

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по научной
работе Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Физического
института имени П.Н. Лебедева Российской
академии наук доктор физ.-мат. наук

(Савинов С.Ю.)

2020 г.



Отзыв ведущей организации

на диссертацию Грачева Павла Вячеславовича

«Исследование лазерно-индуцированных оптических и тепловых полей в биологических тканях, содержащих фотосенсибилизаторы», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.21 – «лазерная физика»

Диссертационная работа П.В. Грачева посвящена решению проблем моделирования распространения лазерных и тепловых полей в биологических тканях, содержащих фотосенсибилизаторы, предложены и разработаны новые методы регистрации тепловых и световых полей и устройства управления ими для флуоресцентной диагностики, фотодинамической терапии и гипертермии. В результате исследований методами лазерной флуоресцентной спектроскопии показана и дано объяснение концентрационной зависимости интенсивности флуоресценции флуорофора индоцианина зеленого, описаны механизмы лазерного воздействия с биологической тканью в зависимости от длины лазерного излучения, мощности, разработана методика и устройство, измеряющее рассеянное назад излучение по нарушенному полному отражению в волокне и регистрирующее в процессе облучения время наступления денатурации, коагуляции, вапоризации, карбонизации на примере трех типов тканей: мышечная, печень и мозговая.

Целью данной работы явилось исследование лазерно-индуцированных тепловых и световых полей в биологических тканях, содержащих фотосенсибилизатор, а также разработка новых методов регистрации тепловых и световых полей и устройств

управления ими для флуоресцентной диагностики, фотодинамической терапии гипертермии.

Для достижения поставленной цели были изучены оптические параметры биологических тканей и флуоресцентных красителей в ближнем инфракрасном (БИК) диапазоне, разработаны математические модели, описывающие распространение света и тепла в биологических тканях, разработаны способы экспериментального исследования распространения света и тепла в биологических тканях. Актуальность, научная и практическая значимость избранной темы диссертационной работы связаны с прикладными задачами и проблемами, которые в настоящее время существуют в клинической практике.

Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, содержащего основные результаты и выводы, списка основных публикаций по теме диссертации и списка цитируемых источников.

Во введении сформулирована цель работы, достаточно подробно излагаются задачи, обосновывается их актуальность, перечислены 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 оптические свойства биологических тканей и факторы, влияющие на их спектральные зависимости, а также описаны процессы, происходящие в биологических тканях при их нагревании такие, как денатурация, коагуляция, карбонизация, показано влияние этих процессов на оптические характеристики тканей. Особое внимание удалено математическим моделям и факторам, описывающим распространение тепловых и световых полей в биологических тканях.

Вторая глава посвящена методам экспериментального и теоретического моделирования, использованным в работе. Приведены оптические свойства моделей и биологических тканей, использованных в работе, а также способы подготовки биологических тканей к экспериментам. Особое внимание удалено разработанным методам и алгоритмам, используемым в работе для описания распространения световых и тепловых полей в биологических тканях, а также для расчета распространения излучения в изогнутом оптическом волокне при нарушении полного внутреннего отражения.

Подробно описаны экспериментальные установки для регистрации тепловых полей и спектроскопических параметров образцов.

В третьей главе приведены результаты математического моделирования, экспериментальных исследований по распространению лазерно-индуцированных тепловых и световых полей в биологических тканях, содержащих фотосенсибилизаторы. Приведены результаты по определению области наиболее вероятного прохождения. Приведены результаты по определению глубины зондирования рассеянным лазерным излучением и фотонов, измерению глубины зондирования рассеянным лазерным излучением и флуоресцентным излучением, образующемся в результате поглощения флуоресцентным излучением. Проведен сравнительный фотосенсибилизатором рассеянного лазерного излучения. Проведен сравнительный анализ результатов, полученных экспериментально, методом Монте Карло и диффузационным приближением. Показано, что глубина зондирования при использовании рассеянного лазерного излучения больше на 50-70%, чем при использовании флуоресцентного излучения. Объяснением данного эффекта служит отсутствие выделенного направления в начале движения у флуоресцентных фотонов, в следствии чего отклонение от начального направления пути будет меньше. Получены характерные времена и динамика изменения оптических параметров различных биологических тканей в процессе лазерно-индуцированного нагревания с длиной волны 675 нм путем регистрации обратно рассеянного лазерного излучения в облучающем волокне. 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. Получена концентрационная зависимость флуоресценции индоцианина зеленого в БИК диапазоне. 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. Дано объяснение нелинейному характеру интенсивности флуоресценции от концентрации. Главным фактором, влияющим на данный характер, является образование Н-агрегатов индоцианина зеленого в растворителе.

Четвертая глава посвящена описанию применения полученных математических моделей, разработанных алгоритмов, способов и устройств, реализующих эти способы, на практике. Были проведены клинические исследования устройства для контактного охлаждения. Набрана статистика из 40 пациентов с различным типом заболеваний. Применение устройства с локальной гипотермией позволило проводить сеансы фотодинамической терапии совмещенное с гипертермией в полном объеме в зонах, богатых нервными окончаниями без применения местного и общего обезболивания.

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, получаемых при проведении флуоресцентной ангиографии с применением разработанной системы. Разработан и внедрен протокол ангиографии в БИК диапазоне. Дано описание применения 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.

В заключении сформулированы основные результаты работы.

