

На правах рукописи



**ДРЁМИН Виктор Владимирович**

**МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ТКАНЕВОГО МЕТАБОЛИЗМА  
В ЗАДАЧАХ БИОМЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**

Специальность 1.5.2 – Биофизика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора физико-математических наук

Орёл – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»

**Научный консультант:** доктор технических наук, доцент  
**Дунаев Андрей Валерьевич**

**Официальные  
оппоненты:** **Кистенев Юрий Владимирович**,  
доктор физико-математических наук, профессор,  
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», заведующий лабораторией лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения (г. Томск)

**Горин Дмитрий Александрович**,  
доктор химических наук, профессор, АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий», профессор центра фотоники и фотонных технологий (г. Москва)

**Ширманова Марина Вадимовна**,  
доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, заместитель директора по науке НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий (г. Нижний Новгород)

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (г. Самара)

Защита состоится «19» марта 2026 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.392.06 при ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корпус 10, ауд. 511.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» и на официальном сайте ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» по электронному адресу: <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-06/doktorskaya-dissertaciya-dryomina-viktora-vladimirovicha>

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2025 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета  
24.2.392.06  
д.ф.-м.н.



Генина Элина Алексеевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Нарушение тканевых метаболических процессов в организме человека связано с развитием большого числа заболеваний. Примерами таких патологий являются нарушения, возникающие при развитии онкологии, прогрессировании и осложнениях сахарного диабета (СД), ревматологических заболеваний и др., которые могут быть связаны со сдвигами в процессах окислительного фосфорилирования, развитием гипоксии тканей, изменениями в морфологии тканей и клеток, накоплением токсичных продуктов углеводного обмена и т.п. Тканевый метаболизм представляет собой совокупность процессов, происходящих в тканях, и включает два ключевых компонента – клеточный метаболизм и периферический кровоток, неразрывно связанных между собой и обеспечивающих оптимальное функционирование тканей и органов.

Клеточный метаболизм – это серия биохимических реакций, которые происходят внутри каждой клетки для поддержания её жизнедеятельности. Он включает в себя два основных процесса – анаболизм и катаболизм. При анаболизме осуществляется синтез сложных молекул (белков, липидов, нуклеиновых кислот) из более простых компонентов. Данный процесс требует энергии, которая поступает в виде АТФ (аденозинтрифосфата). Катаболизм связан с расщеплением сложных молекул (например, глюкозы) на более простые соединения с выделением энергии, которая используется клеткой для выполнения различных функций, таких как движение, транспорт веществ через мембрану и восстановление поврежденных структур.

Периферический кровоток же играет ключевую роль в обеспечении клеточного метаболизма, поскольку именно через систему кровообращения клетки получают необходимые для их работы вещества и избавляются от продуктов метаболизма. В процессе кровообращения артериальная кровь доставляет кислород и питательные вещества, такие как глюкоза и аминокислоты, к тканям. Кислород необходим для окислительного фосфорилирования в митохондриях, которое обеспечивает выработку АТФ. Венозная кровь забирает продукты метаболизма (углекислый газ, мочевину, лактат и пр.) из тканей и переносит их к органам, ответственным за их выведение (лёгкие, печень, почки). Интенсивность кровотока напрямую связана с уровнем метаболической активности тканей. Например, мышцы во время физической нагрузки требуют большего количества кислорода и питательных веществ, поэтому кровоток увеличивается, чтобы удовлетворить этот повышенный метаболический спрос. Аналогично, в состоянии покоя кровоснабжение тканей уменьшается, так как метаболические потребности снижаются.

Тканевый метаболизм – это динамическая процесс, где клеточный метаболизм и периферический кровоток постоянно взаимодействуют. Ускорение метаболизма требует увеличенного кровотока для поставки большего количества кислорода и питательных веществ. Организм регулирует тканевой метаболизм через различные механизмы. Гормоны, такие как инсулин, адреналин и тироксин, могут стимулировать или подавлять метаболические процессы. Например, инсулин способствует захвату глюкозы клетками и её утилизации для производства энергии. Симпатическая и парасимпатическая системы регулируют кровоток в зависимости от потребностей организма. Симпатическая система активизируется в стрессовых ситуациях, увеличивая

кровообращение жизненно важных органов, таких как сердце и мышцы. При недостатке кислорода (гипоксии) организм запускает механизмы компенсации, увеличивая кровоток и активируя анаэробные пути метаболизма, такие как гликолиз.

Таким образом, тканевый метаболизм представляет собой сложную и взаимосвязанную систему, в которой клеточные и сосудистые процессы работают вместе для поддержания здоровья и функции тканей. Эффективность метаболизма тканей напрямую зависит от адекватного кровоснабжения, а любые его нарушения могут серьезно повлиять на метаболизм клеток и, как следствие, на их способность выполнять свои функции. И, если для исследований на клеточном уровне инструментарий оценки метаболизма развит достаточно хорошо, включая различные микроскопические технологии, то разработка средств визуализации, позволяющих комплексно анализировать тканевый метаболизм, в том числе *in vivo*, представляется актуальной задачей.

**Степень проработанности темы.** Общеизвестными технологиями в определении характеристик тканевого метаболизма являются методы оптической спектроскопии и визуализации. В частности, анализ флуоресцентного излучения может улучшить понимание тканевого метаболизма на клеточном уровне; методы регистрации динамического рассеяния света – лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и визуализация, лазерная спекл-контрастная визуализация (ЛСКВ) – дают информацию о состоянии микроциркуляции крови в исследуемых тканях; визуализация диффузного отражения и гиперспектральная визуализация (ГСВ), как одна из ее наиболее продвинутых реализаций, позволяют анализировать накопление различных хромофоров в биологических тканях, а также насыщение тканей кислородом (оксигенацию); поляризационные измерения дают представление о структурных и морфологических особенностях биотканей и т.д. В настоящее время внедрением оптических технологий в клиническую диагностику активно занимается ряд российских (под руководством Тучина В.В., Приезжева А.В., Захарова В.П., Загайновой Е.В., Дунаева А.В., Камшилина А.А., Мачихина А.С., Турчина И.В., Горина Д.А., Кистенева Ю.В., Лощенова В.Б. и др.) и зарубежных (Fredriksson I., Boas D., Meglinski I., Stefanovska A., Marcu L., Georgakoudi I., Yaroslavsky A. и др.) исследовательских групп. В последние годы все больше растет интерес к оптической визуализации тканевого метаболизма без введения дополнительных контрастных агентов с целью внедрения в реальную клиническую практику. Однако, несмотря на приложенные усилия, по-прежнему существуют проблемы реализации данных технологий в клинике, ввиду отсутствия обоснованной методологии использования, унифицированных диагностических параметров, классификаторов и алгоритмов для систем поддержки принятия врачебных решений и пр.

В настоящее время в биомедицинских оптических устройствах все большее распространение находит мультимодальный или многопараметрический подход. Каждый из методов оптической визуализации имеет свои преимущества и недостатки, но в сочетании методы могут дополнять друг друга и, тем самым, комплексно оценивать параметры тканевого метаболизма исследуемого объекта. Анализ результатов нескольких методов может предоставить большее количество потенциально полезной информации при проведении исследований.

Таким образом, на сегодняшний день актуальными задачами являются развитие методов оптической визуализации для исследования биологических тканей и, в част-

ности, их метаболизма, а также применение этих методов для получения новых знаний о взаимодействии оптического излучения с биологическими тканями при различных патологических процессах.

**Целью диссертационного исследования** является разработка и усовершенствование методов оптической визуализации тканевого метаболизма, направленных на повышение эффективности диагностики и качества анализа данных при исследовании социально значимых заболеваний.

Для достижения поставленной цели решены следующие **задачи**:

1) Анализ современных методов и технических средств диагностики тканевого метаболизма.

2) Разработка метода и устройства поляризационно-чувствительной ГСВ для определения параметров оксигенации, кровенаполнения и морфологических изменений биологических тканей.

3) Измерение и анализ оптических характеристик диффузного рассеяния и линейной поляризации *in vivo* кожи нижних конечностей здоровых добровольцев и пациентов с нарушениями тканевого метаболизма, вызванных СД.

4) Разработка метода и устройства Стокс-поляризационной визуализации для гистопатологического анализа онкологических неокрашенных образцов.

5) Измерение и анализ поляризационных характеристик при изменении тканевого метаболизма ввиду развития онкопроцесса фиксированных в формалине парафинизированных (FFPE) образцов рака молочной железы и *ex vivo* образцов рака толстого кишечника.

6) Разработка метода и устройства визуализации эндогенной флуоресценции для определения границ опухолевой ткани.

7) Разработка метода и устройства визуализации времени жизни эндогенной флуоресценции для задач оценки тканевого метаболизма с реализацией измерений в частотной области.

8) Разработка метода лазерной спекл-контрастной визуализации с анализом частотно-временных характеристик динамики кровотока.

9) Разработка тест-объектов (оптических фантомов), имитирующих оптические свойства биологических тканей, для задач калибровки и контроля технического состояния систем оптической визуализации.

**Методология и методы исследования.** Теоретические исследования проведены с применением методов системного анализа, прикладной математической статистики, вейвлет-анализа, методов регрессионного, корреляционного и кластерного анализа и различных методов машинного обучения. Также при выполнении диссертации применялись методы физической и прикладной оптики, биофотоники, численных методов моделирования, решения прямых и обратных задач оптики. Экспериментальные исследования выполнены с использованием методов математического моделирования, планирования и проведения клинических исследований, методов визуализации, трансформации и анализа получаемых данных в реальном масштабе времени на основе компьютерных методов обработки данных в программных средах Matlab, C++ и Python.

**Научная новизна:**

1) Разработаны новый метод и устройство поляризационно-чувствительной гиперспектральной визуализации, реализующие измерения диффузного отражения и

степени остаточной линейной поляризации в диапазоне 510-900 нм, а также нейросетевую обработку спектральных данных. Впервые экспериментально изучены оптические характеристики кожи пациентов с сахарным диабетом, демонстрирующие статистически значимое снижение оксигенации тканей нижних конечностей диабетических пациентов, увеличение их кровенаполнения и увеличение степени остаточной линейной поляризации. Получены классификатор и решающее правило для дифференциации наличия или отсутствия диабетических осложнений на основе линейного дискриминантного анализа со значениями метрик классификации чувствительности и специфичности 0,95 и 0,85 соответственно.

2) Разработаны новый метод и устройство Стокс-поляризационной визуализации, позволяющие регистрировать полный вектор Стокса отраженного излучения и получать ряд расчетных поляриметрических характеристик. Разработаны классификаторы для дифференциации опухолей на основе методов опорных векторов, случайного леса и логистической регрессии и предложенных поляриметрических предикторов. Разработан метод кластеризации на основе метода  $k$ -средних и параметров Стокса для цифрового гистологического анализа FFPE опухолевых образцов без их окрашивания, снижающий трудоемкость и повышающий быстродействие стандартных рутинных гистологических процедур.

3) Разработаны новый метод и устройство визуализации эндогенной флуоресценции с возбуждающим излучением 455 нм для определения в режиме реального времени границ опухолевого образования. Проведенные экспериментальные исследования на *in vivo* модели опухолей печени у мышей доказали высокую чувствительность системы к изменениям эндогенной флуоресценции, обусловленным канцерогенезом, что позволяет без использования красителей визуализировать границы опухоли с высоким контрастом для последующей эффективной резекции.

4) Разработан метод визуализации времени жизни флуоресценции в частотной области на основе пространственного сканирования, применимый к FFPE-образцам биологических тканей. Показана возможность дифференциации доброкачественных и злокачественных изменений на основе анализа параметров флуоресцентного отклика в частотной области, а именно фазового сдвига. Проведены экспериментальные исследования образцов рака молочной железы, продемонстрировавшие высокую контрастность между различными гистологическими структурами без использования красителей.

5) Предложен метод, основанный на широкопольной визуализации времени жизни флуоресценции в частотной области и ингибиторном анализе, предоставивший новые возможности в анализе содержания различных форм флавопротеинов – ключевых участников тканевого метаболизма. Проведенное исследование впервые демонстрирует возможность использования визуализации времени жизни флуоресценции для оценки действия ингибиторов моноаминоксидазы и других нейромодуляторов на тканевый метаболизм.

6) Разработан новый метод частотно-временного анализа данных лазерной спекл-контрастной визуализации, позволяющий визуализировать регуляторные механизмы кровотока. Использование дополнительных модальностей в виде высокоскоростной видеокапилляроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии продемонстрировал возможность анализа осцилляционных компонент периферического кровотока человека в диапазоне 0,0005-2 Гц с помощью метода ЛСКВ. Предложенный

новый метод обработки сигналов ЛСКВ впервые продемонстрировал возможность регистрации карт распределения миогенных вазомоций на частоте около 0,1 Гц в периферических сосудах мозга крысы, что позволяет более детализировано анализировать физиологические механизмы регуляции церебрального кровотока.

7) Разработаны оптические тест-объекты (фантомы), имитирующие поглощающие, рассеивающие и флуоресцентные свойства биологических тканей, позволившие калибровать и проводить контроль технического состояния систем оптической визуализации. Предложен новый подход к изготовлению стабильного эластичного полиакриламидного фантома флуоресценции флавинов, имитирующего оптические свойства стромальных тканей.

**Достоверность научных положений и выводов** подтверждается тщательной разработкой методик проведения эксперимента, использованием современных методов визуализации и измерения физических параметров, обеспечением воспроизводимости наблюдений и измерений, а также сопоставлением полученных данных с результатами существующих теоретических и экспериментальных исследований; использованием апробированных и подтвержденных методов и методик обработки результатов измерений, согласованием результатов численного моделирования с данными натуральных экспериментов и обеспечением достаточного объема экспериментальных данных для проведения статистического анализа.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** *Теоретическая значимость* диссертационного исследования заключается в развитии научных представлений о закономерностях взаимодействия оптического излучения с неоднородными биологическими средами, в частности, с тканями, характеризующимися высокой степенью рассеяния. Разработанные в работе численные модели, основанные на методе стохастического моделирования Монте-Карло, позволяют глубоко анализировать процессы распространения света в биологических тканях и учитывать влияние физико-технических параметров систем регистрации на формируемый оптический сигнал. Эти модели создают основу для научного обоснования медико-технических требований к системам оптической визуализации, таких как длина волны, параметры поляризации, конфигурация источников и детекторов и т.п. Важным элементом теоретической значимости является также разработка новых подходов к анализу получаемых данных, включая применение методов регрессионного анализа, кластеризации, нейросетевого моделирования и вейвлет-анализа, что способствует формированию современных междисциплинарных методик обработки информации в биофизике. Кроме того, работа расширяет фундаментальные представления о физических основах метаболических изменений в тканях при различных физиологических и патологических состояниях.

*Практическая значимость* диссертационного исследования определяется разработкой, реализацией и клинической апробацией новых методов и устройств для неинвазивной оптической визуализации параметров тканевого метаболизма, включая оксигенацию, параметры кровотока и морфологическое состояние тканей. Предложенные технологии, такие как гиперспектральная и Стокс-поляризационная визуализация, а также методы анализа флуоресценции и динамического рассеяния света, обеспечивают высокую чувствительность к физиологическим и патологическим изменениям в тканях и позволяют проводить диагностику в режиме реального времени без использования экзогенных красителей. Полученные в ходе работы результаты уже

внедрены в рамках прикладных проектов, поддержанных Российским научным фондом, РФФИ, Правительством РФ, Президентским грантом и программой Horizon 2020, и применяются при разработке медицинских диагностических систем нового поколения (имеются акты внедрения в ООО НПП «ЛАЗМА»). Разработанные методики используются в образовательном процессе, что подтверждает их ценность не только для научных, но и для образовательных задач. Таким образом, результаты работы представляют собой важный вклад в развитие технологий биомедицинской диагностики, способствуют повышению качества медицинской помощи и расширяют возможности персонализированной медицины.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1) Разработанная искусственная нейронная сеть для обработки гиперспектральных данных и обученная по выборке более 82000 смоделированных спектров диффузного отражения позволяет восстанавливать значения насыщения крови кислородом в диапазоне 30-100%, объемной доли крови (0-40%), содержания меланина (1-10%) и толщины эпидермиса (50-250 мкм).

2) Остаточная линейная поляризация (*DOLP*) в диапазоне 510-900 нм является чувствительным маркером возрастных и диабетических изменений кожи. Введенный параметр «индекс поляризации» (*PI*), отражающий интегральную *DOLP*-активность, а также параметры тканевой оксигенации и объемной доли крови совместно с разработанным классификатором на основе линейного дискриминантного анализа позволяют выявлять наличие или отсутствие диабетических осложнений у пациентов с сахарным диабетом 2 типа с диагностической точностью 0,9 на использованной экспериментальной выборке.

3) Предложенный метод Стокс-поляризационной визуализации с использованием в качестве зондирующего излучения лазера с длиной волны 450 нм, включая кластеризацию методом *k*-средних в пространстве полного вектора Стокса, позволяет проводить цифровой гистологический анализ FFPE-образцов тканей молочной железы без окрашивания, выделяя опухолевые, фиброзные и жировые участки. Расчет матриц Мюллера и использование симметричного разложения, а также применение метода случайного леса позволяет выявлять опухолевые участки *ex vivo* образцов рака толстого кишечника с диагностической точностью 0,97.

4) Предложенный метод визуализации интенсивности эндогенной флуоресценции тканевых флуорофоров (флавинов, коллагена, порфирина) при возбуждающем излучении 455 нм обеспечивает определение границ опухолевой ткани гепатоцеллюлярной карциномы, достигая шестикратного улучшения контраста в сравнении с визуализацией в белом свете.

5) Измерение фазового времени жизни флуоресценции при возбуждающем излучении 450 нм позволяет проводить цифровой гистологический анализ FFPE-образцов тканей молочной железы без окрашивания. Фазовое время жизни флуоресценции в исследованной выборке опухолевых тканей молочной железы ( $1,7 \pm 1,3$  нс) статистически значимо ниже, чем в фиброзной ткани ( $4,3 \pm 1,8$  нс,  $p < 0,01$ ).

6) Предложенный метод широкопольной визуализации времени жизни флуоресценции с реализацией измерений в частотной области с возбуждающим излучением 450 нм впервые продемонстрировал региональную специфику времени жизни флуоресценции флавопротеинов в различных отделах мозга лабораторных крыс (1,8-3 нс),

отражающую метаболическое разнообразие, и позволил отслеживать влияние нейромодуляторов на тканевый метаболизм.

7) Разработанный метод частотно-временной декомпозиции сигналов ЛСКВ позволяет исследовать ключевые физиологические механизмы регуляции периферического кровотока на основе анализа осцилляционных компонент в диапазоне 0,005-2 Гц. Предложенный новый метод обработки сигналов ЛСКВ с картированием осцилляций кровотока демонстрирует высокую интенсивность миогенных вазомоций на частоте около 0,1 Гц в периферических сосудах мозга грызунов.

8) Разработанные оптические фантомы на основе поливинилхлорида и полиакриламида имитируют поглощающие, рассеивающие и флуоресцентные свойства биологических тканей, что позволяет стандартизировать оптические измерения и проводить калибровку систем визуализации тканевого метаболизма.

**Апробация диссертации.** Основные результаты исследований были доложены на международных и всероссийских конференциях: «SPIE Photonics West», Сан-Франциско, США, 2015-2023; «SPIE Photonics Europe», Страсбург, Франция, 2018, 2020, 2022; «Saratov Fall Meeting», Саратов, 2014-2024; «European Conferences on Biomedical Optics (ECBO)», Мюнхен, Германия, 2017, 2019, 2021, 2023; «International Conference Laser Optics (ICLO)», Санкт-Петербург, 2020, 2022, 2024; «Laser Applications in Life Sciences (LALS)», Рамат-Ган, Израиль, 2018, Мюгла, Турция, 2023, 2024; «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии» (ФРЭМЭ), Владимир-Суздаль, 2016, 2018, 2020, 2022, 2024; «Микроциркуляция и гемореология», Ярославль, 2015; «Актуальные проблемы эндокринологии», 2017, Санкт-Петербург; «Биотехнические, медицинские и экологические системы, измерительные устройства и робототехнические комплексы – Биомедсистемы», Рязань, 2018-2022; «Современные методы исследования в клеточной биологии и медицине», Орёл, 2023; «Зимняя школа по механике сплошных сред», Пермь, 2021, 2023; «VII Съезд биофизиков России», Краснодар, 2023, а также ряде других.

Комплексная апробация завершённой диссертации проведена в Орловском государственном университете имени И.С. Тургенева, БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», Медицинском центре Плявниек и Клинической университетской больнице имени Паула Страдыня (Рига, Латвия), а также на базе научно-производственного предприятия «ЛАЗМА» (г. Москва).

Результаты диссертационной работы имеют практическое значение для развития оптических технологий, биофизики и биомедицинского приборостроения в целом. Актуальность диссертационных исследований подтверждается грантовой поддержкой ряда проектов по результатам российских и международных конкурсов.

Полученные в диссертационной работе результаты теоретических и прикладных исследований использовались при выполнении проекта Российского фонда фундаментальных исследований (№ 18-02-00669 «Разработка технологии многопараметрической оптической биопсии патологических процессов органов брюшной полости», 2018-2020, исполнитель проекта); проектов Российского научного фонда (№ 18-15-00201 «Клинико-экспериментальное обоснование многопараметрической оптической биопсии органов гепатопанкреатодуоденальной зоны при малоинвазивных хирургических операциях», 2018-2020, основной исполнитель проекта; №21-15-00325 «Разработка мультимодальной оптической диагностической технологии для анализа

структурно-функционального состояния печени при чрескожной пункционной биопсии», 2021-2023, основной исполнитель проекта; №19-79-00082 «Гиперспектральная Стокс-поляризационная визуализация малигнизации биологических тканей», 2019-2021, руководитель проекта; №22-75-10088 «Оптическая тераностика гипергликемических осложнений», 2022-2025, руководитель проекта); проекта Европейского Союза H2020 имени Марии Склодовской-Кюри для постдоков и опытных исследователей (№839888, «Multimodal hyperspectral system for imaging of biological tissues glycation (MultiBioScan)», 2020-2022, руководитель проекта); гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (№МК-398.2021.4 «Оптическая генерация и детекция синглетного кислорода в задачах редокс-биологии», 2021-2022, руководитель проекта); проектов Правительства Российской Федерации (№075-15-2019-1877, № 075-15-2022-1095 «Митохондрии как мишени в механизме нейродегенеративных заболеваний», 2019-2023, исполнитель проекта и №075-15-2024-621, №075-15-2025-011 «Механизм нейродегенерации: древняя молекула как необходимый элемент физиологии и патологии клеток мозга», 2024-2028, исполнитель проекта).

Разработанные в ходе диссертации методы и устройства используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева» в лекционных курсах и лабораторных практикумах по дисциплинам: «Технические методы диагностических исследований и лечебных воздействий», «Основы биофотоники», «Оптико-электронные устройства в диагностике, терапии и хирургии», «Биомедицинская спектроскопия и визуализация», «Компьютерное моделирование оптических свойств биотканей» и «Неинвазивные диагностические методы исследования системы микроциркуляции крови», которые разработаны и реализованы соискателем в 2015-2024 годах в рамках направлений подготовки «Биотехнические системы и технологии» (бакалавриат и магистратура), «Лечебное дело» и «Педиатрия» (специалитет).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 123 научные работы, в том числе 6 монографий (5 – в коллективных монографиях издательств Springer и CRC Press), 43 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК России, 58 зарубежных публикаций в рецензируемых изданиях, индексируемых Scopus или Web of Science (27 статей в журналах 1-ого квартиля), 7 патентов РФ и 9 свидетельств о государственной регистрации программ для ЭВМ, а также более 50 публикаций в других изданиях и в сборниках трудов конференций.

**Личный вклад автора и соавторы фрагментов работы.** Результаты, изложенные в настоящем диссертационном исследовании, в том числе постановка целей и задач, разработка и исследование защищаемых методов, моделей и алгоритмов, основные научные результаты, выводы и рекомендации, принадлежат автору лично. Часть работ выполнена при участии коллег из научно-технологического центра биомедицинской фотоники, включая лабораторию клеточной физиологии и патологии ОГУ имени И.С. Тургенева (г. Орел) и БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница» (г. Орел) при выполнении совместных проектов, а также в сотрудничестве с коллегами из других организаций – Университет Оулу (г. Оулу, Финляндия), Университет Астона (г. Бирмингем, Великобритания), Институт механики сплошных сред Уральского отделения Российской академии наук (г. Пермь), Университет ИТМО (г. Санкт-Петербург).

