



BOOK OF ABSTRACTS

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Workshop on Current Trends in Biophotonics 2023

СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ
В БИОФОТОНИКЕ 2023

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation

Федеральный центр Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук»
A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics RAS

ООО «Терра Инкогнита НН»
Terra Incognita NN LLC

СЕМИНАР
«СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ
В БИОФОТОНИКЕ – 2023»

WORKSHOP ON CURRENT TRENDS
IN BIOPHOTONICS – 2023

3–5 июля 2023 г., Нижний Новгород
July 3–5, 2023, Nizhny Novgorod

Сборник тезисов докладов
Book of abstracts

Нижний Новгород
ИПФ РАН
2023

Ответственный редактор
кандидат физико-математических наук М. Ю. Кириллин

Современные тренды в биофотонике – 2023: сборник тезисов докладов / Федер. иссл. центр Ин-т приклад. физики РАН [и др.]; отв. ред. М.Ю. Кириллин. – Нижний Новгород: ИПФ РАН, 2023. – 63 с.

ISBN 978-5-8048-0122-0

Сборник содержит тезисы докладов семинара «Современные тренды в биофотонике – 2023» (Нижний Новгород, 3–5 июля 2023 года). Семинар был посвящен обсуждению последних достижений в области биофотоники, начиная от фундаментальных исследований и заканчивая аспектами клинического применения оптических методов в медицинской практике.

В сборник включены тезисы докладов по следующим тематикам: трансляционная биофотоника, новые агенты для доставки лекарственных средств и тераностики, мультимодальная оптическая диагностика, флуоресцентная молекулярная визуализация, фотоиндуцированные процессы, фотодинамическая терапия, методы оптической микроскопии, оптическая когерентная томография, моделирование и машинное обучение в биофотонике.

ОРГАНИЗАТОРЫ



Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова
Российской академии наук,
г. Нижний Новгород



ООО «Терра Инкогнита НН»,
г. Нижний Новгород

СОПРЕДСЕДАТЕЛИ СЕМИНАРА

Михаил Кириллин, ИПФ РАН, kirillin@ipfran.ru
Илья Турчин, ИПФ РАН, ilya@ipfran.ru

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Дария Куракина, ИПФ РАН, daria.kurakina@ipfran.ru

ТЕМАТИКИ СЕМИНАРА

- Когерентные методы и оптическая когерентная томография
- Оптическая диффузионная спектроскопия и томография
- Флуоресцентная визуализация
- Многофотонная микроскопия и микроскопия сверхразрешения
- Оптоакустическая визуализация
- Оптическая диагностика в клинике
- Фотодинамическая терапия
- Тераностика
- Лазерная хирургия
- Трансляционная медицина
- Оптические методы исследования растений
- Теоретические и численные модели распространения излучения в биотканях
- Методы машинного обучения и искусственный интеллект в биофотонике

СПОНСОРЫ



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ
И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Hicurtec

Семинар проводится в рамках реализации Программы НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-316.

ORGANIZERS

A.V. Gaponov-Grekhov Institute
of Applied Physics RAS (IAP RAS)
Nizhny Novgorod

Terra Incognita NN LLC,
Nizhny Novgorod

WORKSHOP CO-CHAIRS

Mikhail Kirillin, IAP RAS, kirillin@ipfran.ru
Ilya Turchin, IAP RAS, ilya@ipfran.ru

SCIENTIFIC SECRETARY

Daria Kurakina, IAP RAS, daria.kurakina@ipfran.ru

WORKSHOP TOPICS

- Coherence domain optical methods and optical coherence tomography
- Optical diffuse spectroscopy and tomography
- Fluorescence imaging
- Multiphoton and super-resolution microscopy in the biomedical sciences
- Optoacoustic imaging
- Optical diagnostics in clinical practice
- Photodynamic therapy
- Theranostics
- Laser surgery
- Translational medicine
- Optical diagnostics of plants
- Theoretical and numerical models of light propagation in biological tissues
- Machine learning methods and artificial intelligence in biophotonics

SPONSORS



MINISTRY OF SCIENCE
AND HIGHER EDUCATION
OF THE RUSSIAN FEDERATION



Hicurtec

The Workshop is organized in the frames of the Center of Excellence «Center of Photonics» funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Contract No. 075-15-2022-316.

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

Трансляционная биофотоника Translational biophotonics

А.В. Дунаев, Е.В. Жарких, Ю.И. Локтионова

ПОРТАТИВНЫЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ В ИССЛЕДОВАНИИ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА
БИОТКАНЕЙ10

*А.В. Масленникова, Е.С. Седова, Е.Б.Киселева, М.А. Сироткина, А.А. Моисеев,
С.Ю. Ксенофонтов, Л.А. Матвеев, Г.В. Геликонов, В.Ю. Зайцев*

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ
НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ В ПРОЦЕССЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ11

Е.В. Потапова, К.Ю. Кандурова, В.Н. Приземин, Д.С. Сумин, А.В. Мамошин

МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ ..12

*М.В. Павлов, А.П. Баврина, В.И. Плеханов, Г.Ю. Голубятников, А.Г. Орлова, П.В. Субочев,
И.В. Турчин и А.В. Масленникова*

ВОЗМОЖНОСТИ ОПТИЧЕСКОГО И УЛЬТРАЗВУКОВОГО МЕТОДОВ В РАННЕЙ
ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ
РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ13

Новые агенты для доставки лекарственных средств и тераностики Novel agents for drug delivery and theranostics

D.A. Gorin

MULTIMODAL CONTRAST AGENTS: PREPARATION TECHNIQUES, PROPERTIES,
APPLICATIONS15

Д.В. Басманов

БЕЗМАРКЕРНЫЕ ОПТИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРЫ НА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОЛНАХ
В ОДНОМЕРНЫХ ФОТОННЫХ КРИСТАЛЛАХ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ
КИСЛОТ16

М.Д. Mokrousoy, М.В. Novoselova, О.В. Grishin, D.A. Gorin

BIMODAL CONTRAST AGENTS BASED ON J-AGGREGATES OF INDOCYANINE
GREEN17

*С.В. Заботнов, Д.В. Шулейко, В.Ю. Нестеров, О.И. Соколовская, Л.А. Головань,
А.В. Хитов, Д.А. Куракина, Е.А. Сергеева, П.Д. Агрба, А.Н. Балашова и М.Ю. Кириллин*

НАНОЧАСТИЦЫ Si И Si/Ag, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ:
БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ В ОПТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ
И ТЕРАПИИ18

Б.Н. Хлебцов

ГКР МЕТКИ С УСИЛЕНИЕМ ПОЛЯ В ЗАЗОРЕ: СИНТЕЗ И ПРИМЕНЕНИЕ
В БИОИМИДЖИНГЕ И БИОСЕНСИНГЕ19

Мультимодальная оптическая диагностика Multimodal optical diagnostics

A.G. Orlova, K.G. Akhmedzhanova, A.A. Kurnikov, A.M. Glyavina, D.A. Khochenkov, Yu.A. Khochenkova, A.V. Maslennikova, D.V. Skamnitsky, A.V. Khilov, V.V. Perekatova, I.V. Turchin, P.V. Subochev

OPTOACOUSTIC ANGIOGRAPHY AND DIFFUSE OPTICALSPECTROSCOPY FOR EXPERIMENTAL ONCOLOGY21

S.A. Perkov, V.A. Vorobev, M.A. Kurochkin, D.A. Gorin

IMPLEMENTATION OF DIFFUSE REFLECTANCE, OPTOACOUSTIC AND FLUORESCENCE SPECTROSCOPY FOR ENDOGENOUS CHROMOPHORES MONITORING22

Ю.И. Локтионова, Е.В. Жарких, В.Е. Паршакова, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин, А.В. Дунаев

ПРИМЕНЕНИЕ ПОРТАТИВНЫХ АНАЛИЗАТОРОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОТКАНЕВЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА В МОНИТОРИНГЕ СНА23

D.N. Bratashov

FINDING ALIEN OBJECTS IN BLOOD: PHOTOACOUSTIC AND FLUORESCENT TECHNIQUES FOR IN VIVO CYTOMETRY24

Флуоресцентная молекулярная визуализация Fluorescence molecular imaging

М.В. Ширманова, А.Д. Комарова, Д.В. Южакова, И.Н. Дружкова, А.М. Можеров, Д.А. Сачкова, Н.И. Игнатова, Е.В. Загайнова, К.С. Яшин, В.И. Щеславский

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ ОПУХОЛЕЙ НА ОСНОВЕ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КОФАКТОРА НАД(Ф)Н26

Z.V. Besedovskaia, L.V. Putlyayeva and K.A. Lukyanov

ENHANCER LANDSCAPE VISUALIZATION IN LIVE-CELL FLUORESCENCE MICROSCOPY USING GENETICALLY ENCODED EPIGENETIC PROBES27

А.Ю. Коробов, Z.V. Besedovskaia, L.V. Putlyayeva, K.A. Lukyanov

SARS-COV-2 M-PROTEIN: INTRACELLULAR MATURATION AND LOCALIZATION ANALYSIS USING FLUORESCENCE MICROSCOPY28

А.Л. Файзуллин, Г.М. Денисенко, Я.М. Валиева, Е.И. Иванова, С.Е. Соловьева и П.С. Тимашев

УМНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МИКРОСТРУКТУРЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ: УЛЬТРАФИОЛЕТОВАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В КАБИНЕТЕ ХИРУРГА29

Ю.М. Ефремов, Л.Е. Шимолина, А.М. Можеров, Н.И. Игнатова, М.К. Куимова, М.В. Ширманова, П.С. Тимашев

КОРРЕЛЯЦИЯ МИКРОВАЯЗКОСТИ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ И ЖЕСТКОСТИ ЦИТОСКЕЛЕТНОГО КОРТЕКСА ПО ДАННЫМ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЁННОЙ И АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ30

Фотоиндуцированные процессы/Фотодинамическая терапия
Photoinduced processes/Photodynamic therapy

С.В. Гамаюнов
ПЛАНИРОВАНИЕ И МОНИТОРИНГ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ32

А.О. Орлова, Т.О. Осколкова, Л.Н. Бородина и Е.С. Смирнова
НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ СЕНСИБИЛИЗАТОРЫ АКТИВНЫХ ФОРМ
КИСЛОРОДА.....33

И.С. Сергеев, Е.А. Максимова, Е.О. Моисеева, Б.Н. Хлебцов, Д.А. Горин
ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ, ВЫЗВАННАЯ СИНЕРГЕТИЧЕСКИМ
ЭФФЕКТОМ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО КРАСИТЕЛЯ,
ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В СУБМИКРОННУЮ ПОЛИМЕРНУЮ ОБОЛОЧКУ34

*А.Б. Белотелов, Е.И. Черкасова, А.В. Масленникова, Д.В. Скамницкий, В.И. Юсупов,
Н.В. Минаев*
ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ
ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ В СОЧЕТАНИИ С ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ
НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ HELA KYOTO35

П.Ю. Бикмулина, Н.В. Кошелева, А.И. Шпичка, П.С. Тимашев
БИОФАБРИКАЦИЯ ТРЕХМЕРНЫХ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ 3D БИОПЕЧАТИ И ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ36

П.И. Котенева, П.Ю. Бикмулина, Н.В. Кошелева, А.И. Шпичка, П.С. Тимашев
ВЛИЯНИЕ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ И РЕАКТИВАЦИЮ
КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ37

*J. Cvjetinovic, S.A. Perkov, M.A. Kurochkin, I.S. Sergeev, S.V. German, Ye.D. Bedoshvili,
N.A. Davidovich, A.M. Korsunsky, D.A. Gorin*
OPTICAL CHARACTERISTICS OF DIATOMS: RELATIONSHIP BETWEEN
CONCENTRATION AND TRANSMISSION/EXTINCTION38

Методы оптической микроскопии
Optical microscopy techniques

A. Ghosh, N. Karedla, T. Chen, J. Enderlein
GRAPHENE INDUCED ENERGY TRANSFER IMAGING
FOR MEMBRANE BIOPHYSICS40

Р.Ф. Фахруллин
ТЕМНОПОЛЬНАЯ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ
В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ41

*Д.С. Кузнецова, С.А. Родимова, Н.В. Бобров, А.М. Можеров, В.В. Елагин, М.М. Карабут,
В.Е. Загайнов, Е.В. Загайнова*
МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ В ОЦЕНКЕ РЕГЕНЕРАЦИИ
И ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ42

Оптическая когерентная томография Optical coherence tomography

<i>G.V. Gelikonov, I.V. Kasatkina, S.Y. Ksenofontov, P.A. Shilyagin and V.M. Gelikonov</i> FUNCTIONAL OCT IMAGING OF HUMAN TYMPANIC MEMBRANE	44
<i>V.Y. Zaitsev</i> CURRENT TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF COMPRESSION OPTICAL COHERENCE ELASTOGRAPHY	45
<i>Е.Б. Киселева, Е.В. Губарькова, М.Г. Рябков, А.А. Советский, А.Л. Потапов, М.А. Сироткина, А.А. Плеханов, Е.Л. Бедерина, Д.А. Воронцов, А.Ю. Богомолова, В.Ю. Зайцев и Н.Д. Гладкова</i> ПРЕИМУЩЕСТВА МУЛЬТИМОДАЛЬНОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ	46
<i>A.L. Matveyev, L.A. Matveev, G.V. Gelikonov, and V.Y. Zaitsev</i> UNIVERSAL ANGLULAR-SPECTRUM APPROACH TO DIGITAL SUPERREFOCUSING AND ABERRATION CORRECTION IN 3D OCT-DATASETS.....	47
<i>А.А. Зыков, А.Л. Матвеев, А.А. Советский и В.Ю. Зайцев</i> ВЕКТОРНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ДЕФОРМАЦИЙ В ОКТ-ЭЛАСТОГРАФИИ С АДАПТИВНЫМ ВЫБОРОМ МАСШТАБА ОЦЕНКИ ГРАДИЕНТОВ МЕЖКАДРОВЫХ ВАРИАЦИЙ ФАЗЫ	48

Моделирование и машинное обучение в биофотонике Modelling and machine learning in biophotonics

<i>A.B. Kononov, V.V. Vlasov, S.I. Samarin, A.S. Uglov, I.D. Solovyev, A.P. Savitsky, and V.V. Turchin</i> ASYMPTOTIC SOURCE FUNCTION APPROXIMATION BASED FLUORESCENCE MOLECULAR TOMOGRAPHY: CURRENT STATUS AND PROSPECTS	50
<i>A.V. Khilov, V.V. Perekatova, A.B. Kostyuk, M.Yu. Kirillin, E.A. Sergeeva, D.A. Kurakina, O.V. Shemagina, A.G. Orlova and Илья Turchin</i> BROADBAND SELF-CALIBRATING SYSTEM FOR DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY	51
<i>Е.О. Брянская, В.В. Дрёмин, М.Ю. Кириллин, В.Г. Артюшенко, А.В. Дунаев</i> МАШИННОЕ ОБУЧЕНИЕ В ЦИФРОВОЙ ДИАФНОСКОПИИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЙ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫХ ПАЗУХ.....	52
<i>К.Ю. Кандурова, Д.С. Сумин, А.А. Палалов, Е.С. Серёгина, В.В. Дрёмин, А.В. Мамошин, А.В. Дунаев, Е.В. Потапова</i> ИЗМЕРЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ В ДИАПАЗОНЕ 350–1300 НМ ДЛЯ ЗАДАЧ ОПТИЧЕСКОЙ БИОПСИИ.....	53
<i>Д.А. Куракина, А.В. Хилов, М.Ю. Кириллин и В.В. Перекатова</i> КАРТИРОВАНИЕ ОКСИГЕНАЦИИ КРОВИ ПО ДВУХВОЛНОВЫМ ОПТОАКУСТИЧЕСКИМ ИЗМЕРЕНИЯМ МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ.....	54

В.В. Шуплецов, Е.В. Потапова, Е.А. Жеребцов, В.В. Дрёмин, К.Ю. Кандурова, Д.С. Сумин, А.В. Мамошин, А. В. Дунаев

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПАРЕНХИМЫ И ОПУХОЛЕЙ ПЕЧЕНИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПАРАМЕТРОВ ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ	55
--	----

Стендовые доклады Poster session

Е.О. Моисеева, С.В. Герман, Д.А. Горин

СИНТЕЗ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ: МАГНЕТИТ ИЛИ МАГГЕМИТ?	57
---	----

Н.Н. Пескова, А.А. Горохова, Н.Ю. Шлягина, А.А. Брилкина, И.В. Балалаева

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ОПРЕДЕЛЯЕТ ДИНАМИКУ ВТОРИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ H ₂ O ₂ В КОМПАРТМЕНТАХ КЛЕТКИ ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ.....	58
---	----

А.А. Бакулина, Г.Р. Мусина, А.А. Гавдуш, Ю.М. Ефремов, А.И. Шпичка, К.И. Зайцев, П.С. Тимашев

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ НА ДИНАМИКУ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ФИБРИНОВОГО ГИДРОГЕЛЯ	59
---	----

А.А. Антошин, Б.П. Ершов, А.Н. Гилязова, С.Ю. Волошин, Е.В. Истранова, Я.И. Христидис, А.Л. Файзуллин, Д.В. Бутнару, П.С. Тимашев

ПРИМЕНЕНИЕ ФИБРИЛЛЯРНЫХ КОЛЛАГЕНОВЫХ МАТРИЦ С ЯНУССТРУКТУРОЙ ДЛЯ АУГМЕНТАЦИОННОЙ УРЕТРОПЛАСТИКИ	60
---	----

К.Н. Баранов, Е.С. Смирнова и А.О. Орлова

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ ЧЕТВЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И НАНОКОМПОЗИТАМИ НА ИХ ОСНОВЕ	61
---	----

Е.С. Смирнова, А.И. Дададжанова и А.О. Орлова

СОНОДИНАМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ СЕНСИБИЛИЗАТОРА ФЕОФОРБИДА А В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ RAJ1	62
--	----

Л.П. Ичкитидзе, Г.Ю. Галечян, А.А. Ильиных, Е.С. Степичева, А.Ю. Герасименко, Д.В. Тельшев, С.В. Селищев

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕРМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ТЕРАПИИ	63
---	----

Трансляционная биофотоника

Translational biophotonics

ПОРТАТИВНЫЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ В ИССЛЕДОВАНИИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА БИОТКАНЕЙ

А.В. Дунаев, Е.В. Жарких, Ю.И. Локтионова

Научно-технологический центр биомедицинской фотоники,
ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орёл, Россия

Аннотация. Работа посвящена применению портативных мультимодальных анализаторов в исследовании микроциркуляторного русла и окислительного метаболизма биотканей. Показаны примеры их успешного применения при сахарном диабете (СД), артериальной гипертензии, COVID-19, в сфере функциональной диагностики, йогатерапии, спортивной медицины и реабилитации, а также в космических исследованиях.

Введение

В настоящее время наблюдается всплеск интереса к портативным (носимым) диагностическим приборам с возможностью ежедневного мониторинга функционального состояния организма человека, например, микроциркуляторно-тканевых систем (МТС). Первой подобной разработкой является анализатор «ЛАЗМА-ПФ» (НПП «ЛАЗМА»), позволяющий исследовать микроциркуляторное русло и окислительный метаболизм биотканей. Цель данной работы – продемонстрировать успешный опыт использования данных устройств в клинической практике.

Материалы и методы

Анализаторы с беспроводной передачей данных реализуют методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии (ФС), что позволяет осуществлять комплексную диагностику МТС кожи человека. Анализаторы применялись в виде их распределённой системы (из 2 или 4 приборов) на различных участках верхних и нижних конечностей человека без использования функциональных проб в различных областях медицины – эндокринологии (СД 1 и 2 типа), кардиологии (артериальная гипертензия), реабилитологии (постковидная реабилитация), физиотерапии (дыхательные упражнения хатха-йоги), спортивной и космической медицине. Время регистрации параметров МТС (ПМ – показатель микроциркуляции, $A_{\text{НАДН}}$ – нормированная амплитуда кофермента биоткани НАДН) в среднем составляла 10 мин.

Результаты исследования

Исследования в пациентов с СД выявили снижение ПМ и нутритивного кровотока ($M_{\text{нутр}}$) в нижних конечностях и их увеличение в верхних конечностях. Результаты свидетельствуют о попытках организма скомпенсировать расстройства микроциркуляции в верхних конечностях. Исследования женщин с прегестационным СД выявили снижение колебательной активности МТС у пациенток и увеличение $A_{\text{НАДН}}$. Пациенты с постковидным синдромом имели сниженные значения ПМ и $M_{\text{нутр}}$, а также повышенную колебательную активность кровотока. При исследовании влияния гипо- и гипервентиляционных дыхательных упражнений йоги на параметры периферического кровотока обнаружена корреляция между параметрами микроциркуляции крови и газовым анализом при свободном дыхании и гиповентиляции. Впервые разработана методика измерения МТС конечностей космонавтов в период острой адаптации к условиям микрогравитации и реадaptации после завершения космического полета.

Таким образом, данные о состоянии МТС организма человека, регистрируемые с помощью портативных мультимодальных анализаторов при решении разнообразных диагностических задач в клинических условиях, позволяют более комплексно и достоверно оценивать взаимосвязь и динамику утилизации кислорода тканями.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта №23-25-00522.

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ В ПРОЦЕССЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

А.В. Масленникова¹, Е.С. Седова¹, Е.Б.Киселева¹, М.А. Сироткина¹, А.А. Моисеев², С.Ю. Ксенофонтов², Л.А. Матвеев², Г.В. Геликонов², В.Ю. Зайцев²

¹ФГБОУ ВО «ПИМУ Минздрава России», Нижний Новгород, РФ, maslennikova.anna@gmail.com

²ФИЦ ИПФ им. А.В. Гапонова-Грехова РАН, Нижний Новгород, РФ

Аннотация. Представлены результаты мониторинга состояния слизистой оболочки полости рта в процессе (химио)лучевой терапии методом многофункциональной оптической когерентной томографии. Показано, что в процессе развития мукозита могут возникнуть два типа сосудистой реакции – «классическая», с постепенным увеличением метрик сосудистого русла, или отсутствие изменений микроциркуляции на протяжении всего курса облучения. Основным проявлением лучевой реакции на структурных ОКТ-изображениях было постепенное снижение различий интенсивности сигнала между эпителием и собственной пластинкой слизистой оболочки. Различия скорости снижения данного показателя статистически значимо различались в зависимости от степени тяжести мукозита.

Ранее оценка побочных эффектов лучевой терапии и мониторинг состояния слизистой оболочки были возможны только на основе жалоб пациента и визуальных симптомов. Оптическая когерентная томография позволяет в режиме реального времени оценивать микроструктуру, микроциркуляторное русло и состояние соединительнотканного матрикса слизистой оболочки. Целью исследования была оценка изменений слизистой оболочки полости рта в процессе (химио)лучевой терапии методом многофункциональной оптической когерентной томографии.

Материалы и методы

В работе использован многофункциональный ОКТ-томограф (ФИЦ ИПФ РАН, Нижний Новгород), который позволяет одновременно получать структурные и ангиографические изображения. Мониторинг состояния слизистой оболочки полости рта был проведен у 44 пациентов, которым проводилась (химио)лучевая терапия по поводу орофарингеальных опухолей. Количественная оценка изменений микроциркуляторного русла по ОКТ-ангиограммам в процессе лучевой терапии проводилась по трем параметрам: плотность сосудистой сетки; общая длина сосудов, диаметр которых на изображении составлял 1-3 пикселя и общая длина сосудов диаметром более 3-х пикселей. Все параметры оценивались в динамике по отношению к исходному уровню, принятому за 0 для каждого пациента.

