

На правах рукописи



Грачев Павел Вячеславович

**Исследование лазерно-индуцированных оптических и
тепловых полей в биологических тканях, содержащих
фотосенсибилизаторы**

Специальность: 01.04.21 – Лазерная физика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Москва-2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральном исследовательском центре «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук»

Научный руководитель:

Лощенов Виктор Борисович, д.ф.-м.н., проф., заведующий лабораторией лазерной биоспектроскопии ЦЕНИ ИОФРАН

Официальные оппоненты:

Васютинский Олег Святославович, д.ф.-м.н., член-корр. РАЕН, главный научный сотрудник ФТИ им. А.Ф. Иоффе РАН; профессор ИФНИТ СПб ГПУ;

Климентов Сергей Михайлович, к.ф.-м.н., заместитель директора Инженерно-физического института биомедицины НИЯУ МИФИ;

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физический институт им.П.Н. Лебедева Российской академии наук

Защита диссертации состоится 16 декабря 2020г. на заседании диссертационного совета Д 002.063.01 при ИОФ РАН по адресу: 119991, Москва, ул. Вавилова, д.38, корп. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ИОФ РАН <http://diss.gpi.ru/all/>

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
д.ф.-м.н.



Кузькин В.М.
тел. +7(499) 503-81-47

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Наибольшее влияние на взаимодействие лазерного излучения с биологическими тканями оказывают их оптические и термические свойства. Поэтому изучению и табулированию последних посвящено большое количество работ.

Для описания распространения света в биологических тканях существует два основных пути - это решение уравнений Максвелла и решение уравнения теории переноса излучения. Решение уравнений Максвелла дает возможность быстрой оценки интенсивности светового поля для упрощенных случаев, например, в гомогенных изотропных средах. Такие решения не подходят для практического применения. Для решения уравнения теории переноса излучения, как правило пользуются методом Монте Карло. В нем рассматривается ход группы фотонов, задаваемый коэффициентами поглощения и рассеяния, а также фактором анизотропии среды. В результате расчета получается картина распределения рассеянных и поглощенных фотонов в сильно рассеивающих средах.

Моделируя конфигурацию источников излучения, с учетом зависимости распространения лазерного излучения от длины волны, можно существенно увеличить глубину зондирования биологических тканей, содержащих фотосенсибилизаторы (ФС). Тем самым можно увеличить информативность и точность таких важных в медицине процедур как флуоресцентная диагностика (ФД), флуоресцентная ангиография (ФАГ), флуоресцентная визуализация.

Для описания тепловых полей в биологических тканях либо применяют уравнение теплопроводности, либо описывают биологическую ткань как пористую среду и описывают кровоток в гетерогенной среде при помощи уравнения Дарси. Накладывая различные граничные условия со стороны облучения можно существенно изменять форму результирующего теплового поля. Этот способ в сочетании с тем, что нагревание биологических тканей изменяет их оптические свойства и, как следствие, характер распространения

световых полей в ткани, позволяет создавать новые методы терапии онкологических заболеваний.

Целью данной работы являлось исследование лазерно-индуцированных тепловых и световых полей в биологических тканях, содержащих ФС, а также разработка новых методов регистрации тепловых и световых полей и устройств управления ими для ФД, фотодинамической терапии (ФДТ) и гипертермии.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие **задачи**:

1. Исследовать оптические параметры биологических тканей, актуальных для практического применения и содержащих флуоресцентный краситель, в ближнем инфракрасном (БИК) диапазоне.

2. Разработать математические модели, описывающие распространение света в биологических средах, содержащих ФС, и провести сравнительный анализ полученных в результате моделирования результатов с экспериментальными.

3. Разработать способ экспериментального исследования распространения лазерного и флуоресцентного излучения в сильнорассеивающих средах и фантомы биологических тканей для него.

4. Разработать способ измерения интенсивности лазерного излучения, рассеиваемого и поглощаемого биологической тканью непосредственно во время облучения ткани, по нарушенному полному внутреннему отражению (НПВО) внутри оптического волокна.

5. Разработать экспериментальную установку, основанную на НПВО, для исследования процессов взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями, содержащими ФС, с целью практического использования результатов расчета полей лазерного излучения при облучении внутрикожных опухолей и новообразований.

6. Разработать алгоритм и методику регистрации флуоресцентных изображений в БИК диапазоне и оценки кровотока и лимфотока органов и тканей с сосудистыми нарушениями.

7. Разработать методику и устройство для подкожного лазерного локального нагрева с автоматической регистрацией температурных полей облучаемой зоны.

Научная новизна

1. Показано, что применение лазерного излучения и БИК диапазона позволяет получить высоконтрастные флуоресцентные изображения кровеносных сосудов в биологических тканях и оценивать скоростные параметры кровотока и лимфотока.

2. Разработана математическая модель и устройство, позволяющие управлять тепловыми полями при контактной гипертермии и ФДТ.

3. На основе метода Монте Карло предложен новый алгоритм, позволяющий рассчитывать распространение лазерного и флуоресцентного излучения в многослойных гетерогенных биологических тканях, содержащих ФС.

4. Получены траектории наиболее вероятного прохождения фотонов лазерного и флуоресцентного излучения в тканях головного мозга, содержащих ФС протопорфирин-9 (ПпIX), при различных расстояниях между излучающим и принимающим оптическими волокнами экспериментально, на основе метода Монте Карло и диффузионного приближения.

5. Показаны изменения оптических параметров различных биологических тканей в процессе лазерно-индуцированного нагрева путем регистрации рассеянного назад излучения, выходящего из облучающего волокна за счет нарушения полного внутреннего отражения.

