

На правах рукописи



Генин Вадим Дмитриевич

**Особенности оптического просветления биологических тканей в задачах
плазмонно-резонансной фототермической терапии опухолей**

Специальность 1.5.2. - Биофизика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Саратов – 2022

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Научные руководители:

Башкатов Алексей Николаевич, к.ф.-м.н., доцент кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»;

Тучин Валерий Викторович, член-корреспондент РАН, д.ф.-м.н., профессор, зав. кафедрой оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского».

Официальные оппоненты:

Масленникова Анна Владимировна, д.м.н., доцент, зав. кафедрой онкологии, лучевой терапии, лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород;

Братченко Иван Алексеевич, к.ф.-м.н., доцент кафедры лазерных и биотехнических систем ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», г. Самара.

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», г. Санкт-Петербург.

Защита диссертации состоится «22» июня 2022 г. в 17:00 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 имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» и на сайте <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-06/kandidatskaya-dissertaciya-genina-vadima-dmitrievicha>

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

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


Генина Элина Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Среди многочисленных задач, стоящих перед современной медициной в XXI веке, особое место занимает борьба с онкологическими заболеваниями. Так, по данным ВОЗ, ежегодная смертность от онкологических заболеваний составляет более 9 млн человек [1]. В настоящее время, наряду со многими, уже ставшими традиционными, методами лечения, такими как: хирургия, химиотерапия, фотодинамическая терапия, лучевая терапия и т. д., все более широкое применение находят методы, основанные на использовании современных нанотехнологий и, в частности, лазерной плазмонно-резонансной фототермической терапии (ПФТТ) [2-4]. Действие ПФТТ основано на накоплении плазмонно-резонансных наночастиц в тканях опухоли. Такие наночастицы, поглощая излучение с соответствующей длиной волны, способны генерировать тепловую энергию в локальном объеме [5], что позволяет снизить дозу лазерного излучения и уменьшить ущерб, причиняемый окружающим опухоль здоровым тканям. В настоящее время для ПФТТ применяются наносферы, нанокубики, нанозвезды, нанокompозиты, наноконтейнеры и т. д. [6]. Недавно в целом ряде работ [4, 7, 8] была продемонстрирована высокая эффективность для ПФТТ золотых наностержней (ЗНС) благодаря их продолжительному времени жизни в кровотоке, коллоидной стабильности, легкой настройке плазмонного резонанса путем изменения соотношения размеров наностержней [9] и эффективному преобразованию светового излучения в тепловую энергию [7]. Экспериментальные исследования, выполненные в работах [3, 4, 8], демонстрируют эффективность использования наночастиц с длиной волны возбуждения плазмонного резонанса равной приблизительно 800 нм, поскольку оно достаточно глубоко проникает вглубь ткани и обеспечивает эффективную фототермическую терапию.

Успешная фототерапия опухолей, сенсibilизированных наночастицами, требует решения целого ряда задач, связанных с выбором протокола однократного или многократного введения наночастиц, вводимой дозы и распределением частиц опухоли, а также дозы облучения [10]. Очевидно, что знание оптических параметров тканей опухоли является ключевым моментом как для оценки дозы облучения (т.е. поглощенной энергии), так и для оценки освещенности тканей опухоли в курсе фототермической или фотодинамической терапии, что в свою очередь позволяет корректно оценить количество лазерного излучения, доставленного внутрь опухоли, и обеспечить достаточный нагрев тканей, расположенных на различных глубинах, поскольку в ряде случаев отмечается повторный рост опухоли после фотодинамического и

фототермического подавления ее роста за счёт сохранения даже небольшого количества живых раковых клеток на периферии опухоли, не подвергнутой обработке [10, 11].

Известны многочисленные исследования оптических параметров различных опухолевых тканей, достаточно широкий обзор работ представлен в [12]. Большой интерес также представляют оптические параметры онкологических моделей (перевитых животным опухолей, полученных из клеточных линий или опухолей) [13, 15]. В первом приближении структурно развитая трансплантированная опухоль достаточно большого размера может быть представлена в виде слоистой сферы, основными слоями которой являются: капсула опухоли; периферическая часть опухоли, содержащая основные кровеносные сосуды; и некротическое ядро. Однако ранее исследования оптических параметров проводились на цельной ткани опухоли, без ее дифференциации по слоям. Для решения задачи оптимизации лазерного воздействия на опухолевые ткани необходима информация о степени нагрева её внутренних слоёв *in vivo* при различных способах введения суспензии наночастиц. Эффективность теплового воздействия на опухолевые ткани на разной глубине можно оценить путем сравнения оптических параметров облученной и необлученной ткани.

Для снижения повреждения здоровых тканей над поверхностью опухоли во время ПФТТ возможно использование иммерсионного оптического просветления биотканей, заключающейся в выравнивании показателей преломления компонентов ткани путем частичного замещения внутритканевой жидкости биосовместимым оптическим просветляющим агентом (ОПА) [16, 17].

Целью исследования является разработка биофизических основ метода лазерной плазмонно-резонансной фототермической терапии модельных опухолей в комбинации с иммерсионным оптическим просветлением кожи.

Достижение указанной цели основывалось на решении следующих **задач**:

1. Определение температурной зависимости ПФТТ от дозировки и способа введения в модельные опухоли суспензии золотых наностержней.
2. Определение оптических параметров слоёв модельной опухоли в интактном состоянии и при различной температуре нагрева биотканей под действием ИК лазерного излучения при проведении ПФТТ.
3. Выявление механизмов и определение эффективных коэффициентов диффузии и эффективности оптического просветления кожи с помощью растворов глицерина различных концентраций.
4. Повышение эффективности оптического просветления кожи в процессе ПФТТ.

5. Исследование влияния оптического просветления кожи на оптические параметры биотканей, подвергшихся гипертермии в результате ПФТТ.

Научная новизна

В работе впервые выполнена оценка оптических параметров различных слоёв модельной перевитой опухоли альвеолярного рака печени – холангиокарциномы. Впервые измерены оптические параметры слоёв опухолевой ткани, кожи и подкожной соединительной ткани после применения различных способов введения и доз ЗНС и проведения ПФТТ. Впервые проведено комплексное исследование изменения оптических, геометрических и весовых характеристик образцов кожи *ex vivo*, в результате которого выявлены механизмы диффузии и выполнена оценка эффективности оптического просветления кожи под действием растворов глицерина с концентрацией 20-100%. Предложена методика ПФТТ с использованием ЗНС и лазерного излучения (808 нм) в комбинации с иммерсионным оптическим просветлением кожи раствором глицерина.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы обусловлена важностью полученных результатов для уточнения существующих и развития новых моделей распространения лазерного излучения и тепла при проведении ПФТТ. Полученные результаты имеют практическую значимость, поскольку способствуют развитию направления в медицине, связанного с повышением эффективности и безопасности лечения онкологических заболеваний.