Результаты

Основным визуальным признаком развития лучевой реакции слизистой оболочки на структурных ОКТ-изображениях было постепенное снижение контраста на ОКТ-изображениях. Численная обработка изображений позволила выявить количественные закономерности развития лучевой реакции слизистой оболочки в зависимости от степени тяжести побочных эффектов. Основным параметром, который оценивался при анализе структурных ОКТ-изображений, была разница в интенсивности сигнала между слоем, соответствующим эпителию, и слоем, соответствующем собственной пластинке слизистой оболочки (показатель «дельта»). При развитии мукозита первой степени среднее значение угла α составило $81^{\circ} \pm 4^{\circ}$, при развитии мукозита второй степени – $56 \pm 15^{\circ}$, а при развитии мукозита третьей степени угол α составил $36 \pm 5^{\circ}$ ($p < 0,05$). В процессе развития лучевой реакции слизистой оболочки полости рта параллельно с возрастанием суммарно-очаговой дозы мы наблюдали два типа реакции микроциркуляторного русла. У 24 из 44-х (54,5%) пациентов наблюдалось постепенное возрастание плотности сосудистой сетки. У 20 из 44-х (45,5%) пациентов изменения параметров микроциркуляторного русла не наблюдались в течение всего курса облучения.

Заключение

Многофункциональная оптическая когерентная томография позволяет оценить индивидуальные особенности реакции слизистой оболочки в ответ на воздействие ионизирующего излучения, а также прогнозировать степень ее тяжести в ранние сроки после начала облучения.

МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ

Е.В. Потапова¹, К.Ю. Кандурова¹, В.Н. Приземин¹, Д.С. Сумин^{1,2}, А.В. Мамошин^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел, Россия,
potapova_ev_ogu@mail.ru

² БУЗ ОО «Орловская областная клиническая больница», Орел, Россия

Аннотация. Описаны результаты применения методов оптической спектроскопии на различных этапах лечения пациентов с обструкцией желчевыводящих путей. При декомпрессии желчевыводящих путей проводилась оценка метаболического состояния печеночной паренхимы методом флуоресцентной спектроскопии с деконволюционным анализом спектров. Для определения восстановления выделительной функции печени в динамике проводились измерения уровня билирубина в желчи методом спектроскопии комбинационного рассеяния. Предложены диагностические параметры определения тяжести печеночной недостаточности и оценки эффективности антеградных эндобилиарных декомпрессионных вмешательств.

Одним из актуальных вопросов ургентной хирургии является оценка функционального состояния печени на различных этапах лечения синдрома механической желтухи (МЖ) с помощью простых и объективных методик. Первостепенной задачей в лечении пациентов с заболеваниями, осложнёнными МЖ, является декомпрессия желчевыводящей системы. Выполнение минимально инвазивных вмешательств создает доступ в ткани печени, через который при установке дренажных систем можно однократно провести оптическую биопсию печеночной паренхимы, и в последующем в динамике выполнять исследование желчи как непосредственного продукта секреции гепатоцитов. В работе выбраны методы флуоресцентной спектроскопии (ФС), обладающей высокой чувствительностью к метаболическим изменениям в тканях [1], а также спектроскопии комбинационного рассеяния (КР), предоставляющей информацию о химическом составе биологических тканей и жидкостей [2].

Цель работы заключалась в исследовании влияния степени печеночной недостаточности на оптические свойства печеночной паренхимы *in vivo* методом ФС и оптические свойства желчи *in vitro* методом КР. В исследовании приняли участие 20 пациентов с синдромом МЖ, а также 11 пациентов без МЖ (группа сравнения). Последняя группа пациентов была исследована ранее в ходе выполнения тонкоигольной биопсии очаговых образований печени [1]. Спектры ФС регистрировались через тонкоигольный зонд и подвергались деконволюционному анализу с оценкой вклада основных флуорофоров. У первой группы пациентов с синдромом МЖ в динамике (каждые 3-4 дня) проводился забор желчи по дренажному катетеру для исследования спектров КР. В спектрах КР после постобработки анализировались спектральные полосы КР, характерные для билирубина (1258–1264 см⁻¹ и 1615–1620 см⁻¹).

Результаты ФС показали статистически значимое увеличение вклада кривых, отражающих флуоресценцию NAD(P)H, билирубина, флавинов и витамина А в группе пациентов с МЖ. Эти параметры могут быть использованы для дальнейших исследований в качестве перспективных диагностических и прогностических маркеров развития печеночной недостаточности. Также было показано, что определение изменений концентрации билирубина в желчи, выделяемой по дренажному катетеру, по спектральным полосам КР позволяет прогнозировать динамику выздоровления пациентов с синдромом МЖ после проведения антеградной декомпрессии желчевыводящих путей.

Проведенные исследования показали, что оптическая спектроскопия открывает широкие возможности для оценки функции печени у больных с синдромом МЖ. Результаты работы могут быть использованы в клинической практике хирургов для корректировки лечебных алгоритмов.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-25-00487, <https://rscf.ru/project/23-25-00487/>.

Ссылки

1. V. Dremin, E. Potapova, E. Zherebtsov, K. Kandurova, V. Shupletsov, A. Alekseyev, A. Mamoshin, and A. Dunaev, *Sci. Rep.*, 2020, **10**, 14200.
2. K. Kong, C. Kendall, N. Stone, and I. Notingher, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2015, **89**, 121-134.

ВОЗМОЖНОСТИ ОПТИЧЕСКОГО И УЛЬТРАЗВУКОВОГО МЕТОДОВ В РАННЕЙ ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**М.В. Павлов¹, А.П. Баврина², В.И. Плеханов³, Г.Ю. Голубятников³, А.Г. Орлова³,
П.В. Субочев³, И.В. Турчин³ и А.В. Масленникова²**

¹ ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», Нижний Новгород, Россия, pavlov.med88@gmail.com

² ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

³ ФГБНУ ФИЦ Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук», Нижний Новгород, Россия

Аннотация. Современные подходы к лечению рака молочной железы предполагают оценку не только структурных, но и метаболических изменений опухоли в процессе неoadьювантной химиотерапии (НАХТ). В нашем исследовании для оценки динамики оксигенации опухоли был использован метод оптической диффузной спектроскопии; для оценки динамики объема и васкуляризации - ультразвуковое исследование. Измерения проводились до начала НАХТ, а также перед вторым курсом. Изменения оксигенации, васкуляризации и объема опухоли сопоставляли с патоморфологическим ответом опухоли после оперативного лечения. Для оценки предиктивного значения данных параметров был использован метод построения логистических моделей. Раннее изменение уровня оксигенации опухоли молочной железы оказалось наиболее точным критерием, отражающим эффективность неoadьювантной химиотерапии.

Неoadьювантная химиотерапия (НАХТ) рака молочной железы позволяет оценить чувствительность опухоли к системному лечению, а также спланировать адьювантную терапию и последующее наблюдение [1]. С целью разработки предиктивных критериев ответа рака молочной железы на НАХТ мы оценили ранние изменения кровоснабжения и объема опухоли методом ультразвукового исследования (УЗИ), а также изменения оксигенации опухоли методом диффузной оптической спектроскопии (ОДС).

Материалы и методы

В анализ были включены 103 пациентки с гистологически подтвержденным раком молочной железы II и III стадии, которым на первом этапе лечения была назначена НАХТ. Оксигенация опухоли определялась на установке оптической диффузионной спектроскопии с геометрией сканирования «на просвет» (ИПФ РАН, г.Нижний Новгород, Россия). Объем и васкуляризация опухоли определялись ультразвуковым методом. Измерения проводились перед первым и вторым курсами НАХТ. Затем полученные данные сопоставлялись с патоморфологическим ответом опухоли после оперативного лечения. Для оценки прогностического потенциала полученных данных был использован метод построения регрессионных логистических моделей.

Результаты

Мы наблюдали изменения всех трех параметров через 3 недели после начала лечения. Однако высокий прогностический потенциал для ранней оценки чувствительности опухоли к НАХТ продемонстрировал только уровень оксигенации ($p = 0,802$, $p \leq 0,01$). Логистическая модель позволила предсказать реакцию опухоли на НАХТ с высокой точностью (89,3%). Модели, построенные на основании данных о динамике васкуляризации и объема опухоли, не показали высокой точности в предсказании отсутствия ответа опухоли на лечение (60,9% и 58,7% соответственно), в то время как прогнозирование положительного ответа на лечение было относительно лучше (78,9% и 75,4% соответственно).

Выводы

ОДС оказалась надежным инструментом для раннего прогнозирования ответа рака молочной железы на химиотерапию. Это может помочь выявить больных, которым необходимо дополнительное молекулярно-генетическое исследование опухоли с целью поиска источника резистентности к лечению, а также для коррекции схемы лечения.

1. J. Gunther, E. Lim, H. Kim, M. Flexman, M. Altoé, J. Campbell, H. Hibshoosh, K. Crew, K. Kalinsky, D. Hershman, and A. Hielscher, *Radiology*, 2018, **287**(3), 778–86.

**Новые агенты для доставки
лекарственных средств и тераностики**

**Novel agents for drug delivery
and theranostics**

MULTIMODAL CONTRAST AGENTS: PREPARATION TECHNIQUES, PROPERTIES, APPLICATIONS

D.A. Gorin

Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia
d.gorin@skoltech.ru

Abstract. Imaging of Normal/Pathological tissue interfaces is a challenge of modern biophotonics. A solution of such type of tasks is connected with the multimodal contrast agent applications. Multimodality means an ability to provide contrast at different type of clinical imaging methods, for example, MRI, ultrasound, optoacoustic and fluorescent visualization. A different type of contrast agents as well as preparation techniques are considered. Multimodal imaging is demonstrated *in vitro* and *in vivo*.

At present time, photonic tools are used in preclinical and clinical studies. Pulse oximeters, OCT, fluorescent intraoperative imaging have been already applied in routine clinical practices. Whereas, fluorescent visualization is exploited for pharmacokinetics and pharmacodynamics during preclinical studies. A significant disadvantage of fluorescent approach is requirement of the exogenic contrast agent using, for example ICG that has been already improved for preclinical as well as clinical applications. Endogenous chromophores have a very good perspective for optoacoustics based imaging methods. Optoacoustics (Photoacoustics) is based on absorption of pulse laser irradiation by exogenic and endogenous chromophores, and transfer this type of energy to heat, that leads to thermoelastic expansion, and as results ultrasound wave generation. Undoubtedly advantage of optoacoustic approach is higher tissue penetration depth in comparison with pure optical methods. Penetration depth for optoacoustics is comparable with acoustics methods saving resolution in order of magnitude for conventional optics-based methods. It is extremely important for molecular specific based visualization using endogenous chromophore and non-chromophore absorbers such as, oxy- and deoxyhemoglobins, bilirubin, lipids, collagen, water. For instance, higher vascularization and lower oxygen hemoglobin saturation are considered as cancer maker. It has been already utilized for breast cancer screening [1]. Significant disadvantage of fluorescent and optoacoustic visualization is low penetration depth to the biological tissue up to some millimeters. MRI does not have such type of disadvantage, but high cost of device and necessity of narcosis for children limits availability of this method. In connection with the above, the development of multimodal contrast agents is an extremely important task. There are some trends of modern biophotonics: 1) combination of OA and US imaging; 2) combination of OA with fluorescent imaging [2]; 3) transfer to mid-IR [3]; 4) preparation of multimodal contrast agents that can be provided the contrast by some clinical methods including optoacoustics, fluorescence, MRI, US etc. [2,4,5]; 5) preparation of calibration grids allowed the quick evaluation of OA devices [6]; 5) using minimally invasive optoacoustics [7,8]; 6) optical clearing approach [9]. In report will be presented the results of *in vivo* optoacoustic applications and besides both optoacoustic mesoscopy and tomography. Moreover, techniques for preparation of multimodal contrast agents will be considered [2]. Particular attention will be devoted to the implementation of near and mid-IR for OA microscopy and endoscopy and the prospects for its application for *in vitro* and *in vivo* studies, for example, for the analysis of histological sections, as well as for determining the type of atherosclerotic plaques, respectively.

Acknowledgement

This work was supported by Clover Program: Joint Research Projects of Skoltech, MIPT, and ITMO.

References

1. <https://www.fda.gov/medical-devices/recently-approved-devices/imagior-breast-imaging-system-p200003>
2. M.D. Mokrousov et al, *Biomedical Optics Express*, 2021, **12(6)**, 3181-3195
3. M.A. Pleitez et al, *Nat. Biotechnol.*, 2020, **38(3)**, 293–296
4. M.V. Novoselova et al, *Colloids and Surfaces B*, 2021, 111576
5. J. Mujtaba et al, *Advanced Materials*, 2021, 2007456(1-40)
6. M. R. Chetyrkina et al, *ACS Photonics*, 2022, **9(10)**, 3429-3439,
7. H. Guo et al, *J. Biophotonics*, 2020, **13(12)**, 1–20
8. N. Kaydanov et al, *ACS Photonics*, 2021, **8, 11**, 3346–3356
9. M.V. Novoselova et al, *Photoacoustics*, 2020, 100186
10. S.V. German et al, *Scientific Reports*, 2018, **8(1)**, 17763

**БЕЗМАРКЕРНЫЕ ОПТИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРЫ
НА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОЛНАХ
В ОДНОМЕРНЫХ ФОТОННЫХ КРИСТАЛЛАХ
ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

Д.В. Басманов

ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва,
basmanov.dmitry@gmail.com

Аннотация. Среди используемых на сегодняшний день безмаркерных методов детекции межмолекулярных взаимодействий одним из наиболее перспективных является метод высокоточной многопараметрической детекции с использованием поверхностных волн (ПВ) в одномерных фотонных кристаллах (ОФК). На основе ПВ в ОФК также существуют биосенсоры, осуществляющие мультиплексную детекцию с использованием двумерного пространственного разрешения на поверхности ОФК. Одним из способов повышения чувствительности таких методов является модификация чувствительного слоя ОФК. Ранее нами был разработан подход к созданию 3D-покрытий на основе декстранов с различными активными группами (альдегидными, карбокси-, эпоксидными) и разной молекулярной массой, позволяющий связывать лиганды для высокоэффективной сорбции малых биомолекул и их последующей детекции с помощью ПВ ОФК биосенсора в реальном времени. Для достижения ультра чувствительности нами разработана модификация поверхности ОФК на основе дендримеров полиамидоамина, позволяющая детектировать взаимодействие низких концентраций комплементарных олигонуклеотидов на поверхности ОФК в реальном времени.

Детекция межмолекулярных взаимодействий в безмаркерном оптическом биосенсоре происходит на чувствительной поверхности ОФК, где кристалл представляет собой искусственно созданную многослойную периодическую структуру, в которой возможно управляемое возбуждение поверхностных оптических мод вдоль чувствительной поверхности. Чувствительная поверхность ОФК представляет собой оксид кремния и создание на его поверхности развитой структуры для увеличения сорбционной емкости влечёт за собой увеличение чувствительности метода. В настоящий момент ОФК применяются как в биосенсорах с одновременной регистрацией объемного показателя преломления раствора в реальном времени без использования кюветы сравнения (EVA 2.0, www.pcbiosensors.com), так и в биосенсорах с мультиплексной детекцией (EVA 3.0, www.pcbiosensors.com). Увеличение чувствительности метода является важной задачей для обоих типов биосенсоров. Ранее нами была исследована методика модификации чувствительной поверхности ОФК на основе полисахаридов декстрана с введёнными в его состав активными группами (карбонильными, эпоксидными и т.д) с созданием 3D-матрицы [1]. Также ранее была реализована мультиплексная детекция взаимодействия антиген-антитело одновременно в 384-х точках с модификацией поверхности ОФК (3-амипропил)триэтоксисиланами и глутаровым альдегидом [2].

Для радикального увеличения чувствительности метода биосенсинга была разработана модификация поверхности ОФК дендримерами полиамидоамина 4 поколения, позволившая достичь ультра чувствительности даже для детекции взаимодействия объектов малой молекулярной массы, таких как олигонуклеотидные зонды. Полученные таким образом 3D-структуры на поверхности ОФК обеспечили увеличение сорбционной способности более чем в 10 раз по сравнению с планарной поверхностью ФК, а также более чем в 5-6 раз по сравнению с 3D-структурами на основе декстрана с активными группами [3]. Такая методика модификации чувствительной поверхности ОФК может быть использована в дальнейшем для мультиплексной детекции комплементарных олигонуклеотидных мишеней в реальном времени.

Ссылки

1. S. Sizova, R. Shakurov, T. Mitko, F. Shirshikov, D. Solovyeva, V. Konopsky, E. Alieva, D. Klinov, J. Bespyatykh, D. Basmanov, *Polymers*, 2022, **14**(1), 152,
2. V. Konopsky, T. Mitko, K. Aldarov, E. Alieva, D. Basmanov, A. Moskalets, A. Matveeva, O. Morozova, D. Klinov, *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 168,
3. R. Shakurov, S. Sizova, S. Dudik, A. Serkina, M. Bazhutov, V. Stanaityte, P. Tulyagin, V. Konopsky, E. Alieva, S. Sekatskii, J. Bespyatykh, D. Basmanov, *Polymers* 2023, **15**(12), 2607.

BIMODAL CONTRAST AGENTS BASED ON J-AGGREGATES OF INDOCYANINE GREEN

M.D. Mokrousov¹, M.V. Novoselova¹, O.V. Grishin², D.A. Gorin¹

¹ Center for Photonic Science and Engineering, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia
maksim.mokrousov@skoltech.ru

² Saratov State University, Saratov, Russia

Abstract. Medical imaging has improved diagnosis and treatment of diseases, providing non-invasive ways to visualize and assess the internal structures of the human body. Contrast agents enhance images and diagnostic accuracy. Indocyanine Green (ICG) is a widely used contrast agent due to its excellent biocompatibility and unique optical properties but has limited clinical use due to low stability. ICG J-aggregates (IJA) have emerged as a promising alternative to conventional ICG, owing to their strong optical properties and enhanced stability. Here we explore the optical properties and potential applications of IJA as bimodal contrast agents for in optical and photoacoustic imaging.

Optical characteristics study of IJA

The main feature of the IJA is strong and narrow absorption spectrum in the near-infrared (NIR) region, with a peak at 890 nm. This spectral profile is particularly attractive for biomedical imaging applications as it falls into the NIR therapeutic window where biological tissues exhibit minimal absorption and scattering. IJA was prepared by heat treatment of ICG aqueous solution [1]. The process was controlled by spectroscopic measurements. High absorbance allows usage as contrast agent in optoacoustic imaging. Optoacoustic imaging is a non-invasive imaging technique that combines the high spatial resolution of ultrasound with the high contrast of optical imaging. The strong absorbance of IJA in the NIR region makes them an ideal contrast agent for this imaging modality. Introducing IJA to the previously demonstrated composite bimodal contrast agents [2] can increase the contrast and functionality of such agents. The combination of spectral, optoacoustic, and stability features makes IJA a highly promising material for bimodal contrast agents in biovisualisation.

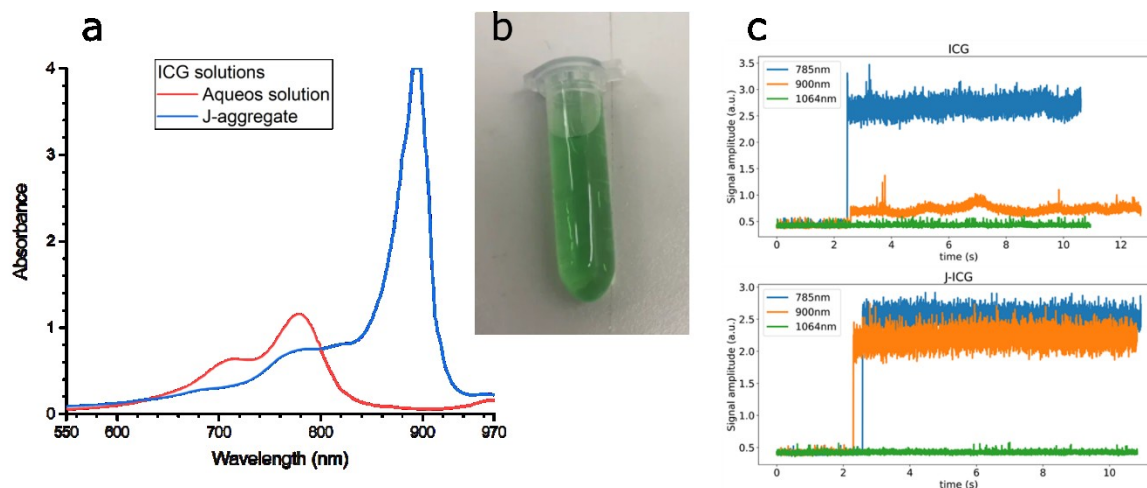


Figure 1. Absorbance spectra comparison for ICG and IJA solutions at the same concentration (a). Image of the IJA solution (b). Optoacoustic signals of ICG and IJA aqueous solutions (c).

Acknowledgements

This work was supported by Clover Program: Joint Research Projects of Skoltech, MIPT, and ITMO.

References

1. F. Rotermund, R. Weigand, A. Penzkofer, *Chem. Phys.*, 1997, **220**(3), 385–392.
2. M. D. Mokrousov, W. Thompson, S. A. Ermilov, T. Abakumova, M. V. Novoselova, O. A. Inozemtseva, T. S. Zatsepin, Vladimir P. Zharov, E. I. Galanzha, D. A. Gorin, *Biomed. Opt. Express.*, 2021, **12**(6), 3181-3195.

НАНОЧАСТИЦЫ Si И Si/Ag, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ: БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ В ОПТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ

С.В. Заботнов¹, Д.В. Шулейко¹, В.Ю. Нестеров¹, О.И. Соколовская¹, Л.А. Головань¹,
А.В. Хиллов², Д.А. Куракина², Е.А. Сергеева², П.Д. Агрба³, А.Н. Балашова³,
М.Ю. Кириллин²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия, zabotnov@physics.msu.ru

² Институт прикладной физики им А.В. Гапонова-Грехова РАН, Нижний Новгород, Россия

³ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Аннотация. Показана перспективность использования кремниевых наночастиц (КНЧ), получаемых методом лазерной абляции в жидкостях, в качестве агентов для контрастирования структурных неоднородностей методом оптической когерентной томографии на примере внедрения в фантом агарового геля. Численное моделирование и эксперимент с фантомом показали возможность использования КНЧ для фотогипертермии таких опухолей, как базально-клеточная карцинома человека. Декорирование серебром поверхности КНЧ позволяет увеличить поглощение падающего излучения в спектральном диапазоне вблизи 435 нм. КНЧ демонстрируют низкую токсичность при пероральном введении и нанесении на кожные покровы лабораторных мышей, но повышают уровень стресса животных.

Кремниевые наночастицы (КНЧ) благодаря своей низкой токсичности и биodeградируемости успешно используются в различных биомедицинских приложениях [1,2].

В настоящей работе проводится исследование возможностей использования в биофотонике КНЧ, сформированных методом фемтосекундной (1250 нм, 150 фс) и пикосекундной (1064 нм, 34 пс) лазерной абляции монокристаллических и пористых мишеней кремния в различных жидкостях: воде, этаноле, жидком азоте и водно-этанольном растворе с нитратом серебра. В последнем случае реализуется возможность декорирования поверхности КНЧ серебряными частицами размером несколько нанометров (Si/Ag) [3].

В результате абляции были сформированы взвеси КНЧ, средний размер которых варьировался от 25 до 120 нм в зависимости от параметров лазерных импульсов (энергия, длительность и число), используемых мишеней и буферных жидкостей.

Анализ измеренных значений коэффициентов рассеяния и поглощения изготовленных взвесей КНЧ показал, что такие наносистемы представляют интерес как контрастирующие агенты в оптической когерентной томографии. Данное предположение было подтверждено экспериментами по контрастированию структурных неоднородностей агарового геля с внедренными КНЧ.

В результате моделирования процесса фотогипертермии показано, что при внедрении КНЧ в подкожную базально-клеточную карциному человека можно подобрать параметры облучения (633 нм, 60–200 мВт), обеспечивающие гипертермию всей опухоли без значительного перегрева окружающих здоровых тканей. Эксперимент по нагреву фантома, имитирующего оптические свойства кожи человека и изготовленного на основе агарового геля, липофундина и красной туши, подтвердил, что добавление КНЧ в фантом увеличивает его нагрев при эквивалентных условиях облучения (660 нм, 410 мВт/см²). Декорированные наночастицы Si/Ag представляют интерес для дальнейшего исследования в качестве агентов для фотогипертермии, поскольку включения серебра согласно анализу данных спектрофотометрии обеспечивают резонансное Ми-поглощение в спектральном диапазоне вблизи 435 нм и могут увеличить нагрев без увеличения концентрации агентов по массе.