Практическая значимость работы

1. На базе разработанных методов созданы объекты интеллектуальной собственности, защищенные патентами РФ в количестве 5 шт.

2. Применение разработанной системы для флуоресцентной визуализации в БИК диапазоне расширяет стандартный набор устройств и методик для определения параметров кровотока и лимфотока, позволяя проводить их исследование в тех условиях, при которых общепринятые клинические методики не применимы.

3. Разработанная система для флуоресцентной визуализации в БИК диапазоне апробирована на базе ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава

России и рекомендована Экспертному Совету Министерства Здравоохранения Российской Федерации для включения в клинические рекомендации для диагностики ишемической и нейро-ишемической формы синдрома диабетической стопы у пациентов с сахарным диабетом.

4. Применение устройства для облучения внутрикожных опухолей и новообразований с электронной системой охлаждения позволяет проводить сеансы ФДТ, совмещенные с гипертермией, в полном объеме в зонах, богатых нервными окончаниями без применения дополнительных методов анальгезии, в том числе, и общего обезболивания. Разработанное устройство апробировано на базах Государственного научного центра лазерной медицины Минздрава России, Онкологического клинического диспансера № 1 г. Москва и МНИОИ им. П.А. Герцена.

5. Применение разработанного алгоритма расчета распространения фотонов в биологических тканях позволяет быстро оценивать глубину зондирования лазерным и флуоресцентным излучением при различных конфигурациях источников лазерного излучения, что дает важную информацию при конструировании зондов для спектроскопического анализа и систем для флуоресцентной визуализации.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная система для флуоресцентной визуализации позволяет проводить флуоресцентную навигацию, определять скоростные параметры кровотока и лимфотока в БИК диапазоне на глубине до 1 см.

2. Разработанное устройство для облучения внутрикожных опухолей и новообразований с электронной системой охлаждения позволяет нагревать биологические ткани до 60 °С на глубине от 0.5 см, оставляя при этом неповрежденными поверхностные слои.

3. Разработанный алгоритм на основе метода Монте Карло позволяет рассчитывать распространение лазерного и флуоресцентного излучения от источников в различных комбинациях и начальном положении относительно многослойных гетерогенных биологических тканях, содержащих ФС, и позволяет

увеличить скорость и количество фотонов в моделировании в 10^3 раз по сравнению со стандартным алгоритмом моделирования.

4. Глубина зондирования лазерным излучением (632.8 нм) на 50% больше, чем флуоресцентным, при спектроскопическом исследовании головного мозга человека, содержащего ПпIX, для расстояния между излучающим и принимающим оптическими волокнами более 2 мм.

5. Зафиксировано изменение коэффициента рассеяния до 10% для печени, до 40% для мозговой ткани и до 35% для мышечной ткани при помощи разработанной методики и устройства, измеряющего рассеянное назад излучение по НПВО в волокне, во время облучения лазерным излучением с длиной волны 675 нм и плотностью мощности 300, 360 и 620 Вт/см² соответственно.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Обоснованность и достоверность полученных результатов обеспечивается использованием комплекса современных экспериментальных методов исследования, сравнением экспериментально полученных результатов с результатами численного моделирования, анализом литературных данных, выводами и результатами других исследователей. Достоверность и надежность результатов обоснована использованием научного оборудования, которое верифицируется в соответствии с международными стандартами обеспечения единства измерений и единообразием средств измерений.

Личный вклад автора

Автором был проведен критический анализ научной литературы; разработаны методики измерения; выполнено математическое моделирование, описывающее распространение света в биологических средах, содержащих ФС, а также моделирование распространения в оптических волокнах при НПВО; разработаны методики экспериментального исследования распространения лазерного и флуоресцентного излучения в сильнорассеивающих средах, методики регистрации и оценки флуоресцентных изображений в БИК диапазоне, методики подкожного лазерного локального нагрева с автоматической регистрацией температурных полей облучаемой зоны; разработан экспериментальный стенд

для исследования процессов взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями, содержащими ФС; разработан способ измерения интенсивности лазерного излучения, рассеиваемого и поглощаемого биологической тканью непосредственно во время облучения ткани; проведен анализ и интерпретация полученных результатов, сформулированы выводы. Автор принимал непосредственное участие в обсуждении полученных результатов, презентации результатов на конференциях и оформлении их в виде научных публикаций.

Публикации и апробация работы

По результатам исследований опубликовано 20 статей в рецензируемых журналах, удовлетворяющих требованиям ВАК из них в журналах с квартилем 1 опубликовано 2 статьи, с квартилем 2 - 3 статьи, с квартилем 3 - 8 статей, 15 статей в сборниках трудов научных конференций, 42 тезиса на научных конференциях, 9 патентов. Каждая из четырех оригинальных глав диссертации написана на основе результатов, опубликованных в 13 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Публикации автора отражены в следующих библиографических базах данных: Web of Science 10, Scopus 23, РИНЦ 33.

Структура и объем диссертации

Работа состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы. Общий объем диссертации - 127 страниц, включая 55 рисунков, 7 таблиц и список литературы из 153 наименования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и основные задачи работы, изложены основные положения, выносимые на защиту, отмечена научная новизна, достоверность и научно-практическая значимость полученных результатов, перечислены публикации и основные доклады по теме диссертации.

В первой главе рассмотрены математические модели и факторы, описывающие распространение тепловых и световых полей в биологических тканях.