Результаты и положения, выносимые на защиту

1. Иммерсионное оптическое просветление кожи в процессе лазерной плазмонной фототермической терапии способствует уменьшению повреждения кожи за счёт снижения рассеяния верхних слоёв биоткани и, соответственно, снижения поглощения энергии в этих слоях.
2. Методика проведения ПФТТ подкожной перевитой модельной опухоли с применением техники оптического просветления биоткани включает два этапа: 1) нанесение оптического просветляющего агента на поверхность кожи и облучение её низкоинтенсивным ИК лазерным излучением с длиной волны, лежащей в области плазмонного резонанса используемых наночастиц, до достижения температуры нагрева ткани $41 \pm 1^\circ\text{C}$ с целью повышения скорости диффузии агента; 2) увеличение интенсивности лазерного излучения для реализации фототермолиза опухоли.
3. Кинетика изменения оптических, геометрических и весовых характеристик кожи крыс *ex vivo* под действием водных растворов глицерина с концентрациями 20-100% является в основном двухскоростным процессом. Скорости и направление изменения значений параметров определяются

комбинацией процессов дегидратации и набухания биоткани под действием глицерина.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность описанных в диссертационном исследовании результатов, сделанных выводов, обсуждений и заключения подтверждается: использованием современного научно-исследовательского оборудования и применением апробированных методик расчёта и моделирования; объёмом использованного в работе материала: 67 белых лабораторных крыс, 1 штамм перевиваемых опухолей в экспериментах *in vivo*, 200 образцов кожи белых лабораторных крыс в экспериментах *ex vivo* и применением традиционных статистических методов обработки результатов; воспроизводимостью экспериментальных и расчетных данных, а также их соответствием результатам, полученным другими авторами; опубликованием результатов в рецензируемых российских и международных научных журналах.

Работы, изложенные в диссертации, осуществлялись в соответствие с программами научно-исследовательских работ, поддерживаемых грантами: РФФИ №№ 18-52-16025 НЦНИЛ_а, 19-32-90224 Аспиранты, 20-52-56005 Иран_т, Фонда содействия инновациям УМНИК-19 (г) / Хелснет-НТИ – 2019 № 15929ГУ/2020 от 07.23.2020 (код 0059878, заявка У-65096), Правительства Российской Федерации № 220 от 09 апреля 2010 года (Соглашение № 075-15-2021-615 от 04 июня 2021 года).

Основные результаты и положения диссертации были представлены, доложены и обсуждены на международных и всероссийских конференциях: International Annual Conference «Saratov Fall Meeting», Saratov, Russia, 2013-2021; XXXII Международная научная конференция «Математические методы в технике и технологиях – ММТТ-32», Саратовская школа молодых ученых – Конкурс УМНИК Саратовской области, Саратов, Россия, 2019; Fundamentals of Laser Assisted Micro- & Nanotechnologies (FLAMN-19), International Symposium, St. Petersburg, Russia, 2019; 3rd School on Advanced Fluorescence Imaging Methods, ADFLIM, Saratov, Russia, 2018; SPIE-OSA European Conference on Biomedical Optics, Munich, Germany, 2015; V International Symposium: Topical Problems of Biophotonics 2015, Nizhny Novgorod, Russia, 2015; 5th International Scientific Conference «New Operational Technologies», Tomsk, Russia, 2015; Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, 2014, 2015, 2017-2021; IX Съезд Российского фотобиологического общества. Всероссийская конференция «Современные проблемы фотобиологии», пос. Шепси, Россия, 2021; Пятая всероссийская научная школа-семинар «Взаимодействие сверхвысокочастотного,

терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами», Саратов, Россия, 2018; Всероссийская молодежная научная школа-конференция «Практическая биофизика - 2015», Саратов, Россия, 2015; Ежегодная всероссийская Школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2014», Саратов, Россия, 2014.

Личный вклад автора

В рамках выполнения диссертационного исследования автор принимал непосредственное участие во всех этапах проведенных исследований: от реализации поставленных научным руководителем задач до обсуждения результатов и написания статей. Автор лично принимал участие в проведении экспериментов по облучению опухолей *in vivo* и оптическому просветлению *ex vivo*; измерении оптических, геометрических и весовых параметров образцов; аналитической и статистической обработке полученных результатов; интерпретации результатов исследования; изложении полученных фактических данных в материалах диссертационной работы, статьях и главе монографии; подготовке докладов на научно-практических конференциях.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 11 работ в изданиях, рекомендованных ВАК, и зарубежных изданиях, индексируемых *Scopus* и *Web of Science*. Опубликована глава в зарубежной монографии издательства *CRC Press*.

Структура и объем диссертации

Диссертация включает введение, обзорную главу, 3 главы с изложением полученных результатов, заключение, в котором обсуждаются результаты, подводятся итоги выполненной работы и даны перспективы развития. Материал изложен на 127 страницах печатного текста, содержит 10 таблиц и иллюстрирован 27 рисунками. Список литературы содержит 304 источника.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обосновывается актуальность исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы, формируется цель, ставятся задачи, излагается научная новизна и практическая значимость представляемой работы.

Глава 1 представляет собой обзор научной литературы по изучаемой проблеме. Описываются история развития метода гипертермии опухолей, его слабые стороны (токсичность, низкая селективность), современные методы повышения его эффективности (применение лазерных технологий, плазмонно-резонансных наночастиц, техники оптического просветления биотканей), а

также данные об оптических параметрах биотканей (печени, кожи), их зависимости от теплового воздействия и методике их оценки.

Глава 2 посвящена исследованиям влияния дозы и способа введения ЗНС в опухоль и степени васкуляризации опухоли на температуру нагрева биотканей и их оптические параметры. В разделе 2.1.1 описана методика исследования зависимости температуры нагрева опухолей от дозировки и способа введения золотых наностержней (ЗНС). Объектом исследования стали 40 лабораторных беспородных крыс-самцов с массой тела в среднем 200 г, полученных из вивария Центра коллективного пользования СГМУ им. В.И. Разумовского. По степени васкуляризации опухоли животные были разделены на две партии: 1) со слабой васкуляризацией опухолей; 2) с достаточной васкуляризацией (оценка степени васкуляризации опухоли была проведена стандартным методом [18]). Внутри этих партий животные были случайным образом разделены на шесть и четыре группы соответственно (всего 10 групп, по 4 крысы в каждой группе) в зависимости от вводимой дозы ЗНС (Таблица 1).

Таблица 1. Описание групп животных, участвовавших в экспериментах.

Номер группы	Режим введения суспензии ЗНС	Полная доза суспензии ЗНС, мкг
<u>Партия 1. Слабая васкуляризация опухолей</u>		
1	Облучение без введения ЗНС	-
2	Однократное введение (1 мл, 400 мкг/мл) за 24 часа до облучения	400
3	Двукратное введение (по 1 мл, 400 мкг/мл) за 48 и 24 часа до облучения	800
4	Трехкратное введение (по 1 мл, 400 мкг/мл) за 72, 48 и 24 часа до облучения	1200
5	Однократное введение (1 мл, 800 мкг/мл) за 48 часов до облучения	800
6	Однократное введение (1 мл, 800 мкг/мл) за 24 часа до облучения	800
<u>Партия 2. Достаточная васкуляризация опухолей</u>		
7	Облучение без введения ЗНС	-
8	Однократное введение (1 мл, 400 мкг/мл) за 24 часа до облучения	400
9	Двукратное введение (по 1 мл, 400 мкг/мл) за 48 и 24 часа до облучения	800
10	Трехкратное введение (по 1 мл, 400 мкг/мл) за 72, 48 и 24 часа до облучения	1200

Золотые наностержни (ЗНС), использованные в экспериментах, были синтезированы и функционализированы тиолированным полиэтиленгликолем с применением метода, описанного в работах [5, 19]. Геометрические параметры ЗНС составили 41 ± 8 нм в длину и 10 ± 2 нм в диаметре. Перед лазерным

облучением шерсть с поверхности кожи над опухолью удалялась. Для облучения опухоли использовался диодный лазер с длиной волны излучения 808 нм. Облучение проводилось в течение 15 мин при мощности 2 Вт. Плотность мощности составляла около 2.3 Вт/см². Температурный контроль нагрева опухоли проводился с помощью ИК-визуализатора с интервалом 30 с.

