

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора физико-математических наук Зимнякова Дмитрия Александровича о диссертационной работе Хилова Александра Владимировича «Двухволновая флуоресцентная визуализация для задач фотодинамической терапии», представленной на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.4 – радиофизика

Диссертационная работа А.В. Хилова посвящена развитию количественных методов флуоресцентной визуализации биотканей. Флуоресцентные методы визуализации обладают высокой молекулярной чувствительностью, что позволяет получать высококонтрастные изображения распределения флуоресцентных агентов в биотканях. Одним из направлений применения флуоресцентных методов является визуализация распределения фотосенсибилизатора во время процедуры фотодинамической терапии с целью оценки его накопления и фотовыгорания, что традиционно используется в качестве прогностических факторов успешности проведения процедуры. Тем не менее, современные клинические протоколы проведения фотодинамической терапии в клинических условиях содержат лишь общие рекомендации по выбору суммарной световой дозы, доставляемой к поверхности облучаемой биоткани, и не включают в себя ни использование методов визуализации для контроля процедуры, ни тем более оценку локализации фотосенсибилизатора в организме после его накопления перед процедурой. В то же время пространственное распределение фотосенсибилизатора внутри биоткани, особенно его распределение по глубине, будет определять поглощенную фотосенсибилизатором долю воздействующего излучения и, в конечном итоге, эффективность процедуры.

Таким образом, актуальной задачей для повышения эффективности фотодинамической терапии является разработка неинвазивных методов оценки глубины локализации фотосенсибилизатора в биоткани. Включение применения такого метода в протоколы фотодинамической терапии является важным этапом на пути к персонализированному подходу в лечении, являющемуся актуальным трендом в развитии медицины.

В диссертационной работе А.В. Хиловым предложен метод оценки глубины локализации флуорофора в биоткани, основанный на регистрации флуоресценции при последовательном возбуждении флуорофора на двух различных длинах волн в спектре поглощения флуорофора и количественном анализе отношения регистрируемых флуоресцентных сигналов.

Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения и списка цитируемой литературы.

Во **введении** обоснована актуальность работы, сформулированы цели и задачи диссертации, указаны научная новизна и практическая значимость диссертации, приведены основные положения, выносимые на защиту, а также краткое содержание работы, отмечен личный вклад соискателя.

**Первая глава** диссертационной работы представляет собой обзор современного состояния науки в области флуоресцентных методов визуализации. Особое внимание уделено применению флуоресцентных методов в неинвазивном мониторинге процедуры фотодинамической терапии и их потенциалу применительно к оценке глубины локализации флуорофора в биоткани.

Во **второй главе** построена аналитическая модель формирования флуоресцентных сигналов в системах двухволновой флуоресцентной визуализации с использованием диффузионного приближения уравнения переноса излучения. Решение задачи аналитического описания флуоресцентного сигнала, регистрируемого с поверхности облучаемой биоткани, получено в виде суперпозиции двух задач: расчёта распределения световой дозы зондирующего излучения, поглощаемого распределённым в биоткани флуорофором, и последующего расчёта флуоресценции такого распределённого источника. Получено аналитическое выражение для флуоресцентного отклика в случае равномерно распределённого в приповерхностном слое биоткани флуорофора.

На основе разработанной модели предложен метод оценки глубины локализации флуорофора в биоткани на основе двухволновой флуоресцентной визуализации. Для флуорофоров с широким спектром поглощения или с несколькими пиками в спектре поглощения анализируется отношение сигналов эмиссии для двух длин волн возбуждения флуоресценции, нормированных на интенсивность падающего излучения. В основе метода лежит использование существенной дисперсии оптических свойств биотканей в видимом диапазоне длин волн.