В первом и втором параграфах рассмотрены оптические свойства биологических тканей и факторы, влияющие на их спектральные зависимости. Для описания оптических свойств ткани вводятся понятия коэффициента поглощения, коэффициента рассеяния и фактора анизотропии среды. Коэффициент поглощения вводится в законе Бугера-Ламберта-Бэра, который описывает ослабление пучка света, распространяющегося в не рассеивающей среде толщиной l . Коэффициент рассеяния характеризует ослабление пучка света, проходящего в среде в следствии рассеяния. Фактор анизотропии определяется как средний косинус угла рассеяния. Особое внимание уделено особенностям рассеяния и поглощения биологических тканей в ближнем инфракрасном диапазоне.

В третьем, четвертом и пятом параграфах рассмотрены методы моделирования распространения тепловых и световых полей в рассеивающих средах. В шестом параграфе описаны процессы, происходящие в биологических тканях при их нагревании такие, как денатурация, коагуляция, карбонизация, - а также влияние этих процессов на оптические характеристики тканей.

Вторая глава посвящена методам экспериментального и теоретического моделирования, использованным в работе. В первом параграфе приведены оптические свойства моделей и биологических тканей, использованных в работе, а также способы подготовки биологических тканей к экспериментам. Приведена статистика пациентов, принимавших участие в клинических исследованиях. Во втором параграфе описан разработанный алгоритм, основанный на методе моделирования Монте Карло, который позволяет моделировать распространение фотонов в многослойной гетерогенной среде, содержащей фотосенсибилизатор, и задавать различные положения и конфигурацию источников излучения, в том числе и ввод в биологическую ткань под углом. Разработанный алгоритм позволяет повысить скорость и точность расчетов в 10^3 раз за счет выполнения его на процессорах видеокарты. Описаны методики определения глубины

зондирования при моделировании Монте Карло, экспериментально и теоретически. Под глубиной зондирования понимается максимальная глубина зоны наиболее вероятного прохождения фотонов от излучающего волокна к приемному.

В параграфе четыре описана разработанная программа для расчета распространения излучения в изогнутом оптическом волокне при нарушении полного внутреннего отражения. Мощность выходящая на сторонах изгиба волокна рассчитывается как: $I_{\Sigma}^{out} = \sum_{n=1}^{N_1} \tilde{I}_n^{out} + \sum_{n=1}^{N_2'} \tilde{I}_n^{out} + \sum_{n=1}^{N_3'} \tilde{I}_n^{out}$, где N_1 – количество лучей вышедших в прямом направлении, N_2 – количество лучей вышедших в обратном направлении, N_2' – количество лучей вышедших в обратном направлении и отраженных от торца волокна, N_3' – количество лучей вышедших в обратном направлении и попавших обратно в волокно от рассеивающей ткани.

В параграфах с пятого по девятый описаны методики регистрации, спектров флуоресценции и флуоресцентных изображений. Спектроскопические измерения проводились при помощи спектральной системы ЛЭСА-01-БИОСПЕК, возбуждение флуоресценции проводилось при помощи лазеров с длинами волн 633.8 нм, 785 нм и мощности 50 мВт и 500 мВт, соответственно.

В параграфах с девятого по двенадцатый описана математическая модель лазерно-индуцированного нагрева биологической ткани, способ контролирования пятна нагрева, а также предложено устройство, реализующее данный способ (Рисунок 1).



Рисунок 1. А) Принципиальная схема устройства охлаждения. Б) Устройство для контактного облучения внутрикожных опухолей и метастазов с электронной системой охлаждения. В) Схема эксперимента по измерению лазерно-индуцированных тепловых полей.

Для проведения экспериментальных исследований тепловых полей в биологических тканях использовалось следующая аппаратура:

полупроводниковый лазер ЛФТ-630/675-01-БИОСПЕК мощностью 100 мВт – 2200 мВт. с длиной волны 675 нм, оптическая плотность излучения изменялась от 35 Вт/см² до 620 Вт/см²; инфракрасная камера CEDIP Jade MWIR точность измерений не хуже 0.08°C; разработанная система для мониторинга интенсивности обратно рассеянного лазерного излучения во время проведения внутритканевых процедур гипертермии и ФДТ излучения

В параграфе двенадцать описано разработанное устройство для регистрации излучения, обратно рассеянного на изгибе волокна. В параграфе тринадцать и четырнадцать приведены методики для расчета концентрации ФС протопорфирин-9 (ПпIX) в биологических тканях по интенсивности флуоресцентного сигнала, и способ измерения фактора анизотропии рассеивающих сред при помощи гониометрической установки.

В параграфе пятнадцать описан принцип работы и составные части разработанной системы флуоресцентной визуализации в ближнем инфракрасном диапазоне (Рисунок 2). А также описаны алгоритмы обработки флуоресцентных изображений и видеофайлов. Работа системы включает в себя следующие этапы. Исследуемый объект облучается источником белого света и лазерным источником. При помощи белого света и цветной камеры регистрируется полноцветное изображение. В свою очередь в кровеносных сосудах тканей лазерное излучение поглощается индоцианином зеленым, в результате чего образуется флуоресцентное излучение. Рассеянное лазерное и флуоресцентное излучение попадают обратно в оптический блок, в котором проходят через светоделительное устройство и систему интерференционных фильтров. В результате происходит регистрация флуоресцентного излучения ЧБ камерой. Разработанное программное обеспечение в режиме реального времени совмещает видеопоток от цветной и ЧБ камеры и выводит на экране монитора. Обработанные данные записываются и впоследствии обрабатываются с целью получения значений параметров флуоресцентной ангиографии.

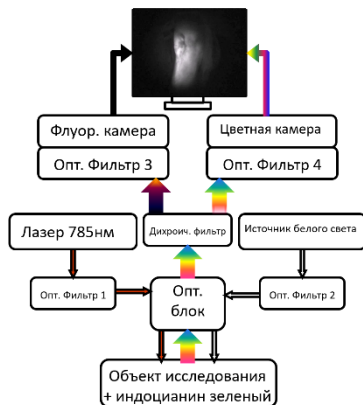


Рисунок 2. Принцип работы видеофлуоресцентной системы для БИК диапазона

В третьей главе приведены результаты математического моделирования, экспериментальных исследований по распространению лазерно-индуцированных тепловых и световых полей в биологических тканях, содержащих фотосенсибилизаторы.