В разделе 2.1.2 приводится анализ данных, полученных в описанном выше исследовании. Кинетика нагрева экспериментальных опухолей и граничащих с ними тканей представлена на рисунке 1.

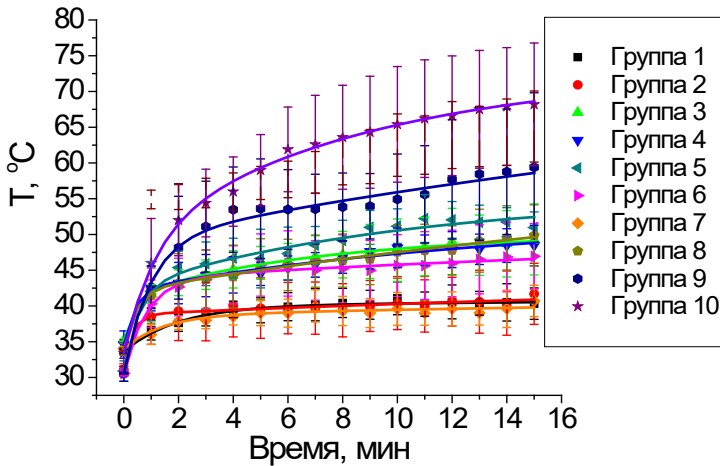


Рисунок 1 – Кинетика нагрева экспериментальных опухолей и граничащих с ними тканей излучением ближнего ИК спектрального диапазона.

Для анализа кинетики нагрева, представленной на рисунке 1, было использовано эмпирическое уравнение [20]:

$$T(t) = A_1 \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) \right) + A_2 \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right) \right) + T_0, \quad (1)$$

где T_0 - температура в начальный момент времени (до нагрева), среднее значение - 32.9 ± 1.7 °С, A_1 и A_2 - эмпирические константы, а τ_1 и τ_2 - константы, характеризующие скорость нагрева кожи и опухоли. Первый член характеризует быстрый процесс нагрева, поэтому он был отнесён к кинетике нагрева области локализации ЗНЧ в опухоли, а второй член характеризует более медленный нагрев и, таким образом, описывает кинетику нагрева окружающих тканей.

Анализ экспериментальных данных и параметров аппроксимации показал, что при двукратном (группа 9) и трехкратном (группа 10) введении дозы суспензии с 400 мкг ЗНС температура, необходимая для поражения раковых клеток достигается.

В разделе 2.2.1 описана методика определения оптических параметров различных слоев опухоли. Объектом исследования стали 16 лабораторных беспородных крыс-самцов с аналогичной моделью холангиокарциномы. Когда опухоли достигли объема около 3 см³, животные были разделены случайным образом на две партии. В контрольной партии 6 крыс не подвергались введению

суспензии ЗНС и лазерному нагреву, а одной крысе была проведена прямая внутриопухолевая инъекция суспензии ЗНС (общая доза 1200 мкг ЗНС) за 3 часа до измерений оптических параметров слоев опухоли, однако лазерного нагрева не проводилось. Остальные 9 крыс были включены в экспериментальную партию и были подвергнуты ПФТТ с введением суспензии ЗНС в различных режимах (двух- и трёхкратное внутривенное и однократное внутриопухолевое введение по 400 мкг) и последующему нагреву лазерным излучением. Облучение опухолей и температурный контроль происходили описанными в разделе 2.1.1 способами. После проведения ПФТТ животные выводились из эксперимента для проведения забора тканей самой опухоли (капсула, верхняя, центральная и нижняя части опухоли) и тканей над опухолью (кожа и подкожный слой). Для каждого образца в диапазоне длин волн 350-2250 нм регистрировались спектры полного пропускания и диффузного отражения при помощи спектрофотометра с интегрирующей сферой.

В разделе 2.2.2 описывается алгоритм вычисления оптических параметров (коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния) слоев опухоли.

В разделе 2.2.3 представлен анализ оптических свойств исследуемых опухолей из контрольной группы (6 крыс, не подвергнутых введению ЗНС и лазерному облучению) и группы животных, испытавших однократное внутриопухолевое введение суспензии ЗНС (всего 1200 мкг ЗНС) за 3 часа до снятия оптических параметров (1 крыса). В области локализации ЗНС наблюдалось увеличение поглощения ткани опухоли в спектральной области, соответствующей области максимума оптической плотности суспензии ЗНС (~800 нм).

В разделе 2.2.4 приведен анализ изменения оптических свойств слоев опухолей при различной температуре нагрева поверхности при ПФТТ. Животные из экспериментальной группы были объединены в 2 подгруппы по степени нагрева кожи над опухолью. В 1 подгруппе (2 крысы) усредненная максимальная температура кожи над опухолью составила $48.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$, в случае подгруппы 2 (4 крысы) - $54.9 \pm 1.4^\circ\text{C}$.

На рисунке 2 представлены спектры коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния различных слоев опухоли контрольной группы и двух подгрупп экспериментальной группы.