Показано, что предложенный метод позволяет оценить толщину приповерхностного слоя кожи с накопленным в нём фотосенсибилизатором хлоринового ряда в пределах 2 мм. Исследовано также влияние вариаций оптических свойств биоткани на точность оценки. Полученные во второй главе теоретические результаты подтверждены в рамках численного моделирования методом Монте-Карло. Также в рамках численного моделирования методом Монте-Карло показано, что отношение флуоресцентных сигналов может быть использовано для оценки глубины локализации флуорофора биоткани при поверхностном нанесении или внутривенном введении флуоресцирующего маркера в организм.

В **третьей главе** диссертации описан предложенный подход к созданию полутвёрдых фантомов биоткани для проведения модельных экспериментов по двухволновой флуоресцентной визуализации. При изготовлении фантомов использован водный раствор агарового порошка в качестве основной матрицы, а также липофундин и красная тушь для имитации рассеивающих и поглощающих хромофоров биоткани. Спектры поглощения и транспортного рассеяния разработанных фантомов с хорошей точностью повторяют спектры кожи человека, измеренные *in vivo*. Предложенный во второй главе диссертации метод оценки глубины локализации флуорофора в биоткани апробирован в модельном эксперименте по двухволновой флуоресцентной визуализации на разработанных фантомах.

**Четвёртая глава** диссертации содержит анализ результатов двухволнового флуоресцентного мониторинга процедур фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда, проводимых *in vivo* как на лабораторных животных, так и в клинических условиях. Впервые продемонстрированы различия в динамике отношения флуоресцентных сигналов фотосенсибилизаторов хлоринового ряда при проведении процедуры фотодинамической терапии с синим и красным светом, что позволило оценить характер фотовыгорания фотосенсибилизатора по глубине. Также по результатам двухволновой флуоресцентной визуализации с использованием предложенного во второй главе диссертации метода проведены оценки характерной глубины проникновения фотосенсибилизатора хлоринового ряда при его нанесении на здоровые и патологические участки кожи лабораторных животных и человека. Полученные результаты подтверждаются как литературными данными, так и результатами морфологических исследований.

В **заключении** сформулированы основные результаты диссертационной работы.

Основные результаты диссертации получены лично автором, либо при его непосредственном участии, и опубликованы в 10 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных материалов, и 16 работах в сборниках трудов и тезисов международных и всероссийских конференций. Достоверность полученных в диссертации результатов обеспечивается физически обоснованной постановкой задач, а также использованием общепринятых моделей при разработке алгоритмов, и подтверждается численными, модельными и *in vivo* экспериментами. Автореферат диссертации полностью соответствует её содержанию.

Диссертационная работа А.В. Хилова представляет собой законченное, структурированное научное исследование, построенное по классической схеме. После проведения анализа современного состояния сформулирована цель исследования, после чего построена аналитическая модель, с помощью которой предложено решение основной задачи. Аналитическое решение верифицировано путем сравнения с результатами численного моделирования, а потом и путем сравнения с результатами эксперимента с применением разработанных калиброванных фантомов биоткани. На финальном этапе разработанный подход апробирован в *in vivo* экспериментах. Особой важностью в диссертационной работе представляет тот факт, что предложенный автором метод может быть использован для повышения эффективности процедуры фотодинамической терапии в реальных условиях.

Необходимо отметить, что диссертационная работа не лишена и некоторых недостатков.

1. В главе 2 (стр. 41) представлены результаты сопоставления модельных значений радиометрического параметра  $R_\lambda$ , полученных с использованием диффузионного приближения и Монте-Карло моделирования. Приведены зависимости  $R_\lambda$  от толщины флуоресцирующего слоя биоткани, демонстрирующие насыщение с ростом толщины и стремление к близкому к 1 асимптотическому значению при



больших толщинах флуоресцирующего слоя. Подобное поведение (насыщение до близкого к 1 значения) не совсем понятно, поскольку в соответствии с формулой (2.18) предельное значение  $R_\lambda$  определяется отношением двух величин, представляющих собой комплексы параметров среды для двух длин волн возбуждения. Близость предельного значения радиометрического параметра к 1 тогда обусловлена близкими значениями этих комплексов, что, исходя из существенного различия длин волн возбуждения (405 нм и 660 нм), представляется сомнительным. В работе следовало бы обсудить эту особенность.