**Структура и объём диссертационной работы.** Работа состоит из введения, 6

глав, заключения, списка использованных источников, включающего 493 наименования и изложена на 341 странице машинописного текста, содержит 107 иллюстраций, 9 таблиц.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулирована проблема, цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимости, приведены результаты реализации работы.

**Первая глава** включает комплексный обзор фундаментальных основ тканевого метаболизма – его ключевые компоненты (клеточный метаболизм и кровоток), этапы энергетического обмена (гликолиз, цикл Кребса, окислительное фосфорилирование), механизмы регуляции (гормональные, нервные), а также патологические нарушения (сахарный диабет, митохондриальные дисфункции, нейродегенеративные и онкологические заболевания). Особое внимание уделено современным методам исследования, в том числе оптическим технологиям визуализации, которые позволяют неинвазивно анализировать оксигенацию, морфологию, внутриклеточные метаболические процессы и микроциркуляцию крови, что обосновывает выбор методов, развиваемых в диссертационной работе.

**Вторая глава** посвящена разработке поляризационно-чувствительного метода ГСВ. Целью данной разработки явилась реализация нового подхода для определения оксигенации и кровенаполнения биологических тканей, как одних из наиболее важных параметров, отвечающих за тканевый метаболизм. Был реализован новый метод ГСВ, основанный на применении искусственных нейронных сетей (ИНС) для количественного и пространственного анализа спектров диффузного отражения. Портативная система визуализации была построена на основе гиперспектральной камеры (Senor Optronics, Финляндия), использующей интерферометр Фабри-Перо, обеспечивающий спектральное разрешение 6-10 нм в диапазоне 510-900 нм (представлена на рисунке 1).

Широкополосный излучающий модуль на основе галогеновой лампы и оптоволоконного кольцевого осветителя обеспечивает равномерное распределение интенсивности света в фокальной плоскости камеры со средней яркостью  $4,3 \pm 0,5$  мВт/см<sup>2</sup>. Применение кольцевого осветителя позволило объединить оси освещения и регистрации. Система была оснащена вращающимся линейным поляризатором, который возможно размещать параллельно (||) или перпендикулярно (⊥) исходной поляризации источника света, что позволило не только избежать зеркального отражения, но также измерять *DOLP* излучения, отраженного от биоткани:

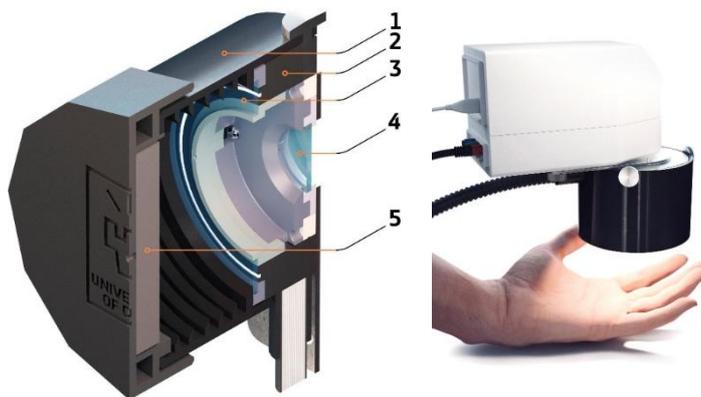


Рисунок 1 – Схема разработанного прототипа системы ГСВ: 1 – бленда объектива, 2 – кольцевой волоконный осветитель, излучающий широкополосное излучение галогенной лампы, 3 – кольцевой поляризатор блока подсветки, 4 – вращающийся поляризатор камеры; 5 – встроенный стандарт диффузного отражения (серый Spectralon – 50% отражения)

$$DOLP = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + I_{\perp}}. \quad (1)$$

Таким образом, разработанное устройство способно регистрировать пространственно и спектрально разрешенный коэффициент диффузного отражения для дальнейшего анализа ИНС.

Для обучения ИНС и оценки насыщения крови кислородом спектры диффузного отражения биоткани были смоделированы с помощью метода Монте-Карло с использованием семислойной модели кожи. Были приняты во внимание различия в пространственном распределении крови, меланина, насыщения крови кислородом, гематокрита, содержания воды в коже, а также числовой апертуры детектора. Все возможные комбинации четырех переменных параметров были получены для модельных спектров отражения кожи с учетом объемного коэффициента кровенаполнения  $K_b = [0-2]$  с шагом 0,1, насыщения крови кислородом  $S = [30-100]\%$  с шагом 1%, концентрации меланина  $K_{mel} = [0-0,1]$  с шагом 0,01 и коэффициента толщины эпидермиса  $K_{epi} = [1-5]$  с шагом 1. Полный набор обучающих данных содержал 82 005 спектров в диапазоне 500-900 нм с шагом 5 нм.

Matlab Deep Learning Toolbox был выбран для построения и обучения взаимосвязанного набора ИНС для извлечения целевых параметров. Данный программный пакет позволяет использовать многослойный перцептрон для подгонки кривой и регрессии. В качестве алгоритма обучения использовался итеративный метод оптимизации Левенберга-Марквардта. Этот метод заключается в минимизации суммы квадратов ошибок между выходами сети и целевыми значениями:

$$E(w) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N (y_i - f(x_i, w))^2, \quad (2)$$

где  $w$  – веса сети,  $f(x_i, w)$  – предсказание сети. На каждом шаге веса корректируются по формуле:

$$w_{k+1} = w_k - (J_k^T J_k + \lambda I)^{-1} J_k^T e_k, \quad (3)$$

где  $J_k$  – матрица Якоби (производные ошибок по весам),  $e_k$  – вектор ошибок,  $\lambda$  – параметр демпфирования (регуляризации),  $I$  – единичная матрица. Если ошибка уменьшается,  $\lambda$  уменьшается (алгоритм вырождается в метод Гаусса-Ньютона). Если ошибка растёт,  $\lambda$  увеличивается (метод ближе к градиентному спуску).

Все этапы можно разделить на две основные группы (рисунок 2). Первая группа, состоящая из корректировки численной модели ткани, моделирования набора обучающих данных и обучения ИНС, является наиболее трудоемкой, но выполняется до измерений. Вторая группа – приложение обученной ИНС к результатам гиперспектральных измерений и получение требуемых параметров. Сначала оценивается толщина эпидермиса и содержание меланина с использованием соответствующей обученной ИНС. Наилучшее определение эти параметрам было получено в спектральном диапазоне 680-725 нм и 725-770 нм, соответственно. Затем для расчетной толщины эпидермиса и содержания меланина определяются объемная доля крови и оксигенация крови для спектрального диапазона 535-705 нм и 675-825 нм, соответственно. Предварительная обработка данных измерений с целью улучшения отношения сигнал/шум состоит из пространственного усреднения входного гиперспектрального



Рисунок 2 – Блок-схема обработки гиперспектральных данных: шаги 1-3 выполняются до измерений, 4 – в соответствии со сбором данных

систолического, что обеспечивало подавление кровообращения внутри пальца и, следовательно, его оксигенации. Были получены гиперспектральные изображения кожи до окклюзии, через 3 мин непрерывной окклюзии и через 1 мин после высвобождения окклюзионного кольца и реконструированы карты кровенаполнения и оксигенации.

Реконструированные значения толщины эпидермиса и содержания меланина для рассматриваемых типов кожи представлены на рисунке 3(а,б), соответственно. Среднее значение толщины эпидермиса в обоих случаях находится в пределах 140-180 мкм, что характерно для кожи ладонной поверхности. Средняя восстановленная величина содержания меланина составляет 1,3% для кожи II фототипа по шкале Фитцпатрика. На рисунке 3(в-д) представлены восстановленные карты объемной доли крови (*BVF*) во время окклюзионного теста. Содержание крови в дистальных фалангах в 3 раза выше, чем в средних или проксимальных. Во время окклюзии наблюдается значительное снижение содержания крови. Высвобождение окклюзии вызывает появление реактивной гиперемии, приводящей к увеличению объемной доли крови, которая может быть надежно обнаружена разработанной системой. На рисунке 3(е-з) представлены полученные карты тканевой оксигенации (сатурации *S*). Средний уровень тканевой оксигенации составил 81-84%. Полученное значение

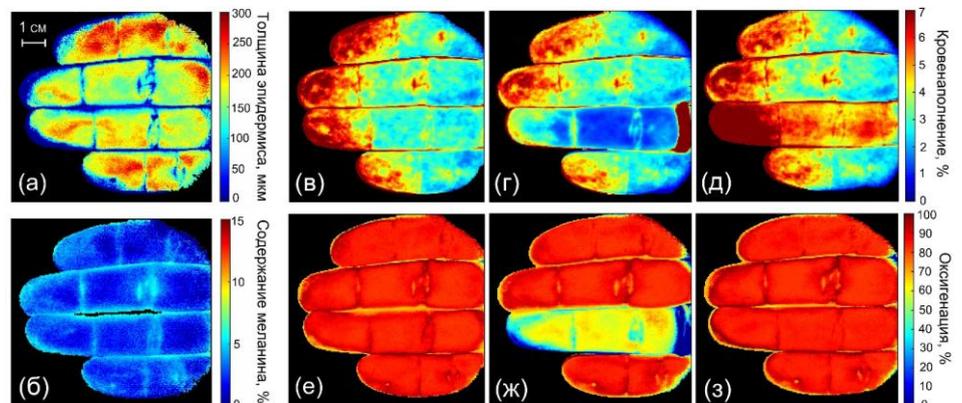


Рисунок 3 – Реконструированные значения (а) толщины эпидермиса и (б) содержания меланина. Карты кровенаполнения (в) до, (г) в течение и (д) через 1 мин после окклюзии безымянного пальца. Соответствующие карты оксигенации крови кожи (е) до, (ж) в течение и (з) через 1 мин после окклюзии

куба в окне  $5 \times 5$  пикселей. Все векторы входных данных измерений для рассматриваемых спектральных диапазонов, а также набор обучающих данных были нормализованы до процедуры обучения сети. Процедура нормализации была реализована в алгоритме обработки данных и предназначена для уменьшения возможных изменений высоты поверхности кожи в поле зрения камеры. Нормализация вектора (по  $L^2$ -норма) как для обучающего набора данных, так и для измеренных данных была использована для получения соответствующих единичных векторов.

Разработанная система была протестирована в пилотных измерениях с окклюзией сосудов. Безымянный палец правой руки был подвержен окклюзии с давлением выше

параметра соответствует среднему между насыщением кислородом артериальной (95-99%) и венозной (~75%) крови. Трехминутная окклюзия снижает содержание кислорода в крови до уровня 60-65%. После снятия окклюзии оксигенация быстро восстанавливается до своих начальных значений. Таким образом, в тестовых экспериментах была успешно продемонстрирована чувствительность метода к изменениям параметров кровотока.

Также известно, что оптические характеристики биоткани значительно меняются в процессе старения организма. С возрастом кожа претерпевает структурные и функциональные изменения, которые в значительной степени связаны с изменениями в структуре коллагена. С возрастом содержание коллагена в дерме увеличивается, а также изменяются его физические и химические свойства: увеличивается количество и прочность меж- и внутримолекулярных сшивок, при этом снижается их эластичность и способность к набуханию, коллагеновые волокна вырабатывают устойчивость к коллагеназе и т.д. Также известно, что процесс химической модификации коллагена, который происходит при старении кожи, значительно ускоряется при определенных заболеваниях, таких как СД. Изменения оптических свойств мутных сред, включая значения коэффициента рассеяния и коэффициента поглощения, сильно влияют на поляризацию излучения, взаимодействующего со средой. Отсечение части фотонов, характеризующихся большим оптическим путем, из-за их поглощения приводит к значительному увеличению *DOLP* для полос избирательного поглощения, вызванных присутствием хромофоров в рассеивающей среде. Напротив, высокое рассеяние снижает значения *DOLP*. В связи с этим возрастные и патологические изменения оптических свойств биологических тканей, в частности кожи, также будут влиять на поляризацию. С помощью представленной системы ГСВ и указанной ранее возможности измерения *DOLP* экспериментально был изучен вклад поглощения и рассеяния в эти изменения.

Были проведены экспериментальные исследования с участием 32 условно здоровых добровольцев (9 мужчин и 23 женщины в возрасте от 22 до 76 лет). Для удобства анализа был предложен индекс поляризации (*PI*), который представляет собой площадь под кривой спектра *DOLP*, нормированную на количество спектральных полос системы ГСВ:

$$PI = \frac{1}{B} \sum_{\lambda_i = \lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} DOLP(\lambda_i), \quad (4)$$

где  $\lambda_{\min} = 510$  нм и  $\lambda_{\max} = 900$  нм – длины волн, определяющие границы рассматриваемого спектрального диапазона, а  $B = 79$  – количество спектральных полос системы ГСВ. Нормализация к числу спектральных полос позволяет получить среднее значение *DOLP* в диапазоне от 0 до 1 и унифицировать измерения различными системами.

На рисунке 4(а-в) показаны примеры изображений *PI* и соответствующие спектры *DOLP* поверхности кожи пальцев для трех женщин-добровольцев разного возраста (рисунок 4(г)). В группе людей в возрасте 47-76 лет было обнаружено статистически значимое увеличение показателя *DOLP* (рисунок 4(д-ж)). В то же время не было обнаружено корреляции между изменениями поляризации и рассчитанным параметром объемной доли крови для разных возрастов (рисунок 4(з,и)). По результатам дополнительного моделирования Монте-Карло установлено, что изменение рассеиваю-

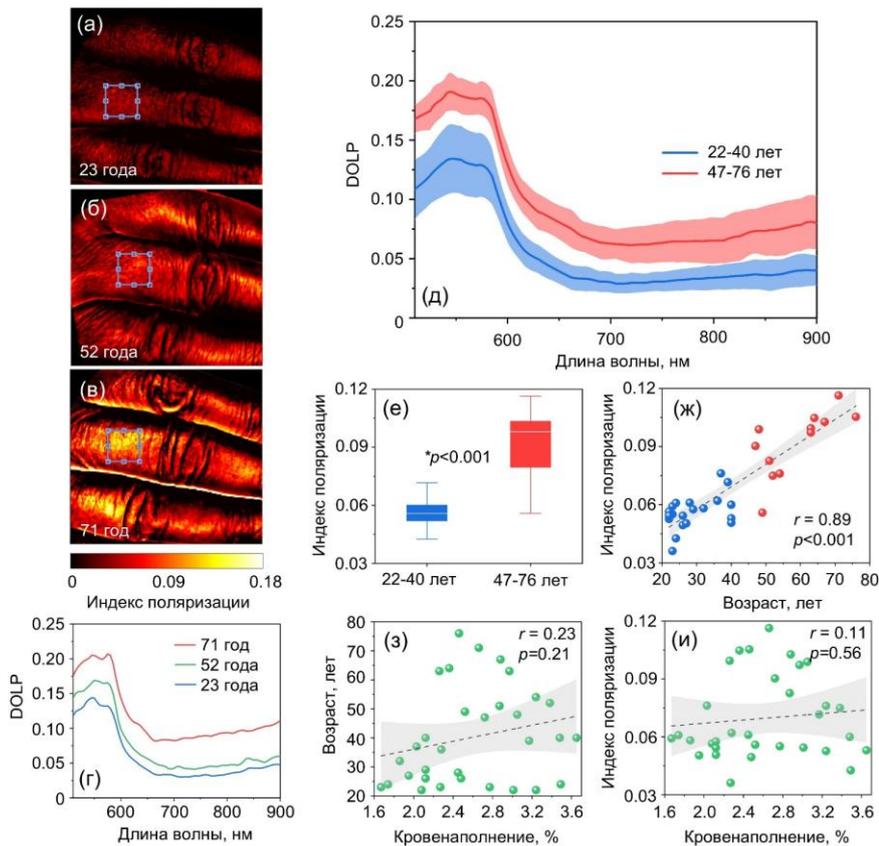


Рисунок 4 – Пример *PI* изображений кожи для различных возрастов: (а) 23 года; (б) 52 года; (в) 71 год. (г) Спектры остаточной поляризации для соответствующих ROI. (д) Усредненные спектры остаточной поляризации для двух возрастных групп: до 40 лет и после 40 лет. (е) Сравнение *PI* между двумя возрастными группами; (ж) взаимосвязь между *PI* и возрастом; корреляция между (з) возрастом и кровенаполнением и (и) между *PI* и кровенаполнением

ная система была протестирована в клинических условиях на пациентах с СД (рисунок 5). В экспериментальных клинических исследованиях приняли участие 20 пациентов (10 мужчин и 10 женщин, средний возраст  $54 \pm 11$  лет) с СД 2 типа Медицинского центра Плявниеки и Клинической университетской больницы имени Паула Страдыня (г. Рига, Латвия). Контрольную группу составили 20 условно здоровых добровольцев (средний возраст  $48 \pm 14$  лет), из которых 13 участников (65%) женщины.



Рисунок 5 – Экспериментальная система ГСВ в клинических условиях

Измерения проводились на дорсальной поверхности стопы с помощью разработанной системы. На рисунке 6(а,б) показана область измерения системы с рассчитанными параметрами кровенаполнения и оксигенации. Типичные карты распределения рассчитанных параметров для контрольной и диабетической групп представлены на рисунке 6(в-з).

Экспериментальные исследования показали, что пациенты с СД имеют повышенные значения параметров кровенаполнения и индекса поляризации, а также более низкий уровень тканевой оксигенации (рисунок 7(а)).

Эти свойства биологических тканей оказывает наибольшее влияние на изменение поляризации света по сравнению с изменением поглощения. Результаты исследования доказывают, что чувствительность поляризационной визуализации к возрастным или патологическим изменениям кожи может быть в первую очередь обусловлена изменениями в рассеянии, которые, в свою очередь, связаны с изменениями в коллагеновых волокнах дермы. Предложенный метод является перспективным для неинвазивной оценки возрастных изменений кожи *in vivo* в режиме реального времени, а также может быть расширен для мониторинга изменений, связанных с развитием различных патологий.

Далее мультимодальная

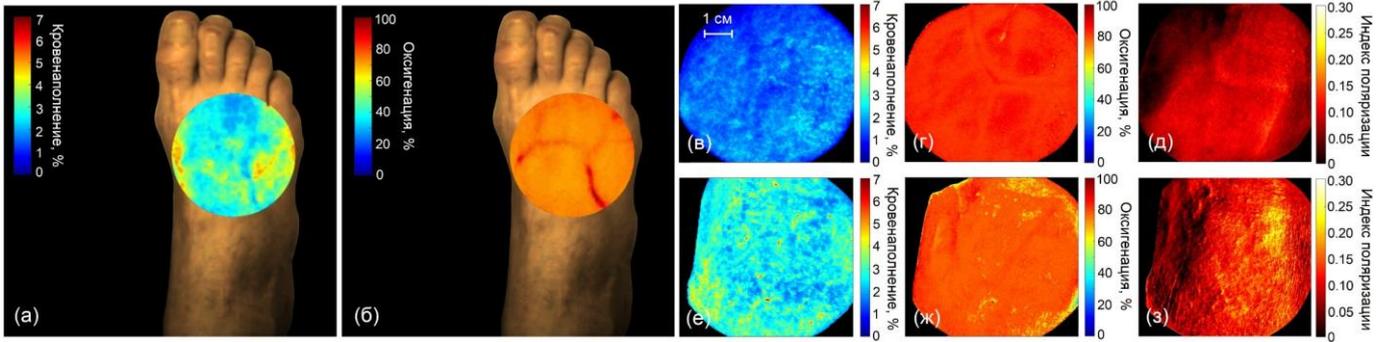


Рисунок 6 – Область измерения системы ГСВ ( $8 \times 8 \text{ см}^2$ ) с рассчитанными параметрами (а) кровенаполнения и (б) оксигенации. Типичные реконструированные карты (в,е) кровенаполнения, (г,ж) оксигенации и (д,з) индекса поляризации для контрольной (верхний ряд) и диабетической (нижний ряд) групп, соответственно

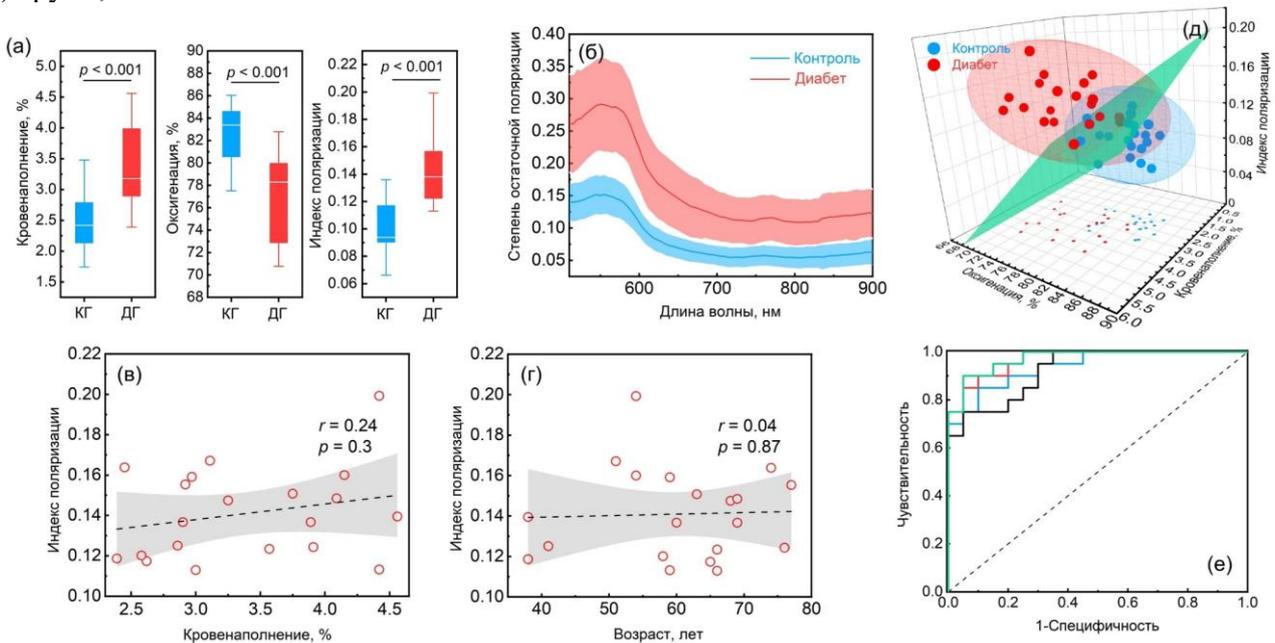


Рисунок 7 – (а) Сравнение параметров между контрольной (КГ, синие столбцы) и диабетической (ДГ, красные столбцы) группами. (б) Усредненные спектральные зависимости  $DOLP$  (сплошная линия) и стандартного отклонения для двух групп: КГ (синяя линия) и ДГ (красная линия). Корреляция между (в)  $PI$  и  $BVF$  и (г)  $PI$  и возрастом для ДГ (доверительный интервал 95%). (д) Трехмерное распределение значений и поверхность принятия решений для трехмерного классификатора на основе линейного дискриминантного анализа. 3D-эллипсоиды – это доверительные области (доверительный интервал 95%). (е) ROC-кривые оценки эффективности классификаторов для различных комбинаций измеренных параметров. Синяя линия обозначает использование  $BVF, S$ , черная линия –  $BVF, PI$ , красная линия –  $S, PI$ , зеленая линия –  $BVF, S, PI$

При венозном застое, связанном с венозной недостаточностью, характерной для больных СД, функционирующие вены становятся шире, а те венозные сосуды, которые ранее не функционировали, открываются. Капилляры расширяются также в основном в венозных отделах. Повышенные значения данного параметра также могут быть объяснены притоком крови к нижним конечностям из-за процессов воспаления и заживления, которые наблюдаются у пациентов с СД. Полученные данные о сниженных значениях тканевой сатурации у пациентов с СД по сравнению с контрольной группой совпадают с данными, полученными ранее в других исследованиях. Известно, что гипергликемия может увеличивать потребление кислорода митохондриями, что приводит к клеточной гипоксии. В связи с этим определение содержания крови и насыщения кислородом может быть полезно при исследовании застоя крови,

приводящего к отекам и трофическим нарушениям, а также для контроля терапевтических процедур, направленных на заживление трофических язв.

На рисунке 7(б) также показаны усредненные спектры *DOLP* для контрольной и диабетической групп с разницей во всем диапазоне длин волн. Как было отмечено ранее, спектральные зависимости *DOLP* могут отражать наличие крови в коже (увеличение *DOLP* в спектральных полосах поглощения гемоглобина). В связи с этим для оценки влияния содержания крови на различие спектров была изучена зависимость параметра *PI* от кровенаполнения. Как видно из рисунка 7(в), между этими параметрами нет статистически значимой корреляции. Возможно предположить, что именно наличие СД и связанные с ним изменения кожи влияют на разницу в спектрах *DOLP*. Учитывая связь диабетических изменений и процессов старения, логично предположить, что наличие СД, а также старение снижают потерю поляризации. Кроме того, была проверена взаимосвязь между *PI* и возрастом для диабетической группы. Как видно из рисунка 7(г), между этими параметрами также нет корреляции. Это подтверждает предположение о том, что наличие СД, как и ранее показанное старение, являются основными факторами, влияющими на поляризационные свойства кожи пациентов.

