагностики является плазма крови, так как в ней содержится большое количество флуорофоров-маркеров, выделяемых в кровь при развитии патологии. Благодаря высокой скорости проведения измерения и его малоинвазивному характеру флуоресцентная спектроскопия плазмы крови обладает значительным потенциалом для применения в клинической практике. В ряде работ было продемонстрировано успешное применение флуоресцентной спектроскопии плазмы крови для диагностики онкологических заболеваний [16–18]. При рассмотрении заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) большую клиническую значимость имеет СМЖ, так как она содержит более высокие концентрации специфических биомаркеров, позволяющих устанавливать диагноз на ранней стадии развития патологии. В отличие от спектроскопии плазмы крови исследование оптических свойств СМЖ является инвазивной методикой, что ограничивает ее применение. Методами молекулярной биологии было выявлено 14 метаболитов, обнаруженных в СМЖ, достоверно связанных с риском развития глиобластомы. Эти метаболиты относятся к различным биохимическим классам, включая липиды, витамины, аминокислоты, нуклеотиды и ряд других, что подчеркивает многофакторную природу развития и прогрессирования глиобластомы [19]. В данной работе были изучены оптические свойства плазмы крови и СМЖ с целью исследования возможности применения спектроскопии биожидкостей в диагностике онкологических заболеваний головного мозга.

2. Материалы и методы

2.1. Описание образцов

Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Каждый пациент подписал информированное согласие, а клинические данные были обезличены. Комиссия по этике Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и

ортопедии им. Я.Л. Цивьяна утвердила протокол исследования (Разрешение #004/22-1, 17 января 2022 года). Образцы периферической крови собирали в вакуутайнеры с ЭДТА (SarstedtAG&Co. KG, Нюмбрехт, Германия). Плазму отделяли центрифугированием при 2800 g в течение 15 минут при температуре +4 °C. Образцы плазмы крови замораживали и хранили при температуре –80 °C до дня анализа. Были исследованы оптические свойства 19 образцов плазмы крови. Контрольная группа образцов включала в себя три образца плазмы крови, полученных от пациентов с черепно-мозговыми травмами, не имеющих в анамнезе онкологического заболевания, в том числе глиомы. Оставшиеся 16 образцов были получены от пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом с соотношением со степенью злокачественности: 1 образец с G1, 4 образца с G2, 3 образца с G3, 8 образцов с G4. Были также измерены оптические характеристики 17 образцов СМЖ, среди которых 9 образцов относились к контрольной группе пациентов, т. е. к группе пациентов с черепно-мозговыми травмами, не имеющих в анамнезе онкологического заболевания, а 8 образцов было получено от пациентов с подтвержденным онкологическим диагнозом в отсутствие черепно-мозговых травм.

2.2. Измерение спектров поглощения и флуоресценции

Спектры поглощения плазмы крови и СМЖ были измерены в диапазоне 280–380 nm и 320–700 nm при помощи спектрофотометра Lambda 25 (Perkin-Elmer, США). Спектры флуоресценции плазмы крови были измерены при помощи флуориметров Fluoromax-4 (Horiba Jobin Yvon, Франция) и FLUO (SolarLaserSystems, Белоруссия). Для проведения измерений флуоресценции в области длин волн возбуждения 320–420 nm образцы плазмы крови были разбавлены в фосфатно-солевом буфере (pH 7.4) в 75 раз, для измерений в ультрафиолетовом диапазоне (УФ) — в 850 раз. Для проведения измерений флуоресценции образцы СМЖ были разбавлены в 12 раз в фосфатно-солевом буфере.

2.3. Измерение кинетики затухания флуоресценции

Кинетики затухания флуоресценции СМЖ были измерены при помощи метода время-коррелированного счёта фотонов (time correlated single photon counting, TCSPC). В качестве источника возбуждающего излучения был использован лазер EPL Series (Edinburgh Instruments, Великобритания) с длиной волны излучения 280 nm, длительностью импульса 880 ps и с частотой следования импульсов 10 MHz. Детектирование сигнала флуоресценции проводилось в 16 каналах в спектральном диапазоне 300–490 nm с помощью фотоэлектронного умножителя (PML-16-1-C, Becker & Hickl, Германия) и

модуля счета одиночных фотонов (SPC-130EM, Becker & Hickl, Германия).