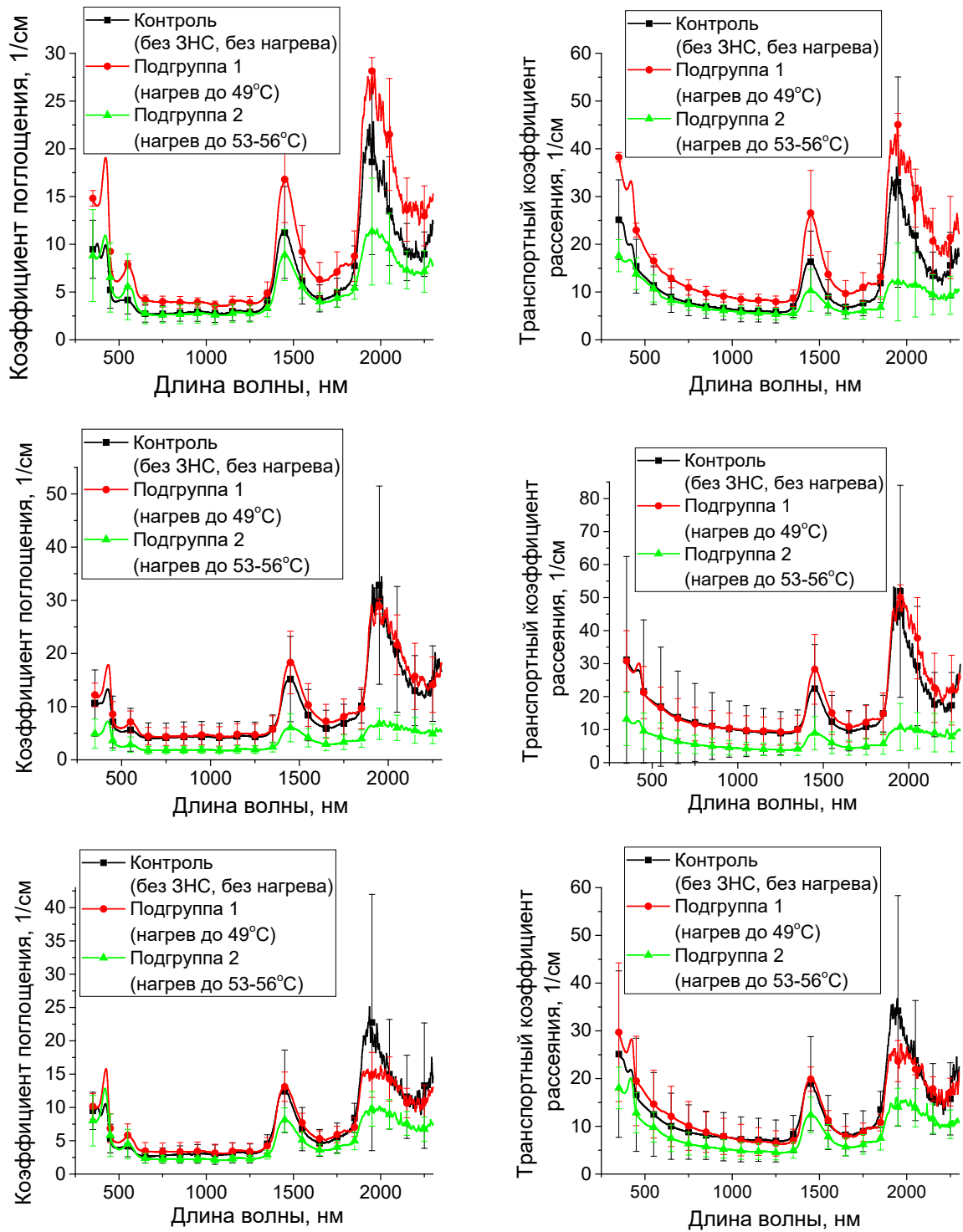


Рисунок 2 – Спектры коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния верхнего (а), среднего (б) и нижнего (в) слоев опухоли.

Для анализа были выбраны характерные полосы поглощения гемоглобина в области 422 нм и воды в области 1448 нм. Видно, что в зависимости от достигнутой максимальной температуры нагрева ткани в исследуемых подгруппах, происходят различные изменения амплитуды полос поглощения. В верхней части опухоли наблюдается увеличение амплитуды пика поглощения гемоглобина и воды в 1 подгруппе, что свидетельствует о кровоизлиянии в тело

опухоли из повреждённых микрососудов и развитии отёка за счёт перехода «связанной» воды в «свободное» состояние при повышении температуры. В центральной и нижней частях опухоли спектры поглощения в 1 подгруппе практически не отличаются от контрольных, что говорит о недостаточном нагреве глубоких слоёв опухоли. В то же время во 2 подгруппе наблюдается значительное снижение высоты пика поглощения воды, что связано с дегидратацией биоткани при достигнутой более высокой температуре.

Глава 3 посвящена влиянию иммерсионного оптического просветления на ткани кожи, поскольку для разработки и оптимизации методов оптического просветления кожи при проведении процедуры ПФТТ необходимо знание механизмов взаимодействия исследуемых иммерсионных агентов с кожей и значений эффективных коэффициентов диффузии.

В разделе **3.1.1** описывается методика исследования изменения структурных и оптических параметров тканей кожи под действием гиперосмотических иммерсионных агентов. Для исследования кинетики изменения каждого из оптических (коллимированное пропускание) и структурных (веса, толщины и площади) параметров в качестве экспериментальных объектов использовалось по 10 образцов кожи белых лабораторных крыс *ex vivo*, всего 270 образцов. В качестве ОПА использовались водные растворы глицерина с объемными концентрациями 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 и 100%. Предварительно с поверхности тела крыс с помощью крема-депилятора тщательно удалялся волосяной покров. При помощи хирургических ножниц вырезались участки кожи размером приблизительно 10×15 мм². Подкожный жировой слой, являющийся препятствием для проникновения гидрофильных веществ в дерму, тщательным образом удалялся. Толщина образцов измерялась микрометром. В связи с тем, что образцы кожи имели неправильную форму, для точного определения площади они помещались на тест-объект со шкалой и фотографировались с помощью цифровой камеры для последующего точного определения площади каждого из образцов по пикселям.

Полученные в процессе действия иммерсионных агентов временные зависимости толщины, веса и площади образцов кожи нормировались на значения, измеренные в начальный момент времени (т.е. до помещения кожи в раствор) и усреднялись по всем образцам. Затем экспериментальные данные аппроксимировались двухэкспоненциальным уравнением [21], первая часть которого описывает кинетику дегидратации ткани, а вторая – кинетику ее набухания.

Для измерения коллимированного пропускания использовалась установка, состоящая из источника излучения, оптических волокон, подводящих излучение к образцу биоткани и собирающих излучение, прошедшее через образец, кюветы

с образцом, спектрометра и компьютера. Кинетика изменения коллимированного пропускания регистрировалась путем последовательной записи спектров коллимированного пропускания в диапазоне 500-900 нм каждые 5-10 минут в течение 1.5-3 часов.

В разделе 3.1.2 приведены результаты анализа изменения структурных и оптических параметров тканей кожи под действием водных растворов глицерина. Из временных зависимостей коллимированного пропускания кожи крысы *ex vivo* под действием водных растворов глицерина следует, что эффект согласования показателей преломления, вызванный проникновением глицерина во внутритканевую жидкость и одновременным осмотическим обезвоживанием кожи, влечет увеличение коллимированного пропускания образцов.

Установлено, что для концентраций 20-40% кинетика коллимированного пропускания образцов кожи подразделяется на две стадии: на первой стадии наблюдается быстрое увеличение, а на второй - медленное снижение, а масса и объем образцов уменьшаются на первом этапе и увеличивается на втором. При более высоких концентрациях растворов двунаправленный процесс в период наблюдения сменяется однонаправленным: увеличением коллимированного пропускания и снижением значений остальных исследуемых параметров, что связано с преобладанием дегидратации ткани. Однако однонаправленный процесс дегидратации также является двухстадийным, характеризующимся разными скоростями; снижение скорости обусловлено увеличением извилистости водных путей при постепенном увеличении обезвоживания тканей. Таким образом, наблюдаемые в течение часа эффекты позволяют разделить механизмы взаимодействия исследуемых образцов и растворов на четыре группы: преимущественная иммерсия (20-40%), переход от преимущественной иммерсии к преимущественной дегидратации (50-60%), преимущественная дегидратация (70-90%) и дегидратация (100%).

В разделе 3.2 определены эффективные коэффициенты диффузии растворов глицерина в коже с применением модели свободной диффузии [22] и значения эффективности оптического просветления согласно формуле:

$$OC_{eff} = \frac{\mu_t(t=0) - \mu_t^{min}}{\mu_t(t=0)}, \quad (2)$$

где μ_t - коэффициент ослабления, вычисляемый при помощи закона Бугера-Ламберта из измеренной зависимости коллимированного пропускания от времени; μ_t^{min} - минимальное значение коэффициента ослабления. На рисунке 3 продемонстрированы значения эффективных коэффициентов диффузии и коэффициенты эффективности оптического просветления кожи крысы *ex vivo* в зависимости от концентрации раствора глицерина. Нелинейная

концентрационная зависимость эффективного коэффициента диффузии связана с переходом процесса преимущественной иммерсии при малых концентрациях глицерина в растворе к дегидратации образцов (100%), что подтверждает выводы раздела 3.1. Исследования продемонстрировали, что наибольшая эффективность оптического просветления принадлежит 60-70% растворам глицерина, в то время как при повышении и понижении концентрации эффективность просветления значительно снижается. Высокая эффективность оптического просветления под действием чистого глицерина объясняется значительным снижением толщины образцов при их дегидратации.