Дополнительно, анализируемые параметры использовались для синтеза решающего правила. Эти параметры удовлетворяют принципам статистической независимости и значимости различий их значений, рассчитанных для групп пациентов и контрольной группы. В таблице 1 приведены чувствительность (*Se*), специфичность (*Sp*) и площадь под кривой (*AUC*) для различных комбинаций измеренных параметров. Как видно из таблицы, сочетание всех трех параметров обеспечивает наиболее высокие значения чувствительности и специфичности.

Таблица 1 – Чувствительность, специфичность и *AUC* набора классификационных правил

Параметр	<i>BVF, S</i>	<i>BVF, PI</i>	<i>S, PI</i>	<i>BVF, S, PI</i>
Чувствительность <i>Se</i>	0,85	0,80	0,95	0,95
Специфичность <i>Sp</i>	0,80	0,80	0,80	0,85
<i>AUC</i>	0,94	0,93	0,96	0,97

На рисунке 7(д) показан трехмерный график разброса экспериментальных данных с наложением дискриминантной поверхности, которая делит экспериментальные точки на две группы с лучшим сочетанием чувствительности и специфичности. Феноменологический диагностический критерий в виде дискриминантной функции ( $D_f$ ) позволяет отнести вновь измеряемый объект к одной из двух групп:

$$D_f = 8,9 + 0,5BVF - 0,2S + 28,9PI. \quad (5)$$

Разработанная система ГСВ показала способность обнаруживать изменения содержания крови, оксигенации крови и структуры коллагена в коже человека *in vivo*. Реализация обработки на основе ИНС позволяет в режиме реального времени определить рассматриваемые параметры кожи. Предложенная концепция была успешно апробирована в клинических исследованиях и удовлетворяет основным требованиям, предъявляемым к современным методам медицинской визуализации, обеспечивая большое поле зрения, высокое спектральное разрешение, получение и обработку данных в режиме реального времени, высокий уровень чувствительности и специфичности.

Результаты второй главы продемонстрировали большие перспективы примене-

ния поляризационного анализа для определения структурных и морфологических изменений свойств биотканей, однако он был ограничен измерением только линейной поляризации, что послужило основой для разработки системы для регистрации полного вектора Стокса ( $\vec{S} = (S_0, S_1, S_2, S_3) = (I, Q, U, V)$ ) и полной степени остаточной поляризации ( $DOP$ ), которая была апробирована для дифференциации онкологических образцов. Результаты исследований представлены в **третьей главе**.

В осветительном канале системы с круговой поляризацией использовалось излучение суперконтинуумного волоконного лазера (Leukos Ltd., Франция) (рисунок 8). Длина волны зондирования выбиралась с помощью высокоскоростного акустооптического перестраиваемого фильтра (Leukos Ltd., Франция) в диапазоне 450-650 нм, что также позволило реализовывать мультиспектральные и гиперспектральные измерения. Линейно поляризованный свет с выхода фильтра изменялся четвертьволновой пластиной в состояние правосторонней циркулярной (круговой) поляризации и фокусировался на поверхность образца с помощью 45 мм линзы  $L_1$  под углом  $55^\circ$ . Состояние поляризации

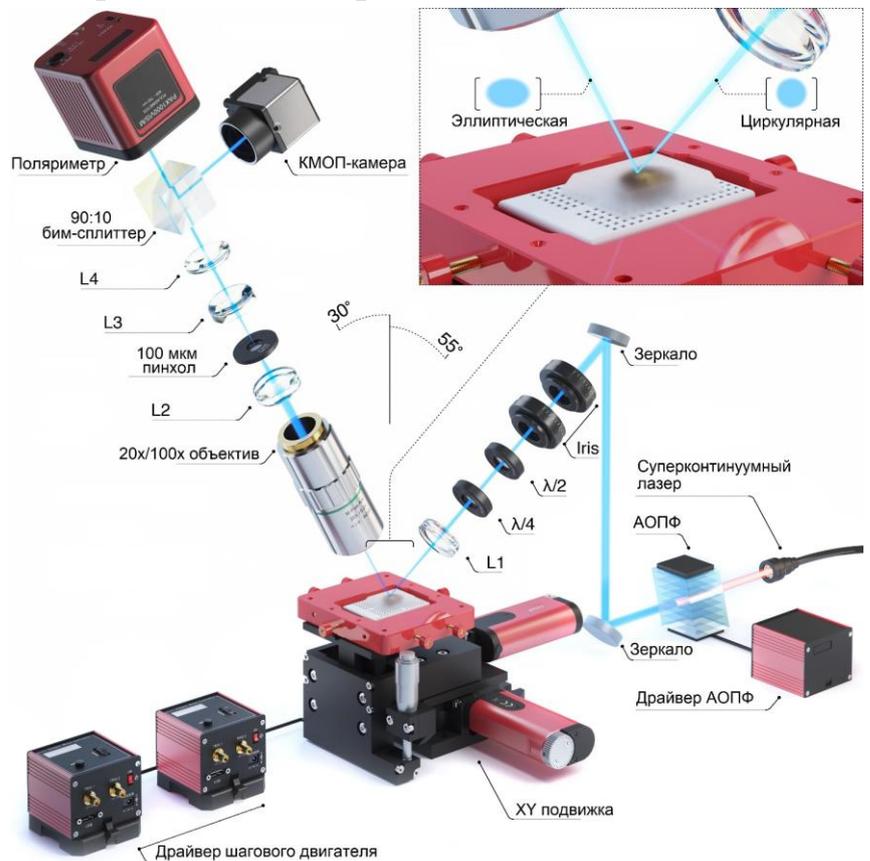


Рисунок 8 – Оптическая схема системы формирования изображений с круговой поляризацией. Система содержит осветительное плечо (правая часть) и измерительное плечо (левая часть)

света, диффузно отраженного от образца, регистрировалось под углом  $30^\circ$  на переменном расстоянии  $d_{SD}$  от точки падения с помощью  $20\times$  (или  $100\times$ ) апохроматического объектива с коррекцией на бесконечность (M20X-804 или M100X-806, Thorlabs, США). Используя стандартную схему пространственной фильтрации, включающую два дублета  $L_2$ ,  $L_3$  и 100 мкм пинхол, исключались любые фотоны, находящиеся вне фокуса, что улучшало разделение между различными областями ткани во время измерений. Затем свет был сфокусирован с помощью тубусной линзы  $L_4$  и разделен бим-сплиттером: 10% оптической мощности поступало на КМОП-камеру для широкопольной контрольной съемки положения фокуса объектива, остальные 90% поступало на поляриметр Стокса (PAX1000VIS, Thorlabs, США), который регистрировал и анализировал поляризационные данные. Пространственное сканирование образцов осуществлялось с помощью моторизованного транслятора XY с шагом 0,5 или 5 мкм, в зависимости от размера интересующей области. Управление всеми узлами системы и операции по обработке данных осуществлялись с помощью специализированного программного обеспечения, разработанного в средах  $C^{++}$  и Matlab.

*Поляриметрическое исследование FFPE образцов рака молочной железы*

В данном разделе представлены результаты сканирования с помощью разработанной системы фиксированных в формалине парафинизированных (FFPE) образцов рака молочной железы ранней стадии (протоковая карцинома *in situ*, DCIS) и образцов развитого рака (инвазивная протоковая карцинома, IDC). Перед проведением измерений соседний срез ткани из блока был охарактеризован стандартным гистопатологическим анализом. Измерения включали в себя 13 образцов жировой ткани, 11 образцов доброкачественного фиброза и по 5 образцов DCIS и IDC.

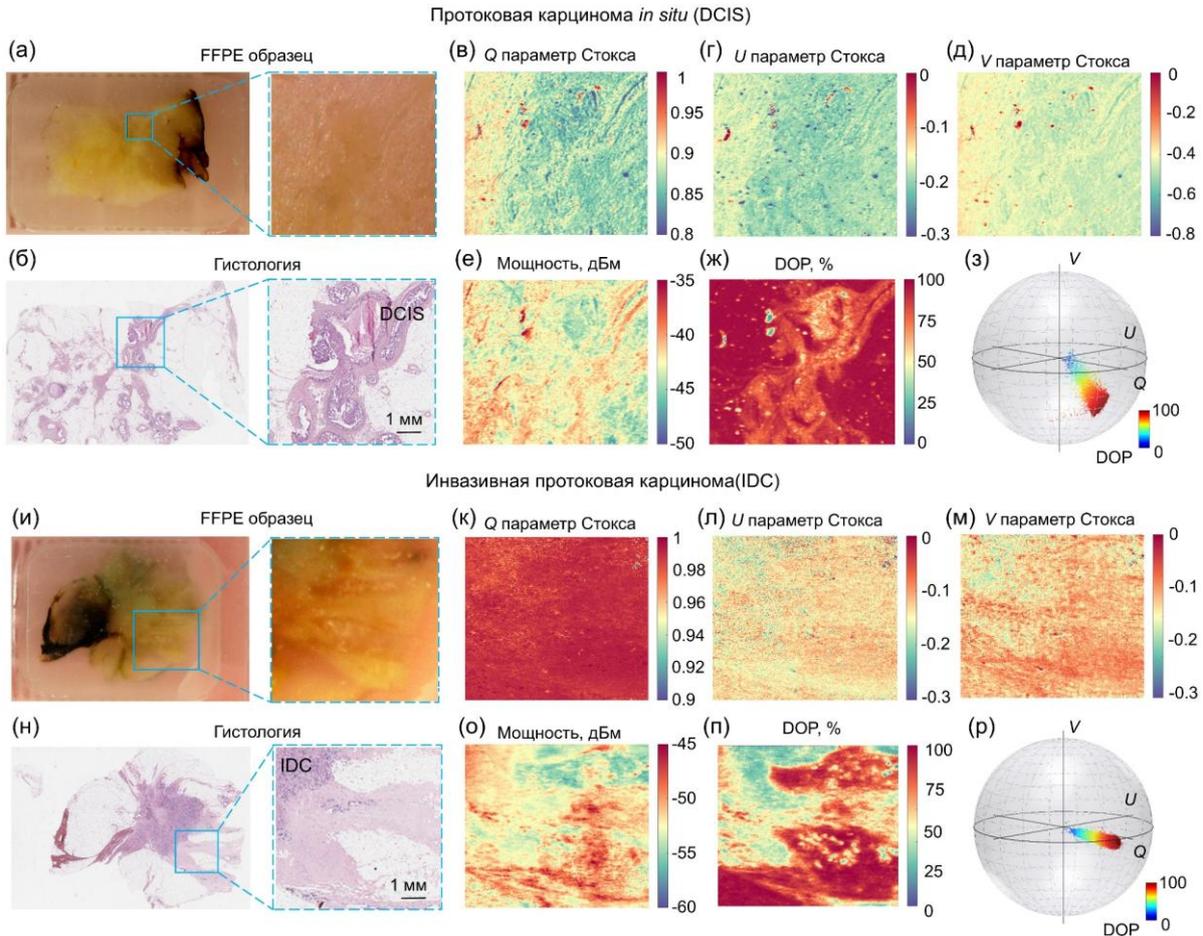


Рисунок 9 – Фотографии (а,и) и гистологические (б,н) изображения DCIS (верхний ряд) и IDC (нижний ряд) молочной железы; 2D пространственные распределения нормированного вектора Стокса: (в,к)  $Q$  параметр, (г,л)  $U$  параметр, (д,м)  $V$  параметр, (е,о) мощность и (ж,п)  $DOP$  отраженного света; (з,р) соответствующее распределение параметров Стокса на сфере Пуанкаре

Было установлено, что наилучший контраст изображения достигается при длине волны 450 нм. Оптимальное расстояние между источником и детектором находится в диапазоне 50-100 мкм. Меньшие расстояния приводят к снижению чувствительности к присутствию раковых клеток и повышению чувствительности к дефектам поверхности. Увеличение расстояния между источником и детектором в указанном диапазоне приводит к более существенной деполяризации света, потере поляризационного сигнала и сильному шуму в измерениях.

На рисунке 9(а,и) и (б,н) представлены фотографии FFPE образцов с DCIS и IDC и классические гистологические изображения, предоставленные сертифицированным гистологом. Рассматриваемые зоны представлены четырьмя типами тканей: окружающая жировая ткань, заполненная парафином, доброкачественный фиброз и эпителиальные раковые ткани, расположенные внутри и вне молочного протока.

Пространственные карты (2D распределения) четырех компонент вектора Стокса ( $Q$ ,  $U$ ,  $V$ , мощность), измеренные в выбранной области при оптимизированных параметрах установки для DCIS и IDC, представлены на рисунках 9(в-е) и (к-о), соответственно. Рассчитанное значение  $DOP$  показано на рисунке 9(ж,п). Карта первой компоненты вектора Стокса, представляющей скалярную интенсивность, не показывает значительной корреляции с гистологическим изображением из-за нечувствительности этого параметра к структурным изменениям в ткани. Из полученных результатов видно, что  $DOP$  является наиболее чувствительным параметром, указывающим на злокачественность опухоли. Однако остальные измеренные параметры (параметры Стокса) могут быть использованы для отображения данных на сфере Пуанкаре для детального анализа изменений в поляризации (рисунок 9(з,р)).

Результаты серии измерений на наборе образцов показали, что средние значения  $DOP$  для интактной жировой ткани составляют 95 %, для DCIS – 70-80 %, присутствие IDC снизило значение  $DOP$  до уровня 60-70 %. Наблюдаемые различия могут быть связаны с увеличением среднего размера ядер при более развитом типе рака. Это приводит к более высокой анизотропии и увеличению последовательных событий прямого рассеяния, что уменьшает  $DOP$ .

Разработанная система имеет гибкую настройку разрешения, которая достигается за счет изменения шага сканирования и сменных микроскопических объективов. Это позволяет сканировать как большие области интереса для изучения общей картины изменения поляризации всего образца, так и проводить детальный анализ взаимодействия поляризованного света с раковыми клетками. Использование 100× объектива и шага сканирования в 0,5 мкм позволило получить поляризационные изображения, близкие по разрешению к гистологическим снимкам (рисунок 10).

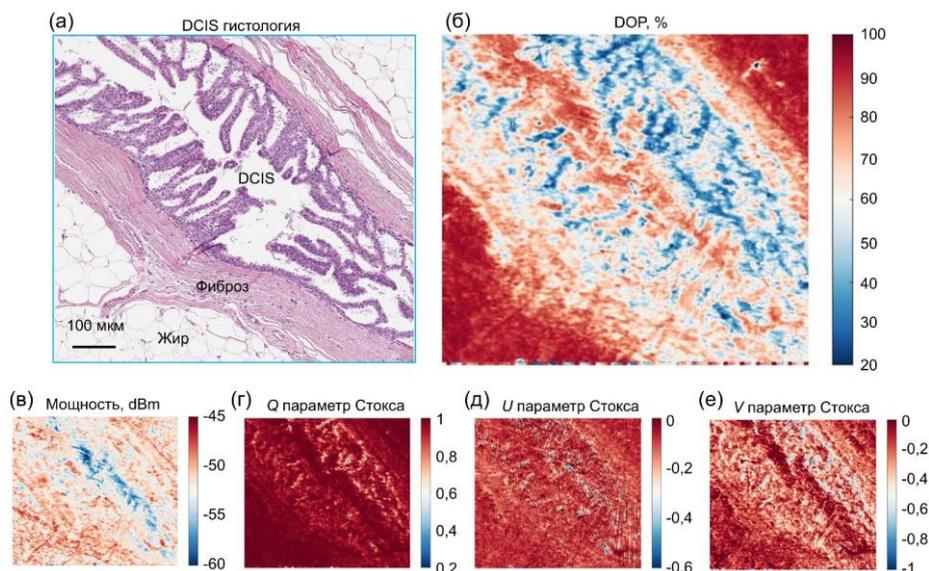


Рисунок 10 – (а) Гистологическое изображение образца DCIS; (б) распределение параметра  $DOP$  отраженного излучения в области интереса; распределения измеренного вектора Стокса: (в) мощность, (г)  $Q$ , (д)  $U$  и (е)  $V$  компоненты

Из распределения компоненты  $V$  вектора Стокса видно, что раковые области имеют более низкие значения  $V$ , чем окружающие ткани, что подтверждает увеличение анизотропии рассеяния в этих областях из-за увеличения размера рассеивателей. Для осуществления автоматизированной классификации полученных данных и выделения зон рака в FFPE образцах был проведен кластерный анализ на основе алгоритма

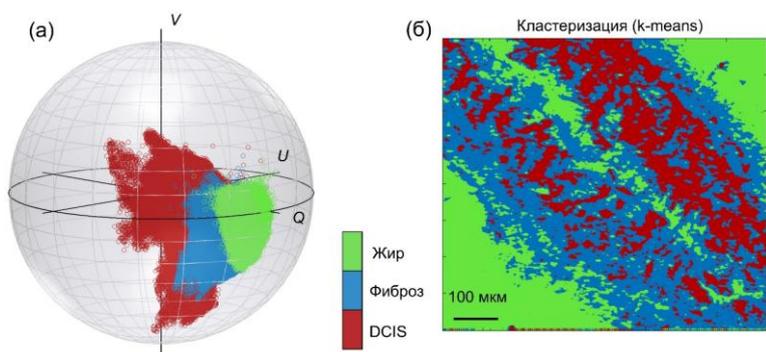


Рисунок 11 – (а) Результаты кластеризации в пространстве сферы Пуанкаре: зеленые маркеры – жировая ткань, синие – доброкачественный фиброз, красные – DCIS. (б) Соответствующая сегментация на основе кластеризации  $k$ -средних, рассчитанной на основе полного набора  $Q, V, U$ -данных

анализ парафиновых блоков раковых образцов без окрашивания. Результаты исследований коррелируют с данными гистологического анализа.

#### Поляриметрическое исследование *ex vivo* образцов рака толстой кишки

Далее разработанная система была применена для сканирования *ex vivo* образцов рака толстой кишки. *Ex vivo* образцы толстой кишки были получены в результате оперирования пациента с опухолью толстой кишки – G2-аденокарциномой. Биологический образец был предоставлен после удаления и диагностики патологоанатомом из University Hospital Tzaritza Yoanna-ISUL (г. София, Болгария). В этом исследовании помимо анализа вектора Стокса также был рассмотрен ряд расчетных характеристик и их диагностическая значимость.

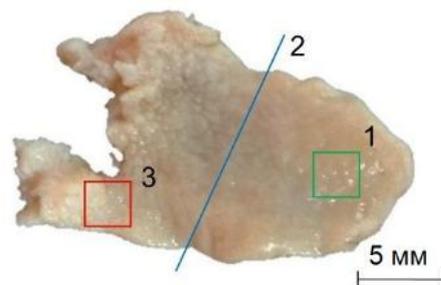


Рисунок 12 – *Ex vivo* образец толстой кишки: 1 – здоровая ткань, 2 – линия сечения образца, 3 – опухоль

Правозакрученную циркулярную поляризацию можно охарактеризовать ее вектором Стокса  $S_{RCP} = (1,0,0,1)^T$  и углом эллиптичности  $\theta = 45^\circ$  при неопределенном азимуте  $\varepsilon$ . Из рисунка 13 видно, что параметры Стокса для двух срезов образца меняются по-разному. Например, в здоровом сечении циркулярная поляризация была преобразована в горизонтальную, в то время как в сечении опухоли, где опухоль имела наибольшую инфильтрацию, значения параметров Стокса были ближе к исходным, а обнаруженная выходная поляризация является эллиптической.

Аналогично циркулярной поляризации возможно классифицировать горизонтальную поляризацию с помощью следующего вектора Стокса  $S_{HP} = (1,1,0,0)^T$ , азимута  $0^\circ$  и угла эллиптичности  $0^\circ$ . Однако, в отличие от циркулярной поляризации, было получено, что линейная не может обеспечить такие диагностические возможности с точки зрения изменения поляризации. Динамические диапазоны всех поляриметрических значений для обоих гистологических срезов, за исключением *DOP*, ниже для линейной поляризации, что также ограничивает возможности диагностики.

Таким образом, циркулярная поляризация была оценена как более чувствительная к изменениям ткани, с более высокими динамическими диапазонами поляриметрических величин и в целом, как лучшая для диагностики по сравнению с линейной.

$k$ -средних с использованием метрики Евклидова расстояния (рисунок 11). В данном исследовании в качестве входной информации для кластеризации использовались значения параметров  $Q, U$  и  $V$ . Были использованы три кластера. На рисунке 11 показаны векторы Стокса, соответствующие области рака (1), фиброза (2) и жировой ткани (3). Видна разница в положении точек в пространстве сферы. Разработанный метод предоставил возможность проводить гистологический

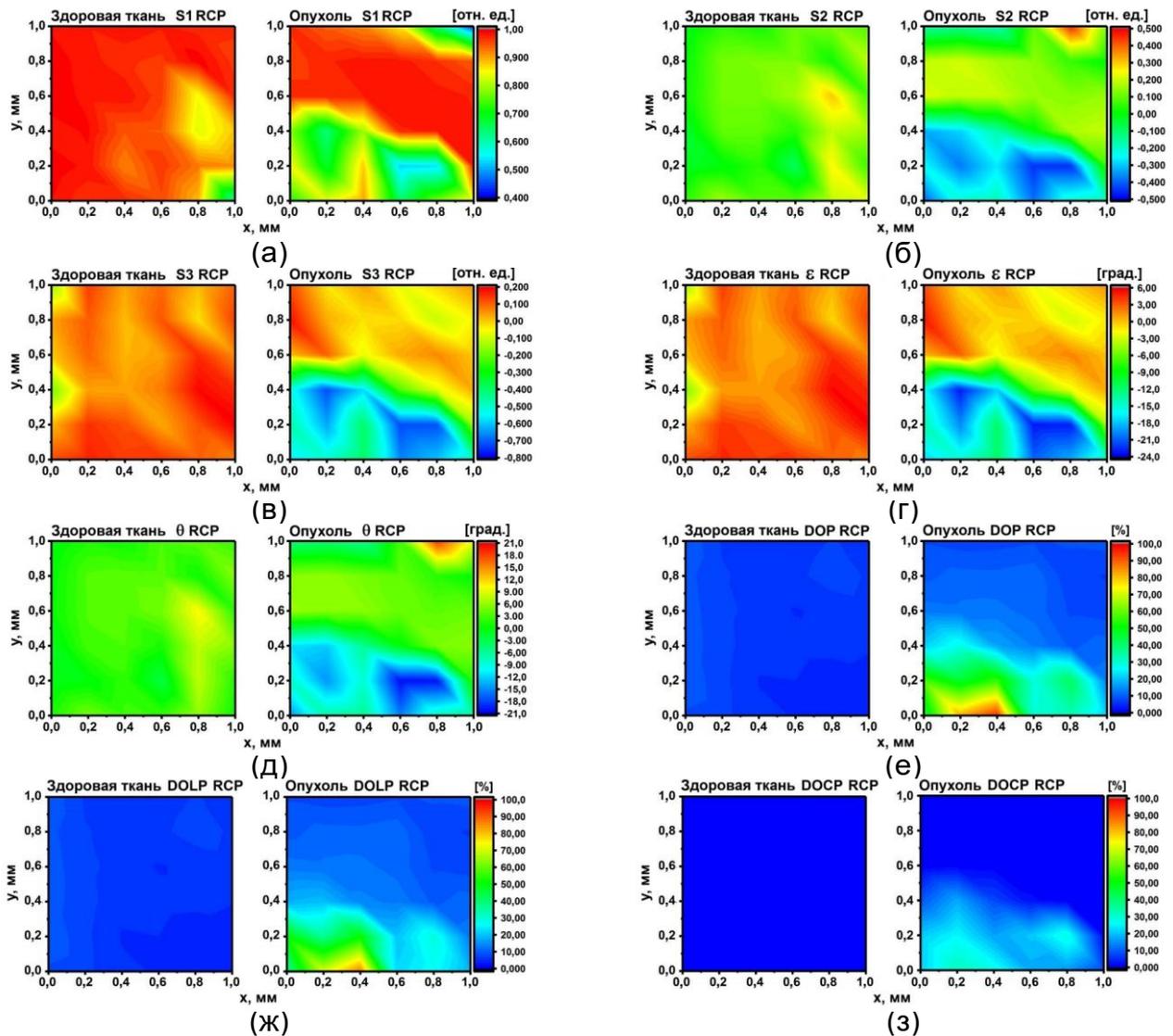


Рисунок 13 – 2D-поляриметрическое отображение параметров обеих областей интереса с циркулярной поляризацией (RCP) в зависимости от гистологического условия: (а)  $S_1$ , (б)  $S_2$ , (в)  $S_3$ , (г) угол эллиптичности  $\theta$ , (д) азимут  $\varepsilon$ , (е)  $DOP$ , (ж)  $DOLP$ , (з)  $DOCP$

Кроме того, деполяризация циркулярной поляризации выше в отношении линейной поляризации, поскольку поведение деполяризации света в мутных средах сильно зависит от размера рассеивателей, длины волны падающего света и транспортных параметров для любой из двух гистологических зон. Полученные результаты могут свидетельствовать о режиме рассеяния Рэлея и меньшей анизотропии тканей срезов опухоли.