2. Графики, приведенные на рис. 2.12, следовало бы представить не в линейных, а в полулогарифмических координатах. Это облегчило бы физическую интерпретацию полученных модельных зависимостей.

3. Следовало бы дать более подробное физическое обоснование модельных зависимостей параметра  $R_\lambda$  от величины заглубления флуоресцирующего слоя (рис. 2.13), демонстрирующий экспоненциальный рост с показателем, не зависящим от толщины слоя. Это обоснование следовало бы подкрепить количественными оценками, исходя из используемых параметров модели.

4. На рисунке 3.5, представляющем схему устройства для мониторинга накопления фотосенсибилизатора и контроля фотодинамической терапии, приведены значения длин волн возбуждения в виде  $(405 \pm 10)$  нм и  $(660 \pm 10)$  нм. В то же время на рис. 3.6 представлены полученные в эксперименте спектры излучения используемых фотодиодов. Не совсем понятно, к чему относятся приведенные на рис. 3.5 интервалы допусков для длин волн излучения (тем более что спектр излучения характеризуется существенно большей шириной по сравнению с синим светодиодом). Создается впечатление, что указанные интервалы взяты из технической документации на излучатели и определяют технологические разбросы длин волн, соответствующих максимальной мощности излучения. Следовало бы привести не эти «паспортные» значения, а реальные характеристики, определенные из спектров используемых источников.

5. Как следует из рис. 3.6, поглощение фотосенсибилизатора в полосе длин волн, выделяемой фильтром 772/140, отличается от 0. Это может приводить к эффекту самопоглощения флуоресценции с последующим переизлучением. Насколько следует из текста работы, подобный механизм в рассматриваемых теоретических моделях не учитывался. С большой вероятностью можно предположить, что вклад самопоглощения/переизлучения в регистрируемый флуоресцентный отклик среды будет мал и, соответственно, отсутствие его учета не приведет к каким-либо существенным систематическим погрешностям при интерпретации получаемых данных. Тем не менее, подобное обсуждение украсило бы работу.

6. Подпись к рисунку 4.8 «Нормированное отношение флуоресцентных сигналов  $R_\lambda^c$  ...» не согласуется с подписью оси  $y$ , содержащей обозначение для ненормированного отношения  $R_\lambda$ .

7. В работе встречаются опечатки и несогласованности падежей в отдельных предложениях.

Тем не менее, следует отметить, что указанные недостатки не снижают ни общий высокий уровень диссертационной работы, ни её практическую значимость.

В связи с вышеизложенным можно заключить, что диссертационная работа удовлетворяет всем требованиям Положения о присуждении учёных степеней, предъявляемых к кандидатским диссертациям, а её автор, Хилев Александр Владимирович, заслуживает присуждения учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.4 – радиофизика.

Я, Зимняков Дмитрий Александрович, даю согласие на включение моих персональных данных в аттестационные документы соискателя ученой степени кандидата физико-математических наук, Хилова Александра Владимировича, и их дальнейшую обработку.

д.ф.-м.н., профессор,  
заведующий кафедрой «Физика»  
Федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Саратовский государственный  
технический университет имени Гагарина  
Ю.А.»  
410054, г. Саратов, ул. Политехническая,  
77  
zimnykov@mail.ru  
тел. (8452)99-86-24

Зимняков Дмитрий Александрович  
02.02.2023 г.

Диссертация Зимнякова Д.А. на  
соискание учёной степени доктора  
физико-математических наук защищена  
по специальности 01.04.05 – Оптика.

Подпись д.ф.-м.н., профессора  
Зимнякова Д.А. заверяю:

Учёный секретарь Учёного совета  
СГТУ имени Гагарина Ю.А.,  
доктор культурологии, доцент



Тищенко Н.В.