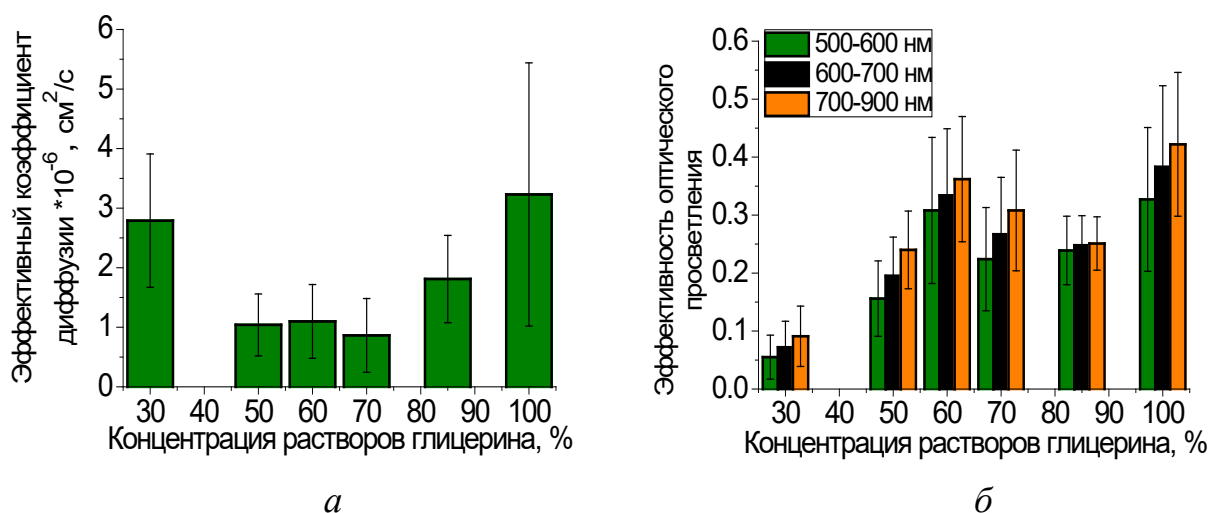


Рисунок 3 – Значения эффективного коэффициента диффузии (а) и эффективности оптического просветления кожи крысы *ex vivo* в трех различных спектральных диапазонах (б) в зависимости от концентрации раствора глицерина. Вертикальные линии соответствуют среднеквадратичному отклонению.

Глава 4 посвящена применению техники оптического просветления биотканей при фототермической терапии опухолей.

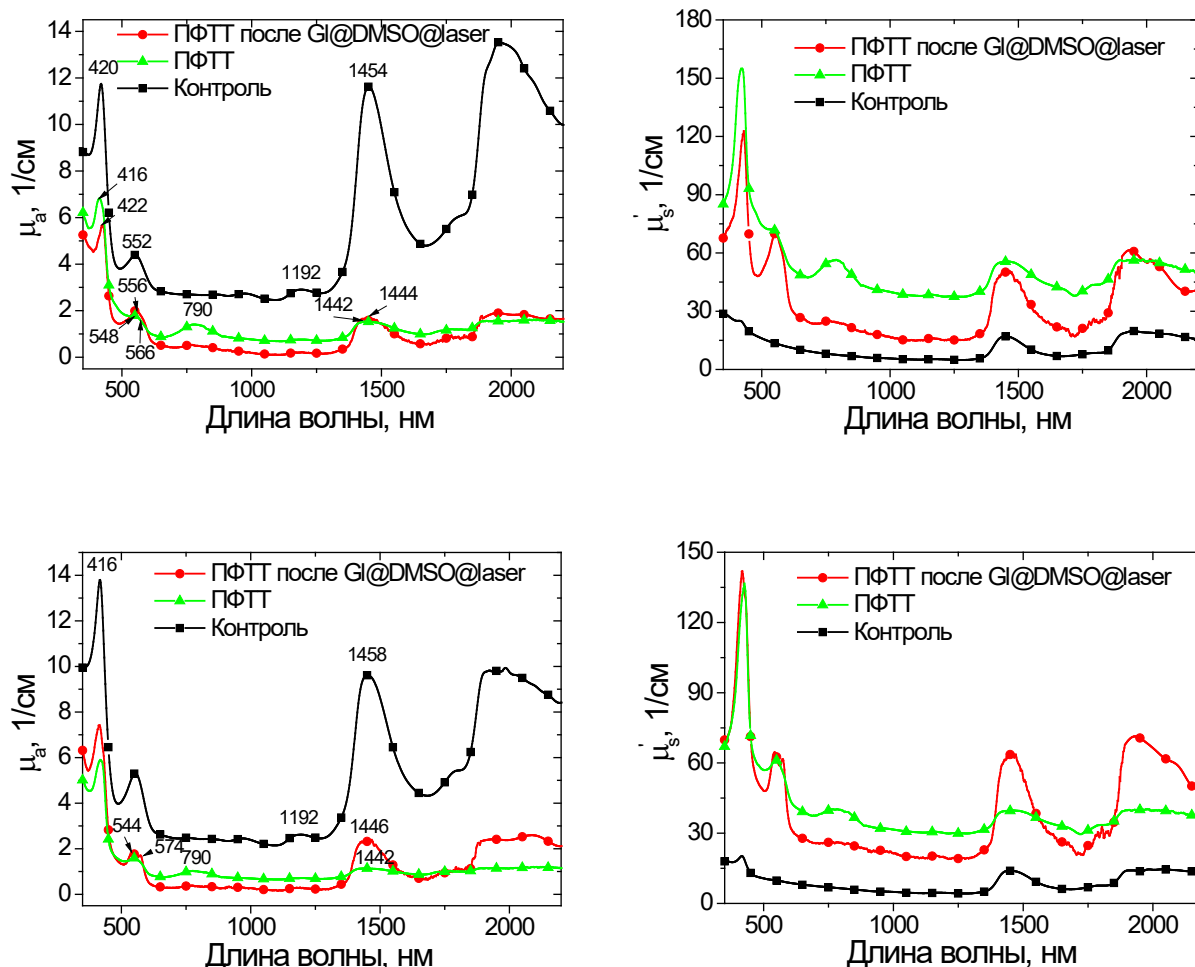
В разделе 4.1 описывается методика оптического просветления кожи при плазмонно-резонансной фототермической терапии опухолей. В экспериментах использовались 11 белых лабораторных беспородных крыс-самцов весом 160-200 г с подкожно привитыми экспериментальными моделями холангиокарциномы крысы. В качестве ОПА использовались 70%-ный водный раствор глицерина (G1) и смесь 70% глицерина, 10% ДМСО и 20% воды (G1@DMSO). ЗНС имели те же характеристики, что описаны в разделе 2.1.1.