Проведен *in vivo* мониторинг динамики реакции лабораторных мышей на введение КНЧ с помощью теста «Open field» («Открытое поле»), позволяющего сделать оценки общей (локомоторной) и исследовательской активности животных. Показана низкая токсичность КНЧ при пероральном введении и нанесении на кожные покровы, но повышение уровня стресса в экспериментальных группах по отношению к контрольной.

Таким образом, биосовместимые КНЧ, формируемые методом лазерной абляции в жидкостях, представляют несомненный интерес для решения задач тераностики.

1. M. d'Amora, M. Rodio, G. Sancataldo, et. al., *ACS Appl. Bio Mater.*, 2019, **2**(1), 321–329.
2. S.V. Zabotnov, A.V. Skobelkina, E.A. Sergeeva, et al., *Sensors*, 2020, **20**(17), 4874.
3. S.O. Gurbatov, V. Puzikov, E. Modin, et al, *Materials*, 2022, **15**(22), 8091.

**ГКР МЕТКИ С УСИЛЕНИЕМ ПОЛЯ В ЗАЗОРЕ:
СИНТЕЗ И ПРИМЕНЕНИЕ В БИОИМИДЖИНГЕ И БИОСЕНСИНГЕ**

Б.Н. Хлебцов

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,
ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН),
410049, пр. Энтузиастов, д. 13, Саратов, Россия
khlebtsov_b@ibppm.ru

Рамановские метки с усилением поля в зазоре (GERTs) – это новый класс зондов для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния, которые нашли многообещающие применения в аналитической химии и биоимиджинге. Из-за внутренней локализации Рамановских репортерных молекул они защищены от нежелательной внешней среды, агрегации частиц и демонстрируют сверхвысокий сигнал ГКР, обусловленный усилением электромагнитных полей в зазорах внутри металлических структур вида ядро-оболочка. Мы обсуждаем недавний прогресс в синтезе, исследовании оптических свойств и биомедицинских приложениях новых сферически-симметричных и анизотропных GERTs. Особое внимание уделяется использованию наночастиц в качестве меток для иммуноанализа и для Рамановского биоимиджинга раковых клеток и тканей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-24-00062).

**Мультимодальная оптическая
диагностика**

Multimodal optical diagnostics

OPTOACOUSTIC ANGIOGRAPHY AND DIFFUSE OPTICALSPECTROSCOPY
FOR EXPERIMENTAL ONCOLOGY

**A.G. Orlova¹, K.G. Akhmedzhanova¹, A.A. Kurnikov¹, A.M. Glyavina^{1,2}, D.A. Khochenkov³,
Yu.A. Khochenkova³, A.V. Maslennikova^{1,2,4}, D.V. Skamnitsky⁵, A.V. Khilov¹, V.V. Perekatova¹,
I.V. Turchin¹, P.V. Subochev¹**

¹ A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of RAS, Nizhny Novgorod, Russia, anna@ipfran.ru

² N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

³ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

⁴ Privolzhsky Medical Research University, Nizhny Novgorod, Russia

⁵ Nizhny Novgorod Regional Oncology Hospital, Nizhny Novgorod

Abstract. In this work using complementary optoacoustic imaging and diffuse optical spectroscopy we compared the characteristics of the vascular network of different experimental tumors and assess vascular reaction radiation therapy. Raster-scan OA system with 532 nm laser and wideband PVDF detector and fiber-optic based DOS system in a reflectance geometry were used. Differences in the vessel fraction, hemoglobin content and oxygenation level of tumor xenografts of different morphogenesis are revealed. Modifications of vascular structure and blood oxygen saturation level were demonstrated in response to a single-dose irradiation.

The study of tumor angiogenesis and oxygen state is important for understanding the role of circulatory system in the mechanism of neoplasm growth and its reaction to therapy [1]. In this work using complementary optoacoustic (OA) imaging and diffuse optical spectroscopy (DOS) we compared the characteristics of the vascular network of different experimental tumors and assess vascular reaction radiation therapy. Hybrid methods of OA imaging [2] enable label-free optical-contrast angiography at optical penetration depths with ultrasonic resolution. DOS is based on detection of the multiply scattered diffuse component of light that has passed through a layer of biological tissue and reconstruction of concentration main tissue chromophores such as oxy- and deoxyhemoglobin [3].

For OA we used raster-scan system with pulsed laser (532 nm; 1 ns; 2 kHz) and wideband PVDF detector providing less than 50 μm lateral spatial resolution. For DOS we used the fiber-optic based system in a reflectance geometry with a broadband LED source of light irradiation and a spectrometer as a detector. The comparison of vascularity was performed on tumor models of human renal cell carcinoma SN-12C and human colon carcinoma HCT-116 and Colo320. OA and DOS study were carried out then the tumor averaged volume reached 700 mm^3 . Investigation of tumor reaction to irradiation was performed on murine colon carcinoma CT26 before and every 1-3 days after radiation therapy (single doses of 6, 12, 18 Gy).

OA revealed the highest values of vessel size and fraction for Colo320. DOS showed increased content of deoxyhemoglobin that led to reduction of saturation level for Colo320 as compared to other tumors [4]. Experiments evaluating the response of a tumor to irradiation showed a decrease in density and an increase in fragmentation of small vessels, while for large vessels a reverse reaction was revealed. The duration of the vascular response increases with increasing radiation dose, while radiation-induced reoxygenation was detected only at a high radiation dose and occurs despite incomplete recovery of vascular damage [5].

The possibilities of combination of methods of OA and DOS for *in vivo* analysis of vessels structure and oxygenation of experimental tumors have been demonstrated. This combination may be used for identifying the features of blood vessel structure and their influence on oxygenation of different tumors as well as for monitoring vascular response to treatment.

Acknowledgements: The study is supported by the Russian Science Foundation (No 21-15-00032).

References

1. J. M. Brown and W. R. Wilson, *Nat. Rev. Cancer*, 2004, **4**(6), 437-447.
2. L.V. Wang, S. Hu, *Science*, 2012, **335**(6075), 1458-1462.
3. T. Durduran, R. Choe, W.B. Baker, A.G. Yodh, *Rep Prog Phys.*, 2010, **73**(7), 076701.
4. K. Akhmedzhanova, A. Kurnikov, D. Khochenkov, Ju. Khochenkova, A. Glyavina, V. Kazakov, A. Yudintsev, A. Maslennikova, I. Turchin, P. Subochev, A. Orlova, *BOE*, 2022, **13**(11), 5695-5708.
5. A. Orlova, K. Pavlova, A. Kurnikov, A. Maslennikova, M. Myagcheva, E. Zakharov, D. Skamnitskiy, V. Perekatova, A. Khilov, A. Kovalchuk, A. Moiseev, I. Turchin, D. Razansky, P. Subochev, *Neoplasia*, 2022, **26**, 100778.

IMPLEMENTATION OF DIFFUSE REFLECTANCE, OPTOACOUSTIC AND FLUORESCENCE SPECTROSCOPY FOR ENDOGENOUS CHROMOPHORES MONITORING

S.A. Perkov, V.A. Vorobev, M.A. Kurochkin, D.A. Gorin

Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

Abstract. Nowadays there is a demand for development of accurate and noninvasive techniques for endogenous chromophores monitoring. In particular, such techniques are required for optimization of the treatment of neonatal jaundice, edema and hemangioma. In this work we present an overview of the implementation of Diffuse Reflectance, Optoacoustic and Fluorescence Spectroscopy for endogenous chromophores monitoring in the case of the above mentioned diseases.

Currently plenty of treatment techniques require optimization based on the knowledge of the current state of the disease, which can be provided by the endogenous chromophores monitoring. For example, in the neonatal jaundice, it is bilirubin; in hematoma – oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin and bilirubin; in hemangioma – oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin, and in edema – water. In this work we have implemented optoacoustic technique and diffuse reflectance spectroscopy for edema monitoring, fluorescence and optoacoustic spectroscopy for monitoring of neonatal jaundice and diffuse reflectance spectroscopy for hemangioma monitoring.

We have developed multilayered edema phantoms with different water concentration and used optoacoustic spectroscopy in the wavelength range from 1370 nm to 1650 nm [1]. Moreover, we have used diffuse reflectance spectroscopy in the wavelength range from 1300 nm to 2300 nm to capture skin reflectance spectra more than of 50 volunteers and also track changes in skin water content during physical exercises.

We implemented fluorescence and optoacoustic spectroscopy for bilirubin monitoring in the hematoma and jaundiced skin phantoms during phototherapy to provide calibration curves, which allow to calculate bilirubin concentration in phantom based on the obtained signals. The phantoms were both based on liquid samples, and on gelatin. We have also demonstrated the abilities of optoacoustic technique to detect bilirubin in depth. Phototherapy of the phantoms was performed using custom made LED-setup with central wavelength of 460 nm. For optoacoustic measurements were performed using pulsed laser with the emission wavelength of 470 nm, repetition rate of 1kHz, and pulse duration 3-5 ns. Fluorescence measurements were performed on the spectrophotometer Tecan Infinite Nano+ with the excitation wavelength of 464 nm and emission wavelength of 532 nm [2-3].

Also, a hyperspectral imaging of hemangioma was used to provide quantitative assessment of the current state of the disease. The custom made prototype had LEDs of 8 different wavelengths (470 nm, 495 nm, 520 nm, 630 nm, 660 nm, 800 nm, 850 nm, 880 nm). After obtaining a hypercube of the region of interest, we used spectral unmixing algorithms to reconstruct the chromophores distribution maps. Based on those maps, we have found a quantitative parameter, that allowed to quantitatively assess the evolution of hemangioma, and demonstrated good correlation with the clinical results.

In general, the described methods allow non-invasive continuous monitoring of endogenous chromophores in the human skin for various biomedical applications.

Acknowledgements

This work was supported by Skoltech NGP Program.

References

- [1] S. Perkov, D. Gorin, R. Esenaliev, *Journal of Biophotonics*, 14.3 (2021): e202000363
- [2] S. Perkov, D. Gorin, *Physical Chemistry Chemical Physics* 25.6 (2023): 4460-4466
- [3] S. Perkov et. al., *Journal of Biophotonics*, Just Accepted (DOI: 10.1002/jbio.202200339), (2023)

ПРИМЕНЕНИЕ ПОРТАТИВНЫХ АНАЛИЗАТОРОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА В МОНИТОРИНГЕ СНА

**Ю.И. Локтионова¹, Е.В. Жарких¹, В.Е. Паршакова¹,
В.В. Сидоров², А.И. Крупаткин³, А.В. Дунаев¹**

¹НТЦ биомедицинской фотоники ОГУ им. И.С. Тургенева, Орёл, Россия, julya-loktionova@mail.ru

²ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия

³ФГБУ НМИЦ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Москва, Россия

Аннотация. В работе представлены первичные результаты длительного мониторинга микроциркуляторно-тканевых систем организма человека во время сна с помощью портативных мультимодальных анализаторов микроциркуляции крови и окислительного метаболизма тканей.

Введение

Несмотря на активное изучение организма человека во время сна, мало внимания уделяется микроциркуляторно-тканевым системам (МТС), обеспечивающим доставку кислорода и питательных веществ к клеткам биологической ткани и утилизацию продуктов их жизнедеятельности. Создание мультимодальных портативных устройств «ЛАЗМА-ПФ» (ООО НПП «ЛАЗМА») для анализа микроциркуляции крови и окислительного метаболизма тканей [1] позволило расширить сферы применения оптических методов диагностики состояния МТС. Целью данной работы явилось изучение возможностей длительного мониторинга МТС во время сна с помощью новых носимых устройств.

Материалы и методы

Устройства «ЛАЗМА-ПФ» закреплялись симметрично справа и слева на тыльных сторонах запястий. Измерения проводились на двух условно-здоровых добровольцах (девушки 23 и 26 лет) во время ночного сна с 00:00 по 7:00 ч непрерывно в течение 6-7 часов (время измерений зависело от разрядки аккумуляторов устройств). Для анализа параметров периферического кровотока (методом лазерной доплеровской флоуметрии) и окислительного метаболизма тканей (методом флуоресцентной спектроскопии) полученные записи разделялись на 10-минутные фрагменты, для каждого проводились расчеты средней перфузии кровотока, амплитуд колебаний кровотока, характеризующих активность механизмов регуляции микроциркуляции крови, нутритивного ($M_{\text{нутр}}$) и шунтового ($M_{\text{шунт}}$) кровотока, а также средней нормированной амплитуды интенсивности флуоресценции биомаркера окислительного метаболизма - кофермента NADH (A_{NADH}).

Результаты исследования

У 1-ого волонтера соотношение $M_{\text{нутр}}$ и $M_{\text{шунт}}$ находилось в пропорции 1 к 1. Тогда как у 2-ого волонтера эти показатели активно изменялись в течение всей длительности мониторинга. Стоит отметить, что у 2-ого волонтера в утренние часы наблюдалось уменьшение вклада $M_{\text{нутр}}$ в общую тканевую перфузию одновременно с уменьшением амплитуд миогенных осцилляций. Вместе с тем, к утру отмечался рост A_{NADH} , свидетельствующий о снижении окислительного метаболизма. Предварительные результаты соотносятся с ранее полученными данными о констрикции крупных периферических сосудов во время фаз быстрого сна [2].

Таким образом, полученные результаты показывают возможность применения портативных устройств для длительного мониторинга МТС с целью исследования механизмов регуляции биоткани во время сна, что позволит получить уникальную информацию о влиянии расстройств сна на функциональное состояние МТС организма человека.

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке РФФ в рамках научного проекта № 23-25-00522.

Ссылки

1. В.В. Сидоров, Ю.Л. Рыбаков, В.М. Гукасов, Г.С. Евтушенко *Медицинская техника* **6**, 4-6, (2021).
2. Lavie P., Schnall R., Sheffy J., Shlitner A. *Nat Med* **6**, 606, (2000).

FINDING ALIEN OBJECTS IN BLOOD: PHOTOACOUSTIC AND FLUORESCENT TECHNIQUES FOR IN VIVO CYTOMETRY

D.N. Bratashov

Saratov State University, Saratov, Russia,
dn2010@gmail.com

Abstract. Two systems have been developed to measure in vivo cytometry of ultra rare objects in the bloodstream. The photoacoustic flow cytometry instrument allows the detection of circulating melanoma cells in a completely non-invasive way. It has been tested in cell culture injected and induced grafted melanoma mouse models. The lightsheet in vivo cytometry instrument allows for monitoring and magnetic retrieval of foreign objects from the blood stream passing through an external flow cell that connects two large blood vessels.

Two different *in vivo* cytometry devices have been developed to access ultra-rare populations of circulating tumor cells and targeted drug delivery systems directly into the bloodstream. The first is a photoacoustic flow cytometry system that works directly with the patient's large blood vessels. It measures the photoacoustic response from a small volume inside the vessel, limited by a focused PVDF acoustic sensor. The difference between a linear photoacoustic signal from blood cells and a non-linear signal from melanin grains provides the main detection scheme for this device. This can be done completely non-invasively and has been confirmed in mice with injected cultured cells and induced transplanted melanoma. For human patients, the problem is still how to deliver enough laser light to the depth of large vessels, but not exceed the density of light at the level of the skin.

Another *in vivo* cytometry device is based on light sheet detection scheme initially developed in SPIM-Fluid open source project. It was supplemented with a large cross-section flow cell connected to two capillaries that could be fed cell suspension by a syringe pump or connected directly to the bloodstream of a relatively large animal such as a rat. The blood velocity inside the large vessels is sufficient to ensure the flow in the cell even without additional pumping. The magnetic separator ensures the extraction of magnetic and magnetically-functionalized objects from the flow.

It allows the measurement of fluorescent objects in a blood stream and is currently used mainly to test the behavior of polyelectrolyte microcapsules in a blood vessel. This allows you to detect microcapsules aggregation and other unwanted behavior, access the efficiency of magnetic separation from the bloodstream, and perform other tests to find out how artificial objects behave in the flow. It also allows the extraction of magnetically labeled objects from the blood of animals after several cycles of circulation with the blood stream. Thereafter, various effects on biocompatible entities in whole blood (adsorption of additional protein corona, digestion of biodegradable materials by enzymes) can be analyzed using conventional *in vitro* microscopy such as AFM or SEM.

Acknowledgements

This research was supported by Russian Science Foundation, grant number 18-19-00354 and Government of Russian federation, grant number 075-15-2021-617 (megagrant).

References

1. A. Kozlova, D. Bratashov, O. Grishin *et al.* *Sci Rep* **11**, 1185 (2021).
2. R. Verkhovskii, A. Kozlova, O. Sindeeva *et al.* *Biomed. Opt. Express* **12**, 380-394 (2021)
3. R. Verkhovskii, A. Ermakov, O. Sindeeva *et al.* *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2147.
4. R. Verkhovskii, A. Ermakov, O. Grishin *et al.* *Molecules* **2022**, *27*, 6073.

**Флуоресцентная молекулярная
визуализация**

Fluorescence molecular imaging

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ ОПУХОЛЕЙ НА ОСНОВЕ
АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КОФАКТОРА НАД(Ф)Н

**М.В. Ширманова, А.Д. Комарова, Д.В. Южакова, И.Н. Дружкова, А.М. Можеров,
Д.А. Сачкова, Н.И. Игнатова, Е.В. Загайнова, К.С. Яшин, В.И. Щеславский**

Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, Россия,
shirmanovam@mail.ru

Аннотация. Флуоресцентный время-разрешенный имиджинг (FLIM) кофактора НАД(Ф)Н представляет собой современный неинвазивный метод оценки клеточного метаболизма. Метаболизм опухолей является предметом активных исследований, поскольку его перестройки имеют ключевое значение для канцерогенеза. В докладе представлены результаты исследований, посвященных применению FLIM НАД(Ф)Н в изучении метаболизма опухолевых клеток в моделях *in vitro*, *in vivo* и образцах тканей пациентов. Продемонстрированы возможности FLIM для идентификации отличий опухолей и нормальных тканей и мониторинга эффективности противоопухолевой химиотерапии.

Оптическая визуализация метаболического состояния клеток и тканей основана на регистрации автофлуоресценции кофакторов из классов пиридинов (НАДН и НАДФН, суммарно обозначаемые как НАД(Ф)Н) и флавинов (ФАД и ФМН), участвующих в качестве переносчиков электронов в различных биохимических процессах, и прежде всего в клеточной биоэнергетике. Среди метаболических кофакторов в опухолях наиболее представлен НАД(Ф)Н. НАД(Ф)Н присутствует в клетке в двух формах: свободной (~0.4 нс), которая ассоциирована с гликолизом, и связанной с белками (~1.7–3.0 нс), ассоциированной с митохондриальным дыханием. Достоинствами оптического метаболического имиджинга являются неинвазивность, возможность проведения исследования на живых клетках без применения экзогенных красителей, быстрое получение информации о метаболическом статусе.

Предметом наших исследований является метаболизм опухолевых клеток. Важными особенностями метаболизма опухолевых клеток являются повышенная интенсивность гликолиза даже в присутствии достаточного содержания кислорода (эффект Варбурга), метаболическая пластичность, внутри- и межопухолевая гетерогенность [1, 2].

В своих работах на клеточных моделях *in vitro*, опухолях мышей *in vivo* и послеоперационных образцах тканей пациентов мы оценили возможности FLIM НАД(Ф)Н для дифференцирования опухолей от нормальной ткани и оценки ответа на химиотерапию. Например, было показано, что с помощью конфокального макроимиджинга FLIM можно отличать глиомы от белого вещества мозга, что может стать основой для новых подходов в диагностике [3]. Установлены характерные изменения в метаболизме при действии химиопрепаратов различной природы. Показано, что ответ опухолевых клеток на терапию сопровождается переключением метаболизма на более окислительный, что проявляется увеличением вклада связанной формы НАД(Ф)Н [4]. Регистрация метаболических изменений при действии лекарственных препаратов с помощью FLIM-микроскопии в клетках, выделенных из опухолей пациентов, может стать полезным инструментом индивидуального подбора лечения [5].

Работа поддерживается грантом РФФИ № 22-64-00057. Авторы благодарны М.М. Лукиной, Л.Б. Сноповой, С.Д. Синюшкиной, А.В. Изосимовой и другим участникам данной работы.

1. M. Shirmanova, et al., Chapter 3 in "Multimodal optical diagnostics of cancer", Springer, 2020, 133-155, ISBN 978-3-030-44594-2
2. E. Shirshin et al. *PNAS*, 2022, 119 (9), e2118241119
3. M. Lukina et al. *Frontiers in Oncology*, 11, 2021, 1781
4. M. Lukina et al. *Cytometry Part A*. 2019;95(1):47-55.
5. D. Yuzhakova et al. *Pharmaceuticals* 2023, 16, 796

ENHANCER LANDSCAPE VISUALIZATION IN LIVE-CELL FLUORESCENCE MICROSCOPY USING GENETICALLY ENCODED EPIGENETIC PROBES

Z.V. Besedovskaia, L.V. Putlyaeva and K.A. Lukyanov

Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia, zлата.besedovskaia@skoltech.ru

Abstract. Live cells utilize specific histone modifications reader domains (HMRDs) to recognize and interact with histone modifications. In 2019, Prof. Terskikh introduced Microscopic Imaging of Epigenetic Landscapes (MIEL) for analyzing single-cell epigenetic changes. It involves staining cells with antibodies for specific modifications, followed by machine learning-based image analysis. We present LiveMIEL, an adapted version for live cells. LiveMIEL uses genetically encoded epigenetic probes, relying on HMRD specificity instead of antibodies. This enables dynamic epigenetic landscape visualization including active enhancer regions. These low-toxicity probes have diverse applications in drug development, cancer and aging research, and fundamental studies.

Histone post-translational modifications have a profound impact on chromatin structure and function [1]. These modifications are recognized by specific histone modifications reader domains (HMRDs) that are mainly parts of large multiprotein complexes [2]. Understanding the role of these chromatin modifications in genome organization and their response to cellular events remains a major challenge.

In 2019, Professor Terskikh and colleagues introduced a novel method for high-throughput analysis of epigenetic changes at the single-cell level [3]. This method, known as Microscopic Imaging of Epigenetic Landscapes (MIEL), involves staining fixed cells with antibodies specific to selected histone modifications, followed by image analysis using machine learning to classify and compare epigenetic patterns or landscapes. The applicability of MIEL in detecting epigenetic changes during cell differentiation and drug treatment has been demonstrated.

We present genetically encoded epigenetic probes (GEEPs) for MIEL adaptation for live-cell fluorescence microscopy. Instead of relying on antibodies, LiveMIEL utilizes the natural specificity of HMRDs towards specific modifications, enabling the visualization and of dynamic epigenetic landscapes (**Fig.1**). These probes exhibit low toxicity and are suitable for various cell types. They are applicable to multiple research tasks, i.e., drug development, cancer research, and fundamental studies.

Our specific focus is on enhancers, regulatory elements actively interacting with promoters to control gene expression. Enhancers can exert regulatory functions regardless of their position, orientation, or spatial distance. Active enhancers are marked by the H3K4me1 and H3K27ac modifications, while poised enhancers are enriched with the H3K27me3 repression mark that needs to be removed before enhancer activation [4]. We leverage these features to develop GEEPs for the visualization of enhancers.

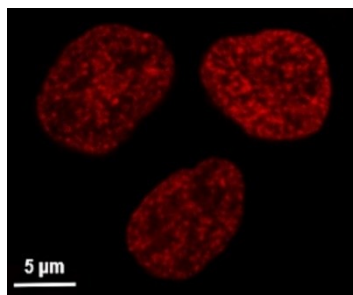


Fig. 1: Fluorescent patterns representing H3K4me1 epigenetic landscapes in HEK 293T cells

Acknowledgements. This work was partially supported by the Russian Science Foundation grant 22-14-00141.