Те же образцы были проанализированы с точки зрения *симметричного разложения* матриц Мюллера, косвенно полученных из Стокс-поляризационных измерений. Измеряя выходной вектор Стокса ( $S_0$ ) для каждого из четырех различных состояний входной поляризации  $\mathbf{i}$  (горизонтальное линейное, вертикальное линейное,  $+45^\circ$  линейное и правое круговое), можно получить полную матрицу Мюллера:  $S_0 = M \cdot S_i$ .

Для извлечения как поляризационных, так и деполяризационных свойств может быть применено симметричное разложение матрицы Мюллера:

$$M = M_{D_2} M_{R_2} M_{\Delta} M_{R_1} M_{D_1}, \quad (6)$$

где канонические формы  $M_{\Delta}$ ,  $M_R$  и  $M_D$  определяются как:

$$\mathbf{M}_\Delta = \text{diag}(1, d_1, d_2, d_3), \quad \mathbf{M}_R = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & \mathbf{m}_\varphi \end{bmatrix}, \quad \mathbf{M}_D = \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & \mathbf{m}_D \end{bmatrix}. \quad (7)$$

$\mathbf{M}_\Delta$  описывает диагональный деполяризатор I типа с коэффициентами деполяризации  $d_i (i = 1, 2, 3)$ , где индекс 1 обозначает деполяризацию горизонтальной и вертикальной линейной поляризации, 2 –  $\pm 45^\circ$  линейной поляризации и 3 – правого и левого кругового поляризованного состояния, соответственно.  $\mathbf{M}_R$  и  $\mathbf{M}_D$  обозначают соответствующие матрицы Мюллера ретардера (замедлителя) и диаттенюатора.  $3 \times 3$  подматрица  $\mathbf{m}_\varphi$  представляет собой трехмерную матрицу поворота на угол, заданный фазовым сдвигом или ретардацией  $\varphi$ , тогда как подматрица  $\mathbf{m}_D$  строится на основе диаттенюации  $\vec{D}$ . Наконец, суммарная деполяризация  $\Delta$ , диаттенуация  $D$ , поляризуемость  $P$  и ретардация  $\varphi$  могут быть выражены как:

$$\Delta = 1 - \frac{|d_1| + |d_2| + |d_3|}{3}, \quad 0 \leq \Delta \leq 1, \quad (8)$$

$$D = \frac{1}{M_{11}} \left[ \sum_l M_{1l}^2 \right]^{1/2}, \quad l = 2, 3, 4, \quad 0 \leq D \leq 1, \quad (9)$$

$$P = \frac{1}{M_{11}} \left[ \sum_k M_{k1}^2 \right]^{1/2}, \quad k = 2, 3, 4, \quad 0 \leq P \leq 1, \quad (10)$$

$$\varphi = \arccos \left[ \frac{\text{tr}(\mathbf{m}_\varphi) - 1}{2} \right]. \quad (11)$$

Также каждая матрица Мюллера может быть преобразована в форму так называемой ковариационной матрицы  $\mathbf{H}$  (Эрмитовой матрицы), определяемой как:

$$\mathbf{H} = \frac{1}{4} \sum_{k,l=1}^4 M_{k,l} (\sigma_k \otimes \sigma_l), \quad (12)$$

где  $\sigma_k$  – четыре спиновые матрицы Паули, а символ  $\otimes$  обозначает произведение Кронекера. Собственные значения матрицы  $\mathbf{H}$ , расположенные в порядке убывания ( $\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3 \geq \lambda_4$ ), используются для определения индекса поляриметрической чистоты (IPR).

$$P_1 = \frac{\lambda_1 - \lambda_2}{\text{tr}\mathbf{H}}, \quad P_2 = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 - 2\lambda_3}{\text{tr}\mathbf{H}}, \quad P_3 = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 - 2\lambda_4}{\text{tr}\mathbf{H}}, \quad (13)$$

где  $\text{tr}$  обозначает след матрицы. Из значений IPR можно также рассчитать поляриметрический индекс чистоты  $IP$  и индекс деполяризации Хилия-Бернабеу  $P_\Delta$ :

$$IP = \left[ \frac{1}{2} (P_1^2 + P_2^2 + P_3^2) \right]^{1/2}, \quad P_\Delta = \left[ \frac{1}{3} (2P_1^2 + \frac{2}{3}P_2^2 + \frac{1}{3}P_3^2) \right]^{1/2}. \quad (14)$$

Была исследована способность предложенных параметров отличать опухолевую зону образца толстой кишки от здоровой. Согласно результатам, как поляризуемость  $P$ , так и диаттенуация  $D$ , могут быть классифицированы как поляриметрические параметры с высокой степенью чувствительности. Более того, диаттенуация может быть использована в качестве диагностической величины, полученной либо из его чистого значения, либо из симметричного разложения. Все показатели деполяризации указывают на большую деполяризацию и большую пространственную неодно-

родность для здорового участка, в то время как более высокая поляриметрическая чистота при меньшей деполяризации и неоднородности была выявлена для злокачественной зоны образца толстой кишки. Таким образом, измеряя и раскладывая полные матрицы Мюллера, можно получить больше поляриметрических параметров, потенциально улучшая характеристики анализа образцов и, следовательно, улучшая диагностическую поддержку гистопатологического анализа. При этом расчет набора поляриметрических характеристик потенциально может способствовать созданию классификационной модели на основе алгоритмов машинного обучения и предоставлению клиницистам более точной и комплексной поляриметрической диагностики.

Метрики, полученные из симметричного разложения, и метрики деполяризации далее были использованы для построения классификаторов. С помощью статистического анализа были отобраны наиболее значимые поляриметрические величины для включения в две модели. Чтобы избежать мультиколлинеарности и переобучения, основная модель была разделена на две подмодели: одна, в которой опущены все индикаторы деполяризации  $P_i$ , кратко обозначена как «модель *eigenvalue*», а другая, в которой опущены все собственные значения ковариационной матрицы (Эрмитовой матрицы)  $\lambda_i$ , обозначена как «модель *IPP*». Комбинация параметров обучения была также оптимизирована после вычисления главных компонент (PCA). Таким образом, из обеих поляриметрических моделей были исключены любые коллинеарные и/или избыточные признаки. Было использовано случайное соотношение 85:15 для обучения и тестирования. Оставшиеся признаки были включены в обе модели. В качестве алгоритмов машинного обучения были выбраны логистическая регрессия (LR), метод

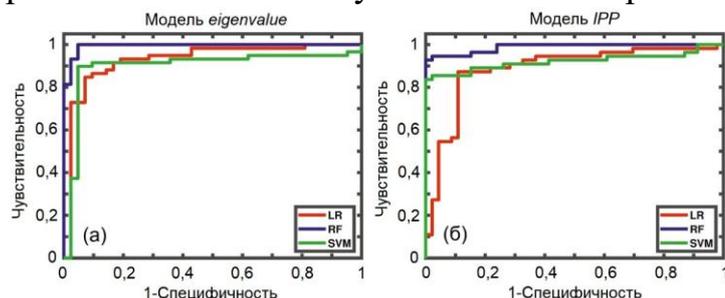


Рисунок 14 – ROC-кривые для (а) модели *eigenvalue* собственных значений и (б) модели *IPP*

случайного леса (RF) и метод опорных векторов (SVM). Для повышения точности классификации были проведены дополнительные оптимизация гиперпараметров и перекрестная проверка. Классификация с использованием модели *eigenvalue* показала лучшую эффективность классификации, в то время как метод RF обеспечил наилучшие результаты для этой цели ( $Se=1,0$ ,  $Sp=0,93$ ) (рисунок 14).

Результаты исследований, представленные во второй и третьей главах, показали, что оксигенация, кровенаполнение, изменение клеточной и тканевой морфологии, являются мощным инструментом оценки патологических изменений тканей. Однако, эти параметры в полной мере не описывают метаболические изменения на клеточном уровне. В этой связи **четвертая глава** диссертационного исследования посвящена развитию метода флуоресцентной визуализации, позволяющего изучать изменения в содержании метаболических кофакторов и других эндогенных флуорофоров.

В отличие от флуоресцентных методов исследования метаболизма клеток корректная регистрация флуоресценции биологических тканей может быть связана с рядом проблем, главные из которых – поглощающее и рассеивающее окружение и перекрывающиеся спектры флуоресценции флуорофоров. Для оценки возможностей исследования метаболизма тканей были проведены тестовые эксперименты в области ногтевого ложа. Данная область выбрана из соображений возможности визуального контроля с помощью метода видеокапилляроскопии (ВКС) параметров кровотока и зон

газообмена (периваскулярных зон). Область ногтевого ложа среднего пальца кисти руки освещалась светодиодным источником излучения с длиной волны 365 нм (мощность 3 мВт) и широкополосным галогенным источником излучения HL-2000 (Ocean Optics, США, 360-2400 нм, мощность ~5-7 мВт). Светосильный микрообъектив с апертурой 0,12 и проекционный длиннофокусный объектив формировали изображение на монохромной ПЗС-матрице видеокамеры. Фильтрация флуоресцентного изображения осуществлялась с помощью длинноволнового отрезающего фильтра. Для динамического наблюдения за изменениями флуоресценции в качестве провокационного воздействия был выбран окклюзионный тест (наложение манжеты на плечевую артерию). Таким образом, создавалось состояние искусственной ишемии. Молекулы никотинамидадениндинуклеотида (НАДН), образованные в шестой реакции гликолиза, в зависимости от наличия кислорода имеют два пути своего дальнейшего превращения: либо остаться в цитозоле и вступить в одиннадцатую реакцию гликолиза (анаэробные условия), либо передать свои восстановительные эквиваленты (электроны) в митохондриях через челночные системы для окисления в дыхательной цепи цикла Кребса (аэробные условия). При возникновении гипоксии окисление НАДН в митохондриях замедляется, при этом также активируется гликолизный (анаэробный) путь образования НАДН. В этой связи можно предположить, что регистрируемый уровень амплитуды интенсивности флуоресценции данного кофермента при проведении подобного эксперимента должен возрасти.

Исследование включало в себя проведение окклюзии с давлением в манжете 220 мм рт. ст. в течение 1,5 мин. Пара изображений (флуоресценции и диффузного отражения) регистрировалась до и в конце окклюзионного теста. Далее производилась стабилизация и наложение кадров. В результате экспериментальных исследований были получены изображения флуоресценции прекапиллярных зон, нормированные на изображения диффузного отражения (рисунок 15). Нормировка позволила учесть влияние изменения поглощающих свойств среды во время проведения окклюзионного теста.

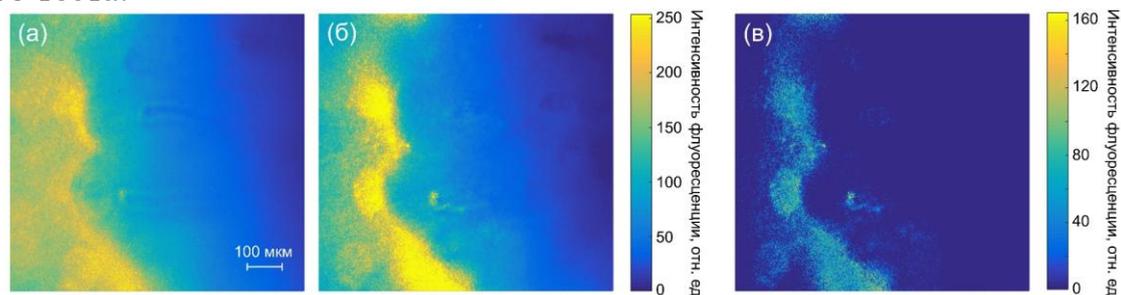


Рисунок 15 – Изображения флуоресценции (а) до, (б) в конце окклюзионного теста; (в) разность изображений

Как видно из полученных данных, к концу окклюзионного теста происходит увеличение флуоресценции. Особенно ярко это выражено в области прекапиллярных зон, что может говорить о накоплении НАДН из-за гипоксии тканей. Таким образом, флуоресцентные измерения могут использоваться для изучения динамики изменения концентраций НАДН в тканях. Подобные результаты были также получены в экспериментах с искусственной ишемией поджелудочной железы лабораторного животного.

Опухолевый процесс может вызывать значительные метаболические изменения в тканях, такие как повышенное потребление глюкозы и усиленный аэробный

гликолиз, что часто наблюдается при злокачественных новообразованиях. В этой связи особый интерес представляет изучение изменений концентрации в опухолевых клетках таких коферментов как НАДН и флавинадениндинуклеотид (ФАД), участвующих в реакциях гликолиза, окислительного фосфорилирования и цикла Кребса. Также известно, что при онкологических заболеваниях наблюдаются процессы аномально повышенного накопления порфиринов в пораженной ткани, связанные со специфическими метаболическими особенностями опухолевых клеток. Флуоресцентная визуализация была применена для выявления онкологической трансформации в тканях лабораторных мышей линии BDF (C57Bl6xDBA) с привитым штаммом гепатоцеллюлярной карциномы НЗЗ. Методология исследования предполагала пошаговую регистрацию изображений пораженной печени лабораторной мыши сначала в белом свете без светофильтров, а затем с использованием источника с длиной волны 450 нм и оптических фильтров для получения флуоресцентных изображений. Перед матрицей камеры устанавливали и поочередно меняли светофильтры с длинами волн среза 495 и 610 нм и проводили регистрацию флуоресцентных изображений.

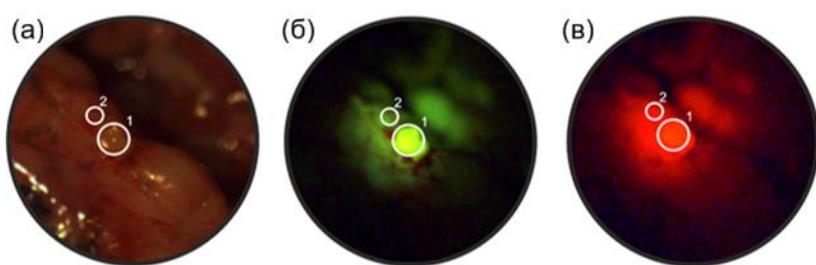


Рисунок 16 – Изображения печени мыши: (а) в белом свете, флуоресцентные изображения с использованием отсекающих светофильтров (б) 495 нм и (в) 610 нм. Области, выделенные кругом 1, соответствуют локализации опухолевого очага; круг 2 соответствует окружающим тканям

Было установлено, что в то время, как относительный контраст  $(C = |I_1 - I_2| / I_1 + I_2)$  между опухолью и интактной тканью в белом свете составил 0,074, при использовании флуоресцентной визуализации значение данного параметра составило 0,45 для изображения с фильтром 495 нм и 0,16 с фильтром 610 нм, что позволяет более четко различить очаг опухоли и ее границы (рисунок 16). Увеличение интенсивности флуоресценции в злокачественных тканях по сравнению с окружающими тканями на изображениях, полученных с использованием фильтра 495 нм, может свидетельствовать об изменениях содержания эндогенных флуорофоров, в первую очередь флавинов, которые в свою очередь обусловлены метаболическими нарушениями, сопровождающими процесс роста опухоли. Повышенная интенсивность при использовании фильтра 610 нм указывает на присутствие повышенного содержания порфиринов, что также связано с активным развитием опухоли. Таким образом, полученные изображения и рассчитанная разница в соотношении средней интенсивности в опухолевой/интактной ткани свидетельствуют о высокой чувствительности метода флуоресцентной визуализации к наличию злокачественных изменений в тканях по сравнению с регистрацией изображений в белом свете. Метод продемонстрировал высокую чувствительность к границам опухолевой ткани на *in vivo* модели рака, а также подтвердил возможность его клинического применения в задачах интраоперационной навигации без введения экзогенных контрастных веществ.

Как видно из представленных результатов, регистрация интенсивности флуоресценции действительно позволяет изучать метаболизм тканей через измерение интенсивности флуоресценции определенных молекул, которые участвуют в клеточном

метаболизме. Однако визуализация времени жизни флуоресценции может предоставить гораздо больше информации и имеет ряд преимуществ, включая меньшую зависимость от поглощающего окружения флуоресцирующих молекул, фотообесцвечивания, а также возможность разрешения различных состояний молекул (например, свободной формы НАДН и формы НАДН, связанной с белками) и т.п.

В рамках диссертационного исследования была адаптирована сканирующая система визуализации, представленная в третьей главе, для измерения времени жизни флуоресценции в частотной области. Основой такого подхода является возбуждение образца модулированным по интенсивности излучением заданной частоты и анализ отклика флуоресцентного сигнала в частотной области. Интенсивность флуоресценции колеблется с той же угловой частотой что и возбуждение, но с фазовым сдвигом и с ослабленной модуляцией, обусловленной конечным временем жизни флуоресценции. Одним из основных преимуществ реализации измерений времени жизни в частотной области по сравнению с методами во временной области, является скорость сбора данных, что делает частотную область более предпочтительной техникой для измерения быстрых динамических процессов. Однако использованию данного подхода посвящено намного меньше исследований. В разработанной в диссертационной работе системе в качестве источника оптического излучения был использован описанный ранее суперконтинуумный лазер в сочетании с акустооптическим фильтром, обеспечивший длину волны возбуждения флуоресценции 450 нм. Частота следования импульсов лазера 40 МГц и длительность импульса  $\sim 150$  пс позволили провести измерения времени жизни флуоресценции с пороговым значением порядка 1 нс. Для отсекающего обратного рассеянного излучения возбуждения использовался флуоресцентный фильтр 490 нм. В качестве детектора использовался фотоумножитель PMTSS (Thorlabs, США) совместно с трансимпедансным усилителем TIA60 (Thorlabs, США). Для регистрации задержки фазового сдвига между импульсами возбуждения и регистрируемыми импульсами флуоресцентного излучения использовался высокоскоростной синхронный усилитель на программно-конфигурируемой аппаратной платформе Moku:Lab (Liquid Instruments, США).

Система была использована для оценки FFPE образцов рака молочной железы, представленных ранее в третьей главе. Типичный пример соответствующего гистологического среза и полученные изображения времени жизни флуоресценции и интенсивности флуоресценции приведены на рисунке 17. В данной серии экспериментов регистрация времени жизни флуоресценции осуществлялась с измерением фазовой задержки  $\varphi$  между сигналом флуоресценции и сигналом модуляции возбуждения флуоресценции с частотой  $\omega$  в приближении модели затухания флуоресценции по экспоненциальному закону, которая дает среднее значение времени жизни согласно выражению:

$$\tau_{\varphi} = \omega^{-1} \tan(\varphi). \quad (15)$$

Дополнительно при частотном подходе возможно рассчитать модуляционное время жизни через измерение индекса демодуляции  $m$ :

$$\tau_m = \omega^{-1} \sqrt{\frac{1}{m^2} - 1}. \quad (16)$$

Злокачественные участки ткани демонстрировали значительно более низкое время жизни флуоресценции (опухоль:  $\tau_{\varphi} = 1,7 \pm 1,3$  нс; доброкачественный фиброз:

$\tau_\phi = 4,3 \pm 1,8$  нс,  $p < 0,01$ ,  $n = 6$ ). Напротив, данные об интенсивности флуоресценции не позволили надежно отличить опухолевую ткань от доброкачественного фиброза. Повышенное время жизни флуоресценции в фиброзной ткани по сравнению с опухолевой обусловлено, по всей видимости, преобладанием коллагена с длинным временем жизни. Результаты исследований также показали, что время жизни флуоресценции и поляризационные измерения могут взаимно дополнять друг друга, повышая общее качество и надежность гистопатологического анализа раковых образцов.

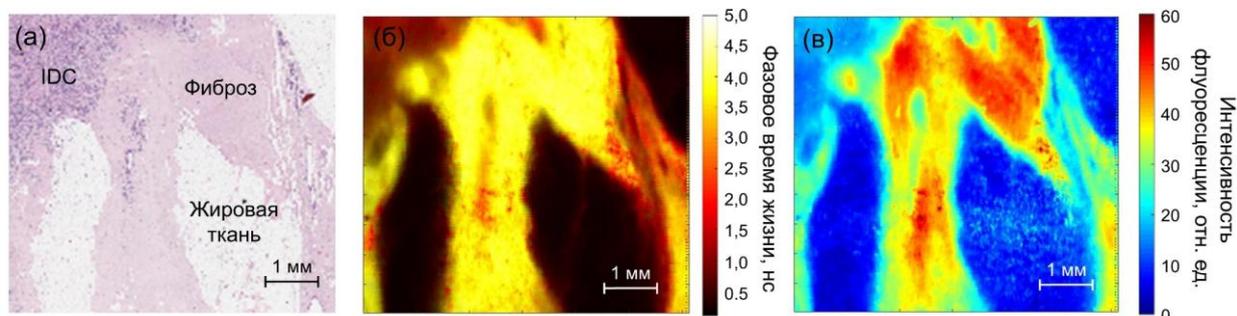


Рисунок 17 – Визуализация времени жизни флуоресценции IDC образца ткани молочной железы: (а) гистология; (б) фазовое время жизни флуоресценции; (г) интенсивность флуоресценции

Различия во времени жизни флуоресценции в FFPE образцах в первую очередь отражают структурные и белковые особенности ткани, а не её активный метаболизм. При этом как было сказано выше, визуализация времени жизни флуоресценции может являться мощным инструментом для изучения энергетического метаболизма митохондрий живых систем. Недавно были разработаны надежные методики разделения сигнала от различных форм НАДН и НАДФН с использованием измерений времени жизни флуоресценции. Это позволило сделать значительный шаг в понимании роли НАДН в клеточном метаболизме. При этом, несмотря на не менее важную роль флавинов в клетке (также обеспечивают синтез АТФ в результате окислительного фосфорилирования), их изучению на сегодняшний день уделяется гораздо меньше внимания и тем более на тканевом уровне. В рамках диссертационной работы была разработана оптическая система ортогонального типа для широкопольной визуализации времени жизни флуоресценции в частотной области. Система была собрана на основе модулируемого источника лазерного излучения 445 нм для селективного возбуждения флуоресценции флавиновых коферментов и камеры pco.flim (PCO AG, Германия) с модуляцией сигнала в частотном интервале 5 кГц-40 МГц, что обеспечивает регистрацию времени жизни в диапазоне от 1 нс до 100 мкс. Оптический канал системы также включал 5× объектив, дихроичное зеркало MD480 и эмиссионный фильтр FELH0500.

Важным дополнительным преимуществом рассматриваемого подхода является возможность визуализировать и интерпретировать сложные многокомпонентные затухания флуоресценции без необходимости подбора экспоненциальных моделей на основе фазового подхода (анализа комплексных амплитуд). Такой подход переводит анализ из временной области в плоскость амплитудно-фазовых соотношений сигнала, позволяя оперировать понятиями фазового сдвига и степени модуляции вместо прямого анализа многокомпонентных экспоненциальных кривых. Фазор можно декартово разложить на G- и S-компоненты, соответствующие действительной и мнимой части его комплексного представления. Эти компоненты вычисляются из нормированных косинусной и синусной составляющих флуоресцентного сигнала:

$$\begin{aligned} G_{i,j}(\omega) &= m_{i,j} \cos(\varphi_{i,j}), \\ S_{i,j}(\omega) &= m_{i,j} \sin(\varphi_{i,j}). \end{aligned} \quad (17)$$

С помощью ингибиторного анализа с использованием селегилина, способного избирательно блокировать активность моноаминоксидазы (МАО) и таким образом модулировать окислительно-восстановительные процессы, и измерения содержания флавопротеинов с помощью предложенной системы в острых срезах мозга удалось продемонстрировать высокую чувствительность подхода к метаболическим изменениям, а именно их региональную специфику и изменение активности в ответ на блокирование МАО (рисунок 18).