В первой серии экспериментов исследовалось влияние различных стимулов по-отдельности и в сочетании (однокомпонентный ОПА – G1 и его комбинация с лазерным облучением G1@laser, двухкомпонентный ОПА – G1@DMSO и его комбинация с лазерным облучением G1@DMSO@laser, а также лазерное

облучение без ОПА) на оптические параметры кожи. В первой серии экспериментов участвовало 8 здоровых крыс. У каждого животного исследовалось по 2 участка кожи размером $1.5 \times 1.5 \text{ см}^2$, расположенные по бокам симметрично относительно позвоночника.

Во второй серии экспериментов участвовало три крысы с модельными опухолями. При достижении опухолями объема $\geq 3 \text{ см}^3$ двум крысам за час до эксперимента в трех точках опухоли вводилась суспензия ЗНС. Общий объём введённой суспензии составил 1 мл с концентрацией ЗНС 400 мкг/мл. Таким образом, концентрация ЗНС из расчета на объём опухоли составила около 133 мкг/см^3 . Перед процедурой ПФТТ на поверхность кожи над опухолью одной из крыс наносился ОПА Gl@DMSO объёмом 1 мл и проводилось лазерное облучение мощностью 1 Вт в течение 10 мин, при этом плотность мощности на поверхности составляла 1.15 Вт/см^2 . Затем мощность лазерного излучения увеличивалась до 2 Вт, и облучение продолжалось в течение ещё 15 мин, при этом плотность мощности на поверхности кожи составляла 2.3 Вт/см^2 . Температура поверхности кожи регистрировалась каждые 0.5 мин. У второй крысы опухоль облучалась без предварительного просветления кожи в течение 15 мин также при плотности мощности 2.3 Вт/см^2 . Третьей крысе лазерного облучения не проводилось. Затем все три крысы выводились из эксперимента. Опухоли удалялись и разрезались на следующие слои: кожа над опухолью, подкожный слой соединительной ткани, верхняя часть опухоли и нижняя часть опухоли. Спектры полного пропускания и диффузного отражения образцов измерялись в диапазоне длин волн 350-2200 нм.

В разделе 4.2 представлен анализ изменения оптических свойств кожи под действием иммерсионного оптического просветления и лазерного нагрева слоев опухоли при ПФТТ и иммерсионном оптическом просветлении. Максимальная температура нагрева ткани при ПФТТ с предварительным просветлением и без просветления составляла 58.8 и 61.1°C соответственно. На рисунке 4 представлены спектры коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния верхней и нижней частей контрольной опухоли, опухоли после ПФТТ с предварительным просветлением и без предварительного просветления. Результаты анализа экспериментальных данных показывают, что основные различия в поглощении вызваны дегидратацией тканей в области облучения, в то время как увеличение рассеяния вызвано разрушением микрососудов с последующей коагуляцией белков. Отмечено снижение термического повреждения кожи в результате проведения ПФТТ при предварительном оптическом просветлении с использованием иммерсионного агента и низкоинтенсивного лазерного облучения.



a

б

Рисунок 4 – Коэффициент поглощения (μ_a) и транспортный коэффициент рассеяния (μ_s') тканей контрольной опухоли, не подвергавшейся процедуре ПФТТ (Контроль), опухоли после ПФТТ с предварительным просветлением (ПФТТ после Gl@DMSO@laser) и ПФТТ без предварительного просветления (ПФТТ): верхней части опухоли (a) и нижней части опухоли (б).

В **Заключении** перечислены основные результаты и выводы работы:

1. Исследована температурная зависимость ПФТТ от дозировки и способа введения в модельные опухоли суспензии золотых наностержней. Получено, что максимальная температура нагрева достигается при трёхкратном внутривенном введении суспензии ЗНС с общей дозой 1200 мкг при достаточной васкуляризации опухоли, однако при этом наблюдается значительное повреждение кожи над опухолью. Более щадящим режимом по отношению к окружающим тканям является двукратное внутривенное введение суспензии ЗНС с общей дозой 800 мкг, обеспечивающее достаточный нагрев биоткани.

2. Получены значения оптических параметров слоёв модельной опухоли в интактном состоянии и при различной температуре нагрева под действием ИК лазерного излучения при проведении ПФТТ в спектральном диапазоне от 350 до 2200 нм. Различия между интактной и нагретой тканью проявляются в изменении амплитуды пиков поглощения гемоглобина и воды в тканях.
3. Исследованы механизмы оптического просветления кожи с помощью растворов глицерина различных концентраций в диапазоне 20-100%. Получено, что наблюдаемые в эффектах в коже можно разделить на четыре группы: преимущественная иммерсия (20-40%), переход от преимущественной иммерсии к преимущественной дегидратации (50-60%), преимущественная дегидратация (70-90%) и дегидратация (100%). Получены эффективные коэффициенты диффузии растворов глицерина в коже и значения эффективности оптического просветления. Максимальная эффективность оптического просветления кожи наблюдается при использовании 60-70% растворов глицерина.
4. Исследован процесс оптического просветления кожи под действием 70% водного раствора глицерина с добавлением 10% ДМСО для увеличения проницаемости эпидермиса в процессе нагрева низкоинтенсивным ИК лазерным излучением до $\sim 41^{\circ}\text{C}$.
5. Исследованы изменения оптических параметров верхней и нижней частей модельной опухоли, кожи и подкожной соединительной ткани, расположенных над опухолью, вызванные повышением температуры при проведении процедуры ПФТТ с предварительным оптическим просветлением кожи, в спектральном диапазоне от 350 до 2200 нм. Отмечено снижение термического повреждения кожи в результате проведения ПФТТ при предварительном оптическом просветлении с использованием иммерсионного агента и низкоинтенсивного лазерного облучения.
6. Разработана щадящая двухэтапная методика ПФТТ подкожной перевитой модельной опухоли состоящая из двух последовательных этапов: 1) нанесение оптического просветляющего агента на поверхность кожи и облучении её низкоинтенсивным ИК лазерным излучением до достижения температуры нагрева ткани $41 \pm 1^{\circ}\text{C}$ с целью повышения скорости диффузии агента; 2) увеличение интенсивности лазерного излучения для реализации фототермолиза опухоли.

Полученные результаты способствуют развитию метода ПФТТ в направлении уточнения существующих и развития новых моделей распространения лазерного излучения и тепла при проведении ПФТТ, что, в

свою очередь, будет способствовать повышению эффективности и безопасности лечения онкологических заболеваний.

Уточнение механизмов оптического просветления с помощью растворов глицерина различных концентраций способствует развитию метода оптического просветления кожи *in vivo*, которое может быть востребовано при выборе эффективных и безопасных иммерсионных агентов для использования их как в диагностических, так и терапевтических приложениях современной медицины, в частности, ПФТТ.

За помощь в исследованиях и обсуждении результатов автор выражает благодарность руководителю коллективного центра НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии СГМУ им. В.И. Разумовского д.б.н. А.Б. Бучарской, м.н.с. образовательно-научного института наноструктур и биосистем СГУ имени Н.Г. Чернышевского к.б.н. Н.А. Наволокину, главному врачу «Первой ветеринарной клиники» (г. Саратов) д.б.н. Г.С. Терентюку, зав. лабораторией нанобиотехнологии ИБФРМ РАН д.ф.-м.н., проф. Н.Г. Хлебцову, профессору кафедры оптики и биофотоники СГУ имени Н.Г. Чернышевского д.ф.-м.н. Э.А. Гениной, а также сотрудникам кафедры оптики и биофотоники, высказавшим полезные советы и замечания.

