

Вінницький національний технічний університет
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ХОЛІН ВОЛОДИМИР ВІКТОРОВИЧ

УДК 681.784.7:615.849.19

**МЕТОД І ОПТИКО-ЕЛЕКТРОННИЙ ПРИЛАД
ДЛЯ ОКСИМЕТРИЧНО-КОРЕГОВАНОЇ ФОТОДИНАМІЧНОЇ
ТЕРАПІЇ ПУХЛИН**

05.11.17 – біологічні та медичні прилади і системи
Технічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



В.В. Холін

Науковий керівник:

Павлов Сергій Володимирович
доктор технічних наук, професор

АНОТАЦІЯ

Холін В.В. Метод і оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.11.17 «Біологічні та медичні прилади і системи». – Вінницький національний технічний університет, Вінниця, 2021.

Дисертація присвячена актуальному завданню – підвищенню ефективності проведення фотодинамічної терапії пухлин за рахунок введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла і розроблення оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

Одним з найперспективніших методів лікування в сучасній онкології вважається фотодинамічна терапія (ФДТ), яка є неінвазивним високоспецифічним лікувальним засобом терапії пухлин, що базується на використанні фотофізичних принципів для спричинення оксидативного ураження в пухлинній тканині на субструктурному рівні. Саме цей механізм, що здатен безпосередньо ініціювати процеси програмованої загибелі пухлин, є головною перевагою, яка робить ФДТ найбільш багатообіцяючим напрямком серед новітніх методів лікування в онкології.

Для здійснення фотохімічних реакцій в певній тканині необхідні три складові: здатні до активації світлом молекули фотосенсибілізатора; світло відповідного спектру та достатньої для їх збудження інтенсивності; молекулярний кисень.

Коли ці нешкідливі компоненти поєднуються, починається генерація активних форм кисню (АФК), зокрема, синглетного кисню, які саме й спричиняють пошкодження клітин та/або судин мікроциркуляторного русла,

що супроводжуються запуском системних адаптаційних процесів, в тому числі імунної відповіді.

Підвищення ефективності ФДТ можна досягти лише через цілеспрямований контроль кожного з цих компонентів, а в ідеалі – всієї цієї тріади в цілому, тому що внаслідок недостатньої доставки світла можуть залишатися життєздатні залишкові злоякісні клітини, які зумовлюють рецидив, а надлишкова потужність опромінення може призвести до занадто глибокого проникнення світла та пошкодження здорових тканин.

Крім джерела випромінювання важливим є спосіб застосування світла, оскільки різні протоколи опромінення з використанням одного й того ж джерела призводять до різних результатів ФДТ. Тому актуальними є подальші розробки новітніх джерел випромінювання та оптично-волоконних систем його доставки, а також удосконалених технологій дозиметрії, що надаватимуть можливості запровадження індивідуалізованих протоколів. Саме в цьому напрямку полягають перспективи розробки й втілення новітніх технологій для покращення ефективності ФДТ в цілому.

Утворення АФК призводить до виснаження наявного в тканині молекулярного кисню під час ФДТ в залежності від щільності потужності випромінювання. До того ж колапс судин внаслідок ФДТ зменшує оксигенацію пухлини. Зважаючи на обмежений радіус дії АФК і, особливо, синглетного кисню, накопичення та локалізація фотосенсибілізатора поряд з оксигенацією тканини мають критичний вплив на ефективність ФДТ. Тому контроль за локалізацією фотосенсибілізатора впродовж процедури може значно підвищити потенціал ФДТ.

Таким чином, найбільш актуальними для подальшого розвитку одного з найсучасніших і найперспективніших методів лікування онкологічних захворювань – фотодинамічної терапії є: розробка та втілення методів і засобів контролю лазерного опромінення *Locus morbi* в режимі реального часу, систем лазерного випромінювання з використанням зворотного зв'язку по динаміці оксиметричних параметрів, а також накопичення та деградації

фотосенсибілізатора в *Locus morbi*, а також розробка оптико-волоконних систем для лазерної медицини, здатних забезпечувати оптимальні режими опромінення та здійснювати моніторинг стану *Locus morbi*.

В дисертаційній роботі систематизовані ключові аспекти проведення ФДТ, проаналізовано взаємозв'язок основних факторів ФДТ та можливості їх взаємної кореляції. Проведено аналіз технічних засобів для проведення ФДТ. Наведені особливості проведення неінвазивної медичної спектрофотометрії в рамках фотодинамічного процесу.

Зокрема, під час літературного пошуку та аналітичного огляду, які розкривають проблематику порушуваних у дисертації задач, встановлено, що набутий десятиріччями досвід застосування ФДТ свідчить про високу гетерогенність реакції пухлин на ФДТ, проте в клініці як і раніше, застосовуються протоколи ФДТ, створені виключно емпіричним шляхом. Таким чином, є гостра необхідність у вдосконаленні методів проведення ФДТ та створенні відповідних апаратних комплексів, здатних в реальному часі реєструвати ефективність проведення ФДТ за рахунок моніторингу її ключових параметрів, і по можливості автоматично коригувати схему проведення процедури, сприяючи створенню індивідуалізованого підходу в лікуванні новоутворень.

Розроблено математичну модель поведінки системи гомеостазу підтримання оксигенації тканини за рахунок вазомоторної регуляції при імпульсній дії стресора та проведене комп'ютерне моделювання отриманої математичної моделі з використанням пакету SIMULINK програмного середовища MATLAB.

Завдяки гомеостатичним механізмам оксигенація тканини, що зазнає впливу різноманітних екзо- і ендогенних чинників, підтримується на фізіологічному рівні. Головним чином це відбувається завдяки адитивній взаємодії двох регуляторних систем: перфузії тканини та сатурації гемоглобіна киснем. Виходячи із стохастичної моделі кровотоку в мікроциркуляторному

руслі, діапазон регуляції перфузії може сягати 8-разової величини. До того ж сатурація гемоглобіну впродовж пересування еритроциту через судини мікроциркуляторного русла може змінюватися від 1,5 – 3 разів і до 15 разів при екстремальних потребах тканини. Фотодинамічні реакції завдають потужного впливу на обидві системи регуляції, оскільки, по-перше, фотоокислення значно підвищує локальні витрати кисню, по-друге, його продукти – активні форми кисню – є надзвичайно вазоактивними речовинами.

Було проведено моделювання поведінки системи гомеостазу підтримання оксигенації тканини за рахунок вазомоторної регуляції при імпульсній дії стресора. Для визначення граничних умов адаптивної реакції в залежності від потужності дії стресора була вирішена задача оптимізації, враховуючи три градації функціонального стану системи мікроциркуляції (стаціонарний стан, активований стан, декомпенсований стан) і імовірність переходів між ними згідно зі стохастичною моделлю регуляції кровотоку.

Комп'ютерне моделювання поведінки адаптивної біологічної системи, що описана викладеною вище математичною моделлю, було проведено з використанням пакету SIMULINK програмного середовища MATLAB. Для врахування запізнення процесу віддачі кисню гемоглобіном по відношенню до дії лазерного імпульсу, що ініціює фотодинамічну реакцію, додатково введена ще одна аперіодична ланка. При поданні на вхід системи імпульсів однакової амплітуди та тривалості, зростання потужності вхідного сигналу через підвищення частоти імпульсів призводить до майже лінійної (крім початкової ділянки) форми вихідного сигналу, що відображає зменшення рівню сатурації гемоглобіну при зростанні щільності потужності опромінення

При поданні на вхід системи імпульсів однакової амплітуди та тривалості, зростання потужності вхідного сигналу через підвищення частоти імпульсів призводить до майже лінійної (крім початкової ділянки) форми вихідного сигналу, що відображає зменшення рівню сатурації гемоглобіну при зростанні щільності потужності опромінення.

Розроблено алгоритм реалізації додаткового прогностичного навантаження (стресорної проби) в процесі фотодинамічного впливу. Вибір тривалості імпульсу пов'язується з амплітудою і параметрами використовуваного джерела оптичного випромінювання. Частота проходження імпульсів в межах послідовності безперервно змінюється від мінімальних значень на початку послідовності до максимальних в кінці. Максимальна частота імпульсів послідовності повинна значно перевищувати мінімальну. Паралельно з обробкою пухлини оптичним випромінюванням, що відповідає піку поглинання ФС, проводиться моніторинг мікроциркуляторного русла шляхом контролю тканинної сатурації за допомогою спектроскопії дифузного відображення, який реалізується оптичним тканинним оксиметром. Довжини хвиль оптичного впливу для спрощення реалізації моніторингу мікроциркуляторного русла обираються відмінними від піку поглинання ФС.

Вибір тривалості імпульсу пов'язується з амплітудою і параметрами використовуваного джерела оптичного випромінювання. Частота проходження імпульсів в межах послідовності безперервно змінюється від мінімальних значень на початку послідовності до максимальних в кінці. Максимальна частота імпульсів послідовності повинна значно перевищувати мінімальну. Паралельно з обробкою пухлини оптичним випромінюванням, що відповідає піку поглинання ФС, проводиться моніторинг мікроциркуляторного русла шляхом контролю тканинної сатурації за допомогою спектроскопії дифузного відображення, який реалізується оптичним тканинним оксиметром. Довжини хвиль оптичного впливу для спрощення реалізації моніторингу мікроциркуляторного русла обираються відмінними від піку поглинання ФС.

Розроблено оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії (ФТД) пухлин та рекомендації щодо виконання окремих каскадів: проведено розрахунок та спроектовано фотоприймальний пристрій; розроблена принципова схема та конструкція термостабілізованого лазерного випромінювача, що має модифікації за довжинами хвиль; реалізовано оптоелектронний блок; реалізовано мікропроцесорний каскад для

синхронізації роботи окремих каскадів; реалізовано дистальну ділянку волоконно-оптичного блоку. Як джерела світла для лікувального впливу при ФДТ, так і для діагностики, в даній установці використовуються діодні лазерні випромінювачі (ЛВ). Передача випромінювання здійснюється за допомогою оптичних волокон.

В роботі розроблена установка, створена на основі принципів оптичного моніторингу параметрів ФДТ з урахуванням наступних фактів: після внутрішньовенного введення ФС (в дозах, пропорційних масі тіла пацієнта) немає можливості впливати на його кількість в організмі. Однак, використовуючи флуоресцентні властивості ФС або так званий флуоресцентний іміджінг, можна відстежувати фармакокінетику і біорозподіл фотосенсибілізатору; мультиспектральний вплив світлом (дві та більше довжини хвилі оптичного випромінювання у видимому і ближньому ІЧ діапазоні) на зону пухлини дозволяє, з урахуванням зворотного дифузного відбиття, аналізувати зміну вмісту кисню в пухлинній тканині під час ФДТ.

Оптико-електронний прилад забезпечує оптичний контроль на всіх етапах ФДТ наступних процесів і показників: кінетики накопичення і поточного рівня ФС в пухлинній зоні, а також контрасту накопичення зі здоровими тканинами, ступеня оксигенації тканин в пухлинній зоні, впливу на пухлину оптичним випромінюванням з довжиною хвилі, яка відповідає довгохвильового піку поглинання застосовуваного ФС, з тимчасовими і енергетичними параметрами, що враховують показники оптичного контролю з подальшою оксиметрично-корегованою фотодинамічною терапією пухлин.

В рамках експериментів в роботі вирішувалися найрізноманітніші (як принципові, так і тактичні) завдання, які були об'єднані спільною метою - вдосконаленням методу проведення ФДТ пухлин за рахунок введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла.

Було експериментально підтверджено, що оптична тканинна оксиметрія біологічних тканин методом спектроскопії дифузного відбиття дозволяє простежити динаміку зміни параметрів мікроциркуляторного русла в процесі проведення холодкових навантажувальних проб.

Проведено серію експериментів для підтвердження принципової можливості реалізації оптичної оксиметрії пухлинної зони методом спектроскопії дифузного відбиття в процесі фотодинамічного впливу на експериментальній установці. У більшості кількості тварин спостерігалось зменшення потужності зворотного дифузно випромінювання на початковому етапі після ввімкнення лазера. Пояснити цей ефект можна локальним підвищенням температури і перфузії в гетерогенному мікрооточенні пухлинної тканини та подальшим можливим мікротромбозом, як результатом ефективного перебігу ФДТ.

Представлені результати свідчать про можливість використання оптичної спектроскопії з застосуванням світловодів для оцінки динаміки накопичення ФС в пухлині та нормальних тканинах, а також для визначення рівня його фотодеструкції під час лазерного опромінення при ФДТ.

Зроблено висновок, що у разі великих лінійних розмірів досліджуваної патологічної зони необхідно збільшувати кількість приймальних оптичних волокон, встановлювати приймальне волокно в межах патологічної зони або змінювати процес фотодетектування.

Зв'язок роботи із науковими програмами, планами, темами. Тематика дисертації відповідає пріоритетним напрямкам розвитку науки в Україні. Основний зміст роботи складають результати досліджень, які проводилися на кафедрі біомедичної інженерії Вінницького національного технічного університету. Робота виконувалася відповідно до плану наукових досліджень та Міністерства освіти і науки України за держбюджетними темами: «Створення інформаційних діагностичних технологій для оцінювання стану і визначення індексу здоров'я людини» (номер державної реєстрації 0108U000656); «Система

автоматизованої багатофункціональної лазерної поляриметрії плівок плазми крові людини для діагностики патологічних змін молочних залоз» (номер державної реєстрації 0116U004709), «Аналіз теоретичних засад побудови інтелектуалізованої системи зображувальної поляриметрії біологічних тканин та її базових блоків» (номер державної реєстрації 0118U000207).

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна отриманих результатів полягає у вирішенні актуального науково-технічного завдання – удосконалення методу ФДТ за рахунок ефективного використання лазерного випромінювання шляхом розробки оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

У роботі отримано такі наукові результати:

1. Отримав подальший розвиток метод оптичної тканинної оксиметрії з реєстрацією спектроскопії дифузного відбиття біологічним середовищем *in vivo* видимого та ближнього інфрачервоного діапазону, який реалізується в межах неузгодженості осей випромінюючого та приймального волокна, що дозволяє при необхідності оптимізувати в досліджуваній патологічній зоні необхідну кількість прийомних оптичних волокон або змінювати процес фотодетектування.

2. Вперше розроблено математичну модель поведінки системи гомеостазу підтримання оксигенації тканини при імпульсній дії стресора, і визначено граничні умови її адаптивної реакції, що стосовно ФДТ висвітлює залежність між щільністю потужності опромінення та спроможністю підтримувати адекватну оксигенацію тканини.

3. Вперше запропоновано математичну модель в системі імітаційного комп'ютерного моделювання SIMULINK програмного середовища MATLAB, що дозволило сформулювати технічні вимоги щодо формалізації технічних рекомендацій при розробці оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин, а також експлуатаційних характеристик окремих його компонентів.

Практичне значення отриманих результатів полягає у комплексній прикладній спрямованості отриманих результатів, що використовуються для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла з подальшою оксиметрично-корегованою фотодинамічною терапією пухлин.

Практичне значення одержаних результатів роботи:

1. Розроблено алгоритм проведення стресорної проби для попереднього визначення енергетичних параметрів лазерного опромінення при ФДТ на основі оксиметричних критеріїв відгуку на ініціацію фотоокислювальних процесів.

2. Розроблено оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

3. Удосконалено методику проведення ФДТ за рахунок введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла.

4. Результати дисертаційної роботи рекомендовані до впровадження в Державній установі «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова Національної академії медичних наук України» (акт від 10.12.2020 р.) та впроваджено у ПП «Фотоніка Плюс» (акт впровадження від 24.12.2020 р.), а саме оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин та алгоритм роботи, що підтвердило раціональність поєднання терапевтичної та діагностичної частин у межах одного приладу.

Окремі теоретичні результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрі біомедичної інженерії ВНТУ (акт впровадження від 16.12.2020 р.) в межах спеціальності «Біомедична інженерія» під час викладання таких дисциплін, як: «Нанотехнології в біології та медицині», «Біомедичні прилади, апарати і комплекси. Діагностична техніка», Впровадження підтверджуються відповідними актами.

Ключові слова: фотодинамічна терапія, фотодинамічний процес, фотосенсибілізатор, оптико-електронний прилад, волоконно-оптичний канал, методи оптичної тканинної оксиметрії, оптичне випромінювання, щільність потужності, оксигенація.

ABSTRACT

Kholin V.V. Method and optoelectronic device for oximetric-corrected photodynamic therapy of tumors. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The thesis for a scientific degree of the candidate of technical sciences in specialty 05.11.17 «Biological and Medical Devices and Systems». – Vinnytsia National Technical University, Vinnytsia, 2021.

The dissertation is devoted to the actual problem - to increase the efficiency of photodynamic therapy of tumors by introducing additional prognostic load (sample) in order to automatically determine the initial energy parameters of optical radiation according to the predicted criterion of optical response of the microcirculatory tract on the photodynamic influence and development of optoelectronic device for oximetrically corrected photodynamic therapy of tumors.

One of the most promising treatments in modern oncology is photodynamic therapy (PDT), which is a non-invasive highly specific drug for the treatment of tumors, based on the use of photophysical principles to cause oxidative damage in tumor tissue at the substructural level. It is this mechanism, which is able to directly initiate the processes of programmed tumor death, is the main advantage that makes PDT the most promising direction among the latest treatments in oncology. To carry out photochemical reactions in a particular tissue, three components are required: photosensitizer molecules capable of light activation; light of the corresponding spectrum and intensity sufficient for their excitation; molecular oxygen.

When these harmless components are combined, the generation of reactive oxygen species (ROS), in particular singlet oxygen, begins, which causes damage to

cells and / or vessels of the microcirculatory tract, accompanied by the launch of systemic adaptation processes, including the immune response. Improving the efficiency of PDT can be achieved only through targeted control of each of these components, and ideally - the whole triad as a whole, because due to insufficient light delivery can remain viable residual malignant cells that cause recurrence, and excessive irradiation power can lead to too much light penetration and damage to healthy tissues.

In addition to the radiation source, the method of light application is important because different irradiation protocols using the same source lead to different PDT results. Therefore, further development of the latest radiation sources and fiber-optic delivery systems, as well as advanced dosimetry technologies that will provide opportunities for the introduction of individualized protocols are relevant. It is in this direction are the prospects for the development and implementation of new technologies to improve the efficiency of PDT in general. The formation of ROS leads to the depletion of molecular oxygen present in the tissue during PDT, depending on the radiation power density. In addition, vascular collapse due to PDT reduces tumor oxygenation. Due to the limited range of ROS and, in particular, singlet oxygen, the accumulation and localization of the photosensitizer along with tissue oxygenation have a critical effect on the effectiveness of PDT. Therefore, monitoring the location of the photosensitizer during the procedure can significantly increase the potential of PDT.

Thus, the most relevant for the further development of one of the most modern and promising methods of cancer treatment - photodynamic therapy are: development and implementation of methods and means of control of laser irradiation *Locus morbi* in real time, laser radiation systems using feedback on the dynamics of oximetric parameters, as well as the accumulation and degradation of the photosensitizer in *Locus morbi*, as well as the development of fiber-optic systems for laser medicine, capable of providing optimal irradiation regimes and monitoring the state of *Locus morbi*. The dissertation systematizes the key aspects of PDT, analyzes the relationship of the main factors of PDT and the possibility of their mutual correlation.

The analysis of technical means for carrying out PDT is carried out. Features of non-invasive medical spectrophotometry within the photodynamic process are given.

In particular, during the literature search and analytical review, which reveal the problems raised in the dissertation, it was found that decades of experience in the use of PDT indicates a high heterogeneity of tumor response to PDT, but the clinic still uses PDT protocols created exclusively empirically. . Thus, there is an urgent need to improve methods of PDT and create appropriate hardware systems that can record in real time the effectiveness of PDT by monitoring its key parameters, and if possible automatically adjust the scheme of the procedure, helping to create an individualized approach to treatment. A mathematical model of the behavior of the homeostasis system to maintain tissue oxygenation due to vasomotor regulation under the pulse action of the stressor was developed and computer modeling of the obtained mathematical model was performed using the SIMULINK package of the MATLAB software environment.

Due to homeostatic mechanisms, oxygenation of tissue exposed to various exogenous and endogenous factors is maintained at the physiological level. This is mainly due to the additive interaction of two regulatory systems: tissue perfusion and hemoglobin oxygen saturation. Based on the stochastic model of blood flow in the microcirculatory tract, the range of perfusion regulation can reach 8 times the value. In addition, the saturation of hemoglobin during the movement of erythrocytes through the vessels of the microcirculatory tract can vary from 1.5 to 3 times and up to 15 times in extreme tissue needs. Photodynamic reactions have a powerful effect on both regulatory systems, because, firstly, photooxidation significantly increases the local consumption of oxygen, and secondly, its products - reactive oxygen species - are extremely vasoactive substances. The behavior of the homeostasis system to maintain tissue oxygenation due to vasomotor regulation under the pulse action of the stressor was simulated. To determine the limiting conditions of the adaptive response depending on the power of the stressor, the optimization problem was solved, taking into account three gradations of the functional state of the microcirculation system

(steady state, activated state, decompensated state) and the probability of transitions between them according to stochastic blood flow regulation model.

Computer simulations of the behavior of the adaptive biological system described in the mathematical model described above were performed using the SIMULINK package of the MATLAB software environment. To take into account the delay of the process of oxygen delivery by hemoglobin in relation to the action of the laser pulse that initiates the photodynamic reaction, an additional aperiodic link is additionally introduced. When a pulse of the same amplitude and duration is applied to the input of the system, the increase of the input signal power due to the increase of the pulse frequency leads to an almost linear (except the initial section) shape of the output signal, which reflects the decrease in When the system inputs pulses of the same amplitude and duration, the increase in input signal power due to increasing pulse frequency leads to an almost linear (except for the initial section) shape of the output signal, which reflects a decrease in hemoglobin saturation with increasing radiation power density.

An algorithm for the implementation of additional prognostic load (stress test) in the process of photodynamic influence has been developed. The choice of pulse duration is associated with the amplitude and parameters of the used source of optical radiation. The frequency of pulses within the sequence varies continuously from the minimum values at the beginning of the sequence to the maximum at the end. The maximum pulse frequency of the sequence must significantly exceed the minimum. In parallel with the treatment of the tumor with optical radiation corresponding to the peak of FS absorption, the microcirculatory tract is monitored by controlling tissue saturation by diffuse reflection spectroscopy, which is realized by an optical tissue oximeter. Wavelengths of optical influence to simplify the implementation of microcirculatory channel monitoring are chosen to be different from the FS absorption peak. The choice of pulse duration is associated with the amplitude and parameters of the used source of optical radiation. The frequency of pulses within the sequence varies continuously from the minimum values at the beginning of the sequence to the maximum at the end. The maximum pulse frequency of the sequence

must significantly exceed the minimum. In parallel with the treatment of the tumor with optical radiation corresponding to the peak of FS absorption, the microcirculatory tract is monitored by controlling tissue saturation by diffuse reflection spectroscopy, which is realized by an optical tissue oximeter. Wavelengths of optical influence to simplify the implementation of microcirculatory channel monitoring are chosen to be different from the FS absorption peak.

An optoelectronic device for oximetric-corrected photodynamic therapy of tumors and recommendations for the implementation of individual cascades have been developed: a calculation has been performed and a photodetector has been designed; the schematic diagram and design of the thermostabilized laser emitter having modifications on wavelengths are developed; implemented optoelectronic unit; implemented microprocessor stage for synchronization of individual stages; the distal section of the fiber-optic unit is realized. As light sources for the therapeutic effect of PDT, and for diagnosis, this installation uses diode laser emitters (LE). Radiation is transmitted by optical fibers. The work is based on the principles of optical monitoring of PDT parameters taking into account the following facts: after intravenous administration of FS (in doses proportional to the patient's body weight) it is not possible to influence its amount in the body. However, using the fluorescent properties of FS or so-called fluorescent imaging, it is possible to monitor the pharmacokinetics and biodistribution of the photosensitizer; multispectral influence of light (two or more wavelengths of optical radiation in the visible and near IR range) on the tumor area allows, taking into account the inverse diffuse reflection, to analyze the change in oxygen content in tumor tissue during PDT.

The optoelectronic device provides optical control at all stages of PDT of the following processes and indicators: kinetics of accumulation and current level of FS in the tumor area, as well as the contrast of accumulation with healthy tissues, the degree of oxygenation of tissues in the tumor area, exposure to optical radiation with wavelength which corresponds to the long-wavelength absorption peak of the applied FS, with time and energy parameters that take into account the indicators of optical control with subsequent oximetrically-corrected photodynamic therapy of tumors. As

part of the experiments, a variety of (both basic and tactical) tasks were solved, which were united by a common goal - to improve the method of PDT tumors by introducing additional prognostic load (sample) to automatically determine the initial energy parameters of optical radiation by evaluating the response microcirculatory tract. It was experimentally confirmed that the optical tissue oximetry of biological tissues by diffuse reflection spectroscopy allows to trace the dynamics of changes in the parameters of the microcirculatory channel in the process of cold loading tests. A series of experiments was performed to confirm the fundamental possibility of implementing optical oximetry of the tumor zone by diffuse reflection spectroscopy in the process of photodynamic influence on the experimental setup. In more animals, there was a decrease in the power of the reverse diffuse radiation at the initial stage after the inclusion of the laser. This effect can be explained by a local increase in temperature and perfusion in the heterogeneous microenvironment of tumor tissue and subsequent possible microthrombosis as a result of the effective course of PDT.

The presented results indicate the possibility of using optical spectroscopy with the use of optical fibers to assess the dynamics of the accumulation of FS in the tumor and normal tissues, as well as to determine the level of its photodestruction during laser irradiation in PDT. It is concluded that in the case of large linear dimensions of the studied pathological zone, it is necessary to increase the number of receiving optical fibers, install the receiving fiber within the pathological zone or change the process of photodetection.

Connection of work with scientific programs, plans, themes. The topic of the dissertation corresponds to the priority areas of science development in Ukraine. The main content of the work is the results of research conducted at the Department of Biomedical Engineering of Vinnytsia National Technical University. The work was performed in accordance with the plan of scientific research and the Ministry of Education and Science of Ukraine on state budget topics: "Creation of information diagnostic technologies to assess the status and determine the human health index" (state registration number 0108U000656); "System of automated multifunctional laser polarimetry of human plasma films for diagnosis of pathological changes of

mammary glands" (state registration number 0116U004709), "Analysis of theoretical principles of construction of intellectualized imaging polarimetry system of biological tissues and its basic blocks" (state registration number 20000 0118U).

Scientific novelty of the obtained results. The scientific novelty of the obtained results lies in solving the current scientific and technical problem - improving the method of PDT through the effective use of laser radiation by developing an optoelectronic device for oximetric-corrected photodynamic therapy of tumors. The following scientific results were obtained in the work:

1. The method of optical tissue oximetry with registration of diffuse reflection spectroscopy by biological medium in vivo of visible and near infrared range which is realized within the limits of mismatch of axes of radiating and receiving fibers that allows to optimize in the studied pathology change the photodetection process.

2. For the first time a mathematical model of behavior of homeostasis system to maintain tissue oxygenation under pulsed stress is developed, and the boundary conditions of its adaptive response are determined, which in relation to PDT highlights the relationship between radiation power density and ability to maintain adequate tissue oxygenation.

3. For the first time a mathematical model in the system of simulation computer simulation SIMULINK software environment MATLAB was proposed, which allowed to formulate technical requirements for formalization of technical recommendations in the development of optoelectronic device for oximetric-corrected photodynamic therapy of tumors and performance of its components.

The practical significance of the obtained results lies in the complex applied orientation of the obtained results, which are used for automated determination of initial energy parameters of optical radiation by estimating the response of the microcirculatory tract with subsequent oximetrically corrected photodynamic therapy of tumors. Practical significance of the obtained results of work:

1. An algorithm for conducting a stress test for preliminary determination of energy parameters of laser irradiation in PDT on the basis of oximetric criteria of response to the initiation of photooxidation processes has been developed.
2. An optoelectronic device for oxymetrically corrected photodynamic therapy of tumors has been developed.
3. The method of PDT has been improved due to the introduction of additional prognostic load (sample) for automated determination of the initial energy parameters of optical radiation by estimating the response of the microcirculatory tract.
4. The results of the dissertation recommended for execution in the The State Institution Romodanov Neurosurgery Institute National Academy of Medical Sciences of Ukraine; in PE "Photonics Plus" - optoelectronic device for oximetrically adjusted photodynamic therapy of tumors and an algorithm that confirmed the rationality of combining medical and diagnostic parts within one system. Some theoretical results of the dissertation are introduced into the educational process at the departments of biomedical engineering and laser and optoelectronic technology of Vinnytsia National Technical University within the specialty "Biomedical Engineering". Implementations are confirmed by relevant documents.

Keywords: photodynamic therapy, photodynamic process, photosensitizer, optoelectronic device, fiber optic channel, methods of optical tissue oximetry, optical radiation, potential density, oxygenation

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

- [1] V.V. Kholin, Chepurna O.M., Shton I.O., Voytsehovich V.S., Pavlov S.V., Gamaleia N., and etc. «Determination of oxygen saturation and photosensitizer accumulation in the tumor with the help of LED and laser diode based irradiation sources and fiber-optics probes», *Przegląd Elektrotechniczny*, 2017, Vol. 1, №. 5, P. 122–124. DOI: 10.15199/48.2017.05.25
- [2] V.V Kholin, V. Voytsehovich, V. Popov, S. Pavlov, N. Gamaleia, and etc. «Photodynamic therapy with laser scanning mode of tumor irradiation», *Proc. International Society for Optics and Photonics. Optical Fibers and Their Applications*, 2015, Vol. 9816, P. 1-4.
- [3] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «Selective irradiation of superficial tumours depending on the photosensitiser fluorescence in the tissue», *Information Technology in Medical Diagnostics II. CRC Press / Balkema book, 2019 Taylor & Francis Group, London, UK*, 6 P. 53-58.
- [4] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «In-vivo monitoring of oxygen saturation in murine carcinoma during PDT by diode laser light diffuse reflectance», *Proc. SPIE 10445, Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High Energy Physics Experiments*, 2017, 104453N (7 August 2017); <https://doi.org/10.1117/12.2280980>.
- [5] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «Methods and fiber optics spectrometry system for control of photosensitizer in tissue during photodynamic therapy», *Proc. SPIE 10031, Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High-Energy Physics Experiments*, 2016, 1003138 (28 September 2016); <https://doi.org/10.1117/12.2249259>.

Роботи [1]-[5] входять до наукометричної бази Scopus.

- [6] В.В. Холін, Я.Г. Скорюкова, С.М. Марков, О.М. Чепурна «Сегментація біомедичних зображень для оцінювання структурних змін біооб'єктів під час флуоресцентного аналізу», *Вісник Хмельницького національного університету*, 2016, № 233, С. 7-12.
- [7] В.В. Холін, О.М. Чепурна, Т.С. Завадська, П.В. Єрмак, В.С. Войцехович «Методи контролю динаміки вмісту фотосенсибілізатора в пухлинній тканині за допомогою спектрометричної техніки», *Вісник Національного університету України «Київський політехнічний інститут»*. Серія приладобудування, 2013, №45, С.190-197.
- [8] В.В. Холін, О.М.Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, В.В. Холін, Р.У. Ровіра, О.С. Камінський, М.Ф. Гамалія, «Розробка і перша апробація нового варіанту методу фотодинамічної терапії пухлин із застосуванням лазерного скануючого пристрою», *Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології*, 2014, Т № 1(27), С. 128-131.
- [9] В.В. Холін, С.В. Павлов, С.Є. Тужанський, О.М. Чепурна, В.С. Войцехович, О.С. Камінський, А.М. Сахно, В.Д. Попов, С.О. Магдебур, І.О. Штонь, М.Ф.Гамалія «Дослідження та розробка нових методів проведення фотодинамічної терапії з використанням лазерного випромінювання», *Фотобіологія та фотомедицина*, 2014, №1-2, С. 101-104.
- [10] В.В. Холін, О.М.Чепурна, І.О. Штонь, С.В. Павлов, С.Є. Тужанський, А. Утрерас, В.С. Войцехович, В.Д. Попов, Є.В. Каптановський, М.Ф.Гамалія «Підвищення ефективності фотодинамічної терапії шляхом вибіркового лазерного сканування пухлини, залежно від наявності флуоресценції», *Фотобіологія та фотомедицина*, 2014, №3-4, С. 109-114.
- [11] В. В. Холін, В. С. Войцехович, Р. В. Егоров та ін. «К вопросу о повышении эффективности фотодинамической терапии опухолей на базе мультиспектральной лечебно-диагностической установки», *Фотобіологія та фотомедицина*, 2018, №25, С. 55–62.

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

- [12] V.V. Kholin, N.F. Gamaleia, E.D. Shishko, G.A. Dolinsky «Photodynamic Activity of hematoporphyrin conjugates with gold nanoparticles: experiments in vivo», *Experimevtal oncology*, 2010, V.32, №1, P.44-48.
- [13] V.V. Kholin, Yermak P.V, Gamaleia N.F., Shalamay A.S., Saienko T.V, Kholin.V.V «Hyperflav – perspective photosensitizer for PDTt: cell studies», *Experimevtal oncology*, 2010, V.32(4), P.233-236
- [14] V.V. Kholin, N.F. Gamaleia, I.A. Lisniak, E.D. Shishko, A.A. Mamchur, I.V. Prokopenko. «Chronobiological approaches to antiangiogenic photodynamic therapy of tumors: the first experimental evaluation», *Experimevtal oncology*, 2012, P. 364-366.
- [15] В.В. Холин, В.С. Войцехович, Н.Ф. Гамалєя, О.М. Чепурна, «Лазерное сканирование в фотодинамической терапии», *Материалы 7-й международной студенческой конференции «Новые направления развития приборостроения»*, 23-25 апреля 2014 г., Беларусь, Минск, БНТУ 2014, С. 248-249.
- [16] В.В. Холін, В.С. Войцехович, М.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна. «Пристрій для проведення фотодинамічної терапії шляхом лазерного сканування», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XXXXI Международной научно-практической конференции*, м.Харьков 28-31 мая, 2014 г., Харків, 2014, С.89-91
- [17] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Визначення динаміки накопичення фотосенсибілізатора в пухлині методом волоконно-оптичної спектроскопії», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XLIII Международной научно-практической конференции*, г. Харьков, 27-30 мая, 2015 г. – Харьков, 2015 – С. 156-158.
- [18] В.В. Холін, В.М. Биченко, Л.В. Грищенко, О.М. Чепурна, «Індикатор потужності лазерного випромінювання», *Лазерна хірургія: матеріали*

науково- практичної конференції, Черкаси, 1-2 березня 2012 р., Черкаси, 2012., С.250-253

- [19] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Можливості моніторингу оксигенації пухлинної тканини методом спектроскопії зворотнього дифузного відбиття», *«Применение лазеров в медицине и биологии»: материалы XLIII Международной научно-практической конференции*, г. Харьков, 27-30 мая, 2015 г., Харьков, 2015, С.153-155.
- [20] В.В. Холін, В.С. Войцехович, С.В. Павлов, Н.Т. Петраш, Ю.А. Петрушко та інші. «Мультиспектральная лечебно-диагностическая установка для фотодинамической терапии опухолей», *Матеріали XVIII-міжнародної науково-технічної конференції «Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах (ВОТТП-2018)»*, Одеса (Затока), 8-13 червня 2018 р., С. 135-138.
- [21] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Експериментальна перевірка методу фотодинамічної терапії із модульованим режимом лазерного опромінювання», *XLVI Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, Харків, 25-27 травня 2017 р., С. 96-98.
- [22] В.В. Холін, О.М. Чепурна, Ю.В. Петрушко, В.В. Холін, С.В. Павлов. «Розробка та дослідження багатоспектральної світлодіодної системи для експериментальних робіт», *XLVII Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, Харків, 25-27 травня 2017 р., С.96-98.
- [23] V.V. Kholin, I.V Komarov, O.M. Chepurna, I.O. Shton, S.V. Pavlov. «Monitoring of oxygen concentration changes by diode laser light diffuse reflectance». *Матеріали XLVII Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, 12-14 жовтня 2017 р., Харків, С.104-105.

- [24] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, В.В. Холін, С.В. Павлов. «Можливість визначення рівня сатурації в пухлині із використанням світлодіодних та лазерних джерел випромінювання», *Матеріали XLIV Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, 26-28 травня 2016 р., С.193-194.
- [25] В.В.Холін, В.Д.Попов, В.С. Войцехович, М.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна «Спосіб опромінення пухлини методом лазерного сканування», *МПК A61N 5/06(2006.01). № 89226, № U 2013 13795, заявл. 27.11.13, опубл. 10.04.14, бюл.№7.*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ		28
ВСТУП		29
РОЗДІЛ 1	АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ТА МЕТОДІВ НЕІНВАЗИВНОЇ МЕДИЧНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ СИСТЕМ МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ	38
1.1	Базові принципи фотодинамічної терапії	38
1.1.1	Фотодинамічні реакції	38
1.1.2	Механізми протипухлинної дії ФДТ	39
1.2	Фактори, що впливають на ефективність ФДТ	40
1.2.1	Накопичення та локалізація ФС	40
1.2.2	Особливості концентрації молекулярного кисню при ФДТ	41
1.2.3	Фізичні процеси розсіювання та поглинання світла	41
1.3	Апаратна реалізація фотодинамічної терапії	43
1.3.1	Джерела випромінювання для ФДТ	43
1.3.2	Оптичні волокна для фотодинамічної терапії	49
1.3.3	Апаратне забезпечення фотодинамічної терапії	56
1.4	Ключові аспекти взаємодії світла та біологічних тканин при фотодинамічній терапії	59
1.5	Параметри впливу при фотодинамічній терапії	65
1.6	Методи неінвазивної медичної спектrophотометрії систем мікроциркуляції і аналіз приладів для їх реалізації в контексті проведення ФДТ. Особливості проведення неінвазивної медичної спектrophotометрії в рамках фотодинамічного процесу	71
	ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1	79
РОЗДІЛ 2	РОЗРОБКА МАТЕМАТИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ОБ'ЄКТУ УПРАВЛІННЯ ТА МОДЕЛЮВАННЯ	81
2.1	Стохастичність перфузії та регуляція постачання кисню	81
2.2	Стохастичний опис мікроциркуляції	81
2.3	Моделювання адаптивної відповіді систем оксигенації	

	тканини при стресорному впливі, що супроводжується зміною споживання кисню	85
2.4	Моделювання реакцій систем оксигенації тканини на тест-опромінення з різною щільністю потужності	91
2.4.1	Еритроцити, як датчик рівню сатурації тканин киснем	91
2.4.2	Біофізична модель	92
2.4.3	Математичний опис біофізичної моделі	93
2.5	Комп'ютерне моделювання реакцій на тест-опромінення	95
2.5.1	Блок-схема комп'ютерної моделі	95
2.5.2	Моделювання поведінки адаптивної системи зі зворотним зв'язком через ероцитарний датчик в залежності від частоти збуджуючого впливу	97
	ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2	102
РОЗДІЛ 3	ПРАКТИЧНА РЕАЛІЗАЦІЯ ОПТИКО-ЕЛЕКТРОННОГО ПРИЛАДУ ДЛЯ ОКСИМЕТРИЧНО-КОРЕГОВАНОЇ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ПУХЛИН ТА РОЗРОБКА МЕТОДИКИ	103
3.1	Розроблення алгоритму проведення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання відгуку мікроциркуляторного русла	103
3.2	Розроблення оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин	106
3.2.1	Рекомендації для проектування оптико-електронного приладу	106
3.2.2	Функціональна схема лікувально-діагностичної установки	

		26
		108
3.2.3	Рекомендації щодо вибору фотоприймального пристрою	116
3.2.4	Рекомендації щодо вибору термостабілізованого лазерного випромінювача	120
3.2.5	Реалізація дистальної ділянки волоконно-оптичного блоку	122
	ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3	124
РОЗДІЛ 4	ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ПРОГНОСТИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ (ПРОБИ) В ПРОЦЕСІ ФОТО ДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ	125
4.1	Експериментальна оцінка можливості використання модульованого режиму випромінювання при фотодинамічному впливі	125
4.2	Визначення динаміки накопичення фотосенсибілізатора в пухлині методом ПЗС спектрометрії	127
4.3	Експериментальна оцінка зміни рівня зворотного дифузно відбитого біологічною тканиною випромінювання в залежності від відстані між джерелом і приймачем випромінювання	131
4.4	Експериментальна оцінка зміни рівня потужності зворотного дифузно відбитого біологічною тканиною в залежності від потужності підведеного до БО лазерного випромінювання	134
4.5	Експериментальна оцінка можливості застосування оптичної тканинної оксиметрії при аналізі реакції мікроциркуляції на холодову навантажувальну пробу	136

4.6	Експериментальна оцінка зміни вихідної потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання для моніторингу мікроциркуляції в процесі фотодинамічного впливу	140
4.7	Експериментальна оцінка зміни потужності введенного в оптичне волокно відбитого біологічною поверхнею оптичного випромінювання в залежності від рівня освітленості цієї поверхні	144
4.8	Експериментальна оцінка динамічного діапазону фотоприймача для оптичної оксиметрії в безперервному режимі роботи	146
4.9	Експериментальна оцінка динамічного діапазону фотоприймача для оптичної оксиметрії в імпульсному режимі	149
	ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4	153
	ВИСНОВКИ	154
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	156
	ДОДАТКИ	174
	Додаток А. Список опублікованих праць за темою дисертації	175
	Додаток Б. Акти впровадження	178
	Додаток В. Аналіз лазерних джерел для реалізації приладів та систем при ФДТ. Технічні вимоги до оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин	181
	Додаток Г. Схема функціональна системи для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин	185

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ФДТ – Фотодинамічна терапія
ФС – Фотосенсибілізатор
АФК - Активні форми кисню
ККД – Коефіцієнт корисної дії
УФ – Ультрафіолетове випромінювання
ІЧ – Інфрачервоне випромінювання
ПОВ – Полімерне оптичне волокно
ПММА – Поліметилметакрилат
ФДЕ – Фотодинамічний ефект
ФДВ – Фото динамічна дія
НМС – Неінвазивна медична спектрофотометрія
ФПГ – Фотоплетізмографія
ОТО – Оптична тканинна оксиметрії
ТО – Тканинна оксиметрія
ЛДФ – Лазерна доплерівська флоуметрия
ЛФД – Лазерна флуоресцентна діагностика
НІЛТ – Низькоінтенсивна лазерна терапія
БО – Біологічний об’єкт
ЛВ – Лазерний випромінювач
ФП – Фотоприймач
АЦП – Аналогово-цифровий перетворювач
МК – Мікроконтроллер

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Онкологічні захворювання залишаються одною з найбільш поширених проблем здоров'я населення в усьому світі й частота їх неухильно зростає в країнах з середнім і низьким рівнем доходів населення, що є притаманним і Україні [1], [2]. За даними міжнародного агентства моніторингу раку GLOBOCAN, число нових випадків і смертей від онкопатології оцінюється понад 18 мільйонів та близько 10 мільйонів відповідно [3]. Впродовж наступних 10 років смертність від раку перевищить таку від інших поширених захворювань, на кшталт цукрового діабету [4]. Отже, незважаючи на суттєві досягнення онкології за останні десятиліття, боротьба з онкологічними захворюваннями потребує негайного втілення новітніх методів і засобів діагностики та протипухлинної терапії.

Онкологічні захворювання є мультифакторіальними за своєю природою, тому навіть нещодавно втілені засоби хемо- та імунотерапії виявилися не здатними забезпечити оптимістичний прогноз щодо віддалених результатів лікування хворих на рак [5]. Проте новітні методи лікування стають все більш безпечними щодо побічних несприятливих ефектів завдяки специфічній модуляції низки імунних та біохімічних процесів, які здійснюють цілеспрямований вплив на пухлинні клітини, ініціюючи їх елімінацію шляхом програмованої загибелі (наприклад, апоптозу), притаманним фізіологічним механізмам підтримання структурного гомеостазу біологічних тканин [6].

Одним з найперспективніших методів лікування в сучасній онкології вважається фотодинамічна терапія (ФДТ), яка є неінвазивним високо специфічним лікувальним засобом терапії пухлин, що базується на використанні фотофізичних принципів для спричинення оксидативного ураження в пухлинній тканині на субструктурному рівні. Саме цей механізм, що здатен безпосередньо ініціювати процеси програмованої загибелі пухлин, є головною перевагою, яка робить ФДТ найбільш багатообіцяючим напрямком серед новітніх методів лікування в онкології [7].

Для здійснення фотохімічних реакцій в певній тканині необхідні три складові:

- здатні до активації світлом молекули фотосенсибілізатора,
- світло відповідного спектру та достатньої для їх збудження інтенсивності,
- молекулярний кисень.

Коли ці нешкідливі компоненти поєднуються, починається генерація активних форм кисню (АФК), зокрема, синглетного кисню, які саме й спричиняють пошкодження клітин та/або судин мікроциркуляторного русла, що супроводжуються запуском системних адаптаційних процесів, в тому числі імунної відповіді [8].

Підвищення ефективності ФДТ можна досягти лише через цілеспрямований контроль кожного з цих компонентів, а в ідеалі – всієї цієї тріади в цілому, тому що внаслідок недостатньої доставки світла можуть залишатися життєздатні остаточні злоякісні клітини, які зумовлюють рецидив пухлини, а надлишкова потужність опромінення може призвести до занадто глибокого проникнення світла та пошкодження здорових тканин.

Крім джерела випромінювання, важливим є спосіб застосування світла, оскільки різні протоколи опромінення з використанням одного й того ж джерела призводять до різних результатів ФДТ [9]. Тому актуальними є подальші розробки новітніх джерел випромінювання та оптично-волоконних систем його доставки, а також удосконалених технологій дозиметрії, що надаватимуть можливості запровадження індивідуалізованих протоколів [10]. Саме в цьому напрямку полягають перспективи розробки й втілення новітніх технологій для покращення ефективності ФДТ в цілому [11].

Утворення АФК призводить до виснаження наявного в тканині молекулярного кисню під час ФДТ в залежності від щільності потужності випромінювання [12]. До того ж колапс судин внаслідок ФДТ зменшує оксигенацію пухлини [13]. Зважаючи на обмежений радіус дії АФК і, особливо, синглетного кисню, накопичення та локалізація фотосенсибілізатора поряд з

оксигенацією тканини мають критичний вплив на ефективність ФДТ [14]. Тому контроль за локалізацією фотосенсибілізатора впродовж процедури може значно підвищити потенціал ФДТ [15].

Таким чином, найбільш актуальними для подальшого розвитку одного з найсучасніших і найперспективніших методів лікування онкологічних захворювань – фотодинамічної терапії є:

1. Розробка та втілення методів і засобів контролю лазерного опромінення *Locus morbi* в режимі реального часу.

2. Розробка та втілення систем лазерного випромінювання з використанням зворотного зв'язку по динаміці біохімічних та фізіологічних параметрів, а також накопичення та деградації фотосенсибілізатора в *Locus morbi*.