Полученные кинетики были аппроксимированы моделью с двумя экспонентами:

$$I_{fl} = \sum_{i=1}^2 a_i e^{-t/\tau_i}. \quad (1)$$

Для проведения измерений образцы СМЖ были разбавлены в 12 раз в фосфатно-солевом буфере.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Поглощение и флуоресценция плазмы крови в ближнем ультрафиолетовом и видимом диапазонах для пациентов с глиомами и контрольной группы

Репрезентативные спектры поглощения образцов плазмы крови представлены на рис. 1, *a*. Для выделения основных хромофоров плазмы крови и определения их вкладов в спектр поглощения образца была проведена процедура неотрицательной матричной факторизации (NMF, non-negative matrix factorization) [20]. В результате данной процедуры в спектрах поглощения были выделены три компонента (рис. 1, *b*). Компонента NMF-2 имеет характерные для гемоглобина максимумы в областях 405 и 500–600 nm. Компонента NMF-3 имеет выраженный максимум в районе 460 nm и может быть приписана билирубину [21]. Компонента NMF-1 характеризуется в области > 450 nm широкополосным поглощением, плавно спадающим с длиной волны, и может быть приписана продуктам окисления и гликирования белков плазмы крови [18]. Было обнаружено, что амплитуда компоненты NMF-2, соответствующей гемоглобину, больше для пациентов с онкозаболеванием в сравнении с контрольной группой (рис. 1, *c*). С помощью критерия Манна-Уитни-Уилкоксона была оценена статистическая значимость различий амплитуды NMF-2 для пациентов с заболеванием и контрольной группы — параметр *p*-value составил 0.008. Таким образом, показано, что в исследованных образцах эффективность гемолиза при приготовлении плазмы крови выше для пациентов с глиомами в сравнении с контрольной группой.

Спектры флуоресценции плазмы крови были измерены при возбуждениях в диапазоне 320–420 nm с шагом 10 nm. При возбуждении в области 320 nm наблюдается смещение максимума спектра эмиссии образцов с *G4* в длинноволновую область относительно образцов с *G2* и *G3* (рис. 2, *a–b*). С помощью *t*-критерия была оценена статистическая значимость различий длин волн положения максимумов спектров эмиссии образцов *G4* и остальных групп и показано, что *p*-value < 0.003. Для спектров, полученных при других длинах волн возбуждения, сдвиг положения максимума был менее выраженным.

3.2. Флуоресцентный сигнал плазмы крови в ультрафиолетовом диапазоне для пациентов с глиомами и контрольной группы

Нами были также измерены спектры флуоресценции плазмы крови при возбуждении в УФ диапазоне в области 280–295 nm. Флуоресцентный сигнал плазмы крови в УФ области определяется вкладом остатков ароматических аминокислот тирозина и триптофана в молекулах белков, в основном, альбумина. Соотношение интенсивностей флуоресценции триптофана и тирозина чувствительно к изменениям конформации белка, поэтому оно может служить маркером заболевания [18,22]. Согласно процедуре, описанной в [16,19], были определены вклады тирозина и триптофана в УФ автофлуоресценцию образцов (рис. 3, *a*). При этом обнаружено увеличение отношения интегральных сигналов тирозина к триптофану (*Tyr/Trp*) для контрольной группы пациентов относительно образцов с глиомами (рис. 3, *b*). С помощью критерия Манна-Уитни-Уилкоксона была оценена статистическая значимость различий величин *Tyr/Trp* — для пациентов с *G4* и контрольной группы — параметр *p*-value составил 0.04.

3.3. Спектры поглощения и время-разрешенная флуоресцентная спектроскопия образцов СМЖ в УФ диапазоне для пациентов с глиомами и контрольной группы

Далее были измерены спектры поглощения СМЖ. Обнаружено, что значение оптической плотности в области 280 nm для СМЖ пациентов с глиомами превосходит таковое для контрольной группы образцов (рис. 4). С помощью критерия Манна-Уитни-Уилкоксона была оценена статистическая значимость различий значений оптической плотности СМЖ в области 280 nm для пациентов с онкологическим заболеванием и контрольной группы, получено, что *p*-value < 0.04.