References

References should appear here, at the end of the summary in the order referenced in the main text.

1. Sadakierska-Chudy A, Filip M., *Neurotox Res.*, 27, 172–197, (2015).
2. Musselman CA, Lalonde M-E, Côté J, Kutateladze TG, *Nat Struct Mol Biol.*, 19, 1218–1227, (2012).
3. Farhy C, Hariharan S, Ylanko J, Orozco L, Zeng FY, Pass I, Ugarte F, Forsberg EC, Huang CT, Andrews DW, Terskikh AV., *Elife*, 8, e49683, (2019).
4. Sharifi-Zarchi A, Gerovska D, Adachi K, Totonchi M, Pezeshk H, Taft RJ, et al., *BMC Genomics*, 18, 964, (2017).

SARS-COV-2 M-PROTEIN: INTRACELLULAR MATURATION AND LOCALIZATION ANALYSIS USING FLUORESCENCE MICROSCOPY

A.Yu. Korobov, Z.V. Besedovskaia, L.V. Putlyaeva, K.A. Lukyanov

Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia, Artemii.Korobov@skoltech.ru

Abstract. Structural SARS-CoV-2 M-protein was visualized in living cells. For that a system of coiled coils heterodimers was used. The M-protein maturation mechanism was also considered and the expression timings in the early stages was determined. Colocalization was determined with exocytic pathway markers at the later stages of expression. At the late stages of expression, the M-protein colocalizes with the Golgi apparatus marker.

The COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2 had a severe impact on the entire global community. During the virus life cycle four structural proteins are translated from +RNA: spike (S), nucleocapsid (N), membrane (M), and envelope (E). We considered the trafficking of the M-protein, providing the virion scaffold creation [1,2].

In this study, a genetically encoded protein labeling system using short α -helices (K/E coils, KEC) was used to visualize the trafficking of the M-protein. In such systems, proteins carry artificial α -helices that tend to heterodimerize. Thus, the protein of interest is visualized by binding to the fluorescent protein through interactions between complementary helices [3]. We aimed to visualize the spatiotemporal trafficking of the M-protein in the early and late stages of maturation. The M-protein was coexpressed with marker proteins of early and late maturation pathways: rough endoplasmic reticulum (OSER), ER and Golgi intermediate compartment (ERGIC), Golgi apparatus (GalT), lysosomes, and autophagosomes. Compartments were labeled with green fluorescent proteins.

The K4V α -helix is positively charged while the complementary α -helix E4V is negatively charged, enabling dimerization. To study the colocalization of the M-protein with cellular compartments, a plasmid with two transcription units was used: the M-protein under the inducible promoter linked to the K4V α -helix and a fluorescent protein under the constitutive promoter linked to the E4V α -helix. The red fluorescent protein is expressed after transfection taking several hours to mature. The M-protein is expressed only after induction and binds to the fluorescent protein when the α -helices interact.

The image analysis showed partial colocalization of M-protein with the Golgi apparatus marker, as well as partial colocalization with the rough ER marker OSER-mAvicFP at the early, and lysosomal marker at the late stages of maturation as mentioned in the study by Ghosh S. *et al* [4] (Fig. 1).

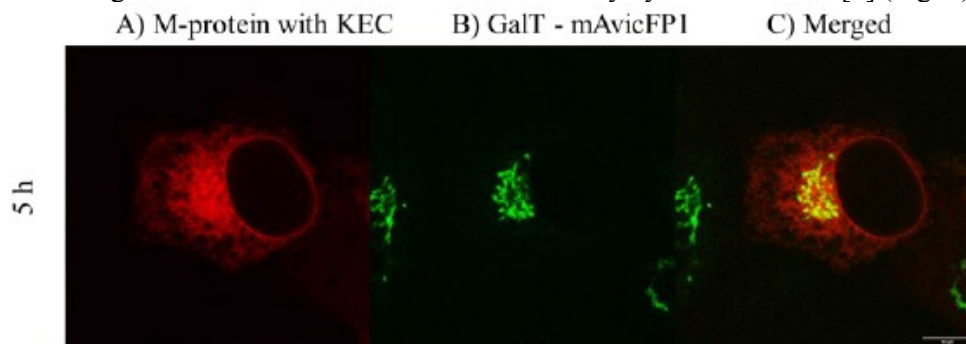


Fig. 1. Fluorescent images of *HeLa Kyoto* cells after 5 hours of M-protein maturation. A) Transmembrane lysosomal protein LAMP1 labeled with green fluorescent protein mNeonGreen. B) SARS-CoV-2 M-protein labeled with mScarlet red fluorescent protein. C) Merged images A and B.

Bibliography

1. Lu S. et al. The SARS-CoV-2 nucleocapsid phosphoprotein forms mutually exclusive condensates with RNA and the membrane-associated M protein // *Nature communications*. – 2021. – T. 12. – №. 1. – C. 1-15.
2. Putlyaeva, L. V., & Lukyanov, K. A. (2021). Studying SARS-CoV-2 with Fluorescence Microscopy. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6558.
3. Perfilov M. M. et al. Highly photostable fluorescent labeling of proteins in live cells using exchangeable coiled coils heterodimerization // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2020. – T. 77. – №. 21. – C. 4429-4440.
4. Ghosh S. et al. β -Coronaviruses use lysosomes for egress instead of the biosynthetic secretory pathway // *Cell*. Elsevier, 2020. T. 183, № 6. C. 1520–1535.

УМНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МИКРОСТРУКТУРЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ: УЛЬТРАФИОЛЕТОВАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В КАБИНЕТЕ ХИРУРГА

А.Л. Файзуллин¹, Г.М. Денисенко¹, Я.М. Валиева¹, Е.И. Иванова¹, С.Е. Соловьева²,
П.С. Тимашев¹

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия, fayzullin_a_l@staff.sechenov.ru

² ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Россия

Аннотация. Микроскопия с поверхностным возбуждением ультрафиолетом (MUSE) позволяет визуализировать микроструктуру поверхности биологических тканей, соизмеримую по глубине с толщиной гистологического препарата. Технология позволяет проводить быструю морфологическую диагностику биологических тканей с высокой точностью и без необходимости проведения дополнительных процедур подготовки образца. Мы создали оригинальный адаптер для микроскопа и развили технологию окраски операционных образцов, что позволило нам с высокой точностью разделять регионы лимфоидной и опухолевой тканей в лимфатических узлах пациентов, прошедших операции по удалению опухоли. Разработка новых технических решений в области MUSE позволит конструировать установки для мгновенной визуализации микроструктуры тканей в условиях хирургических отделений, а также откроет новые возможности для внедрения компьютерного зрения.

Актуальность

Визуализация биологических тканей является быстро развивающейся областью на стыке физики, химии и медицины. Хотя использование ультрафиолета для оценки биологических структур не является новым подходом, применение флюоресцентной микроскопии в практической медицине ограничено сложностью обработки получаемых результатов. Микроскопия с поверхностным возбуждением ультрафиолетом (MUSE) позволяет проводить быстрый (время от забора материала до визуализации занимает 3-5 минут) морфологический анализ тканей пациента без вырезки и пробоподготовки. Метод обеспечивает информативную оценку микроструктуры на клеточном и тканевом уровнях.

Методы

Фрагменты биоптатов лимфатических узлов с подозрением на наличие метастазов были окрашены Нильским красным и раствором Хёхста. Возбуждение тканей проводилось светодиодами с длиной волны 265 нм. Визуализация проводилась на микроскопе Carl Zeiss Axio Scope A1. Флюоресцентные микроскопические изображения оценивались двумя опытными патологоанатомами, которые описали морфологические паттерны метастазов.

Результаты

Лимфоидная ткань на MUSE представляла собой плотно упакованные овальные Хёхст-позитивные ядра клеток, между большими группами которых определялись тонкие прослойки стромальной ткани, содержащей клетки с преобладанием позитивной на Нильский красный цитоплазмы. Ткань метастазов представляла себя хаотично ориентированные каверны, выстланные крупными клетками с преобладанием цитоплазмы, а также участки солидного расположения данных клеток. Оценка относительной площади и локализации метастазов совпадала с получаемой при изучении микрофотографий гистологических препаратов.

Заключение

Данные результаты позволят существенно расширить возможности традиционного патоморфологического исследования, создав мощный инструмент для рутинной микроскопической диагностики. Стоит также заметить, что скорость и высокая степень диагностической ценности MUSE недостижима для традиционного патоморфологического исследования по причине многоэтапности пробоподготовки, которая приводит к альтерации образцов и риску образования артефактов, затрудняющих диагностику.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00467, <https://rscf.ru/project/22-15-00467/>.

**КОРРЕЛЯЦИЯ МИКРОВАЗКОСТИ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ
И ЖЕСТКОСТИ ЦИТОСКЕЛЕТНОГО КОРТЕКСА
ПО ДАННЫМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЁННОЙ И АТОМНО-СИЛОВОЙ
МИКРОСКОПИИ**

**Ю.М. Ефремов¹, Л.Е. Шимолина², А.М. Можеров², Н.И. Игнатова², М.К. Куимова³,
М.В. Ширманова², И.М. Зурина¹, П.С. Тимашев¹**

¹ Институт регенеративной медицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет), Москва, Россия, efremov_yu_m@staff.sechenov.ru

² НИИ ЭО и БМТ ПИМУ Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

³ Имперский колледж Лондона, Великобритания, Лондон

Аннотация. Клеточная мембрана представляет собой сложный композитный материал, чьи свойства обусловлены динамическим взаимодействием между липидным бислоем, мембранными белками, а также подмембранным цитоскелетным кортексом. В данной работе, с помощью флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY 2 и флуоресцентной микроскопии времени жизни FLIM, а также атомно-силовой микроскопии, была обнаружена прямая корреляция между микровязкостью мембран и жесткостью кортекса. Данные для сравнения свойств были получены на пяти линиях колоректального рака с разной миграционной способностью и четырех химиорезистентных линиях. Обнаруженная корреляция поможет в моделировании биомеханики клеток и будет полезна для разработки новых диагностических подходов в онкологии.

Клеточная мембрана представляет собой сложный комплекс из белков и липидов, обеспечивающий целостность клетки и регулирующий множество важных процессов взаимодействия клетки с окружающей средой. В то же время с точки зрения современной клеточной биомеханики клеточная мембрана является композитным материалом, в котором динамическая связь между липидным бислоем и подмембранным цитоскелетным кортексом определяет механические свойства такого композита. Механические свойства как на уровне мембраны, так и на уровне кортекса играют важную роль в функционировании клетки, сигнализируют о различных патологиях, в том числе о превращении нормальной клетки в раковую. Однако, взаимосвязь между механикой мембраны (микровязкость) и кортекса (модуль Юнга, вязкоупругость) до настоящего времени остается неизученной.

Настоящая работа посвящена решению данного вопроса, для чего на ряде раковых клеток (пять линий колоректального рака с разной миграционной способностью: HT29, HCT116, Caco-2, SW480, SW837, а также 4 устойчивых к оксалиплатину или 5-флуороурацилу линиях) были исследованы как микровязкость мембраны, так и механика цитоскелетного кортекса. Микровязкость была исследована с использованием флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY 2 и флуоресцентной микроскопии времени жизни FLIM на конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия). Для измерения модуля Юнга и вязкоупругих свойств клеток (цитоскелета) была применена атомно-силовая микроскопия (АСМ, микроскоп Bruker Bioscope Resolve) в режиме силового картирования с математическим анализом силовых кривых.

Как для микровязкости мембраны, так и для механических параметров кортекса были обнаружены различия между клеточными линиями в зависимости от их миграционной способности. Впервые была обнаружена прямая корреляция между микровязкостью мембран и модулем Юнга (жесткостью) кортекса, а также более слабая обратная корреляция с вязкоупругим параметром кортекса, характеризующим близость поведения материала к жидкости.

Полученные данные свидетельствуют об интеграции мембраны и кортекса в единую механическую систему, где свойства каждого из компонентов могут подстраиваться друг под друга. Хотя молекулярные механизмы наблюдаемых зависимостей остаются под вопросом, можно предположить существенную роль трансмембранных белков, связывающих мембрану и кортекс, чья плотность может влиять и на микровязкость мембраны, и на степень сшивки кортекса и его жесткость.

Проведенное исследование представляет новые данные о клеточной биомеханике, что позволит разработать новые модели для её описания. Полученные данные открывают возможность для предсказания изменений в микровязкости мембраны по жесткости кортекса и наоборот, и будут полезны для разработки новых диагностических подходов в онкологии.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках грантов № 23-74-00045 (микровязкость, АСМ эксперименты) и № 21-15-00349 (обработка данных АСМ).

**Фотоиндуцированные процессы.
Фотодинамическая терапия**

**Photoinduced processes.
Photodynamic therapy**

ПЛАНИРОВАНИЕ И МОНИТОРИНГ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

С.В. Гамаюнов

ГБУЗ НО Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, Н. Новгород, Россия,
gama_jnovs@mail.ru

Аннотация. Фотодинамическая терапия является одним из высокотехнологичных методов современной медицины [1]. ФДТ – многофакторный процесс. Все разнообразие индивидуальных клинико-морфологических параметров опухоли, основных компонентов ФДТ (свет, ФС, кислород), фотопродуктов реакций I и II типа и биологических эффектов (повреждение клеток, сосудов опухоли, иммунный ответ) в настоящее время можно контролировать [2]. Несмотря на прогрессирующее развитие ФДТ актуальным вопросом остается оптимизация технологии по нескольким направлениям: стандартизация лечебно-диагностических протоколов, разработка и внедрение методов выявления предикторов ответа на ФДТ и раннего контроля эффективности лечения, создание количественных инструментов для планирования, дозиметрии и мониторинга протекания фотодинамической реакции [3].

Целью нашей работы стала разработка подходов для индивидуализированного планирования и неинвазивного мониторинга фотодинамической терапии с целью обеспечения гарантии качества, эффективности и безопасности лечения пациентов. В исследование включено 753 пациента с немеланомными опухолями кожи, проходивших лечение в ГБУЗ НО НОКОД. Экспериментальные работы проводились на белых беспородных мышах серии BALB/c с перивизиной опухолью СТ26.

В результате работы:

1. Выявлены клинико-морфологические параметры опухоли, оказывающие значимое влияние на эффективность ФДТ. Плоскоклеточный вариант рака кожи, рецидив опухоли после предшествующего лечения, толщина опухоли более 4 мм и максимальный размер образования (более 51 мм).

2. Показано, что параметры ФД (флуоресцентная контрастность – ФК и фотовыгорание – ФВ), рассчитанные по предложенным формулам являются важными предикторами ответа на ФДТ. Низкая ФК и ФВ (ниже пороговых значений $FK_{пор} = 1.125$ и $FB_{пор} = 20,35\%$) характеризуются двукратным увеличением риска «неудачи» ФДТ (для ФК HR [95% CI] 1.935 [1.306-2.869] и для ФВ HR [95% CI] 1,867 [1,246-2,797]).

3. M-mode-like оптическая когерентная ангиография является эффективной методикой качественной и количественной оценки изменений микрососудистого русла опухоли и нормальных тканей после фотодинамического воздействия. При пороговом значении сосудистой плотности опухоли через 24 часа после процедуры более 1,4% диагностическая точность предсказания неполного ответа или рецидива в течение 12 месяцев составляет 93% (AUC=0.97).

4. Порфиразиновые макроциклические соединения сочетают свойства фотосенсибилизаторов и зондов внутриклеточной вязкости. Изменение параметров флуоресценции (увеличение времени жизни флуоресценции и увеличение вклада долгоживущей компоненты) непосредственно в процессе проведения фотодинамической терапии, отражает изменение внутриклеточной вязкости в следствие фотоиндуцированной гибели клеток.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке проектов № 14.B25.31.0015 (мегагрант) и RFMEFI60414X0027 (ФЦП) Министерства образования и науки Российской Федерации, проекта Министерства образования и науки РФ, а также гранта РФФИ: № 14-02-00753/14 от 14.09.2013.

Ссылки

1. Dos Santos, A.F. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review / A.F. dos Santos, D.R.Q. de Almeida, L.F. Terra [et al.] // J. Cancer Metastasis Treat. - 2019. – N. 5. – P. 25.
2. Dysart, J. S. Characterization of photofrin photobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of mll cells in vitro / J.S. Dysart, M.S. Patterson // Phys. Med. Bio. – 2005. – Vol. 50. – P. 2597–2616.
3. De Silva, P. Photodynamic therapy, priming and optical imaging: Potential co-conspirators in treatment design and optimization — a Thomas Dougherty Award for Excellence in PDT paper / P. De Silva, M.A. Saad, H.C. Thomsen [et al.] // Porphyrins Phthalocyanines. – 2020. – N. 24. – P. 1321–1360.

НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ СЕНСИБИЛИЗАТОРЫ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

А.О. Орлова, Т.О. Осколкова, Л.Н. Бородина и Е.С. Смирнова

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, a.o.orlova@itmo.ru

В работе представлены методика формирования и фотофизические свойства сенсibilizаторов нового поколения на основе молекул тетрапиррольного ряда и полупроводниковых квантовых точек тройных соединений. Показано, что разработанные наноконпозиты способны к более эффективной генерации синглетного кислорода относительно свободных тетрапиррольных молекул за счет эффективного переноса энергии фотовозбуждения в наноконпозитах. Продемонстрировано, что сформированные наноконпозиты проявляют выраженную антибактериальную активность против бактерии *Bacillussubtilis* под действием электромагнитного излучения.

Физика наноструктурированных материалов на сегодняшний день является одной из наиболее динамично развивающихся областей современных технических наук. Интегрирование наноструктур в области разработок фотоактивируемых терапевтических агентов, способных к генерации активных форм кислорода, привело к появлению значительно более эффективных сенсibilizаторов нового поколения, обладающих большим потенциалом применения для терапии различных заболеваний [1]. Перспективным направлением исследований является разработка сенсibilizаторов на основе тетрапиррольных соединений и полупроводниковых квантовых нанокристаллов, обладающих уникальными квантово-размерными физическими свойствами [2].

В работе рассмотрены условия формирования и физические свойства биосовместимых наноконпозитов на основе полимерной матрицы из хитозана, гидрофобных молекул тетрафенилпорфирина (ТФП) и гидрофильных квантовых точек (КТ) тройных соединений $AgInS_2/ZnS$, зарекомендовавших себя как более безопасная альтернатива классическим квантовым нанокристаллам на основе халькогенидов кадмия [3]. Продемонстрировано, что использование хитозана в качестве полимерной матрицы позволяет сохранить молекулы ТФП в мономерной форме в широком диапазоне концентраций. Анализ фотофизических свойств наноконпозитов показал, что в разработанных наноконпозитов реализуется эффективный безызлучательный перенос энергии фотовозбуждения по механизму Фёрстера от КТ к молекулам ТФП. Анализ кинетики люминесценции наноконпозитов с использованием время-разрешенной люминесцентной микроскопии показал, что эффективность безызлучательного переноса энергии различается для наблюдаемых у КТ $AgInS_2/ZnS$ нескольких излучательных переходов и хорошо коррелирует с условием резонанса электронных переходов у донора и акцептора энергии согласно теории Фёрстера. Предложена модель для теоретического описания увеличения концентрации синглетного кислорода для сформированных наноконпозитов за счет переноса энергии фотовозбуждения от КТ к молекулам ТФП. Показано, что в разработанных системах эффективность генерации синглетного кислорода под действием электромагнитного излучения в 2,5 раза выше, чем для мономеров ТФП в полимерной матрице хитозана. Фотодинамический эффект наноконпозитов были проверен на бактериях *Bacillussubtilis*. Продемонстрировано, что под действием электромагнитного излучения с длиной волны 405 нм наноконпозиты на основе КТ и молекул ТФП проявляют более выраженный фотодинамический эффект, чем свободные молекулы ТФП в хитозане.

Таким образом, в работе рассмотрены методика формирования и физические свойства нового класса фотоактивируемых сенсibilizаторов на основе полупроводниковых КТ тройных соединений и тетрапиррольных молекул, который обладает отличной антибактериальной активностью. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований в области разработки нового поколения наноструктурированных сенсibilizаторов активных форм кислорода.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания (Паспорт №2019-1080), и поддержано Программой «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО(№ 923048).

1. R. Li, Z. Chen, Z. Dai, and Y. Yu, *Cancer Biol. Med.*, 2021, **18**(2), 388.
2. Y. Volkov, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, **468**(3), 419-427.
3. P. Allen, and G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**(29), 9240-9241.

ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ, ВЫЗВАННАЯ СИНЕРГЕТИЧЕСКИМ ЭФФЕКТОМ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО КРАСИТЕЛЯ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В СУБМИКРОННУЮ ПОЛИМЕРНУЮ ОБОЛОЧКУ

И.С. Сергеев¹, Е.А. Максимова¹, Е.О. Моисеева¹, Б.Н. Хлебцов², Д.А. Горин¹

¹ Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия, igor.sergeev@skoltech.ru

² ФГБУН институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

Аннотация. Разработке искусственных ферментов на основе наночастиц, также известных как нанозимы, уделяется значительное внимание из-за их низкой стоимости, стабильности и надежности [1]. Нанозимы, имитирующие каталазу, обеспечивают быстрое разложение перекиси водорода до воды и кислорода. Фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из наиболее многообещающих методов лечения рака благодаря общей меньшей токсичности и минимальной инвазивности [2]. Однако известно, что микроокружение опухоли (ТМЕ) характеризуется пониженными значениями pH, гипоксия и повышенные концентрации перекиси водорода перепроизводство H_2O_2 . Чтобы преодолеть ограничения, связанные с гипоксией, ФДТ может сочетаться с H_2O_2 -чувствительными нанозимами с каталазоподобной активностью, повышающими общую эффективность лечения. Поскольку активность нанозимов в целом ниже по сравнению с природной каталазой, это может компенсировать риск кислородной токсичности в живых клетках.

Электростатически стабилизированные наночастицы золота обычно используются для достижения высокой каталазоподобной активности [3]. Однако эти наночастицы обычно агрегируют при воздействии биологических жидкостей, которые характеризуются высокой ионной силой [4]. Существуют также проблемы, связанные с высоким содержанием биомакромолекул, в особенности белков, образующих так называемую “протеиновую корону” [5]. В результате этой короны может произойти дестабилизация частиц и пассивация поверхности [6]. Все эти явления влияют не только на биораспределение и продолжительность циркуляции, но и могут снижать каталитическую активность наночастиц.

В данном исследовании проверялась идея одновременного фотодинамического лечения и функционального получения кислорода путем получения полимерных капсул, заполненных наночастицами золота и фотосенсибилизатором. Капсулы были получены методом последовательной адсорбции полимеров, с последующим растворением ядра из $CaCO_3$. Данные частицы обеспечивают повышенную эффективность ФДТ для преодоления гипоксии опухоли. Субмикрокапсулы, содержащие наночастицы золота и фотосенсибилизатор, вводились в качестве фотоактивного противоопухолевого средства и каталазоподобного нанокатализатора с двумя ключевыми свойствами: капсулы защищают встроенные молекулы от агрегации и неспецифических взаимодействий с эндогенными молекулами, прежде всего белками; включение наночастиц золота усиливает фотодинамическое действие в результате дополнительного выделения кислорода в результате переработки внутриклеточной перекиси водорода, оболочка капсул защищает наночастицы от процесса опсонизации (препятствует адсорбции белков на поверхности частиц). Каталитический микрореактор, индуцируемый светом, представляет собой важный шаг вперед в разработке терапевтических средств ФДТ и открывает новые возможности для лечения рака. Полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) для капсул, содержащих фотосенсибилизатор и золотые наночастицы отличалась примерно в 10 раз, в сравнении с капсулами, содержащими только фотосенсибилизатор. И в 100 раз в сравнении с чистым фотосенсибилизатором.

Благодарности

Настоящая работа поддержана программой «Клевер»: совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО.