В первом параграфе приведены результаты моделирования при помощи разработанного метода Монте Карло. Приведены примеры распространения света при различном положении и конфигурации источников лазерного излучения (Рисунок 3), а также в многослойных гетерогенных средах (Рисунок 4).

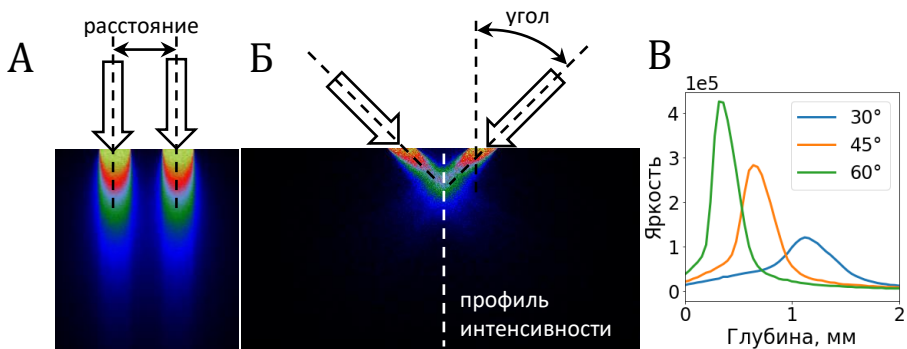


Рисунок 3. Распространение лазерного излучения от двух волокон в пятислойной модели кожи человека, полученное с помощью разработанного алгоритма. А) излучающие волокна параллельны Б) излучающие волокна наклонены под углом 45° к нормали. Изображения представлены в псевдоцвете. В) Профиль интенсивности между двумя волокнами, наклоненными под разными углами.

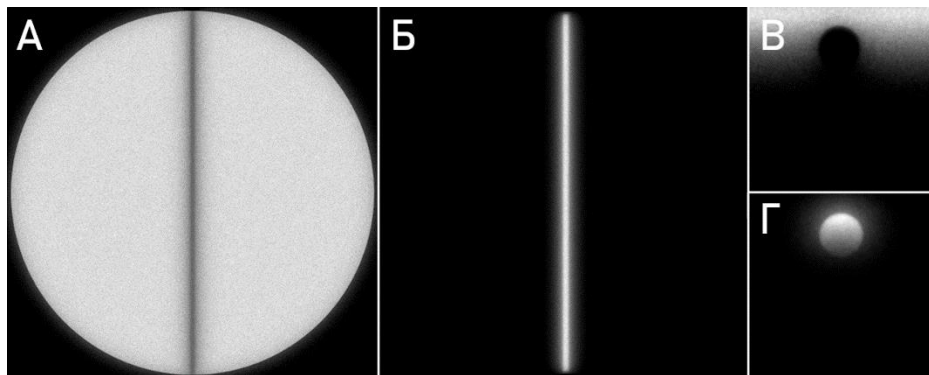


Рисунок 4. Результаты моделирования распространения лазерного излучения с длиной волны 632.8 нм в белом веществе человеческого мозга, в центре которого проходит крупный кровеносный сосуд, содержащий ПнIX в концентрации 10 мг/мл. Диаметр пятна облучения 30 мм. Глубина залегания сосуда 2 мм. Ширина сосуда 2 мм. А) Рассеянное лазерное излучение на поверхности объекта Б) Рассеянное флуоресцентное излучение на поверхности объекта В) Рассеянное лазерное излучение в сечении перпендикулярном оси сосуда Г) Рассеянное флуоресцентное излучение в сечении перпендикулярном оси сосуда

Во втором параграфе приведены экспериментальные результаты измерения фактора анизотропии интралипида, использовавшегося для моделей головного мозга человека. Результаты измерений приведены в Таблица 1.

Таблица 1. Оптические параметры 8% раствора интралипида, используемого для моделей головного мозга

Длина волны, нм	Фактор анизотропии g	Длина пробега фотона, мкм
632.8	0.83 ± 0.03	27 ± 2
532	0.85 ± 0.03	20 ± 3

В третьем параграфе приведены результаты по определению области наиболее вероятного прохождения фотонов (Рисунок 5А, Б), измерению глубины зондирования рассеянным лазерным излучением и флуоресцентным излучением, образуемому в результате поглощения фотосенсибилизатором рассеянного лазерного излучения (Рисунок 5В). Проведен сравнительный анализ результатов,

полученных экспериментально, методом Монте Карло и диффузионным приближением.

