

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук»
(ИПФ РАН)

**НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ПОДГОТОВЛЕННОЙ
НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ (ДИССЕРТАЦИИ)**

**«ОПТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ
ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ПРОЦЕССОВ В БИОТКАНЯХ»**

Аспирант: Хилов Александр Владимирович

(подпись аспиранта)

Научный руководитель: Турчин Илья Викторович,
к. ф.-м. н., зав. Отделом №360 Радиофизических
методов в медицине

(подпись научного руководителя)

Направление подготовки:

03.06.01 Физика и астрономия

Направленность (профиль) подготовки:

01.04.03 Радиофизика

Форма обучения: очная

Общая характеристика научно-квалификационной работы (диссертации)

Актуальность темы научно-квалификационной работы (диссертации). Несмотря на ограниченную глубину проникновения излучения видимого диапазона в биоткани, оптические методы диагностики хорошо зарекомендовали себя как в исследованиях от клеточных культур до лабораторных животных, так и в клинической практике, поскольку обладают высокой молекулярной чувствительностью, позволяют оценивать функциональное и структурное состояние биотканей. Одним из наиболее активно развивающихся методов неинвазивной диагностики биологических тканей является флуоресцентный имиджинг (ФИ), позволяющий получать высококонтрастные изображения структуры биологических тканей путем использования флуоресцентных маркеров, в качестве которых могут быть использованы органические красители, флуоресцентные белки, квантовые точки и др.

Одним из направлений развития ФИ является визуализация с определением времени релаксации флуорофора (в иностранной литературе FLIM – fluorescence lifetime imaging), которая, благодаря появлению новых молекулярных сенсоров на основе флуоресцентных белков, молекулярных роторов и др., может применяться для мониторинга физиологических параметров биоткани, например, оксигенации, вязкости, уровня pH, а также для изучения разнообразных молекулярных процессов в живых клетках на основе флуоресцентно-резонансного переноса энергии. В отличие от исследований на клеточных культурах, в *in vivo* экспериментах с заглублённым в биоткань

флуорофором регистрируемая кинетика флуоресценции размывается при прохождении слоя биоткани вследствие эффектов рассеяния света. В микроскопических исследованиях толщина образца, как правило, не превышает длины свободного пробега фотона, и эти эффекты оказываются не существенными. Тем не менее, размытие кинетики флуоресценции в биотканях приводит к различию между вычисленным и истинным временами релаксации. Таким образом, существует необходимость в исследовании этих эффектов и поиске методов количественной оценки истинного времени релаксации флуорофора по его кинетике флуоресценции, размытой при прохождении слоя биоткани.

Важной задачей флуоресцентного имиджинга является также оценка распределения флуорофоров внутри биоткани по глубине. Подобную оценку позволяет проводить использование диффузионной флуоресцентной томографии (ДФТ), однако существенным недостатком ДФТ является плохая обусловленность обратной задачи ДФТ и, как следствие, высокая техническая сложность ее реализации, что явилось существенным ограничивающим фактором для широкого распространения данного метода в клинической практике и предклинических исследованиях. Таким образом, задача количественной оценки локализации флуорофоров в биоткани продолжает оставаться актуальной.

Научно-квалификационная работа направлена на разработку метода оценки истинного времени релаксации флуорофора по его кинетике флуоресценции в условиях рассеяния света, а также метода оценки распределения флуорофоров внутри биоткани при двухволновом флуоресцентном имиджинге.

Цель научно-квалификационной работы (диссертации). Научно-квалификационная работа (диссертация) направлена на развитие и усовершенствование количественных методов ФИ и их апробации в *in vivo* исследованиях. В связи с этим в ходе работы решались следующие задачи:

1. Исследование размытия кинетики флуоресценции флуорофора, находящегося в биоткани, вследствие рассеяния света. Анализ влияния оптических параметров биоткани и глубины залегания флуорофора в биоткани на кинетику флуоресценции и на вычисляемое по ней время релаксации флуорофора в рамках традиционной экспоненциальной аппроксимации.