Кроме того, были измерены кинетики затухания флуоресценции СМЖ с субнаносекундным временным разрешением при возбуждении в области 280 nm с эмиссией в области 300–490 nm с шагом 12 nm. Кинетики затухания флуоресценции были аппроксимированы с помощью модели с двумя экспонентами (1) с фиксированными компонентами $\tau_1 = 2$ ns и $\tau_2 = 6.5$ ns для всех каналов эмиссии. На рис. 5, *a* представлены значения параметра a_2 аппроксимации кинетик затухания флуоресценции при возбуждении в области 280 nm и эмиссии в области 345 nm для двух групп пациентов. Как можно заметить, значения параметра a_2 меньше для образцов СМЖ из контрольной группы. В результате применения критерия Манна-Уитни-Уилкоксона обнаружены статистически значимые различия между амплитудой a_2 для кинетик затухания флуоресценции образцов двух групп при эмиссии в области 345 nm. Как видно на

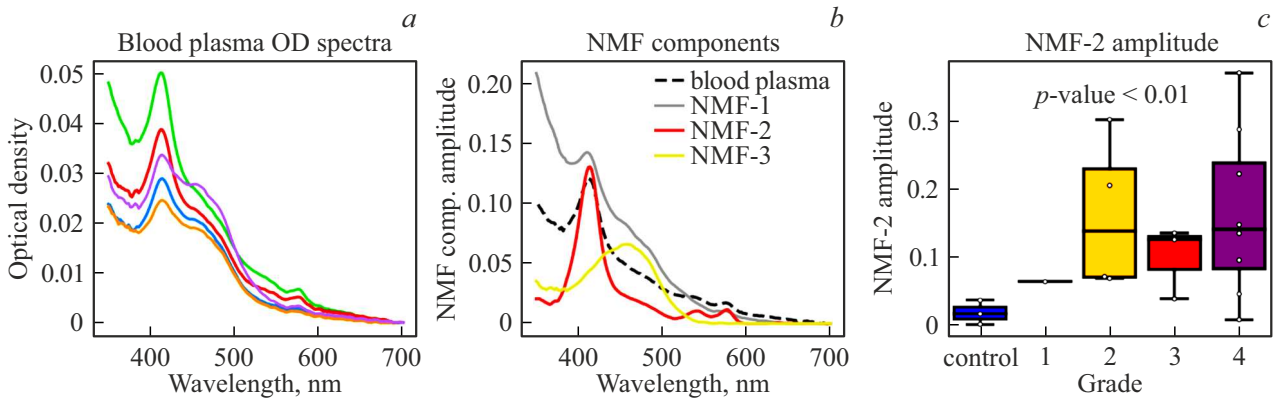


Рис. 1. (a) Репрезентативные спектры поглощения плазмы крови. (b) Спектры компонент поглощения плазмы крови, полученные в результате их неотрицательной матричной факторизации (NMF). (c) Амплитуда компоненты NMF-2 в зависимости от злокачественности заболевания пациента-донора плазмы крови.