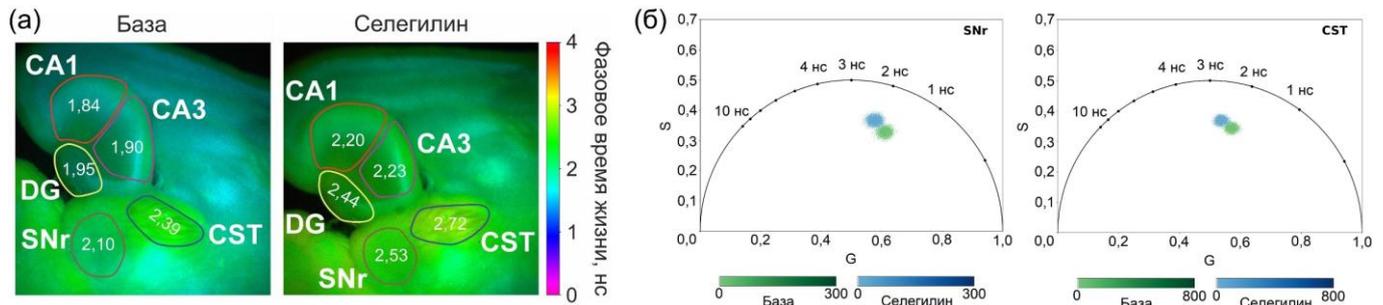


Рисунок 18 – (а) Измерение фазового времени жизни флуоресценции в различных областях мозга крысы до и после ингибирования МАО с помощью селегилина: CA1, CA3 – поля гиппокампа, DG – зубчатая извилина, SNr – ретикулярная часть черной субстанции, CST – кортикоспинальный тракт. (б) Пример фазовых графиков для SNr и CST

Полученные данные демонстрируют значительные различия между отделами головного мозга по величине фазового времени жизни на базовом уровне. С учетом того, что флавины входят в структуру большого количества белков, являющихся участниками разнообразных метаболических процессов, данные результаты не могут получить однозначного физиологического объяснения. В то же время с использованием ингибиторного анализа можно выполнить оценку вклада отдельных флавопротеинов в общий регистрируемый сигнал. Так, введение селегилина приводит к увеличению фазового времени жизни флуоресценции, которое, однако, различается между исследованными зонами мозга: наибольший рост параметра выявлен в DG и SNr, наименьший – CA3 и CST. В целом, сдвиг облака точек на фазовом графике влево и вверх указывает на увеличение вклада длинноконтентной флуоресценции, что может быть связано как с более высоким уровнем соответствующего флавина, так и со снижением содержания кофермента с короткоживущей флуоресценцией. К факторам, определяющим флуоресцентные характеристики флавинов, относятся их химическое строение (флуоресценция флавинмононуклеотида (ФМН) характеризуется существенно более высоким в сравнении с ФАД временем жизни) и нахождение в свободном или связанном с белками состоянии. С учетом литературных данных, а также механизма действия использованного ингибитора можно утверждать, что наблюдаемое в ответ на добавление селегилина изменение характеризует переход кофермента МАО в восстановленное состояние, неспособное к флуоресценции. При этом величина такого ответа может быть использована для оценки активности данного фермента и, следовательно, исследования роли метаболизма моноаминов в функционировании тканей. Полученные результаты коррелируют с известной информацией о распределении активности МАО между отделами мозга, однако получены в исследованиях *ex*

*vivo*, максимально приближенных к физиологическим условиям. Эти наблюдения позволяют рассматривать предложенный метод как мощный инструмент для оценки действия физиологически активных веществ, в частности нейромодуляторов и препаратов антиоксидантной терапии на тканевом уровне.

Рассмотренные выше методы могут давать практически исчерпывающую комплексную информацию о состоянии тканевого метаболизма. Однако наряду с оксигенацией и кровенаполнением ещё одной важной характеристикой кровотока является его динамика и механизмы регуляции. В пятой главе предложен метод частотно-временного анализа данных ЛСКВ, который предоставляет пространственную информацию о скоростных характеристиках кровотока. Стоит отметить, что анализ и физиологическая интерпретация колебаний кровотока остаются нерешенной задачей. В этой связи метод высокоскоростной ВКС был применен для разрешения сомнений, касающихся возможности методов регистрации динамического рассеяния света определять колебательные механизмы регуляции кровотока. В данной части работы рассматривалась динамика микрокровотока в дистальной фаланге пальца и капиллярного кровотока (скорость эритроцитов) с использованием методов ЛДФ и ВКС, соответственно. В качестве источника излучения для реализации метода ЛДФ использовался одномодовый лазер с длиной волны 1064 нм. Для доставки излучения к поверхности кожи и сбора обратно рассеянного света использовались оптические волокна. Для преобразования регистрируемого обратно рассеянного излучения в фототок использовались два фотодиодных канала регистрации. Затем сигнал был усилен с применением дифференциальной схемы, которая позволяет удалить синфазные неинформативные компоненты сигнала двух каналов. Аналого-цифровое преобразование было выполнено с помощью платы сбора данных NI USB 6211 (National Instruments, США). Обработка сигналов осуществляется в среде LabVIEW. Исследование скорости эритроцитов в отдельном капилляре проводилось с использованием экспериментальной установки ВКС. Область ногтевой складки на пальце кисти освещалась белым светодиодом. 5× микроскопический объектив с апертурой 0,14 и длиннофокусная линза формировали капиллярное изображение на светочувствительной матрице. В ходе экспериментов видеоданные снимались высокоскоростной КМОП-камерой со скоростью 200 кадров/с. Интегральный сигнал ЛДФ и скорость эритроцитов в одном капилляре регистрировались параллельно в течение 14 мин.

Из-за специфических и локально изменяемых свойств сигналов, присущих исследованию кровотока, целесообразно применять локальный спектральный анализ, реализованный в виде непрерывного вейвлет-преобразования (СWT). Сигналы ЛДФ и ВКС были разложены с использованием СWT в виде:

$$W(s, \tau) = \frac{1}{\sqrt{s}} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi^* \left( \frac{t-\tau}{s} \right) dt, \quad (18)$$

где  $x(t)$  – целевой сигнал,  $\tau$  – временной сдвиг вейвлета,  $s$  – масштабный коэффициент, а символ  $*$  означает комплексное сопряжение.

Декомпозиция производилась с помощью вейвлета Морле с параметром затухания  $\sigma=1$ . Он является одним из наиболее часто используемых, так как представляет собой наиболее надежный вейвлет для частотно-временного анализа нестационарных данных временных рядов, в частности, биологической природы:

$$\psi(t) = e^{2\pi i t} e^{-t^2/\sigma}. \quad (19)$$

Сигнал ЛДФ и изменения скорости эритроцитов показаны на рисунках 19(а,б) соответственно. Рисунки 19(в,г) соответствуют вейвлет-анализу.

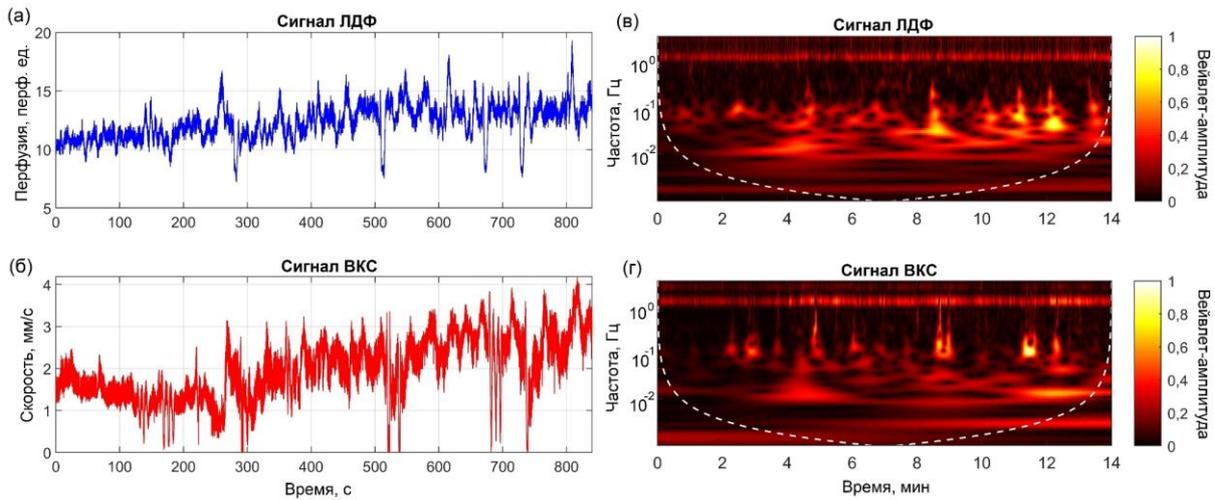


Рисунок 19 – Экспериментальные записи (а) сигнала ЛДФ, (б) скорости эритроцитов и (в,г) их соответствующие CWT-представления

Частотно-временное сравнение двух нестационарных сигналов может быть выполнено с использованием расчета вейвлет-когерентности. Вейвлет-когерентность позволяет вычислить локальную корреляцию двух функций  $x(t)$  и  $y(t)$  с помощью вейвлет-преобразований  $W^x(s, \tau)$  и  $W^y(s, \tau)$  в частотно-временной области:

$$R^2(s, \tau) = \frac{|H(s^{-1}W^{xy}(s, \tau))|^2}{H(s^{-1}|W^x(s, \tau)|^2) \cdot H(s^{-1}|W^y(s, \tau)|^2)}, \quad (20)$$

где  $R^2(s, \tau)$  принимает значения от 0 до 1;  $W^{xy}(s, \tau) = W^x(s, \tau)W^{y*}(s, \tau)$  – кросс-вейвлет спектр,  $H$  – оператор сглаживания. Сглаживание основано на взвешенном скользящем среднем как во временном, так и в масштабном направлениях.

Степень корреляции между фазами анализируемых сигналов оценивалась с помощью расчета фазовой когерентности:

$$C_\phi = \sqrt{\langle \cos \Delta\phi(s, \tau) \rangle^2 + \langle \sin \Delta\phi(s, \tau) \rangle^2}, \quad (21)$$

где  $\Delta\phi(s, \tau) = \phi^x(s, \tau) - \phi^y(s, \tau)$  – мгновенная фаза сигналов  $x(t)$  и  $y(t)$ .

Значимость корреляции проверялась путем построения суррогатных данных. Для генерации суррогатных данных был использован метод преобразования Фурье с поправкой на амплитуду (AAFT). AAFT генерирует суррогаты, в которых исходные значения сохраняются во временном ряду, при этом перегруппированы таким образом, что в значительной степени сохраняется спектр, но разрушается временная информация. Было сгенерировано 100 пар суррогатных данных для каждой пары экспериментальных выборок сигналов. Уровни значимости были рассчитаны как 95-й процентиль суррогатных данных.

Как видно из рисунка 19, временные изменения необработанных сигналов, оцененные двумя методами, имеют сходство, так же, как и их CWT. Расчет вейвлет-когерентности в соответствии с уравнением (20) подтверждает сходство сигналов и позволяет выявить их взаимосвязи и представить их в числовой форме (рисунок 20).

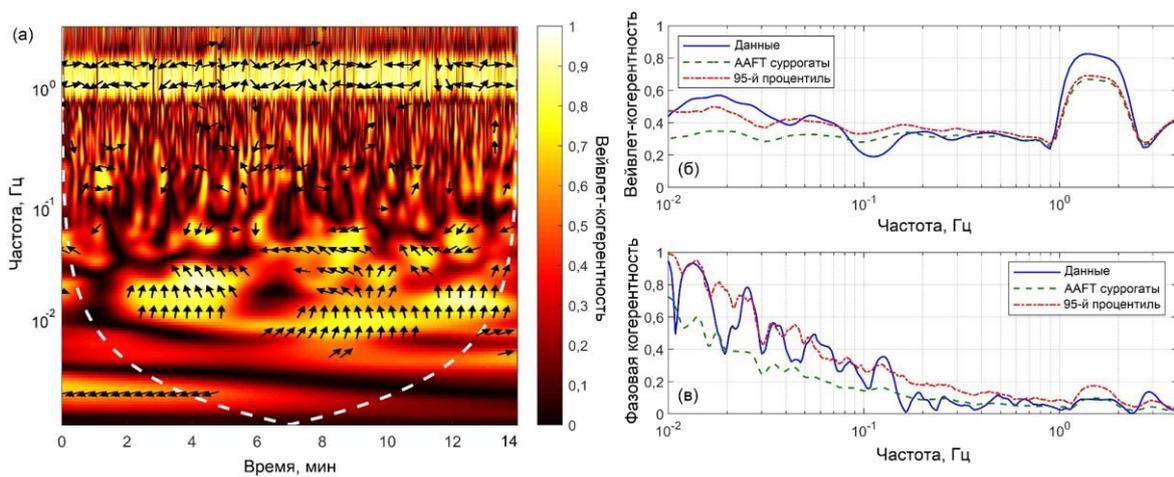


Рисунок 20 – (а) Вейвлет-когерентность сигнала ЛДФ и скорости эритроцитов; (б) усредненные по времени спектры вейвлет-когерентности и (в) фазовая вейвлет-когерентность сигналов. Стрелки показывают фазовое запаздывание сигнала ЛДФ по отношению к скорости эритроцитов. Вертикальная стрелка указывает на запаздывание фазы  $\pi/2$  или на четверть цикла. Стрелки, указывающие вправо или влево, показывают два синфазных или противофазных сигнала, соответственно

Рисунки 20(а,б) иллюстрируют область значительной когерентности на протяжении всего периода сбора данных в диапазоне 1-2 Гц. Это видно по сердечным ритмам, содержащимся в двух сигналах. Кроме того, наблюдаются области значительной когерентности в диапазоне 0,01-0,07 Гц. В других частотных диапазонах, например в дыхательных (0,2-0,45 Гц), когерентность незначительна, что происходит из-за малой амплитуды пульсаций в этих диапазонах и связи дыхательных колебаний с венозной частью кровотока. Учитывая тот факт, что сигнал ЛДФ представляет собой суперпозицию скоростей кровотока из разных участков микроциркуляторного русла с запаздыванием по фазе относительно друг друга, разумно предположить отсутствие фазовой когерентности со скоростью кровотока в одном капилляре. Это предположение было подтверждено путем расчета фазового запаздывания и фазовой когерентности. На рисунке 20(а) стрелками показано фазовое запаздывание одного сигнала относительно другого. Рисунки 20(а,в) демонстрируют отсутствие существенной фазовой когерентности практически во всем диапазоне частот.

Предложенный подход продемонстрировал существенное сходство спектральных колебаний в изолированном капилляре и интегральной оценки перфузии методом ЛДФ. Этот результат демонстрирует тесную связь сигнала ЛДФ с объективными физическими характеристиками микрокровотока в коже.

#### *Возможность регистрации осцилляций кровотока методом ЛСКВ*

В то время как линейный и нелинейный анализ основных микрососудистых регуляторных механизмов разработан и апробирован во множестве исследований с использованием метода ЛДФ, остается вопрос применимости данного подхода для анализа сигналов ЛСКВ, что могло бы предоставить клиницистам новый инструмент визуализации для извлечения ценной физиологической информации о колебаниях периферического кровотока.

На этом этапе работ ЛСКВ была использована для анализа осцилляций компонентов кожного кровотока. ЛДФ использовалась в качестве эталонного метода, с учетом полученных ранее результатов экспериментов с ВКС.

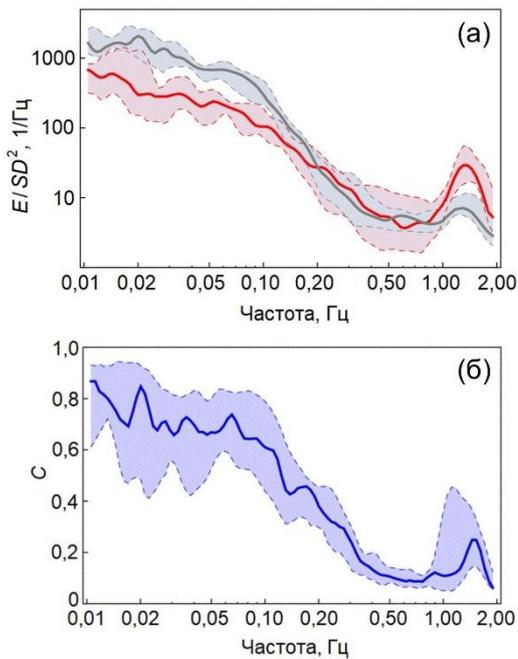


Рисунок 21 – (а) Нормализованные спектры кожной перфузии, измеренные в группе здоровых добровольцев с использованием ЛДФ (серый цвет) и ЛСКВ (красный цвет). (б) Вейвлет-кросс корреляция между сигналами ЛДФ и ЛСКВ

у 14 условно здоровых добровольцев. Длительность регистрации составила 10 мин. Исследования проводились с использованием разработанной экспериментальной системы. Инфракрасный лазерный источник излучения равномерно освещал область исследования через набор диффузоров. Обрато рассеянный свет регистрировался с помощью монохромной КМОП-камеры высокого разрешения UI-3360CP-NIRGL (IDS, Германия). Для устранения зеркально отраженного излучения перед объективом был установлен линейный поляризатор. Исходные монохромные изображения обрабатывались с помощью оригинального алгоритма, разработанного в программе Matlab. Спекл-контраст рассчитывался по формуле:

$$K = \frac{\sigma_N}{\langle I \rangle_N}, \quad (23)$$

где  $\langle \rangle$  – символ усреднения,  $N$  – окно усреднения  $N \times N$ ,  $\sigma_N$  – стандартное отклонение в окне усреднения  $N \times N$ . Значения ЛСКВ-перфузии рассчитывались как  $1/K^2$ .

Перфузию кровью ткани параллельно измеряли с помощью аппарата «ЛАКК-02» (ООО «НПП «ЛАЗМА»», Россия) с длиной волны зондирования 1064 нм. Для доставки излучения к поверхности кожи и сбора обратно рассеянного света использовались оптические волокна.

При обработке данных извлекалась временная эволюция спекл-контраста и при помощи вейвлет кросс-корреляционного анализа изучалась связь колебаний различной частоты, зарегистрированных двумя методами ЛСКВ и ЛДФ. Была получена умеренная корреляция средних значений тканевой перфузии, но в то же время высокая почастотная корреляция временных рядов. Таким образом, возможно предположить, что методы частотно-временного анализа ЛДФ-сигнала могут быть распространены на ЛСКВ.

С одной стороны, в основе получения спекл-сигнала лежит тот же физический процесс рассеяния когерентного излучения на движущихся частицах (эритроцитах), с другой, в недавних работах показано, что сигнал ЛДФ можно восстановить из спекл-сигнала при наличии камеры с достаточным временным разрешением. SWT также был применен для построения частотно-временного представления сигналов и корреляционного анализа (рисунок 21). В этой части работы для оценки взаимосвязи между сигналами ЛДФ и ЛСКВ была рассчитана вейвлет кросс-корреляция:

$$C_{xy}(s) = \frac{\int_0^T W_x(s, \tau) W_y^*(s, \tau) d\tau}{\sqrt{\int_0^T |W_x(s, \tau)|^2 d\tau \int_0^T |W_y(s, \tau)|^2 d\tau}}. \quad (22)$$

Для сравнения сигналов различной природы спектральная энергия нормировалась на квадрат стандартного отклонения.

Был проведен следующий эксперимент. Одновременно были зарегистрированы сигналы с максимально близких областей тыльной стороны ладони

### *Картирование ритмов мозгового кровотока*

Картирование колебаний кровотока по данным, полученным с помощью ЛСКВ, представляется перспективным, поскольку метод прост в инструментальной реализации и обеспечивает визуализацию большой области исследования с высоким пространственным и временным разрешением. В данном разделе описаны результаты частотно-временного анализа транскраниальной записи лазерного спекл-контраста на мозге лабораторной крысы, полученные с использованием нового метода обработки и представления данных ЛСКВ.

Чтобы визуализировать сосуды мозга в лучшем качестве, исходные монохромные изображения обрабатывались с количеством кадров для временного усреднения, равным 90. После временного усреднения дополнительно применялся пространственный алгоритм с окном усреднения, равным  $7 \times 7$  пикселей.

Для получения данных с целью последующего частотного анализа было использовано усреднение по 4 кадрам во времени и усреднение окном  $7 \times 7$  пикселей в пространстве. Так, исходная частота кадров (90 кадров/с) была снижена до 22,5 кадров/с. Поиск оптимальных параметров был особенно важен, поскольку необходимо было поддерживать достаточную частоту дискретизации сигнала для надежного частотного анализа. ЛСКВ-перфузия также рассчитывалась как  $1/K^2$ .

Частотно-временной анализ полученного значения ЛСКВ-перфузии проводился с помощью ранее рассмотренного SWT (формулы 18, 19). Для осуществления анализа полного изображения после реконструкции временной динамики ЛСКВ-перфузии в каждом пикселе изображения проводился вейвлет-анализ сигналов в соответствии с вышеописанными принципами. Далее определялись амплитуды колебаний в интересующих частотных диапазонах, характеризующих сердечную, дыхательную и миогенную активность в микроциркуляторном русле животного, и строились карты осцилляций церебрального кровотока.

Объектом исследования для основного эксперимента была выбрана лабораторная крыса линии Wistar возрастом 1 месяц и массой тела около 100 г. После анестезии животное помещалось на столик хирургической системы для грызунов (Rodent Surgical Monitor+, Indus Instruments, США) с целью поддержания стабильной температуры тела, а также для контроля частоты сердцебиения и дыхания во время исследования. Использование этой системы позволило подтвердить частотное положение пиков сердечных и дыхательных осцилляций, полученных при вейвлет-анализе сигнала ЛСКВ-перфузии. Перед началом эксперимента голова животного фиксировалась в стереотаксисе, чтобы избежать артефактов движения. Для доступа к головному мозгу кожа на голове животного разрезалась и удалялась, при этом кости черепа не повреждались, таким образом, проводилась транскраниальная визуализация церебральной микроциркуляции крови. Регистрация изображений осуществлялась на протяжении 5 мин.

Для изучения динамики мозгового кровотока в различных отделах мозга были выбраны 3 региона исследования: верхний сагиттальный синус, его притоки и участки мозга, в которых нет четко визуализированных сосудов. В каждом из регионов исследования было выбрано пять ROI ( $12 \times 12$  пикселей) для получения статистических данных. Кроме того, для детального изучения пространственного распределения частот использовался попиксельный вейвлет-анализ, что позволило построить карты осцилляций.

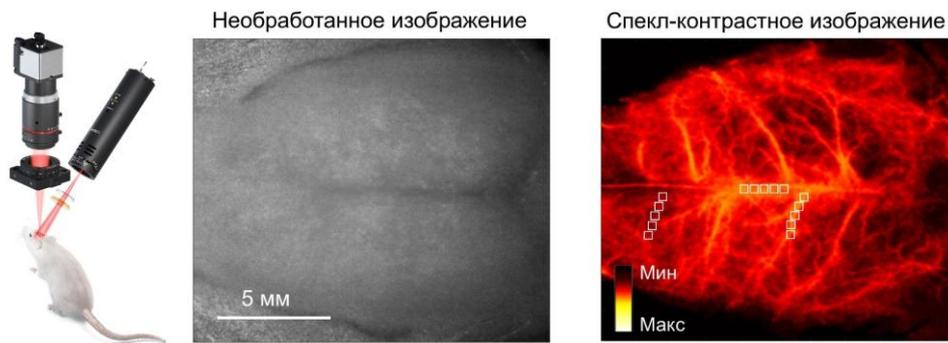


Рисунок 22 – Монохромное и спекл-контрастное изображения мозга крысы. Белые квадраты обозначают ROI, выбранные для проведения вейвлет-анализа

На рисунке 22 представлено изображение мозга крысы, полученное в исходном монохромном режиме, а также обработанное спекл-контрастное изображение. Регионы с повышенным кровотоком, такие как крупные сосуды, имеют более низкие значения спекл-контраста и на изображениях выглядят желтыми. На рисунке 23 показаны результаты вейвлет-анализа сигналов полученной ЛСКВ-перфузии в каждом регионе исследования. Во всех регионах исследования наблюдались заметные амплитуды колебаний, вызванных вазомоциями (0,11-0,13 Гц), дыхательной активностью (1,3 Гц) и сердечными сокращениями (6,3-6,7 Гц). Значения амплитуды вазомоций варьируются от 12,5 до 33,7 отн. ед.; дыхательных – от 13,3 до 37,2 отн. ед.; сердечных – от 29,2 до 40,6 отн. ед. (величина в значительной степени зависит от анализируемого региона исследования). Согласно данным, полученным благодаря системе мониторинга, у животного в среднем было 386 сердечных ударов в мин (примерно 6,44 Гц) и 73 дыхательных актов в мин (примерно 1,22 Гц), что соответствует частотным координатам максимальных пиков, обнаруженных при вейвлет-преобразовании.