2. Разработка метода уточнённой оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции и апробация метода в численных и модельных экспериментах.

3. Получение аналитического выражения для флуоресцентного отклика приповерхностного слоя биоткани с равномерным распределением в нем флуорофора в рамках диффузионного приближения уравнения переноса излучения. Сравнение результатов аналитического исследования с результатами численного моделирования методом Монте-Карло.

4. Разработка метода оценки локализации флуорофора внутри биоткани при двухволновом флуоресцентном имиджинге на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения флуоресценции. Исследование влияния оптических свойств биоткани на возможность такой оценки. Обобщение метода на случай фотосенсибилизаторов хлоринового ряда при их поверхностном нанесении и внутривенном введении в биоткань перед проведением процедуры фотодинамической терапии.

5. Проведение серии *in vivo* исследований на лабораторных животных и в клинических условиях по двухволновому мониторингу фотовыгорания фотосенсибилизаторов хлоринового ряда при проведении фотодинамической терапии. Исследование динамики отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения, при различных режимах воздействия.

Научная новизна. Научная новизна диссертационной работы определяется полученными в ней оригинальными результатами:

1. Проанализировано влияние эффектов поглощения и рассеяния света внутри биоткани на кинетику флуоресценции расположенного внутри биоткани флуорофора, а также на вычисляемое в рамках традиционной экспоненциальной аппроксимации время релаксации

флуорофора. Показано, что отличие вычисленного времени релаксации отличается от истинного сильнее для сред с большим рассеянием и меньшим поглощением.

2. Разработан метод уточнённой оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции. Эффективность метода продемонстрирована в численном и модельном эксперименте.

3. В рамках диффузионного приближения уравнения переноса излучения получено аналитическое выражение для флуоресцентного отклика распределённого в приповерхностном слое биоткани флуорофора. Результаты аналитического исследования хорошо согласуются с результатами численного моделирования методом Монте-Карло.

4. Разработан метод оценки локализации флуорофора внутри биоткани при двухволновом флуоресцентном имиджинге на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения флуоресценции. Показана устойчивость метода к вариациям оптических свойств биоткани. Для фотосенсибилизаторов хлоринового ряда продемонстрирована возможность локализации флуоресцентного слоя при поверхностном нанесении и внутривенном введении в организм.

5. В рамках серии *in vivo* экспериментов на лабораторных животных и в клинических условиях продемонстрированы различия в динамике отношения флуоресцентных сигналов при двухволновом мониторинге фотовыгорания фотосенсибилизаторов хлоринового ряда в ходе процедуры фотодинамической терапии для различных волн воздействия. Исследования по двухволновому флуоресцентному мониторингу ФДТ проведены в ходе ФДТ интактной и опухолевой ткани лабораторных животных, а также при лечении актинического кератоза и плоскоклеточного рака в клинических условиях для различных длин волн воздействия.

Практическая значимость научно-квалификационной работы (диссертации) состоит в следующем:

1. При *in vivo* применении метода FLIM разработанный алгоритм оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции позволяет получать уточнённые значения в условиях поглощения и рассеяния света по сравнению с традиционной экспоненциальной аппроксимацией флуоресцентной кинетики.

2. Разработанный метод оценки локализации флуорофора в биоткани на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения, позволяет оценивать толщину и глубину залегания флуоресцентного слоя биоткани. Разработанный метод позволит корректировать режим воздействия при назначении процедуры фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизаторов хлоринового ряда, а также судить об эффективности процедуры при двухволновом флуоресцентном мониторинге.

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработанный алгоритм оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции позволяет получать уточнённые значения времени релаксации по сравнению с традиционной экспоненциальной аппроксимацией флуоресцентной кинетики без априорных знаний оптических параметров биоткани.

2. Разработанный метод локализации флуорофора в биоткани на основе двухволнового флуоресцентного имиджинга позволяет оценивать толщину и глубину залегания флуоресцентного слоя. Метод устойчив к вариациям оптических свойств биоткани.