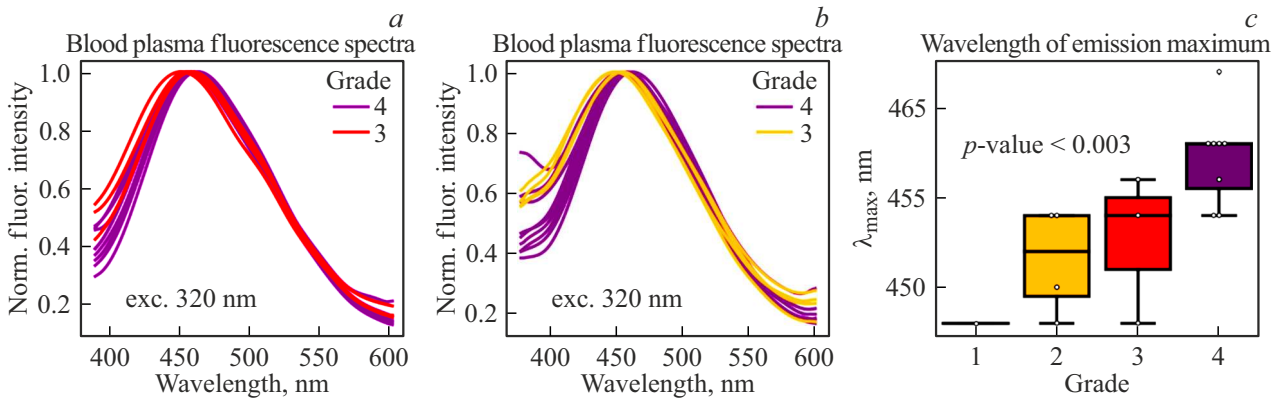


Рис. 2. Спектры флуоресценции плазмы крови при возбуждении в области 320 nm для пациентов с злокачественностью 4 и 3 (a) и 4 и 2 (b). (c) Длина волны максимума спектра эмиссии при возбуждении в области 320 nm в зависимости от злокачественности опухоли (глиомы) пациента.

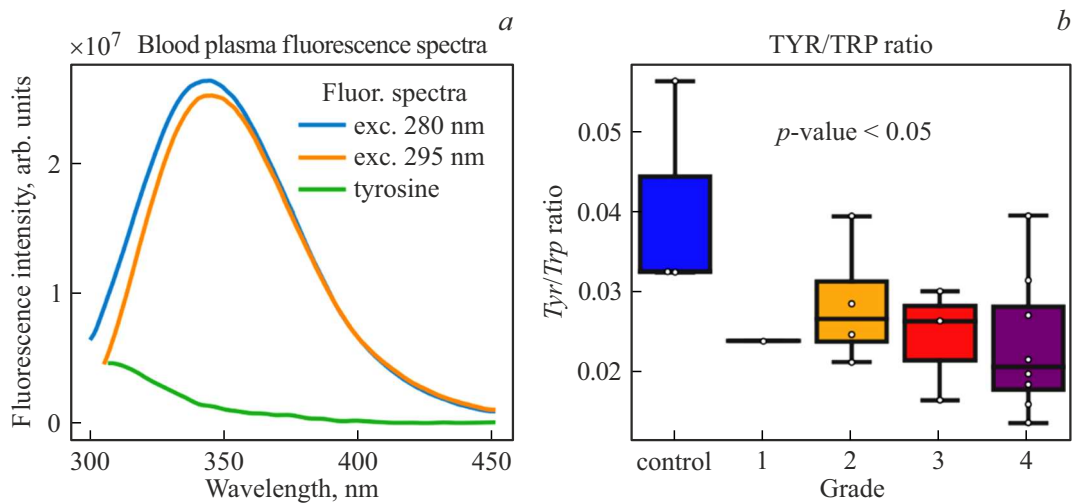


Рис. 3. (a) Выделение спектров флуоресценции тирозина и триптофана в плазме крови при возбуждении на длинах волн 280 и 295 nm. (b) Отношения интегральных сигналов флуоресценции тирозина и триптофана (Tyr/Trp) для пациентов с различной злокачественностью опухоли.