3. Розробка оптико-волоконних систем для лазерної медицини, здатних забезпечувати оптимальні режими опромінення та здійснювати моніторинг стану *Locus morbi*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тематика дисертації відповідає пріоритетним напрямкам розвитку науки в Україні. Основний зміст роботи складають результати досліджень, які проводилися на кафедрі біомедичної інженерії Вінницького національного технічного університету. Робота виконувалася відповідно до плану наукових досліджень та Міністерства освіти і науки України за держбюджетними темами: «Створення інформаційних діагностичних технологій для оцінювання стану і визначення індексу здоров'я людини» (номер державної реєстрації 0108U000656); «Система автоматизованої багатофункціональної лазерної поляриметрії плівок плазми крові людини для діагностики патологічних змін молочних залоз» (номер державної реєстрації 0116U004709), «Аналіз теоретичних засад побудови інтелектуалізованої системи зображувальної поляриметрії біологічних тканин та її базових блоків» (номер державної реєстрації 0118U000207)

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є підвищення ефективності проведення фотодинамічної терапії пухлин за рахунок введення

додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла і розроблення оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі **задачі**:

1. Провести аналіз методів неінвазивної медичної спектрофотометрії систем мікроциркуляції і приладів для їх реалізації в контексті проведення ФДТ.

2. Розробити математичну модель, що відображає зміни стану оксигенації тканини при фотодинамічному впливі.

3. Провести математичне моделювання поведінки системи гомеостазу, що забезпечує оксигенацію тканини в залежності від функціонального стану, для визначення параметрів оксиметричного моніторингу, які необхідні для ефективного проведення фотодинамічної терапії.

4. Провести імітаційне комп'ютерне моделювання для формалізації технічних рекомендацій при розробці приладу для ФДТ, а також експлуатаційних характеристик окремих його компонентів.

5. Розробити алгоритм введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла.

6. Розробити оптико-електронний прилад для проведення оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

7. Провести експериментальні дослідження для визначення ефективності оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

Об'єкт дослідження — фотодинамічний процес за умов різного стану оксигенації тканин.

Предмет дослідження — енергетичні параметри лазерного випромінювання, методи оптичної тканинної оксиметрії, оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

Методи дослідження. У дисертаційній роботі для отримання основних наукових і практичних результатів використано методи, що базуються на основних положеннях системного аналізу й теорії біомедичних приладів, математичного моделювання для аналізу і схемотехнічної реалізації, комп'ютерної обробки біомедичної інформації, спектрофотометричні методи; методи експериментальної онкології; методи фотодинамічної та фототермічної протипухлинної терапії з використанням лазерного обладнання; статистичні методи.

Аналітичні методи базувалися на застосуванні аналітичних виразів із розділів оптики каламутних середовищ, теорії оптико-електронних приладів. Чисельні методи застосовувались для математичного моделювання адаптивної відповіді системи гомеостазу при екзогенних впливах, оптимізації лазерних приладів. Експериментальні методи були використані при проведенні лабораторних досліджень з метою визначення ефективності використання розробленого методу для проведення ФДТ в онкології.

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна отриманих результатів полягає у вирішенні актуального науково-технічного завдання — удосконалення методу ФДТ за рахунок ефективного використання лазерного випромінювання шляхом розробки оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

У роботі отримано такі наукові результати:

1. Отримав подальший розвиток метод оптичної тканинної оксиметрії з реєстрацією спектроскопії дифузного відбиття біологічним середовищем *in vivo* видимого та ближнього інфрачервоного діапазону, який реалізується в межах неузгодженості осей випромінюючого та приймального волокна, що дозволяє при необхідності оптимізувати в досліджуваній патологічній зоні необхідну

кількість прийомних оптичних волокон або змінювати процес фотодетектування.

2. Вперше розроблено математичну модель поведінки системи гомеостазу підтримання оксигенації тканини при імпульсній дії стресора, і визначено граничні умови її адаптивної реакції, що стосовно ФДТ висвітлює залежність між щільністю потужності опромінення та спроможністю підтримувати адекватну оксигенацію тканини.

3. Вперше запропоновано математичну модель в системі імітаційного комп'ютерного моделювання SIMULINK програмного середовища MATLAB, що дозволило сформулювати технічні вимоги щодо формалізації технічних рекомендацій при розробці оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин, а також експлуатаційних характеристик окремих його компонентів.

Практичне значення отриманих результатів полягає у комплексній прикладній спрямованості отриманих результатів, що використовуються для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла з подальшою оксиметрично-корегованою фотодинамічною терапією пухлин.

Практичне значення одержаних результатів роботи:

1. Розроблено алгоритм проведення стресорної проби для попереднього визначення енергетичних параметрів лазерного опромінення при ФДТ на основі оксиметричних критеріїв відгуку на ініціацію фотоокислювальних процесів.

2. Розроблено оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

3. Удосконалено методику проведення ФДТ за рахунок введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла.

4. Результати дисертаційної роботи рекомендовані до впровадження в Державній установі «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова

Національної академії медичних наук України» (акт від 10.12.2020 р.) та впроваджено у ПП «Фотоніка Плюс» (акт впровадження від 24.12.2020 р.), а саме оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин та алгоритм роботи, що підтвердило раціональність поєднання терапевтичної та діагностичної частин у межах одного приладу.

Окремі теоретичні результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрі біомедичної інженерії ВНТУ (акт впровадження від 16.12.2020 р.) в межах спеціальності «Біомедична інженерія» під час викладання таких дисциплін, як: «Нанотехнології в біології та медицині», «Біомедичні прилади, апарати і комплекси. Діагностична техніка», Впровадження підтверджуються відповідними актами.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій підтверджується правильною постановкою задачі, коректним використанням програмного апарату для оброблення оптичних сигналів, збігом результатів, отриманих аналітичними методами, з результатами експериментальних досліджень, зокрема із використанням комп'ютерного моделювання.

Особистий внесок здобувача. Основні результати дисертаційної роботи отримані автором особисто. Основні ідеї та розробки, які виносяться на захист, належать авторіві.

Особистий внесок здобувача в роботах, написаних у співавторстві, полягає в наступному: розробка флюоресцентно-корегованого методу опромінення пухлин [1], [2], [9], [25]; розробка оптичного блоку приладу для вибіркового лазерного опромінення шляхом сканування із попереднім визначенням зони [3], [11], [12]; розробка критерію та перевірка ефективності розробленого скануючого лазерного приладу для фотодинамічної терапії пухлин *in vivo* [4], [9], [10]; проведення експериментальних досліджень для визначення ефективності запропонованого методу і системи порівняно із традиційними методами проведення ФДТ [5], [8]; розробка математичної моделі на основі

дифузної теорії переносу випромінювання, яка дозволила оптимізувати процес визначення оптичних характеристик розподілу інтенсивності випромінювання в біотканині [6]; перевірка рівня накопичення ФС та визначення оптимального часу між введенням ФС та опроміненням конкретної пухлини для проведення фотодинамічної терапії [7], [16], [20], [21]; аналіз можливості використання волоконно-оптичних спектрометрів для діагностики у ФДТ [13], [15]; розробка засобів для контролю рівня потужності лазерного випромінювання в зоні обробки [14], [19], [22]; розробка нових волоконно-оптичних засобів для передачі лазерного випромінювання від приладу в зону обробки [17], [18]; розробка методу моніторингу рівня оксигенації пухлинної тканини при ФДТ [22], [23], [24].

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень, викладено в дисертаційній роботі, доповідалися та обговорювалися на таких конференціях: Науково-практичній конференції «Лазерна хірургія» (Черкаси, 1–2 березня 2012 р.), Науково-практичному семінарі з міжнародною участю «Експериментальні та клінічні аспекти фотодинамічної терапії» (м. Черкаси, 2013 р.), The Second Ukrainian-Swedish Workshop «Translational oncology: old and new paradigms» (Kyiv, May 20–21, 2013 р.), XXXIX, XXXXI, XLIII, XLIV, XLVI, XLVII Міжнародна науково-практична конференція «Застосування лазерів у медицині та біології» (м. Харків, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017 рр.), Науково-практична конференція «Впровадження сучасних інноваційних технологій при малоінвазивних лазерних втручаннях: клінічні економічні та технічні аспекти» (м. Черкаси, 28–29 листопада 2014 р.), XII, XIII Міжнародна науково-технічна конференція «Приладобудування: стан та перспективи» (м. Київ, 2014, 2015 рр.), VII Міжнародна конференція з оптико-електронних інформаційних технологій «Photonika ODS 2015» (м. Вінниця, 2015 р.), Науково-практична конференція «Малоинвазивные оперативные вмешательства в лазерной медицине» (м. Черкаси, 8-9 квітня 2016 р.). Міжнародна науково-технічна конференція «Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах (ВОТТП-2018)", (м. Одеса, Затока), 8-13 червня 2018 р.)

Публікації: Результати роботи відображені в 25 опублікованих працях, у тому числі: 6-ти, що входять до переліку фахових видань ДАК України; 5-ти у зарубіжних виданнях, що входять у наукометричну базу дану Scopus; 13-ти матеріалах у збірниках наукових праць і тезисах доповідей на конференціях різних рівнів; отриманий 1 деклараційний патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота містить вступ, чотири розділи, загальний висновок, список використаних джерел та додатків. Загальний обсяг дисертації становить 185 сторінок, з яких основний зміст викладено на 134 сторінках друкованого тексту, дисертація містить 65 рисунків, 4 таблиці, 4 додатків. Список використаних джерел складається з 165 найменувань.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ТА МЕТОДІВ НЕІНВАЗИВНОЇ МЕДИЧНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ СИСТЕМ МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ

1.1 Базові принципи фотодинамічної терапії

1.1.1 Фотодинамічні реакції

Фотодинамічна терапія – це метод терапії пухлин, що провадиться за участю трьох компонентів: фотосенсибілізатора (ФС), специфічного світла та кисню [16], [17]. ФС знаходиться в неактивному стані доки не опромінюватиметься світлом з довжиною хвилі, що відповідає його спектру абсорбції. Його активність також строго залежить від присутності кисню. Опромінення ФС призводить до поглинання фотону з переходом ФС до збудженого синглетного стану S_1 , в якому електрон зсувається до орбіталі з вищою енергією (рис. 1.1). Із цього нестабільного і зазвичай короткотривалого стану ФС може повернутися до базового стану S_0 , конвертуючи свою енергію в тепло або флуоресценцію, що може бути використане для оптичного моніторингу [18]. Альтернативним шляхом є інтеркомбінаційна конверсія, що призводить до переходу молекул ФС до збудженого триплетного стану T_1 , в якому вони здатні передавати свою енергію в вигляді фосфоресценції або, стикаючись з іншими молекулами, утворювати хімічно активні похідні в реакціях двох типів [19], [20]. Молекули в T_1 стані можуть реагувати з низкою органічних субстратів і сольвентів та передавати електрон або протон з утворенням аніон- і катіон-радикалів, відповідно. Зазвичай молекули T_1 ФС реагують з субстратом-донором електронів, утворюючи $ФС^-$, які далі вступають в реакцію з киснем з виходом супероксидних аніон-радикалів ($O_2^{\bullet-}$). Такі реакції називаються реакціями I типу. В реакціях II типу молекули T_1 ФС реагують безпосередньо з киснем в базовому триплетному стані (3O_2), здійснюючи перенос енергії на його молекули з утворенням високо активного синглетного кисню (1O_2) [21], [22].

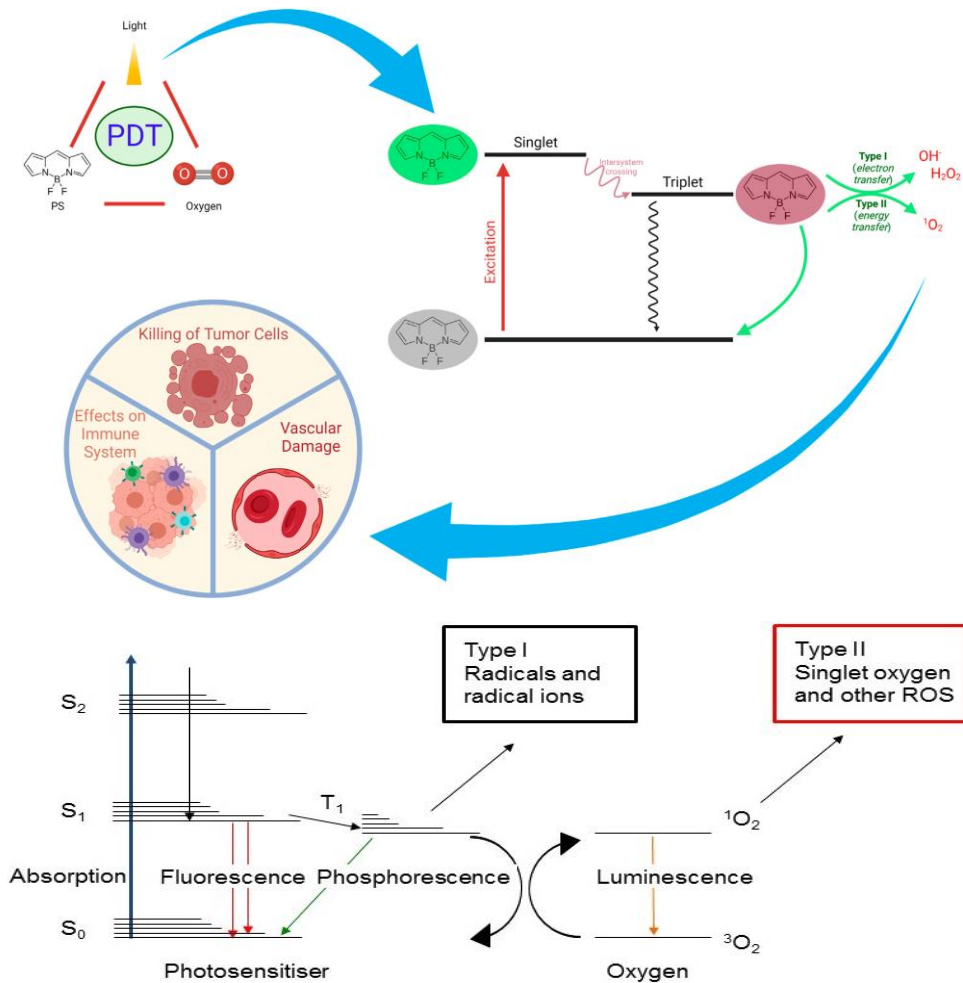


Рисунок 1.1 – Схема перебігу фотоокислювальних процесів, що лежать в основі протипухлинної дії фотосенсибілізатора, активованого при опроміненні

Саме АФК, в першу чергу синглетний кисень, виконують ефекторну функцію, що призводить до знешкодження пухлини.

1.1.2 Механізми протипухлинної дії ФДТ

Протипухлинна активність ФДТ базується на трьох головних механізмах [23], [24], [25].

По-перше, завдяки локалізації і активації ФС всередині пухлини, генеровані впродовж фотодинамічного процесу АФК можуть безпосередньо знищувати малігнізовані клітини. По-друге, ФДТ може спричиняти пошкодження судин мікрооточення пухлини, порушуючи транспорт кисню і

нутрієнтів. По-третє, ФДТ супроводжується активацією імунної системи, зокрема індукцією імунної відповіді проти пухлинних клітин.

Пухлини побудовані з паренхіми, що складається з малігнізованих клітин, і строми – підтримуючої васкуляризованої тканини. Строма включає багату на протеїни плазми інтерстиціальну рідину, структурні протеїни, клітини сполучної тканини, інфільтруючі клітини запалення, тощо, й може сягати до 90% маси пухлини [26]. АФК, що генеруються акумульованими клітинами паренхіми ФС, призводять до їх загибелі шляхом апоптозу або некрозу. Але вже ранні дослідження показали, що знищення тільки самих пухлинних клітин недостатньо для вилікування пухлини [27]. Тому вважається, що пошкодження строми пухлин [28], насамперед судин мікрооточення [29], грає ключову роль щодо ефективності ФДТ

1.2 Фактори, що впливають на ефективність ФДТ

1.2.1 Накопичення та локалізація ФС

Фотосенсибілізатори, що застосовуються зараз в клінічній практиці, в цілому не мають вираженої селективності й поглинаються як пухлинними, так і нормальними клітинами. Проте з часом ФС елімінується із здорових тканин, а в пухлинах зазвичай затримується значно довше через неспроможність лімфовідтіку [30]. Обговорюються й інші фактори, що можуть впливати на переважне накопичення ФС в малігнізованих клітинах і тканинах [31]. Серед них такі, як підвищена експресія певних рецепторів на пухлинних клітинах, характерна для новоутворень рН, поглинання молекул ФС пухлинно-асоційованими макрофагами, тощо [32]. Жодна з цих теорій поки що не стала загально визнаною, до того ж значною мірою все залежить від типу пухлини, фізико-хімічних властивостей ФС та його дозування. З моменту введення і до досягнення цільової локалізації відбувається низка фізичних, хімічних та біологічних подій, зокрема, зв'язування з транспортними протеїнами плазми крові, тому фармакокінетика фотосенсибілізаторів значно варіює в залежності

від їх фізико-хімічних властивостей, а також біологічних структур-мішеней [33]. Тобто моніторинг накопичення ФС в пухлинній тканині та оцінка його деградації впродовж фотодинамічного процесу, наприклад, із застосуванням флуоресцентної спектроскопії, надає можливість оптимізувати й індивідуалізувати процедуру ФДТ [34], [35].

1.2.2 Особливості концентрації молекулярного кисню при ФДТ

Генерація АФК в фотодинамічному процесі потребує достатньої концентрації молекулярного кисню, тому адекватна оксигенація тканини вкрай важлива для ФДТ. Насамперед, це стосується найбільш бажаних для клінічно успішного результату фотодинамічних реакцій II типу [36]. На безпосередній ефект ушкодження клітин як паренхіми, так і строми пухлини критично впливає залежність генерації АФК від присутності кисню [37], тому найкращі результати ФДТ досягаються в пухлинах з оптимально розташованими судинами, тоді як гіпоксичні області всередині пухлини вважаються суттєвою причиною резистентності до ФДТ [38].

Постачання кисню здійснюється завдяки системі *мікроциркуляції*, яка складається з мікросудин, що обплітають клітини (рис. 1.2) [39].

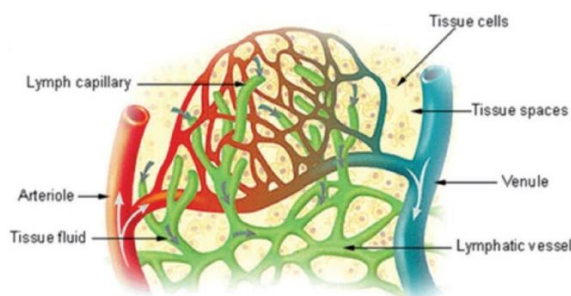


Рисунок 1.2 – Схема будови мікроциркуляторного русла

Під час *перфузії*, тобто проходження рідини через певну ділянку тканини, відбувається безперервний обмін речовинами в прямому і зворотному напрямках між трьома різновидами біологічних рідин: плазмою крові, інтерстиціальною рідиною, що омиває клітини, і лімфою. Напрямок обміну залежить від градієнтів гідростатичного та осмотичного й онкотичного тиску, а

для кисню – від градієнту його парціального тиску. Оскільки кисень витрачається клітинами в процесі метаболізму, а при ФДТ ще й молекулами ФС, які в них накопичилися, відбуватиметься дифузія із переносника кисню – гемоглобіну еритроцитів через плазму крові та інтерстиціальну рідину до клітин зі швидкістю, що залежить від моментного концентраційного градієнту і швидкості перфузії [40].

Якщо перфузія судин мікрооточення пухлини порушується, ефект ФДТ значно падає [41]. Крім виснаження кисню в процесі генерації АФК, зниження оксигенації пухлини може бути наслідком колапсу судин після початку ФДТ [42]. Ці обмеження можна подолати шляхом контролю оптимального співвідношення між щільністю потужності опромінення і рівнем перфузії тканини [43].

1.2.3 Фізичні процеси розсіювання та поглинання світла

Біологічні тканини є надзвичайно гетерогенними й містять безліч молекул, що впливають на розсіювання та поглинання світла. В короткохвильовій частині видимого спектру ефективність опромінення може бути обмеженою внаслідок абсорбції ендogenousними хромофорами на кшталт гемоглобіну, в той же час при довгохвильовому опроміненні світло може поглинати вода. Внаслідок цього діапазон оптимального проникнення тканин обмежений приблизно від 600 нм до 1300 нм. Проте енергії квантів світла з довжиною хвилі понад 850 нм не вистачає для активації молекул фотосенсибілізатора до їх триплетного стану, що є необхідним для генерації синглетного кисню. Отже так зване «терапевтичне вікно» для ФДТ лежить в дальній червоній частині спектру між 620 нм та 850 нм, яка вважається оптимальною для проникнення світла та активації фотосенсибілізатора (рис. 1.3) [44].

Джерелом випромінювання для проведення ФДТ можуть бути як лазери, так і лампи розжарювання, але лазери набули широкого розповсюдження в

клінічній ФДТ завдяки потужності й можливості використання оптично-волоконних пристроїв [45].

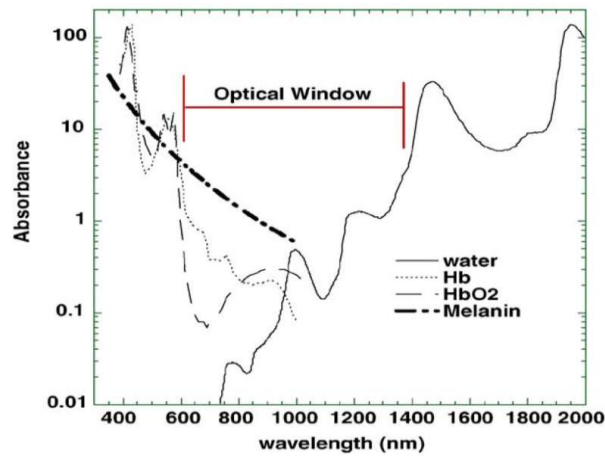


Рисунок 1.3 – «Оптичне вікно» для ФДТ в тканинах. Спектри абсорбції головних хромофорів, таких як вода, окси- та дезоксигемоглобін і меланін приведені в логарифмічному масштабі

Крім самого джерела світла, важливим є методика його використання, тому що різні протоколи опромінення призводять до різних результатів. Висока щільність потужності опромінення може виснажувати рівень кисню в пухлинній тканині надто швидко, обмежуючи зону ушкодження малігнізованих клітин [46]. Більш того, режими опромінення можуть впливати на протипухлинну імунну відповідь [47].

Отже, подальші дослідження і розробки щодо застосування світла з використанням новітніх технологій є одним з пріоритетних напрямків підвищення ефективності ФДТ [48], [49].

1.3 Апаратна реалізація фотодинамічної терапії

1.3.1 Джерела випромінювання для ФДТ

На різних етапах розвитку фотодинамічної терапії при побудові апаратури для експериментальних і клінічних робіт використовувалися найрізноманітніші джерела випромінювання (рис. 1.4) [50], [51].



Рисунок 1.4 – Джерела випромінювання

В основу класифікації джерел випромінювання можуть бути покладені різні ознаки:

- розмір джерела випромінювання;
- характер розподілу сили світла випромінювання в просторі;
- спектральний розподіл потоку випромінювання (світлового потоку);
- кольорова температура;
- час дії випромінювання;
- технічні параметри джерела світла;
- експлуатаційні параметри джерела світла.

Дана класифікація є досить умовною і може бути доповнена і розширена [50].

Для ФДТ важливі такі характеристики випромінювання як: монохроматичність; висока спектральна яскравість при достатній середній потужності; спрямованість і мала розбіжність, що забезпечує можливість фокусування.

Основні характеристики джерел випромінювання для ФДТ представлено в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Основні характеристики джерел випромінювання для ФДТ [51]

Типи джерел випромінювання	Діапазон довжин хвиль, нм	Ширина смуги випромінювання, нм	Вихідна потужність, Вт	Спосіб і пристрій для підведення випромінювання
Лазери на розчинах барвників з ламповим накачуванням і накачуванням лазерами (твердотілим, аргоновим, на парах міді)	500-700	1-10	5	Кварцове волокно
Лазери на парах золота	628	5	5	Кварцове волокно
Твердотільні лазери з подвоєнням частоти	535; 670	1-5	2-5	Кварцове волокно
Напівпровідникові лазери	400-1300	5-20	1-3	Кварцове волокно
Лампи на галоїдних з'єднаннях металів	250-1000	100-130	0,1-5	Механічний маніпулятор
Газорозрядні лампи високого тиску	300-1500	30-130	0,1-5	Пряме випромінювання, оптико-волоконний джгут
Люмінесцентні лампи	255-1200	30; 200-400	0,05	Маніпулятор прямим випромінюванням
Пристрої на світлодіодах (LED)	260-1300	15-20;	0,1-1	Пряме випромінювання

Різні типи джерел випромінювання мають відповідний розподіл інтенсивності (енергії) випромінювання за довжинами хвиль, іншими словами – спектри випромінювання.

Спектри випромінювання можна розділити на:

- однорідні або монохроматичні, коли випромінюється одна довжина хвилі;
- неоднорідні (складні) спектри, що складаються з різних довжин хвиль.

У свою чергу, неоднорідні спектри випромінювання бувають суцільними, смугастими і лінійчастими (рис. 1.5).

Так, металогалоїдні лампи мають виключно широкі можливості щодо варіювання спектру випромінювання (від лінійного до суцільного). Потік випромінювання з суцільним спектром можна фільтрувати.

Флуоресцентні лампи мають дуже різноманітні спектральні характеристики в діапазоні 300 - 700 нм, в залежності від типу люмінофора, який використовують. Ширина смуги випромінювання може коливатися в діапазоні від 30 до 300 нм. Незважаючи на невелику світловіддачу, флуоресцентні лампи представляють певний інтерес, оскільки є найбільш простими джерелами випромінювання, що збігаються за довжиною хвилі зі смугою Core 400-420 нм.

Смуги випромінювання світлодіодів складають (за рівнем) 15-20 нм. Довжини хвиль випромінювання в залежності від виконання можуть бути від ультрафіолетової до ближньої інфрачервоної областей спектру [52].

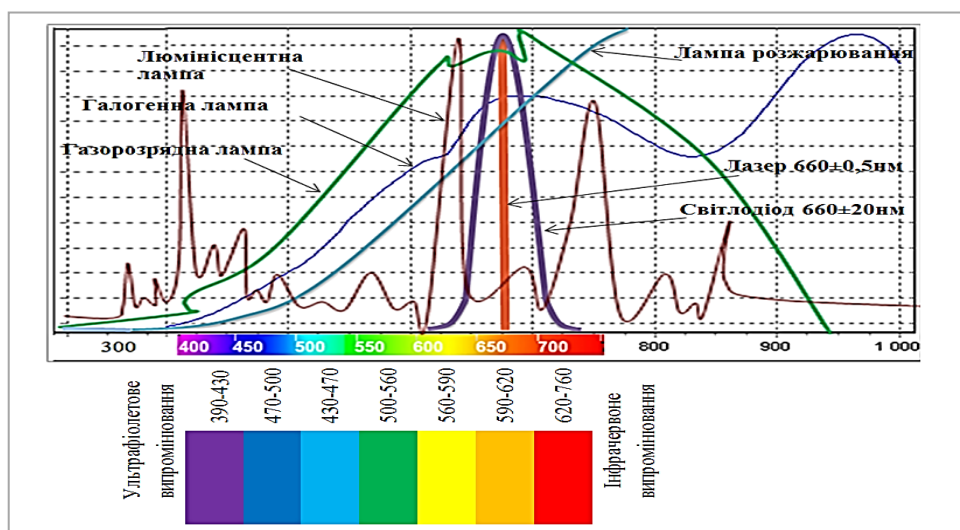


Рисунок 1.5 – Спектри випромінювання різних джерел випромінювання

Спектри випромінювання потенційних джерел випромінювання для ФДТ повинні максимально можливо вписуватися в спектри поглинання фотосенсибілізаторів. Для цього ширина спектрів випромінювання джерел повинна бути меншою, ніж смуги поглинання ФС. Крім того, джерела випромінювання, з урахуванням різноманітності спектрів поглинання різних типів фотосенсибілізаторів, повинні мати модифікації виконання за довжинами

хвиль. Орієнтуючись на ці критерії, джерелами випромінювання, які найбільш підходять для проведення ФДТ, є світлодіоди і лазерні діоди (рис. 1.6).

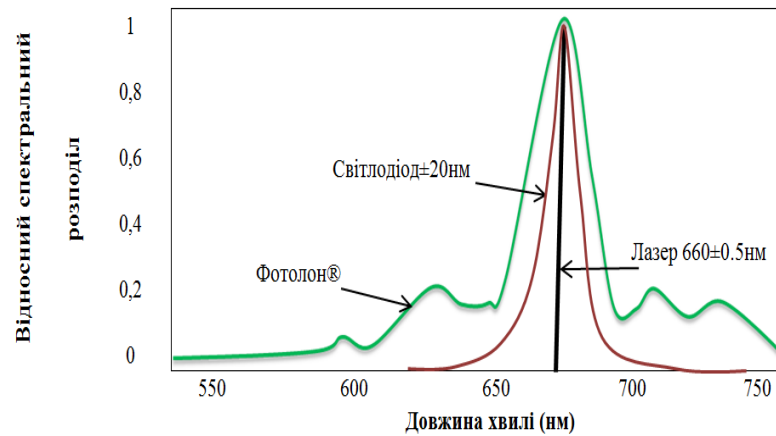


Рисунок 1.6 – Відносний спектральний розподіл джерел випромінювання для проведення ФДТ

В межах окремих спектральних груп цих випромінювачів є достатня градація виконання за вихідними оптичними енергетичними параметрами. На сьогоднішній день вихідна оптична потужність, яку випромінює одиночний емітер (одна випромінююча площадка), становить для деяких довжин хвиль десятки Вт [53]. Крім того, світлодіоди і лазерні діоди допускають управління вихідною потужністю оптичного випромінювання за рахунок зміни робочих електричних параметрів (рис. 1.7) [54].

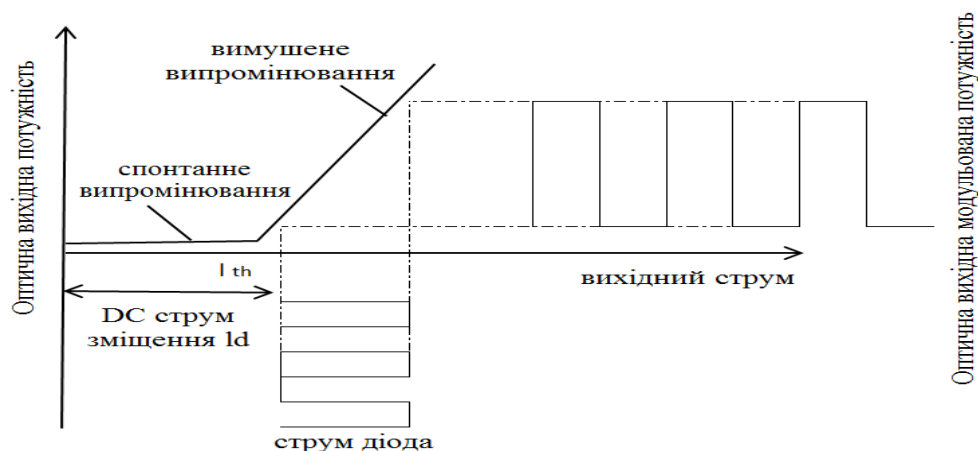


Рисунок 1.7 - Управління вихідною потужністю оптичного випромінювання лазерних діодів [54]

Як світлодіоди, так і лазерні діоди характеризуються високою швидкістю, причому для останніх гранична частота модуляції складає десятки ГГц при класичній схемі прямої струмової модуляції [55].

Світлодіоди і лазерні діоди відрізняються високим ККД перетворення живильної електричної потужності у вихідну оптичну. Навіть в серійних зразках цей показник може складати 70-80 %.

Світлодіоди і лазерні діоди однієї і тієї ж вихідної оптичної потужності розрізняються за формою і розмірами емітерів. У випадку світлодіодів – це квадрати (частки міліметра - міліметри), для лазерних діодів – прямокутники (частки мікрона - десятки-сотні мікрон).

Промені з емітерів світлодіодів виходять в тілесних кутах до 100-120 градусів [52]. Індикатриса спрямованості випромінювання лазерного діода має розбіжність 40-50 градусів по швидкій осі і 5-10 градусів по повільній осі (рис. 1.8) [56].

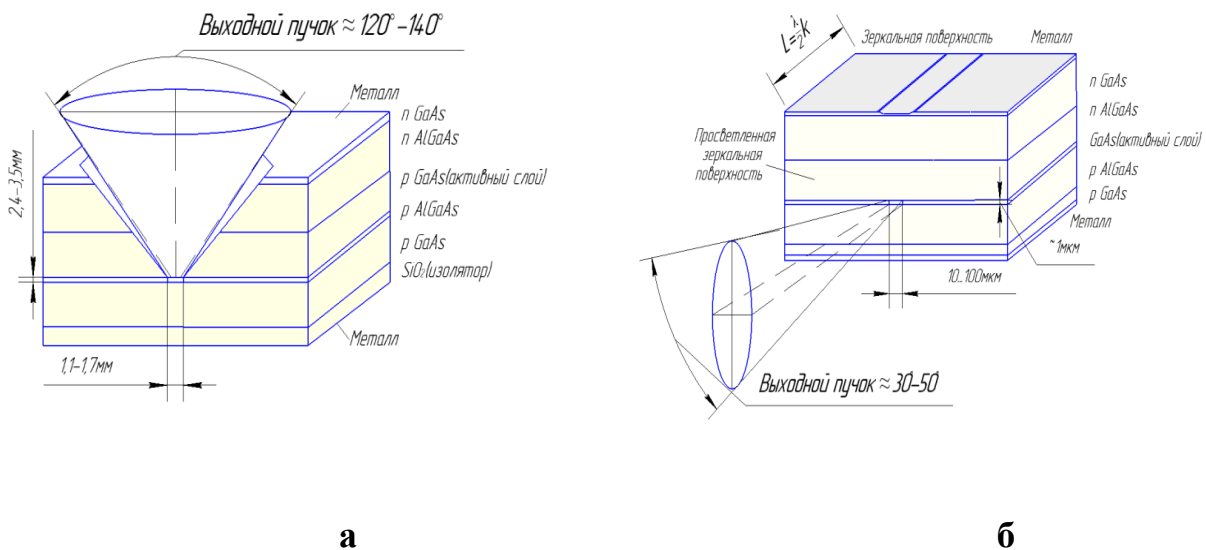


Рисунок 1.8 - Конструкції випромінюючих діодів: а - світлодіод; б - лазерний діод

Застосування і тих, і інших при фотодинамічному впливі вимагає присутності вбудованих або автономних оптичних систем. Завдання останніх –

передача оптичного випромінювання від емітера до зони впливу з мінімальними оптичними втратами і забезпечення максимально можливої однорідності в кожній точці оброблюваної поверхні заданої геометричної форми.

З урахуванням лінійних розмірів емітерів і кутової розбіжності випромінювання, реалізація оптичних систем у випадку світлодіодних випромінювачів є більш складним завданням [56].

Малі розміри емітерів лазерних діодів і відносно невеликі кути індикатрис спрямованості вихідного оптичного випромінювання роблять можливим ефективне введення випромінювання в різні світлопроводи, в тому числі і гнучкі на основі оптичних волокон з різними поперечними перерізами (рисунк 1.9). При цьому можуть використовуватися як прості оптичні системи, так і безпосереднє збудження волокон без проміжної оптики.

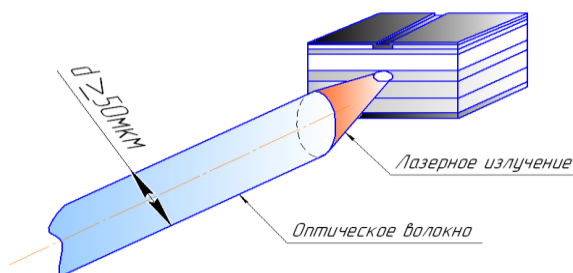


Рисунок 1.9 – Безпосереднє збудження оптичного волокна випроміненням лазерного діода

1.3.2 Оптичні волокна для фотодинамічної терапії.

Оптичне волокно - оптичний хвилевід, виконаний у вигляді нитки з діелектричних матеріалів з покриттям.

Оптичний хвилевід - напрямна середа, структура якої забезпечує поширення оптичного випромінювання уздовж неї [57].

Волокно складається з серцевини і оболонки [58], [59]. Оболонка оточує оптично більш щільну серцевину, що є світловедучою частиною волокна (рис. 1.10). Серцевина і оболонка мають показники заломлення (показник

заломлення середовища відповідає кратності зменшення швидкості світла в ній) n_1 і n_2 відповідно. Поширення світла по волокну можна пояснити на основі принципу повного внутрішнього відображення, що випливає з закону заломлення Снеліуса:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (1.1)$$

де n_1 – показник заломлення середовища 1, θ_1 – кут падіння, n_2 – показник заломлення середовища 2, θ_2 – кут заломлення.

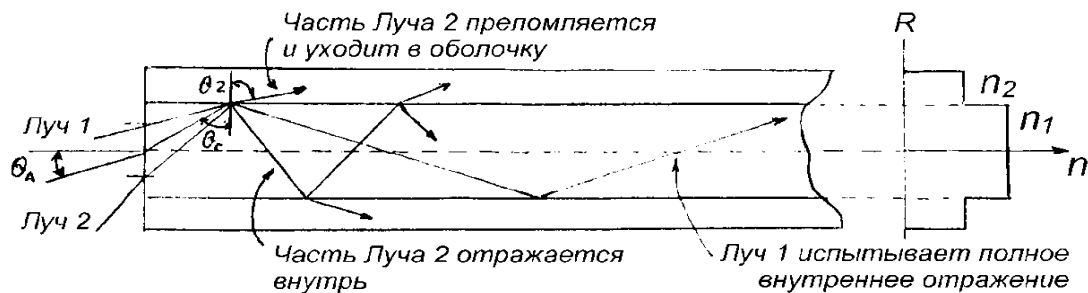


Рисунок 1.10 - Хід променів в багатомодовому оптичному волокні зі ступінчастим профілем

Важливим параметром, що характеризує оптичне волокно, є числова апертура NA. Вона пов'язана з максимальним кутом вводиться в волокно випромінювання з вільного простору, при якій світло відчуває повне внутрішнє віддзеркалення і поширюється по волокну формулою:

$$NA = \sin \theta_A \quad (1.2)$$

Фірми - виробники волокна експериментально вимірюють кут і вказують відповідне значення числової апертури для кожного поставленого типу волокна.

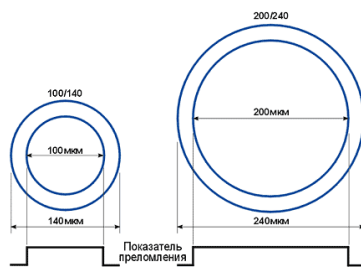
Оптичні волокна виробляються різними способами, забезпечують передачу оптичного випромінювання на різних довжинах хвиль, мають різні характеристики і призначені для виконання різних завдань. З урахуванням геометричних розмірів поперечного перерізу (діаметра серцевини) оптичні волокна діляться на дві основні групи: багатомодові MMF (multi mode fiber) і одномодові SMF (single mode fiber).

Багатомодові волокна поділяються на ступінчасті (step index multi mode fiber) і градієнтні (graded index multi mode fiber).

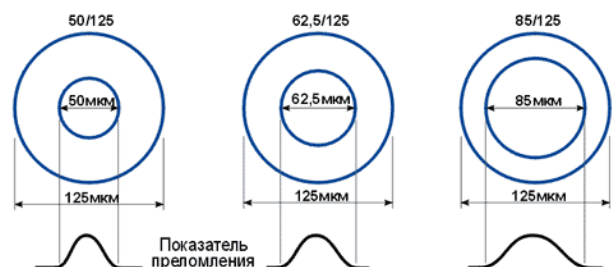
Одномодові волокна поділяються на ступінчасті одномодові волокна (step index single mode fiber) або стандартні волокна SF (standard fiber), на волокна зі зміщеною дисперсією DSF (dispersion-shifted single mode fiber), на волокна з ненульовою зміщеною дисперсією NZDSF (non-zero dispersion -shifted single mode fiber).

На рис. 1.11 наведені типи і розміри волокон [58]. Кожне волокно складається із серцевини і оболонки з різними показниками заломлення. Ці значення вказуються через дріб при позначенні волокон.

Основними матеріалами для виготовлення серцевини оптичних волокон є кварцове скло, багатокомпонентне скло, пластики. Оптичні волокна з серцевиною з кварцового скла можуть мати як кварцову, так і полімерну світловідбивальну оболонку.



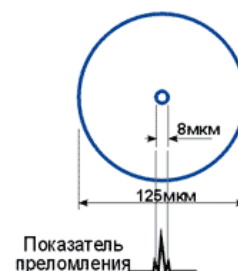
а) Ступеневе багатомодове
ВОЛОКНО



б) Градієнтне багатомодове волокно



в) Ступеневе одномодове волокно
(SF)



г) Одномодове волокно зі зміщеною
дисперсією (DSF або NZDSF)

Рисунок 1.11 – Типи та розміри волокон

Волокна характеризуються двома найважливішими параметрами; загасанням і дисперсією.

На затухання світла в волокні впливають втрати на поглинання і втрати на розсіянні. Втрати на поглинання і втрати на розсіянні разом називають власними втратами.

Протягом 1970-х років загасання оптичних волокон знижувалося з 4 дБ/км в 1975 р., 0,5 дБ/км в 1976 р. до 0,2 дБ/км в 1979 р. Остання величина означає, що 6 3% світлового сигналу досягає далекого кінця 10-кілометрового волокна. У 1982 р. компанія Corning отримала одномодові волокна з загасанням 0,16 дБ/км на довжині хвилі 1550 нм, тобто в 100 раз поліпшила результати в порівнянні з показниками 1970 року [60].

На рисунок 1.12 наводиться загальний вигляд спектральної залежності власних втрат в кварцовому оптичному волокні [54].

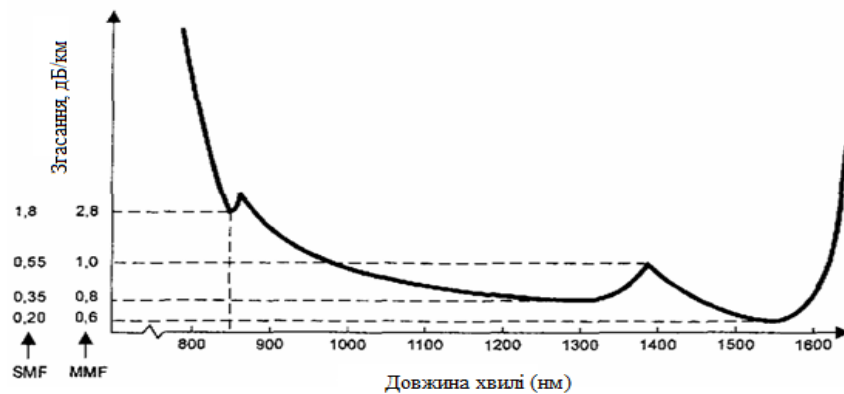


Рисунок 1.12 - Спектральна характеристика загасання кварцового волокна

Процеси витягування з заготовки дозволяють отримувати кварцове волокно значною протяжністю (десятки кілометрів) з бездоганною поверхнею і, по суті, з теоретичної міцністю в умовах експлуатації (~ 5,5 ГПа) на більшій частині його довжини. Зустрічаються нечисленні виробничі дефекти, які усуваються процедурою перевірки відповідності, що дозволяє досягти майже будь-якої бажаної і гарантованої міцності довжини волокна, яка залишилася.

Інтенсивні дослідження і модифікація процесів, які використовуються у виробництві волоконних заготовок і кінцевого волокна, дали в підсумку

описане вище волокно високої якості. Важливими в цьому відношенні виявилися використання у виробництві серцевини і оболонки сировини високої якості, контроль чистоти використовуваних в печі газів, контроль твердих і газоподібних домішок, придатних для взаємодії з гарячим волокном в навколишньому середовищу при витягуванні. Були розроблені методи нанесення захисного полімерного покриття в процесі виробництва без шкоди поверхні волокна. Завдяки чистоті всіх застосовуваних матеріалів в тілі волокна рідко зустрічаються будь-які частинки твердих домішок. Майже у всіх випадках міцність волокна - це міцність його поверхні (стан поверхні волокна визначає його міцність).

З метою захисту від механічних пошкоджень волокна в процесі виробництва відразу покриваються полімером [60].

Поширення оптичних волокон було б неможливим без безпосереднього захисту, що забезпечується полімерним покриттям. В процесі розробки оптичних волокон стало очевидним, що для захисту волокна від тертя (абразивного зносу) і збереження його міцності потрібні захисні покриття певного типу. Під впливом вологи і механічних напружень в волокнах утворюються мікротріщини, що призводять до його пошкодження.

Початковими вимогами до покриття оптичних волокон були захист від мікрозгинів і статичної втоми. Це означало, що затверджувальне покриття яке оточує волокно має бути суцільним по всій його довжині, мати однакову товщину, бути стійким до абразивного зносу і вологостійкими. Покриття, які наносяться в рідкому стані повинні мати постійну в'язкість, яка піддається обробці, приклеюватися до скла, мати відносно низький коефіцієнт поверхневого натягу, не бути забрудненими різними частинками, мати мінімальний показник утворення водню, а також високу швидкість затвердіння. Передбачалося, що затверджувальні покриття повинні зберігати значення модуля Юнга і адгезійну здатність протягом 25-річного терміну служби оптичного волокна.

Серед ранніх зразків покриття, що використовувалися для захисту оптичного волокна, були уретани, що розчиняють лаки, силіконова гума та епоксидні акрилати з УФ-затвердінням. На початку 1980 років популярним засобом захисту оптичних волокон стали покриття з УФ-затвердінням (багато в чому завдяки швидкому термозатвердінню і можливості простого регулювання параметрів).

Одночасно з поліпшенням передавальних властивостей волокон їх покриття пройшли свій шлях розвитку від однорівневих до дворівневих систем.

Втрати волокон на мікрозгинах можуть бути значно зменшені за рахунок захисту волокна від зовнішніх впливів за допомогою м'якого внутрішнього покриття з порівняно невеликим модулем Юнга і жорстким зовнішнім покриттям з великим модулем Юнга. Внутрішнє первинне покриття, що знаходиться під більш жорстким зовнішнім, діє як амортизатор, мінімізуючи загасання на мікрозгинах. Внутрішнє покриття має низьку щільність зшивання, а модуль Юнга в сучасних зразках становить від 0,5 до 3,0 МПа. Внутрішнє покриття повинне приклеюватися до скла і начисто відділятися від нього, забезпечуючи зрощування і з'єднання [60].

Зовнішнє покриття, яке іноді називають вторинним, захищає первинне покриття від механічних пошкоджень і діє як бар'єр проти бічних зусиль. Крім того, це покриття являє бар'єр проти вологи. Це тверде покриття з високим модулем Юнга забезпечує гарне транспортування і довговічність оптичного волокна.

У багатьох медичних цілях (в тому числі при фотодинамічній терапії) затребувані багатомодові оптичні волокна різноманітних розмірів, різних співвідношень серцевини і оболонки, різної числової апертури NA. Як правило, ці волокна мають збільшений діаметр серцевини (> 200 мкм). Остання обставина зумовлена як лінійними розмірами сполучених зон генерації лазерного випромінювання, так і зручністю експлуатації при клінічному застосуванні.