Основные результаты диссертационной работы изложены в публикациях:

Статьи в журналах и сборниках трудов ВАК, Scopus и Web of Science:

1. **Genin V.D.**, Bucharskaya A.B., Terentyuk G.S., Khlebtsov N.G., Navolokin N.A., Tuchin, V.V., Genina, E.A. Changes in Optical Properties of Model Cholangiocarcinoma after Plasmon-Resonant Photothermal Treatment // *Photonics*. - 2022. - Vol. 9. - P. 199; DOI: 10.3390/ photonics9030199 (Scopus, WoS)
2. Bucharskaya A., Khlebtsov N., Khlebtsov B., Maslyakova G., Navolokin N., **Genin V.**, Genina E., Tuchin V. Photothermal and photodynamic therapy of tumors with plasmonic nanoparticles: challenges and prospects // *Materials*. - Vol. 15. - No. 4. - P. 1606. - 2022; DOI: 10.3390/MA15041606 (Scopus, WoS)
3. **Genin V.D.**, Genina E.A., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. Glycerol effects on optical, weight and geometrical properties of skin tissue // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. - Vol. 14. - No. 5. - P. 2142006. - 2021; DOI: 10.1142/S17935458214200622142006-1 (Scopus, WoS)
4. Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н., Чехонацкая М.Л., Захарова Н.Б., Терентюк Г.С., Наволокин Н.А., Хлебцов Б.Н., Хлебцов Н.Г., **Генин В.Д.**, Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. К вопросу об эффективности плазмонной фототермической терапии экспериментальных опухолей // *Оптика и спектроскопия*. - Т. 128. - № 6. - С. 846-851, 2020; DOI: 10.21883/OS.2020.06.49419.34-20 (ВАК, Scopus, WoS)
5. **Genin V.D.**, Genina E.A., Bucharskaya A.B., Chekhonatskaya M.L., Terentyuk G., Tuchina D.K., Khlebtsov N.G., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. Study of Tumour and Surrounding Tissue Heating with Near-Infrared Radiation after the Injection of Gold Nanoparticles into the Tissue

// Journal of Biomedical Photonics & Engineering. - Vol. 4. – No. 1. – P. 010505. - 2018; DOI: 10.18287/JBPE18.04.010505 (BAK)

6. Bashkatov A.N., Berezin K.V., Dvoretzkiy K.N., Chernavina M.L., Genina E.A., **Genin V.D.**, Kochubey V.I., Lazareva E.N., Pravdin A.B., Shvachkina M.E., Timoshina P.A., Tuchina D.K., Yakovlev D.D., Yakovlev D.A., Yanina I.Yu., Zhernovaya O.S., Tuchin V.V. Measurement of tissue optical properties in the context of tissue optical clearing // Journal of Biomedical Optics. - Vol. 23. – No. 9. – P. 091416. - 2018; DOI: 10.1117/1 .JBO.23.9.091416 (Scopus, WoS)
7. **Genin V.D.**, Bucharskaya A.B., Genina E.A., Terentyuk G.S., Khlebtsov N.G., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. Optical properties of model cholangiocarcinoma tissues in the spectral range of 350-2250 nm in laser photothermolysis treatment // Proc. SPIE. - Vol. 11845. – P. 118450Z. - 2021; DOI: 10.1117/12.2590422 (Scopus, WoS)
8. Bucharskaya A., Maslyakova G., Chekhonatskaya M., Pakhomy S., Mudrak D., Navolokin N., Terentyuk G., Borisova E., Mantareva V., Angelov I., Khlebtsov B., Khlebtsov N., **Genin V.**, Bashkatov A., Genina E., Tuchin V. The assessment of tumor vascularization degree for predicting the effectiveness of plasmonic photothermal and photodynamic therapy // Proc. SPIE. - Vol. 11845. – P. 1184508. - 2021; DOI: 10.1117/12.2590411 (Scopus, WoS)
9. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Chekhonatskaya M.L., Zakharova N.B., Terentyuk G.S., Navolokin N.A., Khlebtsov B.N., Khlebtsov N.G., **Genin V.D.**, Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. The evaluation of tumor vascularization as a prognostic factor of plasmonic photothermal therapy efficiency // 2020 International Conference Laser Optics (ICLO), St. Petersburg, Russia, 2020, p. 1; DOI: 10.1109/ICLO48556.2020.9285670 (Scopus)
10. **Genin V.D.**, Rakotomanga P., Zaytsev S.M., Genina E.A., Lazareva E.N., Khairallah G., Amouroux M., Soussen C., Chen H., Feng W., Zhu D., Bashkatov A.N., Blondel W., Tuchin V.V. Research and development of effective optical technologies for diagnostics in dermatology // Proc. SPIE. - Vol. 11065. - P. 1106505. - 2019; DOI: 10.1117/12.2528700 (Scopus, WoS)
11. **Genin V.D.**, Genina E.A., Bucharskaya A.B., Tuchin V.V., Khlebtsov N.G., Terentyuk G.S., Bashkatov A.N. Investigation of change of tumor optical properties after laser-induced plasmon-resonant photothermal treatment of transplanted tumors in rats // Proc. SPIE. - Vol. 10716. - P. 107160Z. - 2018; DOI: 10.1117/12.2315213 (Scopus, WoS)

Статьи в журналах и сборниках РИНЦ

1. **Genin V.D.**, Teslina N.V., Tuchina D.K., Genina E.A., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. Ex vivo study of the skin geometrical parameters kinetics at the optical clearing by glycerol solutions // Представляем научные достижения миру. Естественные науки. Материалы IX научной конференции молодых ученых (Саратов, 10-11 апреля 2018 г.). – Саратов: Издательство «Саратовский источник», С. 37-41, 2018. (ISBN: 978-5-91879-917-8)
2. **Генин В.Д.**, Башкатов А.Н., Генина Э.А., Бучарская А.Б., Тучина Д.К., Хлебцов Н.Г., Тучин В.В.. Исследование кинетики нагрева опухолей и окружающих тканей излучением ближнего ИК спектрального диапазона при введении в ткань золотых наночастиц // XV Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике: сборник трудов конференции, (Самара, 14–18 ноября 2017 г.). – Москва: ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, С. 85-91, 2017 (ISBN 978-5-902622-37-6).

3. **Генин В.Д.**, Генина Э.А., Бучарская А.Б., Тучина Д.К., Хлебцов Н.Г., Тучин В.В., Башкатов А.Н. Анализ кинетики нагрева раковых опухолей крыс излучением ближнего ИК спектрального диапазона при внутривенном введении золотых наностержней // Проблемы оптической физики и биофотоники SFM- 2017. Материалы 5-го Международного симпозиума и 21-ой Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2017. (Под редакцией Г. В. Симоненко, В. В. Тучина). Саратов, Изд-во "Новый ветер", С. 39-43, 2017. (ISBN 978-5-98116-224-4)
4. **Genin V.D.**, Tuchina D.K., Sadeq A.J., Genina E.A., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. *Ex vivo* investigation of glycerol diffusion in skin tissue // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. - Vol. 2. – No. 1. - P. 010303. - 2016; DOI: 10.18287/JBPE16.02.010303.
5. **Генин В.Д.**, Тучина Д.К., Генина Э.А., Башкатов А.Н. Исследование диффузии глицерина в тканях кожи *ex vivo* // XIII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике: сборник конкурсных докладов (Самара, 11–14 ноября 2015 г.). Москва: ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, С. 451-457, 2015 (ISBN 978-5-902622-28-4).