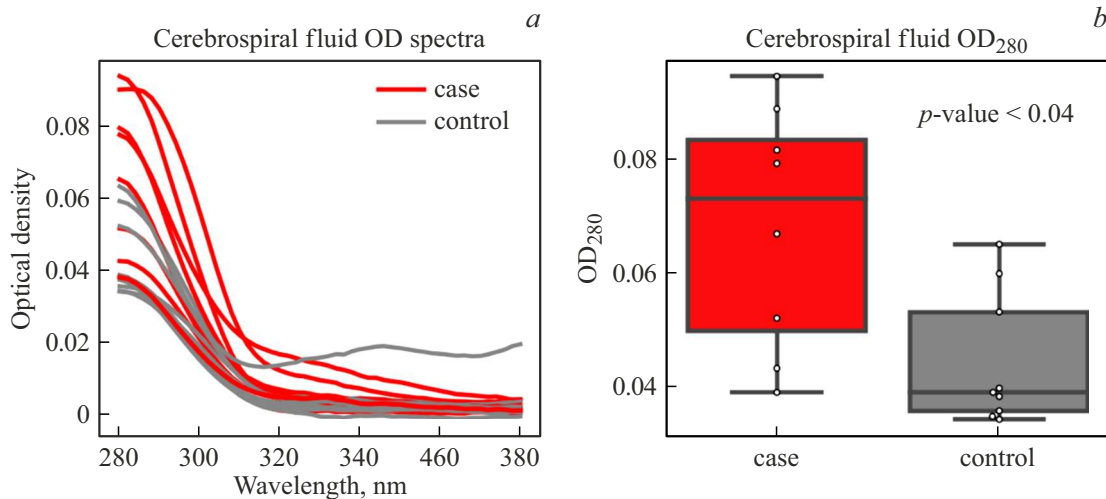


Рис. 4. (а) Спектры поглощения СМЖ для пациентов с глиомами (красные кривые) и контрольной группы. (б) Значения оптической плотности СМЖ в области 280 nm.

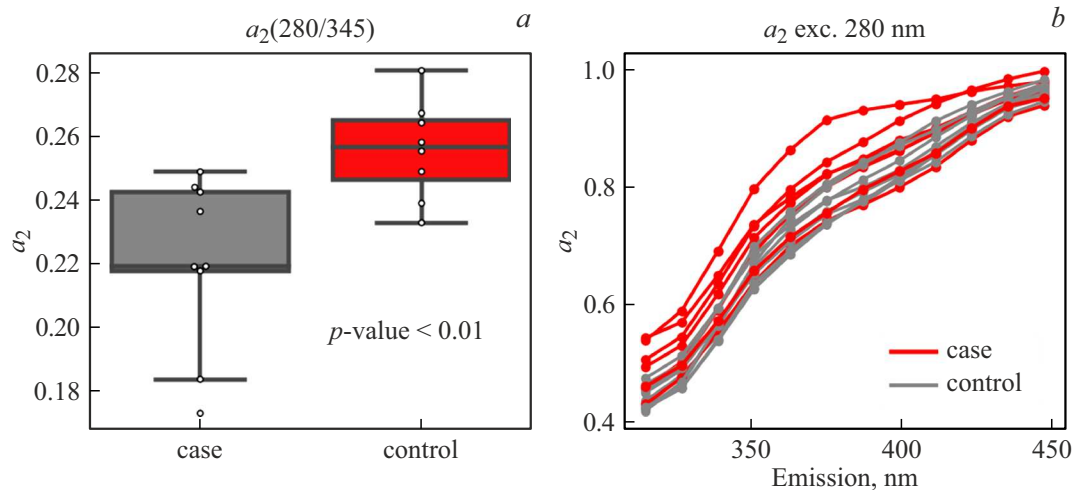


Рис. 5. (а) Значения параметра аппроксимации a_2 для пациентов с глиомами и контрольной группы. (б) Значения параметра аппроксимации a_2 в зависимости от длины волны эмиссии.

рис. 5, *b*, наибольшие различия в величинах амплитуд a_2 наблюдаются для эмиссии в области 350 nm.

3.4. Различия в оптических параметрах плазмы крови и СМЖ для пациентов с глиомами различной степени злокачественности

С помощью спектроскопии оптического поглощения плазмы крови было обнаружено повышение концентрации гемоглобина в образцах, полученных от пациентов с онкологическим заболеванием, относительно контрольной группы (рис. 1, *c*). Однозначного ответа на содержание гемоглобина в плазме крови пациентов с глиомой и корреляции этого показателя с выживаемостью в настоящий момент времени нет [23]. В результате измерения флуоресцентного сигнала плазмы крови в диапазоне

320–420 nm было установлено, что при возбуждении флуоресцентного сигнала в области 320 nm спектры эмиссии в случае пациентов с глиомами G4 оказались смещены в длинноволновую область относительно спектров флуоресценции образцов от пациентов с опухолями меньшей степени злокачественности (рис. 2). В области 320 nm флуоресцентный сигнал плазмы крови определяется сигналом кофактора никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) и продуктов окисления белков плазмы крови [24,25]. Следовательно, наблюдаемый для группы пациентов с G4 сдвиг максимума эмиссии плазмы крови при возбуждении в области 320 nm может быть связан с изменением соотношения концентраций/квантовых выходов флуоресценции кофермента НАДН и продуктов окисления белков. Таким образом, флуоресцентная спектроскопия плазмы крови при возбуждении в области 320 nm позволяет выявить пациентов с глиомой высокой