Внаслідок відносно невеликих по протяжності лінійних ділянок оптичних волокон при побудові виробів медичного призначення (одиниці-десятки метрів) до них не пред'являється жорстких обмежень з точки зору загасання оптичного випромінювання і дисперсії, як у випадку волокон для систем передачі інформації.

На перший план виходять обмеження по геометрії волокон, хімічна стійкість і біосумісність використовуваних для створення оптичних волокон матеріалів.

Співвідношення між діаметром серцевини і габаритним діаметром волокна по зовнішньому захисному покриттю визначає як мінімально допустимий радіус вигину, так і мінімальний діаметр просвіту використовуваного медичного інструментарію [61].

Хімічна стійкість і біосумісність в разі кварцових волокон критична з точки зору використовуваних матеріалів при побудові захисних покриттів, так як характеристики самого кварцу в якості матеріалу для серцевини сумнівів не викликають.

Окремо слід відзначити полімерні оптичні волокна (ПОВ) [62].

У порівнянні з кварцовими волокнами ПОВ мають виняткову гнучкість при відносно великих діаметрах і здатність витримувати без руйнувань багаторазовий вигин. Великий апертурний кут (більше 60) полегшує введення випромінювання в полімерне волокно і робить більш гомогенним розподіл оптичного випромінювання на його виході.

Найбільш використовуваний матеріал серцевини - поліметилметакрилат (ПММА). Мінімальне загасання полімерного волокна потрапляє на смуги поглинання значної частини ФС (рисунок 1.13).

ПОВ володіють прийнятною для ФДТ температурною та енергетичною стійкістю, мають порівняно невелику вартість, прості в обробці. З точки зору потенціалу малоінвазивності володіють мінімальною різницею між габаритним діаметром і діаметром серцевини для всіх типорозмірів виконання [60].

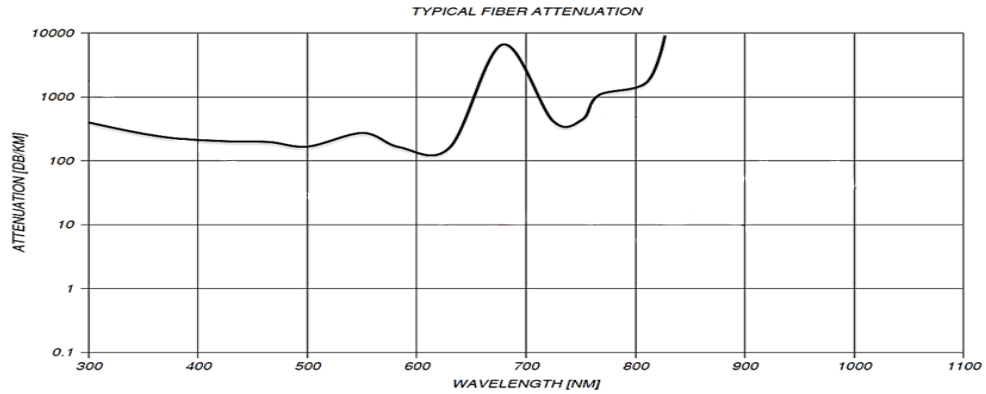


Рисунок 1.13 – Спектральна характеристика затухання полімерного волокна

Все перераховане вище робить полімерні оптичні волокна потенційно затребуваними при побудові світловодів для фотодинамічної терапії.

1.3.3 Апаратне забезпечення фотодинамічної терапії

Таким чином, якщо в попередні десятиліття при побудові апаратури для ФДТ використовувалися лазери на барвниках, лазери на парах золота, і твердотільні лазери, то в поточному десятилітті перевага віддається напівпровідниковим лазерам і світлодіодним джерелам світла.

Принцип побудови лазерного апарату медичного призначення пропонується розглянути на прикладі апарату для хірургії і силової терапії [63]. При цьому апарати для фотодинамічної терапії пухлин розробниками і виробниками лазерної апаратури медичного призначення розглядаються як модифікації хірургічної апаратури із специфічними енергетичними (менша вихідна потужність) і спектральними (робочі довжини хвиль збігаються із спектрами поглинання використовуваних фотосенсибілізаторів) параметрами.

Структурно-функціональна схема лазерного апарату для фотодинамічної терапії пухлин представлена на рис. 1.14.

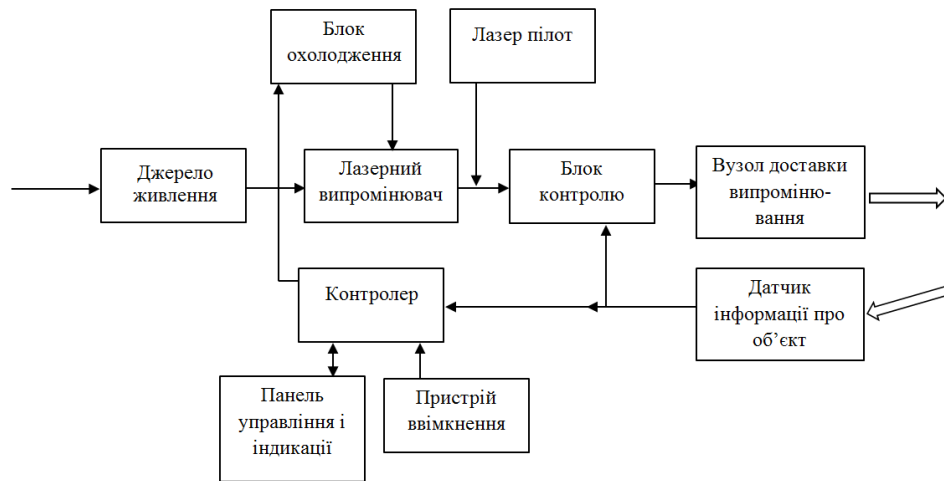


Рисунок 1.14 – Структурно - функціональна схема лазерного медичного приладу

Лазерний випромінювач отримує живлення від джерела живлення, який в залежності від типу використовуваного лазера може містити пристрій запуску накачування (підпалу газового розряду в трубці або лампі накачування), модуляції живлення з керуванням від центрального контролера. Тепловий режим випромінювача забезпечується блоком охолодження, який може представляти складну рідинну систему для потужних лазерів, блок термоелементів Пельтьє або просто вентилятор при використанні напівпровідникових лазерів.

Управління параметрами апарату здійснюється за допомогою центрального контролера на основі мікропроцесора або (в складних пристроях) комп'ютера. Як інтерфейс, що забезпечує управління апаратом, а також індикацію робочих параметрів використовується панель управління і реєстрації. У деяких випадках панель містить роз'єми для підключення зовнішніх систем управління і реєстрації. На виході лазерного випромінювача знаходиться блок контролю, основним завданням якого є контроль вихідних параметрів випромінювання. У деяких апаратах цей блок виконує і функцію зовнішнього модулятора випромінювання або приймає для аналізу відбите від об'єкта впливу випромінювання.

Проаналізовано різні варіанти побудови низькоінтенсивних лазерних терапевтичних апаратів з прикладами функціональних схем [54].

В даний час простежуються нові перспективи розробки світлової техніки для ФДТ [51].

- Удосконалення вже відомих технічних пристроїв в плані збільшення надійності, ефективності, ергономічності, зменшення об'ємно-вагових параметрів.
- Розробка спеціалізованих приладів з адекватним процедурі ФДТ управлінням і відображенням інформації.
- Розробка апаратури з використанням нових типів джерел світла на основі світловипромінюючих панелей, волоконних лазерів і т.п.
- Розробка спрощених апаратів на базі напівпровідникових лазерів і світлодіодів, адаптованих для проведення ФДТ в амбулаторних умовах.
- Створення джерел для двухквантових ФДТ на базі пікосекундних лазерів.
- Розробка засобів доставки на основі нових типів світловодів і світпровідних структур.
- Створення нових біотехнічних систем, орієнтованих на завдання ФДТ.
- Створення роботизованих комплексів, що забезпечують підвищену і контрольовану доставку енергії по всьому об'єму пухлини.
- Інтеграція джерел світла для ФДТ, внутрішньотканинної гіпертермії, а також високоенергетичних хірургічних лазерів.

Окремо слід відзначити актуальність контролю потужності оптичного випромінювання не тільки на виході з лазерного апарату, що успішно реалізується вбудованими апаратними каскадами, а й на виході зовнішніх світловодних (в тому числі і волоконно-оптичних) каскадів [64]. Сучасні апарати для ФДТ наведені в Табл. 1.2 (Додаток А).

1.4 Ключові аспекти взаємодії світла та біологічних тканин при фотодинамічній терапії

Лазерне випромінювання так само, як і звичайне світло, що падає на біотканину, може поглинатися, відбиватися, розсіюватися і перевипромінюватися біологічним середовищем (рис. 1.15).

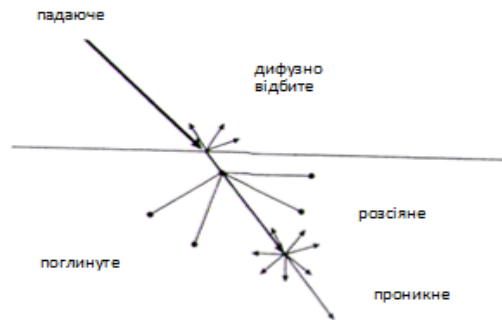


Рисунок 1.15 – Поширення світла в біотканині (за В.П. Мінаєв)

Кожен із зазначених процесів несе інформацію про мікро- та макроструктуру цього середовища, руху і форми окремих її складових. Але, навіть в разі, коли інтенсивність світлового випромінювання настільки мала, що його вплив не змінює властивості біологічної тканини, що його поглинає, описати процес поширення випромінювання надзвичайно складно [65].

Процеси, що характеризують взаємодію лазерного випромінювання з біооб'єктами, можна розділити на три групи [66]. До першої групи належать всі незбуджуючі процеси (що, принаймні, не надають помітного впливу на біооб'єкт в межах помилок вимірювань). До другої групи відносяться процеси, в яких проявляється фотохімічний або тепловий вплив. До третьої групи - процеси, що призводять до фоторуйнування.

Для взаємодії світла з біологічними об'єктами є важливими: час опромінення, режим опромінення (безперервний або імпульсний), періодичність та тривалість дії. У цьому також може проявити себе гомеостаз живої матерії. Залежно від довжини хвилі та інтенсивності світла порогова тривалість опромінення, при якій починають відбуватися морфологічні зміни,

може бути дуже різною для одного і того ж об'єкта, тобто для живого об'єкта добуток інтенсивності на час опромінення не є константою.

Залежно від періодичності світлових імпульсів, можливі резонансні явища в області частот, що відповідають періоду коливань фотовідгуку біологічних систем, який змінюється в межах від 10^{-3} до 10^3 с. Слід зазначити, що складність дослідження поведінки біологічних систем полягає в тому, що через ввімкнення адаптаційних і регуляторних механізмів їх відгук є нелінійним навіть при дуже малій інтенсивності світла.

Ефективність різних механізмів впливу світла на біотканини пропорційна світловій потужності, поглиненій хромофором-мішенню в тканині (молекулярний кисень, фотосенсибілізатор, оксигемоглобін, білірубін і т.д.). Збільшення дози опромінення забезпечує пропорційний ріст поглиненої світлової потужності, але може викликати ряд негативних ефектів передозування лазерного випромінювання.

На атомно-молекулярному рівні взаємодії відбувається поглинання електромагнітного випромінювання різними біотканинами. В результаті поглинання енергії світла виникають збуджені електронні стани атомів і молекул цих речовин, наступна міграція електронного збудження, первинний фотофізичний ефект, поява первинних фотопродуктів, нагріву. Лазерне випромінювання здатне призводити до істотної неоднорідності температурного градієнта в тканинах, особливо на рівні однієї клітини або її органел. Це може впливати на константи швидкості біохімічних реакцій, приводити до деформації клітинних мембран, зміни їх трансмембранних потенціалів тощо. Перебіг ендотермічних хімічних реакцій залежить, як показують багато фізичних досліджень [67-70], не тільки від середньої теплової енергії, що підводиться до реагентів, але і від періодичності вкладення енергії, що може впливати на константи термохімічних реакцій. Залежно від величини температури і часу її впливу на біологічні тканини, в останній можуть спостерігатися окремо або разом: температурна активація, денатурація білка, коагуляція, випаровування, коксування.

Систематичному дослідженню оптичних характеристик біологічних тканин і методів їх вимірювання присвячена робота [71]. Авторами було розглянуто основні моделі поширення світла в живих тканинах, більшість з яких представляють собою сильнорозсіююче середовище (коефіцієнт розсіювання світла μ_s в 10-100 разів перевищує коефіцієнт поглинання μ_a).

Поглинання світла є однією з характеристик ефективності взаємодії світла з досліджуваним біологічним об'єктом. Селективність дії світла на біологічний об'єкт в більшості випадків залежить від спектрального діапазону. Ультрафіолетове випромінювання переважно поглинається молекулами нуклеїнових кислот, білків і ліпідів. Світло видимої області спектра переважно поглинається хромофорними групами білкових молекул, частково киснем. Найбільш важлива роль належить гемоглобіну, меланіну і ряду ферментів. Світло ближньої інфрачервоної області (довжина хвилі 0,8-1,4 мкм) поглинається переважно молекулами білка і киснем [67], [72], [73], [74]. Величина поглиненого лазерного випромінювання є визначальним фактором процесу гіпертермічної терапії, оскільки безпосередньо впливає на розподіл температури в опроміненному об'ємі біотканини.

Важливою оптичною характеристикою біооб'єкту є також коефіцієнт відбиття. Відбивання обумовлено як стрибком показника заломлення на границі біооб'єкту з повітрям, так і зворотним розсіюванням від глибинних шарів тканини. При цьому на глибині, що дорівнює приблизно трьом оптичним товщинам тканини, колімований лазерний пучок дає сферично симетричне, близьке до ізотропного випромінювання.

Одним з найважливіших факторів є глибина лазерного впливу на біотканини. Вона визначається, в основному, оптичними властивостями середовища, довжиною хвилі і тривалістю випромінювання. Незважаючи на те, що ці процеси ще недостатньо вивчені, вони вже широко використовуються в медичній практиці (біостимуляція завдяки лазерній фотоіндукції, фотоактивація лікарських препаратів, фотохіміотерапія).

Слід відзначити, що глибина лазерного впливу є важливою для визначення можливості проведення ФДТ і вибору відповідного фотосенсибілізатора. В основному для ФДТ використовується світло видимого або ближнього ІЧ діапазону спектра. Причиною цього є те, що всі наявні в арсеналі фотосенсибілізатори поглинають світло саме в цьому діапазоні спектра [75].

Глибина проникнення світла в сенсibiliзовану біотканину визначається сумою поглинання фотосенсибілізатора і власного поглинання біотканини, обумовленого наявністю в ній ендogenous флюорохромів (меланіну в шкірі, гемоглобіну крові і т.д.). Оскільки вміст фотосенсибілізатора в біотканині і доза опромінення, в процесі опромінення, повинні бути достатніми для генерації необхідно для руйнування пухлини кількості цитотоксичних агентів, для забезпечення ефективності ФДТ доводиться використовувати високу дозу препарату, що вводиться, або збільшувати дозу світлового опромінення шляхом збільшення часу опромінення та підвищення щільності потужності при опроміненні.

Взаємозв'язок між оптимальними значеннями параметрів лазерного опромінення, з одного боку, властивостями і введеною дозою фотосенсибілізатора - з іншого, носить досить складний характер. В [76] зазначено, що ефективне використання енергії терапевтичного випромінювання при ФДТ забезпечується фотосенсибілізаторами зі значним перевищенням поглинання над власним поглинанням біотканини. З іншого боку, недостатньо високе співвідношення між цими параметрами призводить до необхідності використовувати для ФДТ високі рівні щільності потужності і дози світла. Наприклад, при ФДТ фотосенсибілізатором з хлоринового ряду «Фотодітазін», поглинання якого в біотканині менше її власного поглинання в спектральному діапазоні 660-665 нм, багато експериментаторів використовують високі значення щільності потужності 300-600 мВт/см² і дози світла 500-800 Дж/см² [77]. Досить високі рівні щільності потужності і дози світла при значних введених дозах препарату використовуються також при ФДТ з інфрачервоним

фотосенсибілізатором «Тоокад», хоча *in vitro* він показує рекордно високу фототоксичність [78].

Відомо, що висока ефективність використання терапевтичного випромінювання при ФДТ глибоких пухлин може бути досягнута в спектральному діапазоні максимальної прозорості біотканини.

В роботі [79] проведено оцінку взаємозв'язку між поглинанням фотосенсибілізатора в опроміненій біологічній тканині і дозою опромінення, необхідно для впливу на глибокі шари пухлини при ФДТ. Показано, що при збільшенні поглинання фотосенсибілізатора в пухлині (наприклад, збільшення його дози, що вводиться) ефективність використання терапевтичного випромінювання зростає тільки до певної межі, потім починає падати через екранування глибоких шарів сенсибілізованими приповерхневими шарами (рисунок 1.16).

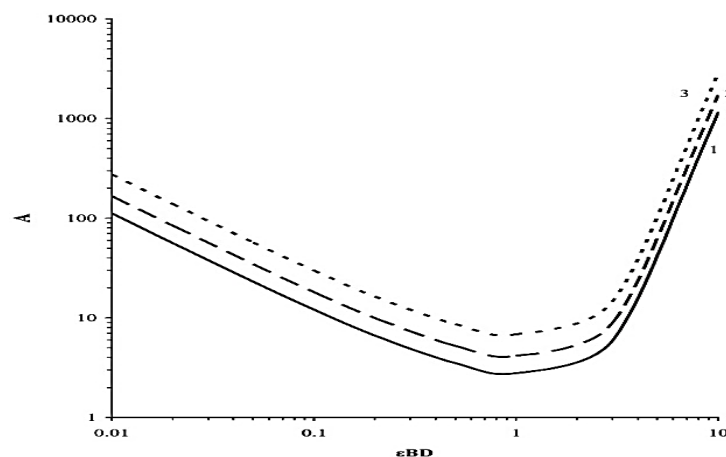


Рисунок 1.16 – Вплив поглинання фотосенсибілізатора в пухлині ϵBD на ефективність терапевтичної дії випромінювання A при товщині: шкірного покриву 0,1 см, пухлини 0,9 см, значенні індексу селективності в пухлині по відношенню до шкіри, що дорівнює 4, і різних рівнях власного поглинання біотканини: 1 - 0,1 см^{-1} ; 2 - 0,5 см^{-1} ; 3 - 1 см^{-1} (ϵ - екстинкція фотосенсибілізатора, B - біологічний фактор, пов'язаний з властивостями фотосенсибілізатора, особливостями пухлини та її локалізації, D - доза сенсибілізатора)

Чим вище відношення A енергії світла, що "увійшла" $P_0T(1-R)$ до порогу деструкції пухлини b , тим розподіл світла менш вигідний для ФДТ.

Оптимальне співвідношення між поглинанням фотосенсибілізатора і власним поглинанням біотканини становить приблизно 3-4 при високій прозорості біотканини і спадає до значень 1,5-2 при збільшенні її поглинання.

За даними експериментальних досліджень [80], [81], [82] в процесі сеансу ФДТ відбувається часткове руйнування стінок кровоносних судин (з вивільненням гемоглобіну) і істотно підвищується концентрація метгемоглобіну в тканині (до 60% від загальної концентрації гемоглобіну), що призводить до зміни оптичних параметрів тканини.

Таким чином, для того, щоб підвищити ефективність ФДТ і уникнути побічних несприятливих ефектів, необхідно контролювати концентрації ФС і HbO_2 в зоні пухлини, розподіл по глибині спектрів дії світла на дані хромофори і локальні зміни морфології тканини (об'ємного вмісту кровоносних судин і співвідношення різних форм гемоглобіну).

У зв'язку з цим, в роботі [83] розглянуто задачу пошарової дозиметрії лазерного випромінювання в біотканинах і вибору індивідуальної терапевтичної дози при лазерній терапії. Запропоновано метод і математичну модель оперативного моніторингу щільності випромінювання в шарах тканини *in vivo*, концентрацій її ендогенних (природних) і екзогенних (спеціально введених) хромофорів, а також розподілів по глибині спектрів дії світла на дані хромофори. В якості початкової інформації використовується спектр дифузного відбиття світла від тканини пацієнта, вимірюваний оптоволоконним спектрофотометром.

Показано можливість використання розробленого методу для контролю концентрацій фотосенсибілізатора і оксигемоглобіну в тканині, світлової потужності, що поглинається даними хромофорами в шарах тканини з різною глибиною залягання, і лазерно-індукованих змін в морфології тканини (об'ємного вмісту кровоносних судин і співвідношення різних форм гемоглобіну) при фотодинамічній терапії.

Таким чином, для ефективного проведення ФДТ і мінімізації побічних несприятливих ефектів, необхідно контролювати спектри дії світла на фотосенсибілізатор в шарах тканини з різною глибиною залягання. Такий контроль може виконуватися за допомогою системи виміру зворотного розсіювання тканини, що дає інформацію про кількість кисню, а також наявності в тканині фотосенсибілізатора, що необхідно для здійснення реакції ФДТ. Дослідженню і практичній реалізації цієї проблеми присвячена дана робота.

Основною вимогою до джерел випромінювання для фотодинамічної терапії є відповідність спектрів їх випромінювання спектрам поглинання відповідних фотосенсибілізаторів.

1.5 Параметри оптичного впливу при фотодинамічній терапії

При формуванні вимог до технічних параметрів джерел оптичного випромінювання для ФДТ виходять з необхідності оптимального оптичного збудження молекул ФС, що накопичилися в тканинах пухлини в усьому оброблюваному обсязі [51].

Вище розглядалися вимоги до спектральних характеристик джерел випромінювання.

Режим випромінювання джерел для фотодинамічного впливу переважно безперервний [84,85]. Це пов'язують з найбільш керованою доставкою квантів до молекул ФС.

Щільність потужності оптичного випромінювання (мВт/см^2) - ключова величина для ФДТ [85,86]. Для методу важливо, щоб опромінення не викликало додаткового нагріву. Встановлено, що в діапазоні 600-700 нм величина щільності потужності не повинна перевищувати 500-1000 мВ/см^2 . При цьому нагрів тканин не перевищує 0,2-1°C [87]. Існує гранична щільність потужності 400 мВт/см^2 , при якій відчувається печіння. При щільності потужності більше

400 мВт/см² необхідно знеболювання. Слід зазначити, що нижній поріг щільності потужності однозначно не визначено.

В основному робочий діапазон величин щільності потужності для ФДТ в онкології становить 100 - 300 мВт/см² [88].

Щільність енергії (Дж/см²) залежить від біологічних особливостей пухлини і встановлюється виходячи з сукупного досвіду застосування ФДТ при пухлинах різної гістологічної структури.

Діапазон випробуваних для цілей ФДТ в онкології значень щільності енергії становить 20 - 1000 Дж/см² і більше при деяких різновидах пухлин. Найбільш характерна для ФДТ щільність енергії 200 - 300 Дж/см² [51].

Доза світла E , що підводиться до пухлини, визначається щільністю P за час процедури t . У спрощеному вигляді доза визначається співвідношенням:

$$E = P_s \cdot t \quad (1.3)$$

де E - щільність енергії світла, Дж/см²,

P_s - щільність потужності, Вт/см²,

t - час, с.

Виходячи з вихідної потужності джерела світла і розмірів площі поверхні пухлини S , визначається щільність потужності P_s .

Час світлової експозиції в секундах визначається формулою:

$$t = E / P_s \quad (1.4)$$

де E - емпірично підбирати щільність світлової енергії, Дж/см²;

P_s - щільність потужності Вт/см².

Поряд з найбільш поширеним безперервним режимом роботи джерел випромінювання при ФДТ використовується імпульсне випромінювання. Відомо застосування твердотільних лазерів і лазерів на парах металів. Імпульсний характер випромінювання останніх при частоті проходження імпульсів 1 - 15 кГц в тканини надає квазінеперервний вплив [89], [90].

Проводилися дослідження дозових характеристик фотосенсибілізатора "Радахлорін" при використанні як безперервного, так і імпульсного режимів лазерного опромінення при спостереженні фотодинамічного ефекту на суспензії еритроцитів в фізіологічному розчині при різних концентраціях. Як джерело світла використовували діодний лазер з довжиною хвилі випромінювання 662 ± 5 нм і вихідною потужністю від 100 мВт до 1 Вт. Лазер здатний працювати як в безперервному, так і в імпульсному режимах опромінення з прямокутною формою імпульсу різної прогальності [91].

Експериментальні результати застосування імпульсного режиму опромінення для ФДВ істотно відрізнялися від результатів ФДВ в безперервному режимі. Дозова крива для "Радохлоріна" при опроміненні в безперервному режимі мала порогове значення дози опромінення для початку фотодинамічного ефекту близько 23 Дж. Значення дози для досягнення повної загибелі клітин - близько 43 Дж. У режимі опромінення з тривалістю імпульсу 900 мс і інтервалом між імпульсами 100 мс порогова доза мала значення близько 60 Дж, а доза досягнення повної загибелі клітин - близько 100 Дж. У режимі опромінення з тривалістю імпульсу 100 мс і інтервалом між імпульсами 900 мс порогова доза початку фотодинамічного ефекту була відсутня.

Була проведена гіпотеза про більшу ефективність імпульсного режиму опромінення клітин в порівнянні з безперервним при ФДВ на культурі еритроцитів [92]. Параметром, що характеризує ступінь протікання процесу, був обраний коефіцієнт пропускання (прозорість) рідкого зразка, оскільки при гемолізі еритроцитів, з огляду на їх кількісне домінування над іншими форменими елементами крові, слід очікувати радикальної зміни оптичних властивостей.

Нативна кров розводилася в 0,9% фізіологічному розчині NaCl у співвідношенні 1:600. Фотосенсибілізатор (ФС) "Радахлорін" розводився за тією ж технологією. Потім розведена кров і розведений ФС змішувалися в співвідношенні 1:1. Отриману суміш розміщали в прямокутну кювету і піддавали опроміненню світлодіодною матрицею (кювета була розміщена в

фокусі світлодіодної матриці сферичної форми; довжина хвилі випромінювання матриці $\lambda = 650$ нм). Режим оптичного впливу задавався з персонального комп'ютера через модулятор. Контроль пропускання суміші проводився на фотоколориметрі КФК-2.

На першому етапі експерименту визначалася гранична доза оптичного впливу, достатня для початку перебігу фотодинамічного ефекту (ФДЕ). Для цього кожні 30 секунд кювету знімали з опромінення і розміщували в фотоколориметр для проведення контролю пропускання суміші. Ця процедура повторювалася до тих пір, поки показання фотоколориметру не виходили на «плато», тобто досягали граничного значення і не змінювалися при подальшому повторенні вимірювань.

На другому етапі вихідна суміш опромінювалася в безперервному режимі протягом часу, відповідного порогу ФДЕ (цей час було визначено на першому етапі). Після закінчення експозиції, контроль пропускання суміші проводився кожну хвилину до того моменту, поки показання приладу не переставали змінюватися.

На третьому етапі вихідна суміш опромінювалася світлодіодною матрицею, що працює в імпульсному режимі. Сумарний час опромінення був таким же, як на другому етапі. Варіювалися параметри імпульсного впливу: частота і прогальність. Експерименти проводилися на частотах 1, 2, 5, 10, 24, 50, 100 Гц при прогальності 50 і 75%. По закінченню експозиції проводився контроль пропускання суміші за методикою другого етапу.

Незважаючи на те, що максимальний відсоток загиблих клітин виявився таким же, як і при безперервному опроміненні, можна вважати підтвердженою гіпотезу про перевагу використання імпульсного режиму опромінення при проведенні ФДТ. Справа в тому, що при безперервному режимі опромінення в якості побічної дії часто спостерігається набряк тканини, пов'язаний з розігрівом зони опромінення. При імпульсному режимі набряку не повинно відбуватися, оскільки в періоди між імпульсами відбувається "охолодження" біооб'єкту.

Розроблений і випробуваний в експерименті *in vivo* спосіб опромінення пухлини шляхом керованого покрокового переміщення (сканування) лазерного променя малого поперечного перерізу в межах зони правильної геометричної форми, що перевищує площу пухлини, з фіксованою за часом затримкою в кожній точці [93-98]. Після проходження всіх точок пухлини промінь лазера повертається у вихідне положення і здійснюється повторне покрокове опромінення зони. В експерименті *in vivo* порівняли ефективність гальмування росту пухлини (карцинома легені Льюїс) за допомогою запропонованого способу впливу зі звичайним безперервним опроміненням всієї площі пухлинної зони розфокусованим лазерним променем. При цьому щільність потужності лазерного випромінювання в лазерних пучках (як малого поперечного перерізу, так і розфокусованого) і загальний час впливу на пухлину були однакові. Запропонований спосіб впливу поступився традиційному способу лише на 20% в темпах гальмування росту пухлини при дозі лазерного опромінення в 400 разів менше, ніж при традиційному способі.

Була проведена серія експериментів для порівняння антибластомної ефективності ФДТ при опроміненні пухлини традиційним способом і виборчим лазерним скануванням в залежності від наявності флуоресценції [99], [100]. Лазерний промінь малої потужності і малого поперечного перерізу поточно опромінює область пухлини, захоплюючи тільки зони, де попередньо була виявлена флуоресценція. Як модельний об'єкт в експериментах використовували мишей лінії C57B1/6 вагою 18 - 22г з прищепленою в подушечку задньої лапи карциномою легені Льюїс. За годину до лазерного впливу мишам вводили внутрішньосудинно фотосенсибілізатор «Фотолон» в дозі 5 мг/кг. У двох порівняльних групах тварин пухлини опромінювали в скануючому і безперервному режимах. В обох режимах щільність потужності становила 45 мВт/см², а час впливу 30 хв. У скануючому режимі діаметр променя становив 1 мм, час затримки в кожній точці - 50 мс. Уточнення зони флуоресценції проводилося кожні 10 хв опромінення. Доза опромінення в безперервному режимі склала 90 Дж/см², в скануючому режимі середня доза

склала 1,46 Дж/см². У кожному конкретному випадку застосування скануючого режиму доза опромінення залежала від загальної кількості точок сканування і коливалася від 0,4 до 2,6 Дж/см².

Обидва застосованих режима опромінення привели до пригнічення росту експериментальних пухлин. Вже на 7 добу після терапії розмір всіх опромінених пухлин починав статистично достовірно відрізнятися від контрольних. На 11 добу гальмування росту пухлин в групі, опромінений в скануючому режимі, становило 54%, а для безперервного режиму цей показник дорівнював 55%. Таким чином, отримані результати практично не відрізнялися, хоча доза опромінення була в 61 разів меншою. На 14 добу після ФДТ було визначено рівень статичного ураження легень експериментальних тварин. Кількість метастазів і їх обсяг в групі тварин, в якій проводили традиційну ФДТ статистично не відрізнялися від контрольної групи. У той же час, кількість метастазів і обсяг у мишей, пухлини яких опромінювали в скануючому режимі, виявилися неоднорідними всередині групи (кількість метастазів і їх обсяг у частині мишей збігалися з показниками групи з безперервним режимом, а у деяких тварин ці значення були значно меншими).

В експерименті *in vivo* порівняли ефективність ФДВ при безперервному і модульованому оптичному випромінюванні [101]. Як модельний об'єкт використовували мишей лінії C57B1/6 з прищепленою в подушечку задньої кінцівки карциномою легені Льюїс. Мишам внутрішньовенно вводили ФС «Фотолон» в концентрації 10 мг/кг. Пухлини опромінювали з використанням модульованого (1 секунда опромінення - 1 секунда пауза) і безперервного лазерного впливу довжиною хвилі 660 нм, щільністю потужності 50 мВт/см². Тривалість експозиції в обох режимах склала 30 хв. Щільність дози опромінення в безперервному режимі склала 90 Дж/см², в модульованому - 45 Дж/см². У групах, включаючи контрольну, було по 5 мишей. Ступінь гальмування росту пухлини в групі з модульованим режимом впливу виявилася максимальною.

1.6 Методи неінвазивної медичної спектрофотометрії систем мікроциркуляції і приладів для їх реалізації в контексті проведення ФДТ. Особливості проведення неінвазивної медичної спектрофотометрії в рамках фотодинамічного процесу

В даний час у зв'язку з інтенсивним розвитком діагностичних методів, заснованих на неінвазивній медичній спектрофотометрії (НМС) - фотоплетізмографії (ФПГ), пульсоксиметрії, оптичної тканинної оксиметрії (ОТО), лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ), лазерної флуоресцентної діагностики (ЛФД) та ін., все більш актуальним стає питання про можливості їх застосування в якості методів контролю ефективності низькоінтенсивної лазерної терапії (НІЛТ) та фотодинамічної терапії в режимі реального часу. Пов'язано це з тим, що сучасні методи і прилади НМС можуть досить достовірно і легко реєструвати зміни в мікроциркуляції та оксигенації крові, що в свою чергу є одним з ключових моментів при оцінці лікувального ефекту від НІЛТ і ФДТ [102].

Предметом досліджень неінвазивної медичної спектрофотометрії є прижиттєві рівні накопичення різних біохімічних речовин в товщі тканини, а також їх динаміка в часі. Методи НМС засновані на використанні оптичного випромінювання низької інтенсивності для обстеження тканин і органів. Відбите світло, а також світло, яке пройшло через біологічну тканину, надає діагностичну інформацію про її будову, а мала інтенсивність дозволяє отримувати цю інформацію без впливу на динаміку різних біологічних процесів [103]. Перераховані методи НМС реалізуються близькими принциповими і технічними рішеннями.

Серед компонентів крові і клітинних біологічних тканин, які найбільш достовірно визначаються за допомогою НМС, розглядаються: загальний гемоглобін крові мікроциркуляторного русла (Hbt), який часто називають тканинним або транскутанним гематокритом (Htt); його аналог – об'ємне кровонаповнення (Vb) в зоні обстеження; перфузія тканин кров'ю – індекс

мікроциркуляції, який визначається доплерівським методом (Im); відсотковий функціональний вміст (сатурація – SO_2) оксигенованої фракції гемоглобіну (HbO_2) в артеріальній (артеріальна сатурація SaO_2) або змішаній крові мікроциркуляторного русла (тканинна, транскутанна сатурація StO_2); меланін шкіри; білірубін; жир; вода і ряд інших речовин [104].

Лазерна доплерівська флоуметрія (ЛДФ) – метод НМС, який базується на зондуванні *in vivo* епітеліальних тканин живого біологічного об'єкта (БО) низькоінтенсивним лазерним випромінюванням певної довжини хвилі з подальшою реєстрацією зворотньо розсіяного від БО випромінювання і визначенням динамічних параметрів мікроциркуляції крові. До останніх належать перфузія тканин кров'ю і частотні ритми мікроциркуляції. Параметри визначаються за доплерівським зсувом частоти випромінювання лазера при розсіюванні цього випромінювання на рухомих формених елементах крові. Цей зсув частоти міститься у реєстрованому зворотньо розсіяному випромінюванні від БО і залежить від швидкості руху формених елементів крові, які розсіюють світло, в основному еритроцитів. При практичній реалізації методу ЛДФ безперервно реєструється протягом часу дослідження і діагностика стану мікроциркуляції крові ґрунтується на аналізі графічного запису змін амплітуди, яка називається ЛДФ-грамою. За допомогою ЛДФ реєструються механічні коливання, пов'язані зі зміною перфузії мікроциркуляторного русла в зоні опромінення. Коливальний процес, який реєструється цим методом, складається з активних і пасивних коливань і відображає мінливість і пристосовність мікроциркуляторного русла до постійно мінливих умов гемодинаміки. Реєстровані за допомогою методу ЛДФ параметри дозволяють лікарю оцінювати параметри кровопостачання клітинних тканин, виявляти і досліджувати ритмічні процеси комплексної фізіологічної регуляції параметрів мікрогемодинаміки (судинні ритми в системі мікроциркуляції крові, дихальні ритми та ін.), робити висновки про функціональний стан мікросудинного русла системи мікроциркуляції крові тощо [105].

В основі лазерної флуоресцентної діагностики - зондування біооб'єкту випромінюванням у відомій області спектру з метою збудження ендогенних і екзогенних флуоресцюючих біомаркерів біологічної тканини і реєстрації спектрів і інтенсивності флуоресценції. У разі ФДТ лазерна флуоресцентна діагностика аналізує флуоресценцію екзогенних флуорофорів (фотосенсибілізаторів). ЛФД до проведення фотодинамічної терапії – необхідна умова для правильного формування полів опромінення, індивідуального планування світлової дози тощо [106,107]. Для ЛФД в процесі фотодинамічної терапії використовують дві методики: візуалізацію (поверхневий флуоресцентний іміджінг) і оптоволоконну спектрометрію [108].

Для реєстрації флуоресценції діагностичні системи містять в своєму складі малогабаритні оптоволоконні спектроаналізатори, які дозволяють реєструвати і кількісно вимірювати інтенсивність зворотно розсіяного тканинами вихідного (збуджуючого) випромінювання і випромінювання флуоресценції як функцію довжини хвилі. Для збудження флуоресценції в тканинах *in vivo* сьогодні, як правило, використовуються малопотужні безперервні лазери з обраною довжиною хвилі або вузькосмугові світлодіодні випромінювачі.

На рис. 1.17 приведені спектри поглинання «Фотолон» та хлорину е6 [109]

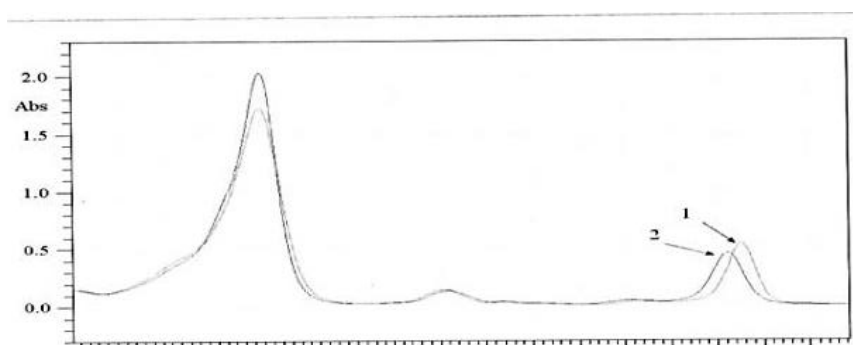


Рисунок 1.17 – Спектри поглинання «Фотолон» ($C-1,9 \times 10^{-5}M$) та хлорину е6 у фосфатному буферному розчині (рН 8,5) і етиловому спирті (1-в етиловому спирті; 2 – в буферному розчині)

У табл. 1.3 представлено максимум і квантовий вихід флуоресценції хлорину е6 і «Фотолон» в фосфатному буферному розчині та етиловому спирті [109].

Таблиця 1.3

Розчин	Хлорину е6		Фотолон	
	$\lambda_{\text{max}}^{\text{фа}}$, нм	φ_f	$\lambda_{\text{max}}^{\text{фа}}$, нм	φ_f
Фосфатний буферний розчин (рН 8,5)	667	0,19	667	0,22
Етиловий спирт	662	0,18	662	0,20

Методи флуоресцентної діагностики дозволяє відстежувати селективність накопичення фотосенсибілізатора щодо пухлинної тканини (рис. 1.18).

Оптична тканинна оксиметрія (ОТО), як один з методів неінвазивної медичної спектrophотометрії, останнім часом набуває широкого поширення в якості засобу оцінки оксигенації периферичної тканин. Оптична тканинна оксиметрія заснована на принципах спектроскопії у видимому і ближньому інфрачервоному випромінюванні [110]. В основі фізичного принципу ОТО лежить відмінність оптичних властивостей (а саме поглинання) оксигенованої і редукованої фракцій гемоглобіну (рис. 1.19).

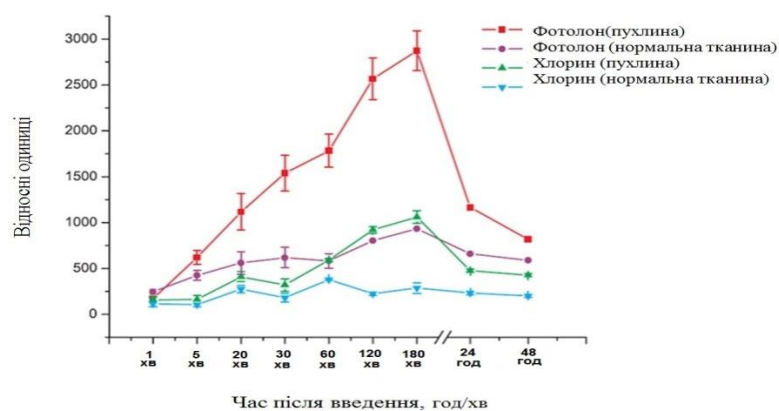


Рисунок 1.18 – Накопичення нативного хлорину е6 і ФС Фотолон® в пухлинній (саркома М-1) і здоровій (м'яз стегна) тканинах щурів [109]

Наприклад, на довжинах хвиль 340, 410, 430, 450, 500, 569 і 805 нм поглинання світла цими формами гемоглобіну практично однакові. Це – ізобестичні точки, які вигідно використовувати в якості реперних. На довжинах хвиль 470, 670, 980 нм спостерігається найбільші відмінності коефіцієнтів молярної екстинції [111].

На відміну від пульсоксиметрії, технологія ОТО передбачає незалежність показників (сатурації) від пульсації артеріальної крові. Це дозволяє проводити вимірювання при низькій амплітуді пульсової хвилі, її відсутності або у випадках аритмії. Тканинні оксиметри (ТО) на основі ОТО вимірюють сатурацію загального судинного (сумарно артеріального і венозного) русла. Оскільки в більшості тканин венозної крові значно більше, ніж артеріальної, можна вважати, що ТО визначають в основному венозну сатурацію.

Оптичні вимірювання при ОТО можна проводити як у прохідному, так і у відбитому світлі в залежності від доступності біотканин. При цьому вимірювання «на відбиття», тобто з передньої поверхні біотканини, найбільш універсальні і поширені [111].

В основі роботи значної частини оптичних тканинних оксиметрів лежать принципи спектроскопії дифузного відбиття, коли для доставки світла до тканини і збору світла, що пройшло через область тканини, яка зондується, використовуються оптичні волокна, розташовані на деякій відстані d одна від одної, варіюючи яку, можна змінювати середню довжину шляху фотона в тканини L і глибину зондування Z (рис. 1.19).

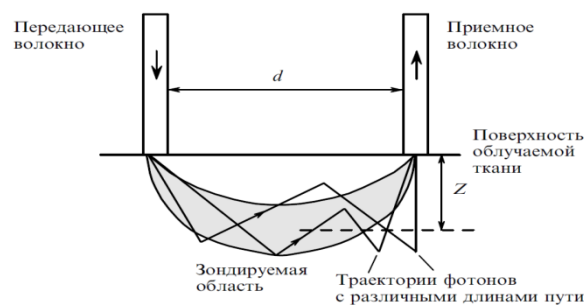


Рисунок 1.19 – Геометрія області, яка зондується для вимірювання спектрів зворотного дифузного відбиття тканин [112].

На рис. 1.20 (а, б) приведені схеми вимірювань найбільш часто використовувані в оптичній оксиметрії.

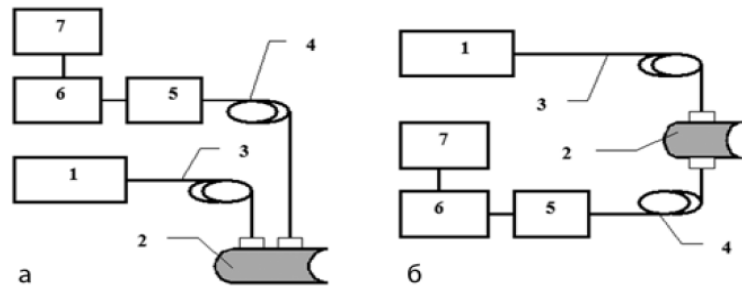


Рисунок 1.20 – Реалізація методів неінвазивної оптичної оксиметрії в відбитому (а) і зворотному (б) світлі [111]

Вимірювань в «відбитому» (зворотному розсіяному або зворотному дифузно відбитому) світлі.

Випромінювання з довжиною хвилі λ потужністю $P_{\text{вип}}(\lambda)$ від джерела випромінювання 1 доставляється за допомогою оптичної системи 2, наприклад за допомогою оптичного волокна, до обстежуваного біологічному об'єкту (БО) 3. Потрапляючи всередину БО, випромінювання зазнає багаторазові розсіювання (перетворення) на кордонах неоднорідностей анатомічної і клітинної структур і частково поглинається складовими речовинами БО: водою, меланіном, гемоглобіном крові і т.д. Частина ослабленого за рахунок поглинання і розсіювання випромінювання, внаслідок багаторазових актів розсіювання, знову входить на поверхню БО, складаючи так званий потік зворотного розсіяного випромінювання. За допомогою системи збору та транспортування випромінювання 4 частина випромінювання від БО потужністю $P_{\text{п}}(\lambda) < P_{\text{вип}}(\lambda)$ доставляється в блок реєстрації діагностичного приладу і в загальному спрощеному випадку направляється на фотоприймач 5 - первинний вимірювальний перетворювач (ПП). Він здійснює перетворення оптичного сигналу $P_{\text{п}}(\lambda)$ в напругу $U(\lambda)$. Тестований біологічний об'єкт, з точки зору структурно-функціональної моделі діагностичного процесу, може бути представлений у цій схемі спектрально-нелінійним оптичним фільтром, який

перетворює падаючу на нього потужність $P_{\text{вип}}(\lambda)$ в потужність вторинного випромінювання $P_{\text{пр}}(\lambda)$. Це математично рівнозначно множенню вихідного оптичного сигналу на деяку безрозмірну функцію кодування $V(\lambda)$, що залежить від оптико-фізичних і медико-біологічних параметрів (МБП) БО, а також від умов освітлення і прийому випромінювання.

Приклад реєстрації динаміки $V(\lambda)$ на різних довжинах хвиль в експерименті представлений на рис. 1.21.

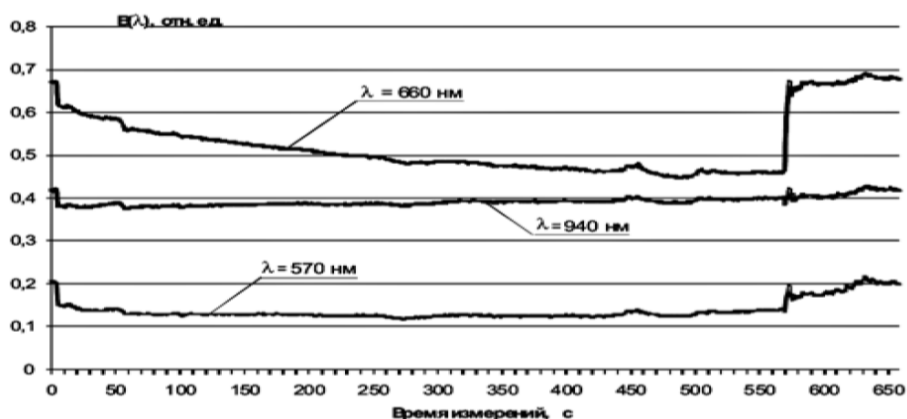


Рисунок 1.21 – Приклад експериментально реєстрованих $V(\lambda)$ оптичним оксиметром «Спектротест» в процесі оклюзійної проби на пальці руки випробуваного: початок оклюзії - 5-я секунда; кінець - 570-я секунда [104]

Таким чином, у схемі вимірювань, представлений на рис. 1.20, безпосередньо вимірюваною приладом первинною фізичною величиною є безрозмірна функція кодування сигналу $V(\lambda)$. Її вимірювання (в від.од.) зазвичай виконується методом порівняння $P_{\text{пр}}(\lambda)$ з аналогічним потоком, який реєструється з «еталоном» світлорозсіючої міри з відомою $V(\lambda)$. Побічно вимірюваної вихідної фізичної величиною може вважатися і потік $P_{\text{пр}}(\lambda)$, якщо в приладі виконуються обчислення, документування і зберігання розмірної величини $P_{\text{пр}}(\lambda)$.