Ссылки

1. Wang, X. et al. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 2016, 3(1), 41–60
2. Huang, L. et al. *Coordination Chemistry Reviews*, 2021, 438, 213888.
3. Li, J. et al. *Biomaterials*, 2015, 48, 37–44.
4. Guerrini, L. et al. *Materials*, 2018, 11(7), 1154.
5. Walkey, C. D. et al. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, 41(7), 2780–2799.
6. Johnston, B. D. et al. *Advanced Functional Materials*, 2017, 27(42), 1701956.

**ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ
ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ В СОЧЕТАНИИ С ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ
НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ HELA KYOTO**

**А.Б. Белотелов¹, Е.И. Черкасова¹, А.В. Масленникова^{1,2}, Д.В. Скамницкий²,
В.И. Юсупов³, Н.В. Минаев³**

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, arteom.belotelow@yandex.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

³Институт фотонных технологий ФГБУ Российской академии наук, Троицк, Россия

Аннотация. Одним из перспективных методов защиты нормальных тканей при проведении лучевой терапии по поводу злокачественных новообразований является фотобиомодуляция (ФБМ) [1]. При профилактике и лечении лучевых реакций со стороны нормальных тканей, воздействие ФБМ может происходить непосредственно в зоне расположения опухолевого очага [2]. С этой точки зрения, необходима оценка возможного стимулирующего и адаптивного эффекта фотобиомодуляции в отношении опухолевых клеток, которые могут оказаться в зоне светового воздействия параллельно с проведением лучевой терапии, а также изучение механизмов сочетанного действия ионизирующего и низкоинтенсивного оптического излучения на опухолевые клетки.

Цель работы. Изучение влияния фотобиомодуляции видимого красного диапазона в сочетании с ионизирующим излучением на жизнеспособность, митохондриальный потенциал и клеточный цикл клеточной линии Hela Kyoto, в зависимости от дозы ионизирующего излучения и флюенса ФБМ.

В рамках эксперимента на клетки опухоли воздействовали фотобиомодуляцией с флюенсами 3 мДж/см², 30 мДж/см² и 300 мДж/см², а также 1 Дж/см² и 2 Дж/см², через час клетки облучались гамма-излучением в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр (анализ возможного адаптивного эффекта ФБМ). Через сутки после облучения производилась оценка жизнеспособности клеток методом МТТ-теста, а также изучалось влияние различных режимов ФБМ в сочетании с ИИ на клеточный цикл, пути клеточной гибели и митохондриальный потенциал опухолевых клеток. По другой методике, порядок воздействия ИИ и ФБМ менялся местами (анализ возможного стимулирующего эффекта ФБМ). Эксперименты проводились на проточном цитофлуориметре FacsAriaIII (Becton, Dickinson and Company, США). Определение фаз клеточного цикла для клеток проводили при помощи набора для определения фаз клеточного цикла (APC BrdU Flow Kit, кат. № 552598 Becton, Dickinson and Company, США) с бромдезоксисуридином, меченным APC. Для изучения изменений трансмембранного потенциала митохондрий клеток использовали краситель MitoStatus TMRE (BD Pharmingen, США).

Результаты. В ходе исследования было выяснено, что фотобиомодуляция приводит к разнонаправленным эффектам в зависимости от дозы ионизирующего излучения, флюенса и последовательности этих воздействий на клетки. Фотобиомодуляция с низкими флюенсами может вызывать стимулирующий эффект в отношении опухолевых клеток Hela Kyoto, после воздействия ионизирующего излучения в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр. Возрастание количества жизнеспособных опухолевых клеток Hela Kyoto при комбинированном воздействии ИИ с дозами 4 Гр и 6 Гр, а также ФБМ флюенсом 0,3 Дж/см², происходит именно за счет снижения доли клеток с деполяризованной митохондриальной мембраной. Воздействию ионизирующего излучения приводит к дозозависимому снижению числа клеток в S-фазе клеточного цикла за счет роста количества клеток в фазах G0/ G1 и G2/M. Комплексное воздействие ИИ в дозе 4 Гр и 6 Гр, а также ФБМ флюенсом 0,3 Дж/см² приводит к частичному снятию радиационного блока митоза по сравнению с образцом, облучённым только ИИ.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант №20-02-00531).

Ссылки

1. Avci P., Gupta A., Sadasivam M., Vecchio D., Pam Z., Pam N. & Hamblin M. R. (2013): Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. *Semin Cutan Med Surg* 32 (1), 41–52.
2. Sedova E.S., Yusupov V.I., Vorobjeva N.N., Kanischeva N.V. & Maslennikova A.V. (2018): The effectiveness of low level laser therapy for the prevention and treatment of radiation- induced mucositis of the oral cavity and pharynx. *Siberian Journal of Oncology* 17 (2), 11-17.

БИОФАБРИКАЦИЯ ТРЕХМЕРНЫХ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ 3D БИОПЕЧАТИ И ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ

П.Ю. Бикмулина¹, Н.В Кошелева^{1,2}, А.И. Шпичка^{1,3}, П.С.Тимашев^{1,4}

¹Институт регенеративной медицины, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)

²НИИОбщей патологии и патофизиологии

³Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова

⁴Центр «Цифрового биодизайна и персонализированного здравоохранения» ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)

Аннотация. 3D биопечать – перспективный метод фабрикации биоэквивалентов для регенеративной медицины и создания моделей *in vitro* для тестирования лекарств. Однако, низкая выживаемость клеток и затрудненная диффузия ограничивают его применение. Фотобиомодуляция (ФБМ) – эффективный метод для повышения выживаемости и функциональности тканеинженерных конструкций. В данной работе использовались биочернила на основе гидрогеля и сфероидов из мезенхимальных стромальных клеток человека. Оптимизированный протокол 3D биопечати и ФБМ обеспечили оптимальную печатаемость, выживаемость и функциональность конструкций.

3D биопечать представляет собой один из наиболее перспективных методов фабрикации биоэквивалентов для задач регенеративной медицины, включая создание релевантных моделей *in vitro* для тестирования лекарственных препаратов. Однако этот метод имеет ограничения, в первую очередь связанные с низкой выживаемостью клеток в составе конструкции вследствие давления при экструзии и затрудненной диффузии. Одним из эффективных методов для решения проблем, связанных с технологией 3D биопечати, является фотобиомодуляция (ФБМ). Этот метод основан на низкоинтенсивном воздействии света красной и ближней инфракрасной областей спектра на клетки, что приводит к активации их пролиферации, метаболизма и дифференцировки. Целью работы стало формирование тканеинженерной конструкции на основе клеточных сфероидов из МСК с одновременным использованием методов ФБМ и 3D биопечати.

Для создания трехмерных тканеинженерных конструкций использовали биочернила, состоящие из двух компонентов: клеточного и биоматериального. Для формирования сфероидов использовали первичную культуру мезенхимных стромальных клеток человека. Гидрогелевая основа биочернил состояла из нескольких компонентов: фибрин, желатин, метакрилованный ПЭГ (полиэтиленгликоль), рибофлавин. Применяли облучение в красной (633 нм) и ближней инфракрасной (840 нм) областях спектра. Полученные конструкты культивировали в модифицированной ростовой среде в течение 10-14 дней в инкубаторе при температуре 37⁰С и 5% СО₂.

Состав гидрогеля и протокол 3D биопечати были оптимизированы для получения экструдированных и стабильных конструктов. Анализ эффектов ФБМ на физиологическую активность сфероидов проводили с помощью комплекса методов. Общую выживаемость конструктов оценивали качественными (Live/Dead assay, Sigma-Aldrich) и количественными (AlamarBlue assay, PicoGreen assay, Thermofisher) методами. Также проводили сравнение влияния различных режимов ФБМ на функциональную активность напечатанных конструктов (цейтраферная микроскопия).

Оптимальная печатаемость и наиболее подходящие для биопечати реологические свойства были достигнуты при использовании концентрации желатина 7,5%. Было подтверждено, что 3D биопечать негативно сказывается на выживаемости тканеинженерных конструкций. ФБМ, особенно в ближнем инфракрасном диапазоне, позволяла нивелировать снижение жизнеспособности конструктов. Более того, было показано влияние ФБМ обоих режимов на миграцию клеток и спраутинг сфероидов.

Таким образом, было показано, что комбинация методов 3D биопечати и ФБМ позволяет повысить выживаемость тканеинженерных конструкций, обеспечивая их функциональную активность.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00503, <https://rscf.ru/project/23-25-00503/>.

ВЛИЯНИЕ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ И РЕАКТИВАЦИЮ КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ

П.И. Котенева¹, П.Ю. Бикмулина¹, Н.В. Кошелева^{1,4}, А.И. Шпичка^{1,3}, П.С. Тимашев^{1,2}

¹Институт регенеративной медицины, Сеченовский университет

²Научный центр мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение»,
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), г. Москва, 119991

³Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991, Россия

⁴НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

Сфероиды и органоиды как варианты 3D культур клеток одна из наиболее приближенных к условиям нативных тканей модельных систем. В них микроокружение, взаимодействия клеток друг с другом и с внеклеточным матриксом близки к таковым *in vivo*. Их активно применяют для создания тканеинженерных конструкторов органов и тканей в регенеративной медицине и тканевой инженерии. Однако, сфероиды и органоиды имеют серьезное ограничение, при диаметре более 400-500 мкм в центре агрегатов клеток начинается их активная гибель из-за недостатка диффузии кислорода, питательных веществ и отсутствия васкуляризации. Также практически не изучены, неясны механизмы слияния и миграции таких культур при формировании комплексных тканеинженерных конструкторов. Многообещающим подходом повышения жизнеспособности и стимуляции метаболизма в условиях 3D-культур является метод фотобиомодуляции (ФБМ), основанный на низкоинтенсивном облучении клеток [1]. Основной мишенью воздействия красного и ближнего инфракрасного света является дыхательная цепь митохондрий, при воздействии на нее во многих случаях активируются пролиферация, метаболизм и дифференцировка клеток. Целью данной работы стал анализ влияния ФБМ в красном и инфракрасном световых диапазонах на формирование и реактивацию клеточных сфероидов.

В работе использовали первичную культуру мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК), выделенных из слизистой оболочки ротовой полости человека. Для ФБМ применяли облучение в красном (633 нм) и ближнем инфракрасном (840 нм) диапазонах в течение 1200 и 600 секунд соответственно, интенсивность воздействия составляла 2,2 Дж/м². Сфероиды получали по отработанной технологии [2] на неадгезивных агарозных планшетах (Microtissue, США). Формирование и реактивацию сфероидов наблюдали с помощью прижизненной цейтраферной съемки с применением фазово-контрастного микроскопа. Для реактивации сфероиды через 7 суток культивирования в 3D условиях переводили в адгезивные условия для реализации миграции клеток из них, облучение проводили сразу после перевода культур в адгезивные условия.

В сформированных сфероидедах МСК присутствуют две зоны: плотная поверхностная с плотноупакованными уплощенными клетками и внутренняя с полигональными клетками и большим количеством внеклеточного матрикса. Формирование и компактизация сфероидов из МСК происходили в течение 5-6 суток, к 7 суткам сфероиды компактизовались на 33%, с изначального диаметра, изменение диаметра с 400±50 мкм до 150±15 мкм. Реактивация сфероидов МСК начиналась через 24 часа после перевода сфероидов в адгезивные условия и происходила в основном за счет миграции одиночных клеток. Отмечена тенденция ускорения миграции клеток при реактивации после воздействия ФБМ, однако требуется более детальное изучение механизмов данного эффекта.

Таким образом, ФБМ является перспективным бесконтактным неинвазивным способом повышения как жизнеспособности, так и миграционной активности клеток в условиях 3D культур, что может найти широкое применение при создании тканеинженерных конструкторов и биопечати с применением клеточных сфероидов.

Работа выполнена при поддержке РФФ № 22-75-10120.

Литература:

1. Bikmulina, P. Y. et al. Beyond 2D: Effects of photobiomodulation in 3D tissue-like systems // Journal of Biomedical Optics, 2020, 25(4), 048001-048001.
2. Kosheleva N. V. et al. Cell spheroid fusion: beyond liquid drops model // Sci. Rep. 2020. T. 10. № 1. С. 1–15.

OPTICAL CHARACTERISTICS OF DIATOMS: RELATIONSHIP BETWEEN CONCENTRATION AND TRANSMISSION/EXTINCTION

J. Cvjetinovic¹, S.A. Perkov¹, M.A. Kurochkin¹, I.S. Sergeev¹, S.V. German¹, Ye.D. Bedoshvili^{1,2}, N.A. Davidovich^{1,3}, A.M. Korsunsky⁴, D.A. Gorin¹

¹ Center for Photonic Science and Engineering, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia
julijana.cvjetinovic@skoltech.ru

² Limnological Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

³ T.I. Vyazemsky Karadag Scientific Station, Natural Reserve of the Russian Academy of Sciences, Feodosiya, Russia

⁴ Department of Engineering Science, University of Oxford, Oxford, United Kingdom

Abstract. Diatoms are single-celled microalgae, playing a pivotal role in maintaining the health of our planet's ecosystem. They are accountable for 20-25% of oxygen release and carbon fixation. In order to develop efficient carbon dioxide extraction technologies, it is essential to effectively track their lifecycle and control growth parameters. Here we developed an optical device that consists of LED illumination with a 505 nm central wavelength, which enables the monitoring of changes in diatom concentrations. The results show a concentration-dependent behavior of extinction and transmission, suggesting that such setup can be used to monitor algae growth in bioreactors and natural environments.

Study of optical characteristics of diatoms

The most important feature of diatoms is their highly porous silica cell wall called frustule. The unique photonic structure of diatoms frustule offers insight into their optical properties. Here we investigated the optical properties of marine centric and freshwater pennate diatom strains with different morphologies, sizes, and volumes. By fabricating a simple device consisting of LED illumination with a wavelength of 505 nm we observed a linear correlation between the measured transmission and the concentration, as shown in Figure 1 [1]. The results were compared with the spectrophotometric approach, which demonstrated higher inaccuracies. Besides, a monotonic dependence of linear fit slopes for both extinction and transmission measurements on the diatom volume was demonstrated. Therefore, the optical setup can be used to continuously monitor algae growth in both bioreactors and natural environments, potentially addressing challenges related to carbon dioxide extraction [1].

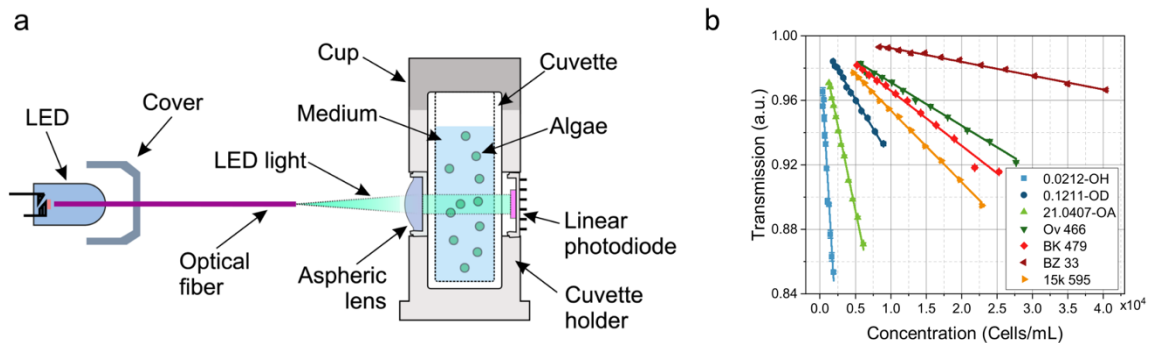


Figure 1. Experimental setup: direct LED light coupling in multimode optical fiber (a). Dependence of light intensity on the relative diatom cell concentrations [1] (b)

Acknowledgements

The work was supported by Russian Science Foundation (RSF) grant No. 22-14-00209.

References

1. J. Cvjetinovic, S. Perkov, M. Kurochkin, I. Sergeev, S. German, Ye. Bedoshvili, N. Davidovich, A. Korsunsky, G. Gorin, *J Biomed Photonics Eng*, 2023, 9(1),1-9.

Методы оптической микроскопии

Optical microscopy techniques

GRAPHENE INDUCED ENERGY TRANSFER IMAGING FOR MEMBRANE BIOPHYSICS

A. Ghosh, N. Karedla, T. Chen, **J. Enderlein**

Third Institute of Physics – Biophysics, Georg August University, Göttingen, Germany, jenderl@gwdg.de
<https://www.joerg-enderlein.de>

Graphene-Induced Energy Transfer (MIET) Imaging is a recently developed method [1] that allows for sub-nanometer axial resolution along the optical axis. It is based on the quenching of a fluorescent molecule in the vicinity of a single sheet of graphene. When approaching the graphene, its fluorescence properties change dramatically, due to electromagnetic coupling of its excited state to electronic excitations in the graphene. This is very similar to Förster Resonance Energy Transfer (FRET) where the fluorescence properties of a donor are changed by the proximity of an acceptor that can resonantly absorb energy emitted by the donor. In particular, one observes a strongly modified lifetime of its excited state. This coupling between an excited emitter and the graphene sheet is strongly dependent on the emitter's distance from the graphene. We have demonstrated that this can be used to optically measure the thickness of single lipid bilayers. In my presentation, I will give the explain the principles of GIET, and then present several applications in membrane biophysics: (i) The study of the intermembrane distance between the inner and outer mitochondrial membrane in living mitochondria and in dependence on their metabolic state [2]; (ii) study of the modulation of membrane thickness by cholesterol; and (iii) study of the fast flip-flop of different lipids between the two leaflets of single lipid bilayers. The latter is done by combining GIET with fluorescence lifetime correlation spectroscopy, which allows for following fast dynamics processes on the sub-nanometer scale with sub-microsecond temporal resolution. GIET is easy to implement and does not require any change to a conventional fluorescence lifetime microscope [3,4]. As I will show, it is thus an ideal tool for membrane biophysics.

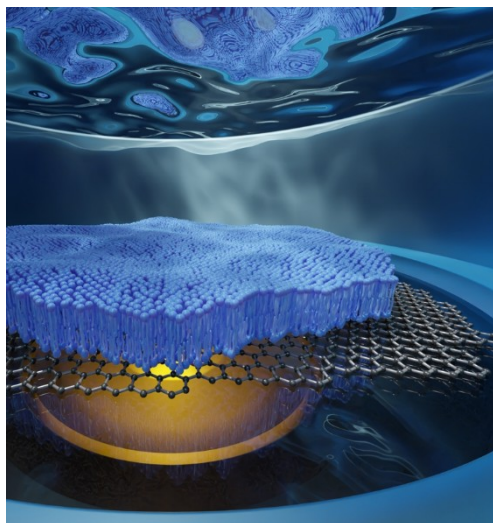


Figure: Schematic of a GIET experiment: A single sheet of graphene is deposited on a glass cover slide, above which the lipid membrane sample is placed. Fluorescence excitation and detection is performed from below with an epi-fluorescence microscope. The sample is immersed in a buffer solution.

Acknowledgements

J.E. acknowledges financial support by the DFG through Germany's Excellence Strategy EXC 2067/1-390729940. All authors thank the European Research Council (ERC) for financial support via project "smMIET" (grant agreement no. 884488) under the European Union's Horizon 2020 research and innovation program.

References

1. Ghosh, A., Sharma, A., Chizhik, A. I., Isbaner, S., Ruhlandt, D., Tsukanov, R., Gregor, I., Karedla, N., & Enderlein, J. (2019). *Nature Photonics* **13**:860-865.
2. Raja, S. O., Chizhik, A. I., Schmidt, C. F., Enderlein, J., & Ghosh, A. (2021). *Nano Letters* **21**:8244-8249.
3. Ghosh, A., Chizhik, A. I., Karedla, N., & Enderlein, J. (2021). *Nature Protocols* **16**:3695-3715.
4. Chen, Tao, Arindam Ghosh, and Jorg Enderlein. (2023) *Nano Letters* **23**: 2421-2426.

ТЕМНОПОЛЬНАЯ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Р.Ф. Фахруллин

Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский федеральный университет, Казань,
Республика Татарстан, РФ, kazanbio@gmail.com

Аннотация. Доклад познакомит слушателя с использованием темнопольной гиперспектральной микроскопии в биомедицинских исследованиях.

Идентификация и характеристика коллоидных частиц, находящихся в процессе взаимодействия с биологическими системами, является важной и во многом нерешенной задачей на стыке биологии, химии и физики. В качестве примера можно рассматривать органические и неорганические частицы в диапазоне размеров меньше предела разрешающей способности оптического микроскопа, активно использующиеся в качестве средств доставки лекарств. Не менее интересным является исследование механизмов токсичности коллоидных частиц, подразумевающее глубокий анализ путей их проникновения и распределения в клетках и тканях. Арсенал методов микроскопии, применяемых для анализа коллоидных частиц, весьма богат, и позволяет всесторонне изучить различные аспекты взаимодействия частиц с биообъектами. Тема доклада посвящена оптической микроскопии в темном поле, и некоторым примерам ее использования в биоаналитической химии [1,2]. Применение темнопольной микроскопии позволяет визуализировать частицы диаметром до ~5 нм в водной среде (иными словами, в том числе в нефиксированных клетках [3] и живых микроскопических организмах [4]). В сочетании со спектральным анализом, темнопольная микроскопия может быть с успехом использована для идентификации ряда неорганических [5] и органических [6] наночастиц. Более того, гиперспектральная темнопольная микроскопия позволяет осуществлять неразрушающую характеристику распределения размеров полых микроскопических частиц в широком диапазоне размеров [7]. Одним из перспективных направлений в использовании темнопольной микроскопии является изучение токсичности нано- и микропластика, что особенно актуально в связи с существующей проблемой загрязнения окружающей среды полимерными отходами [8]. Кроме того, применение темнопольной микроскопии в сочетании с методами машинного анализа позволяет изучать динамику наноразмерных частиц в коллоидных суспензиях [9], что позволит установить механизмы взаимодействия анизотропных коллоидных частиц с неоднородными поверхностями, в том числе биологического происхождения (например, волосы млекопитающих) [10].

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФ 20-13-00247. Автор выражает благодарность коллегам - сотрудникам НИЛ «Центр аналитической биофотоники и инженерии клеточной поверхности» КФУ

Ссылки

1. R. Fakhrullin, L. Nigamatzyanova, G. Fakhrullina, *Sci. Total Environ.*, 2021, **772**, 145478.
2. G Kuku, M Saricam, F Akhatova, A Danilushkina, R Fakhrullin, M Culha, *Anal. Chem.*, 2016, **88**(19), 9813-9820.
3. M. Kryuchkova, A. Danilushkina, A. Y. Lvov, R. Fakhrullin, *Environ. Sci.: Nano*, 2016, **3**(2), 442–452.
4. G. Fakhrullina, F. Akhatova, Y. Lvov, R. Fakhrullin, *Environ. Sci.: Nano*, 2015, **2**(1), 54–59.
5. M. Gorbachevskii, A. Stavitskaya, A. Novikov, R. Fakhrullin, E. Rozhina, E. Naumenko, V. Vinokurov, *Appl. Clay Sci.*, 2021, **207**, 106106.
6. Y. Liu, E. Naumenko, F. Akhatova, Q. Zou, R. Fakhrullin, X. Yan, *Chem. Eng. J.*, 2021, **424**, 130348.
7. J. Beach, M. Kryuchkova, R. Fakhrullin, K. Mazurova, A. Stavitskaya, B. Cheatham, R. Fakhrullin, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 2023, **96**(1), 72–83.
8. S. Batasheva, F. Akhatova, N. Abubakirov, R. Fakhrullin, *Sci. Total Environ.*, 2023, **854**, 158574
9. I. Iakovlev, A. Deviatov, Y. Lvov, G. Fakhrullina, R. Fakhrullin, V. Mazurenko, *ACS Nano*, 2022, **16**(4), pp. 5867–5873.
10. A. Panchal, G. Fakhrullina, R. Fakhrullin, Y. Lvov, *Nanoscale*, 2018, **10**(38), 18205–18216.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ В ОЦЕНКЕ РЕГЕНЕРАЦИИ И ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ

Д.С. Кузнецова^{1,2}, **С.А. Родимова**^{1,2}, **Н.В. Бобров**^{1,3}, **А.М. Можеров**^{1,2}, **В.В. Елагин**¹,
М.М. Карabut², **В.Е. Загайнов**⁴, **Е.В. Загайнова**¹

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России,
Нижний Новгород, Россия, daria.s.kuznetsova@gmail.com

² Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

³ Приволжский окружной медицинский центр, Нижний Новгород, Россия

⁴ Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, Нижний Новгород, Россия

Аннотация. Основной идеей исследования является определение новых оптических критериев регенераторного потенциала печени и профилактики синдрома недостаточного размера печени, которые можно было бы оценивать интраоперационно. В исследовании мы использовали комплекс методов метаболического биоимиджинга, который может быть внедрен в клинику, поскольку существует приборная реализация мультифотонной микроскопии для прижизненного исследования органов и тканей пациентов. Важным результатом нашего исследования стало выявление достоверной корреляции параметра процента восстановления печени с вкладом фосфорилированной формы НАДФН до индукции регенерации, а также с увеличением вклада связанной формы НАДФН на ранних сроках восстановления печени. Высокие значения этих параметров можно считать критериями успешной регенерации печени.