степени злокачественности G4. Было также обнаружено повышение поглощения в области 280 nm СМЖ пациентов с глиомами относительно контрольной группы (рис. 4), которое свидетельствует об увеличении концентрации общего белка. Увеличение концентрации белка в СМЖ отмечено при глиобластоме, при этом ряд белковых молекул могут выступать в качестве специфических маркеров глиомы [26,27]. Важным диагностическим маркером протекания заболевания являются изменения конформации белков биожидкостей организма [28,29]. Ультрафиолетовая флуоресценция белковых молекул возникает благодаря наличию в них остатков ароматических кислот, в основном, тирозина и триптофана, флуоресцентный сигнал которых оказывается чувствительным к параметрам микроокружения. Таким образом, изменение соотношения интегральных сигналов тирозина и триптофана является маркером протекания патологических процессов. В результате данного исследования было установлено уменьшение отношения Tyr/Trp для пациентов с глиомами относительно контрольной группы (рис. 3,b), что может свидетельствовать о конформационных изменениях белков плазмы крови при развитии онкологии. Помимо стационарной флуоресцентной спектроскопии белковых молекул в УФ спектральной области большой интерес представляет также и время-разрешенный флуоресцентный сигнал [30–32]. В данной работе был исследован флуоресцентный сигнал СМЖ с субнаносекундным временным разрешением для двух групп пациентов. Измеренные кинетики затухания флуоресценции СМЖ были аппроксимированы моделью с двумя экспонентами с фиксированными компонентами времени жизни флуоресценции $\tau_1 = 2$ ns и $\tau_2 = 6.5$ ns, что близко к значениям, характерным для флуоресцентного сигнала альбумина [33]. Наблюдались отличия параметров аппроксимации кинетик затухания флуоресценции СМЖ для двух групп пациентов (рис. 5, b), что может указывать на изменение конформации белков и/или изменение соотношения их концентраций в СМЖ пациентов с онкологическим заболеванием головного мозга.

Заключение

Проверена возможность применения флуоресцентной спектроскопии плазмы крови и СМЖ для диагностики глиом головного мозга. Результаты исследования показали, что на основе стационарного флуоресцентного сигнала плазмы крови и кинетик затухания флуоресцентного сигнала СМЖ в УФ диапазоне можно разделить образцы пациентов с глиомами и пациентов с черепно-мозговыми травмами. Кроме того, с помощью флуоресцентной спектроскопии плазмы крови при возбуждении в области 320 nm удалось дифференцировать пациентов с высокой степенью злокачественности (G4) от пациентов с меньшей степенью. Дальнейшие исследования с увеличением выборки пациентов и добавлением других

оптических методик представляют существенный интерес и могут способствовать внедрению флуоресцентной спектроскопии плазмы крови для ранней диагностики глиом головного мозга в клиническую практику.

Финансирование работы

Измерения спектров флуоресценции с системой FLUO выполнены с использованием оборудования, приобретенного за счет средств программы развития Московского университета. Работа П.К. Нургалиевой поддержана Фондом развития теоретической физики и математики „БАЗИС“ (проект № 23-2-10-28-1).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. От каждого пациента, принимавшего участие в исследовании, было получено информированное добровольное согласие, клинические данные были обезличены. Комиссия по этике Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна утвердила протокол исследования (Разрешение #004/22-1, 17 января 2022 года).