Представленная работа оформлена в соответствии с требованиями, имеет четкую и логически обоснованную структуру, демонстрирует четкое представление автора о теме исследования и подтверждает высокий уровень квалификации автора.

Достоверность представленных в работе экспериментальных результатов обеспечена применением современного высокоточного оборудования. Результаты не противоречат данным, полученным другими исследователями, апробированы на ведущих международных конференциях по тематике работы, опубликованы в высокорейтинговых реферируемых научных изданиях. Все представленные научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы экспериментальными результатами.

Представленные результаты являются новыми, поскольку были разработаны, детально изучены и показана эффективность новых методов и технологий, которые ранее не были получены в мировой практике.

Практическая значимость работы обусловлена большим потенциалом использования в клинической практике разработанных методов для диагностики и терапии.

При обсуждении диссертационной работы возникли следующие замечания:

1. В диссертации не были представлены значения соотношения сигнал шум при анализе глубины зондирования при изменении расстояния между волокнами (Гл 3 п.3).
2. Не было ясно учитывались ли эффекты одиночных фотонов при построении модели распространения излучения в биологических тканях с использованием метода Монте Карло (Гл. 2 п. 2.3.2).

3. Недостаточно ясно изложен эффект налипания биологической ткани на волокно при температурном воздействии (Гл.3 п. 3.7).
4. Физическая мотивация изложена хорошо. Однако, практическая мотивация (клиническая) изложена недостаточно ясно, что необходимо для понимания важности выполняемых исследований.
5. Недостаточно ясно описана цель, схема измерений в экспериментах по измерению выходящего излучения на изгибе волокна по нарушенному полному внутреннему отражению. Под каким углом рассеивается? Какой толщины приёмное волокно, чтобы собрать всё выходящее? Все ли выходящее собирается? Как зависит вышедшее излучение от интенсивности входящего излучения?
6. Недостаточно расписано в чем разница зависимостей рассеянного назад излучения от температуры для различных тканей.
7. Неясно из каких критериев подбиралась модель биологических тканей. Брались теоретические значения или экспериментальные значения, измеренные автором.

Несмотря на сделанные замечания, диссертация П.В. Грачева представляет собой законченное исследование и заслуживает положительной оценки. Полученные результаты являются новыми, их оригинальность и достоверность не вызывает сомнения и открывает широкие перспективы для дальнейших исследований. Работа выполнена на высоком научном уровне и подтверждает высокую квалификацию автора при проведении экспериментов, обработке данных, интерпретации результатов и их публикации. Сделанные в диссертации выводы являются обоснованными, имеют высокую теоретическую и практическую значимость и подтверждаются как результатами эксперимента, так и результатами теоретического моделирования.

Автореферат работы П.В. Грачева соответствует содержанию и достаточно полно отражает структуру диссертации, и ознакомление с ним даёт возможность судить о том, что диссертация выполнена на высоком научном уровне. Диссертационная работа в целом представляет собой законченный научный труд, основные положения диссертации в достаточной мере нашли отражение в 13 научных статьях из перечня ВАК. Работа прошла хорошую апробацию на международных и российских конференциях. Таким образом, диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемых

к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук.

Из вышеизложенного следует, что представленная к защите диссертационная работа П.В. Грачева полностью удовлетворяет требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, П.В. Грачев заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата физико-математических наук по специальностям 01.04.21 – лазерная физика.

Отзыв подготовлен и составлен профессором, доктором физ.-мат. наук, высококвалифицированным главным научным сотрудником Отдела люминесценции им. С. И. Вавилова Федерального государственного бюджетного учреждения науки Физического института имени П.Н. Лебедева Российской академии наук Витухновским Алексеем Григорьевичем, обсужден и утвержден на заседании № 2003 Семинара Отдела люминесценции им. С.И. Вавилова 29января 2020 года (протокол №9).

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физический институт имени П.Н. Лебедева Российской академии наук,Отдел люминесценции им. С.И. Вавилова.

доктор физ.-мат. наук, профессор Витухновский Алексей Григорьевич.

Адрес: г. Москва, Ленинский пр-т. 53с4 , тел.+7(499) 132-63-64.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физический институт имени П.Н. Лебедева Российской академии наук,Отделение оптики.

Адрес: г. Москва, Ленинский пр-т. 53с4 , тел. 8 (499) 132-61-47.

Руководитель Отделения оптики ФИАН, доктор физ.-мат. наук

Лебедев Владимир Сергеевич

Подписи сотрудников ФИАН Витухновского Алексея Григорьевича и Лебедева Владимира Сергеевича заверяю:

Ученый секретарь ФИАН

к. ф.-м. н.

Колобов А.В.

Список основных научных публикаций по теме диссертации
Грачева Павла Вячеславовича «Исследование лазерно-индуцированных оптических и
тепловых полей в биологических тканях, содержащих фотосенсибилизаторы»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата физико-математических
наук по специальности 01.0.21 – «лазерная физика».

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., Keevend 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., Щербаков, 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-fasциальным иссечением клетчатки шеи // Современная онкология. – 2016. - №. 02. – С. 72-77
11. Абдульватапова 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 // BiomedicalPhotonics. – 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. Upconversionmicroparticles 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., Savelieva 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 AndereVerlag (2016), p. 294 pages, ISBN: 978-3-86247-577-3. – 2017.