В мировой клинической практике ежегодно регистрируют около 1 млн. новых случаев первичного и вторичного рака печени. Единственным вариантом лечения пациентов с первичными и вторичными гепатобилиарными злокачественными новообразованиями остается хирургическое лечение печени. Не смотря на современные достижения в хирургической технике и совершенствование методов предоперационной оценки функции печени, сохраняется высокий риск развития послеоперационной печеночной недостаточности, связанный с различием в уровне регенераторного потенциала печени каждого пациента. Основной идеей исследования является определение новых критериев регенераторного потенциала печени и профилактики синдрома недостаточного размера печени, которые можно было бы оценивать интраоперационно. К настоящему времени мы исследовали метаболический статус гепатоцитов, содержание коллагена в ткани печени лабораторных животных в процессе нормальной регенерации, а также при наличии патологий печени. В исследовании мы использовали комплекс методов метаболического биоимиджинга, который может быть внедрен в клинику, поскольку существует приборная реализация мультифотонной микроскопии для прижизненного исследования органов и тканей пациентов. Важным результатом нашего исследования стало выявление достоверной корреляции параметра процента восстановления печени с вкладом фосфорилированной формы НАДФН до индукции регенерации, а также с увеличением вклада связанной формы НАДФН на ранних сроках восстановления печени. Высокие значения этих параметров можно считать критериями успешной регенерации печени.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Российского научного фонда №19-15-00263 (метаболический FLIM имиджинг), №22-25-00098 (гистологический анализ печени), №23-15-00421 (моделирование патологий печени).

Оптическая когерентная томография

Optical coherence tomography

FUNCTIONAL OCT IMAGING OF HUMAN TYMPANIC MEMBRANE

G.V. Gelikonov, I.V. Kasatkina, S.Y. Ksenofontov, P.A. Shilyagin and V.M. Gelikonov

¹ Federal Research Center A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia, e-mail: grgel@ipfran.ru

Abstract. Optical coherence tomography as a non-invasive imaging has found wide application mainly in ophthalmology. Recently, the direction of using OCT for the study of the middle ear has begun to develop. This paper demonstrates the ability of OCT not only to visualize the tympanic membrane, but also to build a map of its mobility.

Optical coherence tomography has become the gold standard in ophthalmology and continues to explore new areas of diagnostics in medicine. A relatively new direction is the study of the human middle ear. In this direction, OCT is able to visualize the tympanic membrane and the area behind it. In particular, exudate in the case of exudative otitis media [1]. Such a study allows you to determine the treatment strategy and increase its success.

Recently, there have been works on additional functional diagnostics of the middle ear using OCT [2][3]. This paper demonstrates the results of studying the mobility of the tympanic membrane using the OCT method under the exposure of sound vibrations.

In this paper, we present a method for calculating tympanic membrane mobility information from an OCT signal. The method provides for the calculation of the signal in the full depth range (while overcoming the complex uncertainty), the suppression of the remaining specular component, the suppression of object movements, and the selection of displacements at the probing sound frequency.

Acknowledgements

This study was supported by the state task from the Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences (Project No. 0030-2021-0013) in terms of material support for the research.

References

- 1 Shilyagin, P. A. et al. Recognition of individual scatterers against the noise background in the optical coherence tomography image. *Quantum Electronics* 51, 371-376, doi:10.1070/qel17537 (2021).
- 2 Hamra, M., Fridman, L., Shinnawi, S., Vaizer, M. C. & Yelin, D. In vivo optical mapping of the tympanic membrane impulse response. *Hearing Research* 431, 108723, doi:<https://doi.org/10.1016/j.heares.2023.108723> (2023).
- 3 Kirsten, L. et al. Endoscopic optical coherence tomography with wide field-of-view for the morphological and functional assessment of the human tympanic membrane. *Journal of Biomedical Optics* 24, 031017 (2018).

CURRENT TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF COMPRESSION OPTICAL COHERENCE ELASTOGRAPHY

V.Y. Zaitsev

A.V.Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics RAS, Nizhny Novgorod, Russia, e-mail: vyuzai@ipfran.ru

Summary. The report presents recent trends in the development of phase-sensitive optical coherence elastography (OCE) for mapping strains and quantitative assessment of elastic properties of biological tissues using the compression principle. The main focus is made on the developed at IAP RAS OCT-based phase-sensitive approaches to strain mapping in biological tissues and obtaining nonlinear stress-strain dependences. The latter dependences then can be used to estimate the tangent Young's modulus and nonlinearity coefficient. Then in OCE images zones corresponding to various ranges of the Young's modulus and nonlinear parameter can be readily segmented, which can be efficiently used for morphological segmentation of OCT scans.

Creation of new modalities (functional extensions) of optical coherence tomography (OCT) has become the main trend in the development of this visualization technique that, in terms of resolution and visualized-region size, fills the niche between the macroscopic biomedical visualization based on ultrasound and high-resolution optical microscopy. One of such actively developed modalities/extensions in OCT is OCT-based elastography allowing for visualization of strains and elastic properties of biological tissues. Although the idea of introducing elastography in OCT was first proposed by J. Schmitt about 25 years ago by analogy with the elastographic principles utilized in ultrasound-based elastography, the breakthrough results on realization of OCE were obtained only during the recent 5-10 years. Especially important for successful realization of OCE was the idea of using phase-sensitive measurements instead of correlational displacement tracking conventionally used in ultrasound elastography, but insufficiently accurate and efficient in OCT because of very high sensitivity of speckle pattern in OCT scans to deformation of the imaged tissues. The phase-sensitive approach made it possible to visualize local axial displacements and strains in OCE without any search operations required for correlation-based speckle tracking.

Presently, similarly to ultrasound elastography there are two main trends developed in OCE. One trend is the wave-based approach utilizing OCT to visualize propagation of auxiliary shear or surface waves and estimate the shear modulus G based on their propagation velocity. Another main direction is the quasi-static approach termed "compression OCE", in which uniaxial stress is applied to the studied tissue. By comparing strains in various parts of the visualized region, spatial mapping of the Young's modulus $E \cong 3G$ can be made. Strain can be efficiently evaluated by estimating axial gradients of interframe phase variations. This estimation does not require phase unwrapping even for supra-wavelength displacement of particles, so that strains up to ~ 0.01 can be directly estimated. Much larger strain can be found using summation of incremental strains. Utilization of pre-calibrated reference-material layers (usually made of silicones and placed on the surface of the studied tissue) makes it possible to estimate not only conventionally discussed Young's modulus, but also to obtain nonlinear stress-strain dependences which are found to be typical of many biological tissues. For strain estimation, a robust and computationally efficient method was proposed at IAP RAS; the method is termed "vector" since it operates with phase-sensitive OCT signals as vectors in the complex plane without singling the phase explicitly until the very last stage of processing.

Unique abilities of this OCE technique were demonstrated for rather diverse applications related to high-resolution assessment strain and elasticity. In particular, dynamics of strains in such collagenous tissues as cornea and cartilages subjected to laser-assisted thermo-mechanical reshaping was demonstrated. The stability of the conferred form of the so-resaped cartilaginous implants could also be controlled by OCT-based visualization of slow strains caused by residual internal stresses. For the first time, spatially-resolved dynamics of osmotic strains in various samples was directly visualized. In collaboration with Privolzhsky research medical university an extensive series of studies has been carried out on diagnostics and quantitative assessment/differentiation of various oncological and non-oncological pathological states. Those results demonstrate that compression OCE can be used as a kind of optical biopsy method that does not require special tissue preparation unlike conventional histology, but allowing one to perform automated morphological segmentation of various tissues (with a resolution $\sim 50 \mu\text{m}$) similar to segmentation of histological images.

The reported studies on the OCE-method development were supported by RSF grant 22-12-00295.

ПРЕИМУЩЕСТВА МУЛЬТИМОДАЛЬНОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

**Е.Б. Киселева¹, Е.В. Губарькова¹, М.Г. Рябков¹, А.А. Советский², А.Л. Потапов¹,
М.А. Сироткина¹, А.А. Плеханов¹, Е.Л. Бедерина¹, Д.А. Воронцов³, А.Ю. Богомолова¹,
В.Ю. Зайцев² и Н.Д. Гладкова¹**

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия
kiseleva84@gmail.com

² Институт прикладной физики РАН им. А.В. Гапонова-Грехова, Нижний Новгород, Россия

³ Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, Нижний Новгород, Россия

Метод оптической когерентной томографии (ОКТ) может обеспечить одновременную трехмерную визуализацию структуры тканей, состояния кровеносных и лимфатических сосудов, позволяет измерить упругость тканей. Такая мультимодальность обеспечивает применимость метода для решения многих задач современной медицины. В работе изложены результаты мультимодальной ОКТ визуализации различных клинически значимых онкологических и не онкологических состояний, продемонстрированы преимущества определенной ОКТ модальности в обнаружении и точной идентификации как самого патологического очага, так и его ответа на проводимую терапию.

Приборы, сочетающие возможности структурной и функциональной оценки тканей, получают несомненное преимущество среди современных методов медицинской визуализации. Метод мультимодальной оптической когерентной томографии (ММ ОКТ) обеспечивает прижизненную визуализацию трехмерной структуры тканей с разрешением порядка 5-15 мкм, оценку поляризационных свойств, и одновременно с этим позволяет проводить качественный и количественный анализ сеток кровеносных и лимфатических сосудов, измерять упругость (жесткость) тканей. В настоящем исследовании на нескольких примерах клинически значимых онкологических и не онкологических состояний мы демонстрируем как использование различных модальностей ОКТ позволяет уточнять границы резекции, избежать необоснованных биопсий и провести неинвазивный мониторинг эффективности лечения.

Для надежной идентификации патологического процесса зачастую требуется одновременное использование нескольких модальностей. Так, при ишемическом повреждении стенки тонкой кишки для определения жизнеспособности тканей оценки только микроциркуляции недостаточно, требуется информация о структурных изменениях в слоях кишечной стенки, что позволяет обнаружить зоны некроза и определить их глубину и распространенность. ОКТ эластография (ОКЭ) перспективна для предотвращения риска разрывов тканей при дистракции кишечной стенки при реконструктивных операциях.

Другим примером использования нескольких ОКТ модальностей является диагностика склеротического лишая вульвы в гинекологии. Так, если при тяжелом процессе для диагностики достаточно структурной информации, то перспективная диагностика ранних состояний требует дополнительного анализа сеток кровеносных и лимфатических сосудов. Такой подход был использован нами для *in vivo* определения степени поражения дермы и мониторинга эффективности лечения склеротического лишая вульвы.

Метод компрессионной ОКЭ имеет несомненные преимущества по сравнению со структурной ОКТ для решения различных клинических задач: в онкологии - при поиске чистого края резекции во время органосохраняющих операций по поводу рака молочной железы и интраоперационной оценки статуса сигнальных лимфатических узлов; для неонкологических патологий - диагностики ранних стадий пролапса и контроля эффективности его лечения неодимовым лазером. Стоит подчеркнуть, что в некоторых отдельных случаях ОКЭ данные могут давать спорные результаты, поэтому получение и оценка структурных изображений всегда проводится параллельно и не исключается полностью при окончательном принятии решения.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФ №19-75-10096.

UNIVERSAL ANGLULAR-SPECTRUM APPROACH TO DIGITAL SUPER-REFOCUSING AND ABERRATION CORRECTION IN 3D OCT-DATASETS

A.L. Matveyev, L.A. Matveev, G.V. Gelikonov, and V.Y. Zaitsev

A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics RAS, Nizhny Novgorod, Russia, *matveyev@ipfran.ru

Abstract. Using the proposed K-space description we analytically derive a filtering function allowing one to digitally transform the initial 3D set of complex-valued OCT data in a desired (target) data set of a rather general form. To illustrate the method efficiency, it is applied to digital elimination of arbitrary aberrations at the illuminating/receiving aperture. Also, beyond conventionally discussed digital refocusing to enable depth-independent lateral resolution the same as in the physical focus, we consider digital “super-refocusing”. The latter does not yet overcome the diffraction limit, but readily enables the lateral resolution several times better than in the initial physical focus.

Based on the angular-spectrum formalism, we propose a formulation of a filtering function that is intended to transform the initial 3D set of complex-valued OCT data in a “desired” rather general form. We show that the influence of arbitrary aberrations at the illuminating/receiving aperture can be digitally compensated (despite nonlinear mixing of aberrations acquired during the forward and backward propagation). Next, besides conventionally discussed digital refocusing intended to obtain the same lateral resolution as at the depth of physical focus, we consider digital filtering enabling “super refocusing”. The latter does not yet overcome the diffraction limit, but allows one to overcome the lateral resolution limited by the initial radius of the focal waist. An essential feature of the proposed filtering procedures is the use of both phase and amplitude transformations unlike conventionally discussed phase-only transformations. After presenting the basic equations [1], we show simulated examples illustrating main features/advantages of the proposed approach.

An example of application of the proposed procedures of super-refocusing is presented in Fig. 1. The simulation was made in the presence of noise in the initial image assuming a typical for OCT SNR~30 dB. The Gaussian illuminating beam is assumed weakly focused (with focus radius 12.6 mcm). We consider a vertical chain of pairs of point-like scatterers laterally separated by 12 mcm, so that in the image formed by the weakly focused beam the scatterers in the pairs are not resolved (see the in-depth B-scan in Fig. 1a and en-face image of one of the pairs at the depth 480 mcm in the inset).

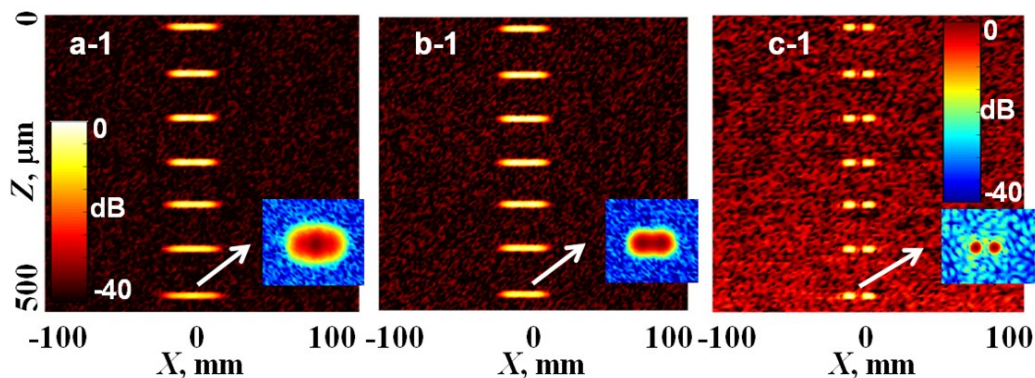


Fig. 1. Comparison of conventional and super-refocusing for a weakly-focused beam with focus radius 12.6 μm . Panel (a-1) and (b-1) show the initial B-scan and its conventional refocusing. (c-1) is the result of super-refocusing with 4-fold increase in the lateral resolution, so that neighboring scatterers become clearly resolved.

As demonstrate Figs. 1c1, for quite a realistic initial SNR on the order of 25-30 dB, the SNR remains at an acceptable level after super-refocusing. Thus, such super-refocusing can be applied to significantly improve the imaging resolution by re-processing already acquired datasets made with low-resolution OCT setups if the initial SNR is not too bad.

Another problem, for solving which the developed K-space framework was applied, is correction of aberrations at the illuminating/receiving aperture.

The study was supported by the Russian Science Foundation (grant No 22-22-00952).

1. Matveyev A. L. et al. Simulating scan formation in multimodal optical coherence tomography: angular-spectrum formulation based on ballistic scattering of arbitrary-form beams, *Biomed. Opt. Express*, **12**(12), 7599 (2021).

ВЕКТОРНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ДЕФОРМАЦИЙ В ОКТ-ЭЛАСТОГРАФИИ С АДАПТИВНЫМ ВЫБОРОМ МАСШТАБА ОЦЕНКИ ГРАДИЕНТОВ МЕЖКАДРОВЫХ ВАРИАЦИЙ ФАЗЫ

А.А. Зыков, А.Л. Матвеев, А.А. Советский и В.Ю. Зайцев

Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН, Нижний Новгород, Россия,
alexey.zykov@ipfran.ru

Аннотация. В данной работе предлагается метод для улучшения качества визуализации деформаций в оптической когерентной эластографии (ОКЭ). В ОКЭ локальные аксиальные деформации оцениваются путем численного дифференцирования межкадровой разности фаз. Использование отличающегося от оптимального масштаба дифференцирования для оценки градиента приводит к деградации качества эластографического изображения. Для решения данной проблемы, был разработан метод адаптивного автоматического выбора шага дифференцирования. Эффективность метода демонстрируется на модельных и реальных ОКТ сканах со значительной пространственной неоднородностью деформаций.

В оптической когерентной эластографии локальные аксиальные деформации оцениваются путем численного дифференцирования межкадровой разности фаз. Зашумленность результата этой операции сильно зависит от масштаба дифференцирования. С уменьшением масштаба ниже оптимального растет вызванная шумами дисперсия оценки стрейнов, а при превышении оптимального масштаба происходит выход за пределы однозначности фазы и оценка становится ошибочной. На практике распределение деформаций часто является сильно неоднородным, поэтому требуются разные шаги дифференцирования в разных областях визуализируемой области. Обычно используется один и тот же масштаб для всего ОКЭ изображения и он, будучи оптимальным для одной области, является далёким от оптимального в другой. Поэтому необходим адаптивный выбор шага дифференцирования.

Искомые аксиальные деформации связаны с градиентом межкадровых вариаций фазы как

$$\frac{du}{dz} \approx \frac{\Delta u}{\Delta z} = \frac{\lambda_0}{4\pi n} \frac{\Delta \Phi}{g H_{px}} \quad (1)$$

где u – смещения рассеивателей, z – аксиальная координата, λ_0 – центральная длина волны спектра, n – коэффициент преломления, H_{px} – вертикальное расстояние между пикселями, g – аксиальное разнесение пикселей и $\Delta \Phi$ разность межкадровых вариаций фазы между этими пикселями. Для оценки градиента используем «векторный» метод [1], дополненный адаптивным выбором масштаба g . Для этого рассчитываются усреднённые градиенты с использованием g в диапазоне от 2 до 16. Из-за периодичности фазы, для излишне большого разнесения g может происходить скачок на 2π , что приводит к смене знака оцениваемых деформаций. В каждом пикселе выбирается максимальное значение g , при котором не произошёл выход за пределы однозначности. Полученные значения формируют маску (Рис. 1, а), в соответствии с которой комбинируются полученные деформации для разных g .

На Рис. 1 представлены результаты обработки разработанным методом. Использование адаптивного шага g показывает более высокое качество оценивания и визуализации деформаций.

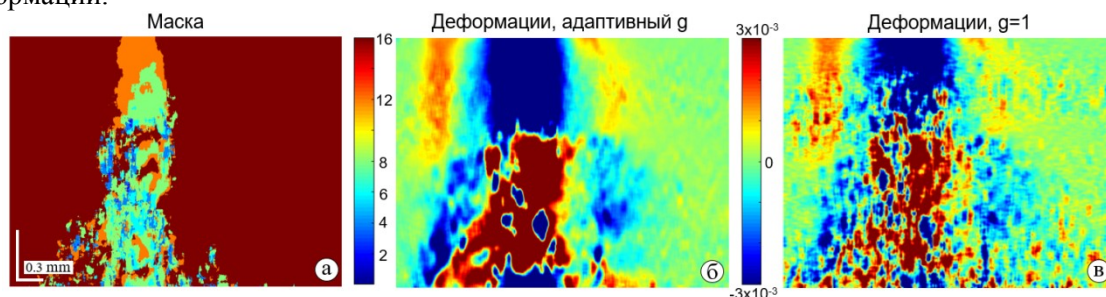


Рис. 1. Маска (а), показывающая автоматически выбранное значение g ; б – деформации, рассчитанные с использованием адаптивного выбора g ; в – деформации, рассчитанные с фиксированным $g = 1$.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №22-22-00952.

1. Matveyev A. L. et al. Vector method for strain estimation in phase-sensitive optical coherence elastography // Laser Physics Letters. – 2018. – Т. 15. – №. 6. – С. 065603.

**Моделирование и машинное обучение
в биофотонике**

**Modelling and machine learning
in biophotonics**

ASYMPTOTIC SOURCE FUNCTION APPROXIMATION BASED FLUORESCENCE
MOLECULAR TOMOGRAPHY: CURRENT STATUS AND PROSPECTS

**A.B. Konovalov¹, V.V. Vlasov¹, S.I. Samarin¹, A.S. Uglov¹, I.D. Solovyev², A.P. Savitsky²,
and V.V. Tuchin^{2,3}**

¹ FSUE “Russian Federal Nuclear Center – Zababakhin All-Russia Research Institute of Technical
Physics, Snezhinsk, Russia, a_konov@mail.vega-int.ru

² Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of
Science, Moscow, Russia

³ Chernyshevsky Saratov State University, Saratov, Russia

Abstract. The paper is devoted to an original method of time-resolved fluorescence molecular tomography based on asymptotic approximation to the fluorescence source function. The method implements the separate reconstruction of fluorescence parameter distributions such as the fluorophore absorption coefficient and fluorescence lifetime in the time domain. The paper analyzes results the authors have obtained during last 4 years in their testing the method in numerical and physical experiments. The method is inferred to be quite promising and directions of further research for its verification as a sub-millimeter resolution method are outlined.

Our time-domain fluorescence molecular tomography (FMT) method is oriented to reflectance geometry and early arriving diffuse photons corresponding to the leading edge of the time-resolved fluorescence signal. Just for these photons, as shown in [1], the asymptotic approximation of the fluorescence source function holds true. The approximation allows one to derive a linear reconstruction model in the time domain for the fluorescence parameter distribution function (FPDF) of a simple form containing the fluorophore absorption coefficient and fluorescence lifetime distributions. Thus the FPDF is first reconstructed for different values of the average photon migration velocity and then, also in the time domain, fluorescence parameters are separated by constructing and solving the overdetermined system of linear algebraic equations. To reconstruct the FPDF, we used iterative algorithms such as the algebraic reconstruction technique (ART) with total variation regularization [2], ART with fast shrinkage thresholding [1], and the hybrid algorithm [3] combining ART, total variation regularization, and fast shrinkage thresholding. The fluorescence parameter separation was performed via the well-known least square algorithm with QR-factorization [4].

In numerical experiment [1], we used the macroscopic data registration regime (no smaller than 8 mm between the source and the detector). The sensitivity functions were calculated analytically with a diffusion approximation. As a result, we managed to mutually resolve fluorescent inclusions 100 μm in diameter which is quite a competitive outcome. Physical experiment [3] was done using available equipment with a very limited range of source-detector distances on the mesoscopic scale (1.1 – 3.3 mm). The sensitivity functions were modeled with a specially developed Monte Carlo code [5]. Despite that the geometry was not optimal we succeeded to obtain quite adequate reconstructions of a phantom with a fluorescent solution which shows that our method is rather flexible.