Список литературы

- [1] Q.T. Ostrom, M. Price, C. Neff, G. Cioffi, K.A. Waite, C. Kruchko, J.S. Barnholtz-Sloan. *Neuro. Oncol.*, **24** (Suppl 5), v1–v95 (2022). DOI: 10.1093/neuonc/noac202
- [2] L.R. Schaff, I.K. Mellinshoff. *JAMA*, **329** (7), 574–587 (2023). DOI: 10.1001/jama.2023.0023
- [3] T. Tykocki, M. Eltayeb. *J. Clin. Neurosci.*, **54**, 7–13 (2018). DOI: 10.1016/j.jocn.2018.05.002
- [4] J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram, D.M. Parkin, M. Piñeros, A. Znaor, F. Bray. *Int. J. Cancer*, **149** (4), 778–789 (2021). DOI: 10.1002/ijc.33588
- [5] L.R. Carrete, J.S. Young, S. Cha. *Frontiers in Neurosci.*, **16**, 787755 (2022). DOI: 10.3389/fnins.2022.787755
- [6] L. Mărginean, P.A. Ștefan, A. Lebovici, I. Opincariu, C. Csutak, R.A. Lupean, P.A. Coroian, B.A. Suci. *Brain Sci.*, **12** (1), 109 (2022). DOI: 10.3390/brainsci12010109
- [7] K.R. Swanson, G. Chakraborty, C.H. Wang, R. Rockne, H.L.P. Harpold, M. Muzi, T.C.H. Adamsen, K.A. Krohn, A.M. Spence. *J. Nucl. Med.*, **50** (1), 26–44 (2009). DOI: 10.2967/jnumed.108.055467
- [8] S.N. Lone, S. Nisar, T. Masoodi, M. Singh, A. Rizwan, S. Hashem, W. El-Rifai, D. Bedognetti, S.K. Batra, M. Haris, A.A. Bhat, M.A. Macha. *Molecular Cancer*, **21** (1), 79 (2022). DOI: 10.1002/ijc.33588
- [9] L. Ronvaux, M. Riva, A. Coosemans, M. Herzog, G. Rommelaere, N. Donis, L. D’Hondt. *J. Dourfil. Cancers*, **14** (14), 3394 (2022). DOI: 10.3390/cancers14143394