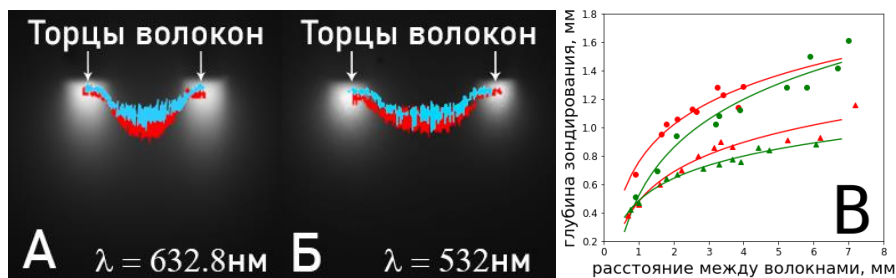


Рисунок 5. А) Фотография рассеяния лазерного излучения 632.8 нм. Б) Фотография рассеяния лазерного излучения 532 нм. Голубым выделена область наиболее вероятного прохождения фотонов флуоресцентного излучения 675 нм при возбуждении 632.8 нм А и 532 нм Б. Красным выделена область наиболее вероятного прохождения фотонов лазерного излучения (632.8 нм А и 532 нм Б). В) График зависимости глубины зондирования от расстояния между волокнами. Длина волн лазерного излучения 532 нм, 632.8 нм: — — логарифмическая аппроксимация, 532 нм; ● — рассеянное лазерное излучение, 532 нм, эксперимент; ▲ — флуоресцентное излучение при возбуждении 532 нм, эксперимент; — — логарифмическая аппроксимация, 632.8 нм; ● — рассеянное лазерное излучение, 632.8 нм, эксперимент; ▲ — флуоресцентное излучение при возбуждении 632.8 нм, эксперимент

Зависимость глубины зондирования излучением аппроксимируется функцией вида $y(r)=a \cdot \ln(r)+b$, где r – расстояние между волокнами, а и b – коэффициенты пропорциональности, с достоверностью $R^2 = 0.95$ и $R^2 = 0.98$ для длин волн 632.8 нм и 532 нм соответственно. Из приведенного графика зависимости глубины зондирования от расстояния между оптическими волокнами (Рисунок 5В) видно, что глубина зондирования при использовании рассеянного лазерного излучения больше на 50-70%, чем при использовании флуоресцентного излучения. Это можно объяснить следующим образом. Начальный угол вылета фотонов лазерного излучения определяется апертурой волокна. Дальнейшее изменение направления движения фотонов определяется фактором анизотропии среды, который определяет средний косинус угла рассеяния. На своем пути лазерные фотоны могут поглотиться фотосенсибилизатором, который в свою очередь может излучить флуоресцентный фотон, обладающий большей длиной волны. Основным отличием фотонов флуоресцентного от лазерного излучения является

отсутствие выделенного направления движения в начале распространения вследствие того, что излучение флуоресцентных фотонов возбужденными атомами и молекулами происходит равновероятно во все стороны. Дальнейшее распространение флуоресцентного фотона по своим принципам не отличается от распространения диффузионного фотона. Из-за отсутствия выделенного направления в начале движения у флуоресцентных фотонов отклонение от начального направления пути будет меньше. Значит, глубина максимума функции распределения фотонов между волокнами будет так же меньше.

В параграфах пять, шесть и семь приведены результаты математического моделирования и экспериментальные данные тепловых полей в биологических тканях, и их аналитическое сравнение. Показаны результаты измерения изменения оптических характеристик биологических тканей (Рисунок 6).

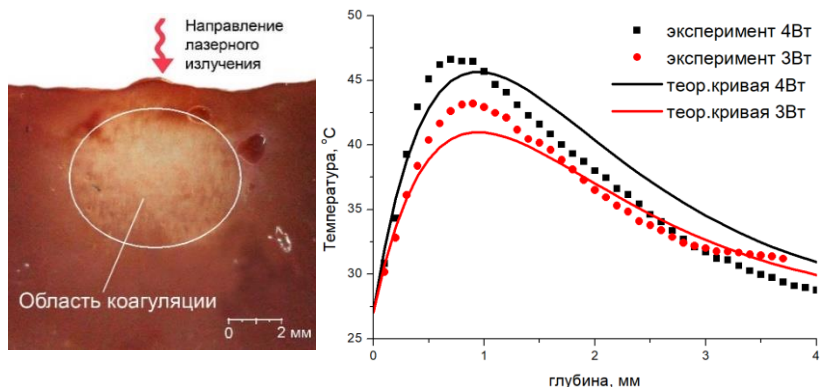


Рисунок 6. А) Разрез печени сразу после облучения 810 нм мощностью 3 Вт в течение 3 минут с использованием электронной системы охлаждения. Светлое пятно – это область коагуляции, образовавшаяся в процессе гипертермии. Площадь облучения 1.8 см². Б) Распределение температуры ткани по глубине, полученной экспериментально и теоретически для различных мощностей лазерного излучения. ■ и ● - экспериментальные точки при плотности мощности лазерного излучения 2 Вт/см² и 2.6 Вт/см² соответственно. — и — - теоретическая зависимость температуры от глубины при той же мощности.

Показано, что можно осуществлять локальную гипертермию внутренних тканей, оставляя при этом здоровыми поверхностные слои. Теоретические зависимости распределения температуры были сравнены с экспериментальными

(Рисунок 6Б). В результате сравнения было получено, что расхождения в зависимостях были незначительными. Более низкие значения температуры у теоретической кривой по сравнению с экспериментальными данными могут быть объяснены тем, что теоретическая модель учитывает наличие кровотока, за счет которого происходит отвод температуры. Экспериментально были получены зоны коагуляции при облучении тканей печени лазером с длиной волны 810 нм (рис. 8А). Области коагуляции при этом не затрагивали приповерхностные слои. Толщина некоагулированного слоя составила 1 мм.

Получены характерные времена и динамика изменения оптических параметров различных биологических тканей в процессе лазерно-индуцированного нагрева с длиной волны 675 нм путем регистрации обратно рассеянного лазерного излучения в облучающем волокне (Таблица 2). Зафиксировано изменение коэффициента рассеяния до 10% для печени, до 40% для мозговой ткани и до 35% для мышечной ткани при внутритканевом облучении с плотностью мощности 300, 360 и 620 Вт/см² соответственно.

Таблица 2. Характерные времена процессов денатурации, коагуляции, обезвоживания, карбонизации для различных типов ткани.