Our near-future plan includes (1) the development of an optical-fiber probe with a more optimal arrangement of sources and detectors (staggered, for example); (2) a physical experiment for the reconstruction of a phantom with periodic structures in order to verify our FMT method as a submillimeter resolution method; and (3) transition from experiments with phantoms to experiments with laboratory animals.

References

1. A.B. Konovalov, V.V. Vlasov, and A.S. Uglov, *Int. J. Numer. Meth. Biomed. Eng.*, 2021, **37**(1), e3408.
2. H. Yu and G. Wang, *Phys. Med. Biol.*, 2009, **54**(9), 2791-2805.
3. A.B. Konovalov, V.V. Vlasov, S.I. Samarin, I.D. Soloviev, A.P. Savitsky, and V.V. Tuchin, *J. Biomed. Opt.*, 2022, **27**(12), 126001.
4. C.C. Paige, M.A. Sanders, *ACM Trans. Math. Softw.*, 1982, **8**(1), 43-71.
5. S.I. Samarin, A.B. Konovalov, V.V. Vlasov, I.D. Soloviev, A.P. Savitsky, and V.V. Tuchin, *Computer Optics*, 2023, accepted for publication.

**BROADBAND SELF-CALIBRATING SYSTEM
FOR DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY**

**A.V. Khilov, V.V. Perekatova, A.B. Kostyuk, M.Yu. Kirillin, E.A. Sergeeva, D.A. Kurakina,
O.V. Shemagina, A.G. Orlova and I.V. Turchin**

A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod,
Russia, alhil@inbox.ru

Abstract. Self-calibrating approach in diffuse reflectance spectroscopy (DRS) allows for elimination of instrumental contributions of the source and detector channels. We report on an experimental self-calibrating ultra-wideband (460–1030 nm) DRS setup, which possibilities were demonstrated during in vivo studies on laboratory rats.

Diffuse reflectance spectroscopy (DRS) is a non-invasive optical imaging technique based on the illumination of a studied biological tissue with broadband light in the visible (VIS) and/or near-infrared (NIR) spectrum region and further detection of backscattered light at a given source-detector distance. Measured spectral data includes information about tissue chromophores content (including oxy- and deoxyhemoglobin, melanin, water and lipids), which can be reconstructed by the solution of an inverse problem.

Instrumental characteristics of the employed DRS system should be taken into account for correct and successful reconstruction of tissue chromophores content. Traditional approach is based on the measurements with two different source-detector configurations (one source and two detectors or two sources and a single detector) with further calculation of their ratio. The ratiometric (or so-called single-slope) approach allows for compensation of detector spectral sensitivity and the source brightness variations [1]. However, it does not provide with the compensation of source and detector transfer functions.

In paper [2] the authors proposed the self-calibrating approach based on symmetrical multi-distance measurements (at least four measurements with two sources and two detectors). It allows for compensation on instrumental contributions of both source and detector channels. Moreover, it is less sensitive to possible changes in the optical coupling between the optical sensor and tissue [3] compared to both single-distance and single-slope approaches.

We report on an experimental self-calibrating VIS-NIR DRS setup equipped with a fiber optic probe. To our knowledge, this is the first application of the self-calibration approach for the 460–1030 nm ultra-wideband (VIS-NIR) DRS. We performed the comparison of stability of the self-calibrating and traditional single-slope approaches to instrumental perturbations in model experiments on silicon-based tissue mimicking phantom and in vivo studies on human palm. Studied perturbations included attenuations in individual channels, fiber curving, and the introduction of optical inhomogeneities in the probe–tissue interface [4]. The self-calibrating approach demonstrated high resistance to instrumental perturbations introduced into the source and detection channels. On the contrary, the single-slope approach was resistant to perturbations introduced into the source channels only.

The developed experimental VIS-NIR DRS setup has been employed successfully in the in vivo studies on laboratory rats to study the differences in dynamics of physiological parameters (such as blood and water content, and oxygenation) of allo- and autografts [5].

Acknowledgements

The study was supported by Center of Excellence «Center of Photonics» funded by The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Contract No. 075-15-2022-316

References

1. F. Scholkmann, A. J. Metz, and M. Wolf, *Physiol. Meas.*, 2014, **35**, 717.
2. D. M. Hueber, S. Fantini, A. E. Cerussi, and B. B. Barbieri, in *Optical tomography and spectroscopy of tissue III (SPIE)*, 1999, 618-631.
3. A. Sassaroli, G. Blaney, and S. Fantini, *JOSA A*, 2019, **36**, 1743-1761.
4. V. Perekatova, A. Kostyuk, M. Kirillin, E. Sergeeva, D. Kurakina, O. Shemagina, A. Orlova, A. Khilov, I. Turchin, *Diagnostics*, 2023, **13**, 457.
5. I. Turchin, V. Beschastnov, P. Peretyagin, V. Perekatova, A. Kostyuk, A. Orlova, N. Koloshein, A. Khilov, E. Sergeeva, M. Kirillin, M. Ryabkov, *Biomedicines*, 2023, **11**, 351.

МАШИННОЕ ОБУЧЕНИЕ В ЦИФРОВОЙ ДИАФАНОСКОПИИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЙ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫХ ПАЗУХ

Е.О. Брянская¹, В.В. Дрёмин¹, М.Ю. Кириллин^{2,3}, В.Г. Артюшенко⁴, А.В. Дунаев¹

¹ Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, ФГБОУ ВО Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, Орёл, Россия

² Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН, Нижний Новгород, Россия

³ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

⁴ art photonics GmbH, Берлин, Германия

Аннотация. Работа посвящена применению методов машинного обучения, в частности линейного дискриминантного анализа, в цифровой диафаноскопии для выявления патологий верхнечелюстных пазух. Для построения модели классификации состояния тканей верхнечелюстных пазух рассчитаны диагностические критерии: параметр интенсивности и коэффициент асимметрии. Получены высокие показатели чувствительности и специфичности 0,88 и 0,98 соответственно, что позволяет снизить вероятность ложноотрицательного результата диагностики по сравнению с традиционно применяемыми экономически доступными методами.

Введение

Применение метода цифровой диафаноскопии, основанного на просвечивании тканей верхнечелюстных пазух (ВЧП) низкоинтенсивным излучением, и последующей регистрации диафаногамм, в настоящий момент характеризуется отсутствием моделей классификации для исключения субъективности постановки диагноза. Таким образом, целью данного исследования является применение методов машинного обучения для выявления патологий ВЧП методом цифровой диафаноскопии с меньшей вероятностью ложноотрицательного результата по сравнению с традиционно применяемыми экономически доступными методами диагностики.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проведены с применением разработанного устройства цифровой диафаноскопии с участием условно здоровых добровольцев и пациентов с патологиями ВЧП. Зондирование ВЧП осуществлялось светодиодным аппликатором с длинами волн 650 нм и 850 нм, регистрация диафаногамм осуществлялась с помощью КМОП-камеры, расположенной напротив лица исследуемого. По полученным диафаногаммам производился расчёт параметра интенсивности (*ПИ*), и коэффициента асимметрии (*КА*). Для расчёта *ПИ* на диафаногамме в области ВЧП рассчитывалось среднее значение интенсивности света. Расчёт *КА* заключался в определении линии симметрии, повороте диафаногамм для обеспечения её вертикального положения и вычислении *КА* между левой и правой частями лица.

Результаты исследования

Анализ полученных данных по критерию Манна-Уитни выявил высокий уровень значимости статистических различий ($p < 0,05$) для рассчитываемых количественных параметров в исследуемых группах. Предложено применение линейного дискриминантного анализа для построения модели классификации. Для длины волны зондирования 850 нм получены наилучшие значения чувствительности и специфичности (0,88 и 0,98 соответственно), и значение точности 0,93. Таким образом, предложенный подход позволяет с высокой точностью выявлять наличие патологии в ВЧП, и в свою очередь снизить вероятность ложноотрицательного результата диагностики по сравнению с традиционно применяемыми экономически доступными методами диагностики.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №20-32-90147, а также при финансовой поддержке ФСИ в рамках проекта СТАРТ № 353ГС1ЦТС10 D5/80270. Выражаем благодарность волонтерам, пациентам и врачам Университетской клиники МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия) за всестороннюю помощь на всех стадиях реализации проекта.

ИЗМЕРЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ В ДИАПАЗОНЕ 350–1300 нм ДЛЯ ЗАДАЧ ОПТИЧЕСКОЙ БИОПСИИ

**К.Ю. Кандурова¹, Д.С. Сумин^{1,2}, А.А. Палалов¹, Е.С. Серёгина¹, В.В. Дрёмин¹,
А.В. Мамошин^{1,2}, А.В. Дунаев¹, Е.В. Потапова¹**

¹ ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел, Россия,
k.kandurova@oreluniver.ru

² БУЗ ОО «Орловская областная клиническая больница», Орел, Россия

Аннотация. В работе описано измерение и расчет оптических свойств в срезах печени крыс. Данные значения, наряду с характеристиками, полученными для образцов желчи, использованы для моделирования оптических свойств паренхимы с учетом различного содержания тканевых хромофоров.

В настоящее время актуальным остается внедрение оптических методов и устройств в хирургическую практику. Данные методы способны дать информацию о метаболических и структурных изменениях в тканях [1,2]. Представляет интерес поиск показателей для разработки простых и объективных технологий оценки функционального состояния печени и прогнозирования печеночной недостаточности при механической желтухе и других патологиях. Важным этапом является определение оптических свойств и моделирование взаимодействия света с исследуемой биологической тканью. Для интерпретации исследований также необходимо иметь представление о характеристиках тканей с различным содержанием крови, воды, желчи, липидов.

Цель работы – поиск и экспериментальное определение оптических характеристик тканей печени с последующим применением для моделирования.

Для измерения были использованы срезы тканей печени 6 крыс линии Wistar, а также образцы желчи 25 пациентов Орловской областной клинической больницы. Был разработан протокол перфузирования раствором Хэнкса с кальцием для промывания сосудов печени 3 крыс от крови и использования полученных зависимостей коэффициента поглощения с добавлением характеристик хромофоров. Образцы желчи были получены при антеградной декомпрессии желчевыводящих путей у пациентов с механической желтухой. Для измерения полного пропускания и диффузного отражения в диапазоне 220-1400 нм использовался спектрофотометр Shimadzu UV-2600 с интегрирующей сферой ISR-2600Plus. Для измерения коллимированного пропускания был разработан держатель образцов с отверстиями диаметром 1,5 мм. Коэффициент поглощения, транспортный коэффициент рассеяния и фактор анизотропии рассчитывались методом обратного добавления-удвоения.

Результаты измерений образцов желчи демонстрируют преобладание поглощения в диапазоне 350-500 нм, обусловленного билирубином. Перфузирование тканей печени позволило снизить влияние поглощения гемоглобина в полосах 415, 500-600 и 760 нм. Для моделирования оптических характеристик были использованы измеренные коэффициенты поглощения и рассеяния паренхимы печени и желчи, а также фактор анизотропии паренхимы вместе с известными литературными данными для основных тканевых хромофоров [3]. Были получены зависимости коэффициента поглощения для различного содержания окси- и дезоксигемоглобина, воды, липидов и желчи. Результаты расчета транспортного коэффициента рассеяния тканей печени до и после перфузирования были экспоненциально аппроксимированы. Значения фактора анизотропии также были рассчитаны для различного кровенаполнения и сатурации.

Полученные результаты спектрофотометрических измерений и моделирования представляют практическую ценность для разработки диагностических критериев оценки функционального состояния печени при различных патологиях.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках проекта Российского научного фонда № 21-15-00325.

Ссылки

1. V. Dremin, E. Potapova, E. Zherebtsov, K. Kandurova, V. Shupletsov, A. Alekseyev, A. Mamoshin, and A. Dunaev, *Sci. Rep.*, 2020, **10**, 14200.
2. K. Kandurova, D. Sumin, A. Mamoshin, and E. Potapova, <https://doi.org/10.1002/lsm.23695>.
3. S.L. Jacques, *Phys. Med. Biol.*, **58**(11), R37–R61.

КАРТИРОВАНИЕ ОКСИГЕНАЦИИ КРОВИ ПО ДВУХВОЛНОВЫМ ОПТОАКУСТИЧЕСКИМ ИЗМЕРЕНИЯМ МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Д.А. Куракина, А.В. Хилов, М.Ю. Кириллин и В.В. Перекатова

Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук, Нижний Новгород,
Российская Федерация, daria.kurakina@ipfran.ru

Аннотация. Оптоакустическая визуализация биологических тканей представляет собой современный метод, позволяющий проводить трехмерное картирование степени насыщения крови кислородом на основе спектроскопических данных. В данной работе проведены системные расчеты карт поглощения среды с сосудоподобными структурами различных диаметров и глубин залегания для создания обучающей выборки для машинного обучения с использованием метода Монте-Карло. Разработанный метод реконструкции, основанный на машинном обучении, позволяет картировать оксигенацию крови в кровеносных сосудах *in vivo*.

Точные количественные измерения степени насыщения крови кислородом (sO_2) с помощью оптоакустической (ОА) визуализации является одной из наиболее востребованных целей количественных ОА исследований из-за его широкого спектра непосредственных применений [1]. ОА диагностика основана на регистрации ультразвуковых волн, генерируемых в исследуемой биологической ткани за счет поглощения зондирующих лазерных импульсов оптическими неоднородностями. Поскольку разные хромофоры имеют свои спектры поглощения, спектральные измерения ОА позволяют реконструировать концентрации хромофоров.

Обычно количественные ОА оценки направлены на получение абсолютной количественной оценки оптических свойств, таких как коэффициент поглощения μ_a , из измеренных ОА сигналов. Реконструкция μ_a включает в себя решение двух некорректных обратных задач: во-первых, выполнить акустическую реконструкцию, получая ОА изображения для каждой измеренной длины волны λ , и, во-вторых, получить μ_a из спектра поглощенной энергии H [2]. Однако биологические ткани оптически неоднородны, а их оптические свойства априори неизвестны, что требует разработки индивидуальных подходов для выделения физиологических параметров. Текущая тенденция заключается в применении методов машинного обучения с использованием больших наборов синтетических ОА данных, что требует численного решения как оптических, так и акустических задач. В данной работе были использованы подходы, основанные на методах машинного обучения для попиксельной 3Д-реконструкции насыщения крови кислородом.

В этом исследовании мы обучили алгоритм машинного обучения на данных *in silico*, полученных с помощью Монте-Карло моделирования карт распределения поглощенной энергии H света в модельной ткани, а затем оценили уровень sO_2 на ОА данных для уха кролика *in vivo*. Специально разработанная реализация алгоритма Монте-Карло на базе MATLAB использовалась для построения карт поглощения, характеризующихся распределением поглощенной дозы в тканеподобной среде, содержащей кровеносные сосуды различного диаметра, глубины залегания и степени насыщения крови кислородом в пределах морфологического диапазона [3]. В данном исследовании были рассмотрены длины волн 532 нм и 1064 нм, являющиеся наиболее используемыми для ОА визуализации.

Полученный набор синтетических ОА данных показал большой потенциал в качестве обучающего набора для метода машинного обучения, направленного на картирование оксигенации крови на основе спектральных ОА данных. Подход, основанный на машинном обучении, позволяет картировать сатурацию крови в кровеносных сосудах *in vivo*.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-29-00074).

Ссылки

1. C. Bench, A. Hauptmann, and B. Cox, *Jour. of Biomed. Opt.*, 2020, 25(8), 085003-085003.
2. V. Perekatova, P. Subochev, M. Kirillin, E. Sergeeva, D. Kurakina, A. Orlova, A. Postnikova, and I. Turchin, *Las. Phys. Let.*, 2019, 16(11), 116201
3. V. Perekatova, D. Kurakina, A. Khilov and M. Kirillin, *Jour. of Biomed. Phot. & Eng.*, 2022, 8(4), 40511

**РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА
ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПАРЕНХИМЫ И ОПУХОЛЕЙ ПЕЧЕНИ
НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПАРАМЕТРОВ ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ**

**В.В. Шуплецов¹, Е.В. Потапова¹, Е.А. Жеребцов¹, В.В. Дрёмин¹, К.Ю.Кандурова¹,
Д.С. Сумин^{1,2}, А.В. Мамошин^{1,2}, А.В. Дунаев¹**

¹ ОГУ им И.С. Тургенева, Орёл, Россия

² БУЗ Орловской области «Орловская областная клиническая больница», Орёл, Россия

Аннотация. Оценена эффективность методов машинного обучения для дифференциации опухолей печени по параметрам времени жизни флуоресценции от здоровой паренхимы. Метод случайного леса проявил наибольшую чувствительность и специфичность в задаче классификации. Полученные результаты могут быть использованы для разработки технологии диагностики при тонкоигольной биопсии печени.

Введение

Опухоли печени представляют собой серьезную проблему современной медицины, которая требует разработки новых методов диагностики. Тонкоигольная оптическая биопсия является перспективным методом, позволяющим дифференцировать очаговые и диффузные новообразования печени от паренхимы. Однако проблема дифференциации различного типа опухолей (первичные и метастазы) до сих пор не решена. В данной статье представлен новый подход к диагностике на основе параметров времени жизни флуоресценции, полученных при проведении тонкоигольной пункционной биопсии печени.

Материалы и методы

В данной работе использовалась автономная система счета одиночных фотонов с корреляцией по времени TCSPC (Becker&Hickel, Германия) на основе платы счета фотонов SPC-130-EMN, детектора НРМ-100-40 с фильтром MF445-45 и лазера BDL-SMN с длиной волны 375 нм. Всего в исследовании приняли участие 9 пациентов: 3 пациента с диагнозом первичный метастатический рак печени (гепатоцеллюлярная аденокарцинома), 6 пациентов с диагнозом доброкачественная опухоль печени (узловая гиперплазия), подтвержденные на основе патоморфологического анализа. Для каждого пациента в ходе проведения стандартной процедуры чрескожной пункционной биопсии печени проведена регистрация параметров времени жизни флуоресценции в области условно здоровой паренхимы печени и опухоли.

Результаты исследования

Для классификации опухолевых тканей и паренхимы печени были использованы и сравнены между собой три метода машинного обучения: метод опорных векторов, метод логистической регрессии и метод случайного леса. В качестве точностного анализа каждого метода была выбрана метрика площади под ROC-кривой (AUC), полученная методом случайного смешивания (по 10 эпохам), в ходе которого наиболее эффективным классификационным методом был определен метод случайного леса. Для измеренных пар параметров времени жизни флуоресценции были получены следующие значения чувствительности (Se) и специфичности (Sp): для гепатоцеллюлярной аденокарциномы/паренхимы печени: $Se=0,95\pm 0,06$, $Sp=0,75\pm 0,15$, $AUC=0,95\pm 0,04$; для узловой гиперплазии/паренхимы печени $Se=0,95\pm 0,05$, $Sp=0,84\pm 0,09$, $AUC=0,97\pm 0,02$.

Использование методов машинного обучения позволило повысить точность дифференциации опухолевых тканей от паренхимы печени по сравнению с нашими предыдущими исследованиями, где была дифференцирована гепатоцеллюлярная аденокарцинома на модельных животных [1]. В дальнейшем наша работа будет направлена на расширение набора данных с целью уточнения разработанного классификатора, в том числе для дифференциации различных новообразований печени между собой.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке РФФ, проект № 21-15-00325.

Ссылки

1. Zherebtsov E.A., Potapova E.V., Mamoshin A.V., Shupletsov V.V., Kandurova K.Y., Dremine V.V., Abramov A.Y., Dunaev A.V., *Biomed. Opt. Express*, **13**, 633-646, (2022).

Стендовые доклады

Poster session

СИНТЕЗ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ: МАГНЕТИТ ИЛИ МАГГЕМИТ?

Е.О. Моисеева, С.В. Герман, Д.А. Горин

Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия,
e-mail: Ekaterina.Moiseeva@skoltech.ru

Аннотация. Суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (SPIONs) показали себя как перспективный функциональный материал для применения в медицине и биотехнологии. В настоящее время SPIONs активно используются в коммерческих тест-системах для иммуноанализа, а также является клинически-одобренным контрастным агентом для магнитно-резонансной томографии. Кроме того, SPIONs активно исследуются в качестве материалов для применения в фотонике, включая фотонные кристаллы, органические светодиоды и новые методы визуализации и терапии на основе лазерных технологий [1]. Однако, контролируемый синтез магнитных наночастиц заданными свойствами все еще остается актуальной задачей. Как правило, в результате реакции соосаждения солей железа образуется смешанный оксид магнетита или маггемита с переменным составом, при этом образующиеся оксиды изоструктурны друг другу, поэтому их идентификация с помощью рентгеноструктурного анализа крайне затруднительна. Предложен метод получения электростатически стабилизированных магнитных наночастиц, а также спектрофотометрический способ количественного определения содержания Fe_3O_4 и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ в их составе.

В данной работе наночастицы оксида железа были синтезированы по методике соосаждения гексагидрата хлорида железа (III) и тетрагидрата хлорида железа (II) в автоматическом химическом реакторе CR-1 (TetraQuant, Россия) [2]. Согласно результатам просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (ПЭМ ВР) получены частицы имеют средний диаметр 7 нм (индекс полидисперсности < 0.2) и характеризуются высокой степенью кристалличности. Картина дифракции электронов по выбранной области (SAED) соответствует кристаллической структуре шпинели (кубическая сингония). Оценка химического состава проводилась методом спектрофотометрического определения окрашенных комплексов Fe^{2+} и Fe^{3+} . Верификация полученных измерений осуществлялась методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). Показано, что непосредственно после реакции наночастицы представляют собой практически чистый магнетит (содержание $\text{Fe}^{2+} = 30\%$), а при стоянии на воздухе переходят в маггемит (содержание $\text{Fe}^{2+} = 6\%$), который впоследствии не меняет своего состава со временем. Дополнительно нами было обнаружено, что спектры поглощения коллоидных частиц также имеют отличия, так магнетит обладает поглощением в ближнем ИК, в то время как маггемит не поглощает данной области.

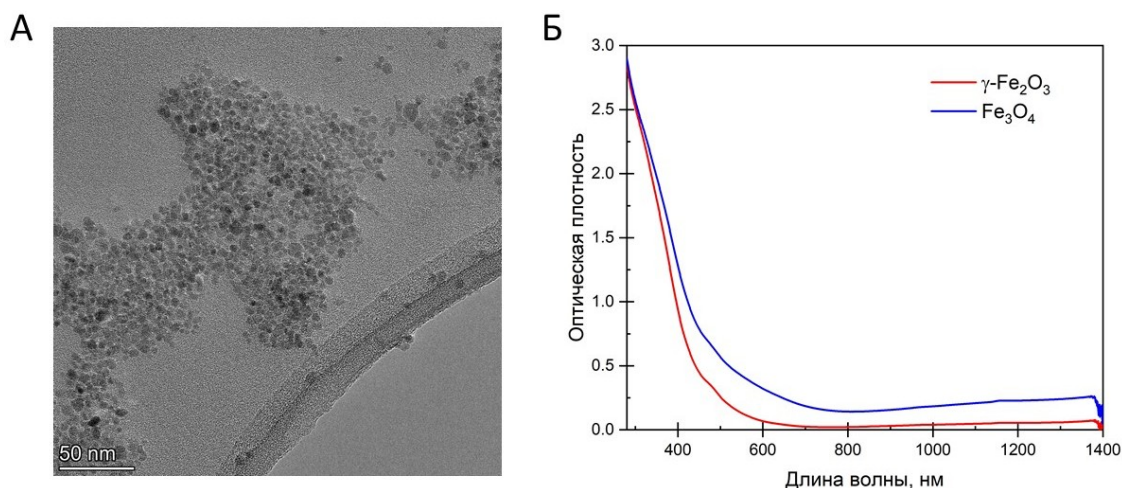


Рис. 1. ПЭМ ВР изображение полученных оксидных частиц (А). Спектры поглощения коллоидных частиц магнетита (Fe_3O_4) и маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (Б).