Глава в монографии:

1. Genina E., **Genin V.D.**, Zhu J., Bashkatov A., Zhu D., Tuchin V. Traditional and innovative optical clearing agents / Chapter 3 in Handbook of Tissue Optical Clearing. New Prospects in Optical Imaging. Edited by V. Tuchin, D. Zhu, and E. A. Genina. Boca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group LLC, 2022, pp. 67-91; DOI: 10.1201/9781003025252 (ISBN 9780367895099 (hardback), ISBN 9781003025252 (ebook))

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ, ЦИТИРУЕМЫХ В АВТОРЕФЕРАТЕ

1. World Health Organization / URL: <https://www.who.int/health-topics/cancer> (дата обращения: 29.08.2019, 13:00 Мск.).
2. Nabash R.W., Bansal R., Krewski D., Alhafid H.T. Thermal therapy. part 3: Ablation techniques // Critical Reviews in Biomedical Engineering. – 2007. – Vol. 35. – P. 37-121.
3. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Afanasyeva G.A., Terentyuk G.S., Navolokin N.A., Zlobina O.V., Chumakov D.S., Bashkatov A.N., Genina E.A., Khlebtsov N.G., Khlebtsov B.N., Tuchin V.V. The morpho-functional assessment of plasmonic photothermal therapy effects on transplanted liver tumor // J. Innov. Opt. Health Sci. – 2015. – Vol. 8. – 1541004.
4. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Dikht N.I., Navolokin N.A., Terentyuk G.S., Bashkatov A.N., Genina E.A., Khlebtsov N.G., Khlebtsov B.N., Tuchin V.V. Plasmonic photothermal therapy of transplanted tumors in rats at multiple intravenous injection of gold nanorods // BioNanoSci. – 2017. – Vol. 7. – P. 216-221.
5. Alekseeva A.V., Bogatyrev V.A., Khlebtsov B.N., Melnikov A.G., Dykman L.A., Khlebtsov N.G. Gold nanorods: Synthesis and optical properties // Colloid. J. – 2006. – Vol. 68. – P. 661-678.
6. Khlebtsov N., Bogatyrev V., Dykman L., Khlebtsov B., Staroverov S., Shirokov A., Matora L., Khanadeev V., Pylaev T., Tsyganova N., Terentyuk G. Analytical and theranostic application of gold nanoparticles and multifunctional nanocomposites // Theranostics. – 2013. – Vol. 3. – P. 167-180.
7. Ungureanu C., Kroes R., Petersen W., Groothuis T.A., Ungureanu F., Janssen H., van Leeuwen F.W., Kooyman R.P., Manohar S., van Leeuwen T.G. Light interactions with gold nanorods

-
- and cells: implications for photothermal nanotherapeutics // *Nano Lett.* – 2011. – Vol. 11. – P. 1887-1894.
8. Maestro L.M., Camarillo E., Sanchez-Gil J.A., Rodriguez-Oliveros R., Ramiro-Bargueno J., Caamano A.J., Jaque F., Solea J.G., Jaque D. Gold nanorods for optimized photothermal therapy: the influence of irradiating in the first and second biological windows // *RSC Adv.* – 2014. – Vol. 4. – P. 54122-54129.
 9. Khlebtsov B.N., Khanadeev V.A., Burov A.M., Le Ru E.C., Khlebtsov N.G. Reexamination of surface-enhanced raman scattering from gold nanorods as a function of aspect ratio and shape // *J. Phys. Chem. C* – 2020. – Vol. 124. – P. 10647–10658.
 10. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Chekhonatskaya M.L., Terentyuk G.S., Navolokin N.A., Khlebtsov B.N., Khlebtsov N.G., Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. Plasmonic photothermal therapy: approaches to advanced strategy // *Lasers Surg. Med.* - 2018. - Vol. 50. - Iss. 10. - P. 1025-1033.
 11. Johansson A., Faber F., Kniebühler G., Stepp H., Sroka R., Egensperger R., Beyer W., Kreth F.W. Protoporphyrin IX fluorescence and photobleaching during interstitial photodynamic therapy of malignant gliomas for early treatment prognosis // *Lasers Surg. Med.* – 2013. – Vol. 45. – P. 225-234.
 12. Bashkatov A.N., Zakharov V.P., Bucharskaya A.B., Borisova E.G., Khristoforova Yu.A., Genina E.A., Tuchin V.V. Malignant Tissue Optical Properties / Chapter 1 in Tuchin V.V., Popp J., Zakharov V. (Eds.) (2020). *Multimodal Optical Diagnostics of Cancer* / Cham: Springer Nature Switzerland AG, 2020. – P. 3-106.
 13. Arnfield M.R., Chapman J.D., Tulip J., Fenning M.C., McPhee M.S. Optical properties of experimental prostate tumors in vivo // *Photochemistry and Photobiology.* – 1993. – Vol. 57. – P. 306-311.
 14. Zhang Y., Liu H., Tang J., Li Z., Zhou X., Zhang R., Chen L., Mao Y., Li C. Non-invasively imaging subcutaneous tumor xenograft by handheld Raman detector, with assistance of optical clearing agent // *ACS Applied Materials & Interfaces.* – 2017. – Vol. 9. – P. 17769-17776.
 15. Greening G., Mundo A., Rajaram N., Muldoon T.J. Sampling depth of a diffuse reflectance spectroscopy probe for in-vivo physiological quantification of murine subcutaneous tumor allografts // *J. Biomed. Opt.* – 2018. – Vol. 23. – P. 085006.
 16. Тучин В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике. - М.: Физматлит, 2012. – 812 с.
 17. Zhu D., Larin K., Luo Q., Tuchin V.V. Recent progress in tissue optical clearing // *Laser & Photonics Reviews.* – 2013. – Vol. 7. – P. 732-757.
 18. Yang W.T., Tse G.M.K., Lam P.K.W., Metreweli C., Chang J. Correlation between color power Doppler sonographic measurement of breast tumor vasculature and immunohistochemical analysis of microvessel density for the quantitation of angiogenesis // *J. Ultrasound in Medicine.* – 2002. – Vol. 21. – P. 1227-1235.
 19. Khlebtsov B.N., Tuchina E.S., Khanadeev V.A., Panfilova E.V., Petrov P.O., Tuchin V.V., Khlebtsov N.G. Enhanced photoinactivation of *Staphylococcus aureus* with nanocomposites containing plasmonic particles and hematoporphyrin // *J. Biophotonics.* – 2013. – Vol. 6. – P. 338-351.
 20. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Navolokin N.A., Terentyuk G.S., Khlebtsov B.N., Khlebtsov N.G., Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. The assessment of effectiveness

of plasmonic resonance photothermal therapy in tumor-bearing rats after multiple intravenous administration of gold nanorods // Proc. SPIE. – 2017. – Vol. 10336. – P. 10336 0Q.

21. Тучина Д.К., Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. Исследование воздействия иммерсионных агентов на весовые и геометрические параметры ткани миокарда *invitro* // Биофизика. – 2018. – Т. 63. – С. 989-996.
22. Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Tuchin V.V. Estimation of wavelength dependence of refractive index of collagen fibers of scleral tissue // Proc. SPIE. – 2000. – Vol. 4162. – P. 265-268.