Досить близьким за змістом безрозмірною функцією кодування є коефіцієнт дифузного відбиття R [113]. При поєднанні методів неінвазивної медичної спектрофотометрії, крім перерахованих вище діагностичних

параметрів, можна отримати додаткові розрахункові характеристики і критерії, що оцінюють стан мікроциркуляторного русла. Так, при одночасному використанні методів ЛДФ і ОТО проводиться, наприклад, діагностика регуляції потоку крові і забезпечення тканин киснем, діагностика впливу на мікроциркуляторне русло звичайного теплового ефекту, що виникає при впливі на біологічні тканини низькоінтенсивного лазерного випромінювання [104].

Разом з тим, методи і прилади НМС відносять не до засобів вимірювань медичного призначення, а до методів і приладів так званого індикаторного типу. За характером зміни в часі вимірюваних величин в разі НМС мають справу з динамічними змінами, так як сильна варіабельність більшості показників будь-якого живого біооб'єкту - специфічна і відмінна ознака всіх біомедичних вимірювань [104].

Подальшим вдосконаленням методів НМС може послужити відпрацювання та уніфікація модельних імітаційних середовищ (фантомів биоткани), принципів калібрування технічних засобів для НМС і аналітика ефективного біологічного обсягу [104].

Одним з підходів до підвищення ефективності НМС є використання теоретичних уявлень про величину ряду медико-біологічних показників в нормі, а також про їхню відносну динаміку при проведенні різних навантажувальних тестів і проб.

Апаратна реалізація неінвазивної медичної спектрофотометрії (пульсоксиметр в цьому контексті не розглядається) на сьогоднішній день представлена цілим рядом діагностичних апаратів і комплексів з різноманітними модифікаціями, обумовленими поєднанням окремих методів НМС. Прикладами можуть служити системи серії «БІОСПЕК» [106], лазерний доплерівський флуориметр ЛАКК-01, багатоканальний лазерний діагностичний комплекс ЛАКК-М [105]. Зроблені успішні спроби поєднання діагностичної (відеофлуоресценції) і терапевтичної складової для ФДТ в рамках пристроїв ОФФ-630 / 675-01-БІОСПЕК [106].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

З аналізу літературних джерел, можна зробити висновок, що класична парадигма фотодинамічної терапії [114] розглядає руйнування пухлинних тканин або інших патологічних утворень з використанням фотоактивуваних препаратів - фотосенсибілізаторів. Первинним актом фотодинамічного процесу є утворення високоактивного синглетного кисню, під дією якого запускаються різноманітні цитопатичні процеси, що призводять в остаточному підсумку до загибелі клітин-мішеней шляхом апоптозу / аутофагії (найбільш бажаний варіант) або некрозу.

Незважаючи на фундаментальні дослідження фотофізичних і фотохімічних процесів, що лежать в основі фотодинамічної реакції, які проводились протягом останніх декількох десятиліть, в клінічній практиці як і раніше застосовуються протоколи ФДТ, створювані виключно емпіричним шляхом [115].

При прогнозуванні результатів фотодинамічної терапії виходять з того, що для максимальної ефективності ФДТ необхідне оптимальне поєднання в патологічному вогнищі тріади чинників, що забезпечують ініціацію фотодинамічної реакції: 1) фотосенсибілізатора - початково нетоксичної речовини, здатної поглинати кванти світла певної довжини хвилі і переходити в електронно-збуджений триплетний стан на досить тривалий час, щоб при контакті з молекулярним киснем передавати йому енергію збудження; 2) світлового випромінювання, що володіє такими частотними і енергетичними характеристиками, щоб проникати в тканини на достатню глибину і активувати молекули фотосенсибілізатора; 3) молекулярного кисню в основному (триплетном) стані, здатного контактувати з електронно-збудженими молекулами фотосенсибілізатора і за рахунок передачі від них енергії переходити в високоактивний синглетний стан.

Накопичення фотосенсибілізатора в осередку патології визначається в основному специфікою фармакокінетики препарату, що застосовується, а безпосередня регуляція доступу молекулярного кисню в ході фотодинамічного процесу практично не здійсненна. Отже, можливості варіювати

співвідношенням діючих факторів наведеної вище тріади в ході сеансу ФДТ зводяться до регуляції кількості і якості використовуваного світлового випромінювання [116].

При порівнянні різних розрахункових метрик, що дозволяють оцінити порогову дозу для контролю пухлинного росту в доклінічних дослідженнях, лімітуючим фактором виявилось надходження O_2 в тканини, які накопичили фотосенсибілізатор [117].

У ряді досліджень показано високу інформативність проведення в ході фотодинамічної терапії спектроскопії методом зворотного дифузного відбиття для контролю ступеня оксигенації гемоглобіну [113], [118], [119]. Однак при оптичному моніторингу пухлинної тканини для аналізу дозового ефекту ФДТ виникають суттєві труднощі за рахунок просторової гетерогенності локальних градієнтів O_2 [120]. Крім того, реєстровані зміни виникають під час або відразу після ФДТ, тоді як бажано заздалегідь прогнозувати клітинні реакції і можливий результат лікування [121]. При цьому індивідуальний підбір режиму опромінення вкрай утруднений через багатфакторність умов фотодинамічного процесу, зокрема, впливу мікрооточення пухлини на доставку кисню [122,123]. Тому застосування в якості прогностичного критерію безпосередньої цитотоксичної дії синглетного кисню на пухлинні клітини *in vivo* стає неадекватним [124], і більш інформативною в плані терапевтичної ефективності буде реакція мікросудин пухлинної тканини [125].

Таким чином, для оптимізації фотодинамічної терапії необхідно використовувати алгоритм управління опромінюючим пристроєм, розроблений на основі математичних моделей з урахуванням тих факторів, які стають лімітуючими в реальних живих системах.

Пропонується вироблення критерію оптимальності відгуку на фотодинамічний вплив на основі моделювання індукованої тест-опроміненням реакції мікроциркуляторного русла як гомеостатичної системи, що підтримує необхідний рівень оксигенації тканин.

Основні наукові результати розділу опубліковані у працях [1], [2], [5], [8], [9], [15], [19], [24].

РОЗДІЛ 2

РОЗРОБКА МАТЕМАТИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ОБ'ЄКТУ УПРАВЛІННЯ ТА МОДЕЛЮВАННЯ

2.1 Стохастичність перфузії та регуляція постачання кисню

Іррегуляторний характер кровотоку крізь систему мікроциркуляції описаний для усіх тканин та органів [126]. Оцінка іррегулярності мікроциркуляції методом лазерної доплерівської спектроскопії показала, що низький рівень флуктуацій кровотоку є ознакою патології, зокрема, низький рівень споживання кисню [127]. Математичне моделювання іррегулярності кровотоку як стохастичного процесу дає можливість пояснити регуляцію постачання кисню. Для підтвердження цієї гіпотези спочатку наведемо два добре відомих факти:

- а) в будь-якому органі в стані спокою перфузія здійснюється лише через частину судин [128];
- б) близько сотні регуляторних агентів впливають на вазомоторну функцію, змінюючи кровоток від максимуму до повної зупинки.

Отже, ми можемо вважати, що відкритий або закритий стан викликається випадковим чином (результат всіх впливів на даний момент). Якщо дотримуватися стохастичного підходу, доцільно починати моделювання з припущення про те, що стан мікросудин залежить від поточних, але не від попередніх впливів (тобто, ми приймаємо марковські властивості для опису системи мікроциркуляції).

2.2 Стохастичний опис мікроциркуляції

Почнемо з простої стохастичної моделі: нехай T – час, впродовж якого еритроциту необхідно знаходитись в русі, щоб пройти через орган, і T постійна величина для даного органу. Загальний час, необхідний еритроциту для проходження органу, позначимо t , тоді різниця $t-T$ позначає час, витрачений на зупинку кровотоку. Щоб знайти t , припустимо, що ймовірність зупинки

кровоток не залежить від тривалості безперервного кровотоку. Таке припущення призводить до пуассонівського розподілу числа переривань кровотоку [129], і за час T відбуватиметься n переривань кровотоку з ймовірністю p_n , причому

$$p_n = \exp(-\beta T) \frac{(\beta T)^n}{n!} \quad (2.1)$$

де β – міра інтенсивності переривань, що дорівнює їх середньому числу за 1 с.

Припустимо також, що вірогідність відновлення кровотоку не залежить від тривалості його переривання. Тоді час τ відновлення кровотоку після переривання підпорядковується експонентному розподілу [129]:

$$f_{\mu,1} = \mu \cdot \exp(-\mu\tau) \quad (2.2)$$

де μ – міра інтенсивності відновлення кровотоку, а $1/\mu$ – середній час для відновлення кровотоку.

Якщо $t - T$ – час, витрачений на зупинку кровотоку, то сума n незалежних випадкових змінних з розподілом, представленим виразом (2.2), має розподіл:

$$f_{\mu,1}^{n*}(t - T) = \frac{\mu^n (t - T)^{n-1}}{(n-1)!} \cdot \exp(-\mu(t - T)) \quad (2.3)$$

Використовуючи (2.1) і (2.3), отримуємо розподіл для часу проходження через орган, $P(t)$:

$$\begin{aligned} P(t) &= \sum_{n=0}^{\infty} p_n \cdot f_{\mu,1}^{n*}(t - T) \\ &= e^{-\beta T} + \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(\beta T)^n}{n!} e^{-\beta T} \frac{\mu^n}{(n-1)!} (t - T)^{n-1} e^{-\mu(t-T)} \quad (2.4) \end{aligned}$$

Вважаємо також, що потік кисню в тканину через будь-яку мікросудину описується рівнянням першого порядку :

$$dO_2 / dt = -\lambda O_2 \quad (2.5)$$

де λ означає інтенсивність споживання кисню.

Отже, якщо кров проходить по даному шляху за час t , вміст у ній кисню падає від 1 до $\exp(-\lambda t)$.

Оскільки величина часу проходження через орган має розподіл (2.4), то частина кисню, що проходить через орган, виражається інтегралом від $\exp(-\lambda t)$ відносно $P(t)$:

$$p(\lambda) = \int_0^\infty \exp(-\lambda t) P(t) dt \quad (2.6)$$

Видно, що (2.6) являє собою перетворення Лапласа розподілу $P(t)$, яке для $P(t)$, описаного виразом (2.4) буде мати вигляд [129]:

$$p(\lambda) = \exp\left(-\lambda T \left(\frac{\mu + \beta + \lambda}{\mu + \lambda}\right)\right) \quad (2.7)$$

Для оцінки частки спожитого кисню запишемо вираз:

$$1 - p(\lambda) = 1 - \exp\left(-\lambda T \left(\frac{\mu + \beta + \lambda}{\mu + \lambda}\right)\right) \approx \lambda T \left(\frac{\mu + \beta + \lambda}{\mu + \lambda}\right) \quad (2.8)$$

Рівняння (2.4) і виведене з нього рівняння (2.8) отримуємо за умови, що капілярна мережа являє собою систему паралельних шляхів (час T – постійна величина). Але це спрощення, оскільки, крім переривання – відновлення, ми маємо ще два джерела гетерогенності кровотоку: (а) звивистість мікросудин і (б) зміни кровотоку з часом в будь-якому капілярі, викликані різними причинами (локальні в'язкість, судинний тонус, тиск тощо). Внаслідок цих гетерогенностей, час T для проходження русла, коли не відбувається переривань кровотоку, стає змінною величиною. Якщо T має розподіл $\{B(T)\}$,

то рандомізація (2.7) з урахуванням $\{B(T)\}$ перетворює (2.8) в рівняння, де T – середнє значення часу, який необхідний для проходження органу без переривань, $T_{сер}$ [130], а для оцінки частки спожитого кисню запишемо:

$$1 - \int p(\lambda, T) B(T) dT \approx \lambda T_{сер} \left(\frac{\mu + \beta + \lambda}{\mu + \lambda} \right) \quad (2.9)$$

Таким чином, гетерогенність кровотоку не виключає впливу параметрів переривання – відновлення на споживання кисню.

З (2.8) видно, що обидві стохастичні величини, β і μ , входять у вираз, що описує споживання кисню. Для оцінки їх впливу на результат слід знати діапазон варіації для всіх змінних (2.8). Відзначимо, що всі наведені параметри (λ , β і μ) мають розмірність $[c^{-1}]$.

Оцінимо інтенсивність споживання кисню (λ) вважаючи, що в 100 мл артеріальної крові міститься приблизно 18 мл O_2 , з яких протягом однієї секунди в організмі споживається в середньому 3 мл [131]. Отже, $\lambda T \approx 3/18$, а при $T = \{2...7\}c$ [132] $\lambda \approx \{0,02...0,08\}$, тим часом як інтенсивність нерегулярностей вазомоторної активності лежить в діапазоні $\{0...2\}c^{-1}$ [133].

Представлені стохастичні характеристики мікроциркуляції визначають також частку відкритих мікросудин (n_6). У стаціонарному стані частка мікросудин з перерваним кровотоком співвідноситься з часткою судин із відновленим кровотоком наступним чином:

$$n_6 \beta \Delta t = (1 - n_6) \mu \Delta t \quad (2.10)$$

Отже, очікувана частка відкритих мікросудин становить:

$$n_6 = \frac{\mu}{\mu + \beta} \quad (2.11)$$

Підставляючи в (2.8) наявні в літературі оцінки n_e в межах 0,05–0,1 [131], можна впевнитися, що варіювання μ і β від малих до найбільших значень призводить до зміни споживання кисню майже на порядок (від λT до $\approx 8\lambda T$).

Дана модель заснована на двох припущеннях:

- а) переривання і відновлення кровотоку – марковський процес;
- б) ймовірність більш ніж одного переривання/відновлення за короткий проміжок часу дуже мала.

Основний результат (2.9) – демонстрація можливості приблизно 8-разової зміни забезпечення потреби в кисні лише за рахунок регуляції інтенсивності вазомотії. Крім того, збільшення частки відкритих мікросудин, що описується (2.11), відбувається за рахунок двох незалежних випадкових процесів: n_e може зростати, якщо інтенсивність переривань кровотоку (β) падає, а також n_e може підвищуватися за рахунок підвищення інтенсивності відновлення кровотоку (μ), тобто рекрутування мікросудин стає комплексним процесом. При цьому, *чим менше кровоток через орган, тим більш ефективною може бути вазомоторна регуляція.*

2.3 Моделювання адаптивної відповіді системи оксигенації тканини при стресорному впливі, що супроводжується зміною споживання кисню

При моделюванні використана методологія синтезу оптимальних систем [134]. Зміни сатурації крові в судинах мікроциркуляторного русла внаслідок фотодинамічного впливу можна представити у вигляді безперервного в часі процесу з кінцевим числом можливих станів, тобто марковського випадкового процесу [135]. Формалізуючи задачу оптимізації для математичного опису біологічної системи управління, що підтримує сатурацію за рахунок регуляції мікроциркуляторного кровотоку, ці стани будемо класифікувати з використанням трьох градацій, котрі характеризують функціональні ресурси системи оксигенації тканини:

1) стаціонарний стан, при якому баланс між сатурацією крові та інтенсивністю споживання молекулярного кисню підтримується на певному вихідному рівні;

2) активований стан, при якому вазомоторна активність дозволяє забезпечити підвищене споживання кисню не лише в даний момент, але й при його подальшому зростанні;

3) стан декомпенсації, при якому відбувається зсув балансу в бік падіння рівня сатурації крові в судинах мікроциркуляторного русла.

Перехід з одного стану в інший визначається численними ендогенними і екзогенними факторами, носить ймовірнісний характер і здійснюється у відповідності з наведеною нижче схемою (рис. 2.1).

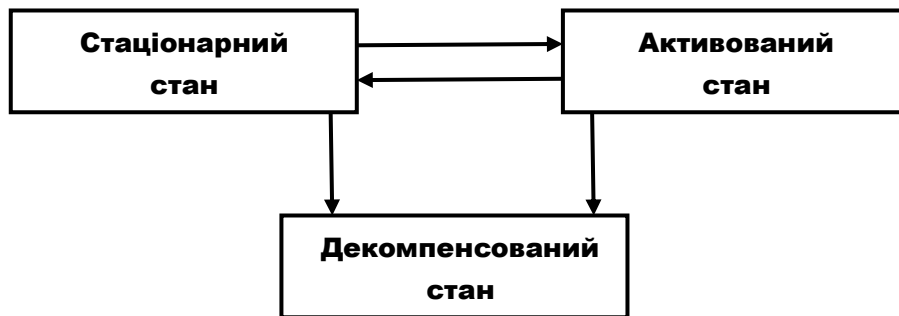


Рисунок 2.1 – Схема переходу системи оксигенації тканини поміж трьома станами, що відрізняються балансом між сатурацією крові і споживанням кисню

Розглядаючи судини мікроциркуляторного русла як об'єкт управління в гомеостатичній системі забезпечення оксигенації тканини, прийmemo, що спочатку всі ланки системи знаходяться в стаціонарному стані, а переходи з одного пулу в інший починаються тільки після фотодинамічного впливу.

Для інформаційних потоків в досліджуваній гомеостатичній системі введемо такі позначення:

$I(t)$ – інтенсивність стресорного впливу на систему регуляції вазомотії;

$S(t)$ – число мікросудин в стаціонарному стані на даний момент;

$A(t)$ – число мікросудин в стані активації;

$F(t)$ – число мікросудин в стані декомпенсації.

Зобразимо обмін між пулами у вигляді відповідних потоків певної інтенсивності, яка характеризується ймовірністю:

α – перехід зі стаціонарного стану в активований;

φ – незворотний вихід зі стаціонарного стану внаслідок капіляростазу;

κ – повернення до стаціонарного стану після активації;

ε – виснаження функціональних ресурсів вазомотії після її активації.

З урахуванням цього складемо блок-схему біологічної системи управління, що підтримує рівень сатурації за рахунок вазомоторної регуляції (рис. 2.2).

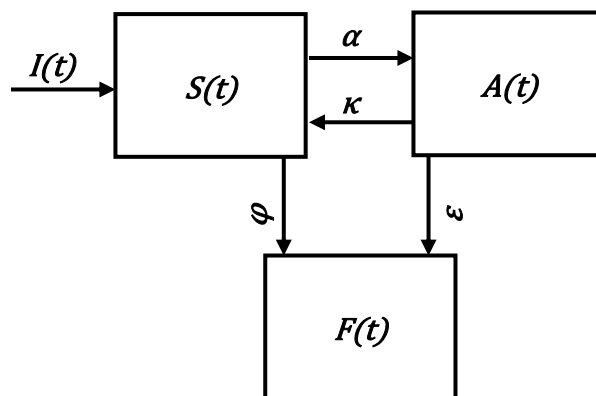


Рисунок 2.2 – Динаміка потоків переходу між трьома пулами мікрокапілярів, що характеризуються різним станом вазомоторної регуляції

Аналіз наведеної схеми дає підстави припустити реакцію вазомоторної регуляції на збуджуючий вплив як перехідну характеристику системи управління другого порядку [136]. Обмеження для області, в якій можуть перебувати шукані змінні, задамо на основі нижче викладених положень:

1) ймовірність зміни статусу системи вазомоторної регуляції мікрокапілярів перебуває в складній функціональній залежності від інтенсивності збуджуючого впливу, а також залежить від внутрішньосистемних

чинників, що визначають повернення до вихідного стану, активацію компенсаторних реакцій або декомпенсацію;

2) поповнення пулу активованих мікрокапілярів відбувається також в залежності від інтенсивності стресового впливу і тих самих внутрішньосистемних чинників;

3) ймовірність функціонального виснаження системи мікрокапілярів обумовлена інтенсивністю стресового впливу, з одного боку, і ресурсами їх вазомоторної регуляції, з іншого боку.

Для математичного опису динаміки системи вазомоторної регуляції мікрокапілярів використаємо систему диференціальних рівнянь:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = -(\alpha + \varphi)IS + \kappa A, \\ \frac{dA}{dt} = -\kappa A + \alpha IS - \varepsilon A, \\ \frac{dF}{dt} = \varphi IS + \varepsilon A, \end{cases} \quad (2.12)$$

при початкових умовах $S(t=0) = 1$; $A(t=0) = 0$; $F(t=0) = 0$.

Рішення системи (3.1) зручно звести до одного інтегро-диференційного рівняння:

$$\frac{dS}{dt} = -\zeta IS + \kappa \int_0^{t'} \alpha I(t') S(t') \exp\left(-\int_t^{t'} \eta(t'') dt''\right) dt' \quad (2.13)$$

де

$$\zeta = \alpha + \varphi; \quad \eta = \kappa + \varepsilon \quad (2.14)$$

У випадку короткочасного опромінення вплив можна розглядати як імпульсний і скористатися дельта-функцією Дірака:

$$\dot{I} = I\delta(t) \quad (2.15)$$

де I відповідає щільності енергії опромінення.

Тоді вираз (3.2) приймає вигляд:

$$\frac{dS}{dt} = -\zeta I S \delta(t) + \kappa \alpha I \cdot \exp\left(-\int_0^t \eta(t') dt'\right) \quad (2.16)$$

Інтегруючи обидві частини рівняння (3.4), отримуємо:

$$S = 1 - \zeta I + \kappa \alpha I \int_0^t \exp\left(-\int_0^t \eta(t') dt'\right) dt \quad (2.17)$$

Якщо η вважати слабкою функцією часу, вираз (3.5) спрощується:

$$S \approx 1 - \zeta I + \frac{\kappa}{\eta} \cdot \alpha I (1 - \exp(-\eta t)) \quad (2.18)$$

У граничному випадку, коли $t \rightarrow \infty$,

$$S \rightarrow 1 - I \left(\zeta - \alpha \cdot \frac{\kappa}{\eta} \right) = 1 - I \left(\varphi + \alpha \cdot \frac{\varepsilon}{\kappa} + \varepsilon \right) \quad (2.19)$$

отримуємо ймовірність відновлення вазомоторної регуляції у максимально можливого числа мікрокапілярів для даних умов.

За припущення, що коефіцієнти рівняння (3.3) слабо залежать від часу, його можна вирішувати, використовуючи метод перетворення Лапласа [137]:

$$L\left(\frac{dS}{dt}\right) = \int_0^\infty S(t) \exp(-pt) dt = \left(p + \zeta I - \alpha \cdot \frac{\kappa I}{p + \eta} \right)^{-1} \quad (2.20)$$

Після зворотного перетворення отримуємо співвідношення:

$$S(t) = \frac{p_1 + \eta}{\Re'(p_1)} \exp(-p_1 t) + \frac{p_2 + \eta}{\Re'(p_2)} \exp(-p_2 t) \quad , \quad (2.21)$$

де $\Re(p) = (p + \zeta I) \cdot (p + \eta) - \alpha \kappa I = p^2 + p(\zeta I + \eta) + (\zeta \eta - \alpha \kappa) \cdot I$;

$\Re' = d\Re/dp$;

p_1, p_2 – корені рівняння $\Re(p) = 0$, які знаходимо за формулою розкладання квадратного тричлена:

$$p_{1,2} = -\frac{1}{2} \left((\zeta I + \eta) \pm \sqrt{(\zeta I + \eta)^2 - 4(\xi\eta - \alpha\kappa)I} \right) \quad (2.22)$$

Характер поведінки досліджуваної гомеостатичної системи буде залежати від знаку дискримінанту в рівнянні (3.10):

$$D = (\zeta I + \eta)^2 - 4(\xi\eta - \alpha\kappa)I. \quad (2.23)$$

Якщо D прийматиме негативне значення, корені рівняння стануть комплексними, отже реакція системи буде осцилюючою.

Для дійсних рішень визначимо межі діапазону, в якому зберігається передбачувана нами залежність між інтенсивністю стресового (в даному випадку – фотодинамічного) впливу і ймовірністю переходу системи вазомоторної регуляції мікроциркуляції з одного стану в інший. Медіанному значенню буде відповідати $D = 0$, що зручно представити у вигляді рівності:

$$(\zeta I + \eta)^2 = 4(\xi\eta - \alpha\kappa)I \equiv 4(\xi\varepsilon + \kappa\varphi)I \quad (2.24)$$

Граничні умови для виконання рівності (3.12) знайдемо, виходячи з того, що при $I \rightarrow \min$ $(\zeta I + \eta)^2 \rightarrow \eta^2$, а при $I \rightarrow \max$ $(\zeta I + \eta)^2 \rightarrow \zeta^2 I^2$.

У підсумку отримуємо співвідношення:

$$\frac{\eta^2}{4(\xi\varepsilon + \kappa\varphi)} < I < \frac{4(\xi\varepsilon + \kappa\varphi)}{\zeta^2} \quad (2.25)$$

що явним чином встановлює межі діапазону інтенсивності фотодинамічного впливу, в якому розглянута гомеостатична система буде адекватно, дозозалежно реагувати на опромінення.

Відзначимо, що параметром опромінення, для якого встановлені межі адаптивної відповіді системи вазомоторної регуляції мікроциркуляції, є не

інтенсивність впливу (в нашому випадку – щільність енергії), а її перша похідна за часом, тобто щільність потужності.

Практично важливим наслідком цього можуть бути, наприклад, такі ефекти, як дискордантність вазомоторних реакцій в різних частинах опромінюваної тканини при підпороговому значенні щільності потужності, і як наслідок – збільшення просторової гетерогенності зон підвищеної і зниженої оксигенації при незмінному показнику сатурації для всієї опромінюваної ділянки. У той же час опромінення з більш високою щільністю потужності буде супроводжуватися активацією вазомоторних реакцій і відносно рівномірним підвищенням оксигенації. Проте після досягнення верхнього порогового (для адаптивної відповіді системи вазомоторної регуляції мікроциркуляції) значення щільності потужності почнеться локальна гіпоксія, що не компенсуватиметься за рахунок посилення перфузії.

2.4 Моделювання реакції системи оксигенації тканини на тест-опромінення з різною щільністю потужності

2.4.1 Еритроцит як датчик рівню сатурації тканини киснем

Раніше вважалося, що еритроцити виконують виключно функцію доставки кисню і деяких нутрієнтів до тканин. В останнє десятиліття з'явилися численні експериментальні та клінічні спостереження, що представляють еритроцити як важливу систему міжорганної комунікації, яка також виконує функції регуляції метаболізму вазоактивного оксиду азоту, прооксидантно-антиоксидантного балансу, реології і в'язкості крові [138]. Показана здатність еритроцитів виділяти оксид азоту, посилюючи таким чином кровоток в тканинах при гіпоксії [139]. Тобто, еритроцити служать не лише транспортним засобом, що переносить велику кількість кисню, а й безпосередніми ефекторами місцевого кровотоку, що забезпечують відповідність між локальною потребою в кисні і його постачанням. Проходячи через мікроциркуляторне русло, еритроцити можуть сприймати інформацію про вміст кисню в тканині за ступенем своєї деоксигенації і продукувати

судинорозширювальні речовини в кількості, що залежить від ступеню деоксигенації гемоглобіну [140]. Передбачається, що вони сприймають падіння парціального тиску кисню в мікроциркуляторному руслі внаслідок зниження сатурації O_2 (збільшення фракції дезоксигемоглобіну), виділяючи відповідно до цього такі вазоактивні речовини, як аденозинтрифосфат і оксид азоту (рисунок 2.3) [141].

Дослідження вазомоторної активності та сатурації гемоглобіну в мікроциркуляторних судинах шкіри показали, що за короткими сплесками вазомотії слідує період пасивності, впродовж яких відбувається екстракція кисню. Тригером зростання перфузії служить падіння сатурації тканини киснем, що підтверджує гіпотезу про сенсорну функцію еритроцитів щодо локальної гіпоксії, здійснювану завдяки падінню оксигенації гемоглобіну [142].

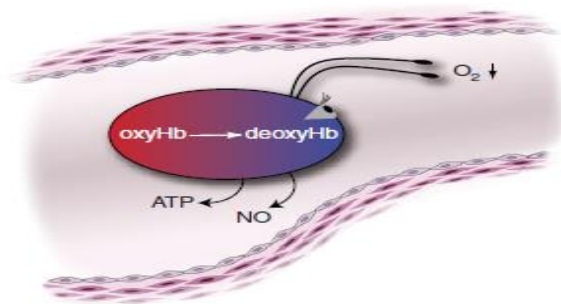


Рисунок 2.3 – Схема, що ілюструє сенсорну функцію еритроцита, реалізовану через деоксигенацію гемоглобіну ($oxyHb \rightarrow deoxyHb$) і пов'язану з виділенням аденозинтрифосфату (ATP) та оксиду азоту (NO) для посилення локального кровотоку

2.4.2 Біофізична модель

При моделюванні реакції на фотодинамічний вплив гомеостатичної системи, що підтримує локальний рівень оксигенації тканини за рахунок зміни частки відкритих судин мікроциркуляторного русла, n_v , ми підемо на значні спрощення, звівши весь комплекс регуляторних впливів до сумарного вазоконстрикторного $v_k(t)$ і сумарного вазодилатуючого $v_d(t)$ ефектів. Таким чином, ми будемо розглядати нелінійну систему з двома входами (рисунок 2.4

а), для лінеаризації якої (рисунок 2.4 б) вазоконстрикторний ефект будемо вважати незмінним впродовж нашого спостереження, а вазодилатуючий – залежним лише від керуючого сигналу описаного вище (рисунок 2.3) еритроцитарного датчика [143].

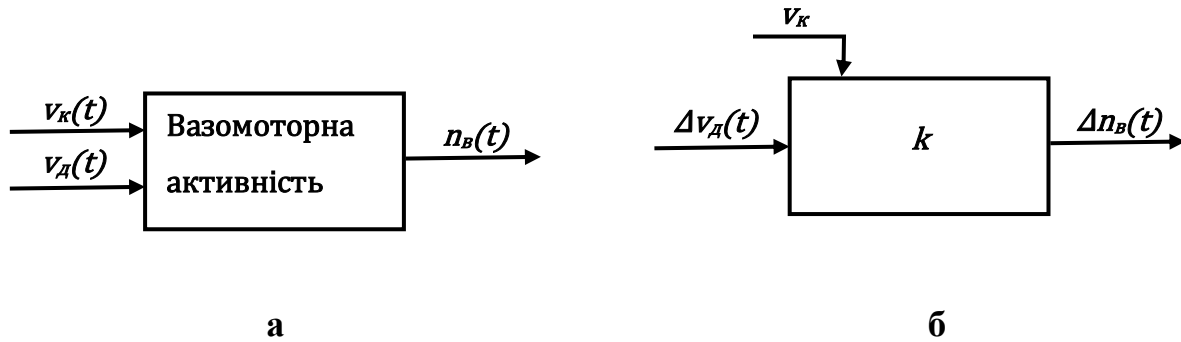


Рисунок. 2.4 – Блок-схема гомеостатичної системи, що підтримує рівень оксигенації тканини шляхом зміни вазомоторної активності в системі мікроциркуляції: $v_k(t)$ і $v_d(t)$ – вазоконстрикторні й вазодилататорні впливи, відповідно; $n_b(t)$ – частка відкритих мікрокапілярів

2.4.3 Математичний опис біофізичної моделі

Оскільки еритроцитарний сенсор має адаптивні властивості і генерує на виході лише вазодилатуючий сигнал, його можна розглядати як пропорційний (за чутливістю до амплітуди стимулу) і односторонній (за чутливістю до частоти) датчик похідної, передавальна функція якого добре описується наступною математичною моделлю [144]:

$$H(s) = \frac{y}{x}(s) = k_1 + \Omega \frac{k_2 s}{T_2 s + 1} \quad (2.26)$$

де s – оператор Лапласа; x – вхідний сигнал (стимул); y – вихідний сигнал (відповідь на стимул),

$$y = x f_1(y, \dot{y}, \ddot{y}, \dots, x, \dot{x}, \ddot{x}, \dots) + \Omega \dot{x} f_2(y, \dot{y}, \ddot{y}, \dots, x, \dot{x}, \ddot{x}, \dots) \quad (2.27)$$

а Ω – оператор, який визначається властивостями

$$\begin{cases} \Omega = 1, \text{ коли } \frac{dx}{dt} \geq 0 \\ \Omega = 0, \text{ коли } \frac{dx}{dt} < 0 \end{cases} \quad (2.28)$$

Як показали дослідження Клайнза [145], при подачі на вхід такого датчика серії імпульсів, отримуємо постійно зростаючий зсув вихідного сигналу, аж до певного значення насичення, яке досягається тим швидше, чим більше частота збуджуючого впливу.

Моделюючи поведінку гомеостатичної системи, яка підтримує рівень насичення тканини киснем, будемо вважати, що вихідний сигнал всієї системи ми реєструємо постійно і з необхідною чутливістю методом оптичної оксиметрії. Цей вихідний сигнал характеризує рівень насичення тканини киснем (сатурації) фактично в прямо пропорційній залежності від вмісту кисню в гемоглобіні еритроцитів, які в даний момент знаходяться в сканованому обсязі. Тобто величина вихідного сигналу визначається двома параметрами:

- 1) сатурацією гемоглобіну еритроцитів;
- 2) швидкістю проходження еритроцитів через даний об'єм тканини.

При стаціонарному стані (баланс між споживанням і постачанням кисню до тканин) і звичайному рівні споживання кисню за час проходження еритроцитів через даний обсяг тканини сатурація їх гемоглобіну знижується на 5-25%. При підвищеному функціональному навантаженні цей показник сягає 75%, а в критичних випадках – аж до 96% (при цьому ймовірність відновлення життєздатності тканини різко знижується).

Зворотній зв'язок в модельованій нами системі здійснюється через еритроцитарний датчик, на вхід якого надходить сигнал у вигляді падіння сатурації гемоглобіну, а на виході він формує сигнал у вигляді викиду медіаторів, що викликають посилення кровотоку, тобто швидкості

надходження в даний обсяг еритроцитів, які мають максимальний для даних умов первинний рівень насичення гемоглобіну киснем.

З огляду на це, внесемо поправки в модель Клайнза відповідно до властивостей нашого датчика:

$$H(s) = \frac{y}{x}(s) = k + \Phi \frac{k_{Er}s}{T_{Er}s + 1} \quad (2.29)$$

де k_{Er} і T_{Er} – параметри, що характеризують його реакцію на зміну рівня оксигенації гемоглобіну, а Φ – оператор з властивостями

$$\begin{cases} \Phi = 1, & \text{коли } \frac{dx}{dt} \leq 0 \\ \Phi = 0, & \text{коли } \frac{dx}{dt} > 0 \end{cases}. \quad (2.30)$$

2.5 Комп'ютерне моделювання реакції на тест-опромінення

2.5.1 Блок-схема комп'ютерної моделі

Моделювання проведено з використанням пакету SIMULINK програмного середовища MATLAB. На рис. 2.5 показані варіанти реалізації генератора прямокутних імпульсів, які були застосовані для моделювання досліджуваної біологічної адаптивної системи. Така компоновка дозволяє задавати імпульси постійної частоти, задавати амплітуду, прогальність і постійну складову сигналу. При необхідності, можна додатково задавати імпульси з лінійно змінною частотою.

На рис. 2.6 приведені результати моделювання роботи цих генераторів. Перший графік – сигнал першого генератора: амплітуда 0,75-1,0, частота 0,1 Гц. Другий графік – той самий сигнал, який одержується за допомогою другого варіанту реалізації. Третій графік – моделювання східчастих імпульсів змінної частоти.

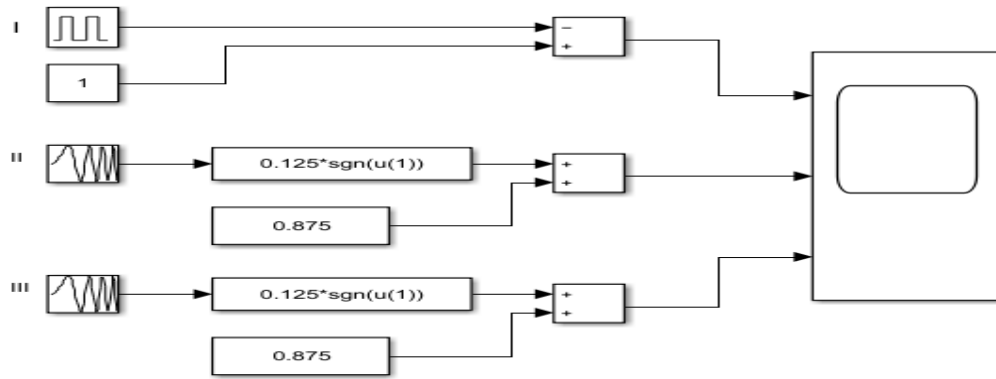


Рисунок 2.5 – Блок-схема різних варіантів реалізації генератору прямокутних імпульсів

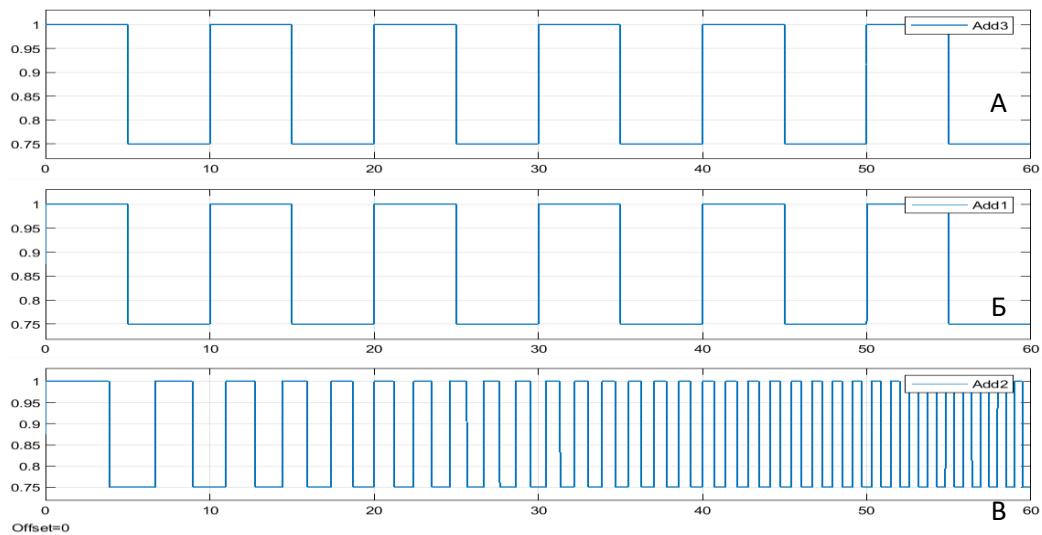


Рисунок 2.6 – Результати моделювання роботи генераторів прямокутних імпульсів, які працюють за вищенаведеною схемою (Рисунок - 2.9): А – сигнал першого генератору (амплітуда 0,75-1,0, частота 0,1 Гц); Б – той самий сигнал, отриманий за допомогою другого варіанту реалізації; В – моделювання східчастих імпульсів змінної частоти

Блок-схеми декількох варіантів моделі, реалізованих на базі однієї та двох аперіодичних ланок, показані на рис. 2.7 і 2.8 відповідно.

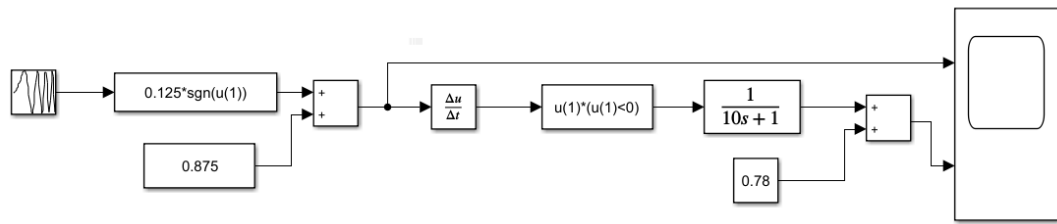


Рисунок 2.7 – Блок-схема реалізації моделі, що містить одну аперіодичну ланку

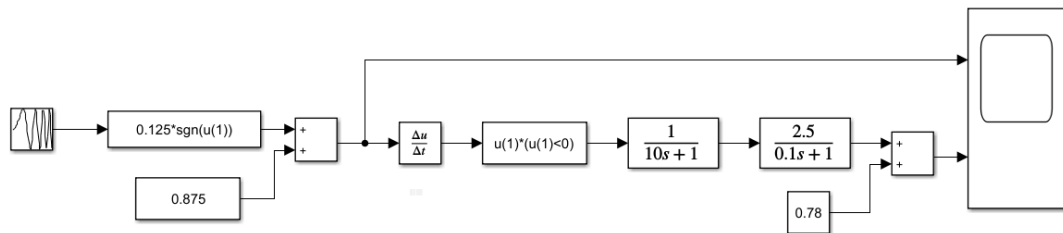


Рисунок 2.8 – Блок-схема реалізації моделі, що містить дві аперіодичні ланки

Крім одного з варіантів генераторів імпульсів, однієї або двох аперіодичних ланок, блок-схеми містять також блок диференціювання, на виході якого з'являються імпульси, які відповідні до переднього і заднього фронтів прямокутних імпульсів, а також фільтр, що дозволяє пропускати лише один тип імпульсів, відповідний або передньому, або задньому фронту.

2.5.2 Моделювання поведінки адаптивної системи зі зворотним зв'язком через еритроцитарний датчик в залежності від частоти збуджуючого впливу

Завдання проведеного моделювання – встановити, які характеристики лазерного випромінювання (амплітуда імпульсу, скважність, частота імпульсів і т.п.) найбільш істотно впливають на стійкість біологічної системи управління, щоб при застосуванні тест-опромінення можна було виявляти межі її адаптивної відповіді.

Оскільки в клінічних умовах необхідні для опису стану системи параметри в явному вигляді ми ні задати, ні виміряти не можемо, застосуємо

ітераційний підхід, розглядаючи як прототип аналогове моделювання Клайнза [145] і використовуючи програмні засоби SIMULINK. Хоча принцип функціонування модельованої біологічної системи схожий, нам необхідно використовувати інші тимчасові характеристики і враховувати значно більше діючих факторів (які для простоти ми будемо розглядати як інтегральний константний вхід). Далі потрібно буде вносити в модель доповнення з урахуванням того, що в якості стресора, що виводить гомеостатичну систему з рівноваги, використовується лазерний імпульс. Для цього буде потрібна ще одна передавальна функція з лінією затримки (аперіодична ланка), тому що безпосередній сигнал на наш «односторонній датчик похідної» пов'язаний з процесом дифузії кисню в рідкому середовищі, що характеризується постійною часу порядку секунд - десятків секунд.

Спочатку проведемо моделювання реакції описаної вище гомеостатичної системи, що підтримує рівень оксигенації тканини, на поодинокий імпульсний вплив (рис. 2.9)

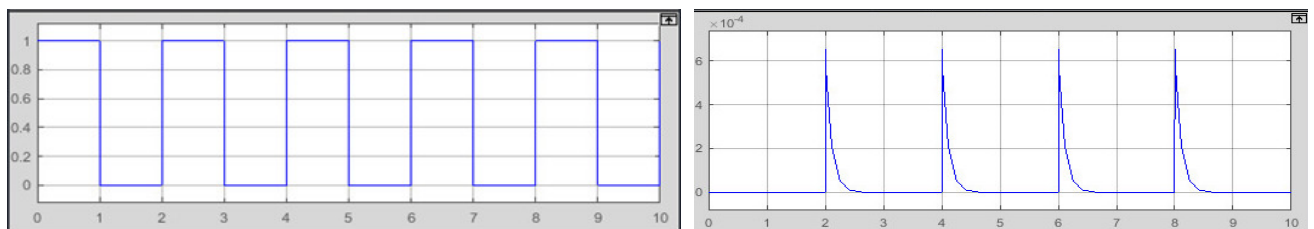


Рисунок 2.9 – Реакція на поодинокий імпульсний вплив гомеостатичної системи, що підтримує рівень оксигенації тканини

Якщо вхідний сигнал являє собою послідовність імпульсів однакової амплітуди, але з поступово зростаючою частотою, система з функцією передачі, яка описана рівняннями (3.4) і (3.5), реагує на нього низхідною послідовністю пилкоподібних імпульсів. Особливий інтерес представляє початкова ділянка кривої, на якій відбувається видима сумація ефектів імпульсів близької частоти, що супроводжується експоненціальною зміною рівня вихідного сигналу (рис. 2.10).

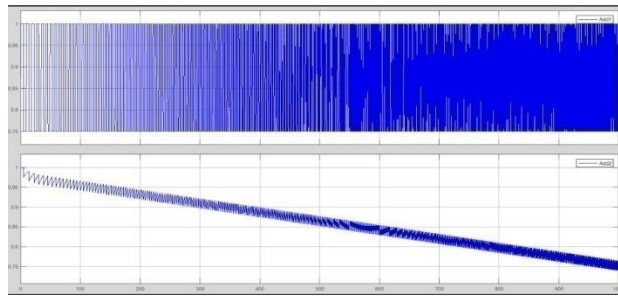


Рисунок 2.10 – Зміна рівня вихідного сигналу досліджуваної гомеостатичної системи при збільшенні частоти імпульсного впливу

Виходячи з того, що при середньому рівні фізіологічного навантаження в тканині сатурація гемоглобіну киснем знижується від 75-78% до 50-52% за час проходження еритроциту по мікроциркуляторному руслу [146], амплітуду вхідного сигналу приймемо за 0,25. З огляду на те, що процес зниження сатурації гемоглобіну приблизно на порядок швидше, ніж реакція зміни швидкості кровотоку, співвідношення частот вхідного і вихідного сигналів приймемо рівним 10:1.

Вихідний сигнал в цьому випадку, подібно моделі Клайнза [145], але з протилежним знаком, описується поступово спадаючою пилкоподібною кривою, що досягає мінімального значення заданого діапазону (рис. 2.11).