Тип ткани	Характерные времена процессов, с.			
	денатурация белка	обезвоживание + коагуляция	закипание воды	карбонизация
печень	0-25	25-200	200	200 и далее
нервная ткань	0-120	120-440	440	440 и далее
мышечная ткань	0-120	120-225	225	225 и далее

В восьмом параграфе приведены результаты измерений флуоресценции индоцианина зеленого в различных растворителях в моделях биологических тканей. Показано смещение пика флуоресценции индоцианина зеленого в зависимости от концентрации и среды, в которой он растворен. Так в присутствии альбумина пик поглощения смещался вправо на 10 нм.

Четвертая глава посвящена описанию применения полученных математических моделей, разработанных алгоритмов, способов и устройств, реализующих эти способы, на практике.

На базе Онкологического клинического диспансера № 1, МНИОИ им. П.А. Герцена, Государственного научного центра лазерной медицины Минздрава России г. Москва были проведены клинические исследования устройства для контактного охлаждения. Набрана статистика из 40 пациентов с различным типом заболеваний: меланома, рак молочной железы, вульвы, кожи лица и спины и другие. В результате применения устройства у более чем 30 пациентов произошла частичная резорбция до 50%, у пяти - полная резорбция. Применение устройства с локальной гипотермией позволило проводить сеансы ФДТ совмещенное с гипертермией в полном объеме в зонах, богатых нервными окончаниями без применения местного и общего обезболивания.

Были разработаны рекомендации по применению устройства контроля состояния биологической ткани во время внутритканевого облучения при проведении ФДТ и гипертермии паренхиматозных органов.

Приведено описание применения разработанной системы для флуоресцентной визуализации в БИК диапазоне, позволяющей проводить флуоресцентную навигацию для анализа уровня кровоснабжения. Был проведен статистический анализ значимости рассчитываемых параметров кровотока (Рисунок 7А), получаемых при проведении флуоресцентной ангиографии с применением разработанной системы, таких как: T_{0m} – время достижения максимальной интенсивности с момента внутривенного введения T_0 индоцианина зеленого; T_{Im} – время наступления максимальной интенсивности с момента появления индоцианина зеленого в зоне интереса T_I ; I_{max} – уровень максимальной интенсивности, I_{base} – начальный уровень сигнала. Выявлена положительная корреляция скоростных параметров T_{0m} , T_I , T_{Im} с восстановлением кровотока по берцовым артериям. Показан способ построения карты времени наступления максимума флуоресценции для экспресс анализа патологических зон (Рисунок 7Б, В). Разработан и внедрен протокол проведения флуоресцентной ангиографии в БИК диапазоне. Дано описание применения системы для флуоресцентной

визуализации в ближнем инфракрасном диапазоне для визуализации лимфотока, оценки заболеваний, связанных с лимфатической системой.

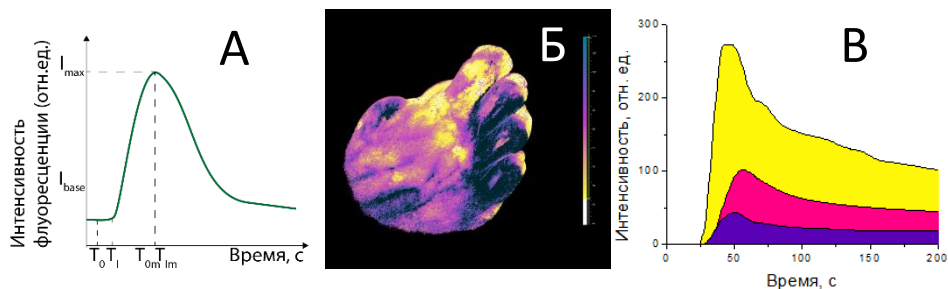


Рисунок 7. А) Характерная динамика интенсивности флуоресценции в зоне интереса, получаемая при обработке видеофайла. Б) Карта времени наступления максимума флуоресценции, Красному соответствует наиболее ранее наступление максимума, а фиолетовому наиболее позднее. В) Динамика интенсивности флуоресценции для разных участков стопы. Цвета Б) и В) соответствуют.

Показан вариант применения разработанной флуоресцентной системы для регистрации гетерогенности опухоли в БИК диапазоне, позволяющий проводить флуоресцентную диагностику с большей точностью и на большей глубине по сравнению с флуоресцентной диагностикой в видимом диапазоне.

В Заключение сформулированы основные результаты работы.

1. Разработана математическая модель, описывающая распространение света в многослойных гетерогенных биологических средах, содержащих ФС. Проведено сравнение глубины зондирования лазерным и флуоресцентным излучением по результатам полученным экспериментально и теоретически, методом Монте Карло и диффузионным приближением. Разница в глубине зондирования может достигать более 50% при равных условиях.
2. Разработана экспериментальная установка для исследования процессов взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями при облучении внутрикожных опухолей и новообразований. Получены характерные времена и динамика изменения оптических параметров облучаемых тканей.
3. Разработан способ измерения интенсивности лазерного излучения, рассеиваемого и поглощаемого биологической тканью непосредственно во время

облучения ткани, по НПВО оптического волокна. Проведено математическое моделирование распространения лазерного излучения в оптическом волокне при условии НПВО. Результаты математического моделирования были сравнены с экспериментальным, и показали хорошее соответствие.

4. Разработана методика и устройство для подкожного лазерного локального нагрева с автоматической регистрацией температурных полей облучаемой зоны. Применение данной методики позволяет создавать внутреннюю локальную гипертермию при сохранении неповрежденных поверхностных слоев толщиной более 2 мм.