Благодарности: настоящая работа поддержана Программой «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО

Ссылки

1. Zhang L., Dong W. F., Sun H. B. Nanoscale, 2013, 5, 17, p. 7664-7684.
2. German S. V. et al. Colloid Journal, 2013, 75, p. 483-486.

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ОПРЕДЕЛЯЕТ ДИНАМИКУ
ВТОРИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ H_2O_2 В КОМПАРТМЕНТАХ КЛЕТКИ
ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Н.Н. Пескова¹, А.А. Горохова¹, Н.Ю. Шилягина¹, А.А. Брилкина¹, И.В. Балалаева¹

¹ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия,
nin-22@yandex.ru

Аннотация. С использованием клеточных линий с экспрессией пероксид-чувствительного сенсора Нурег в цитоплазме и митохондриях клеток было зарегистрировано наличие латентного периода между воздействием и развитием ответа в форме увеличения содержания H_2O_2 , увеличивающегося с уменьшением дозы облучения. Было показано, что вторичное накопление H_2O_2 в цитоплазме клетки после обработки локализованным в лизосомах фотосенсибилизатором опережает продукцию H_2O_2 в митохондриях. Напротив, мембранотропный фотосенсибилизатор приводит к массивной продукции H_2O_2 митохондриями с последующим его накоплением в цитоплазме. Мы предполагаем, что фотосенсибилизаторы с различными физико-химическими свойствами и внутриклеточной локализацией могут вызывать различные паттерны не только первичной, но и вторичной продукции АФК, приводящие к различным исходам клеточной смерти.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является интенсивно развивающимся методом диагностики и лечения злокачественных новообразований. Метод основан на взаимодействии нетоксичного фотосенсибилизатора (ФС) с длиной волны, соответствующей его максимуму поглощения, что в присутствии молекулярного кислорода приводит к генерации цитотоксических активных форм кислорода (АФК). Для повышения эффективности поражения злокачественных клеток и защиты окружающих нормальных тканей необходимо всестороннее изучение молекулярно-клеточных процессов, протекающих при ФД-воздействии. Особый интерес вызывает исследование роли H_2O_2 , как основного эффектора ФД-реакции, а также участника внутриклеточных сигнальных каскадов.

Целью данной работы являлся анализ динамики вторичной продукции H_2O_2 в цитоплазме и митохондриях клеток после ФД-воздействия в присутствии фотосенсибилизаторов различной локализации.

Исследования проводились на стабильно трансфицированных клеточных линиях эпидермоидной карциномы человека А431 с экспрессией генетически кодируемого сенсора Нурег в цитоплазме (А431-Нурег-cyto) и митохондриях (А431-Нурег-mito) клеток. В качестве параметра, характеризующего содержание H_2O_2 , нами определялось отношение регистрируемого сигнала флуоресценции Нурег при разных длинах волн возбуждения (I_{488}/I_{405}). В качестве ФС использовался гидрофильный препарат Фотосенс® (ФГУП ГНЦ НИОПИК, Россия) (далее PhS) и соединение из класса цианоарилпорфиразинов – тетракис(бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин (далее Pz), синтезированное в Институте металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН. Для фталоцианинового PhS характерна локализация в лизосомах, тогда как мембранотропный Pz преимущественно накапливается в ЭПР и аппарате Гольджи. С целью ФД-воздействия клетки кратковременно (не превышая 1 мин) облучались в дозах 15-50 Дж/см².

ФД-воздействие приводило к монотонному увеличению содержания H_2O_2 в цитоплазме и митохондриях клеток в течение длительного времени после окончания облучения, а наличие дозозависимого латентного периода между воздействием и ответом может свидетельствовать о том, что накопление H_2O_2 обусловлено вторичными биохимическими процессами. Необходимо отметить, что в зависимости от физико-химических свойств ФС, митохондриальная продукция H_2O_2 может как опережать его накопление в цитоплазме, так и отставать по времени. Показано, что изменение I_{488}/I_{405} не связано с возможным изменением pH в клетках. Присутствие в среде синтетического антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина ингибирует накопление H_2O_2 и приводит к повышению жизнеспособности облученных клеток.

Таким образом, ФД-воздействие сопровождается вторичной продукцией H_2O_2 , а его источники в клетках могут отличаться в зависимости от физико-химических свойств ФС.

Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ (договор № 075-15-2022-293). Н.Н. Пескова благодарит за персональную поддержку в форме стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам (СП-2067.2021.4)

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ НА ДИНАМИКУ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ФИБРИНОВОГО ГИДРОГЕЛЯ

А.А. Бакулина¹, Г.Р. Мусина², А.А. Гавдуш², Ю.М. Ефремов¹, А.И. Шпичка¹,
К.И. Зайцев², П.С. Тимашев¹

¹ Институт регенеративной медицины, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

² Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук, Москва, Россия

Аннотация. Фибриновый гидрогель широко используется в качестве биополимерного каркаса в тканевой инженерии. В данной работе представлена сравнительная характеристика фибринового гидрогеля и его модификаций с полиэтиленгликолем (ПЭГ) в молярных соотношениях 5:1, 10:1. Нативный фибрин был представлен неоднородными фибриллярными агрегатами, конъюгаты ПЭГ-фибрин были более однородным и состояли из хлопьевидных частиц. Было установлено, что ПЭГилирование привело к уменьшению модуля Юнга и снижению времени гелеобразования по сравнению с нативным фибрином. Таким образом, введение ПЭГ существенно влияет на гелеобразование фибриновой гидрогелевой системы.

Фибрин и материалы на его основе (гидрогели, герметики, клеи) широко применяются в регенеративной медицине. Одним из важных преимуществ фибрина является возможность его целенаправленной модификации. Особый интерес представляют конъюгаты фибрина с полиэтиленгликолем (ПЭГ), поскольку они могут быть использованы в качестве каркаса для изготовления биоэквивалентов различных тканей.

Настоящее исследование было направлено на определение динамических характеристик гидрогелевой системы, основанной на нативном и модифицированном фибрине. В процессе работы использовались лиофилизированный тромбин и фибриноген, полученные из бычьей плазмы, которые растворялись в стерильном фосфатно-солевом буфере. Модификация фибриногена осуществлялась путем добавления О,О-бис[2-(N-сукцинимидил-сукциниламино)этил] полиэтиленгликоля ((ПЭГ-N-Гидроксисукцинимид). Было получено 3 группы образцов: нативный фибрин, ПЭГ-фибрин с малярным соотношением 5:1 и 10:1.

Визуализация фибриновой сети проводилась с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 880. Для определения механических характеристик гелей применялся атомно-силовой микроскоп Bioscope Resolve, а реологические свойства исследовались с помощью реометра Physica MCR 302. Оптические свойства фибриновых гелей оценивались в диапазоне частот $\nu=0,15-1,5$ ТГц с помощью импульсного ТГц-спектрометра.

Выявлено, что фибрин, конъюгированный с ПЭГ в молярных соотношениях 5:1 и 10:1, был более однородным и состоял из хлопьевидных частиц, нативный фибрин был представлен неоднородными фибриллярными агрегатами. Средняя площадь частиц была наибольшей в нативном фибрине ($47,5 \pm 7$ мкм²), в то время как образцы ПЭГилированного фибрина показали меньшие средние значения: $10,3 \pm 0,9$ мкм² – 5:1 и $9,7 \pm 0,9$ мкм² – 10:1. Все образцы были относительно мягкими; средний модуль Юнга составил $345,78 \pm 69,46$ (нативный), $148,54 \pm 30,77$ (5:1) и $98,22 \pm 27,68$ (10:1). ПЭГилирование фибрина привело к снижению модуля Юнга (E) на 57% и 72% для образцов 5:1 и 10:1. ТГц-оптические свойства нативного фибрина позволили выявить постоянную времени полимеризации, которая составила $14,4 \pm 2,8$ мин. В свою очередь, наблюдаемые изменения ТГц-оптических свойств ПЭГилированного фибрина находились в пределах погрешности измерений, что не позволило оценить постоянную времени полимеризации полученных конъюгатов. По результатам реологического анализа модификация фибрина привела к значительному уменьшению времени гелеобразования: с 42,75 мин для нативного до 31,26 мин (5:1) и 35,09 мин (10:1) ПЭГ-фибрин.

Проведенный анализ показал, что модификация ПЭГ существенно влияет на динамику полимеризации фибринового гидрогеля, обеспечивая более быстрое гелеобразование и образование стабильной гомогенной системы. Понимание динамики гелеобразования является перспективным направлением для разработки биоэквивалентов тканей и оптимизации их свойств.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №21-15-00339, <https://rscf.ru/project/21-15-00339/>.

ПРИМЕНЕНИЕ ФИБРИЛЛЯРНЫХ КОЛЛАГЕНОВЫХ МАТРИЦ С ЯНУС-СТРУКТУРОЙ ДЛЯ АУГМЕНТАЦИОННОЙ УРЕТРОПЛАСТИКИ

А.А. Антошин¹, Б.П. Ершов^{1*}, А.Н. Гилязова¹, С.Ю. Волошин¹, Е.В. Истранова¹,
Я.И. Христидис¹, А.Л. Файзуллин¹, Д.В. Бутнару², П.С. Тимашев¹

¹Институт регенеративной медицины, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава
России, Москва, Россия, ershov_bp@staff.sechenov.ru*

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация. Стриктура уретры – часто встречающееся состояние, при котором показана уретропластика. В данном исследовании были испытаны коллагеновые матрицы с Янус-структурой для аугментационной уретропластики у кроликов. На 90 сутки после операции произошла почти полная регенерация слизистой стенки уретры, однако начиная со 180 суток начался процесс спонтанного стеноза уретры. В контрольной группе фиброз стенки уретры развивался сразу и достиг своего максимума уже к 45 суткам. Таким образом, в данном исследовании был обнаружен и описан феномен вторичного стриктурирования после почти полной регенерации слизистой при помощи биосовместимой матрицы, что должно учитываться при стратегии лечения пациентов со стриктурой уретры современными биоматериалами и требует дополнительных исследований.

Выявляемость стриктур уретры у мужчин колеблется от 229 до 627 на 10000 населения в различных странах [1]. Для лечения стеноза уретры применяется уретропластика, в ходе которой суженный участок уретры замещается аутооттрансплантатом (зачастую – участком щеки), однако это может повлечь за собой развитие осложнений в донорском участке [2]. Использование коллагеновых матриц может позволить избежать данных негативных последствий. В данном исследовании были применены бесклеточные матрицы с Янус-структурой, которые продемонстрировали высокую биосовместимость благодаря низкой иммуногенности.

В исследовании использовали коллагеновые мембраны, полученные методом электрофоретического осаждения из фибриллярного коллагена [3]. Использовали экспериментальную модель аугментационной уретропластики у кроликов: резецированные участки замещали коллагеновыми мембранами с Янус-структурой 15 кроликам, контрольной группе (15 кроликов) замещения не проводили.

Коллагеновая матрица после имплантации вызывала выраженную регенерацию тканей. К 15 суткам до 50% поверхности импланта покрывалось недифференцированным уротелием, а мембрана начинала разрушаться макрофагами. На 45 сутки поверхность дефекта окончательно эпителизировалась уротелием, под ним наблюдалось чередование остатков импланта. На 90 сутки наблюдалась полная эпителизация и дифференцировка уротелия, восстановление сосочков слизистой и ее соединительнотканной основы. Уровень α -SMA свидетельствовал об отсутствии риска вторичного стеноза уретры. Однако на 180-270 сутки у большинства животных наблюдался выраженный фиброз соединительнотканной оболочки уретры, с резким сужением её просвета, что идет вразрез с общим трендом до 90 суток на снижение активности миофибробластов. Причины данного явления будут уточнены в последующих работах. В контроле отмечали более быструю эпителизацию (до 90% на 8 сутки), а также большую степень фиброзирования (до выраженного фиброза на 15 сутки). По данным гистологии – степень фиброза на 45 сутки в контроле гораздо сильнее, чем на 270 сутки в экспериментальной группе.

Таким образом, в данном исследовании был обнаружен и описан феномен вторичного стриктурирования после регенерации слизистой при помощи биосовместимой матрицы.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №23-15-00481, <https://rscf.ru/project/23-15-00481>.

Ссылки

1. Alwaal, Amjad et al. “Epidemiology of urethral strictures.” *Translational andrology and urology* vol. 3,2 (2014): 209-13. doi:10.3978/j.issn.2223-4683.2014.04.07.
2. Abbas T O, Yalcin H C and Pennisi C P 2019 From acellular matrices to smart polymers: Degradable scaffolds that are transforming the shape of urethral tissue engineering *Int. J. Mol. Sci.* 20.
3. Antoshin A. et al. Semipermeable barrier-assisted electrophoretic deposition of robust collagen membranes // *Journal of Materials Science.* – 2023. – С. 1-23.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ ЧЕТВЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И НАНОКОМПОЗИТАМИ НА ИХ ОСНОВЕ

К.Н. Баранов, Е.С. Смирнова, А.О. Орлова

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, baranov.const@mail.ru

Аннотация. Были синтезированы биосовместимые четверные полупроводниковые квантовые точки $ZnAgInS_2$, а затем были сформированы наноконпозиты типа ядро/оболочка $ZnAgInS_2/TiO_2$. Исследование генерации активных форм кислорода сформированными структурами показало, что наращивание оболочки TiO_2 приводит к увеличению эффективности генерации активных форм кислорода при воздействии на системы излучением видимого диапазона. Кроме того, была рассчитана доля активных форм кислорода, которая формируется за счёт переноса электрона из зоны проводимости квантовой точки ZAIS в зону проводимости TiO_2 при воздействии излучением видимого диапазона.

Введение

Поиск новых подходов для терапии бактериальных инфекций является актуальной задачей. Активные формы кислорода (АФК) способны приводить бактерии к гибели. Одним из эффективных генератором АФК являются наночастицы диоксида титана. Однако основным недостатком TiO_2 – это широкая запрещённая зона. Один из способов расширить спектральную чувствительность диоксида титана в область меньших энергий – это создание гибридных структур на основе TiO_2 и, например, квантовой точки (КТ), поглощающей в необходимой области. Актуальными на сегодняшний день являются квантовые точки тройных соединений, например, $AgInS_2$. Для увеличения квантового выхода люминесценции на такие точки наращивают оболочку ZnS . Квантовые точки $ZnAgInS_2$ (ZAIS) являются результатом ещё одного модифицированного синтеза КТ $AgInS_2$. Внедрение ZnS в кристаллическую решетку AIS позволяет регулировать полосу флуоресценции (ФЛ) КТ из-за изменения ширины запрещенной зоны, а также значительно повышать квантовый выход люминесценции. Преимущества КТ ZAIS и наночастиц TiO_2 побудили нас сформировать гибридные структуры типа ядро/оболочка ZAIS/ TiO_2 и исследовать эффективность генерации АФК данными наноконпозитами.

Основная часть

Квантовые точки четверных соединений были сформированы по методике [1]. После смены лигандов для обеспечения растворимости в воде, происходило наращивание оболочки TiO_2 по методике [2]. Для исследования генерации АФК использовался химический сенсор п-нитрозодиметиланилин (RNO), который деградирует при взаимодействии с АФК. Таким образом, формируемые смеси растворов из сенсора RNO и КТ ZAIS (или наноконпозитов ZAIS/ TiO_2) подвергались воздействию излучения видимого диапазона, а затем регистрировались спектры поглощения образцов. Полученные результаты показали, что АФК генерируются как КТ ZAIS, так и наноконпозитами ZAIS/ TiO_2 . Кроме того, эффективность генерации АФК наноконпозитами оказывается больше, чем ZAIS, и уменьшается с увеличением дозы энергии.

Заключение

Наращивание оболочки TiO_2 на КТ ZAIS привело к увеличению эффективности генерации АФК. Полученный результат делает наноконпозиты ZAIS/ TiO_2 потенциально более перспективными для терапии бактериальных инфекций. В дальнейшем планируется исследовать антибактериальные свойства наноконпозитов ZAIS/ TiO_2 .

Благодарности

Настоящая работа поддержана Программой «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО (№ 923048)

Ссылки

1. G. Gabka et al, <https://doi.org/10.1021/ic500046m>
2. S. Lee et al, <https://doi.org/10.1021/jp508315m>

СОНОДИНАМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ СЕНСИБИЛИЗАТОРА ФЕОФОРБИДА А В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ RAJ1

Е.С. Смирнова, А.И. Дададжанова и А.О. Орлова

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, sm.kate@bk.ru

Аннотация. В работе сформированы растворы феофорбида а (Ph а) в диметилсульфоксиде (ДМСО) и смеси ДМСО:фосфатно-буферный раствор (1:10). Выявлено, что в растворе ДМСО феофорбид а находится в двух различных мономерных формах, а в растворе в смеси ДМСО:ФБ феофорбид а присутствует и в форме агрегатов, и в форме мономеров. Исследованы фотофизические свойства тетрапиррольной молекулы Ph а и ее агрегатов в биосовместимых растворителях под действием электромагнитного излучения и низкочастотного ультразвука в модельных средах и на раковых клеточных линиях. Наблюдалась эффективная генерация АФК и деградация клеток.

Введение

Одним из передовых методов лечения является сонодинамическая терапия (СДТ) [1]. Суть данного метода заключается в том, что воздействие терапевтического ультразвука в диапазоне частот 1–3 МГц и интенсивностей 0,5–4 Вт/см² в комбинации с классическим фотосенсибилизатором (ФС) приводит к деградации раковых клеток, в результате активации нескольких механизмов. Воздействие УЗ вызывает кавитационный эффект. Присутствие агрегатов молекул или наночастиц способно усиливать кавитационный эффект и приводить к механическому повреждению клеток [2]. Комбинированное действие УЗ излучения и молекул или наночастиц, которые способны генерировать активные формы кислорода (АФК), например синглетный кислород, способно эффективно запускать различные механизмы клеточной гибели и оказывать выраженное цитотоксическое действие [3]. Для достижения максимального СДТ эффекта предпочтительно, чтобы было такое вещество или состояние молекулы, которые способны участвовать в обоих механизмах. Рассматриваемый в работе феофорбид а представляется перспективным сонодинамическим агентом поскольку в мономерной форме эффективно генерирует синглетный кислород, а его агрегаты могут служить центрами кавитации для увеличения СДТ эффекта за счет механического повреждения клеток.

Основная часть

В ДМСО наблюдалась мономерная форма Ph а. Путем разбавления раствора Pha в ДМСО в фосфатно-буферном растворе (ФБ) был получен раствор смеси агрегатов и мономеров. Полученные растворы были облучены УЗ излучением с частотой 20 кГц и интенсивностью 30 мВт/см². Установлено, что влияние УЗ приводит к эффективному падению оптической плотности химического сенсора, которое связано с генерацией АФК. Вероятно, агрегаты молекул Ph а являются усилителями кавитации. Эксперимент повторялся на раковых клетках Raji, где смесь агрегатов и мономеров Ph а привело к эффективной деградации раковых клеток.

Заключение

Создание раствора смеси агрегатов и мономеров Pha привело к увеличению эффективности генерации АФК по сравнению с раствором мономеров Ph а. Полученный результат делает комбинацию форм Pha потенциально более перспективной для сонодинамической терапии.

Благодарности

Настоящая работа поддержана Программой «Клевер»: Совместные проекты Сколтеха, МФТИ и ИТМО (№ 923048)

Ссылки

1. Pan X. et al. Sonodynamic therapy (SDT): a novel strategy for cancer nanotheranostics //Science China Life sciences. – 2018. – Т. 61. – №. 4. – С. 415-426
2. Tuziuti T. et al. Correlation between acoustic cavitation noise and yield enhancement of sonochemical reaction by particle addition //The Journal of Physical Chemistry A. – 2005. – Т. 109. – №. 21. – С. 4869-4872
3. Dadadzhanova A. et al. Sonodynamic effect in A375 melanoma cells with chlorin e6 induced by 20 kHz ultrasound //Journal of Physics D: Applied Physics. – 2021. – Т. 55. – №. 4. – С. 045402.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕРМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ТЕРАПИИ

Л.П. Ичкитидзе^{1,3}, Г.Ю. Галечян^{1,2}, А.А. Ильиных¹, Е.С. Степичева¹,
А.Ю. Герасименко^{1,3}, Д.В. Тельшев^{1,3}, С.В. Селищев³

¹ Институт бионических технологий и инжиниринга Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия, galechyan_g_yu@staff.sechenov.ru

² Лаборатория клинических смарт-нанотехнологий Института регенеративной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

³ Институт биомедицинских систем Национального исследовательского университета «МИЭТ» (НИУ МИЭТ), Зеленоград, Россия

Аннотация. Рассмотрены некоторые особенности термических методов терапии включая фототермический (ФТТ), фотодинамический (ФДТ) и гипертермический (ГТТ). Подчеркнуто следующее: лазерная ФТТ имеет низкую пространственную селективность; при ФДТ требуется использование фотосенсибилизаторов, которые могут иметь негативные побочные проявления (аллергическая реакция и т.п.); эффективность применения ГТТ в значительной степени зависит от режима терапии и применения различных типов магнитных наночастиц (МНЧ).

Термическая терапия получила широкое развитие в онкологии и ортопедии. Все больше наблюдаются тенденции к комплексному применению таких методов терапии как ФТТ, ФДТ и ГТТ с использованием магнитных наночастиц. В данной работе проведен сравнительный анализ перечисленных методов и отмечены особенности их практического применения в биомедицине.

Лазерная ФТТ ограничена низкой пространственной селективностью, что частично решается путем использования различных фотосенсибилизаторов (ФС), например, золотых наночастиц. Последние характеризуются несложностью получения, низкой локальной токсичностью и аппроксимацией расчётов кинетики нагрева опухоли относительно других противоопухолевых агентов, к примеру, квантовых точек. Фототермические агенты должны обладать несколькими основными свойствами, такими как: сильное поглощение света в ближнем ИК-диапазоне (значение коэффициентов экстинкции $>10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$), биосовместимость и биоразлагаемость, а также иметь возможность визуализации в режиме реального времени для контроля терапии.

ФДТ позволяет использовать в качестве ФС различные лекарственные препараты, молекулы которых восприимчивы к свету и разрушаются при воздействии на них лазерного излучения. При оптимальном подборе типа ФС, длины волны и интенсивности лазерного излучения можно достичь терапевтического эффекта – гибели клеток раковой опухоли. При определенных условиях процесс ФДТ-терапии возможно проводить в амбулатории и дневном свете. Для ФДТ характерны некоторые побочные проявления на коже: отек на обрабатываемом участке или рядом с ним, изменение цвета, зуд, покалывание или жжение, кожные инфекции. ФТТ и ФДТ могут применяться комплексно – в сочетании с другими методами, внедрёнными в практическую медицину, однако, существует ряд противопоказаний к радикальному и паллиативному лечению, например, аллергические реакции на ФС.

ГТТ основана на перегреве целевого участка ткани за счет перемангничивания суперпарамагнитных МНЧ во внешнем переменном магнитном поле. Многофункциональные МНЧ служат агентами для векторной доставки лекарственных препаратов, диагностики и терапии. МНЧ могут эффективно ингибировать и убивать раковые клетки в *in vivo* условиях, в том числе метастазированные при правильном подборе параметров режима ГТТ. Эффективность ГТТ зависит от многих параметров МНЧ, включая размеры (5–1000 нм), форму (сферическая, стержневая, дисковая), толщину, тип материала покрытия и величин намагниченностей. Однако ГТТ еще недостаточно оптимизирована, но активно исследуется и уже постепенно переходит в фазу клинических испытаний.

Выполнение работ было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2021-596.

Научное издание

СЕМИНАР
**«СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ
В БИОФОТНИКЕ – 2023»**

Сборник тезисов докладов
(электронный ресурс)

Тезисы докладов приводятся в авторской редакции

Федеральный центр
Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова
Российской академии наук»
Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46