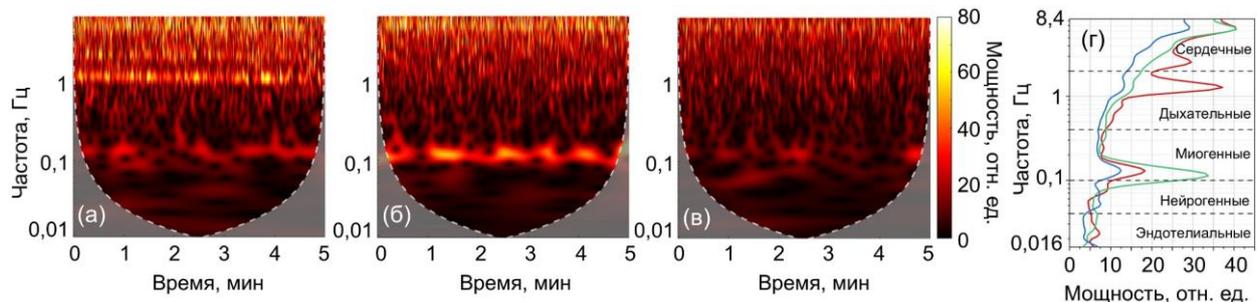


Рисунок 23 – Вейвлет-анализ полученных значений ЛСКВ-перфузии: (а) пример скалограммы амплитуды вейвлет-преобразования для верхнего сагиттального синуса (красная линия в г), (б) для притока (зеленая линия в г) и (в) для ткани мозга, не имеющей четко визуализированных сосудов (синяя линия в г); (г) соответствующие усредненные по времени спектры

Далее был проведен попиксельный вейвлет-анализ ЛСКВ-перфузии и получены карты распределения осцилляций для трех доминирующих компонентов регуляции кровотока, представленные на рисунке 24.

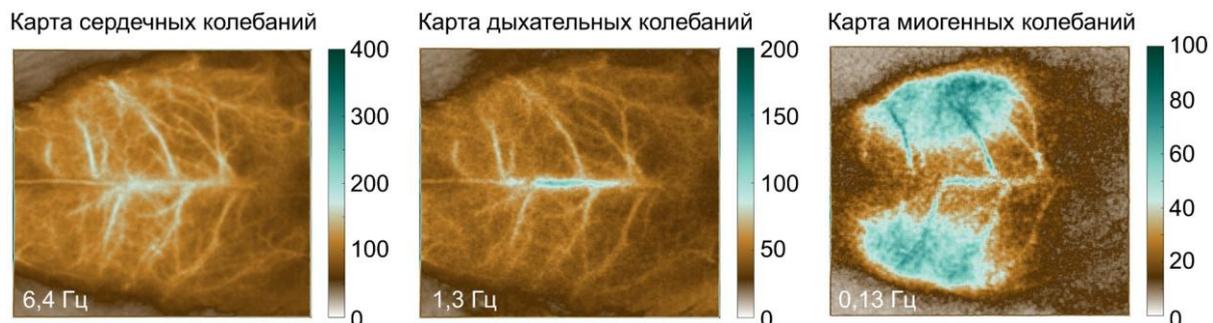


Рисунок 24 – Пространственные вариации сердечных (6,4 Гц), дыхательных (1,3 Гц) и миогенных (0,13 Гц) осцилляций церебрального кровотока

Высокая амплитуда сердечных осцилляций наблюдается достаточно равномерно в крупных сосудах по всей поверхности мозга крысы. Дыхательные осцилляции имеют высокую амплитуду только в центральном сосуде, а миогенные осцилляции наиболее выражены в периферических сосудах малого диаметра. Физиологическое значение миогенного диапазона в регуляции мозгового кровообращения до сих пор является предметом дискуссий. Происхождение таких сигналов в церебральной микроциркуляции окончательно не выяснено, а разделение влияния колебаний артериального давления от вазомоторной динамики на церебральную гемодинамику является нерешенной проблемой. Предложенный метод может сыграть большую роль как в фундаментальной медицине для уточнения физиологических механизмов регуляции кровообращения, так и в клинической практике для разработки новых диагностических параметров, применимых в диагностике и лечении заболеваний, сопровождающихся микрогемодинамическими нарушениями.

Каждая из представленных выше технологий биофотоники нуждается в разработке методик верификации и калибровки. Для этих целей возможно использовать различные тест-объекты (оптические фантомы), имитирующие те или иные свойства биологических тканей. Разработке таких фантомов посвящена **шестая глава** диссертации.

*Тест-объекты, имитирующие поглощающие и рассеивающие свойства*

Для проверки возможностей системы *гиперспектральной визуализации* с целью измерения оксигенации тканей использовался твердый фантом биоткани с заданными оптическими свойствами, равными свойствам бескровной дермы человека. Схема и размеры разработанного фантома приведены на рисунке 25.

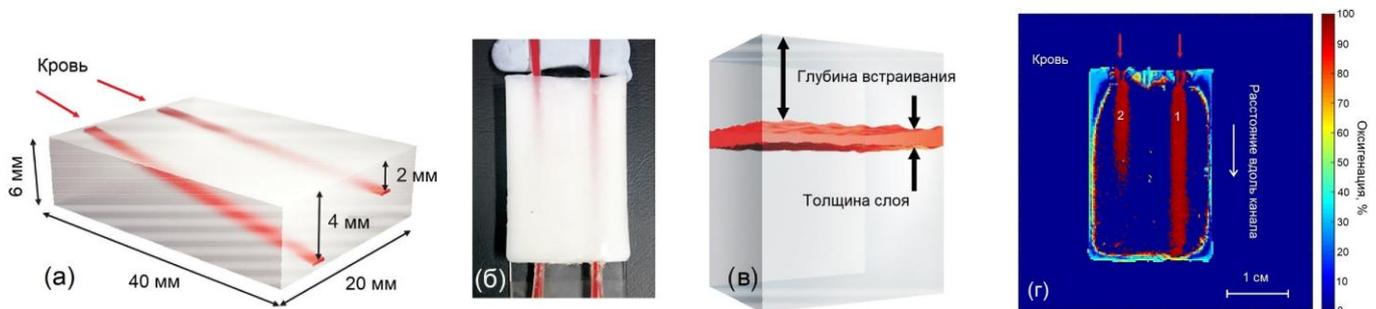


Рисунок 25 – (а) 3D модель фантома биоткани со встроенными кровеносными сосудами; (б) фотография (вид сверху) изготовленного фантома с каналами, заполненными полностью насыщенной кислородом кровью; (в) трехслойная модель фантома, используемая для расчета спектров диффузного отражения; (г) 2D карта насыщения крови кислородом в фантоме биоткани

Фантом содержит два наклонных плоских полых канала (сечения  $0,25 \times 1 \text{ мм}^2$ ), расположенных под разными углами внутри фантома. Глубина залегания линейно увеличивается от 0,3 до 2 мм для поверхностного канала и от 0,3 до 4 мм для глубинного. Матрица на основе поливинилхлорида (ПВХ) использовалась в качестве носителя для рассеивающих наночастиц ZnO. Для контроля коэффициента поглощения фантома был добавлен вязкий чёрный краситель на основе CI Pigment Black 7. Два стеклянных капилляра были установлены под разными углами внутри фантомной формы до её затвердевания. После этого капилляры были аккуратно удалены, образуя полые каналы. Далее каналы были подсоединены через пипеточные наконечники и пластиковую трубку к шприцевому насосу. Суспензию очищенных эритроцитов человека (45% от объема), полученных от здорового донора, прокачивали по каналам

со скоростью 10 мл/ч, чтобы избежать образования осадка. Оптические свойства изготовленного фантома, включая коэффициенты поглощения и рассеяния, а также коэффициент анизотропии в видимой и ближней ИК областях спектра, были получены на основании обратного метода добавления-удвоения из диффузного коэффициента отражения, диффузного коэффициента пропускания и коллимированного коэффициента пропускания, измеренных с помощью спектрофотометра (Gooch & Housego, США), оснащённого интегрирующими сферами. Кроме того, коэффициент преломления фантома измеряли с помощью многоволнового рефрактометра Аббе (Atago, Япония).

Смоделированные методом Монте-Карло спектры отражения использовались для обучения ИНС при восстановлении уровня кислорода в каналах крови внутри фантома биоткани. Обученная ИНС была применена для обработки гиперспектральных измерений фантома. Спектральная область 550-800 нм была выбрана для оценки содержания кислорода в крови, так как наиболее заметные изменения отражательной способности наблюдаются в этой области. Карта насыщения крови кислородом для фантома биоткани представлена на рисунке 25(г). Результаты исследования показали, что правильная оценка толщины поверхностного бескровного слоя играет важную роль в точной оценке насыщения крови кислородом, что важно учитывать при *in vivo* исследованиях биологических объектов.

Чтобы оценить возможности системы *поляризационной визуализации* и изучить вклад рассеяния в замедление фазы циркулярно поляризованного света, была проведена серия измерений на ПВХ тканевых фантомах, описанных выше, с различными коэффициентами рассеяния ( $\mu_s = 2, 3, 4$  и  $5 \text{ мм}^{-1}$ ). Фантомы имели толщину 1 мм, коэффициент поглощения  $\mu_a = 0,05 \text{ мм}^{-1}$  и коэффициент анизотропии  $g = 0,8$ .

Измерения на фантомах проводились в одной пространственной точке в течение 30 с. Зарегистрированные данные усреднялись по времени. На рисунке 26(а) показаны зарегистрированные векторы Стокса, отображенные на сфере Пуанкаре. Радиусы внешней (серой) и внутренней (фиолетовой) сфер определяют 100% и 20% *DOP*, соответственно. Каждая точка на сфере представляет собой уникальное состояние поляризации. На рисунке 26(б,в) показаны степень поляризации и компонент мощности, соответственно, как функции от  $\mu_s$  фантомов.

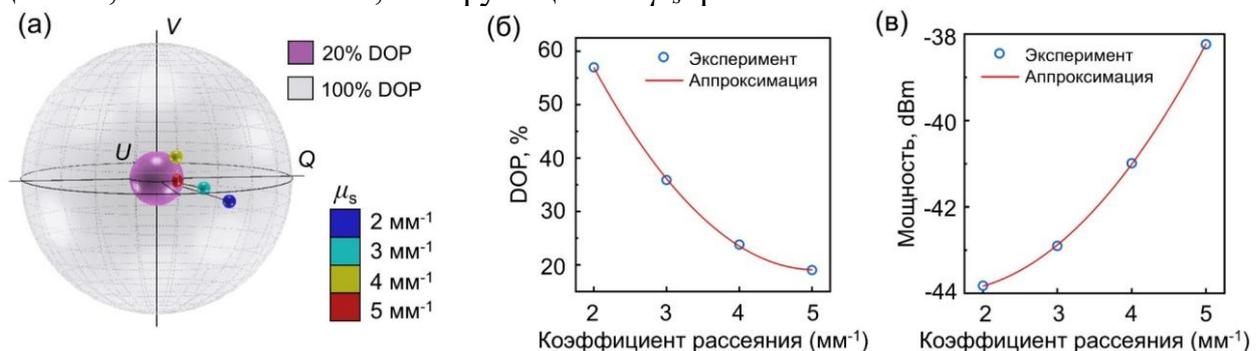


Рисунок 26 – (а) Распределение параметров Стокса на сфере Пуанкаре относительно  $\mu_s$  фантомов. Зависимость (б) степени поляризации и (в) мощности от  $\mu_s$  фантомов

Вектор Стокса и значения степени поляризации различны для разных оптических свойств фантомов. Из-за меньшего рассеяния результаты для фантомов с меньшим  $\mu_s$  показывают более высокие значения степени поляризации, чем для фантомов

с большим  $\mu_s$ . Для  $\mu_s = 4$  и  $5 \text{ мм}^{-1}$  спиральность обнаруженного света является правозакрученной. Это означает, что большинство обнаруженных фотонов подверглись прямому рассеянию и сохранили свою спиральность. Для  $\mu_s = 2$  и  $3 \text{ мм}^{-1}$  спиральность обнаруженного света была левозакрученной. Левозакрученная спиральность является индикатором того, что большинство обнаруженных фотонов при взаимодействии с фантомами претерпели переворот спиральности. Это типичный признак рэлеевского режима, в котором свет рассеивается в основном частицами, которые малы по сравнению с длиной волны. Использование подобных измерений способно предоставить дополнительную информацию для корректной интерпретации данных реальных экспериментов с биообъектами.

#### *Тест-объекты, имитирующие флуоресцентные свойства*

Представленные выше фантомы кожи на основе ПВХ имеют существенные ограничения в имитации флуоресцентных свойств биотканей. Условия проведения процессов полимеризации (повышенная температура, использование химически активных полимеризующих веществ) приводят к разрушению или значительному изменению свойств флуоресцентных красителей, особенно таких эндогенных флуорофоров, как НАДН и ФАД.

В связи с этим была разработана новая технология изготовления фантома биотканей нового типа на основе полимеризующегося полиакриламида (ПАА), коллагена и водного раствора ФАД. ПАА – оптически прозрачный эластичный материал с хорошей фотостабильностью во времени, который активно используется в биомедицинской практике. Для имитации базового уровня флуоресценции соединительной ткани кожи был использован коллаген, содержащийся в желатине. Для разработанного подхода характерны умеренные режимы полимеризации, которые не влияют на флуоресценцию ФАД. Для создания более плотной эластичной структуры, не подверженной образованию плесени, был использован ПАА-гель в качестве связующего материала со стабильными термическими и химическими свойствами. Важной особенностью разработанных флуоресцентных фантомов является отсутствие выраженной флуоресценции ПАА в ультрафиолетовом и видимом диапазонах. В качестве флуорофора использовали водный раствор ФАД, который является одним из основных флуорофоров кожи при возбуждении на длине волны 450 нм.

Предварительное приготовление эластичной матричной основы фантомов кожи человека осуществляли путем смешивания и гомогенизации порошкообразного желатина (0,2 г) с 20 мл дистиллированной воды до получения однородной структуры при нагревании при температуре 40 °С в течение 15 мин. Далее полученный раствор смешивали с акриламидом (АА) (6 г) и бисакриламидом (БАА) (0,16 г) при комнатной температуре в течение 15 мин. Для воспроизведения рассеивающих свойств в полученную полимерную структуру было добавлено 0,03 г оксида цинка (ZnO). Для воспроизведения флуоресцентных свойств в полученную смесь добавляли ФАД (концентрация которого в организме человека обычно колеблется от нескольких единиц до нескольких десятков ммоль на 100 г ткани) и перемешивали в течение 10 мин. Последующую полимеризацию проводили до получения эластичной светорассеивающей структуры путем добавления пероксодисульфата аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  и тетраметилэтилендиамина (TEMED).

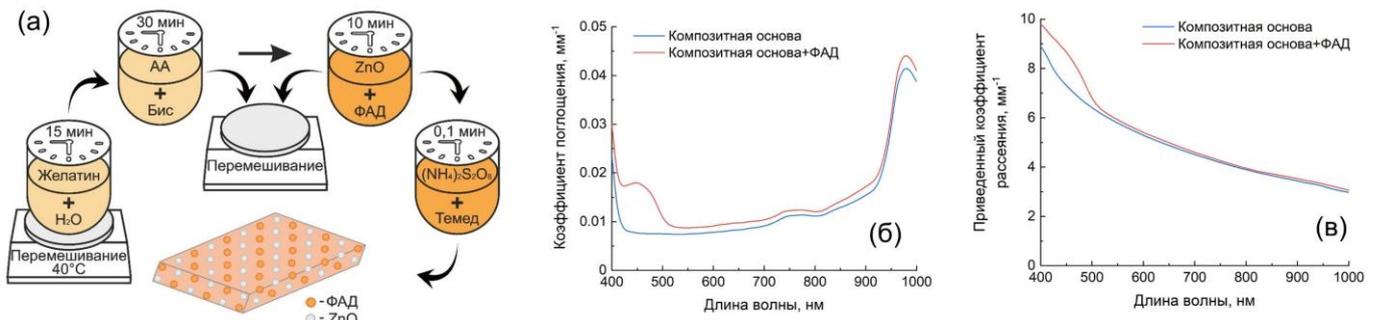


Рисунок 27 – (а) Схематическое представление последовательности основных этапов изготовления оптического фантома кожи человека на основе коллагена, ПАА геля, оксида цинка и водного раствора ФАД. (б) Коэффициент поглощения и (в) приведенный коэффициент рассеяния изготовленной композитной основы без добавления ФАД и с добавлением 15 мкМ ФАД, соответственно

Оптические свойства контролировались с помощью спектрофотометрических измерений с интегрирующей сферой. Коэффициент поглощения и приведенный коэффициент рассеяния были рассчитаны обратным методом сложения-удвоения в диапазоне 400-1000 нм (рисунок 27). На спектрах поглощения отчетливо видны полосы поглощения воды (760 и 975 нм) и полоса поглощения ФАД (450 нм). С помощью многоволнового рефрактометра Аббе (Atago, Япония) были также измерены показатели преломления ( $n$ ) для различных длин волн, включая: 450 нм – 1,358, 589 нм – 1,350, 632 нм – 1,348, 930 нм – 1,343.

Параметры флуоресценции измеряли с помощью гиперспектральной системы, реализующей также флуоресцентные измерения. В данной установке излучение светодиодного источника с длиной волны излучения 450 нм M450LP1 (Thorlabs, США) проходит через полосовой фильтр MF445-45 (Thorlabs, США). Выделенная полоса излучения попадает на дихроичный фильтр MD416 (Thorlabs, США) и направляется на тест-объект, возбуждая флуоресценцию ФАД. Обратное отраженное излучение источника удаляется из светового потока дихроичным фильтром и светофильтром с длиной волны отсечения 500 нм FELN0500 (Thorlabs, США). Оставшееся излучение флуоресценции образца регистрируется гиперспектральной камерой Specim (Spectral Imaging Ltd., Финляндия) в спектральном диапазоне 400-1000 нм.

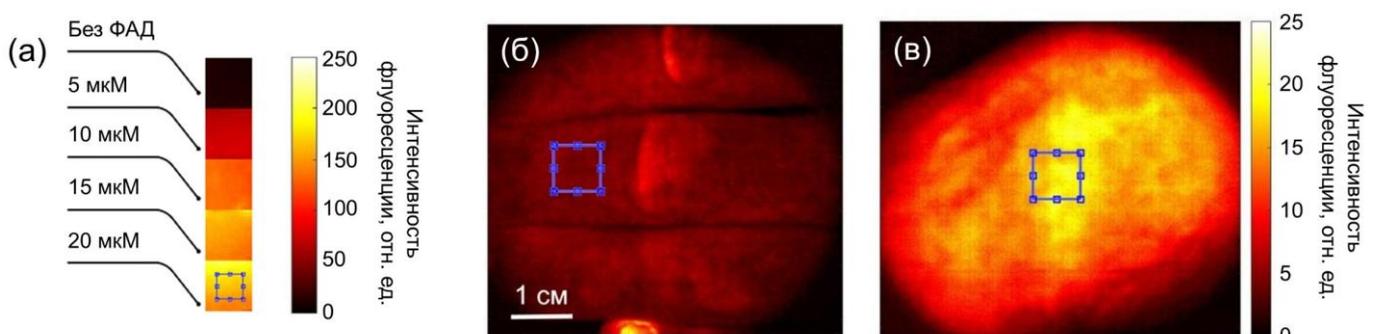


Рисунок 28 – Флуоресцентные изображения (а) фантомов, (б) кожи пальцев и (в) кожи предплечья, полученные с помощью гиперспектральной камеры на длине волны 530 нм

Полученные гиперспектральные флуоресцентные изображения пяти кожных фантомов с различной концентрацией ФАД показаны на рисунке 28(а). Для сравнения флуоресцентных свойств эластичных фантомов с реальным биологическим объектом были получены флуоресцентные изображения кожи пальцев руки и предплечья здо-

рового добровольца (рисунок 28(б,в)). Интенсивность флуоресценции ФАД изменяется пропорционально концентрации флуорофора. При этом наибольшее изменение в отношении «интенсивность флуоресценции»/«концентрация флуорофора» наблюдается в области 5-10 мкМ на 100 г ткани, что представляет наибольший интерес при моделировании свойств здоровой ткани. Полученные значения интенсивности флуоресценции для фантомов имеют высокую корреляцию с концентрацией ФАД ( $r=0,99$ ,  $p<0,001$ ). Спектры фантома и спектры кожи имеют сходные пики флуоресценции, соответствующие спектру ФАД ( $\lambda_{\max} \approx 530-540$  нм) при возбуждении синим светом (450 нм). Однако форма спектров флуоресценции кожи, а также общий уровень интенсивности сигнала, отличаются от таковых у фантомов, что объясняется влиянием крови на поглощение флуоресценции кожей. При этом, представленные фантомы могут быть легко модифицированы для учета поглощающих свойств биотканей.

Таким образом, основным преимуществом разработанных фантомов является то, что условия полимеризации ПАА не влияют на свойства флуоресценции ФАД. Разработанная эластичная фантомная матрица удовлетворяет условию стационарности, требуемому для калибровочных измерений.

#### *Тест-объект, имитирующий динамическое рассеяние света*

Был предложен тест-объект, позволяющий тестировать системы регистрации динамического рассеяния света, включая ЛСКВ, и позволяющий оценивать способность системы определять разницу между различными скоростями потока рассеивающих частиц, а также регистрировать колебания их потока. Была использована капиллярная трубка с внутренним диаметром 1,6 мм и электрический инфузионный насос. Вид фантома-капилляра представлен на рисунке 29. Через капилляр с помощью электрического насоса прокачивался 8% раствор интралипида 20% (Фрезениус Каби, США). Выбранная концентрация 8% интралипида приблизительно соответствует оптическим свойствам рассеяния крови при длине волны 785 нм ( $\mu_s = 72$  мм<sup>-1</sup>).

Раствор интралипида прокачивался через капиллярную трубку с линейными скоростями 1 мм/с и 2 мм/с, что соответствует диапазону скоростей крови *in vivo*. Результаты ЛСКВ измерений капилляра показаны на рисунке 29.

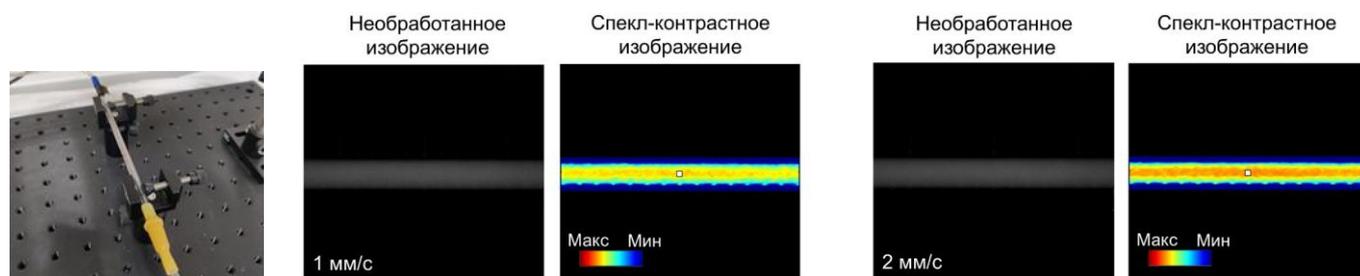


Рисунок 29 – Внешний вид фантома-капилляра. Исходные монохромные и спекл-контрастные изображения движения жидкости в капилляре при различных скоростях потока

Результаты вейвлет-анализа для сигналов, записанных на фантоме-капилляре, показаны на рисунке 30. В качестве первого шага была осуществлена регистрация сигнала ЛСКВ-перфузии для каждой из двух скоростей в соответствии с формулой  $1/K^2$ . Затем было использовано непрерывное вейвлет-преобразование, что позволило получить амплитудные скалограммы и усредненные вейвлет-спектры для различных скоростей потока.