5. Разработан алгоритм и методика регистрации и оценки флуоресцентных изображений в БИК диапазоне, получаемых у пациентов с сосудистыми нарушениями. Определены статистически важные параметры динамики изменения яркости флуоресценции в исследуемой области такие, как время разгорания флуоресценции, максимум интенсивности флуоресценции, скорость разгорания флуоресценции.

6. Исследованы оптические параметры биологических тканей, актуальных для практического применения и содержащих флуоресцентный краситель, в БИК диапазоне. Показано, что визуализация в БИК диапазоне глубокозалегающих кровеносных и лимфатических сосудов в биологических тканях обладает контрастом выше, чем визуализация в видимом диапазоне.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Kholodtsova M. N., **Grachev P. V.**, Savelieva T. A., Kalyagina N. A., Blondel W., Loschenov V. B. Scattered and fluorescent photon track reconstruction in a biological tissue //International Journal of Photoenergy. – 2014. – Т. 2014. **Q2**
2. Orlovskii Yu.V., Popov A.V., Orlovskaya E.O., Vanetsev A.S., Vagapova E.A., Rähn M., Sammelselg V., Sildos I., Baranchikov A.E., **Grachev P.V.**, Loschenov V.B. Comparison of concentration dependence of relative fluorescence quantum yield and brightness in first biological window of wavelengths for aqueous colloidal solutions of Nd³⁺: LaF₃ and Nd³⁺: KY₃F₁₀ nanocrystals synthesized by microwave-hydrothermal treatment //Journal of Alloys and Compounds. – 2018. – Т. 756. – С. 182-192. **Q1**
3. Джемилова З.Н., Ситкин И.И., Сергеева С.В., **Грачев П.В.**, Линьков К.Г., Лощенов В.Б., Галстян Г.Р. Применение метода флуоресцентной ангиографии в ближнем инфракрасном диапазоне у пациента с сахарным диабетом и

критической ишемией нижней конечности // Сахарный диабет. - 2018. - Т. 21. – №. 4. - С.319-324 **Q3**

4. Romanishkin I.D., Pominova D.V., **Grachev P.V.**, Makarov V.I., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Baranchikov A.E., Sildos I., Loschenov V.B., Orlovskii Y.V., Ryabova A.V. Noninvasive estimation of the local temperature of biotissues heating under the action of laser irradiation from the luminescence spectra of Nd³⁺ IONS // Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 2. - №. 7. – С. 25-36 **Q3**

5. Ryabova A.V., Keeyend K., Tsolaki E., Bertazzo S., Pominova D.V., Romanishkin I.D., **Grachev P.V.**, Makarov V.I., Burmistrov I.A., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Baranchikov A.E., Rähn M., Sildos I., Sammelselg V., Loschenov V.B., Orlovskii Y.V. Visualization of Nd³⁺-doped LaF₃ nanoparticles for near infrared bioimaging via upconversion luminescence at multiphoton excitation microscopy // Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 1. - №. 7. – С. 4-12 **Q3**

6. Pominova D.V., Romanishkin I.D., **Grachev P.V.**, Borodkin A.V., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Orlovskii Yu.V., Sildos I., Loschenov V.B., Ryabova A.V. Theoretical and experimental modeling of interstitial laser hyperthermia with surface cooling device using Nd³⁺-doped nanoparticles //Lasers in medical science. – 2019. – С. 1-11. **Q2**

7. **Grachev P. V.**, Lin'kov K. G., Loschenov V. B. A method of controlled skin surface cooling during photodynamic therapy and hyperthermia treatment //Russian Journal of General Chemistry. – 2015. – Т. 85. – №. 1. – С. 346-350. **Q3**

8. **Grachev P.**, Loschenov V. Technique for measuring laser radiation intensity in biological tissues //Photonics & Lasers in Medicine. – 2013. – Т. 2. – №. 3. – С. 217-224. **Q3**

9. Холодцова, М. Н., **Грачев, П. В.**, Блондель, В. С., Зеленков, П. В., Потапов, А. А., Щербakov, И. А., Лощенов, В. Б. ПРИМЕНЕНИЕ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ПРОСТРАНСТВЕННО-РАЗРЕШЕННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ НА ПРИМЕРЕ ДВУХСЛОЙНЫХ ФАНТОМОВ, СОДЕРЖАЩИХ МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ НАНОЧАСТИЦЫ //Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 7. – №. 2. – С. 4-12. **Q3**

10. Шабунин А.В., Долидзе Д.Д., Подвязников С.О., Мельник К.В., Мумладзе Р.Б., Варданян А.В., Лебединский И.Н., **Грачев П.В.** Усовершенствованный способ тиреоидэктомии с футлярно-фасциальным иссечением клетчатки шеи // Современная онкология. – 2016. - №. 02. – С. 72-77

11. Абдульвапова З.Н., **Грачев П.В.**, Артемова Е.В., Галстян Г.Р., Бондаренко О.Н., Горбачева А.М., Линьков К.Г., Лощенов В.Б. Оценка состояния кровотока нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом методом флуоресцентной ангиографии в ближнем инфракрасном диапазоне // Biomedical Photonics. – 2017. – Т.6. - №. 1. – С. 4-11 **Q3**

12. Pominova D.V., Ryabova A.V., **Grachev P.V.**, Romanishkin I.D., Kuznetsov S.V., Rozhnova J.A., Yasyrkina D.S., Fedorov P.P., Loschenov V.B. Upconversion microparticles as time-resolved luminescent probes for multiphoton microscopy: desired signal extraction from the streaking effect // Journal of biomedical optics. – 2016. – Т. 21. – №. 9. – С. 096002. **Q1**
13. Potapov A. A., Goryaynov S.A., Okhlopkov V.A., Jukov V.U., Loschenov V.B., Saveliyeva T.A., **Grachev P.V.**, Holodtsova M.N., Kuzmin S.G., Spallone A.S. 5-ALA fluorescence navigation and laser spectroscopy in brain tumor resection // Visualization of the Brain and its Pathologies. Technical and Neurosurgical Aspects. - Amir Samii, Arya Nabavi, Rudolf Fahlbusch, Der Andere Verlag (2016), p. 294 pages, ISBN: 978-3-86247-577-3. – 2017.