- [10] H.J. Butler, P.M. Brennan, J.M. Cameron, D. Finlayson, M.G. Hegarty, M.D. Jenkinson, D.S. Palmer, B.R. Smith, M.J. Baker. *Nat. Commun.*, **10** (1) (2019). DOI: 10.1038/s41467-019-12527-5
- [11] P.M. Brennan, H.J. Butler, L. Christie, M.G. Hegarty, M.D. Jenkinson, C. Keerie, J. Norrie, R. O'Brien, D.S. Palmer, B.R. Smith, M.J. Baker. *Brain Commun.*, **3** (2) fcab056 (2021). DOI: 10.1093/braincomms/fcab056
- [12] O.P. Cherkasova, M.R. Konnikova, M.M. Nazarov, D.A. Vrazhnov, Y.V. Kistenev, A.P. Shkurinov. *J. Biomed. Photonics Eng.*, **9** (3), 030308 (2023). DOI: 10.18287/JBPE23.09.030308
- [13] D. Vrazhnov, A. Mankova, E. Stupak, Y. Kistenev, A. Shkurinov, O. Cherkasova. *Pharmaceutics*, **15** (1), 203 (2023). DOI: 10.3390/pharmaceutics15010203
- [14] D.A. Vrazhnov, D.A. Ovchinnikova, T.V. Kabanova, A.G. Paulish, Y.V. Kistenev, N.A. Nikolaev, O.P. Cherkasova. *Appl. Sci.*, **14** (7), 2872 (2024). DOI: 10.3390/pharmaceutics15010203
- [15] O. Cherkasova, D. Vrazhnov, A. Knyazkova, M. Konnikova, E. Stupak, V. Glotov, V. Stupak, N. Nikolaev, A. Paulish, Y. Peng, Y. Kistenev, A. Shkurinov. *Appl. Sci.*, **13** (9), 5434 (2023). DOI: 10.3390/app13095434
- [16] V. Masilamani, M.S. Alsalhi, T. Vijmasi, K. Govindarajan, R. Rathan Rai, M. Atif, S. Prasad, A.S. Aldwayyan. *J. Biomed. Opt.*, **17** (9), 098001 (2012). DOI: 10.1117/1.JBO.17.9.098001
- [17] S. Madhuri, N. Vengadesan, P. Aruna, D. Koteeswaran, P. Venkatesan, S. Ganesan. *Photochem. Photobiol.*, **78** (2), 197–204 (2003). DOI: 10.1562/0031-8655(2003)078<0197:nfsobp>2.0.co;2
- [18] A.V. Gayer, B.P. Yakimov, N.N. Sluchanko, E.A. Shirshin. *Spectrochim. Acta A*, **286**, 122028 (2023). DOI: 10.1016/j.saa.2022.122028
- [19] Y. Qiu, B. Zhang, H. Chen, J. Zhang, Y. Zhang, J. Zhang, H. Lin, Y. Lu. *Clin. Exp. Allergy* (2024). DOI: 10.1111/cea.14615
- [20] D.D. Lee, H.S. Seung. *Nature*, **401** (6755), 788–791 (1999). DOI: 10.1038/44565
- [21] K.S. Lee, L.M. Gartner. *Pediatr. Res.*, **10** (9), 782–788 (1976).
- [22] N.G. Zhdanova, E.A. Shirshin, E.G. Maksimov, I.M. Panchishin, A.M. Saletsky, V.V. Fadeev. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **14**, 897–908 (2015). DOI: 10.1039/c4pp00432a
- [23] T. Kaisman-Elbaz, Y. Elbaz, V. Merkin, L. Dym, A. Noy, M. Atar-Vardi, R. Bari, S. Turiel, A. Alt, T. Zamed, Y. Eskira, K. Lavrenkov, Y. Kezerle, V. Dyomin, I. Melamed. *Frontiers in oncology*, **10**, 432 (2020). DOI: 10.3389/fonc.2020.00432
- [24] A.B. Shirrao, R.S. Schloss, Z. Fritz, M.V. Shirrao, R. Rosen, M.L. Yarmush. *Biotechnol. Bioengineer.*, **118** (12), 4550–4576. DOI: 10.1002/bit.27933
- [25] B.P. Yakimov, A.A. Rubekina, A.Y. Zhrebker, G.S. Budylin, V.O. Kompanets, S.V. Chekalin, Y.G. Vainer, A.A. Hasan, E.N. Nikolaev, V.V. Fadeev, I.V. Perminova, E.A. Shirshin. *Environ. Sci. Technol. Lett.*, **9** (5), 452–458 (2022). DOI: 10.1021/acs.estlett.2c00161
- [26] K. He, Y. Wang, X. Xie, D. Shao. *Molecules*, **28** (8), 3617 (2023). DOI: 10.3390/molecules28083617
- [27] H. Reiber. *Clin. Chim. Acta*, **310** (2), 173–186 (2001). DOI: 10.1016/s0009-8981(01)00573-3
- [28] M. Paar, V.H. Fengler, D.J. Rosenberg, A. Krebs, R.E. Stauber, K. Oetli, M. Hammel. *Commun. Biol.*, **4** (1), 731 (2021). DOI: 10.1038/s42003-021-02269-w
- [29] F.H.C. Tsao, K.C. Meyer. *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (19), 11675 (2022). DOI: 10.3390/ijms231911675
- [30] T. Wybranowski, B. Ziolkowska, M. Cyrankiewicz, M. Bosek, J. Pyskir, M. Napiórkowska, S. Kruszewski. *Sci. Rep.*, **12** (1), 9012 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-13109-0
- [31] T. Wybranowski, B. Ziolkowska, M. Cyrankiewicz, J. Pyskir, M. Bosek, M. Napiórkowska, M. Pilaczyńska-Cemel, G. Przybylski, S. Kruszewski. *Int. J. Mol. Sci.*, **24** (19), 14703 (2023). DOI: 10.3390/ijms241914703
- [32] T. Wybranowski, J. Pyskir, M. Bosek, M. Napiórkowska, M. Cyrankiewicz, B. Ziolkowska, M. Pilaczyńska-Cemel, J. Pyskir, M. Rogañska, S. Kruszewski, G. Przybylski. *J. Clin. Med.*, **11** (17), 5081, (2022). DOI: 10.3390/jcm11175081
- [33] J.M. Beechem, L. Brand. *Ann. Rev. Biochem.*, **54** (1), 43–71 (1985).