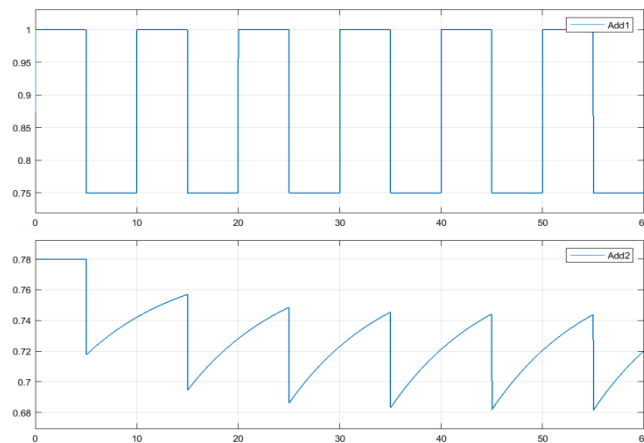


Рисунок 2.11 – Зміна вихідного сигналу еритроцитарного датчика (початковий рівень сатурації гемоглобіну киснем 78%) при подачі на вхід імпульсів з частотою 0,1 Гц

Оскільки нас цікавить поведінка досліджуваної системи при стресорному впливі, що реалізується за допомогою лазерного опромінення, введемо в нашу модель ще одну аперіодичну ланку, яка відображає запізнення процесу віддачі кисню гемоглобіном по відношенню до лазерного імпульсу, який ініціює фотодинамічну реакцію:

$$T_1 \cdot \frac{d^2 x_{\text{esox}}}{dt^2} + T_2 \cdot \frac{d x_{\text{esox}}}{dt} + x_{\text{esox}} = k \cdot x_{\text{ex}} \quad (2.31)$$

Тоді реакція досліджуваної нами системи на серію імпульсів так само приймає вид низхідної пилоподібної кривої, але з більш пологими зубцями (рис. 2.12), причому величина зсуву буде залежати від частоти збуджуючого впливу (рис. 2.13).

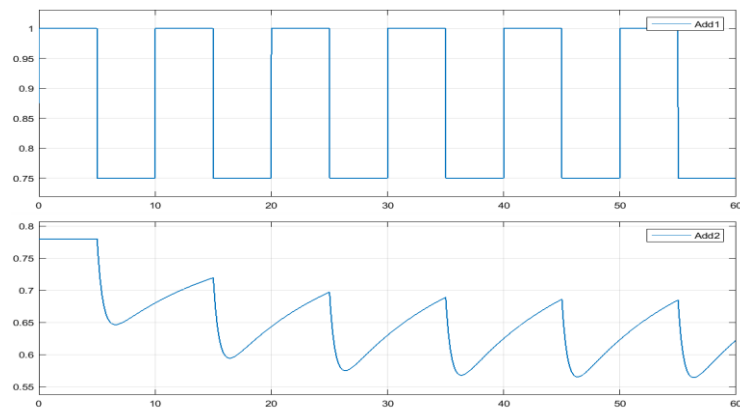


Рисунок 2.12 – Реакція на серію імпульсів системи з двома аперіодичними ланками

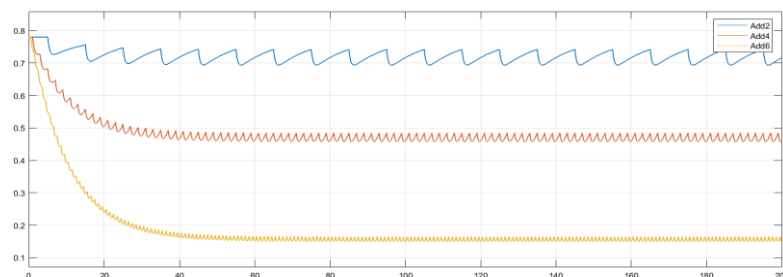


Рисунок 2.13 – Залежність величини зміщення вихідного сигналу від частоти збуджуючого впливу (початковий рівень відповідає 78% сатурації гемоглобіну)

Отже, в залежності від початкових умов (локальний рівень оксигенації і фізіологічні потреби тканини, функціональна напруженість регуляторних механізмів і т.п.) досягнення мінімального значення сатурації, при якому система ще не переходить у декомпенсований стан, буде відбуватися при різній частоті збуджуючого впливу. Якщо використовувати тест-опромінення з потужністю імпульсу, достатньою для того, щоб викликати після поодинокого стимулу реєстроване збільшення частки перфузованих капілярів мікроциркуляторного русла, можна оцінити межі діапазону адаптивної відповіді (§2), варіюючи частот імпульсів.

Очевидно, що початкова частота (f_{min}) має бути меншою, ніж $1/T_2$, тобто порядку $0,1 \text{ с}^{-1}$. Кінцеву частоту (f_{max}) знайдемо за ділянкою, на якій крива вихідного сигналу буде досягати мінімального рівня. Отже, розрахунковий діапазон допустимої щільності потужності буде знаходитись у межах, які визначаються:

$$P_i \cdot \tau_i (f_{min} \div f_{max}), \quad (2.32)$$

Де P_i і τ_i – потужність і тривалість тест-імпульсу, відповідно.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

- 1 З використанням запропонованої математичної моделі системи гомеостазу підтримання оксигенації тканини після імпульсної дії стресора визначені граничні умови адаптивної реакції, що стосовно ФДТ висвітлює залежність між щільністю потужності опромінення та спроможністю підтримувати адекватну оксигенацію тканини.
- 2 На основі реалізації розробленої математичної моделі в системі імітаційного комп'ютерного моделювання SIMULINK програмного середовища MATLAB сформульовані вимоги щодо формалізації технічних рекомендацій при розробці оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин, а також викладені експлуатаційні характеристики окремих його компонентів.
- 3 Запропонований метод проведення додаткового прогностичного навантаження (проби) з використанням оксиметричного критерію оцінки відгуку на фотодинамічний вплив дає можливість автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного опромінення при ФДТ пухлин.

Основні наукові результати розділу опубліковані у працях [3], [4], [6], [10], [11], [17], [19], [24].

РОЗДІЛ 3

ПРАКТИЧНА РЕАЛІЗАЦІЯ ОПТИКО-ЕЛЕКТРОННОГО ПРИЛАДУ ДЛЯ ОКСИМЕТРИЧНО-КОРЕГОВАНОЇ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ПУХЛИН ТА РОЗРОБКА МЕТОДИКИ

3.1 Розроблення алгоритму проведення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла

Пропонується алгоритм реалізації додаткового прогностичного навантаження (стресорної проби) в процесі фотодинамічного впливу.

Алгоритм працює за наступною послідовністю:

Опромінення патологічної зони здійснюється оптичним випромінюванням з довжинами хвиль, які відповідають довгохвильовим пікам поглинання ФС. Тип випромінювання – імпульсний. Імпульси випромінюються у вигляді безперервної послідовності імпульсів. Амплітуда всіх імпульсів – однакова.

Амплітуда імпульсів (вихідна потужність) обирається емпірично з розрахунку забезпечення щільності потужності оптичного випромінювання в межах опромінюваної патологічної зони вище середньопроTOCOLьних значень. Тривалість всіх імпульсів в межах безперервної послідовності – однакова (рисунок 3.1).

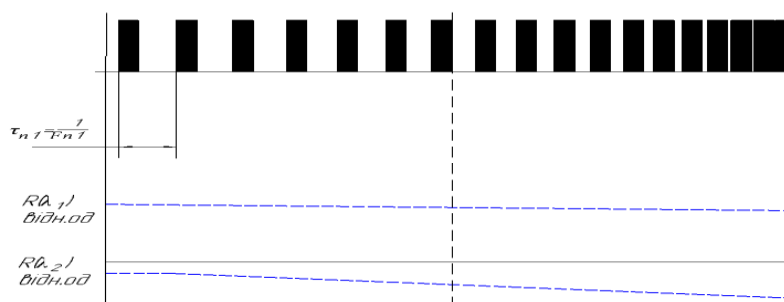


Рисунок 3.1 – Проведення стресорної проби

Вибір тривалості імпульсу пов'язується з амплітудою і параметрами використовуваного джерела оптичного випромінювання. Частота проходження імпульсів в межах послідовності безперервно змінюється від мінімальних значень на початку послідовності до максимальних в кінці. Максимальна частота імпульсів послідовності повинна значно перевищувати мінімальну. Паралельно з обробкою пухлини оптичним випромінюванням, що відповідає піку поглинання ФС, проводиться моніторинг мікроциркуляторного русла шляхом контролю тканинної сатурації за допомогою спектроскопії дифузного відбиття, який реалізується оптичним тканинним оксиметром.

Довжини хвиль оптичного впливу для спрощення реалізації моніторингу мікроциркуляторного русла обираються відмінними від піку поглинання ФС.

Припинення стресорної проби здійснюється в разі досягнення порогових значень співвідношень амплітуд оптичного відгуку (рисунок 3.1) або розрахованих на їх основі параметрів тканинної сатурації.

Тканинна сатурація розраховується з використанням коефіцієнтів дифузного відбиття на довжинах хвиль, відповідних ізобестичним і неізобестичним точкам окси- і дезоксигемоглобіну, за допомогою виразу [147]:

$$SO_2 = \frac{\mu_{Hb}(\lambda_{ni}) - \mu_{Hb}(\lambda_i) \cdot \frac{R(\lambda_i)}{R(\lambda_{ni})}}{\mu_{Hb}(\lambda_{ni}) - \mu_{HbO_2}(\lambda_{ni})} \quad (3.1)$$

де $R(\lambda)$ – вимірний коефіцієнт дифузного відбиття (КДВ) на обраній довжині хвилі;

μ_{Hb} і μ_{HbO_2} – коефіцієнти поглинання дезоксигенованої і насиченої киснем крові, відповідно (Табл. 3.1) [148],

λ_i і λ_{ni} – довжина хвилі неізобестичних і ізобестичних точок, відповідно.

При розрахунку тканинної сатурації можна використовувати кілька можливих комбінацій неізобестичних і ізобестичних точок. Це дозволяє отримувати інформацію з різних шарів біологічних тканин. Для оцінки оксигенації поверхневих шарів біотканини обирають видимий діапазон

спектру, для оцінки оксигенації глибших шарів вимірювання і розрахунки необхідно проводити для ближньої ІЧ-області.

Таблиця 3.1

Довжина хвилі, нм	410	422	452	522	530	635	650
μ_{HbO_2}	466840	431880	58864	26450	39956	478	368
μ_{HbO}	303956	429880	62640	32851	39036	4602	3750

Довжина хвилі, нм	660	670	794	798	804	940	980
μ_{HbO_2}	319,6	294	772	807	836	1214	1128
μ_{HbO}	3226	2795	828	782	737	693	360

Перед реєстрацією коефіцієнтів дифузного відбиття проводиться калібрування.

$$R(\lambda) = \frac{R_t(\lambda) - R_b(\lambda)}{R_{\text{еталон}}(\lambda) - R_b(\lambda)} \quad (3.2)$$

де $R_t(\lambda)$ – виміряний коефіцієнт дифузного відбиття біологічних тканин для відповідної довжини хвилі.

$R_{\text{еталон}}(\lambda)$ – виміряний КДВ еталону;

$R_b(\lambda)$ – фоновий спектр, отриманий при вимкненому джерелі.

В якості еталону можна використати пластину із фторопласту [147].

Калібрування дозволяє виключити вплив інтенсивності випромінювання джерела і чутливості приймача на вимірювання характеристик біологічних тканин.

Параметри останнього імпульсу, що призвів до припинення стресорного впливу, беруться за вихідні при розрахунку потужності оптичного випромінювання при фотодинамічній дії.

$$P_{cp} = P_n \cdot \tau_n \cdot F_n \quad (3.3)$$

де P – потужність імпульсу; $\tau_{\text{імп}}$ – тривалість імпульсу; F_n – частота імпульсу в упаковці.

Описана вище додаткова прогностична стресорна проба проводиться за умови досягнення максимального рівня накопичення фотосенсибілізатора в патологічній зоні. Контроль кінетики ФС здійснюється за допомогою моніторингу інтенсивності флуоресценції фотосенсибілізатора в часі при опроміненні патологічної зони оптичним випромінюванням з довжиною хвилі, яка відповідає короткохвильовому піку поглинання ФС.

3.2 Розроблення оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин

3.2.1 Рекомендації для проектування оптико-електронного приладу

Реалізація прогностичної проби навантаження при фотодинамічної терапії вимагає опромінення зони пухлини оптичними потоками, як мінімум 4 довжинами хвиль (збудження флуоресценції ФС, запуск фотодинамічної реакції, моніторинг оксигенації ізобестичним випромінюванням, моніторинг оксигенації неізобестичним випромінюванням, моніторинг оксигенації неізобестичним випромінюванням).

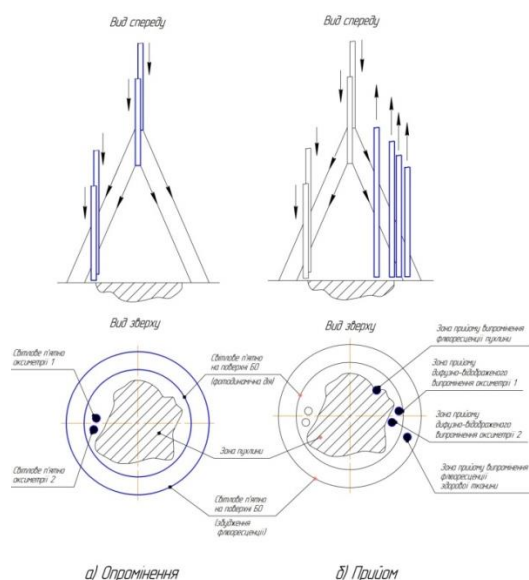


Рисунок 3.2 – Схема поєднання світлових плям при опроміненні зони пухлини (а) і розміщення фотоприйомних елементів (б) при проведенні прогностичної проби навантаження

Світлові плями цих оптичних потоків на поверхні біологічного об'єкту мають найбільш технологічні округлі форми з поперечними перерізами різних діаметрів і по різному орієнтуються щодо зони пухлини (рис.3.2).

Так, світлова пляма потоку, що запускає фотодинамічну реакцію, описує з мінімальним припуском зону пухлини. Співвісна з ним пляма потоку збудження флуоресценції ФС має більший діаметр. Дві невеликі світлові плями випромінювань оксиметричного моніторингу розміщують поза зоною пухлини на мінімальній відстані від її кордону.

Оптичне випромінювання для ініціації фотодинамічної реакції застосовується як в імпульсному (випадку прогностичної проби навантаження), так і в постійному або модульованому режимі (в разі основного фотодинамічного впливу). При цьому імпульсний режим випромінювання при проведенні прогностичного навантаження (проби) забезпечує можливість зміни частоти проходження імпульсів в достатньому діапазоні частот (десяті частки Гц - десятки Гц).

Енергетичні параметри оптичного випромінювання для ініціації фотодинамічної реакції регулюються (внаслідок різних лінійних розмірів пухлин) в достатньому динамічному діапазоні.

Оптичні випромінювання для збудження флуоресценції і оксиметричного моніторингу можуть використовуватися як в постійному, так і імпульсному режимі.

Реєстрація випромінювання флуоресценції зони пухлини і суміжної з нею зони здорової тканини здійснюється в малих поперечних перетинах (з метою мінімального затемнення зони пухлини і забезпечення мінімального розкиду між діаметрами світлової плями запуску фотодинамічної реакції і світлової плями випромінювання збудження флуоресценції).

З таких же малих поперечних перерізів поверхні БО реєструється дифузно відбите біологічним об'єктом випромінювання оксиметричного моніторингу ізобестичних і неізобестичних довжин хвиль. При цьому вищезазначені малі перерізи розташовуються поза зоною пухлини, з

мінімальною відстанню від її кордону і з протилежного боку пухлини щодо розташування світлових плям випромінювань оксиметричного моніторингу. Таким чином, в районі зони пухлини відбувається прийом випромінювання 4 довжин хвиль і присутні (в загальному випадку) 4 фотоприймальних елементів.

Прийняті фотоприймачами оптичні потоки (випромінювання флуоресценції пухлини, випромінювання флуоресценції суміжної ділянки здорової тканини, дифузно відбите випромінювання оксиметричного моніторингу ізобестичними довжинами хвилі, дифузно відбите випромінювання оксиметричного моніторингу неізобестичною довжиною хвилі) перетворюються в напруги, оцифровуються і архівуються в пам'яті розроблюємого оптико-електронного пристрою у вигляді 4 масивів цифрових даних. Кінцеві медико-біологічні показники (тканинна сатурація пухлини) визначається розрахунковим шляхом з урахуванням обчислювальних алгоритмів, реалізованих програмно.

3.2.2 Функціональна схема лікувально-діагностичної установки

Функціональну схему оптико-електронного приладу для оксиметрично корегованого фотодинамічної терапії пухлин розглянемо на прикладі приладу для ФДТ з препаратами на основі хлорину е6 [149,150].

В якості джерел світла як для лікувального впливу при ФДТ, так і для діагностики, в даній установці використовуються діодні лазерні випромінювачі (ЛВ). Передача випромінювання здійснюється за допомогою оптичних волокон.

Установка забезпечує оптичний контроль на всіх етапах ФДТ наступних процесів і показників:

- кінетики накопичення і поточного рівню ФС в пухлинній зоні, а також контрасту накопичення зі здоровими тканинами;
- ступеню оксигенації тканин;

– вплив на пухлину оптичним випромінюванням з довжиною хвилі, яка відповідає піку поглинання ФС, з тимчасовими і енергетичними параметрами, що враховують показники оптичного контролю.

Схема установки, яка розробляється, приведена на рис. 3.3. Її основними функціональними елементами є оптоелектронний, процесорний і волоконно-оптичний блоки.

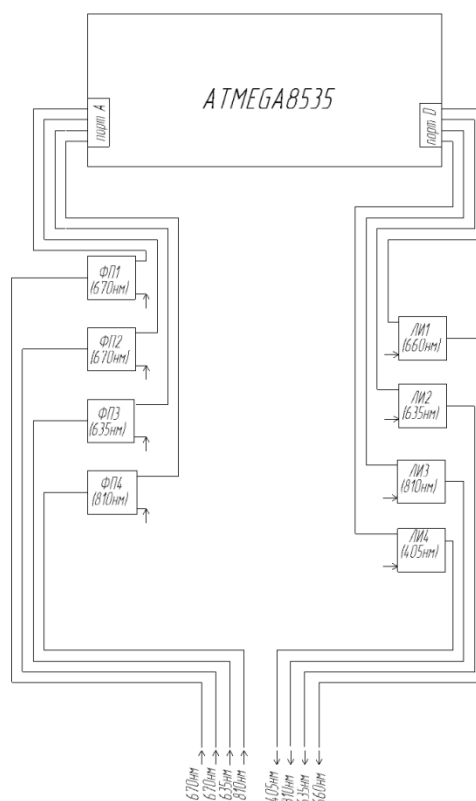


Рисунок 3.3 – Функціональна схема установки, яка розробляється

Оптоелектронний блок складається з 4 лазерних випромінювачів (ЛВ) і 4 фотоприймачів (ФП). Випромінювач ЛВ1 з довжиною хвилі 660 нм, яка відповідає піку поглинання використовуваного ФС, стимулює фотодинамічну реакцію. Випромінювачі ЛВ2 (635 нм) і ЛВ3 (810 нм) забезпечують контроль тканинної сатурації в зоні пухлини неізобестичною і ізобестичною довжиною хвилі. Випромінювач ЛВ4 з довжиною хвилі в межах смуги Core (405-410 нм) призначення для збудження флуоресценції ФС в зоні пухлини і суміжній з нею участку здорової тканини.

Приймачі ФП1 и ФП2 реєструють випромінювання флуоресценції пухлинної ділянки та суміжного з нею ділянки біологічної зони відповідно. Приймачі ФП3 і ФП4 реєструють зворотнє дифузне випромінювання, відбите пухлинною тканиною.

Управління процесами діагностики і лікування методом ФДТ в установці здійснюється за допомогою мікроконтролера сімейства Mega фірми MicrochipTechnology - ATMEGA 8535. Його процесор має аналоговий порт А з 8 незалежними входами, на які надходять сигнали від фотоприймачів. Управління ЛВ здійснюється оброблення мікроконтролером сигналами через порт D.

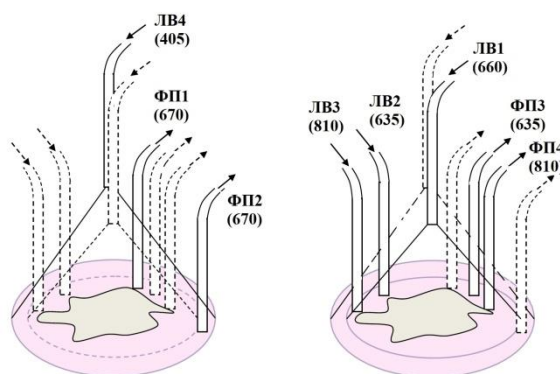


Рисунок 3.4 – Схема проведення стресорної проби з подальшою оксиметрично корегованою ФДТ пухлини на прикладі ФС з хлорином еб

Випромінювання ЛВ передається до зони пухлини за допомогою оптичних волокон. Таким же способом в зворотньому напрямку (із зони пухлини) передаються до ФП випромінювання флуоресценції, зворотнє дифузно відбите випромінювання ізобестической і неізобестичної довжин хвиль оксиметричного моніторингу. Апаратні кінці всіх оптичних волокон оформлені у вигляді вилок уніфікованих оптичних з'єднувачів, що забезпечують роз'ємне під'єднання до штатних розеток ЛВ і ФП. На певній відстані від ЛВ і ФП окремі волокна об'єднуються в упаковку і «одягаються» в захисну оболонку, отримуючи форму багатоволоконного оптичного кабеля

(рис.3.5). Довжина лінійного ділянки багатоволоконного оптичного кабелю може становити кілька метрів, що достатньо для віддалення блокової частини оптико - електронного приладу від зони впливу при ФДТ. На вихідному (дистальному) кінці волокна організовуються в просторі відповідно до рис. 3.4

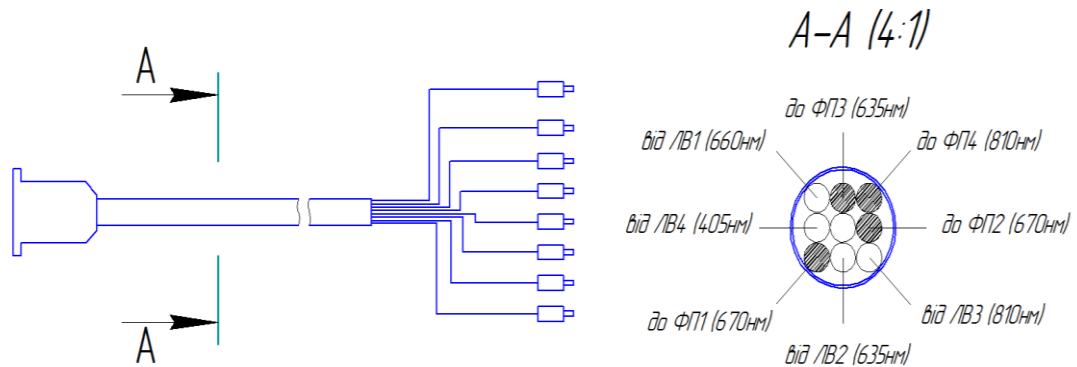


Рисунок 3.5 – Варіант реалізації багатоволоконного оптичного кабелю

Тимчасові діаграми одного з можливих варіантів функціонування установки, адаптованої під ФС хлоринового ряду «Фотолон», наведені на рис. 3.6.

Порядок роботи установки наступний. Через деякий час після початку внутрішньовенного введення ФС (10-30 хвилин в залежності від виду, розмірів і локалізації пухлини тощо) поєднують дистальний кінець волоконно-оптичного блоку (оптичного кабелю) з зоною пухлини. ЛВ1 і ЛВ4 вмикають у безперервному слабоінтенсивному режимі пілотування. Шляхом переміщення дистального кінця оптичного кабелю і окремих оптичних волокон від ЛВ1 і ЛВ4 відносно пухлинної зони забезпечують «вписування» останньої в світлову пляму ЛВ1 з мінімальним запасом по діаметру. Вписування пухлинної зони в світлову пляму лазерного випромінювача ЛВ2 виконується з великим діаметром, достатнім для потрапляння оптичного волокна, що веде до ФП2, на суміжну з пухлиною ділянку здорової тканини.

Після завершення процесу суміщення дистального кінця оптичного кабелю з пухлинної зоною на мікроконтролер надходить команда про початок керованого оптичного впливу. Від ЛВ4 на пухлину через попередньо зорієнтоване оптичне волокно потрапляє випромінювання збудження флуоресценції (довжина хвилі 405 нм, тривалість 10-20 мс, період повторення 30-60 секунд). Через оптичні волокна випромінювання флуоресценції пухлинної зони і суміжної ділянки здорової тканини надходить на входи ФП1 і ФП2, а після оптоелектронного перетворення і попереднього посилення – на аналоговий вхід мікроконтролера.

З невеликим інтервалом після завершення дії ЛВ4 з тієї ж тривалістю і періодом повторення вмикаються (одночасно або з невеликим зсувом у часі) ЛВ3 і ЛВ4. Лазерний випромінювач ЛВ1, що запускає фотодинамічну реакцію, під час проведення прогностичної проби навантаження (або під час основного фотодинамічного впливу в разі не проведення прогностичного навантаження) вмикається процесором за умови припинення зростання сигналу від ФП1 і максимального співвідношення сигналів ФП1 і ФП2. ЛВ1 впливає на пухлинну зону з відповідною ефективній фотодинамічній реакції щільністю потужності, яка в разі проведення прогностичного навантаження обчислюється автоматично. Час випромінювання – 3-5 секунд. Після вимкнення ЛВ1 процесор послідовно вмикає ЛВ2, ЛВ3 і ЛВ4 та обробляє сигнали від ФП1-ФП4. Після завершення обробки сигналів від фотоприймачів ФП1-ФП4 процесор приймає рішення про чергове увімкнення випромінювача ЛВ1 або про заборону його увімкнення. Причиною заборони увімкнення можуть бути величини сигналів від ФП1-ФП4, що перевищують (або поступаються за амплітудою) відповідні порогові значення.

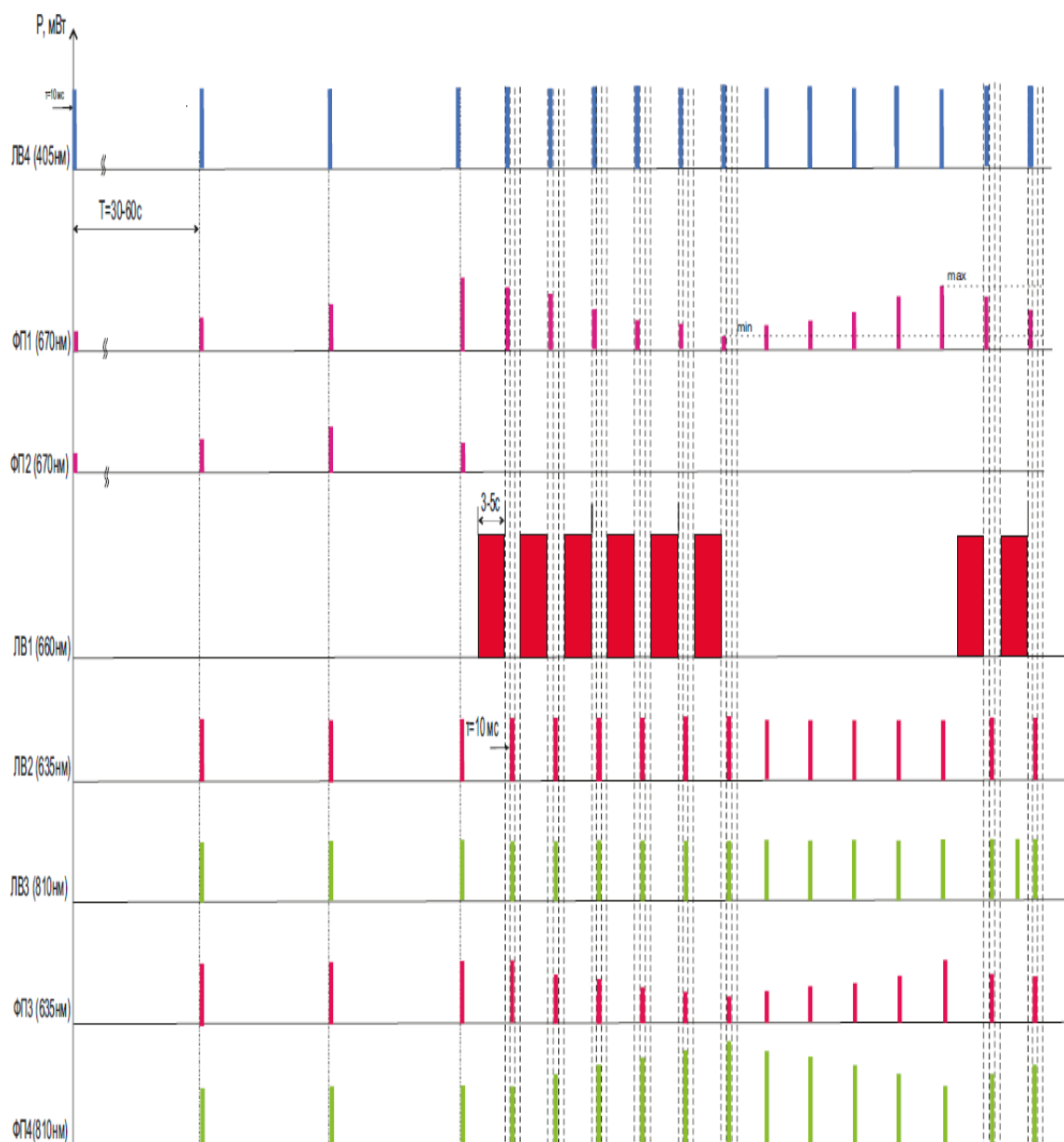


Рисунок 3.6 - Тимчасові діаграми одного з можливих варіантів функціонування установки

На рис. 3.7 наведено ще один варіант реалізації лікувально-діагностичної установки. Обробку сигналів від фотоприймачів і управління роботою лазерних випромінювачів здійснює пристрій на мікросхемі ATMEGA 8535. Аналогові сигнали фотоприймачів через підсилювачі надходять на аналоговий порт А мікросхеми. Сигнали за допомогою вбудованого аналогово-цифрового перетворювача (АЦП) перетворюються у цифровий код.

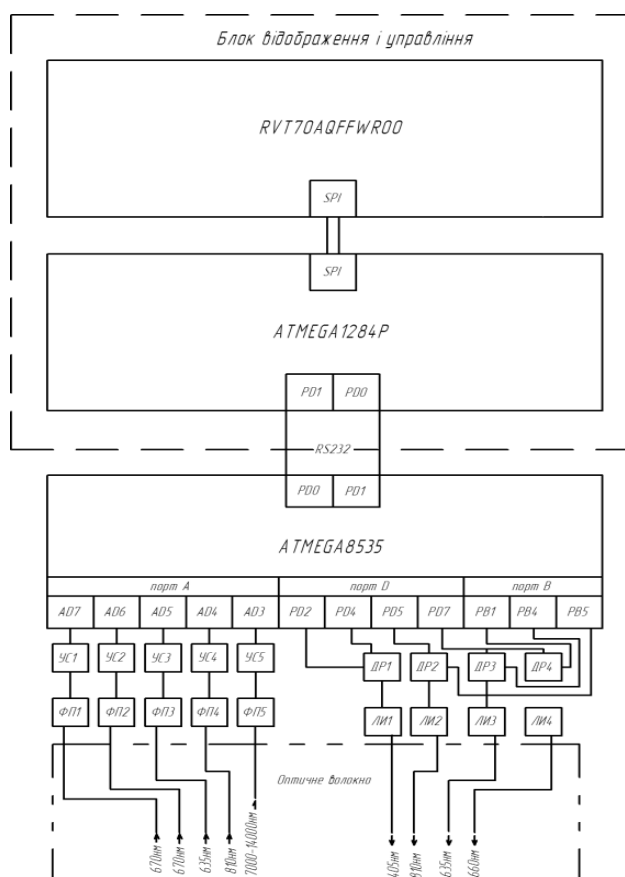


Рисунок 3.7 - Функціональна схема реалізації лікувально-діагностичної установки (варіант 2)

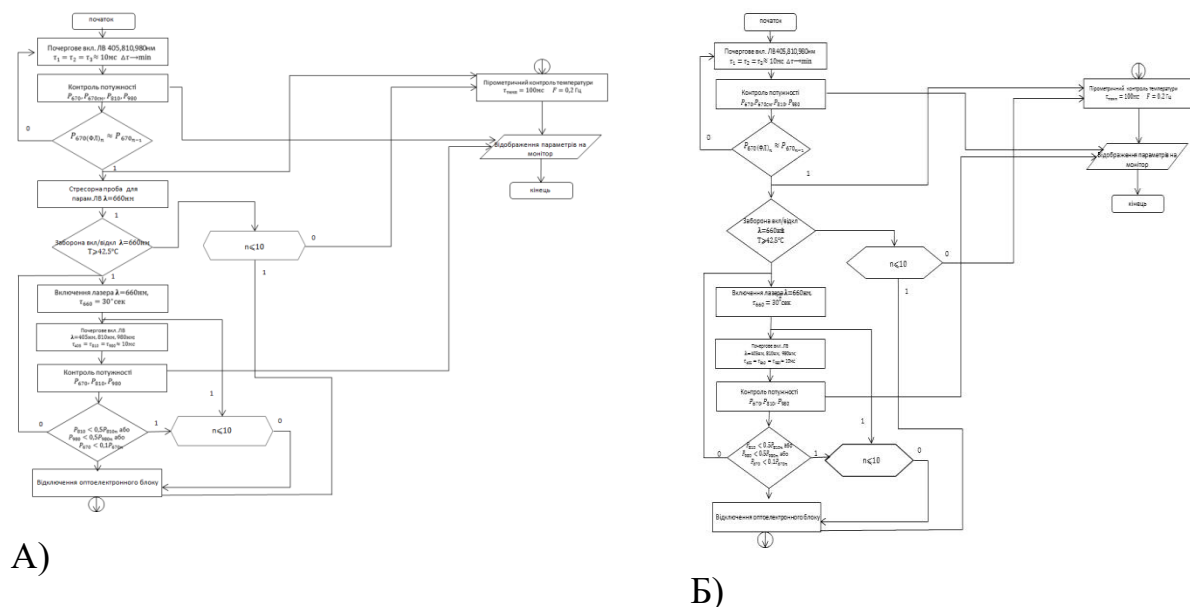
Управління лазерними випромінювачами відбувається за допомогою двох портів PB і PD. Виведення PD4, PD5, PD7 мають режим PWM, який дозволяє генерувати високочастотний сигнал з широтно-імпульсною модуляцією. Ця властивість використовується для регулювання потужності лазерних випромінювачів. Сигнали з цих виведень надходять на драйвери DR1-DR4. Тут відбувається посилення і стабілізація струмів випромінювачів, а також реалізується комутація. Увімкнення та вимкнення здійснюється за допомогою виведень PD2, PB1, PB4, PB5.

Для відображення процесів і управління режимами роботи реалізований блок управління на базі сенсорного дисплею RVT70AQFFWR00 фірми RIVER D1 і драйвера.

Драйвер дисплею реалізований з використанням мікросхеми ATMEGA 1284P. Ця мікросхема має більшу пам'ять (128K), ніж ATMEGA8535 (8K),

що необхідна для створення великих листингів для формування інструкції для кадрів дисплею. Зв'язок з мікросхемою 8535 здійснюється через порт RS232, реалізований через порт D (PD0, PD1). Зв'язок драйверу з дисплеєм здійснюється через високошвидкісний інтерфейс SP1 до 30 Мбіт.

Вибір дисплею RVT70AQFFWR00 обумовлений його великими можливостями при використанні в інженерних додатках. Дисплеї випускаються різних розмірів від 3,5 до 7 дюймів. Всі вони мають графічний процесор FT 812 з готовим набором функцій і елементів. Отримавши від керуючого МК (ATMEGA1284p) набір інструкцій, графічний контролер самостійно розраховує зображення і забезпечує виведення його на екран дисплею. Такий принцип роботи у багато разів знижує навантаження на керуючий МК. Тому можна використовувати прості 8-розрядні контролери для управління дисплеєм. Це набагато зменшує час на розробку програми і звільняє пам'ять МК. Крім графічних функцій, контролер FT 812 також підтримує роботу з резистивним сенсорним екраном і має вбудований аудіо-контролер. Таким чином, немає необхідності використовувати зовнішні елементи і ресурси керуючого МК для роботи з сенсорним екраном і звуком.



Рисинук 3.8 – Блок схема роботи оптико-електронного приладу зі стресорною пробою(варіант А); – Блок схема роботи оптико-електронного приладу без стресорної проби(варіант Б)

3.2.3 Рекомендації щодо вибору фотоприймального пристрою

Як показали попередні дослідження оксигенації, рівень оптичного сигналу на вході фотоприймача близько 100 нВт. При цьому сигнал, який відповідає зміні вмісту кисню під час фотодинамічної терапії, становить кілька нВт. Отже, мінімальна чутливість фотоприймача повинна бути не менше 1 нВт і діапазон вимірювань повинен бути в межах кілька сотень нВт.

Виходячи з даних вимог, зробимо вибір фотодіоду за його шумовими характеристиками.

Основними видами шуму фотодіоду є:

1. Тепловий шум – викликається хаотичним тепловим рухом вільних електронів в самому приймальному випромінювання і має рівномірний спектр.
2. Дробовий шум - виникає через флуктуації струму (спрямованого руху зарядів) в різні проміжки часу.
3. Шум фотодіоду на динамічному опорі незміщеного р-п переходу.

3.2.3 Вибір фотодіоду

У зв'язку з тим, що істотний внесок в шумові характеристики фотодіоду вносить теплової шум, зробимо вибір фотодіоду за оцінкою цього шуму, а потім зробимо розрахунок чутливості обраного фотодіоду з урахуванням усіх шумових характеристик.

Тепловий шум

Згідно з методикою, зазначеною в [151], тепловий шум визначається за формулою (3.4):

$$\bar{I}_T^2 = \frac{4 \cdot k \cdot T \cdot \Delta f}{R_T} \quad (3.4)$$

де k – стала Больцмана, $k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{\text{Дж}}{\text{К}}$;

T – абсолютна температура фотодіоду, $T = 293 \text{ К}$;

R_T – темновий опір приймача випромінювання, МОм;

Δf – смуга пропускання інформативного сигналу, Гц.

Визначимо шумову смугу пропускання Δf :

$$\Delta f = \int_0^{\infty} k^2(f) df \quad (3.5)$$

де $k(f)$ – частотна характеристика приймача випромінювання.

У найбільш простому випадку еквівалентом приймача випромінювання з точки зору його частотної характеристики є аперіодична ланка:

$$k(j\omega) = \frac{1}{1+\omega\tau} \quad (3.6)$$

де τ – постійна часу фотодіоду;

Якщо нормувати характеристику (3.6), то у відносних одиницях отримаємо вираз (3.7) для амплітудної частотної характеристики приймача:

$$k(j\omega) = \frac{1}{\sqrt{1+(2\pi\tau)^2}} \quad (3.7)$$

Отже:

$$\Delta f = \int_0^{\infty} \frac{df}{1+(2\pi\tau)^2} = \frac{1}{2\pi\tau} \arctg(2\pi\tau f)|_0^{\infty} = \frac{1}{4\tau} \quad (3.8)$$

Таким чином, тепловий шум становить:

$$\bar{I}_T^2 = \frac{4 \cdot k \cdot T}{4 \cdot \tau \cdot R_T} = \frac{k \cdot T}{\tau \cdot R_T} \quad (3.9)$$

Темновий опір фотодіоду дорівнює:

$$R_T = \frac{U}{I_{TM}} \quad (3.10)$$

де $U=10$ мВ, типова напруга для темнового струму.

Таким чином, маємо:

$$\bar{I}_T^2 = \frac{k \cdot T \cdot I_{TM}}{\tau \cdot U} \quad (3.11)$$

Мінімальна чутливість становить $P_{min} \leq 1$ нВт.

Фоточутливість S дорівнює:

$$S \approx \frac{\bar{I}_T}{P_{min}} \quad (3.12)$$

Підставивши звідси величину $\bar{I}_T$ у вираз (3.12) отримаємо:

$$\frac{S^2 \tau}{I_{TM}} = \frac{k \cdot T}{P_{min}^2 \cdot U} = \frac{1,38 \cdot 10^{-23} \cdot 293}{1 \cdot 10^{-18} \cdot 10 \cdot 10^{-3}} \geq 0,4 \frac{\text{А} \cdot \text{сек}}{\text{Вт}^2} \quad (3.13)$$

Отже, для вибору фотодіоду потрібно, щоб співвідношення $\frac{S^2 \tau}{I_{TM}}$ відповідало умові (3.13). Крім того, для проведення досліджень необхідно, щоб діод працював в спектральному діапазоні від видимого до

інфрачервоного. У зв'язку з цим ми зупинили свій вибір на діодах Hamamatsu серії s2386.

З таблиці «Electricalandopticalcharacteristics» величина S в найгіршому випадку становить: $S = 0,43 \text{ А/Вт}$, відношення $\frac{\tau}{I_{\text{ТМ}}}$ для всіх діодів однакове і дорівнює $\frac{\tau}{I_{\text{ТМ}}} = 2 \cdot 10^5 \frac{\text{с}}{\text{А}}$.

В результаті отримуємо $\frac{S^2 \tau}{I_{\text{ТМ}}} = 0,43 \cdot 2 \cdot 10^5 = 3,7 \cdot 10^4 \frac{\text{А} \cdot \text{сек}}{\text{Вт}^2}$, що значно перевищує граничне значення, отримане в (3.13).

Крім того, динамічний діапазон зазначених фотодіодів з лінійною характеристикою за фоточутливістю лежить в межах $10^{-12} \div 10^{-2} \text{ Вт}$.

Таким чином, будь-який із зазначених діодів повинен відповідати нашим вимогам.

Для прикладу розрахунку повного шумового струму оберемо фотодіод Hamamatsu S2386-5k.

Тепловий шум

З формули (8), тепловий шум дорівнює $\bar{I}_T^2 = \frac{k \cdot T \cdot I_{\text{ТМ}}}{\tau \cdot U}$.

Користуючись табличними даними [152], визначаємо, що постійна часу для фотодіоду Hamamatsu S2386-5k становить не більше 3,6 мкс, $I_{\text{ТМ}} = 5 \cdot 10^{-12} \text{ А}$, $U = 10 \text{ мВ}$.

Підставивши числові дані у вираз (3.11), отримуємо:

$$\bar{I}_T^2 = \frac{k \cdot T \cdot I_{\text{ТМ}}}{\tau \cdot U} = \frac{1,38 \cdot 10^{-23} \cdot 293 \cdot 5 \cdot 10^{-12}}{3,6 \cdot 10^{-6} \cdot 10 \cdot 10^{-3}} = 5,6 \cdot 10^{-25} \text{ А}^2 \quad (3.14)$$

Дробовий шум

Спектр дробового шуму, так само як спектр теплового шуму, не залежить від частоти і є рівномірним.

Струм дробового шуму обчислюється таким чином:

$$\bar{I}_{\text{др}}^2 = 2 \cdot e \cdot I \cdot \Delta f = \frac{e \cdot I}{2 \cdot \tau} \quad (3.15)$$

де $e = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ Кл}$ – заряд електрону;

I - середнє значення (постійна складова) фотоструму (включаючи фоновий струм і струм сигналу). За відсутності засвітки в якості I можна прийняти темновий ток $I = 5 \cdot 10^{-12} \text{ А}$

Повертаючись до формули (3.15) обчислимо дробовий шум фотодіоду:

$$\bar{I}_{\text{др}}^2 = \frac{e \cdot I}{2 \cdot \tau} = \frac{1,6 \cdot 10^{-19} \cdot 5 \cdot 10^{-12}}{2 \cdot 3,6 \cdot 10^{-6}} = 1,1 \cdot 10^{-25} \text{ А}^2 \quad (3.16)$$

Шум фотодіоду

$R_{\text{д}} = 10 \cdot 10^9 \text{ Ом}$ – динамічний опір незміщеного р-п переходу фотодіоду [150].

$$\bar{I}_{\text{шфд}}^2 = \frac{4 \cdot k \cdot T \cdot \Delta f}{R_{\text{д}}} = \frac{k \cdot T}{R_{\text{д}} \cdot \tau} \quad (3.17)$$

$$\bar{I}_{\text{шфд}}^2 = \frac{k \cdot T}{R_{\text{д}} \cdot \tau} = \frac{1,38 \cdot 10^{-23} \cdot 293}{10 \cdot 10^9 \cdot 3,6 \cdot 10^{-6}} = 1,1 \cdot 10^{-25} \text{ А}^2$$

Сумарний шум

$$I_{\Sigma}^2 = I_{\text{Т}}^2 + I_{\text{др}}^2 + I_{\text{шфд}}^2 \quad (3.18)$$

$$I_{\Sigma}^2 = 5,6 \cdot 10^{-25} + 1,1 \cdot 10^{-25} + 1,1 \cdot 10^{-25} = 7,8 \cdot 10^{-25} \text{ А}^2$$

$$I_{\Sigma} = 0,88 \cdot 10^{-12} \text{ А}$$

Мінімальна чутливість фотодіоду складає:

$$P_{\text{min}} = \frac{I_{\Sigma}}{S} = \frac{0,88 \cdot 10^{-12}}{0,43} = 2 \cdot 10^{-12} \text{ Вт} = 2 \text{ пВт},$$

що менше 1 нВт. Це відповідає рівню мінімальної потужності, яка вимірюється фотодіодом.

Таким чином, обраний фотодіод Hamamatsu S2386-5k задовольняє усім вимогам для проведення фотодинамічної терапії.

Для динамічного моніторингу рівню концентрації ФС нами пропонується фоточутливий детектор, що складається із плати управління, блоків живлення ($\pm 5 \text{ Вт} / \pm 15 \text{ В}$) і фотоприймача на основі фотодіоду Hamamatsu (серія S2386).

Схема принципова електрична фотоприймача на основі фотодіода Hamamatsu S2386-K приведена на рис. 3.9

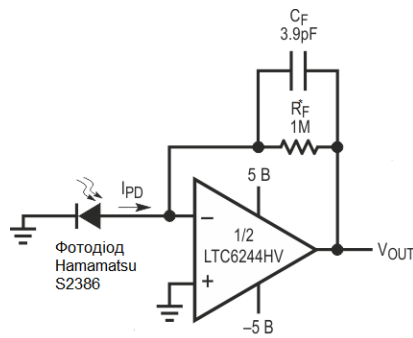


Рисунок 3.9 – Трансїмпедансний підсилювач для фотодіода з великою площею кристала

3.2.4 Рекомендації щодо вибору термостабілізованого лазерного випромінювача

Лазерні випромінювачі для збудження флуоресценції і оптичної тканинної оксиметрії проєктуються на основі лазерних діодів малої і середньої потужності.

Принципову схему підключення лазерного діода представлено на рис. 3.10

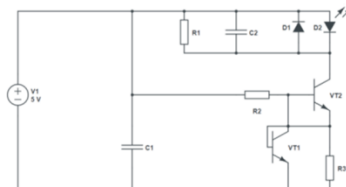


Рисунок 3.10 – Схема підключення лазерного діоду до джерела струму

Стабілізація струму за цією схемою відбувається в межах від 20-500 мА, струм виставляється підбором резистора R3 (0.2-5 Ом).