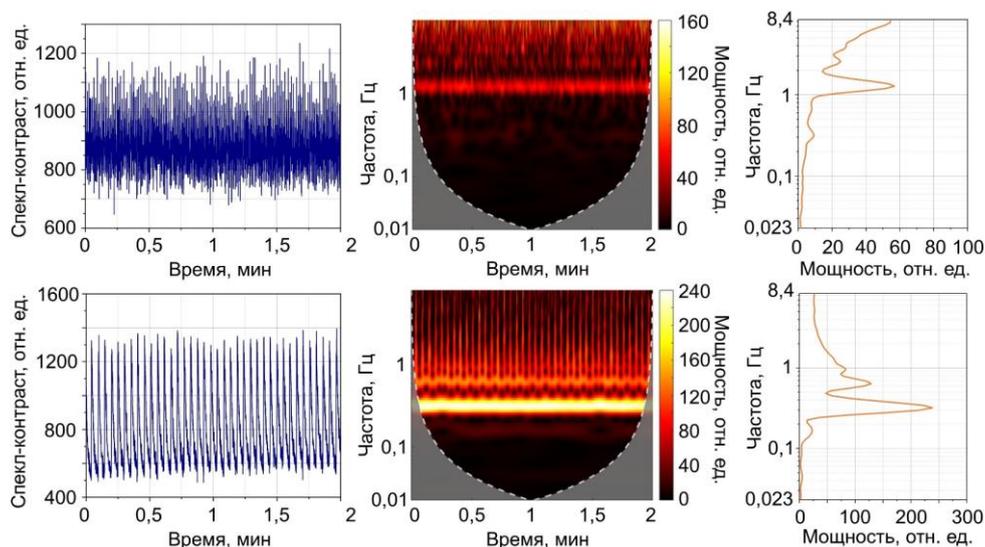


Рисунок 30 – Вейвлет-анализ сигналов лазерного спекл-контраста, полученных для капиллярного фантома. Первый ряд: сигнал лазерного спекл-контраста, скалограмма амплитуды вейвлет-преобразования и усредненный по времени вейвлет-спектр для скорости потока 1 мм/с; второй ряд показывает те же типы данных для скорости потока 2 мм/с

Полученные результаты показывают, что для различных скоростей потока раствора существуют различные распределения частот. Для скоростей 1 мм/с и 2 мм/с в вейвлет-спектрах наблюдается несколько пиков, что указывает на то, что необходимая скорость введения достигается насосом за счет пульсаций нескольких частот. При скорости потока интралипида в капилляре равной 1 мм/с были обнаружены колебания с частотой приблизительно 1,28 Гц. При более высокой скорости потока жидкости (2 мм/с) высокочастотные колебания 0,64 Гц модулировались низкой частотой около 0,32 Гц. Эти частоты соответствовали характеристикам, приведенным в документации на инфузионный насос.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ** содержит общую характеристику работы, выводы по результатам исследований и практические рекомендации по их использованию в медико-биологической практике.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В диссертационной работе в рамках решения поставленной научной проблемы развития методов оптической визуализации тканевого метаболизма, направленного на повышение эффективности диагностики и качества анализа данных при исследовании социально значимых заболеваний, получены следующие основные результаты:

1. Выполнен анализ современных проблем методов и технических средств оптической визуализации, выявлены их ограничения, недостатки и пути совершенствования, обеспечивающие приемлемую эффективность для клинического использования.

2. Разработан и экспериментально апробирован метод поляризационно-чувствительной ГСВ, реализующий спектрально-поляриметрическую регистрацию отраженного излучения в диапазоне 510-900 нм с использованием Фабри-Перо интерферометра и кольцевого волоконного осветителя. Для анализа данных применены алгоритмы машинного обучения, включая нейросетевые модели, обученные на 82 005 синтетических спектрах, полученных с помощью модели семислойной кожи. Метод позволил количественно определять такие параметры как толщина эпидермиса, со-

держание меланина, оксигенация и кровенаполнение кожи, а также предложить индекс поляризации, демонстрирующий высокую корреляцию с возрастными и диабетическими изменениями. В клинических условиях достигнуты значения чувствительности 95% и специфичности 85% при выявлении пациентов с диабетическими осложнениями.

3. Разработаны универсальные численные модели взаимодействия оптического излучения с биологическими тканями, основанные на стохастическом моделировании методом Монте-Карло. Модели учитывают сложную внутреннюю структуру биотканей, а также физико-технические параметры измерительных систем (длину волны, степень когерентности, поляризацию, апертуру, взаимное расположение источника и детектора). Полученные решения позволяют не только обосновать специализированные медико-технические требования к системам оптической визуализации при их проектировании, но и создавать обширные синтетические выборки для обучения нейросетевых алгоритмов реконструкции биофизических параметров.

4. Разработана система Стокс-поляризационной визуализации, позволившая изучить поляриметрические характеристики парафиновых блоков рака молочной железы и *ex vivo* образцов рака толстой кишки. С использованием параметров полного вектора Стокса был разработан метод кластеризации на основе метода *k*-средних, предоставивший возможность проводить гистологический анализ парафиновых блоков раковых образцов без окрашивания. Дополнительное определение матриц Мюллера, а также симметричное разложение и расчет параметров поляризации и деполяризации позволило разработать классификатор *ex vivo* раковых образцов на основе метода случайного леса с метриками классификации чувствительности и специфичности 1,0 и 0,93 соответственно. Результаты исследований коррелируют с данными гистологического анализа.

5. Разработан метод визуализации эндогенной флуоресценции, основанный на возбуждении при 455 нм и регистрации эмиссии флуорофоров тканей (ФАД, коллаген, порфирин) в режиме реального времени. Метод продемонстрировал высокую чувствительность к границам опухолевой ткани на *in vivo* модели рака печени у лабораторных мышей, а также подтвердил возможность его клинического применения в задачах интраоперационной навигации без введения экзогенных контрастных веществ.

6. Разработан метод визуализации времени жизни флуоресценции в частотной области, дополняющий диагностические возможности разработанной системы Стокс-поляризационной визуализации и позволяющий расширить возможности гистологического анализа образцов опухоли, а также продемонстрировавший возможность получать высокоразрешенные пространственные карты метаболической активности мозга, изучать региональную специфику времени жизни флуоресценции биологических тканей и исследовать фармакологические эффекты нейромодуляторов.

7. Разработан метод частотно-временного анализа данных лазерной спекл-контрастной визуализации, позволяющий выделять пять осцилляционных компонент кровотока, включая эндотелиальную, нейрогенную и миогенную активности. Впервые получены карты распределения миогенных вазомоций на частоте 0,1 Гц в сосудах мозга крысы. Метод обеспечивает высокое пространственно-временное разрешение и применим для мониторинга регуляции церебрального и периферического кровотока, включая состояния, связанные с нарушением микроциркуляции крови.

8. Созданы и экспериментально протестированы оптические фантомы, имитирующие поглощение, рассеяние и флуоресценцию биотканей. Разработана методология синтеза эластичных фантомов на полиакриламида, что позволило обеспечить стабильность оптических характеристик и применять их для регулярной калибровки диагностических систем. Предложенные фантомы обеспечивают воспроизводимость измерений и стандартизацию технических процедур при разработке и тестировании (контроле технического состояния) оптических биомедицинских устройств.

## ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ<sup>1</sup>

### Статьи в изданиях, определённых ВАК Минобрнауки РФ:

1. **Дрёмин В.В.** Оценка уровня сигнала методом Монте-Карло при лазерной флуоресцентной диагностике биоткани [Текст] / **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2012. – Т. 293. – № 3. – С. 134-139.
2. Дунаев А.В. Анализ индивидуальной вариабельности параметров в лазерной флуоресцентной диагностике [Текст] / А.В. Дунаев, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, П.С. Гордон, С.Г. Соколовский, Э.У. Рафаилов // *Биотехносфера.* – 2013. – Т. 26. – № 2. – С. 38-45.
3. Жарких Е.В. Возможности исследования изменений амплитуд колебаний кожного кровотока с помощью адаптивного вейвлет-анализа при проведении окклюзионных проб [Текст] / Е.В. Жарких, А.И. Жеребцова, И.Н. Маковик, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2015. – Т. 314. – № 6. – С. 114-121.
4. Долгушина Л.В. Анализ вклада рассеяния и поглощения в общее затухание сигналов в лазерной доплеровской флоуметрии при различном содержании меланина [Текст] / Л.В. Долгушина, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, Е.А. Жеребцов, К.В. Подмастерьев // *Биотехносфера.* – 2015. – Т. 42. – № 6. – С. 2-6.
5. Новикова И.Н. Возможности применения вейвлет-анализа осцилляций параметров микроциркуляторно-тканевых систем при проведении холодовой прессорной пробы на пальцах рук [Текст] / И.Н. Новикова, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров // *Биотехносфера.* – 2015. – Т. 42. – № 6. – С. 26-30.
6. **Дрёмин В.В.** Влияние содержания меланина в коже на формирование сигнала флуоресцентной спектроскопии [Текст] / **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев // *Оптический журнал.* – 2016. – Т. 83. – № 1. – С. 57-64.
7. **Дрёмин В.В.** Возможности применения сочетанных методов оптической неинвазивной диагностики при исследовании жизнеспособности тканей нижних конечностей пациентов с сахарным диабетом [Текст] / **В.В. Дрёмин**, Е.В. Дрёмина, Е.В. Жарких, Е.В. Потапова, Е.А. Алимичева, Г.И. Масалыгина, А.В. Дунаев // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2016. – Т. 315. – № 1. – С. 136.
8. **Дрёмин В.В.** Аналитический обзор подходов к математическому моделированию флуоресценции биологических тканей [Текст] / **В.В. Дрёмин** // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии.* – 2016. – Т. 320. – № 6. – С. 92-102.
9. Потапова Е.В. Комплексный подход к неинвазивной оценке микроциркуляторно-тканевых нарушений в стопах пациентов с сахарным диабетом методами спектроскопии [Текст] / Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, И.Н. Маковик, Е.В. Жарких, А.В. Дунаев, О.В. Пилипенко, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // *Оптика и спектроскопия.* – 2017. – Т. 123. – № 6. – С. 946-956.
10. Потапова Е.В. Оценка микроциркуляторных нарушений у пациентов ревматологического профиля с использованием метода спектроскопии диффузного отражения [Текст] / Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, И.Н. Маковик, А.И. Жеребцова, А.В. Дунаев, К.В. Подмастерьев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин, Л.С. Хахичева В.Ф. Мурадян // *Физиология человека.* – 2017. – Т. 43. – № 2. – С. 116-124.

<sup>1</sup> В список не включены переводные версии статей российских журналов, тезисы докладов, учебные пособия, методические указания и ряд других малозначимых публикаций.

11. Филина М.А. Функциональные изменения микроциркуляции крови в коже стопы при тепловых пробах у пациентов с сахарным диабетом [Текст] / М.А. Филина, Е.В. Потапова, И.Н. Маковик, Е.В. Жарких, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, А.В. Дунаев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин, Е.А. Алимичева, Г.И. Масалыгина, В.Ф. Мурадян // Физиология человека. – 2017. – Т. 43. – № 6. – С. 95-102.
12. **Дрёмин В.В.** Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке состояния микрогемолимфоциркуляции [Текст] / **В.В. Дрёмин**, И.О. Козлов, Е.А. Жеребцов, И.Н. Маковик, А.В. Дунаев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. – № 4. – С. 42-49.
13. Козлов И.О. Метод и устройство лазерной доплеровской флоуметрии для регистрации интенсивности компонентов кожного кровотока [Текст] / И.О. Козлов, Е.А. Жеребцов, А.И. Жеребцова, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2017. – № 6. – С. 68-76.
14. Жарких Е.В. Оптическая неинвазивная диагностика функционального состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической микрогемодинамики [Текст] / Е.В. Жарких, И.Н. Маковик, Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, А.И. Жеребцова, А.В. Дунаев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 23-32.
15. Потапова Е.В. Особенности локальной микроциркуляции крови у пациентов с псориазом [Текст] / Е.В. Потапова, М.А. Филина, И.О. Козлов, Е.В. Жарких, **В.В. Дрёмин**, Н.С. Малая, И.А. Снимщикова, А.В. Дунаев, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 58-64.
16. Кандурова К.Ю. Методы оптической биопсии и их перспективы применения для интраоперационного анализа тканевого метаболизма и микроциркуляции крови в мини-инвазивной хирургии [Текст] / К.Ю. Кандурова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, А.Л. Альянов, А.В. Мамошин, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев, В.Ф. Мурадян, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 71-79.
17. Потапова Е.В. Разработка жидкого оптического фантома для флуоресцентных спектроскопических исследований [Текст] / Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, К.В. Подмастерьев, А.В. Дунаев // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2018. – Т. 332. – № 6. – С. 105-114.
18. Ставцев Д.Д. Совместное применение оптических методов для исследования параметров микрогемодинамики при ревматических заболеваниях [Текст] / Д.Д. Ставцев, М.В. Волков, Н.Б. Маргарянц, А.В. Потёмкин, **В.В. Дрёмин**, И.Н. Маковик, Л.С. Хахичева, В.Ф. Мурадян, К.В. Подмастерьев, А.В. Дунаев // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2019. – Т. 335. – № 3. – С. 102-110.
19. Шуплецов В.В. Устройство для флуоресцентной визуализации опухолевой ткани [Текст] / В.В. Шуплецов, К.Ю. Кандурова, Е.С. Серёгина, Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, А.В. Мамошин, К.В. Подмастерьев, А.В. Дунаев // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2019. – Т. 338. – № 6. – С. 138-145.
20. Потапова Е.В. Лазерная спекл-контрастная визуализация микроциркуляции крови в тканях поджелудочной железы при лапароскопических вмешательствах [Текст] / Е.В. Потапова, Е.С. Серёгина, **В.В. Дрёмин**, Д.Д. Ставцев, И.О. Козлов, Е.А. Жеребцов, А.В. Мамошин, Ю.В. Иванов, А.В. Дунаев // Квантовая электроника. – 2020. – Т. 50. – № 1. – С. 33-40.
21. Кандурова К.Ю. Апробация тонкоигольного оптического зонда для регистрации изменений флуоресценции коферментов клеточного дыхания [Текст] / К.Ю. Кандурова, Е.В. Потапова, Е.А. Жеребцов, **В.В. Дрёмин**, Е.С. Серёгина, А.Ю. Винокуров, А.В. Мамошин, А.В. Борсуков, Ю.В. Иванов, А.В. Дунаев // Оптика и спектроскопия. – 2020. – Т. 128. – № 6. – С. 736-745.
22. **Дрёмин В.В.** Математическое моделирование взаимодействия поляризованного света с биологическими тканями [Текст] / **В.В. Дрёмин**, Е.В. Жарких // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2020. – Т. 340. – № 2. – С. 136-147.
23. Шуплецов В.В. Использование модельных образцов кожи человека на основе полиакриламида в задачах гиперспектральной флуоресцентной визуализации и спектроскопии [Текст] / В.В.

- Шуплецов, Е.А. Жеребцов, **В.В. Дрёмин**, А.П. Попов, А.В. Быков, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев, И.В. Меглинский // Квантовая электроника. – 2021. – Т. 51. – № 2. – С. 118-123.
24. Потапова Е.В. Мультипараметрический подход к оценке кожной микроциркуляции у пациентов дерматологического профиля (на примере псориаза) [Текст] / Е.В. Потапова, М.А. Михайлова, А.К. Королева, Д.Д. Ставцев, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, Н.Ю. Якушкина, А.И. Крупаткин, Н.Б. Маргарянц // Физиология человека. – 2021. – Т. 47. – № 6. – С. 33-42.
25. Мамошин А.В. Внедрение оптических технологий для повышения эффективности пункционной биопсии при диффузных и очаговых поражениях печени / А.В. Мамошин, Д.С. Сумин, К.Ю. Кандурова, В.В. Шуплецов, Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, А.В. Дунаев // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25. – № 3S. – С. 24.
26. Новикова И.Н. Прямая оптическая генерация синглетного кислорода в регуляции перфузионно-метаболических изменений в тканях [Текст] / И.Н. Новикова, Е.В. Потапова, Л.В. Ератова, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, А.Ю. Абрамов // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25. – № 3S. – С. 52-53.
27. Брянская Е.О. Цифровая диафаноскопия в диагностике патологических образований верхнечелюстных пазух [Текст] / Е.О. Брянская, Р.Ю. Гнеушев, И.Н. Новикова, Б.М. Шураев, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25. – № 3S. – С. 57-58.
28. Корнаева Е.П. Концепция мехатронной установки для исследования реологических свойств физиологических жидкостей [Текст] / Е.П. Корнаева, А.В. Корнаев, И.Н. Стебаков, С.Г. Попов, Д.Д. Ставцев, **В.В. Дрёмин** // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2021. – Т. 345. – № 1. – С. 83-95.
29. Корнаева Е.П. Экспериментальная установка для исследования реологических свойств физиологических жидкостей [Текст] / Е.П. Корнаева, С.Г. Попов, И.Н. Стебаков, **В.В. Дрёмин**, Д.Д. Ставцев // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2021. – Т. 347. – № 3. – С. 131-138.
30. Корнаева Е.П. Композиция моделей классификации для распознавания скорости течения жидкостей в капиллярах [Текст] / Е.П. Корнаева, И.Н. Стебаков, Д.Д. Ставцев, **В.В. Дрёмин**, А.В. Корнаев // Известия Юго-Западного государственного университета. – 2021. – Т. 25. – № 2. – С. 93-106.
31. Голубова Н.В. Мультимодальная лапароскопическая система для оценки перфузии и метаболизма биологических тканей [Текст] / Н.В. Голубова, **В.В. Дрёмин**, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев // Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии. – 2022. – Т. 351. – № 1. – С. 139-147.
32. Корнаева Е.П. Моделирование течения неньютоновских жидкостей в тороидальном канале инерционного вискозиметра с системой технического зрения [Текст] / Е.П. Корнаева, И.Н. Стебаков, А.В. Корнаев, **В.В. Дрёмин** // Известия Юго-Западного государственного университета. – 2022. – Т. 26. – № 1. – С. 129-147.
33. Шуплецов В.В. Дифференциация гепатоцеллюлярной карциномы и паренхимы печени при пункционной биопсии на основе параметров времени жизни флуоресценции [Текст] / В.В. Шуплецов, Е.В. Потапова, Е.А. Жеребцов, **В.В. Дрёмин**, К.Ю. Кандурова, Д.С. Сумин, А.В. Мамошин, А.В. Дунаев // Медицинская физика. – 2023. – № 2. – С. 104.
34. Адаменков Н.А. Возможности метода гиперспектральной визуализации для определения жизнеспособности кишечника при моделировании локальной ишемии [Текст] / Н.А. Адаменков, В.В. Шуплецов, И.А. Горюнов, А.А. Палалов, Е.Г. Чугунова, Н.И. Калуга, А.В. Мамошин, **В.В. Дрёмин** // Медицинская физика. – 2023. – № 2. – С. 17-18.
35. Голубова Н.В. Метод лазерной спекл-контрастной визуализации в задачах определения характеристик церебрального кровообращения у лабораторного животного [Текст] / Н.В. Голубова, Е.С. Серегина, Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин** // Медицинская физика. – 2023. – № 2. – С. 39.
36. Ератова Л.В. Лазерная индукция синглетного кислорода как реализация фотодинамической терапии без фотосенсибилизаторов [Текст] / Л.В. Ератова, **В.В. Дрёмин**, И.Н. Маковик // Медицинская физика. – 2023. – № 2. – С. 50-51.
37. Потапова Е.В. Устройство флуоресцентно-отражательной спектроскопии в диагностике заболеваний печени [Текст] / Е.В. Потапова, А.В. Мамошин, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, К.Ю.

- Кандурова, В.В. Шуплецов, Д.С. Сумин, А.В. Дунаев // Медицинская физика. – 2023. – № 2. – С. 85.
38. Журило И.П. Возможности метода гиперспектральной визуализации при инфантильных гемангиомах у детей [Текст] / И.П. Журило, В.В. Шуплецов, И.А. Горюнов, Е.В. Потапова, А.И. Медведев, **В.В. Дрёмин** // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2023. – Т. 13. – С. 64.
39. Попов С.В. Современные оптические неинвазивные технологии в диагностике урологических заболеваний. Обзор литературы. Часть I [Текст] / С.В. Попов, Р.Г. Гусейнов, Е.В. Потапова, К.В. Сивак, **В.В. Дрёмин**, В.В. Перепелица, Т.А. Лелявина, А.В. Дунаев // Урология. – 2024. – № 5. – С. 109-115.
40. Попов С.В. Современные оптические неинвазивные технологии в диагностике урологических заболеваний. Обзор литературы. Часть II [Текст] / С.В. Попов, Р.Г. Гусейнов, Е.В. Потапова, К.В. Сивак, **В.В. Дрёмин**, В.В. Перепелица, Т.А. Лелявина, А.В. Дунаев // Урология. – 2024. – № 6. – С. 134-141.
41. Адаменков Н.А. Интраоперационная оценка жизнеспособности кишечной стенки [Текст] / Н.А. Адаменков, А.В. Мамошин, **В.В. Дрёмин**, Е.В. Потапова, В.В. Шуплецов, Ю.В. Иванов, Д.Н. Панченков, А.В. Дунаев // Клиническая практика. – 2024. – Т. 15. – № 4. – С. 46-58.
42. Адаменков Н.А. Оценка перфузии кишечной стенки в условиях ишемии с применением метода гиперспектральной визуализации [Текст] / Н.А. Адаменков, А.В. Мамошин, **В.В. Дрёмин**, Е.В. Потапова, В.В. Шуплецов, И.А. Горюнов, А.А. Палалов, А.В. Дунаев // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2024. – Т. 8. – № 1. – С. 5-13.
43. Рыжков И.А. Параметры микроциркуляции в коже как диагностические маркеры нарушения центрального и церебрального кровообращения при геморрагическом шоке (экспериментальное исследование) [Текст] / И.А. Рыжков, Н.В. Голубова, К.Н. Лапин, С.Н. Калабушев, **В.В. Дрёмин**, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев, В.Т. Долгих, В.В. Мороз // Общая реаниматология. – 2025. – Т. 21. – № 3. – С. 11-25.