СПИСОК РАБОТ В ТРУДАХ КОНФЕРЕНЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фаррахова Д.С., Макаров В.И., **Грачев П.В.**, Рябова А.В, Лощенов В.Б. Оценка приживления кожных трансплантатов с использованием наночастиц фталоцианина алюминия и индоцианина зеленого методами лазерной спектроскопии // Сборник научных трудов VI Международная конференция по фотонике и информационной оптике. - 2017 г. Москва, 01-03 февраля 2017г. - С. 536-537.
2. Abdulvapova Z.N., **Grachev P.V.**, Galstyan G.R., Bondarenko O.N. Near-infrared imaging for angiography in diabetic foot // Photon Lasers Med. – 2016. – Т.4. - №5. – С.305-306
3. Mukhin A.E., Borodkin A.V., **Grachev P.V.**, Stranadko E.F. Joint application of fluorescence imaging and local fluorescence spectroscopy for photodynamic diagnostics and photodynamic therapy of skin cancer // Photon Lasers Med. – 2016. – Т.4. - №5. – С.293-295.
4. Borodkin A.V., Linkov K.G., **Grachev P.V.**, Loshchenov M.V. Development of intraoperative videosystem for fluorescence diagnostics and photodynamic therapy monitoring of malignant tumors // Журнал прикладной спектроскопии. – 2016. – Т. 83, № 6-16. –С. 694
5. Saveliyeva T., Kustov D., **Grachev P.**, Makarov V., Osipova E., Loschenov V. Combined Video Analysis of ICG and 5-ALA Induced Protoporphyrin IX and Hemoglobin Oxygen Saturation in near Infrared // Proceedings of the 7th International Conference on Photonics, Optics and Laser Technology. – 2019. – Т. 1. – С. 320-324
6. Pominova D.V. , Proydakova V.Yu. , Romanishkin I.D. , Ryabova A.V. , **Grachev P.V.**, Kuznetsov S.V. , Voronov V.V. ,Fedorov P.P. Strategies to enhance the sensitivity

- of NaGdF₄:Yb-Tm based nanothermometers // Proc. SPIE 11067, Saratov Fall Meeting. – 2019. – №. 110671B
7. Loschenov V.B., Savelieva T.A., **Grachev P.V.**, Linkov K.G., Maklygina u.S., Romanishkin I.D., Ryabova A., Kustov D.M., Goryajnov S.A., Potapov A.A. Possible approaches to fluorescence diagnosis and photodynamic therapy for deep-seated tumors // Proc. SPIE 11070. – 2019. - №. 110706B
8. Pominova D.V., Ryabova A.V., Romanishkin I.D., **Grachev P.V.**, Burmistrov I.A., Kuznetsov S.V. Multifunctional upconversion nanoparticles based on NaYGdF₄ for laser induced heating, non-contact temperature sensing and controlled hyperthermia with use of pulsed periodic laser excitation // Proc. SPIE 10716, Saratov Fall Meeting – 2018. - №. 107161B
9. Romanishkin I.D., **Grachev P.V.**, Pominova D.V., Burmistrov I.A., Sildos I., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Orlovskii Yu.V., Loschenov V.B., Ryabova A.V. Experimental modeling of local laser hyperthermia using thermosensitive nanoparticles absorbing in NIR // Proc. SPIE 10716, Saratov Fall Meeting – 2019. - №. 107161C
10. Pominova D.V., Ryabova A.V., Romanishkin I.D., Makarov V.I., **Grachev P.V.** Bioimaging with controlled depth using upconversion nanoparticles // SPIE Proceedings 10677. – 2018. – T. 10677. - №. 1067700
11. **Grachev P.V.**, Abdulvapova Z.N., Linkov K.G., Galstyan G.R., Loschenov V.B. Near-infrared fluorescence imaging methods to evaluate blood flow state in the skin lesions // SPIE Proceedings 10677. – 2018. – T. 10677. - № 106771K
12. Pominova D.V., Ryabova A.V., **Grachev P.V.**, Romanishkin I.D., Proydakova V.Yu., Kuznetsov S.V., Voronov V.V., Fedorov P.P., Loschenov V.B. Optimization of upconversion nanoparticles excitation regimes for selective heating and effective thermometry in biological tissues // 18th International Conference on Laser Optics ICLO 2018 St.Petersburg, Russia
13. Orlovskii Yu.V., Popov A.V., Orlovskaya E.O., Vanetsev A.S., Sildos I., **Grachev P.V.**, Ryabova A.V. A crystal host selection for aqueous colloidal luminescent nanocrystals doped by Nd³⁺ used for bioimaging in first biological window // 18th International Conference on Laser Optics ICLO 2018 St.Petersburg, Russia
14. Loschenov V.B, Ryabova A.V., Vasilchenko S.Yu., **Grachev P.V.** Methods of silicon nanoparticles visualizations for in-vivo application // AIP Conference Proceedings. – 2010. – T. 1275. – C. 150-153.
15. Ryabova A.V., Vasilchenko S.Yu., **Grachev P.V.**, Loschenov V.B, Ermakov A.E. Biocompatible Carbon-coated 3-d Metal Nanocomposites for Therapy of Oncological Diseases // AIP Conference Proceedings. – 2010. – T. 1275. – C. 128-133