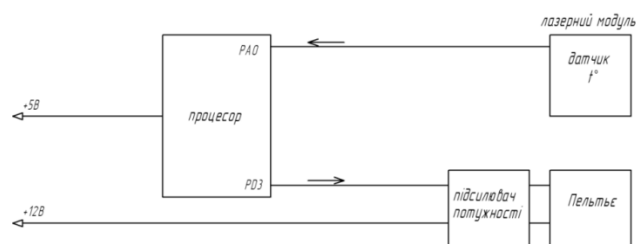


Рисунок 3.12 – Схематичне зображення підключення лазерного діоду і елементів охолодження та контролю температури

Лазерний випромінювач з термостабілізацією показаний на рис. 3.11- а) без кожуху; б) випромінювач в захисному кожусі.

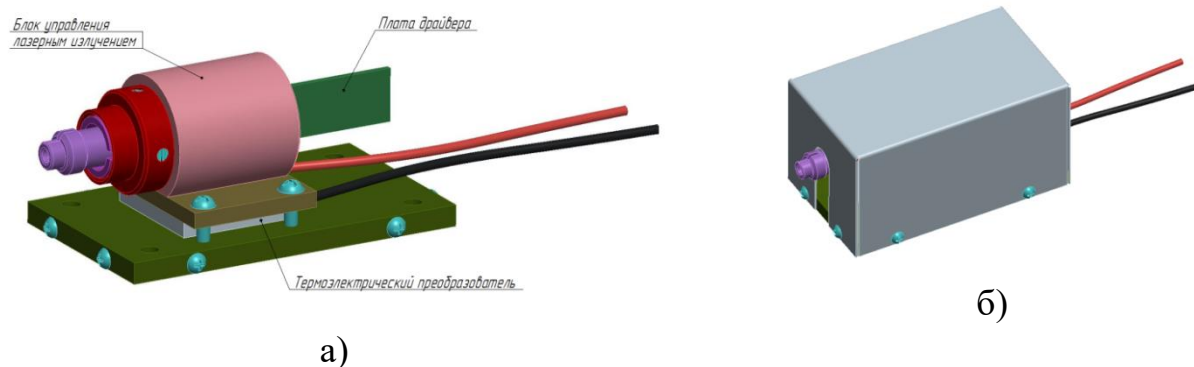


Рисунок 3.11 – а) Лазерний випромінювач з термостабілізацією без захисного кожуха; б) представлений випромінювач із захисним кожухом

Лазерний випромінювач складається з трьох основних вузлів: вузла управління: блоку управління лазерним випромінюванням, термоелектричного перетворювача та плати драйвера. В залежності від задачі, в вузлі управління лазерним випромінюванням встановлюється діодний лазер в корпусі ТО-18 малої або середньої потужності. Лазерне випромінювання потрапляє на фокусуючу лінзу, яка формує промінь малого діаметру для введення його в світловод. Вихідний роз'єм для підключення світловода винесений за межі корпуса модуля через технологічний паз на передній стінці захисного кожуха. Зовнішній корпус вузла управління виконаний в формі циліндра з лискою для збільшення площі дотикання з холодною стороною термоелектричного перетворювача. Гарячою стороною термоелектричний перетворювач контактує з металевою пластиною більшої площі для забезпечення ефективнішого відведення тепла від зони нагріву. Живлення до лазера подається через плату драйвера. Кабелі живлення від термоелектричного перетворювача та плати драйвера виводяться через технологічний паз на задній стінці корпуса модуля.

Схематичне зображення підключення лазерного діоду, елементів охолодження та контролю температури показане на рис. 3.12

3.2.5 Реалізація дистальної ділянки волоконно-оптичного блоку

Розглядалось декілька варіантів реалізації дистальної ділянки волоконно-оптичного блоку (кабеля).

Функціональна схема одного з варіантів представлена на рис. 3.13.

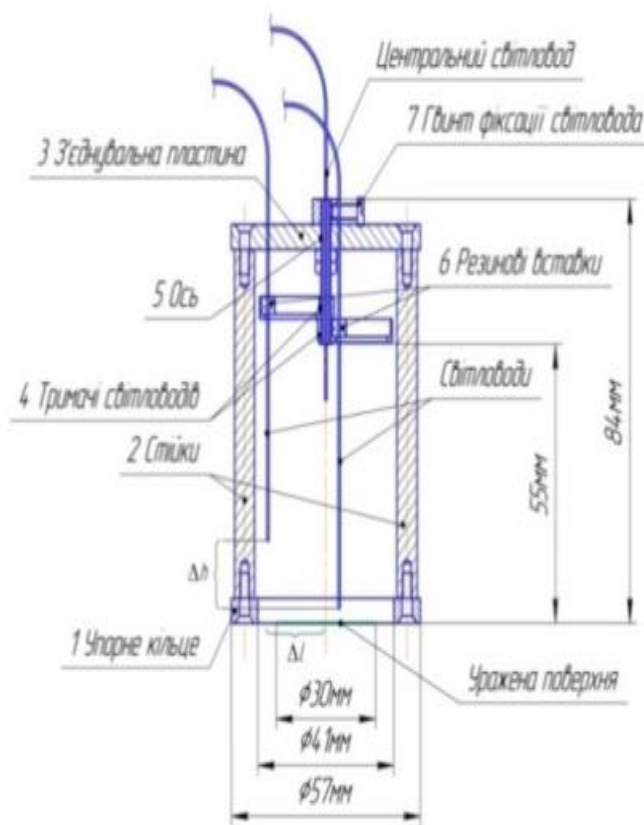
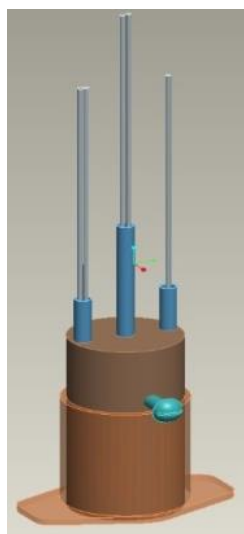


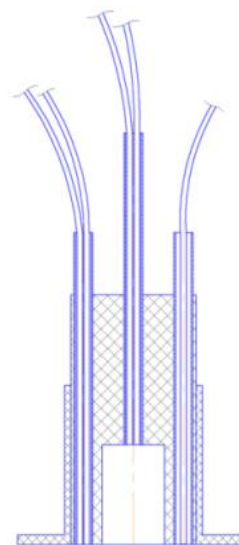
Рисунок 3.13 – Функціональна схема для фіксації світловодів

Пристрій складається з упорного кільця (1), призначеного для безпосереднього контакту з тілом пацієнта, двох стійок (2) і з'єднувальної пластини (3), які разом складають каркас пристрою. Тримачі світловодів (4) закріплені на осі (5) і можуть обертатися навколо неї, дозволяючи встановити світловоди в необхідній точці по діаметру дії. Світловоди в тримачах закріплені за допомогою резинових вставок (6), які забезпечують їх щільну фіксацію на необхідній відстані Δh від зони впливу та Δl по діаметру. Вісь (5) має внутрішній канал для закріплення основного світловоду, а гвинт (7) забезпечує його фіксацію на необхідній відстані від зони впливу.

Ще один варіант реалізації оптоволоконного кабеля представлений на рис. 3.14.



1)



2)

Рисунок 3.14 – Варіант реалізації дистального кінця оптоволоконного кабеля: 1 – 3D-модель; 2 – модель у розрізі

За допомогою пристрою відбувається закріплення світловодів для здійснення впливу на уражену поверхню з максимальним діаметром 30 мм.

Пристрій дозволяє:

- закріпити декілька світловодів;
- змінювати положення світловодів один відносно одного;
- змінювати положення світловодів відносно опорної поверхні.

Пристрій може бути використаний при проектуванні лікувально-діагностичних лазерних систем з оптоволоконними виходами.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

- 1 Запропонований метод реєстрації зворотного-дифузно відбитого біологічним середовищем *in vivo* випромінювання видимого та ближнього інфрачервоного діапазону реалізуємо в межах неузгодженості осей випромінючого та приймального волокна не більше 10-15 мм. У разі великих лінійних розмірів досліджуваної патологічної зони необхідно збільшувати кількість приймальних оптичних волокон, встановлювати приймальне волокно в межах патологічної зони або змінювати принципи фотодетектування.
- 2 Удосконалено методику проведення ФДТ пухлин за рахунок введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла. При цьому стресорна проба проводиться при досягненні максимального рівня накопичення фотосенсибілізатора в патологічній зоні, контроль кінетики якого здійснюється за допомогою моніторингу інтенсивності флуоресценції ФС в часі при опроміненні патологічної зони оптичним випромінюванням з довжинами хвиль, які відповідають короткохвильовим пікам поглинання ФС.
- 3 Розроблено оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії (ФТД) пухлин та рекомендації щодо виконання окремих каскадів: проведено розрахунок та спроектовано фотоприймальний пристрій; розроблена принципова схема та конструкція термостабілізованого лазерного випромінювача, що має модифікації за довжинами хвиль; реалізовано оптоелектронний блок; реалізовано мікропроцесорний каскад для синхронізації роботи окремих каскадів; реалізовано дистальну ділянку волоконно-оптичного блоку.

Основні наукові результати розділу опубліковані у працях [7], [13], [14], [16], [20], [22], [25].

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ПРОГНОСТИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ (ПРОБИ) В ПРОЦЕСІ ФОТО ДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ

Була проведена низка експериментальних робіт з метою обґрунтування можливості практичної реалізації запропонованих технічних рішень при побудові лікувально-діагностичної апаратури для ФДТ, корекції їх технічних характеристик, оцінювання впливу на віддалену клінічну ефективність протипухлинної фотодинамічної терапії.

4.1 Експериментальна оцінка можливості використання модульованого режиму випромінювання при фотодинамічному впливі

Щоб перевірити ефективність модульованого лазерного випромінювання при фотодинамічній терапії пухлин, проведено серію експериментів для порівняння зі звичайним методом безперервного лазерного опромінення [153]. Пухлини опромінювали з використанням модульованого (інтервали імпульсу - 1 с, і паузи - 1 с) або безперервного режиму. В обох режимах випромінювання використовувався лазер з довжиною хвилі $\lambda = 660$ нм, щільністю потужності лазерного випромінювання на оброблюваній поверхні $P = 50$ мВт/см². Загальний час оптичного впливу в обох випадках складав $t = 30$ хв.

Отримана доза опромінення пухлини в безперервному режимі становила 90 Дж/см², а в режимі модуляції – 45 Дж/см².

В експерименті були використані миші серії C57Bl / 6 зі щепленою карциномою легені Льюїс (щеплені в подушечки лапок мишей).

В якості фотосенсибілізатору використовувався препарат хлоринового ряду «Фотолон». Препарат вводився мишам внутрішньовенно з розрахунку 0,2 мг/кг.

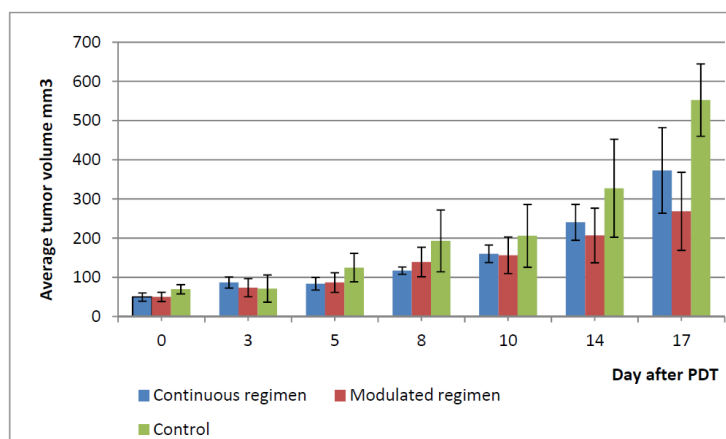


Рисунок 4.1 – Динаміка росту карциноми легені Льюїса після ФДТ при різних режимах опромінення

Після ФДТ пухлини вимірювали кожні 2-3 дні. Результати лікування представлені на рис. 4.1. Кожна точка на кривій – середній обсяг пухлини (розрахований як обсяг еліпсоїда) у тварини експериментальної і контрольної групи ($n = 5$). Як видно з рис. 4.1, обидві схеми лікування привели до пригнічення росту експериментальних пухлин. Таким чином, на 8-й день після лікуванні, розмір обробленої пухлини вже значно відрізнявся від контрольної групи. На 17-й день ступінь інгібування росту пухлини в групах, які підлягали модульованому або безперервному опроміненню, становила 51% і 33% відповідно.

Результати, отримані при модульованому режимі опромінення, були кращими в порівнянні з постійним режимом. При цьому доза оптичного випромінювання при модульованому режимі була в два рази нижчою.

Була проведена експериментальна оцінка ефективності модульованого режиму впливу при збільшенні скважності впливу. Порівнювали ступінь інгібування пухлин при постійному і модульованому (500 мс – вплив і 2500 мс – пауза) лазерному опроміненні.

Довжина хвилі лазерного випромінювання 660 нм, час опромінення – 30 хв., щільність потужності на оброблюваній поверхні – 100 мВт/см².

Використовували мишей серії C57Bl/6 з прищепленою карциномою легенів Льюїс.

В експерименті використовувався фотосенсибілізатор «Фотолон». Препарат вводився внутрішньовенно в обсязі 0,2 мг на мишу. Через 1 годину після введення препарату здійснювали оптичний вплив з вище зазначеними параметрами. Доза лазерного випромінювання при неперервному режимі опромінення склала 180 Дж/см², при використанні модульованого режиму – 30 Дж/см².

Обидві схеми лікування призвели до пригнічення росту пухлини, проте постійний режим опромінення за обраної скважності дав кращі результати.

4.2 Визначення динаміки накопичення фотосенсибілізатора в пухлині методом ПЗС спектроскопії

Традиційно дослідження накопичення та розподілу ФС в тканинах проводять на модельних біологічних об'єктах. Для цього використовуються інвазивні підходи, що базуються на отриманні зразків крові та вилученні органів тварини, хімічній екстракції ФС з його подальшим кількісним визначенням за допомогою фізико-хімічних методів, таких як спектрофотометрія, флуориметрія, хроматографія, мас-спектроскопія. Такі дослідження вважаються високоточними, забезпечують можливість відстеження концентрації ФС в пухлині, проте є трудомісткими, тому що пов'язані з проведенням великої кількості маніпуляцій.

Матеріали і методи

Був випробуваний неінвазивний метод, в основу якого покладено визначення у реальному часі рівня флюоресценції ФС в тканинах *in vivo* за допомогою оптичної ПЗС спектроскопії із застосуванням світловодів для підведення випромінювання від джерела до досліджуваного об'єкту та від об'єкту до ПЗС спектрометру[154], [155], [156]. Використовувався Ocean Optics USB 4000 (США) (рис. 4.2).

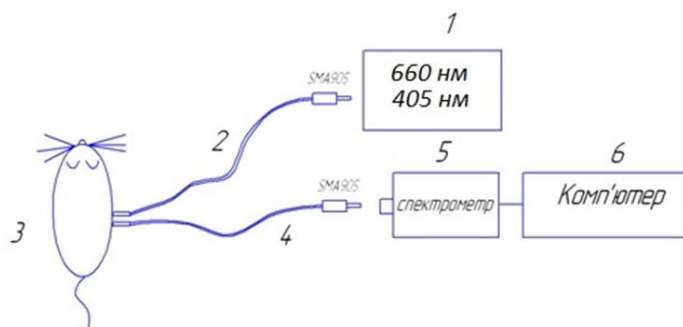


Рисунок 4.2 – Схема експериментальної установки для вимірювання спектрів флуоресценції тканин *in vivo*: 1- лазери; 2 – передавальний світловод; 3 – об'єкт дослідження; 4 - приймальний світловод; 5 - спектрометр; 6 – ПК.

Досліди проводили на мишах лінії C₅₇Bl/6 з перещепленою в подушечку лапки карциномою легень Льюїс. В якості ФС використовували «Фотолон», спектр поглинання якого має два піки – на довжинах хвиль 405 нм та 660 нм. ФС вводили тваринам внутрішньовенно у концентрації 10 мг/кг. Для збудження флуоресценції застосовували випромінювання лазера-пілота приладу «Ліка-хірург М» (ПП «Фотоніка-Плюс», м. Черкаси) з довжиною хвилі 405 нм та потужністю 50 мВт. Під час проведення ФДТ основним лазером цього ж приладу (довжина хвилі випромінювання 660 нм, щільність потужності 150 мВт/см²) опромінювали пухлини впродовж 300 сек.

На рис. 4.3 наведено приклад спектрів флуоресценції тканин до введення ФС, після його введення й накопичення та після проведення ФДТ.

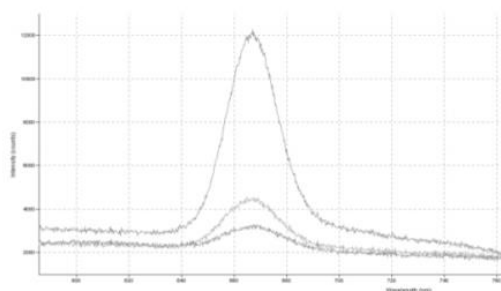
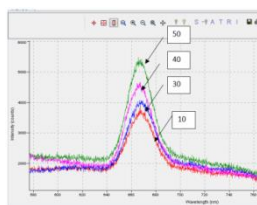


Рисунок 4.3 – Спектр флуоресценції тканин до введення ФС (1), через 40 хв. після введення барвника (2) та після проведення ФДТ (3)

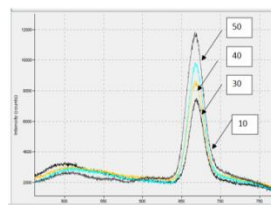
Порівнюючи спектри до і після введення ФС, можна відмітити появу додаткового піку в області 670 нм, обумовленого частковим використанням ФС на флуоресценцією в довгохвильовій області спектру при поглинанні випромінювання діагностичного лазера (довжина хвилі 405 нм). Крім того, флуориметричне обстеження тканин навколо пухлини за допомогою високочутливого спектрофотометра дозволяє чітко визначити межі малігнізації. Незначний сигнал на довжині хвилі 660 нм до введення ФС (рис. 4.3) свідчить про аутофлуоресценцію біотканин, а саме порфірину, та має бути врахований при обробці даних. В зв'язку з тим, що флуоресценція ФС зменшується після лазерного опромінення (рис. 4.3) за рахунок трансформації фотолону в ході фотохімічних реакцій (фотоблічінг), моніторинг залишкової флуоресценції під час сеансу ФДТ дозволяє змінювати параметри опромінення пухлини для більш ефективного її пошкодження.

Результати та обговорення

Використання даної системи для динамічного моніторингу концентрації ФС в пухлині та нормальних тканинах дає можливість індивідуалізованого визначення у реальному часі максимального накопичення фотолону у тканині-мішені, а також контрасту його флуоресценції відносно здорових тканин. Це дає змогу обрати оптимальний час між введенням ФС та опроміненням конкретної пухлини. Була проведена серія експериментів щодо динаміки накопичення ФС в пухлині у порівнянні зі здоровою тканиною (подушечка задньої кінцівки тварини без пухлини) та після ФДТ (рис. 4.4).



а)



б)

Рисунок 4.4 – Динаміка накопичення ФС в пухлині та здорових тканинах: а) здорова тканина; б) пухлинна тканина

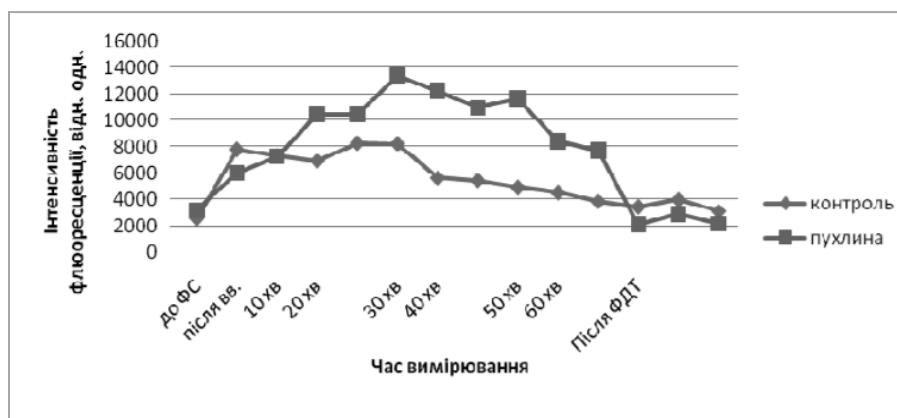


Рисунок 4.5— Динаміка накопичення ФС в пухлині та здорових тканинах

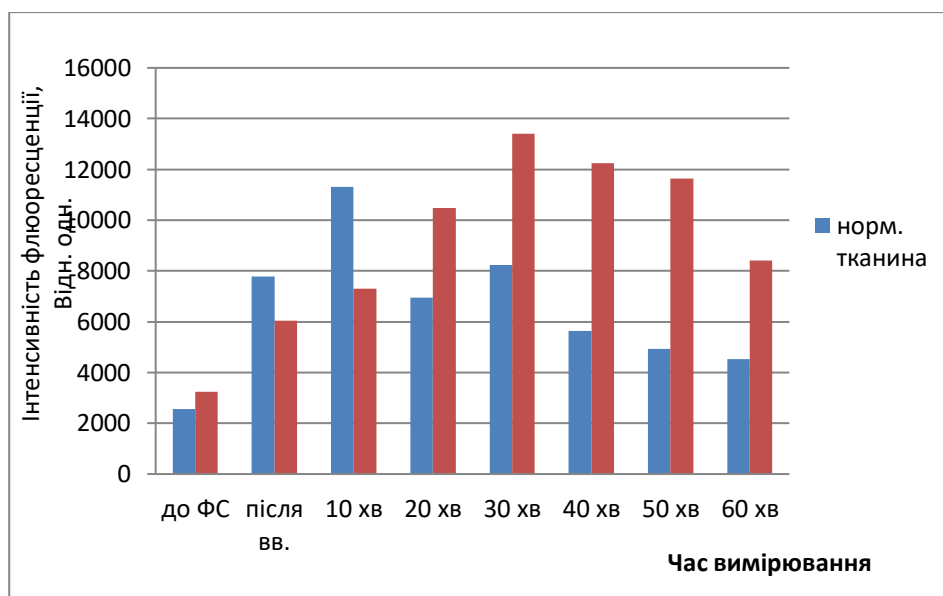


Рисунок 4.6 – Порівняльна характеристика накопичення в нормальній тканині і в пухлині

Видно, що максимум накопичення в пухлині припадає на 30-40-у хв., а після опромінення рівень ФС різко падає. В нормальних тканинах максимум спостерігається вперше на 10-у хв. після введення та поступово знижується протягом години.

Таким чином, представлені результати свідчать про можливість використання оптичної спектроскопії з застосуванням світловодів для оцінки динаміки накопичення ФС в пухлині та нормальних тканинах, а також для визначення рівня його фотодеструкції під час лазерного опромінення при ФДТ. Це дозволяє обрати оптимальну тактику ФДТ (дозу ФС, інтервал між його

введенням та опроміненням пухлини, щільність потужності та дозу лазерного випромінювання).

4.3 Експериментальна оцінка зміни рівня зворотного дифузно відбитого біологічною тканиною випромінювання в залежності від відстані між джерелом і приймачем випромінювання

Мета: Експериментальне дослідження залежності потужності зворотнього дифузного розсіяного біологічною тканиною випромінювання *in vivo* на виході приймального оптичного волокна, від відстані між випромінюючим і приймальним оптичним волокнами.

Матеріали і методи

Для проведення експериментальних досліджень було використано опромінюючо-вимірювальну установку (рис.4.7). Оптичне випромінювання від лазера 1 (довжини хвиль 635 нм, 660 нм, 810 нм, 980 нм) заводилося в випромінююче оптичне волокно 3. Потужність оптичного випромінювання на всіх довжинах хвиль 70 ± 2 мВт. Кінець оптичного волокна 3 стаціонарно фіксувався перпендикулярно біологічній поверхні 5 на незначній відстані (менше 1 мм) від неї. Приймальне волокно 4 фіксувалось на юстувальному столі 6. При цьому воно було зафіксовано паралельно волокну 3 і кінець був встановлений на тій же відстані від поверхні 5 (менше 1мм). Випромінююче і приймальне волокна мали діаметр 600мкм і апертуру 0,3. Відстань між випромінюючим волокном 3 та приймальним волокном 4 змінювалась в діапазоні 3-13 мм з кроком 0,5 мм. Крок переміщення контролювався завдяки часовому індикатору 7. За допомогою оптичного волокна 4 реєстровані оптичні сигнали надходили до головки вимірювача потужності COHERENT Field Master qsLM-2VIS (10) з чутливістю 1нВт, і передавалися до блоку реєстрації 2, електричний сигнал з якого в цифровому вигляді використовувався для обробки результатів вимірів.

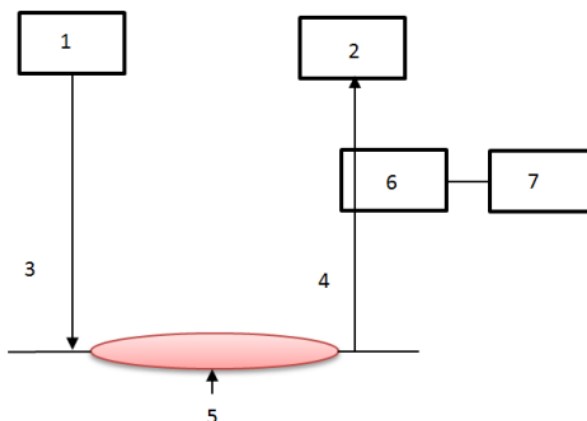


Рисунок 4.7 – Загальна схема установки для досліджень

Загальний вигляд дослідної установки приведений на рис.4.7. Зовнішній вигляд установки приведений на рис.4.8.

Результати дослідження

На рис.4.9 наведені залежності потужності зворотного дифузно відбитого біологічної поверхнею *in vivo* випромінювання з різними довжинами хвиль на виході приймального оптичного волокна від відстані між осями передавального і приймального оптичного волокна.

Залежності для різних довжин хвиль характеризуються досить близькими кривими. Невелика стартова різниця в величинах сигналів при мінімальних відстанях (більше 2 разів) зі збільшенням відстані між оптичними волокнами нівелюється. Значення потужності оптичних сигналів (десятки нВт) при максимальних в експерименті відстанях (до 13 мм) дозволяють їх обробляти доступними і рентабельними способами.

Незначна різниця в потужності оптичного випромінювання різних довжин хвиль, яку приймають в межах досліджуваних відстаней дозволяє використовувати для реєстрації випромінювання уніфікований фотоприймальний пристрій.

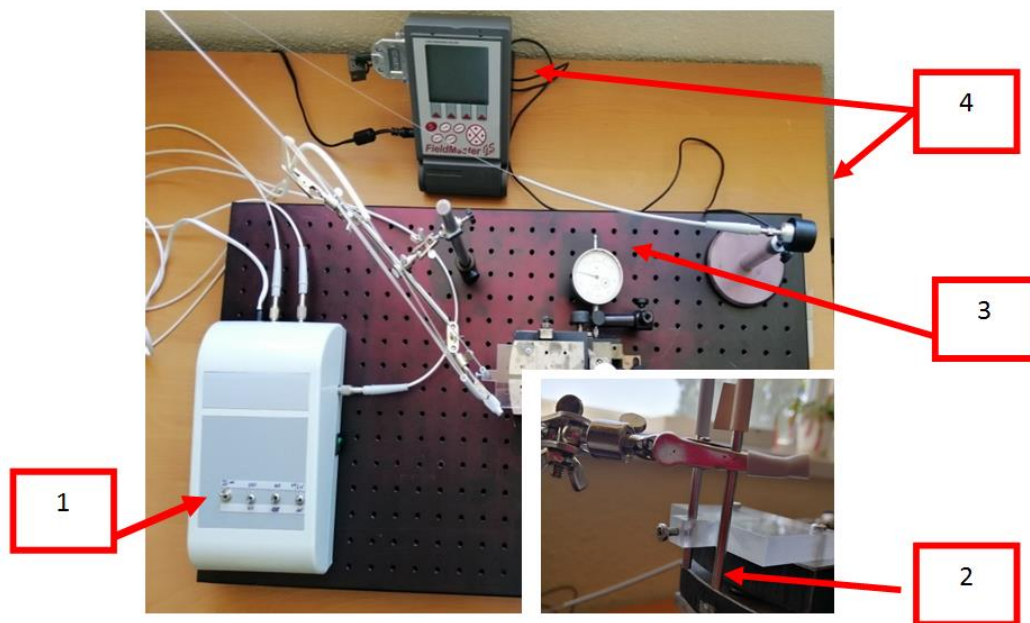


Рисунок 4.8 – Зовнішній вигляд експериментальної установки: 1 – лазерна система; 2 – волокна; 3 – часовий індикатор; 4 – пристрій для вимірювання та реєстрації потужності

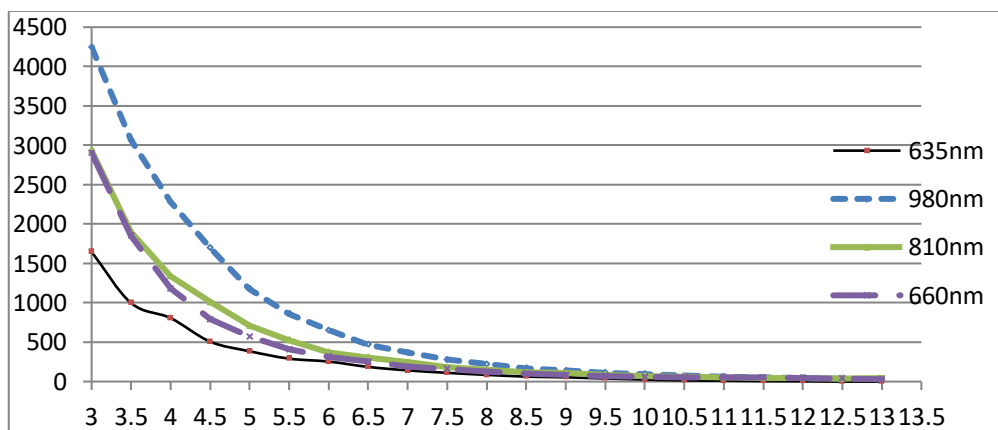


Рисунок 4.9 – Залежність потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання біологічною тканиною на виході приймального волокна від відстані між випромінювальним і примальним оптичними волокнами

Таким чином, проведена серія експериментів дослідження залежності дифузно відбитого випромінювання, прийнятого оптичним волокном, від відстані між випромінюючим і приймальним оптичними волокнами дозволила констатувати, що запропонований метод реєстрації зворотного дифузного

випромінювання можна реалізовувати в межах на узгодженості осей волокон не більше 10- 15 мм. У разі великих розмірів досліджуваної патологічної зони необхідно збільшувати кількість приймальних волокон, встановлювати приймальне волокно в межах патологічної зони або змінювати принципи фото детектування.

4.4 Експериментальна оцінка зміни рівня потужності зворотного дифузно відбитого біологічною тканиною в залежності від потужності підведеного до БО лазерного випромінювання

Матеріали і методи

Для проведення експериментальних досліджень було використано опромінюючо-вимірювальну установку (1). Лазер (1) (довжини хвиль 660, 810 нм) використовували для рівномірного опромінення зони (5) Відстань (L^*) між випромінюючим волокном (3) та реєструючим волокном (4) становить 5 мм. За допомогою оптичного волокна (4) реєстровані оптичні сигнали надходять до головки вимірювача потужності COHERENT FieldMasterqs LM-2VIS (10) з чутливістю 1 нВт і передаються до блоку реєстрації (2), електричний сигнал з якого в цифровому вигляді використовується для обробки результатів вимірів.

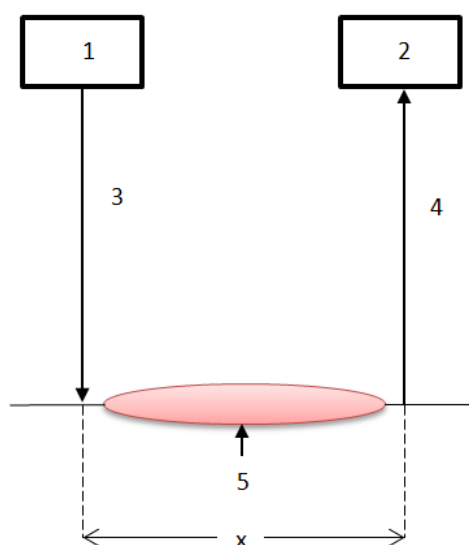


Рисунок 4.10 – Загальна схема установки для досліджень

Результати та обговорення

Залежність прийнятої потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання від потужності, що підводиться до біологічної зони лазерного випромінювання наведені на рис. 4.11.

З графіків випливає, що зростання значень випромінювання, яке підводиться призводить до збільшення потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання. Разом з тим, залежність не прямо пропорційна. Так, зміна потужності оптичного випромінювання з довжиною хвилі 660 нм на вході біологічної зони в 10 разів приводить до зростання потужності ТДВ в 3,4 – 5,7 рази. Аналогічна десятикратна зміна потужності оптичного випромінювання з довжиною хвилі 810нм призводить до зростання потужності ТДВ в 6,1 рази.

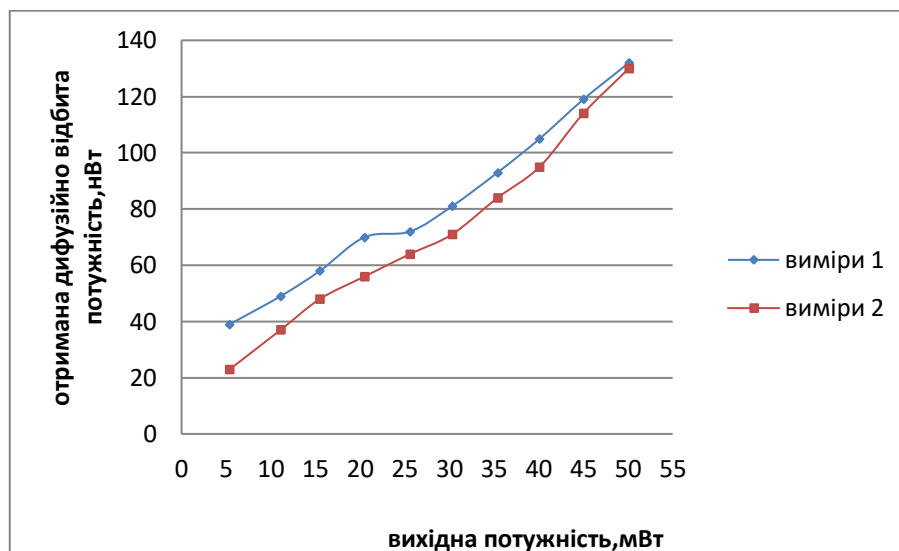


Рисунок 4.11 – Залежність прийнятої потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання від потужності

Таким чином, в експеримент *in vivo* значення дифузно відбитого випромінювання, введенного в моноволокно при прийнятних для проведення НМС рівнях потужності оптичного випромінювання, що підводяться до БО лежать в діапазоні десятків nW. Збільшення рівня дифузно відбитого випромінювання, подведеного до фотоприймача при незмінній відстані між передавачем і прийомним оптичним волокном може бути досягнуто за рахунок

збільшення волокон на прийомі, збільшення діаметрів оптичних волокон, застосування волокон з більшою числовою апертурою.

4.5 Експериментальна оцінка можливості застосування оптичної тканинної оксиметрії при аналізі реакції мікроциркуляції на холодову навантажувальну пробу

Мета

Експериментальне підтвердження ефективності застосування оптичної тканинної оксиметрії методом спектроскопії зворотного дифузного відбиття при аналізі реакції системи мікроциркуляції крові на холодову навантажувальну пробу.

Матеріали і методи. Для проведення експериментальних робіт була зібрана установка (рис. 4.12), що складається з джерела лазерного випромінювання 1, що передає оптичного волокна 2, дистального наконечника 3, приймального оптичного волокна 4, приймальної головки вимірювача оптичної потужності 5, електронного блоку вимірювача оптичної потужності COHERENT Field Master 6, мідної гільзи 7, термопари 8 мультиметра UT139C 9.

Дистальний наконечник виконаний з діелектричного матеріалу і має кілька отворів (рис. 4.13). Наскрізний отвір дистального наконечника забезпечує відносно вільне розміщення мідної гільзи, в зміщених отворах жорстко фіксуються кінці передавального і приймального волокон. У корпусі дистального наконечника виконано кілька зміщених отворів. Це забезпечує можливість розміщення передавального і приймального волокон в наконечнику з різними відстанями між їх осями. Контактна торцева поверхня дистального наконечника має виступи, що дозволяють фіксувати наконечник на поверхні біологічного об'єкту.

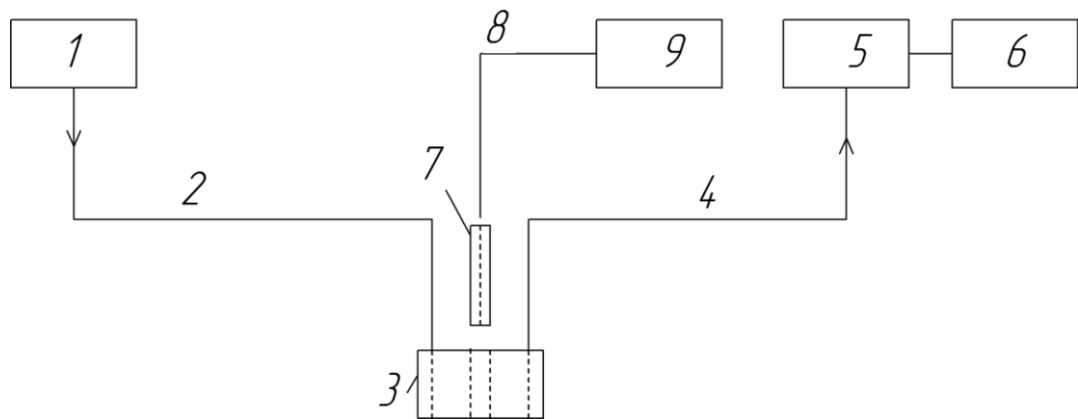


Рисунок 4.12 – Схема експериментальної установки (1 – лазер, 2 – волокно, 3 – установка для волокна, 4 – волокно, 5 – головка вимірювача потужності, 6 – вимірювач потужності Coherent Field Master, 7 – капсула з льодом, 8 – термодатчик, 9 – мультиметр)

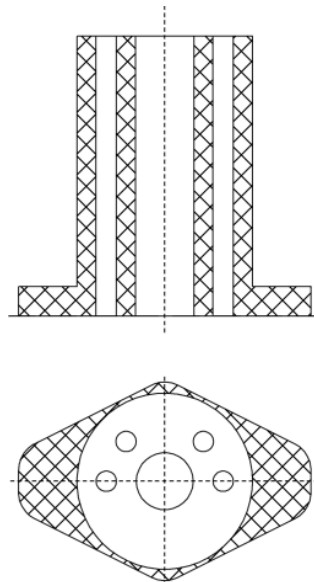


Рисунок 4.13 – Дистальний наконечник

Як джерела лазерного випромінювання використовувалися лазерні діодні модулі на основі лазерних діодів 980 – 5000 С (980 нм), ULD808200N4T (810 нм), UL63603TG (635 нм). Модулі мають штатні оптичні роз'єднувачі для забезпечення роз'ємного приєднання вхідного кінця передавального оптичного волокна, заведеного в конекторі SMA – 905. Вихідний кінець оптичного волокна заведений в циліндричну втулку зовнішнім діаметром 3 мм (відповідним внутрішньому діаметру зміщених отворів дистального наконечника). У таку ж втулку заведений і вхідний кінець приймального

оптичного волокна. Вихідний кінець приймального оптичного волокна заведений в конектор SMA – 905 і роз'ємно приєднаний до приймальної головки вимірювача потужності оптичного випромінювання. У випадку і приймального, і передавального волокна використовувалися оптичні волокна типу «кварц – полімер» діаметром серцевини 600 мкм, числовою апертурою $0,3 \pm 0,03$ і довжиною 1500 ± 50 мм.

Вихідний кінець передавального і вхідний кінець приймального оптичних волокон були встановлені в зміщених отворах дистального наконечника з відстанню між осями волокон 7 мм. Дистальний наконечник розміщувався на поверхні руки. Протягом 400 с виконувалося низькоінтенсивний лазерний вплив на тканину і реєструвалася потужність дифузно відбитого оптичного випромінювання.

Через деякий час вплив повторювали, але на другій хвилині в осьовий отвір наконечника акуратно вводили мідну гільзу з попередньо замороженими 0,5 мл води і продовжували фіксувати потужність дифузно відбитого випромінювання.

Оптичні впливи на тканину виконували з довжинами хвиль лазерного випромінювання 635 нм, 810 нм, 980 нм і потужностями на виході передавального оптичного волокна 70 мВт, 62 мВт і 73 мВт відповідно.

Окремо від оптичного впливу за допомогою термопари і мультиметра проводили оцінку зміни температури зовнішнього поверхні мідної гільзи при її розташуванні в осьовому отворі дистального наконечника і контакту з поверхнею руки.

Результати та обговорення

Результати вимірювань потужності зворотного дифузного відбитого випромінювання в часі наведені на рис. 4.14 – 4.16. Невелике зменшення потужності в процесі вимірювань можна пояснити збільшенням перфузії тканини під впливом низькоінтенсивного лазерного випромінювання.

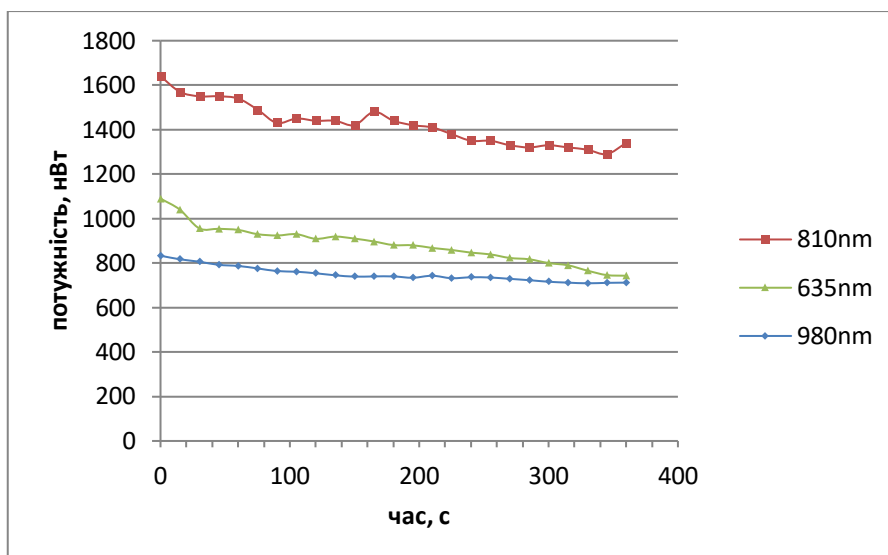


Рисунок 4.14 – Графік залежності потужності від часу без холодової проби (довжина хвилі 980нм,810нм,635нм, час 6хв)

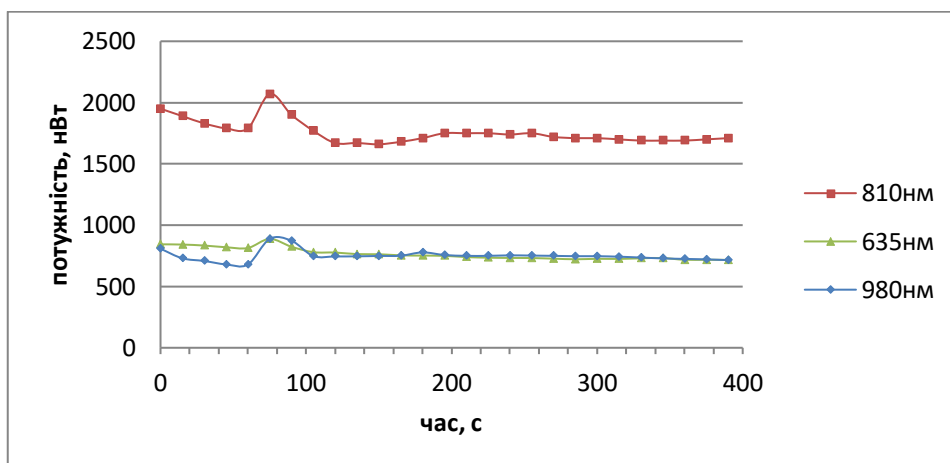


Рисунок 4.15 – Графік залежності потужності від часу з холодовою пробю (довжина хвилі 980нм, 810, 635нм, час 6хв)

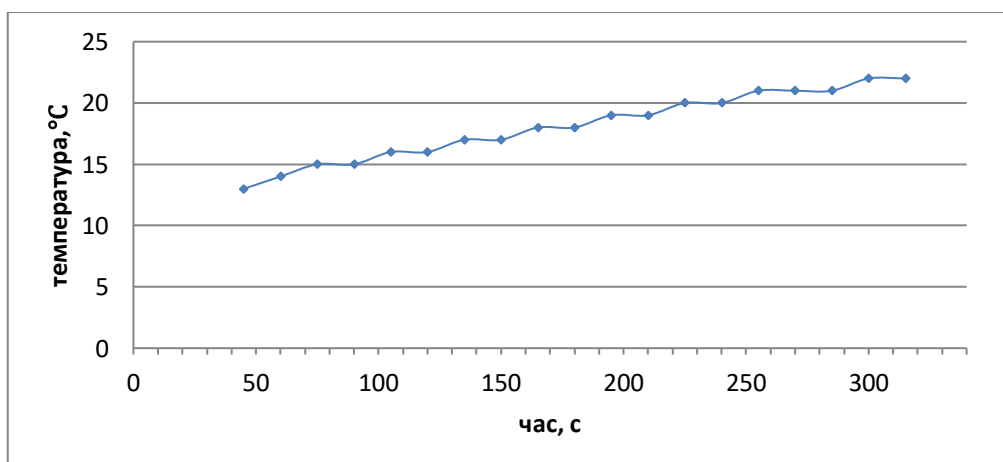


Рисунок 4.16 – Графік залежності температури від часу холодової проби (без лазерного випромінювання, час 6хв)

На всіх довжинах хвиль при проведенні холодової проби були зафіксовані зміни КДВ, що реєструвався (15 – 25% від початкового рівня (рис. 4.15)

Таким чином, оптична тканинна оксиметрія біологічних тканин методом СДВ дозволяє прослідкувати динаміку зміни мікроциркуляції в процесі проведення холодового навантаження (проби).

4.6 Експериментальна оцінка зміни вихідної потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання для моніторингу мікроциркуляції в процесі фотодинамічного впливу

Мета: експериментальне підтвердження можливості практичної реалізації оптичної тканинної оксиметрії пухлинної зони методом спектрометрії зворотного дифузного відбиття в процесі фотодинамічного впливу [157], [158], [159].

Матеріали та методи.

Експериментальна установка (рис. 4.17) складається з лазеру (1), лазеру (2), ПЗЗ спектрометру (3) і оптичних волокон (4 – 6). Лазер (1) (довжина хвилі 660 нм) призначений для активації фотодинамічного впливу в пухлинній зоні. Лазер (2) (довжина хвилі 635 нм) використовується для проведення зонduючого опромінення. Випромінювання лазерів виводиться через оптичні волокна (4) і (5). При цьому кінець оптичного волокна (4) віддаляється від зони впливу (7) на відстань, достатню для опромінення всієї зони. Кінець оптичного волокна (5) розміщується на краю пухлинної зони на мінімальній відстані (близько 1 мм) від поверхні. На протилежному краю зони з мінімальною відстанню від поверхні розміщується кінець оптичного волокна (6). Відповідний кінець оптичного волокна (6) підключається до входу ПЗЗ-спектрометра.