**Статьи в научных журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science:**

44. Dunaev A.V. Individual variability analysis of fluorescence parameters measured in skin with different levels of nutritive blood flow [Text] / A.V. Dunaev, **V.V. Dremin**, E.A. Zherebtsov, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova, S.G. Palmer, N.A. Stewart, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // Medical Engineering and Physics. – 2015. – Vol. 37. – № 6. – P. 574-583.
45. Zherebtsov E. Optical non-invasive diagnostics of microcirculatory-tissue systems of the human body: questions of metrological and instrumentation provision [Text] / E. Zherebtsov, **V. Dremin**, A. Zherebtsova, I. Makovik, A. Dunaev, // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. – 2016. – Vol. 2. – № 4. – P. 040305.
46. Rafailov I.E. Computational model of bladder tissue based on its measured optical properties [Text] / I.E. Rafailov, **V.V. Dremin**, K.S. Litvinova, A.V. Dunaev, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // Journal of Biomedical Optics. – 2016. – Vol. 21. – № 2. – P. 025006.
47. **Dremin V.V.** Multimodal optical measurement for study of lower limb tissue viability in patients with diabetes mellitus [Text] / **V.V. Dremin**, E.A. Zherebtsov, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin, I.N. Makovik, A.I. Zherebtsova, E.V. Zharkikh, E.V. Potapova, A.V. Dunaev, A.A. Doronin, A.V. Bykov, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // Journal of Biomedical Optics. – 2017. – Vol. 22. – № 8. – P. 085003.
48. Makovik I.N. Detection of angiospastic disorders in the microcirculatory bed using laser diagnostics technologies [Text] / I.N. Makovik, A.V. Dunaev, **V.V. Dremin**, A.I. Krupatkin, V.V. Sidorov, L.S. Khakhicheva, V.F. Muradyan, O.V. Pilipenko, I.E. Rafailov, K.S. Litvinova // Journal of Innovative Optical Health Sciences. – 2018. – Vol. 11. – № 1. – P. 1750016.
49. Mizeva I. Spectral analysis of the blood flow in the foot microvascular bed during thermal testing in patients with diabetes mellitus [Text] / I.A. Mizeva, E.V. Zharkikh, **V.V. Dremin**, E.A. Zherebtsov, I.I. Makovik, E.V. Potapova, A.V. Dunaev // Microvascular Research. – 2018. – Vol. 120. – P. 13-20.
50. Mizeva I.A. Optical probe pressure effects on cutaneous blood flow [Text] / I.A. Mizeva, E.V. Potapova, **V.V. Dremin**, E.A. Zherebtsov, M.A. Mezentsev, V.V. Shuleptsov, A.V. Dunaev // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2019. – Vol. 72. – № 3. – P. 259-267.
51. Kandurova K. Fiber-optic system for intraoperative study of abdominal organs during minimally

- invasive surgical interventions [Text] / K. Kandurova, **V. Dremin**, E. Zherebtsov, E. Potapova, A. Alyanov, A. Mamoshin, Y. Ivanov, A. Borsukov, A. Dunaev // *Applied Sciences*. – 2019. – Vol. 9. – № 2. – P. 217.
52. Zherebtsova A.I. Multimodal optical diagnostics of the microhaemodynamics in upper and lower limbs [Text] / A.I. Zherebtsova, **V.V. Dremin**, I.N. Makovik, E.A. Zherebtsov, A.V. Dunaev, A. Goltsov, S.G. Sokolovski, E.U. Rafailov // *Frontiers in Physiology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 416.
53. **Dremin V.** Dynamic evaluation of blood flow microcirculation by combined use of the laser Doppler flowmetry and high-speed videocapillaroscopy methods [Text] / **V. Dremin**, **I. Kozlov**, M. Volkov, N. Margaryants, A. Potemkin, E. Zherebtsov, A. Dunaev, I. Gurov // *Journal of Biophotonics*. – 2019. – Vol. 12. – № 6. – P. e201800317.
54. Zherebtsov E. Hyperspectral imaging of human skin aided by artificial neural networks [Text] / E. Zherebtsov, **V. Dremin**, A. Popov, A. Doronin, D. Kurakina, M. Kirillin, I. Meglinski, A. Bykov // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10. – № 7. – P. 3545-3559.
55. **Dremin V.** Influence of blood pulsation on diagnostic volume in pulse oximetry and photoplethysmography measurements [Text] / **V. Dremin**, E. Zherebtsov, A. Bykov, A. Popov, A. Doronin, I. Meglinski // *Applied Optics*. – 2019. – Vol. 58. – № 34. – P. 9398-9405.
56. **Dremin V.** Imaging of early stage breast cancer with circularly polarized light [Text] / **V. Dremin**, D. Anin, O. Sieryi, M. Borovkova, J. Näpänkangas, I. Meglinski, A. Bykov // *Proceedings of SPIE*. – 2020. – Vol. 11363. – P. 1136304.
57. Shupletsov V. Fluorescence imaging system for biological tissues diagnosis: phantom and animal studies [Text] / V. Shupletsov, K. Kandurova, **V. Dremin**, E. Potapova, M. Apanaykin, U. Legchenko, A. Dunaev // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2020. – Vol. 6. – № 1. – P. 010303.
58. Ivanov D. Colon cancer detection by using Poincaré sphere and 2D polarimetric mapping of *ex vivo* colon samples [Text] / D. Ivanov, **V. Dremin**, A. Bykov, E. Borisova, T. Genova, A. Popov, R. Ossikovski, T. Novikova, I. Meglinski // *Journal of Biophotonics*. – 2020. – Vol. 13. – № 8. – P. e202000082.
59. Abramov A.Y. Interaction of oxidative stress and misfolded proteins in the mechanism of neurodegeneration [Text] / A.Y. Abramov, E.V. Potapova, **V.V. Dremin**, A.V. Dunaev // *Life*. – 2020. – Vol. 10. – № 7. – P. 101.
60. Mizeva I. Wavelet analysis of the temporal dynamics of the laser speckle contrast in human skin [Text] / I. Mizeva, **V. Dremin**, E. Potapova, E. Zherebtsov; I. Kozlov, A. Dunaev // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2019. – Vol. 67. – № 7. – P. 1882-1889.
61. Zharkikh E. Biophotonics methods for functional monitoring of complications of diabetes mellitus [Text] / E. Zharkikh, **V. Dremin**, E. Zherebtsov, A. Dunaev, I. Meglinski // *Journal of Biophotonics*. – 2020. – Vol. 13. – № 10. – P. e202000203.
62. **Dremin V.** Optical percutaneous needle biopsy of the liver: a pilot animal and clinical study [Text] / **V. Dremin**, E. Potapova, E. Zherebtsov, K. Kandurova, V. Shupletsov, A. Alekseyev, A. Mamoshin, A. Dunaev // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 14200.
63. Zherebtsov E. Machine learning aided photonic diagnostic system for minimally invasive optically guided surgery in the hepatoduodenal area [Text] / E. Zherebtsov, M. Zajnulina, K. Kandurova, E. Potapova, **V. Dremin**, A. Mamoshin, S. Sokolovski, A. Dunaev, E.U. Rafailov // *Diagnostics*. – 2020. – Vol. 10. – № 11. – P. 873.
64. **Dremin V.** Monitoring oxidative metabolism while modeling pancreatic ischemia in mice using a multimodal spectroscopy technique [Text] / **V. Dremin**, E. Potapova, A. Mamoshin, A. Dunaev, E. Rafailov // *Laser Physics Letters*. – 2020. – Vol. 17. – № 11. – P. 115605.
65. Saha M. Wearable laser Doppler flowmetry sensor: a feasibility study with smoker and non-smoker volunteers [Text] / M. Saha, **V. Dremin**, I. Rafailov, A. Dunaev, S. Sokolovski, E. Rafailov // *Biosensors*. – 2020. – Vol. 10. – № 12. – P. 201.
66. **Dremin V.** Histological imaging of unstained cancer tissue samples by circularly polarized light [Text] / **V. Dremin**, O. Sieryi, M. Borovkova, J. Näpänkangas, I. Meglinski, A. Bykov // *Proceedings of SPIE*. – 2021. – Vol. 11919. – P. 119190F.
67. Dremin V. Influence of melanin content on laser Doppler flowmetry and tissue reflectance oximetry signal formation [Text] / **V. Dremin**, N. Golubova, E. Potapova, A. Dunaev // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2021. – Vol. 7. – № 4. – P. 040306.
68. Bryanskaya E.O. Optical diagnostics of the maxillary sinuses by digital diaphanoscopy technology

- [Text] / E.O. Bryanskaya, I.N. Novikova, **V.V. Dremin**, R.Y. Gneushev, O.A. Bibikova, A.V. Dunaev, V.G. Artyushenko // *Diagnostics*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 77.
69. **Dremin V.** Skin complications of diabetes mellitus revealed by polarized hyperspectral imaging and machine learning [Text] / **V. Dremin**, Z. Marcinkevics, E. Zherebtsov, A. Popov, A. Grabovskis, H. Kronberga, K. Geldnere, A. Doronin, I. Meglinski, A. Bykov // *IEEE Transactions on Medical Imaging*. – 2021. – Vol. 40. – № 4. – P. 1207-1216.
70. Mizeva I. Spatial heterogeneity of cutaneous blood flow respiratory-related oscillations quantified via laser speckle contrast imaging [Text] / I. Mizeva, E. Potapova, **V. Dremin**, I. Kozlov, A. Dunaev // *PLoS One*. – 2021. – Vol. 16. – № 5. – P. e0252296.
71. Ivanov D. Polarization and depolarization metrics as optical markers in support to histopathology of *ex vivo* colon tissue [Text] / D. Ivanov, **V. Dremin**, E. Borisova, A. Bykov, T. Novikova, I. Meglinski, R. Ossikovski // *Biomedical Optics Express*. – 2021. – Vol. 12. – № 7. – P. 4560-4572.
72. Piavchenko G. Impairments of cerebral blood flow microcirculation in rats brought on by cardiac cessation and respiratory arrest [Text] / G. Piavchenko, I. Kozlov, **V. Dremin**, D. Stavtsev, E. Seryogina, K.Kandurova, V. Shupletsov, K. Lapin, A. Alekseyev, S. Kuznetsov, A. Bykov, A. Dunaev, I. Meglinski // *Journal of Biophotonics*. – 2021. – Vol. 14. – № 12. – P. e202100216.
73. Ivanov D. Polarization-based histopathology classification of *ex vivo* colon samples supported by machine learning [Text] / D. Ivanov, **V. Dremin**, T. Genova, A. Bykov, T. Novikova, R. Ossikovski, I. Meglinski // *Frontiers in Physics*. – 2022. – Vol. 9. – P. 814787.
74. Baev A. Y. Interaction of mitochondrial calcium and ROS in neurodegeneration [Text] / A.Y. Baev, A.Y. Vinokurov, I.N. Novikova, **V.V. Dremin**, E.V. Potapova, A.Y. Abramov // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 4. – P. 706.
75. Zherebtsov E.A. Fluorescence lifetime needle optical biopsy discriminates hepatocellular carcinoma [Text] / E.A. Zherebtsov, E.V. Potapova, A.V. Mamoshin, V.V. Shupletsov, K.Y. Kandurova, **V.V. Dremin**, A.Y. Abramov, A.V. Dunaev // *Biomedical Optics Express*. – 2022. – Vol. 13. – № 2. – P. 633-646.
76. Potapova E. Endofluorescence imaging of murine hepatocellular carcinoma cell culture by fluorescence lifetime microscopy with modulated CMOS camera [Text] / E. Potapova, E. Zherebtsov, K. Kandurova, A. Palalov, **V. Dremin**, A. Dunaev // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2022. – Vol. 8. – № 1. – P. 010303.
77. **Dremin V.** Simulation of thermal field distribution in biological tissue and cell culture media irradiated with infrared wavelengths / **V. Dremin**, I. Novikova, E. Rafailov // *Optics Express*. – 2022. – Vol. 30. – № 13. – P. 23078-23089.
78. Kandurova K. Optical properties of perfused rat liver tissues [Text] / K. Kandurova, A. Palalov, E. Seryogina, **V. Dremin**, A. Dunaev, E. Potapova // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2016. – Vol. 2. – № 4. – P. 040305.
79. Novikova I.N. Laser-induced singlet oxygen selectively triggers oscillatory mitochondrial permeability transition and apoptosis in melanoma cell lines [Text] / I.N. Novikova, E.V. Potapova, **V.V. Dremin**, A.V. Dunaev, A.Y. Abramov // *Life Sciences*. – 2022. – Vol. 304. – P. 120720.
80. Kornaeva E.P. A method to measure non-Newtonian fluids viscosity using inertial viscometer with a computer vision system [Text] / E.P. Kornaeva, I.N. Stebakov, A.V. Kornaev, **V.V. Dremin**, S.G. Popov, A.Y. Vinokurov // *International Journal of Mechanical Sciences*. – 2023. – Vol. 242. – P. 107967.
81. Zherebtsov E. Diagnosis of skin vascular complications revealed by time-frequency analysis and laser Doppler spectrum decomposition [Text] / E. Zherebtsov, I. Kozlov, **V. Dremin**, A. Bykov, A. Dunaev, I. Meglinski // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2023. – Vol. 70. – № 1. – P. 3-14.
82. Golubova N. Time-frequency analysis of laser speckle contrast for transcranial assessment of cerebral blood flow [Text] / N. Golubova, E. Potapova, E. Seryogina, **V. Dremin** // *Biomedical Signal Processing and Control*. – 2023. – Vol. 85. – P. 104969.
83. **Dremin V.** Lesion detection and analysis using optical imaging [Text] / **V. Dremin** // *Diagnostics*. – 2023. – Vol. 13. – № 9. – P. 1565.
84. Zharkikh E.V. Sampling volume assessment for wearable multimodal optical diagnostic device [Text] / E.V. Zharkikh, **V.V. Dremin**, A.V. Dunaev // *Journal of Biophotonics*. – 2023. – Vol. 16. – № 9. – P. e202300139.

85. Bryanskaya E.O. Digital diaphanoscopy of maxillary sinus pathologies supported by machine learning [Text] / E.O. Bryanskaya, V.V. Dremin, V.V. Shupletsov, A.V. Kornae, M.Yu. Kirillin, A.V. Bakotina, D.N. Panchenkov, K.V. Podmasteryev, V.G. Artyushenko, A.V. Dunaev // *Journal of Biophotonics*. – 2023. – Vol. 16. – № 9. – P. e202300138.
86. Makovik I. Efficiency of direct photoinduced generation of singlet oxygen at different wavelengths, power density and exposure time of laser irradiation [Text] / I. Makovik, A. Vinokurov, A. Dunaev, E. Rafailov, **V. Dremin** // *Analyst*. – 2023. – Vol. 148. – № 15. – P. 3559-3564.
87. **Dremin V.** Direct laser-induced singlet oxygen in biological systems: application from *in vitro* to *in vivo* [Text] / **V. Dremin**, O. Semyachkina-Glushkovskaya, E. Rafailov // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2023. – Vol. 29. – № 4. – P. 7200911.
88. Galiakhmetova D. Ultra-short laser pulses propagation through mouse head tissues: experimental and computational study [Text] / D. Galiakhmetova, **V. Dremin**, A. Koviarov, D. Stoliarov, N. Ngum, R.C. Murugesan, R. Parri, S. Sokolovski, E.U. Rafailov // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2023. – Vol. 29. – № 4. – P. 7200311.
89. Potapova E.V. Detection of NADH and NADPH levels *in vivo* identifies shift of glucose metabolism in cancer to energy production [Text] / E.V. Potapova, E.A. Zhrebtsov, V.V. Shupletsov, **V.V. Dremin**, K.Y. Kandurova, A.V. Mamoshin, A.Y. Abramov, A.V. Dunaev // *The FEBS Journal*. – 2024. – Vol. 291. – № 12. – P. 2674-2682.
90. Makovik I. Vascular targeted optical theranostics: enhanced photoplethysmography imaging of laser-induced singlet oxygen effects [Text] / I. Makovik, M. Volkov, L. Eratova, **V. Dremin** // *Optics Letters*. – 2024. – Vol. 49. – № 5. – P. 1137-1140.
91. **Dremin V.** Incremental residual polarization caused by aging in human skin [Text] / **V. Dremin**, E. Zharkikh, I. Lopushenko, Z. Marcinkevics, A. Bykov, I. Meglinski // *Journal of Biomedical Optics*. – 2024. – Vol. 29. – № 5. – P. 052912.
92. Kalyuzhnaya Y.N. An alternative photothrombotic model of transient ischemic attack [Text] / Y.N. Kalyuzhnaya, A.K. Logvinov, S.G. Pashkevich, N.V. Golubova, E.S. Seryogina, E.V. Potapova, **V.V. Dremin**, A.V. Dunaev, S.V. Demyanenko // *Translational Stroke Research*. – 2024.
93. Khalid A. Dual-mode OCT/fluorescence system for monitoring the morphology and metabolism of laser-printed 3D full-thickness skin equivalents [Text] / A. Khalid, **V. Dremin**, A. El-Tamer, M. Surnina, C. Lancelot, E. Rafailov, S. Sokolovski // *Biomedical Optics Express*. – 2024. – Vol. 15. – № 11. – P. 6299-6312.
94. Potapova E.V. *In vivo* time-resolved fluorescence detection of liver cancer supported by machine learning [Text] / E.V. Potapova, V.V. Shupletsov, **V.V. Dremin**, E.A. Zhrebtsov, A.V. Mamoshin, A.V. Dunaev // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2024. – Vol. 56. – № 10. – P. 836-844.
95. Eratova L. Effects of 1267 nm illumination on microcirculation regulatory mechanisms [Text] / L. Eratova, I. Makovik, **V. Dremin** // *Journal of Biophotonics*. – 2024. – P. e202400296.
96. **Dremin V.** Blood flow dynamics in the arterial and venous parts of the capillary [Text] / **V. Dremin**, M. Volkov, N. Margaryants, D. Myalitsin, E. Rafailov, A. Dunaev // *Journal of Biomechanics*. – 2025. – Vol. 179. – P. 112482.
97. Golubova N. Effect of thinned-skull cranial window on monitoring cerebral blood flow using laser speckle contrast imaging [Text] / N. Golubova, I. Ryzhkov, K. Lapin, E. Seryogina, A. Dunaev, **V. Dremin**, E. Potapova // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2025. – Vol. 31. – № 4. – P. 7000108.
98. Galiakhmetova D. Nonlinear optical properties of photosensory core modules of monomeric and dimeric bacterial phytochromes [Text] / D. Galiakhmetova, A. Koviarov, **V. Dremin**, T. Gric, D. Stoliarov, A. Gorodetsky, M. Maimaris, D. Shcherbakova, M. Balaban, V. Verkhusha, S. Sokolovski, E. Rafailov // *Protein Science*. – 2025. – Vol. 34. – № 5. – P. e70118.
99. Eratova L. Singlet oxygen detection: A review of recent advances [Text] / L. Eratova, E. Zharkikh, E. Rafailov, **V. Dremin** // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2025. – Vol. 11. – № 2. – P. 020201.
100. Chiang J. Low-level light therapy alone versus combination therapy with intense pulsed light in the treatment of dry eye disease with meibomian gland dysfunction: A randomised paired-eye and mechanism of action trial [Text] / J. Chiang, **V. Dremin**, D. Sempa, H. Lama, P. Tinga, M. Ayaza, J. Wolffsohn //

Contact Lens and Anterior Eye. – 2025. – Vol. 11. – № 2. – P. 102456.

101. Stelmashchuk O. Laser-generated singlet oxygen is protective against beta-amyloid neurotoxicity [Text] / O. Stelmashchuk, **V. Dremin**, A. Abramov // Life Sciences. – 2025. – Vol. 378. – № 2. – P. 123823.

#### Монографии:

102. Жеребцов Е.А. Флуоресцентная диагностика митохондриальной функции в эпителиальных тканях *in vivo*: монография [Текст] / Е.А. Жеребцов, **В.В. Дрёмин**, А.И. Жеребцова, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев. – Орел: ОГУ имени И.С. Тургенева, 2018. – 107 с.

103. Potapova, E. Multimodal optical diagnostic in minimally invasive surgery [Text] / E. Potapova, **V. Dremin**, E. Zherebtsov, A. Mamoshin, A. Dunaev // Multimodal Optical Diagnostics of Cancer. – Springer International Publishing, 2020. – P. 397-424.

104. Vinokurov A.Y. Assessment of mitochondrial membrane potential and NADH redox state in acute brain slices [Text] / A.Y. Vinokurov, **V.V. Dremin**, G.A. Piavchenko, O.A. Stelmashchuk, P.R. Angelova, A.Y. Abramov // Mitochondrial Medicine: Volume 2: Assessing Mitochondria. – Springer International Publishing, 2021. – P. 193-202.

105. **Dremin V.** Hyperspectral imaging of diabetes mellitus skin complications [Text] / **V. Dremin**, E. Zherebtsov, A. Popov, I. Meglinski, A. Bykov // Biomedical Photonics for Diabetes Research. – CRC Press, 2022. – P. 177-195.

106. Zharkikh E. Fluorescent technology in the assessment of metabolic disorders in diabetes [Text] / E. Zharkikh, **V. Dremin**, A. Dunaev // Biomedical Photonics for Diabetes Research. – CRC Press, 2022. – P. 197-212.

107. **Dremin V.** *In vivo* fluorescence measurements of biological tissue viability [Text] / **V. Dremin**, S. Sokolovski, E. Rafailov, E. Zharkikh, E. Potapova, A. Dunaev, E. Zherebtsov // Advanced Photonics Methods for Biomedical Applications. – CRC Press, 2023. – P. 1-37.

#### Патенты и свидетельства о госрегистрации программ:

108. **Дрёмин В.В.** Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2017618099. Программа для моделирования спектров флуоресценции биологических тканей / **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, М.: РосПатент; Заявитель и правообладатель: Дрёмин В.В. № 2017614797; заявлено 25.05.2017; дата регистрации 21.07.2017.

109. Патент № 2663938 Российская Федерация, СПК А61В 5/02. Устройство для оптической диагностики кровоснабжения и жизнеобеспечения биологических тканей / **В.В. Дрёмин**, И.Н. Маковик, Е.А. Жеребцов, А.И. Жеребцова, Е.В. Жарких, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев; заявл. 25.05.2017; опубл. 13.08.2018, Бюл. № 23.

110. Патент № 2688811 Российская Федерация, МПК А61В 5/1455. Способ диагностики микроциркуляторно-тканевых нарушений в стопах пациентов с сахарным диабетом / **В.В. Дрёмин**, Е.В. Потапова, Е.В. Жарких, И.Н. Маковик, Е.А. Жеребцов, А.И. Жеребцова, А.В. Дунаев; заявл. 15.11.2017; опубл. 15.05.2019 Бюл. № 14.

111. Патент № 2709830 Российская Федерация, МПК А61В 6/00, G01N 21/47. Устройство флуоресцентно-отражательной спектроскопии для диагностики очаговых и диффузных новообразований при проведении тонкоигльной пункционно-аспирационной биопсии / А.В. Мамошин, Е.В. Потапова, **В.В. Дрёмин**, Е.А. Жеребцов, К.Ю. Кандурова, А.В. Дунаев – заявл. 21.12.2018; опубл. 23.12.2019 Бюл. № 36.

112. Михайлова М.А. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ №2020619474 Программный модуль контроля для спекл-контрастной визуализации в режиме реального времени / **Дрёмин В.В.**, Козлов И.О., Михайлова М.А., Сдобнов А.Ю. М.: РосПатент; – заявл. 31.07.2020; опубл. 31.07.2020.

113. Шуплецов В.В. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ №2020667760 Программный модуль для аппроксимации и анализа скорости изменения временного ряда интенсивности флуоресценции / Шуплецов В.В., **Дрёмин В.В.**, М.: РосПатент; – заявл. 18.12.2020; опубл. 29.12.2020.

114. Корнаева Е.П. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ №2021618101 Программа распознавания скорости течения физиологических жидкостей в капиллярах на основе данных лазерной спекл-контрастной визуализации / Корнаева Е.П., Стебаков И.Н., Дрёмин В.В., М.: РосПатент; – заявл. 04.05.2021; опубл. 24.05.2021.

115. Стебаков И.Н. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ №2022616835 Программа распознавания скорости течения физиологических жидкостей в капиллярах на основе данных лазерной спекл-контрастной визуализации / Стебаков И.Н., Корнаева Е.П., **Дрёмин В.В.**, М.: РосПатент; – заявл. 30.03.2022; опубл. 15.04.2022.
116. Горюнов И.А. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ №2022660839 Расширенный программный модуль для предварительной математической обработки спектра света с последующей визуализацией спектральных характеристик. / Горюнов И.А., Приземин В.Н., Козлов И.О., **Дрёмин В.В.**, М.: РосПатент; – заявл. 28.03.2022; опубл. 10.06.2022.
117. Патент № 2783111 Российская Федерация, МПК А61N 5/067, А61В 18/20. Способ защиты нейронов при нейродегенеративных заболеваниях и устройство для его осуществления / Стельмашук О.А., Новикова И.Н., Потапова Е.В., **Дрёмин В.В.**, Абрамов А.Ю., Жеребцов Е.А., Дунаев А.В.– заявл. 28.07.2021; опубл. 09.11.2022 Бюл. № 31.
118. Брянская Е.О. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2023660330 Программный модуль для количественного анализа изображений цифровой диафаноскопии верхнечелюстных пазух носа (диафаногамм) / Е.О. Брянская, Р.Ю. Гнеушев, **В.В. Дрёмин**, А.В. Дунаев, М.: РосПатент; – заявл. 16.03.2023; опубл. 19.05.2023.
119. Кандурова К.Ю. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2023666425 Программный модуль для управления мультимодальной установкой регистрации спектральных характеристик биологической ткани / К.Ю. Кандурова, И.А. Горюнов, В.Н. Приземин, В.В. Шуплецов, Н.В. Голубова, **В.В. Дрёмин**, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев. – М.: РосПатент; – заявл. 18.07.2023; опубл. 01.08.2023.
120. Патент № 2823746 Российская Федерация, МПК А61В 17/24, А61В 1/04. Устройство цифровой диафаноскопии для диагностики патологий верхнечелюстных пазух / Брянская Е.О., **Дрёмин В.В.**, Дунаев А.В., Артюшенко В.Г. – заявл. 23.05.2023; опубл. 29.07.2024 Бюл. № 22.
121. Патент № 2831912 Российская Федерация, МПК А61В 1/313, СПК А61В 1/313. Устройство для интраоперационного определения нарушения микроциркуляции крови в тканях органов брюшной полости при проведении лапароскопических вмешательств / Голубова Н.В., Потапова Е.В., **Дрёмин В.В.**, Мамошин А.В., Дунаев А.В. – заявл. 26.06.2023; опубл. 16.12.2024 Бюл. № 35.
122. Патент № 2832375 Российская Федерация, МПК А61В 1/233. Способ диагностики верхнечелюстного синусита у беременных пациенток / Овчинников А.Ю., Мирошниченко Н.А., Бакотина А.В., Николаева Ю.О., **Дрёмин В.В.**, Дунаев А.В., Брянская Е.О., Баранов А.В., Панченков Д.Н., Астахов Д.А. – заявл. 08.12.2023; опубл. 23.12.2024 Бюл. № 36.
123. Стельмашук О.А. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2025614962 Программа для расчета параметров лазерного излучения / О.А. Стельмашук, Л.В. Ератова, **В.В. Дрёмин**. – М.: РосПатент; – заявл. 20.11.2024; опубл. 27.02.2025.

Подписано в печать 01.12.2025 г.  
Формат 60x84 1/16. Усл. печ. л. 3,2.  
Тираж 100 экз. Заказ № 7.

---

Отпечатано с готового оригинал-макета на полиграфической базе  
ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева»  
302026 г. Орёл, ул. Комсомольская, 95.