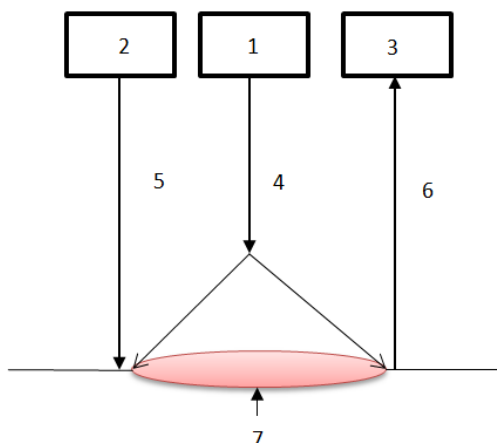


Рисунок 4.17 – Експериментальна установка

В експерименті використовувались миші лінії C57Bl/6 з прищепленою карциномою легенів Льюїс. Як фотосенсибілізатор (ФС) використовували препарат хлоринового ряду «Фотолон» з піками поглинання 405 нм і 660 нм. ФС вводився тваринам внутрішньовенно в концентрації 10 мг/кг. Тваринам контрольної групи пухлина не прищеплювалась і фотосенсибілізатор не вводився.

Потужність зонduючого випромінювання лазеру (2) регулювалась з розрахунку відсутності насичення при реєстрації ПЗЗ-спектрометром дифузно відбитого випромінювання. Для різних тварин вона коливалась в діапазоні від 1 до 3 мВт. Через 60 с після увімкнення зонduючого лазеру (2) з довжиною хвилі 635 нм вмикали лазер (1) з довжиною хвилі 660 нм. Вихідну потужність лазеру (1) регулювали для кожної миші індивідуально з розрахунку забезпечення щільності потужності в межах пухлинної зони 150 мВт/см^2 . Час опромінення пухлинної зони для всіх тварин складав 900 с (15 хв.). Через 60 с після вимкнення лазеру (1) вимикали зонduючий лазер (2). Дифузно відбите пухлинною зоною випромінювання лазера (2) протягом 1020 с (17 хв.) реєструвалося ПЗЗ-спектрометром. Випромінювання лазеру (1) (ліве крило спектральної характеристики випромінювання) на вході спектрометру відділялось за допомогою інтерференційного фільтру.

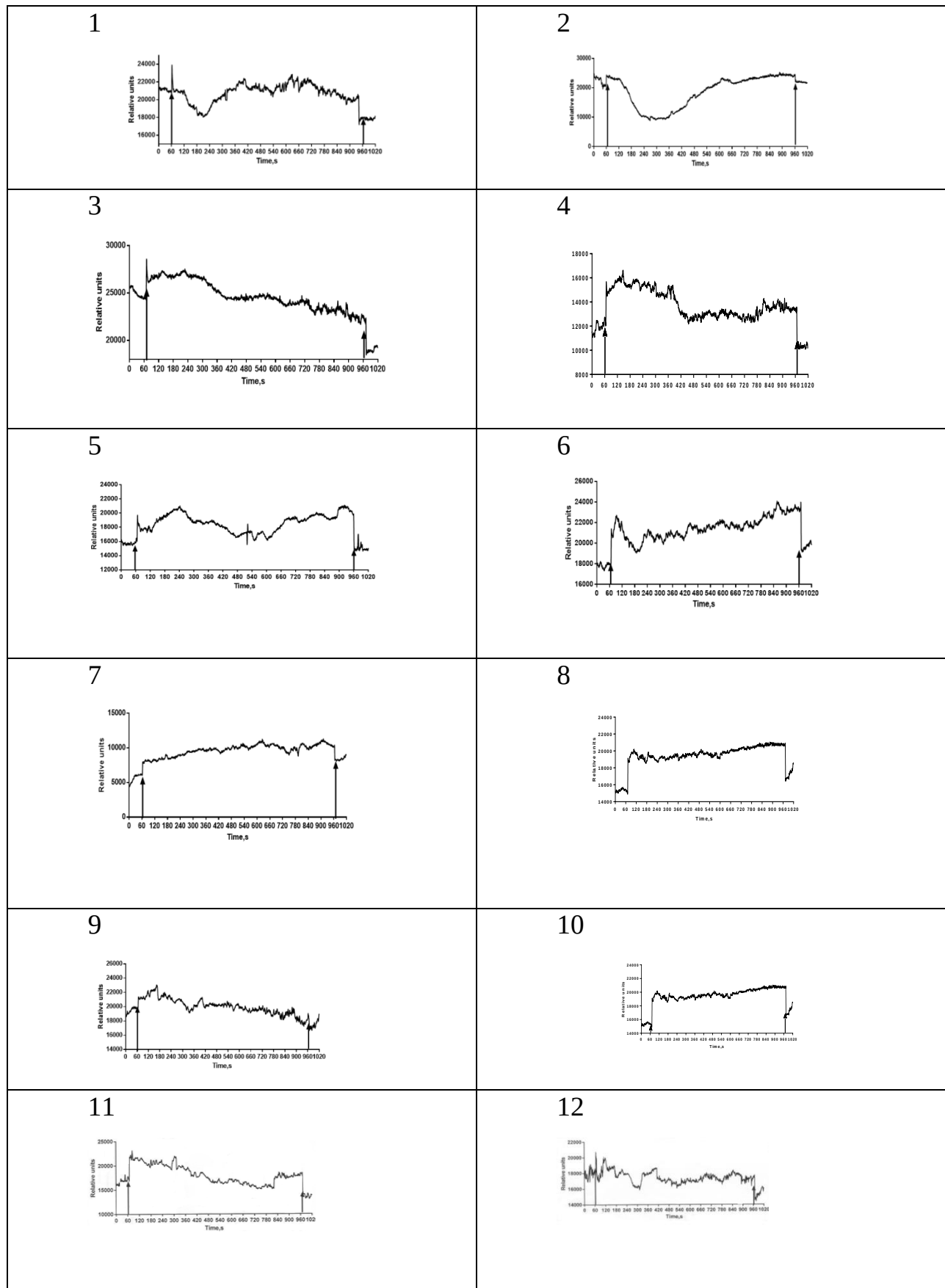


Рисунок 4.18 – Результати зміни потужності зворотного дифузного випромінювання (КДВ) протягом сеансу ФДТ

Результати та обговорення

Результати змін потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання на довжині хвилі 635 нм для всіх мишей з щепленими пухлинами та контрольної миші наведені на рис. 4.18.

Аналізуючи отримані залежності, можна зробити висновок про незначний вплив лівого крила спектру випромінювання діодного лазера (1) з реперною довжиною хвилі випромінювання 660 нм на показання ПЗЗ-спектрометра на довжині хвилі 635 нм. Показання не входять до насичення і це забезпечує можливість безперервного оптичного моніторингу пухлинної зони з використанням зондуючого випромінювання досить близького за спектром лазера (2) (довжина хвилі 635 нм) без відключення лазера (1) (довжина хвилі 660 нм), що запускає фотодинамічну реакцію.

У 8 з 11 тварин спостерігалось зменшення потужності зворотного дифузно відбитого випромінювання на початковому етапі після включення лазера 1 (довжина хвилі 660 нм). При цьому у 1,2, 6, 7, 8, 10 миші зменшення потужності спостерігається до 240 – 300с впливу, після чого настає зростання до близького до початкового рівня значення. Пояснити цей ефект можна локальним підвищенням температури і перфузії в гетерогенному мікрооточенні пухлинної тканини і подальшим можливим мікротромбозом, як результатом ефективного протікання ФДТ.

Таким чином, Оптична тканинна оксиметрія методом СДО дозволяє реалізувати моніторинг зміни мікроциркуляції в процесі фотодинамічного впливу.

4.7 Експериментальна оцінка зміни потужності введеного в оптичне волокно відбитого біологічною поверхнею оптичного випромінювання в залежності від рівня освітленості цієї поверхні

Мета: експериментальна оцінка зміни потужності введеного в оптичне волокно відбитого біологічною поверхнею *in vivo* оптичного випромінювання в залежності від рівня освітленості цієї поверхні.

Матеріали та методи

Схема експериментальної установки наведена на рис. 4.19

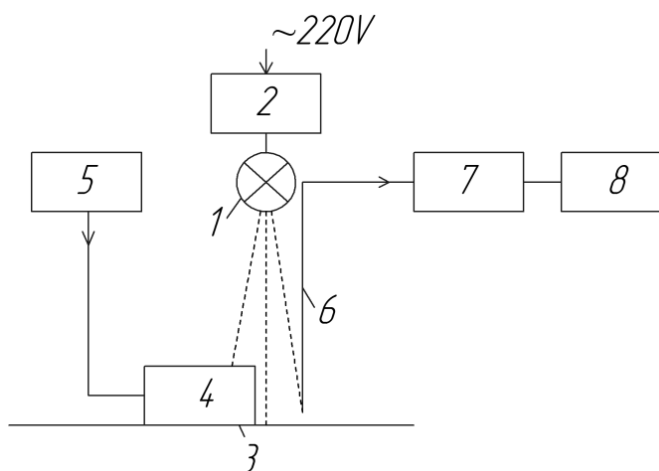


Рисунок 4.19 – Схема експериментальної установки

Оптичне випромінювання від джерела 1 (лампа розжарювання Б 230-100-11Е27), підключеного до мережі через регулятор потужності 2 (2500Вт / 220В), падає на біологічну поверхню 3. Рівень освітленості поверхні контролюється розміщенням на ній фотоелементом 4 і вимірювальним блоком 5 люксметра Ю117. Поруч з фотоелементом по нормалі до поверхні на невеликій (близько 1 мм) відстані від неї розташовується оптичне волокно 6 (діаметр серцевини 600мкм, тип «кварц – полімер», довжина 1500мм). Відповідний кінець оптичного волокна (оконцований конектором SMA-905) переміщується до приймальної головки 7 вимірювача оптичної потужності 8 (Coherent Field Master). Попередньо виміряний спектр випромінювання лампи приведений на рис. 4.20.

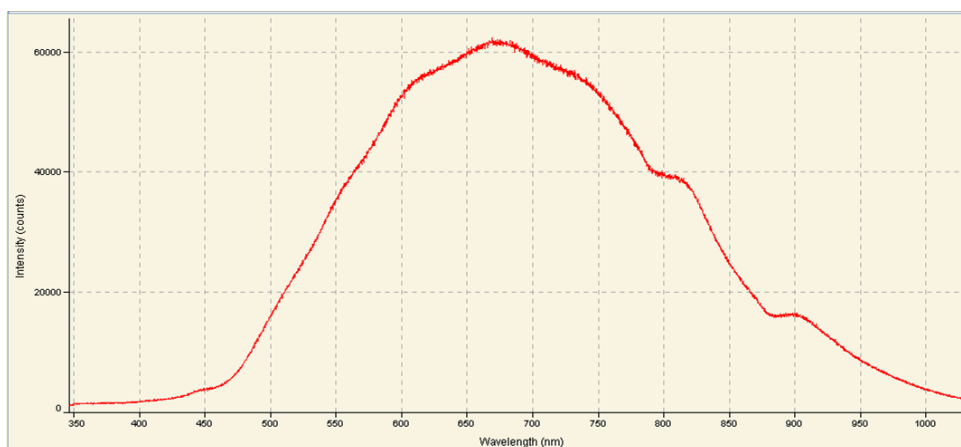


Рисунок 4.20 – Спектр випромінювання лампи розжарювання Б 230-100-11Е27

Результати і обговорення. Залежність потужності введеного в оптичне волокно відбитого біологічною поверхнею *in vivo* оптичного випромінювання від рівня освітлення цієї поверхні приведена на рис. 4.21.

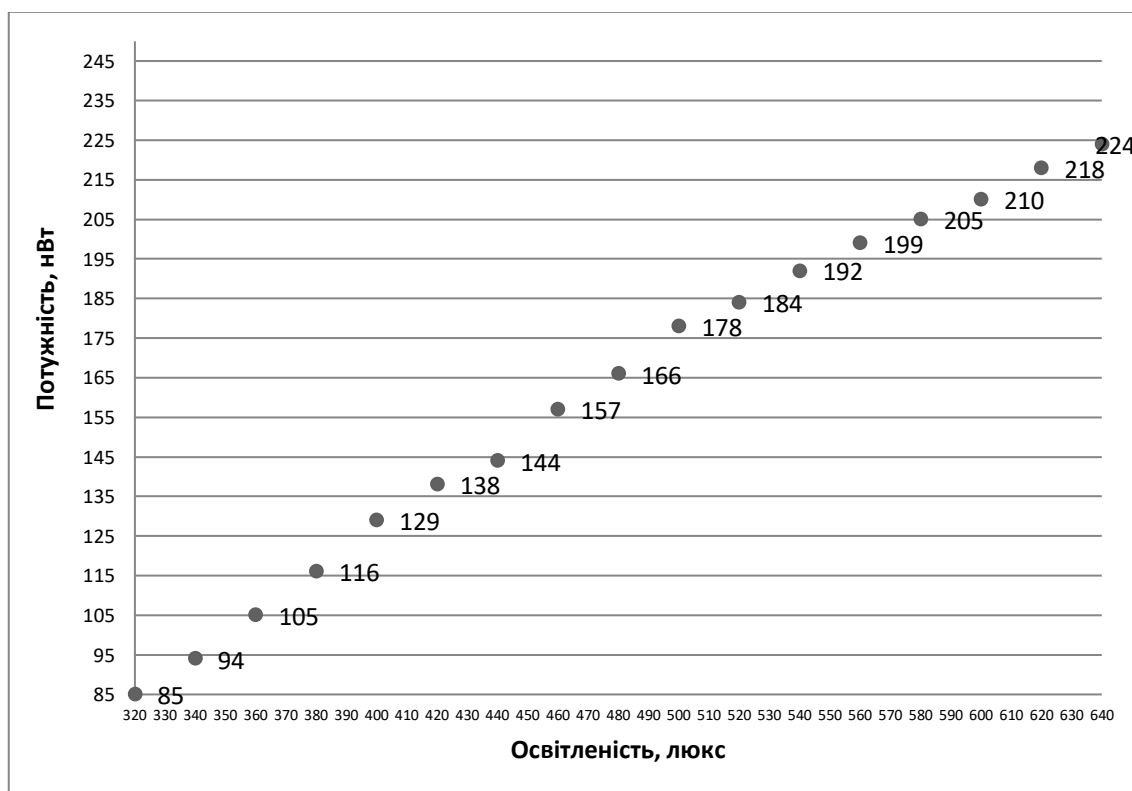


Рисунок 4.21 – Залежність потужності випромінювання від освітлюваності робочої зони

Таким чином, істотна зміна потужності фонового оптичного випромінювання на вході фотоприймача вимагає установки перед

фотоприймачами проектованого оптико-електронного приладу оптичних фільтрів з вузькими смугами пропускання

4.8 Експериментальна оцінка динамічного діапазону фотоприймача для оптичної оксиметрії в безперервному режимі роботи

Мета: експериментальне виявлення передавальної характеристики фотоприймача (рис. 4.22) в діапазоні потужності лазерного випромінювання від 1 нВт до 1000 нВт (діапазон оптичних потужностей зворотнього дифузного розсіяного випромінювання біологічним матеріалом при (стимулюванні) опромінюванні його лазерним випромінюванням, характерним для фотодинамічної терапії (ФДТ) з метою виявлення динамічного діапазону ФП.

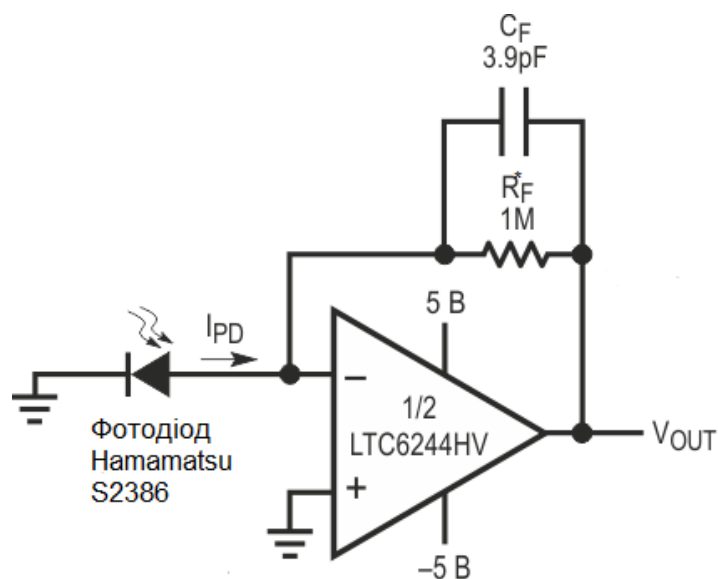


Рисунок 4.22 – Електрична схема фотоприймача

Матеріали і методи

Для проведення експериментальних досліджень було використано вимірювальну установку (рис. 4.23).

Оптичне випромінювання від лазера 1 з довжиною хвилі 660 нм заводилося в світловод (оптичне волокно діаметром 600 мкм, з одного кінця оформлено оптичним з'єднувачем SMA905 (2).

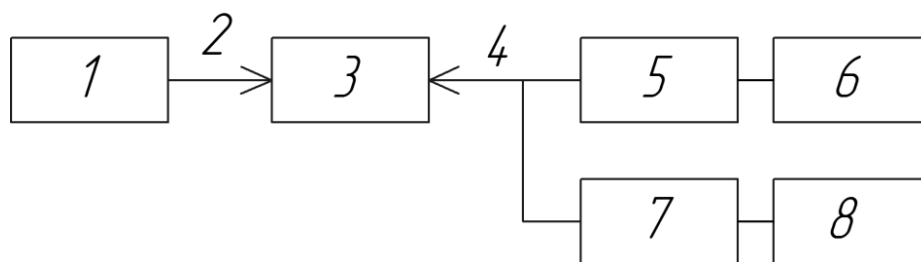


Рисунок 4.23 – Схема вимірювальної установки

Потужність оптичного випромінювання 70 ± 2 мВт. Дистальний (оголений) кінець оптоволокна світловоду 2 стаціонарно фіксувався на пристрої 3 (атенюатор). Дистальний кінець оптоволокна світловоду 4 також фіксувався на пристрої 3 на відстані 40 мм від кінця світловоду 2, таким чином, що оптичні вісі обох волокон співпадали (завдяки конструктивній канавці-проточці в атенюаторі 3). За допомогою мікроходового гвинта атенюатора 3 в проміжок між волокнами 2 і 4 вводився металевий клин, який поступово перекривав вхідну апертуру волокна 4, що дозволяло регулювати потужність, яка з оптичного волокна 2 могла потрапити в оптичне волокно 4.

Кінець оптичного волокна 4 (з'єднувач SMA905) по черзі під'єднувався до головки вимірювача потужності (5) COHERENT FieldMasterqsLM-2VIS (6) з чутливістю 1нВт або до оптичного входу фотоприймача 7 (з'єднувач SMA905), який був підключений до мультиметра 8 для отримання результатів.

Таким чином були отримано данні (Табл. 4.1) для побудови графіку залежності вихідної напруги ФП від вхідної оптичної потужності (передавальної характеристики фотоприймача).

Таблиця 4.1

нВт	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15
В	4,789	4,788	4,787	4,786	4,785	4,784	4,783	4,781	4,779	4,770

нВт	20	25	30	35	40	45	50	60	70	80
В	4,765	4,756	4,757	4,750	4,752	4,746	4,739	4,730	4,710	4,695

нВт	90	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
В	4,685	4,672	4,549	4,438	4,300	4,172	4,058	3,926	3,800	3,688	3,560

Результати та обговорення

Залежність вихідної напруги ФП від оптичної потужності на вході фотоприймача (передавальна характеристика фотоприймача) приведена на рис. 4.24.

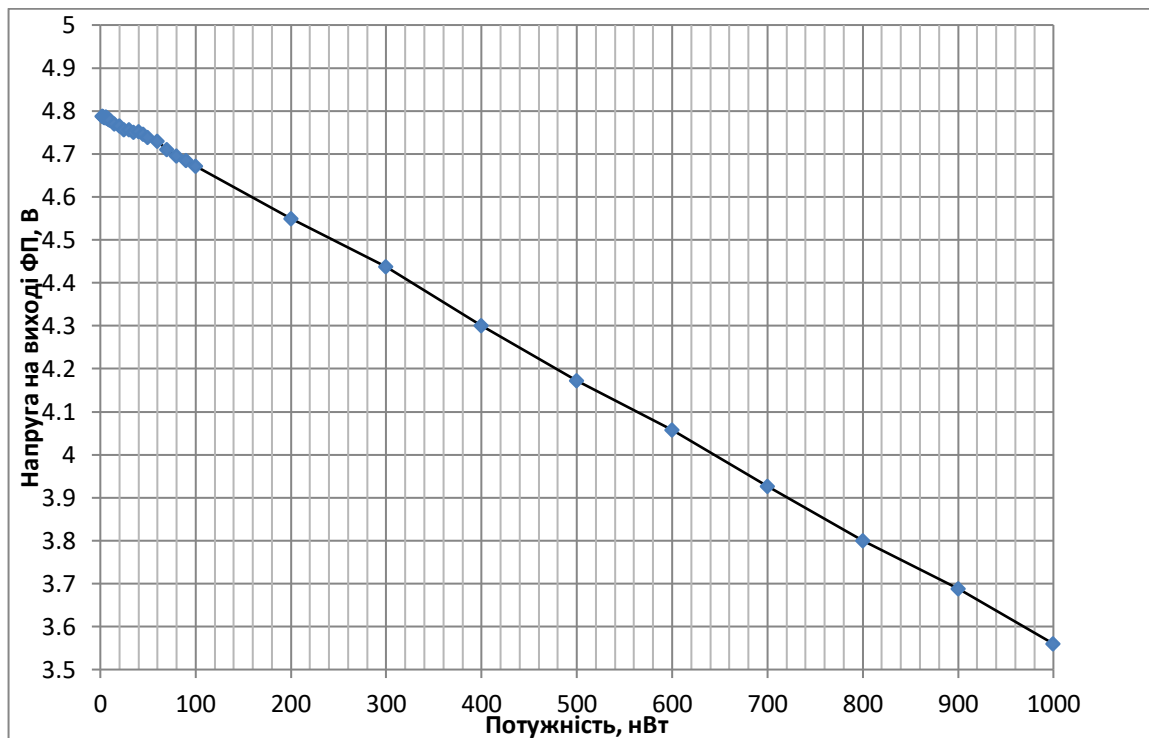


Рисунок 4.24 – Передавальна характеристика ФП

З наведеного графіку очевидно, що в діапазоні оптичних потужностей від 1 нВт до 1000 нВт (діапазон оптичних потужностей зворотнього дифузного розсіяного випромінювання біологічним матеріалом при опроміненні його лазерним випромінюванням, характерним для ФДТ) передавальна характеристика ФП лінійна. Зміна потужності на вході ФП від 1 до 1000 нВт викликає зміну напруги на виході ФП від 4,8 В до 3,6 В. Тобто маємо роздільну здатність ФП не гіршу 1мВ/нВт (1,2 В : 1000 нВт).

Аналогові входи сучасних мікроконтролерів мають достатню чутливість для вимірювання таких напруг. Так, наприклад, мікроконтролер STMF103 від фірми STMicroelectronics має вбудований АЦП з розрядністю 12 біт. Навіть при максимально можливій вхідній напрузі 3,6 В його роздільна здатність буде не гірше 1 мВ ($3,6 \text{ В} : 2^{12}$). При введенні в схему ФП підсилювального каскаду на

незадіяній половині мікросхеми LTC6244HV з коефіцієнтом підсилення від 3 до 6 раз можливо використання АЦП з меншою розрядністю.

Таким чином, фотоприймач з такою чутливістю і роздільною здатністю уможливорює створення приладів для ФДТ з параметрами, які дозволять мінімізувати оптичні потужності лазерного випромінювання для моніторингу мікроциркуляції..

Таким чином, сучасна елементна база мікроелектроніки (фотодіод S2386-18K фірми HAMAMATSU і операційний підсилювач LTC6244HV фірми Linear Technology Corporation увімкнутий по схемі перетворювача «струм - напруга») дозволяє створити ефективні фотоприймачі дифузно відбитого біологічною тканиною випромінювання.

4.9 Експериментальна оцінка динамічного діапазону фотоприймача для оптичної оксиметрії в імпульсному режимі

Мета: перевірка заданих технічних характеристик обраного фотоприймача на базі фотодіода S2386-18K в імпульсному режимі.

Матеріали і методи

Для проведення експериментальних досліджень було використано вимірювальну установку (рис. 4.25). Довжина імпульсу – 50 мс. Особливістю лазера (1) є його можливість працювати і в безперервному режимі, і в імпульсному режимі.

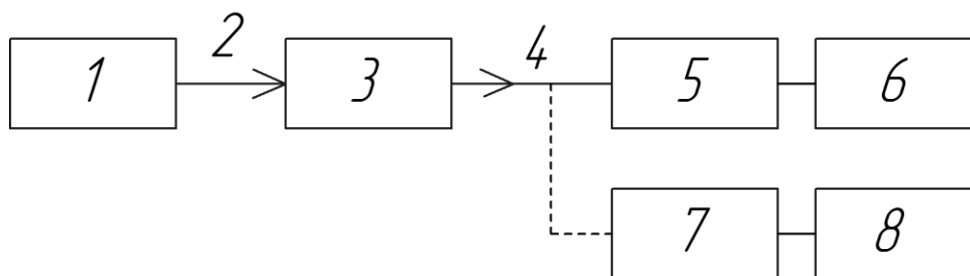


Рисунок 4.25 – Схема вимірювальної установки

Оптичне випромінювання від лазера (1) з довжиною хвилі 660 нм заводилося в світловод (2) (оптичне волокно діаметром 600 мкм, з одного кінця оформлено оптичним з'єднувачем SMA-905). Потужність оптичного випромінювання 350 ± 2 мВт. Дистальний (оголений) кінець оптоволоконна світловоду (2) стаціонарно фіксувався на пристрої (3) (атенюатор) відповідним затискачем. Дистальний кінець оптоволоконна світловоду (4) також фіксувався на пристрої (3). За допомогою атенюатора (3) регулювалась потужність, яка з оптичного волокна 2 могла потрапити в оптичне волокно (4). Кінець оптичного волокна (4) (з'єднувач SMA905) по черзі під'єднується до головки () (LM-2VIS) з чутливістю 1 нВт, яка входить до комплекту вимірювача потужності (6) COHERENT FieldMasterqs LM-2VIS або до оптичного входу ФПП 7 (з'єднувач SMA-905). При чому, коли волокно (4) приєднується до головки (5), то лазер (1) повинен працювати в безперервному режимі. Після встановлення величини оптичної потужності на виході атенюатора (3) лазер перемикається в імпульсний режим і волокно (4) приєднується до оптичного входу ФПП (7).

Результати та обговорення

Таблиця 4.2

Діапазони задіяних оптичних потужностей на вході ФП					
Від 10 до 45 нВт		Від 50 до 100 нВт		Від 200 до 1000 нВт	
нВт	Вихід ФП, В	нВт	Вихід ФП, В	нВт	Вихід ФП, В
10	0,072	50	0,28	200	1,20
15	0,092	60	0,38	300	2,00
20	0,128	70	0,56	400	2,40
25	0,136	80	0,58	500	3,04
30	0,152	90	0,70	600	3,32
35	0,208	100	0,74	700	3,68
40	0,232	-		800	4,52
45	0,256	-		900	5,24
-		-		1000	5,44

Для вимірювання амплітуди імпульсів на виході ФПП задіяний осцилограф Hantek DSO5072P (8).

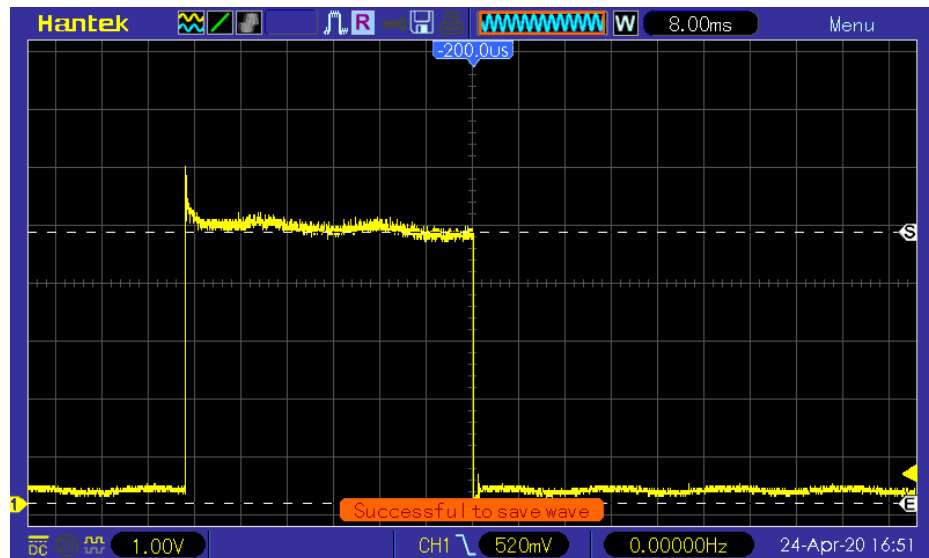


Рисунок 4.26 – Відображення імпульсу на осцилографі

Отримані результати представлені в Табл. 4.2. Оскільки діапазон вихідної напруги імпульсів на виході ФПП коливається в межах від одиниць мілівольт до 5 тисяч мілівольт, виникала необхідність багатократного перемикавання діапазону вимірювання (чутливості) осцилографу в процесі проведення вимірів у всьому діапазоні вхідної оптичної потужності з метою синхронізувати імпульс на екрані приладу та отримати зручний розмір осцилограми імпульсу (рис. 4.26) для його оцінювання. Це сприяло збільшенню похибки вимірювань та розкиду результатів вимірювань в обидва боки від уявної ідеальної прямої залежності вихідної напруги ФПП від вхідної оптичної потужності.

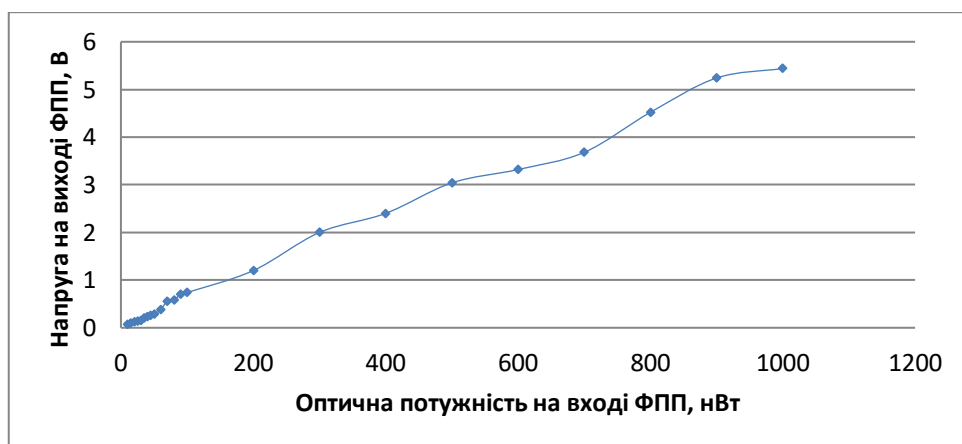


Рисунок 4.27 – Виявлення динамічного діапазону ФПП при імпульсному режимі

Незважаючи на неідеальну форму отриманої залежності вихідної напруги ФПП від вхідної оптичної потужності можна стверджувати, що вказаний ФПП можна використовувати і в імпульсному режимі (рис.4.27) при умові вимірювання амплітуди імпульсів на виході ФПП спеціалізованим мікропроцесорним вимірювачем (мікропроцесор + аналоговоцифровий перетворювач) з певною математичною обробкою результатів вимірювання. Так, наприклад, мікроконтролер STM32F446RE від фірми STMicroelectronics має вбудований АЦП з розрядністю 12 біт зі швидкодією 1мкс. Таким чином при наведеній довжині імпульсу 50 мкс стає можливим проведення приблизно до 40 вимірювань з врахуванням необхідного відступу від переднього та заднього фронтів імпульсу.

Висновок до 4 розділу

- 1 Було експериментально підтверджено, що оптична тканинна оксиметрія біологічних тканин методом спектроскопії дифузного відбиття дозволяє простежити динаміку зміни параметрів мікроциркуляторного русла в процесі проведення холодкових навантажувальних проб.
- 3 Проведено серію експериментальних досліджень щодо динаміки накопичення ФС в пухлині у порівнянні зі здоровою тканиною (подушечка задньої кінцівки тварини без пухлини) та його рівень після ФДТ. На рис. 16 показано динаміку накопичення ФС та його рівень після ФДТ в пухлині і нормальних тканинах. Проведено динамічний моніторинг концентрації ФС в пухлині та нормальних тканинах дає можливість індивідуалізованого визначення в режимі реального часу максимального накопичення ФС у тканині-мішені, а також контрасту його флюоресценції відносно здорових тканин.
- 4 Представлені результати свідчать про можливість використання оптичної спектроскопії з застосуванням світловодів для оцінки динаміки накопичення ФС в пухлині та нормальних тканинах, а також для визначення рівня його фотодеструкції підчас лазерного опромінення при ФДТ.
- 5 Проведена серія експериментів дослідження залежності потужності дифузно-відбитого випромінювання, прийнятого оптичним волокном, від відстані між випромінюючим і приймальним оптичними волокнами, дозволила констатувати, що запропонований метод реєстрації зворотного дифузного випромінювання біологічним середовищем *in vivo* видимого та ближнього інфрачервоного діапазону можна реалізувати в межах неузгодженості осей випромінюваного і приймального волокна не більше 10-15 мм. Зроблено висновок, що у разі великих лінійних розмірів досліджуваної патологічної зони необхідно збільшувати кількість приймальних оптичних волокон, встановлювати приймальне волокно в межах патологічної зони або змінювати принципи фотодетектування.

Основні наукові результати розділу опубліковані у працях [12], [14], [18], [21], [23].

ВИСНОВКИ

- 1 Для проведення діагностики найбільш оптимальними визначено методи оптичної тканинної оксиметрії із необхідним програмним забезпеченням. Такі методи оптичної неінвазивної медичної спектрофотометрії добре поєднуються з різними функціональними тестами – стресорними пробами (холодова, оптично-енергетична і т.п.), які дозволяють оцінювати можливі реакції мікроциркуляторного русла на подібні дії.
- 2 З використанням запропонованої математичної моделі системи гомеостазу підтримання оксигенації тканини після імпульсної дії стресора визначені граничні умови адаптивної реакції, що стосовно ФДТ висвітлює залежність між щільністю потужності опромінення та спроможністю підтримувати адекватну оксигенацію тканини.
- 3 На основі реалізації розробленої математичної моделі в системі імітаційного комп'ютерного моделювання SIMULINK програмного середовища MATLAB сформульовані вимоги щодо формалізації технічних рекомендацій при розробці оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин, а також викладені експлуатаційні характеристики окремих його компонентів.
- 4 Запропонований метод проведення додаткового прогностичного навантаження (проби) з використанням оксиметричного критерію оцінки відгуку на фотодинамічний вплив дає можливість автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного опромінення при ФДТ пухлин.
- 5 Розроблено оптико-електронний прилад, що забезпечує оптичний контроль на всіх етапах ФДТ кінетики накопичення і поточного рівня ФС в зоні пухлини, а також контрасту накопичення зі здоровими тканинами, ступеню оксигенації тканин в пухлинній зоні, впливу на пухлину оптичним випромінюванням з довжиною хвилі, яка відповідає довгохвильовому піку поглинання застосовуваного ФС, з тимчасовими і

енергетичними параметрами, що враховують показники оптичного контролю з подальшою оксиметрично-корегованою фотодинамічною терапією пухлин.

- 6 Проведене експериментальне оцінювання залежності потужності зворотного дифузно випромінювання від потужності, що підводиться до біологічної зони лазерного випромінювання, доводить можливість застосування оптичної тканинної оксиметрії для відстеження динаміки параметрів мікроциркуляторного русла в процесі проведення навантажувальних проб.
- 7 Результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес Вінницького національного технічного університету, у ПП «Фотоніка Плюс» — оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин та алгоритм роботи, що підтвердило раціональність поєднання терапевтичної та діагностичної частин у межах однієї системи, також результати дисертаційної роботи рекомендовані до впровадження в Державній установі "Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова Національної академії медичних наук України".

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal. *Cancer Clin.* 2020, 70: 7–30. doi: 10.3322/caac.21590
- [2] М.П. Романів. Медико-статистична оцінка статеві-вікової структури захворюваності та смертності від онкологічних захворювань в Україні, *Вісник наукових досліджень*. 2017, № 1: 85–90.
- [3] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018, 68: 394–424. doi: 10.3322/caac.21492
- [4] C.D. Mathers, D. Loncar. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PloS Med.* 2006, 3: 2011–30. doi: 10.1371/journal.pmed.0030442
- [5] J.A. Trapani, P.K. Darcy. Immunotherapy of cancer. *Aust. Fam. Physician.* 2017, 46(4): 194–199.
- [6] B.A. Carneiro, W.S. El-Deiry. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2020, 17: 395–417. doi: 10.1038/s41571-020-0341-y
- [7] R. Falk-Mahapatra, S.O. Gollnick. Photodynamic therapy and immunity: An update. *Photochem. Photobiol.* 2020, 96(3): 550–559. doi: 10.1111/php.13253
- [8] M. Wachowska., A. Muchowicz U. Demkow. Immunological aspects of antitumor photodynamic therapy outcome. *Central-European journal of immunology*, 2015, 40: 481–485.
- [9] B.W. Henderson, S.O. Gollnick, J.W. Snyder T.M. Busch, P.C. Kousis, R.T. Cheney, J. Morgan. Choice of oxygen-conserving treatment regimen determines the inflammatory response and outcome of photodynamic therapy of tumors. *Cancer Res.*, 2004, 64: 2120–2126.
- [10] A.S. Vignion-Dewalle, N. Betrouni, J.B. Tylcz, M. Vermandel, L. Mortier, S. Mordon, Comparison of three light doses in the photodynamic treatment of

- actinic keratosis using mathematical modeling. *J. Biomed. Opt.*, 2015, 20(5): 58001. doi: 10.1117/1.JBO.20.5.058001.
- [11] S. Mordon, C. Cochrane, J.B. Tylcz, N. Betrouni, L. Mortier, V. Koncar. Light emitting fabric technologies for photodynamic therapy. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2015, 12: 1–8.
- [12] B.W. Henderson, T.M. Busch, J.W. Snyder. Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms. *Lasers Surg. Med.*, 2006, 38:4 89–493.
- [13] T. Suzuki, M. Tanaka, M. Sasaki, H. Ichikawa, H. Nishie, H. Kataoka. Vascular shutdown by photodynamic therapy using talaporfin sodium. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9): 2369. doi:10.3390/cancers12092369
- [14] D.J. Rohrbach, N. Rigual, E. Tracy, et al. Interlesion differences in the local photodynamic therapy response of oral cavity lesions assessed by diffuse optical spectroscopies. *Biomed Opt Express*, 2012, 3(9): 2142–2153. doi:10.1364/BOE.3.002142
- [15] L. Larue, B. Myrzakhmetov, A. Ben-Mihoub, et al. Fighting hypoxia to improve PDT. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2019, 12(4): 163. doi: 10.3390/ph12040163
- [16] R.R. Allison, K. Moghissi. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms. *Clin. Endosc.*, 2013, 46 (1): 24–29. doi:10.5946/ce.2013.46.1.24
- [17] A.F. dos Santos, D.R.Q. de Almeida, L.F. Terra, M.S. Baptista, L. Labriola. Photodynamic therapy in cancer treatment – an update review. *J. Cancer Metastasis Treat.*, 2019, 5: 25. doi: 10.20517/2394-4722.2018.83
- [18] G.A. Wagnieres, W.M. Star, B.C. Wilson. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochem. Photobiol.*, 1998, 68: 603–632.
- [19] B.W. Henderson, T.J. Dougherty. How does photodynamic therapy work? *Photochem. Photobiol.*, 1992, 55: 145–157.
- [20] C.S. Foote. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem. Photobiol.*, 1991, 54: 659.

- [21] K. Plaetzer, B. Krammer, J. Berlanda, F. Berr, T. Kiesslich. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: Fundamental aspects. *Lasers Med. Sci.*, 2009, 24: 259–268.
- [22] C. Avendaño, J.C. Menéndez. Anticancer drugs acting via radical species. In: Medicinal chemistry of anticancer drugs. Ed. C. Avendaño and J.C. Menéndez. *Boston: Elsevier*, 2015: 133–195. doi:10.1016/b978-0-444-62649-3.00004-1
- [23] A.J. Sorrin, M. Kemal Ruhi, N.A. Ferlic, V. Karimnia, W.J. Polacheck, J.P. Celli, H.-C. Huang Rizvi. Photodynamic therapy and the biophysics of the tumor microenvironment. *Photochem. Photobiol.*, 2020, 96: 232–259. doi: 10.1111/php.13209
- [24] R. Falk-Mahapatra, S.O. Gollnick. Photodynamic therapy and immunity: An update. *Photochem. Photobiol.*, 2020, 96: 550–559. doi: 10.1111/php.13253
- [25] Q. Peng, J.M. Nesland. Effects of photodynamic therapy on tumor stroma. *Ultrastruct. Pathol.*, 2004, 28: 333–340.
- [26] B.W. Henderson, T.J. Dougherty. How does photodynamic therapy work? *Photochem. Photobiol.*, 1992, 55: 145–157.
- [27] V. Hofmeister, D. Schrama, J.C. Becker. Anti-cancer therapies targeting the tumor stroma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2008, 57: 1–17.
- [28] V. Mashayekhi, C.O'. Hoog, S. Oliveira. Vascular targeted photodynamic therapy: A review of the efforts towards molecular targeting of tumor vasculature. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 2019 23(11-12): 1229–1240. doi: 10.1142/s1088424619300180.
- [29] H. Maeda, H. Nakamura, J. Fang. The epr effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2013, 65: 71–79.
- [30] M.R. Hamblin, E.L. Newman. On the mechanism of the tumour-localising effect in photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol.*, 1994, 23: 3–8.
- [31] R.W. Boyle, D. Dolphin. Structure and biodistribution relationships of photodynamic sensitizers. *Photochem. Photobiol.*, 1996, 64: 469–485.

- [32] A.P. Castano, T.N. Demidova, M.R. Hamblin. Mechanisms in photodynamic therapy: Part three-photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2005, 2: 91–106.
- [33] A. Akopov, G. Papayan. Photodynamic theranostics of central lung cancer: Present state and future prospects. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2021. 33: 102203. doi: 10.1016/j.pdpdt.2021.102203.
- [34] X. Zhou, B.W. Pogue, B. Chen, et al. Pretreatment photosensitizer dosimetry reduces variation in tumor response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2006, 64(4): 1211–20. doi: 10.1016/j.ijrobp.2005
- [35] Y.H. Ong, J. Miller, M. Yuan, et al. Blood flow measurements enable optimization of light delivery for personalized photodynamic therapy. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6): 1584. doi:10.3390/cancers12061584
- [36] A.P. Castano, T.N. Demidova, M.R. Hamblin. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagn. Photodynamic Ther.*, 2004, 1(4): 279–293. doi: 10.1016/S1572-1000(05)00007-4.
- [37] L. Brancalion, H. Moseley. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Lasers Med. Sci.*, 2002, 17: 173–186.
- [38] B.W. Henderson, T.M. Busch, J.W. Snyder. Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms. *Lasers Surg. Med.*, 2006, 38: 489–493.
- [39] B.W. Henderson, S.O. Gollnick, J.W. Snyder, T.M. Busch, P.C. Kousis, R.T. Cheney, J. Morgan. Choice of oxygen-conserving treatment regimen determines the inflammatory response and outcome of photodynamic therapy of tumors. *Cancer Res.*, 2004, 64: 2120–2126.
- [40] S. Mordon, C. Cochrane, J.B. Tylcz, N. Betrouni, L. Mortier, V. Koncar. Light emitting fabric technologies for photodynamic therapy. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2015, 12: 1–8.
- [41] A.S. Vignion-Dewalle, N. Betrouni, J.B. Tylcz, M. Vermandel, L. Mortier, S. Mordon. Comparison of three light doses in the photodynamic treatment of

- actinic keratosis using mathematical modeling. *J. Biomed. Opt.*, 2015, 20 (5): 58001. doi: 10.1117/1.JBO.20.5.058001
- [42] H.W. Guo, L.T. Lin, P.H. Chen, M.H. W.T. Ho, Y.J. Huang, S.H. Lee Chiou, Y.S. Hsieh, C.Y. Dong, H.W. Wang. Low-fluence rate, long duration photodynamic therapy in glioma mouse model using organic light emitting diode (OLED). *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2015, 12: 504–510.
- [43] M. Price, L. Heilbrun, D. Kessel. Effects of the oxygenation level on formation of different reactive oxygen species during photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, 2013, 89: 683–686.
- [44] M. Krzykawska-Serda, J.M. Dąbrowski, L.G, Arnaut et al. The role of strong hypoxia in tumors after treatment in the outcome of bacteriochlorin-based photodynamic therapy. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014, 73: 239–51. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.05.003.
- [45] A. Casas, G. Di Venosa, T. Hasan, B. Al. Mechanisms of resistance to photodynamic therapy. *Curr. Med. Chem.*, 2011, 18: 2486–2515.
- [46] M.A. Luque-González, R.L. Reis, S.C. Kundu, D. Caballero. Human microcirculation-on-chip models in cancer research: Key integration of lymphatic and blood vasculatures. *Adv. Biosyst.* 2020, 4(7): e2000045. doi: 10.1002/adbi.202000045.
- [47] R.N. Pittman. Oxygen gradients in the microcirculation. *Acta Physiol. (Oxf)*. 2011, 202(3): 311–322. doi:10.1111/j.1748-1716.2010.02232.x
- [48] T.M. Busch. Hypoxia and perfusion labeling during photodynamic therapy. In: Gomer C.J., editor. *Photodynamic Therapy: Methods and Protocols. Volume 635. Humana Press; Totowa, NJ, USA.* 2010: 107–120.
- [49] B.W. Pogue, R.D. Braun, J.L. Lanzen, C. Erickson, M.W. Dewhirst. Analysis of the heterogeneity of pO₂ dynamics during photodynamic therapy with verteporfin. *Photochem Photobiol.* 2001, 74(5): 700–706.
- [50] А. Б. Шашлов. Основы светотехники / А. Б. Шашлов. – Москва: Логос, 2011. – 256 с. – (2).
- [51] Е. Ф. Странадко. Источники света для фотодинамической терапии / Е. Ф. Странадко, А. В. Армичев, А. В. Гейниц. // Т.15. – 2011. – №3. – С. 63–69.

- [52] Ф. Е. Шуберт. Светодиоды /Пер с англ. под ред. А.Э. Юновича. – Москва: М.: Физматлит, 2008, 500 с. – (2-е изд).
- [53] Laser focus world. // Westbrook Road. – 2016.
- [54] В.Д. Попов. Современные аспекты лазерной терапии/ Под ред. В.Д.Попова.-Черкассы: Вертикаль, издатель Кандич С.Г., 2011.-608с.,ил.
- [55] С.А. Блохин. Высокоскоростные полупроводниковые вертикально-излучающие лазеры для оптических систем передачи данных (обзор) / [С. А. Блохин, Н. А. Малаев, М. А. Бобров та ін.], *Письма в ЖТФ*. – 2017.
- [56] С. В. Москвин. Низкоинтенсивная лазерная терапия /С. В. Москвин, В. А. Буйлина. – Москва: ТОО "Фирма Техника", 2000. – 724 с.
- [57] ГОСТ 26599-85 «Системы передачи волоконно-оптические. Термины и определения»
- [58] Р. Р. Убайдуллаев. Волоконно-оптические сети / Р.Р. Убайдуллаев, Москва: Типография "ПОЛТЕКС", 1999. – 267 с.
- [59] Г. Элион. Волоконная оптика в системах связи / Г. Элион, Х. Элион. – Москва: перевод с англ. под ред. д-ра физ.-мат наук Е.М.Дианова, 1981. – 194 с. – (Издательство "МИР").
- [60] А. Мендес. Справочник по специализированным оптическим волокнам / А. Мендес, Т. Ф. Морзе. – Москва: Техносфера, 2012, 728 с. – (ISBN 978-5-94836-320-2).
- [61] Д.Б. Шумкова. Специальные волоконные световоды: учеб. пособие / Д.Б. Шумкова, А.Е. Левченко. – Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2011. – 178 с.
- [62] Экспериментальные и клинические аспекты фотодинамической терапии. Материалы научно-практического семинара с международным участием (15-16 марта 2013 г.), Черкаси: Вертикаль, 2013, 128 с., (ISBN 978-966-2783-10-0).
- [63] В. П. Минаев. Лазерные медицинские системы и медицинские технологии на их основе: Учебное пособие / В. П. Минаев. – Москва: Издательский дом "Интеллект", 2020. – 360 с.

- [64] В.В. Холін, В.М. Биченко, Л.В. Грищенко, О.М. Чепурна, «Індикатор потужності лазерного випромінювання», *Лазерна хірургія: матеріали науково-практичної конференції, Черкаси, 1-2 березня 2012 р., Черкаси, 2012.*, С. 250-253.
- [65] В.П. Минаев. Современные лазерные аппараты для хирургии и силовой терапии на основе полупроводниковых и волоконных лазеров / В.П., Минаев, К.М Жилин / М.: Издатель И.В. Балабанов, 2009, 48 с.
- [66] В. К. Бурилков. Биологическое действие лазерного излучения. *Кишинев, 1989*, 110 с.
- [67] О.Р. Шангина. Взаимодействие лазерного излучения с биологическими тканями / О.Р. Шангина, Р.Д. Гайнутдинова / Практическая медицина, 2019, Т.17, №1, С.24-27.
- [68] А.В. Беликов. Лазерные биомедицинские технологии (часть 1) / А.В. Беликов, А.В. Скрипник / Учебное пособие, Санкт-Петербург, 2008, 116 с.
- [69] А.Р. Евстигнеев. Применение полупроводниковых лазеров и светодиодов в медицине (научно-методический материал). – *Калуга: ЛАН РФ, 2000.* – 57 с.
- [70] R.A. London, M.E. Glynsky, G.B. Zimmerman, et al. Laser-tissue interaction modeling with LATIS, *Applied Optics*, 1997. V. 36, N 34. P. 9068-9074
- [71] W. F. Cheong, S. A. Prahl, A. J. Welch. “A Review of the Optical Properties of Biological Tissues”. // *IEEE J. Quant. Electr.*, 1990, 26, 2166.
- [72] Оптическая биомедицинская диагностика / Под ред. В.В.Тучина.– М.: Физматлит, 2007.
- [73] Lasers in dentistry: Separating science from hype / Dederich Douglas N., Bushick Ronald D., *JADA. February. Vol. 135*, 2004, pp. 204–211.
- [74] В.В. Тучин. Оптика биотканей: основы лазерной диагностики и дозиметрии. *Саратов: СГУ, 1997.* – 256 с.
- [75] В.В. Дунаевская., Д.А. Церковский, Т.Ф. Татарчук, И.В. Гончарук. Фотодинамическая терапия в клинической онкологии, *Клінічна онкологія*, 2020, Т. 10, № 3–4. (39–40), С. 120–127.

- [76] I. G. Meerovich, A. A. Stratonnikov, G. A. Meerovich, et al. In vivo evaluation of sensitizers for oncological diagnostics and therapy using the method of reflectance spectroscopy // *Current research on laser use in oncology: 2000-2003. Proc. SPIE.*, 2005., Vol. 5973., P. 59730 H1–H10.
- [77] М. А. Каплан, Г. В. Пономарев, Р. Ф. Баум и др. Изучение специфической фотодинамической активности Фотодитазина при фотодинамической терапии у экспериментальных животных-опухоленосителей // *РБЖ.*, 2003., Т. 2, № 4. – С.23–30.
- [78] S. Schreiber, S. Gross, A Brandis. et al. Local photodynamic therapy (PDT) of rat C6 glioma xenografts with Pd-bacteriopheophorbide leads to decreased metastases and increase of animal cure compared with surgery // *Int. J. Cancer.*, 2002, Vol. 99, P. 279–285.
- [79] И.Г. Меерович, Г.А. Меерович, Н.А. Оборотова, А.Ю Барышников. Распределение света по глубине опухолевого очага и эффективность использования терапевтического излучения при фотодинамической терапии, *Российский биотерапевтический журнал.*, 2006.,Т. 5, № 3., С. 93–97.
- [80] Methemoglobin formation during laser induced photothermolysis of vascular skin lesions / L.L. Randeberg [et. al.] // *Lasers Surg. Med.*, 2004. V.34, №5. P.414-419.
- [81] М.П. Самцов. Флуоресценция фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового красителя при фотохимиотерапии / М.П. Самцов [и др.] // *Журн. прикл. спектр.*, 2011. Т.78, №1. С.121-127.
- [82] Laser treatment of port wine stains: therapeutic outcome in relation to morphological parameters / E.I. Fiskerstrand [et. al.] // *British J. Dermatol.* 1996., V.134, №6. P.1039-1043.
- [83] Лысенко С.А., Методика контроля эффективности фототерапии биотканей /Лысенко С.А ., Кутейко М.М., Лисенкова А.М ., Фигаро В.А., Железнякова Т. А / *Вестник БГУ.*,2014., Сер.1, № 3. – С. 52-56.

- [84] Е. Ф. Странадо. Пятилетний опыт работы клинического применения фотодинамической терапии. / Е. Ф. Странадо, О. К. Скобелкин, А. Ф. Миронов. // *Всероссийская конф. с межд.участием.*, 1997., №15., С. 7–19.
- [85] Е. Ф. Странадо. Применение фотодинамической терапии для лечения гнойных ран / Е. Ф. Странадо, П. И. Толстых, У. М. Корабоев. // *Мат. межд. конф. "Лазер и здоровье-99"*, 1999. – С.418.
- [86] Е. Ф. Странадо. Изменение параметров лазерной фотодинамической терапии и эффективность лечения рака: *"Троицкая конф. "Медицинская физика и инновации в медицине" //Альманах клин.медицины.М.*, 2008. – С. 254.
- [87] Х.П. Берлиен. Прикладная лазерная медицина. Учебное и справочное пособие, (ред. Берлиен Х.П.; Мюллер Г.Й.), 1997. – 356 с.
- [88] Е. Ф. Странадо. Использование лазерных установок разных типов для ФДТ с производными хлорина еб / Е. Ф. Странадо, И. А. Залевский, М. В. Рябов. // *Мат III съезда фотобиологов России, Воронеж.*, 2001. – С. 212–213.
- [89] А.В. Армичев «Лазер на растворах красителей с накачкой лазером на парах меди и фототерапевтическая установка на их основе»: дис. канд.т.н.: ФГУП «НИИ» Полус им. Стельмаха И.Ф./ . – Москва. – 272 с.
- [90] В. В. Соколов. Лазерная медицинская установка "Кулон-мед" для научной и практической медицины. / В. В. Соколов, В. И. Чиссов, Н. М. Лепехин. // *Мат.науч.-практ.конф. "Современные достижения лазерной медицины и их применение в практ. здравоохранения" М.*, 2006. – С. 200–201.
- [91] В. В. Филатов Исследование возможности повышения эффективности фотодинамического воздействия на живые клетки путем изменения параметров светового облучения / В. В. Филатов. // *Молодежный научно-технический вестник.*, 2011, №10. УДК 577.344.3
- [92] Г. Н. Змиевской. Исследование эффективности фотодинамического воздействия на живые клетки при различных режимах светового облучения / Г. Н. Змиевской, В. В. Филатов. // *Инженерный вестник.* – 2012., №7., С. 1–4.

- [93] V.V Kholin, V. Voytsehovich, V. Popov, S. Pavlov, N. Gamaleia, and etc. «Photodynamic therapy with laser scanning mode of tumor irradiation», *Proc. International Society for Optics and Photonics. Optical Fibers and Their Applications*, 2015, Vol. 9816, P. 1-4.
- [94] В.В. Холін. «Розробка і перша апробація нового варіанту методу фотодинамічної терапії пухлин із застосуванням лазерного скануючого пристрою»,/ О.М.Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, В.В. Холін, Р.У. Ровіра, О.С. Камінський, М.Ф. Гамалія, *Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології*. – 2014. – Т № 1(27). – С. 128-131.- ISSN 1681-7893.
- [95] В.В. Холін. «Дослідження та розробка нових методів проведення фотодинамічної терапії з використанням лазерного випромінювання»,/ В.В. Холін, С.В. Павлов, С.Є. Тужанський, О.М. Чепурна, В.С. Войцехович, О.С. Камінський, А.М. Сахно, В.Д. Попов, С.О. Магдебурга, І.О. Штонь, М.Ф. Гамалія / *Фотобіол. Фотомед.*, 2014, №1-2, С. 101-104. - ISSN 2076-0612
- [96] В.В.Холін, В.С. Войцехович, Н.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна. «Лазерное сканирование в фотодинамической терапии», *Материалы 7-й международной студенческой конференции «Новые направления развития приборостроения», 23-25 апреля 2014, Беларусь, Минск, БНТУ 2014* – С. 248-249.
- [97] В.В. Холін, В.С. Войцехович, М.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна. «Пристрій для проведення фотодинамічної терапії шляхом лазерного сканування», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XXXXI Международной научно-практической конференции, / г.Харьков 28-31 мая, 2014 , Харків, 2014*, С.89-91
- [98] В.В.Холін, В.Д. Попов, В.С. Войцехович, М.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна. Патент на корисну модель 89226 Україна, МПК А61N 5/06(2006.01). «Спосіб опромінення пухлини методом лазерного сканування», № U 2013 13795, заявл. 27.11.13, опубл. 10.04.14, бюл.№7.

- [99] В.В. Холін, О.М.Чепурна, І.О. Штонь, С.В. Павлов, С.Є. Тужанський, А. Утрерас, В.С. Войцехович, В.Д. Попов, Є.В. Каптановський, М.Ф.Гамалія «Підвищення ефективності фотодинамічної терапії шляхом вибіркового лазерного сканування пухлини, залежно від наявності флуоресценції», *Фотобіол. Фотомед.*, 2014, №3-4. – С. 109-114 ISSN 2076-0612
- [100] В.В. Холін, Я.Г. Скорюкова, С.М. Марков, О.М. Чепурна. «Сегментація біомедичних зображень для оцінювання структурних змін біооб'єктів під час флуоресцентного аналізу», *Вісник Хмельницького національного університету*, 2016, № 233, С. 7-12. – ISSN 2307-5732.
- [101] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Експериментальна перевірка методу фотодинамічної терапії із модульованим режимом лазерного опромінювання», *XLVI Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології» /Харків, 25-27 травня 2017 р.:* С. 96-98.
- [102] А. В. Дунаев. Применение методов неинвазивной спектрофотометрии для исследования системы микроциркуляции крови при неинвазивной лазерной терапии. /А. В. Дунаев, Е. А. Жеребцов, *Биотехносфера.*, 2009, № 6. – С. 40–44.
- [103] D.A. Rogaykin. Prospects for Development of Noninvasive Spectrophotometric Medical Diagnosis / D. A. Rogaykin, L. G. Lapaeva, *Biomedical Engineering*, vol.37, 2003, №4, С. 217–222.
- [104] Д.А. Рогаткин. Метрологическое обеспечение методов и приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии / Д. А. Рогаткин, А. В. Дунаев, Л. Г. Лапаева. // *Медицинская техника*, №2 (260), 2010, С. 30–37.
- [105] А.И. Крупаткин. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность. Руководство для врачей. / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – Москва: изд 2-е, 2016. – 496 с.
- [106] В.Б. Лощенов. Аппаратурное и инструментальное обеспечения флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии / [В. Б.

- Лощенов, К. Г. Линьков, Т. А. Савельева та ін.]. – *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*, №3 2013, С. 17–25.
- [107] Е.В. Ярославцева-Исаева. Флуоресцентная диагностика злокачественных новообразований кожи с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда / [Е. В. Ярославцева-Исаева, М. А. Каплан, В. Н. Капинус та ін.], *Biomedical photonics*, 2018, №1, С. 13–20.
- [108] И.В. Яковец. Флуоресцентные методы анализа распределения фотосенсибилизатора in vivo / И.В.Яковец, И.В.,Янковский, Л.Н.Болотина, В.П. Зорин, *Доклады БГУИР*, 2016, №7, С. 287–291.
- [109] А.А. Далидович. Фотодинамическая терапия Фотолон миопической макулопатии /А.А.Далидович[и др.], *Минск: Парадокс*, 2012, 224 с.
- [110] А. П. Тарасов. Оптическая тканевая оксиметрия: проблемы применения в функциональной диагностике / А. П. Тарасов, А. И. Егоров, Д. В. Дроздов. // *Новые методы и технологии функциональной диагностики*, 2017, № 22, С. 48–52.
- [111] Д. А. Рогаткин. Физические основы оптической оксиметрии / Д. А. Рогаткин. // *Медицинская фізика*, 2012, №2, С. 97–113.
- [112] А. А. Стратонников. Диагностика реакции капиллярного русла тканей на лазерное излучения / А. А. Стратонников, Н. В. Ермишова, В. Б. Лощенов, *Квантовая электроника*, 2002, С. 32.
- [113] T.J. Dougherty. Introduction. In: Photodynamic therapy. Methods and protocols. 2010. *Methods in Molecular Biology* 635. (Ed. C.J. Gomer). P. 1–6.
- [114] M.T. Jarvi, M.S. Patterson, B.C. Wilson. Insights into photodynamic therapy dosimetry: Simultaneous singlet oxygen luminescence and photosensitizer photobleaching measurements. *Biophysical Journal*. 2012; 102: 661–671.
- [115] C.S. Betz, W. Rauschning, E.P. Stranadko, M.V. Riabov, V Albrecht, N.E. Nifantiev, C. Hopper. Optimization of treatment parameters for Foscan-PDT of basal cell carcinomas. *Lasers Surg. Med.*, 2008; 40: 300–311.
- [116] H. Qiu, M.M. Kim, R. Penjweini, J.C. Finlay, T.M. Busch, T. Wang, W. A. Guo, K.A Cengel, C.B Simone, E. Glatstein, T.C. Zhu. A comparison of dose

- metrics to predict local tumor control for photofrin-mediated photodynamic therapy., *Photochem Photobiol.*, 2017, 93(4), P. 1115–1122.
- [117] А.А. Стратонников, Г.А. Меерович, А.В. Рябова, Т.А. Савельева, В.Б. Лощенов. Использование спектроскопии обратного диффузного отражения света для мониторинга состояния тканей при фотодинамической терапии. *Квантовая электроника*. 2006; 36(12): С. 1103–1110.
- [118] H.W. Wang, J.C. Finlay, K. Lee, T.C. Zhu, M.E. Putt, E. Glastein, C.J. Koch, S.M. Evans, S.M. Hahn, T.M. Busch, A.G. Yodh. Quantitative comparison of tissue oxygen and motexafin lutetium uptake by ex vivo and noninvasive in vivo techniques in patients with intraperitoneal carcinomatosis. *J. Biomed. Optics*, 2007; 12(3): 034023.
- [119] S.M. Gallagher-Colombo, H. Quon, K.M. P.H. Malloy Ahn, K.A. Cengel, C.B. Simone, A.A. Chalian, B.W. O'Malley, G.S. Weinstein, T.C. Zhu, M.E. Putt, J.C. Finlay, T.M. Busch. Measuring the physiologic properties of oral lesions receiving fractionated photodynamic therapy, *Photochemistry and Photobiology*, 2015; 91: 1210–1218.
- [120] M.T. Jarvi, M.J. Niedre, M.S. Patterson, B.C. Wilson. The influence of oxygen depletion and photosensitizer triplet-state dynamics during photodynamic therapy on accurate singlet oxygen luminescence monitoring and analysis of treatment dose response, *Photochemistry and Photobiology*, 2011; 87: 223–234.
- [121] M.T. Jarvi, M.J. Niedre, M.S. Patterson, B.C. Wilson. Singlet oxygen luminescence dosimetry (SOLD) for photodynamic therapy: Current status, challenges and future prospects. *Photochem. Photobiol.*, 2006; 82: 1198–1210.
- [122] H.W. Wang, E. Rickter, M. Yuan, E.P. Wileyto, E. Glatstein, A. Yodh, T.M. Busch. Effect of photosensitizer dose on fluence rate responses to photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, 2007; 83: 1040–1048.
- [123] R.C. Mesquita, S.W. Han, J. Miller, S.S. Schenkel, A. Pole, T.V. Esipova, S.A. Vinogradov, M.E. Putt, A.G. Yodh, T.M. Busch. Tumor blood flow differs

- between mouse strains: consequences for vasoresponse to photodynamic therapy. *PLoS ONE*. 2012; 7(5): e37322. doi:10.1371/journal.pone.0037322.
- [124] C.T. Zhu, M.M. Kim, X. Liang, J.C. Finlay, T.M. Busch *In-vivo* singlet oxygen threshold doses for PDT, *Photonics Lasers Med.*, 2015; 4(1): 59–71.
- [125] A.L. Maas, S.L. Carter, E.P. Wileyto, J. Miller, M. Yuan, G. Yu, A.C. Durham, T.M. Busch. Tumor vascular microenvironment determines responsiveness to photodynamic therapy. *Cancer Res.*, 2012; 72(8): 2079–2088.
- [126] B.W. Zweifach. Functional Behavior of the Microcirculation Springfield, Illinois, U.S.A.: *Charles C. Thomas Publisher*, 1961.
- [127] V.V. Kislukhin. Stochasticity of flow through microcirculation as a regulator of oxygen delivery, *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 2010; 7: 29.
- [128] K. Zierler. Indicator dilution methods for measuring blood flow, volume, and other properties of biological systems: a brief history and memoir. *Ann. Biomed. Eng.*, 2000; 28(8): 836–848.
- [129] W. Feller. An introduction to probability theory and its applications, Volume 2, *2nd Edition*. New York; *John Wiley & Sons Inc*, 1971: 706.
- [130] A.C. Guyton. Textbook of medical physiology. *Philadelphia; W.B. Saunders Company*, 1986: 233–349.
- [131] C.R. Honig, M.L. Feldstein, J.L. Frierson. Capillary lengths, anastomoses, and estimated capillary transit times in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 1977; 233(1): H122–H129.
- [132] S. Bertuglia, A. Colantuoni, M. Arnold, H. Witte. Dynamic coherence analysis of vasomotion and flow motion in skeletal muscle. *Microvasc. Res.*, 1996; 52: 235–244.
- [133] А.М. Цирлин. Вариационные методы оптимизации управляемых объектов / А.М. Цирлин, В.С. Балакирев, Е.Г. Дудников, М.; *Энергия*, 1975: 448.
- [134] Ю.А. Розанов. Случайные процессы. М.; *Наука*, 1979: 184.
- [135] Дж. Милсум. Модели высокого порядка, нелинейные модели и модели с распределенными параметрами. В кн.: *Анализ биологических систем управления: Пер. с англ. М.; Мир*, 1968: 231–263.

- [136] Ю.М. Романовский. Математическая биофизика / Ю.М. Романовский, Н.В. Степанова, Д.С. Чернавский / М.; Наука, 1984: 304.
- [137] N.A. Lassen, W. Perl. Tracer kinetic methods in medical physiology. New York; Raven Press, 1978: 138.
- [138] V. Kuhn, L. Diederich, T.C. Stevenson Keller IV, C.M. Kramer, W. Lückstädt, C. Panknin, T. Suvorava, B.E. Isakson, M. Kelm, M.M. Cortese-Krott. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2017; 26(13): 718–742.
- [139] J.H. Crawford, T.S., Isbell, Z. Huang, S. Shiva, B.K., Chacko, A.N. Schechter, V.M Darley-Usmar, J.D. Kerby, J.D. Lang, D. Kraus. et al. Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. *Blood*. 2006; 107: 566–574.
- [140] K. Cosby, K.S. Partovi, J.H. Crawford, R.P. Patel, C.D. Reiter, S. Martyr, B.K. Yang, M.A. Wacławski, G. Zalos X. Xu. et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat. Med*. 2003; 9: 1498–1505.
- [141] F.B. Jensen. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. *J. Experim. Biol*. 2009; 212: 3387–3393.
- [142] C.E. Thorn, H. Kyte, D.W. Slaff, A.C. Shore. An association between vasomotion and oxygen extraction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2011; 301(2): H442–H449.
- [143] Дж. Милсум. Нелинейности и линеаризация. В кн.: Анализ биологических систем управления: Пер. с англ. М.; Мир, 1968: 87–91.
- [144] M. Clynes. Unidirectional rate sensitivity: a biocybernetic law of reflex and humoral systems as physiologic channels of control and communication. *Ann. NY Acad. Sci*. 1961; 92: 946–969.
- [145] M. Clynes. The non-linear biological dynamics of unidirectional rate sensitivity illustrated by analog computer analysis, pupillary reflex to light and sound, and heart rate behavior. *Ann. NY Acad. Sci*. 1962; 98: 806–845.

- [146] J.E. Hall. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. – 12th ed. Philadelphia, SAUNDERS Elsevier (2011).
- [147] А.В. Дунаев. Оптическая неинвазивная диагностика в медико-биологической практике: лабораторный практикум: учебное пособие / А.В. Дунаев [и др.], *Орел: ОГУ имени И.С. Тургенева*, 2016. – 96 с.
- [148] Интернет ресурс <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>
- [149] В.В. Холін, В. С. Войцехович, Р. В. Егоров та ін. «К вопросу о повышении эффективности фотодинамической терапии опухолей на базе мультиспектральной лечебно-диагностической установки», *Фотобіол. Фотомед*, 2018, №25, С. 55–62.
- [150] В.В. Холін, В.С. Войцехович, С.В. Павлов, Н.Т. Петраш, Ю.А. Петрушко та інш. «Мультиспектральная лечебно-диагностическая установка для фотодинамической терапии опухолей», *Матеріали XVIII-міжнародної науково-технічної конференції «Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах (ВОТТП-2018)», Одеса (Затока), 8-13 червня 2018 р.:* С. 135-138.
- [151] Ю.А. Усачёв. Основы проектирования оптико-электронных приборов и систем: учебное пособие / Ю.А. Усачёв. – Челябинск: Изд-во ЮУрГУ, 2016. – 81с.
- [152] 2. Si Photodiodes S2386 series (datasheet). – www.hamamatsu.com.
- [153] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Експериментальна перевірка методу фотодинамічної терапії із модульованим режимом лазерного опромінювання», *XLVI Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології», Харків*, 25-27 травня 2017 р.: С. 96-98.
- [154] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsekhovich, S.V. Pavlov, and etc. «Methods and fiber optics spectrometry system for control of photosensitizer in tissue during photodynamic therapy», Proc. SPIE 10031, *Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High-Energy Physics Experiments* 2016, 1003138 (28 September 2016); <https://doi.org/10.1117/12.2249259>.

- [155] В.В. Холін, О.М. Чепурна, Т.С. Завадська, П.В. Єрмак, В.С. Войцехович «Методи контролю динаміки вмісту фотосенсибілізатора в пухлинній тканині за допомогою спектрометричної техніки», *Вісник Національного університету України «Київський політехнічний інститут». Серія приладобудування.* - 2013. – №45. - С.190-197. - ISSN 0321-2211
- [156] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Визначення динаміки накопичення фотосенсибілізатора в пухлині методом волоконно-оптичної спектроскопії», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XLIII Международной научно-практической конференции, г. Харьков, 27-30 мая, 2015 г.* – Харьков, 2015 – С. 156-158
- [157] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «In-vivo monitoring of oxygen saturation in murine carcinoma during PDT by diode laser light diffuse reflectance», *Proc. SPIE 10445, Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High Energy Physics Experiments 2017, 104453N* (7 August 2017); <https://doi.org/10.1117/12.2280980>.
- [158] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Можливості моніторингу оксигенації пухлинної тканини методом спектроскопії зворотнього дифузного відбиття», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XLIII Международной научно-практической конференции, г. Харьков, 27-30 мая, 2015 г.* – Харьков, 2015 - С.153-155.
- [159] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Можливість визначення рівня сатурації в пухлині із використанням світлодіодних та лазерних джерел випромінювання», *Матеріали XLIV Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології», 26-28 травня 2016 р.:* С.193-194.
- [160] W. Wójcik, S. Pavlov, M. Kalimoldayev. (2019). Information Technology in Medical Diagnostics II. London: Taylor & Francis Group, CRC Press, Balkema book. – 336 Pages, <https://doi.org/10.1201/9780429057618>.

- [161] Оптико-електронні засоби діагностування периферичного кровообігу з підвищеною достовірністю (Монографія) / [С. В. Павлов, Т. І. Козловська, В. Б. Василенко], *Вінниця: ВНТУ*, 2014. – 140 с.
- [162] Фізичні основи біомедичної оптики (Монографія) / [С. В. Павлов, В. П. Кожем'яко, П. Ф. Колісник, Т. І. Козловська, В. П. Думенко], *Вінниця, ВНТУ*, 2010. – 155 с.
- [163] S.V. Pavlov. Information Technology in Medical Diagnostics //Waldemar Wójcik, Andrzej Smolarz, July 11, 2017 by CRC Press, 210 Pages
- [164] Фотоплетизмографічні технології контролю серцево-судинної системи: (Монографія) / С.В.Павлов, В.П.Кожем'яко, В.Г.Петрук, П.Ф.Колісник, *Вінниця: УНІВЕРСУМ-Вінниця*, 2007, 254 с.
- [165] С.В. Павлов, В.П. Кожем'яко, В.Г. Петрук, П.Ф. Колісник, С.М. Марков. Біомедичні оптико-електронні системи і апарати. Ч.1. Неінвазивні методи діагностики серцево-судинної системи. Навчальний посібник. – *ВДТУ, Вінниця*, 2003, 115 с.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список опублікованих праць за темою дисертації

- [1] V.V. Kholin, Chepurna O.M., Shton I.O., Voytsehovich V.S., Pavlov S.V., Gamaleia N., and etc. «Determination of oxygen saturation and photosensitizer accumulation in the tumor with the help of LED and laser diode based irradiation sources and fiber-optics probes», *Przegląd Elektrotechniczny*, 2017, Vol. 1, №. 5, P. 122–124. DOI: 10.15199/48.2017.05.25
- [2] V.V Kholin, V. Voytsehovich, V. Popov, S. Pavlov, N. Gamaleia, and etc. «Photodynamic therapy with laser scanning mode of tumor irradiation», *Proc. International Society for Optics and Photonics. Optical Fibers and Their Applications*, 2015, Vol. 9816, P. 1-4.
- [3] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «Selective irradiation of superficial tumours depending on the photosensitiser fluorescence in the tissue», *Information Technology in Medical Diagnostics II. CRC Press / Balkema book*, 2019 Taylor & Francis Group, London, UK, 6 P. 53-58.
- [4] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «In-vivo monitoring of oxygen saturation in murine carcinoma during PDT by diode laser light diffuse reflectance», *Proc. SPIE 10445, Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High Energy Physics Experiments*, 2017, 104453N (7 August 2017); <https://doi.org/10.1117/12.2280980>.
- [5] V.V. Kholin, I.O. Shton, V.S. Voytsehovich, S.V. Pavlov, and etc. «Methods and fiber optics spectrometry system for control of photosensitizer in tissue during photodynamic therapy», *Proc. SPIE 10031, Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High-Energy Physics Experiments*, 2016, 1003138 (28 September 2016); <https://doi.org/10.1117/12.2249259>.
- [6] В.В. Холін, Я.Г. Скорюкова, С.М. Марков, О.М. Чепурна «Сегментація біомедичних зображень для оцінювання структурних змін біооб'єктів під час флуоресцентного аналізу», *Вісник Хмельницького національного університету*, 2016, № 233, С. 7-12.
- [7] В.В. Холін, О.М. Чепурна, Т.С. Завадська, П.В. Єрмак, В.С. Войцехович «Методи контролю динаміки вмісту фотосенсибілізатора в пухлинній тканині за допомогою спектрометричної техніки», *Вісник Національного університету України «Київський політехнічний інститут». Серія приладобудування*, 2013, №45, С.190-197.
- [8] В.В. Холін, О.М.Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, В.В. Холін, Р.У. Ровіра, О.С. Камінський, М.Ф. Гамалія, «Розробка і перша апробація нового варіанту методу фотодинамічної терапії пухлин із застосуванням лазерного скануючого пристрою», *Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології*, 2014, Т № 1(27), С. 128-131.

- [9] В.В. Холін, С.В. Павлов, С.Є. Тужанський, О.М. Чепурна, В.С. Войцехович, О.С. Камінський, А.М. Сахно, В.Д. Попов, С.О. Магдебур, І.О. Штонь, М.Ф.Гамалія «Дослідження та розробка нових методів проведення фотодинамічної терапії з використанням лазерного випромінювання», *Фотобіологія та фотомедицина*, 2014, №1-2, С. 101-104.
- [10] В.В. Холін, О.М.Чепурна, І.О. Штонь, С.В. Павлов, С.Є. Тужанський, А. Утрерас, В.С. Войцехович, В.Д. Попов, Є.В. Каптановський, М.Ф.Гамалія «Підвищення ефективності фотодинамічної терапії шляхом вибіркового лазерного сканування пухлини, залежно від наявності флуоресценції», *Фотобіологія та фотомедицина*, 2014, №3-4, С. 109-114.
- [11] В. В. Холін, В. С. Войцехович, Р. В. Егоров та ін. «К вопросу о повышении эффективности фотодинамической терапии опухолей на базе мультиспектральной лечебно-диагностической установки», *Фотобіологія та фотомедицина*, 2018, №25, С. 55–62.
- [12] V.V. Kholin, N.F. Gamaleia, E.D. Shishko, G.A. Dolinsky «Photodynamic Activity of hematoporphyrin conjugates with gold nanoparticles: experiments in vivo», *Experimevtal oncology*, 2010, V.32, №1, P.44-48.
- [13] V.V. Kholin, Yermak P.V, Gamaleia N.F., Shalamay A.S., Saienko T.V, Kholin.V.V «Hyperflav – perspective photosensitizer for PDTt: cell studies», *Experimevtal oncology*, 2010, V.32(4), P.233-236
- [14] V.V. Kholin, N.F.Gamaleia, I.A.Lisniak, E.D.Shishko, A.A.Mamchur, I.V.Prokopenko. «Chronobiological approaches to antiangiogenic photodynamic therapy of tumors: the first experimental evaluation», *Experimevtal oncology*, 2012, P. 364-366.
- [15] В.В. Холин, В.С. Войцехович, Н.Ф. Гамалея, О.М. Чепурна, «Лазерное сканирование в фотодинамической терапии», *Материалы 7-й международной студенческой конференции «Новые направления развития приборостроения»*, 23-25 апреля 2014 г., Белорусь, Минск, БНТУ 2014, С. 248-249.
- [16] В.В. Холін, В.С. Войцехович, М.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна. «Пристрій для проведення фотодинамічної терапії шляхом лазерного сканування», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XXXXI Международной научно-практической конференции*, м.Харьков 28-31 мая, 2014 г., Харків, 2014, С.89-91
- [17] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Визначення динаміки накопичення фотосенсибілізатора в пухлині методом волоконно-оптичної спектроскопії», *Применение лазеров в медицине и биологии: материалы XLIII Международной научно-практической конференции*, г. Харьков, 27-30 мая, 2015 г. – Харьков, 2015 – С. 156-158.
- [18] В.В. Холін, В.М. Биченко, Л.В. Грищенко, О.М. Чепурна, «Індикатор потужності лазерного випромінювання», *Лазерна хірургія: матеріали*

- науково-практичної конференції, Черкаси, 1-2 березня 2012 р., Черкаси, 2012., С.250-253*
- [19] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Можливості моніторингу оксигенації пухлинної тканини методом спектроскопії зворотнього дифузного відбиття», *«Применение лазеров в медицине и биологии»: материалы XLIII Международной научно-практической конференции*, г. Харьков, 27-30 мая, 2015 г., Харьков, 2015, С.153-155.
 - [20] В.В. Холін, В.С. Войцехович, С.В. Павлов, Н.Т. Петраш, Ю.А. Петрушко та інші. «Мультиспектральна лечебно-діагностическа установка для фотодинамічної терапії опухолей», *Матеріали XVIII-міжнародної науково-технічної конференції «Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах (ВОТТП-2018)»*, Одеса (Затока), 8-13 червня 2018 р., С. 135-138.
 - [21] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, С.В. Павлов. «Експериментальна перевірка методу фотодинамічної терапії із модульованим режимом лазерного опромінювання», *XLVI Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, Харків, 25-27 травня 2017 р., С. 96-98.
 - [22] В.В. Холін, О.М. Чепурна, Ю.В. Петрушко, В.В. Холін, С.В. Павлов. «Розробка та дослідження багатоспектральної світлодіодної системи для експериментальних робіт», *XLVII Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, Харків, 25-27 травня 2017 р., С.96-98.
 - [23] V.V. Kholin, I.V Komarov, O.M. Cherpurna, I.O. Shton, S.V. Pavlov. «Monitoring of oxygen concentration changes by diode laser light diffuse reflectance». *Матеріали XLVII Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, 12-14 жовтня 2017 р., Харків, С.104-105.
 - [24] В.В. Холін, О.М. Чепурна, І.О. Штонь, В.С. Войцехович, В.В. Холін, С.В. Павлов. «Можливість визначення рівня сатурації в пухлині із використанням світлодіодних та лазерних джерел випромінювання», *Матеріали XLIV Міжнародної науково-практичної конференції «Застосування лазерів у медицині та біології»*, 26-28 травня 2016 р., С.193-194.
 - [25] В.В.Холін, В.Д.Попов, В.С. Войцехович, М.Ф. Гамалія, О.М. Чепурна «Спосіб опромінення пухлини методом лазерного сканування», *МПК A61N 5/06(2006.01). № 89226, № U 2013 13795, заявл. 27.11.13, опубл. 10.04.14, бюл.№7.*

Додаток Б

Акти впровадження

Перший проректор з науково-педагогічної роботи по організації навчального процесу та його науково-методичного забезпечення ВНТУ



О.М. Васілевський

" 16 " 12 2020 р.

АКТ

впровадження результатів кандидатської дисертаційної роботи

Холіна Володимира Вікторовича

Комісія у складі декана факультету інфокомунікацій, радіоелектроніки та наносистем, доц., к.т.н. Тимчина Сергія Васильовича, завідувача кафедри біомедичної інженерії, доц., к.т.н. Коваля Леоніда Григоровича, доцента кафедри біомедичної інженерії, доц., к.т.н. Штофеля Дмитра Хуановича склали цей акт про те, що у 2020 році на базі кафедр біомедичної інженерії та лазерної та оптоелектронної техніки Вінницького національного технічного університету впроваджено результати дисертаційної роботи Холіна Володимира Вікторовича у навчальному процесі, а саме оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин з використанням зворотного зв'язку по динаміці біохімічних та фізіологічних параметрів. Рекомендовано до впровадження методу імітаційного комп'ютерного моделювання SIMULINK програмного середовища MATLAB, що дозволило сформулювати технічні вимоги щодо формалізації технічних рекомендацій при розробці оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин, а також експлуатаційних характеристик окремих його компонентів.

Результати використано в межах спеціальності «Біомедична інженерія» під час викладання таких дисциплін, як: «Нанотехнології в біології та медицині», «Біомедичні прилади, апарати і комплекси. Діагностична техніка», «Сучасні інформаційні технології в галузі хімічної та біоінженерії».

Голови комісії:

С.В.Тимчик

Члени:

Л.Г. Коваль

Д.Х.Штофель

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Заступник директора
 ПП «Фотоніка Плюс», Черкаси
 Мулярова О.В.
 «24» грудня 2020 р.

АКТ

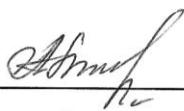
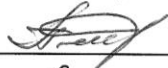
рекомендації до впровадження результатів

кандидатської дисертаційної роботи

Холіна Володимира Вікторовича

Комісія у складі заступника директора ПП «Фотоніка Плюс Мулярової О.В., інженера ПП «Фотоніка Плюс Петраша М.Т., інженера ПП «Фотоніка Плюс Петраківського О.А., склали цей акт про те, що на базі ПП «Фотоніка Плюс» рекомендовано до впровадження практичні результати дисертаційної роботи Холіна В.В., а саме:

- Алгоритм проведення стресорної проби для попереднього визначення енергетичних параметрів лазерного опромінення при ФДТ на основі оксиметричних критеріїв відгуку на ініціалізацію фотоокислювальних процесів.
- Оптико-електронний прилад для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.
- Методику проведення ФДТ за рахунок введення додаткового прогностичного навантаження (проби) для автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного випромінювання шляхом оцінювання відгуку мікроциркуляторного русла.

 О.В.Мулярова
 М.Т. Петраш
 О.А. Петраківський

Заступник директора з наукової роботи

ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад.

А.П. Ромоданова НАМН України",

д-р мед. наук, старш. дослідн.



В.В. Білошицький

"10" 12 2020 р.

АКТ

рекомендації щодо впровадження результатів кандидатської дисертаційної роботи Холіна Володимира Вікторовича

Комісія у складі професора В.Д. Розуменка, канд. мед. наук В.М. Ключки, канд. мед. наук А.В. Розуменка склали цей акт про те, що на базі ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України" рекомендовано до впровадження методику проведення фотодинамічної терапії (ФДТ) пухлин головного мозку шляхом введення додаткового етапу автоматизованого визначення початкових енергетичних параметрів оптичного опромінення по прогностичному критерію оптичного відгуку мікроциркуляторного русла на фотодинамічний вплив на основі оптико-електронного приладу для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин.

Експериментально підтверджено суттєвість змін вимірюваних коефіцієнтів дифузного відбиття для різних довжин хвиль в процесі проведення навантажувальних проб, що доводить можливість застосування методів спектроскопії дифузного відбиття та оптичної тканинної оксиметрії для відстеження динаміки параметрів мікроциркуляції в процесі проведення навантажувальних проб супроводжуючих ФДТ.

Голова комісії

Начальник відділу нейроонкології
та нейрохірургії дитячого віку,
д-р мед. наук, професор

В.Д. Розуменко

Члени комісії

Канд. мед. наук

В.М. Ключка

Канд. мед. наук

А.В. Розуменко

Додаток В

Аналіз лазерних джерел для реалізації приладів та систем при ФДТ

Найменування апарату	Джерело випромінювання	Довжина хвилі, нм	Режим генерації	Потужність лазерного випромінювання	Габаритні розміри, мм	Примітка
Лазерний апарат АЛХТ-ЭЛОМЕД (РФ)	Лазер	630-730 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	до 4 Вт		Все управління автоматизовано і здійснюється за допомогою комп'ютера. Має систему самотестування
Vitra (Франція)	Лазер	689±3нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	400 мВт	145×185×300	Сумісний з Quantel Medical, Haag Streit 900 BM & BQ та щілинними лампами
ЛАХТА МИЛОН (РФ)	Лазер	662 нм 970 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	0,6 Вт 5 Вт	245×180×305	В одному апараті можна поєднувати будь-які довжини хвилі з діапазону: 635 нм, 662 нм, 675 нм, 810 нм, 970 нм, 1060 нм, 1470 нм, 1560 нм. Це дозволяє розширити вибір фотосенсибілізаторів, використовувати апарат для проведення ФДТ, хірургії, ЛІТТ.
Laxcell 2000 (Корея)	Лазер	635 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	до 2,5 Вт		
ML7710 (Туреччина)	Лазер	630 нм, 635 нм, 652 нм, 660-690 нм, 753 нм		2-8 Вт (без волокна)		Може підтримуватися багато довжин хвиль в одній системі
Alcom-Medica (Росія)	Лазер	635 або 660 нм	безперервний імпульс	0,4; 2 Вт	330×180×120	
SOLAR RB-125 (Росія)	Світло-діод	630 нм і 420 нм		Щільність потужності 120 Вт/см ²	600×350×380	Наявність джерел монохроматично-го світла високої щільності в двох діапазонах: 630 і 430 нм. Одночасно або окремо простим перемиканням.
VIELASEPDT6 35 (Індія)	Лазер	635±5 нм	безперервний, імпульсний і пакетний режим	до 1,2 Вт		

Продовження таблиці

Найменування апарату	Джерело випромінювання	Довжина хвилі, нм	Режим генерації	Потужність лазерного випромінювання	Габаритні розміри, мм	Примітка
LATUS PDT (Росія)	Лазер	665±5 нм	безперервний, імпульсний	2 Вт	275×240×100	Для неконтактної фотодинамічної терапії
Lasemar 900-10T (Італія)	Лазер	635 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	5 Вт	220×250×150	Встановлені параметри з протоколами, що включають дозу енергії, кількість сеансів і точку запуску
Smartlite (Deka, Німеччина)	Лазер	530 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	3 Вт	24×36×18	
LumiSlim (Корея)	Лазер	650 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	0,72 Вт в 18 каналах	40×40×100	
LumiLipo (КНР)	Лазер	650 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	0,72 Вт в 18 каналах	55×55×47	
«Яхрома Мед» (Росія)	Активне середовище: пари міді	510/580 нм	імпульсно-періодичний	3 Вт	890×430×240	Тривалість імпульсів – 15 нс. Дозування 10-600 Дж/см ² Вибір часу експозиції – 0,025, 0,05, 0,1, ..., 9,9 сек. Пауза між імпульсами – 0,05, ... 0,9 сек, безперервний. Розмір плями фокусування на шкірі 0,6 мм, 1 мм, 1,5 мм Час виходу на робочий режим – 35 хв
Triwings (Франція)	Світло-діод	590 нм; 630 нм,	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний		1850×500×400	Щільність енергії від 3 до 99 Дж/см ² Щільність потужності до 80 мВт/см ²
АЛСТ-01 ОПТОДАН Праймед (Україна)	Лазер	850-980 нм	імпульсний	5 Вт		
Passive Cooled InGaAs Diode Laser, (Корея)	Лазер	650 нм	Безперервний, імпульсний,	1 Вт	500×800×1700	

Продовження таблиці

УФФ-630/675-01 («Биоспек», Росія)	Світло-діод	Підби-рається залежно від ФС, який викорис-товує-ться	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	1 Вт	250×250×190	Дозволяє проводити фотодинамічну терапію поверхневих утворень, також використовується для флюоресцентного моніторингу
Кристалл 2000 (Росія)	Лазер	635, 660, 675 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	0,1-4 Вт	295×205×130	Дозволяє генерувати надкороткі лазерні імпульси (0,001 с)
QuadroStar (Asclepion, Німеччина)	Лазер	577, 532, 940 і 980 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	до 8 Вт	410×430×210	Неодимовий лазер (Nd:YAG) з діодною накачкою і подвоєнням частоти з LBO - Disc технологією QuadroStar + 532 або діодний лазер (QuadroStar + IR)
BLU-U (USA)	Лазер	417±5 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний		365×264	
THERALIGHT VersaClear STS (USA)	Лазер	420/630+ синій	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний			
АЛОД-01 (Росія)	Лазер	532 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	0,5 Вт	170×220×390	Можливість адаптації апарату до різних моделей щілинних ламп
DIOMED 630 PDT Laser	Лазер	630 нм	Безперервний, імпульсний, імпульсно-періодичний	2 Вт	485×405×220	Автоматичний вибір дозиметрії енергії лазера за допомогою сенсорного меню, оператор просто визначає зону обробки і довжину використовува-ного волокна, а програмне забезпечення розраховує потужність і тривалість лазерного впливу, необхідні для кожної обробки

Технічні вимоги до оптико-електронного приладу для оксиметрично- корегованої фотодинамічної терапії пухлин

№ з/п	Найменування	Технічні вимоги	Відповідність вимогам
1.	Функції апарату:		
1.1.	Ступеневе регулювання потужності лазерного випромінювання	можливість	Так
1.2.	Установка і контроль часу процедури	можливість	Так
1.3.	Модуляція високоінтенсивного випромінювання	можливість	Так
1.5.	Режими роботи лазерного випромінювання: Скануючий із різною затримкою в одній точці	можливість	Так
2	Лазерно-оптичний модуль		
2.1.	Довжина хвилі терапевтичного лазерного випромінювання	660 нм	660 нм
2.2.	Довжина хвилі лазера-пілота	660 нм	660 нм
2.3.	Довжина хвилі діагностичного лазерного випромінювання	405 нм	405 нм
2.4.	Вихідна оптична потужність лазерного випромінювання для терапії	Від 10 до 50мВт $\pm 20\%$	Від 10 до 50мВт $\pm 20\%$
2.5.	Вихідна потужність лазера-пілота,мВт	5,0 мВт $\pm 20\%$	5,0 мВт $\pm 20\%$
2.6.	Вихідна оптична потужність лазерного випромінювання для діагностики	20,0 мВт $\pm 20\%$	20,0 мВт $\pm 20\%$
2.7.	Режими затримки лазерного випромінювання в одній точці	10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 с	10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 с
2.8.	Час випромінювання	1сек...99хв	1сек...99хв
3.	Джерело живлення: від мережі змінного струму 50Гц	220В	220В
4.	Оптична щільність окулярів лазерних захисних.	не менше 3Бел	не менше 3Бел
5.	Маса апарата	не більш 3 кг.	не більш 3 кг.
6.	Довжина мережевого шнура	не менш 2000 мм	не менш 2000 мм
7.	Інструкція користувача	наявність	в наявності
8.	Запропоноване учасником обладнання повинно бути зареєстроване в Міністерстві охорони здоров'я України (надати копію реєстраційного посвідчення з додатками	наявність	в наявності
9.	Гарантійний термін обслуговування, після введення в експлуатацію	не менш 24 місяців	24 місяці
10.	Інсталяція та навчання персоналу роботі з обладнанням проводиться сервісними інженерами	обов'язково	Так
11.	Сервісне обслуговування повинно здійснюватись інженером, що сертифікований виробником запропонованого обладнання (надати копію сертифіката)	наявність	Так

Додаток Г

Схема функціональна системи для оксиметрично-корегованої фотодинамічної терапії пухлин