3. Различие в динамике отношения флуоресцентных сигналов для различных длин волн воздействия при проведении фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда, позволяет судить о глубине терапевтического воздействия при двухволновом флуоресцентном мониторинге фотовыгорания фотосенсибилизатора.

Достоверность полученных результатов обеспечивается физически обоснованной постановкой обратной задачи флуоресцентного имиджинга, использованием общепринятых моделей при разработке алгоритмов и подтверждается численными, модельными и *in vivo* экспериментами.

Публикации и апробация результатов. По теме научно-квалификационной работы (диссертации) опубликовано 17 работ, из которых 9 статей в реферируемых изданиях [1-9], 8 тезисов докладов в сборниках материалов конференций.

Изложенные в диссертации результаты докладывались Всероссийских и Международных конференциях:

IV International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (21–27 July, 2013, Nizhny Novgorod, Russia);

«Saratov Fall Meeting 2014» (23–26 September, Saratov, Russia);

SPIE BiOS (San Francisco, California, United States, 2015);

V International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (20–24 July, 2015 Nizhny Novgorod, Russia);

9th International Graduate summer school Biophotonics '19 (10–17 June 2017, Island of Ven, Sweden);

European Conferences on Biomedical Optics (ECBO) (Munich, 25–29 June, 2017);

VI International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (28 July–03 August, 2017 St.-Petersburg – Nizhny Novgorod, Russia);

«Saratov Fall Meeting 2017» (September 26–29, 2017, Saratov, Russia);

Clinical and Translational Biophotonics (2018, Florida, United States, 3–6 April 2018);

18th International Conference on Laser Optics (4–8 June, 2018, St.-Petersburg, Russia);

4th International Conference CTCT–2018 - Current Trends in Cancer Theranostics and 3rd General Meeting of COST Action CM1403 (1–5 July, 2018, Trakai, Lithuania).

International Conference on Advanced Laser Technologies «ALT'18» (9–14 September, Tarragona, Spain);

«Saratov Fall Meeting 2018» (September 24–29, 2018, Saratov, Russia).

Личный вклад автора. Приведенные в научно-квалификационной работе (диссертации) результаты получены лично автором, либо при непосредственном участии автора. Автор участвовал в теоретическом решении поставленных задач, численной и экспериментальной апробации разработанных методов.

Структура и объем научно-квалификационной работы (диссертации). Научно-квалификационная работа (диссертация) состоит из введения, трёх глав, заключения и списка цитируемой литературы. Общий объем работы – 82 страницы, включая 34 рисунка, 2 таблицы и список литературы из 114 наименований.

Краткое содержание научно-квалификационной работы (диссертации)

Во **введении** описано положение флуоресцентного имиджинга среди оптических методов диагностики биотканей, освещается состояние проблем, решению которых посвящена научно-квалификационная работа (диссертация), приведён обзор литературы по методам количественного флуоресцентного имиджинга, а также о применении оптических методов в мониторинге фотодинамической терапии, обосновывается актуальность темы работы и ее практическая значимость, кратко излагается ее содержание, формулируются положения, выносимые на защиту.

В **первой главе** предложен численный метод с простой программной реализацией для уточнённой оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции.

В рамках диффузионного приближения УПИ получено выражение для вычисляемого времени релаксации τ_m в зависимости от оптических параметров биоткани (поглощения μ_a и транспортного рассеяния μ_s'), глубины залегания флуорофора и его истинного времени релаксации, которое может быть использовано для оперативной оценки ожидаемой погрешности измерений при проведении флуоресцентного имиджинга с использованием метода FLIM. Изучено влияние оптических свойств биоткани и глубины залегания в ней флуорофора на вычисляемое в рамках традиционного подхода время релаксации флуорофора (рис. 1). Исследования проведены в рамках численного моделирования методом Монте-Карло для широкого набора значений поглощения и рассеяния биоткани.

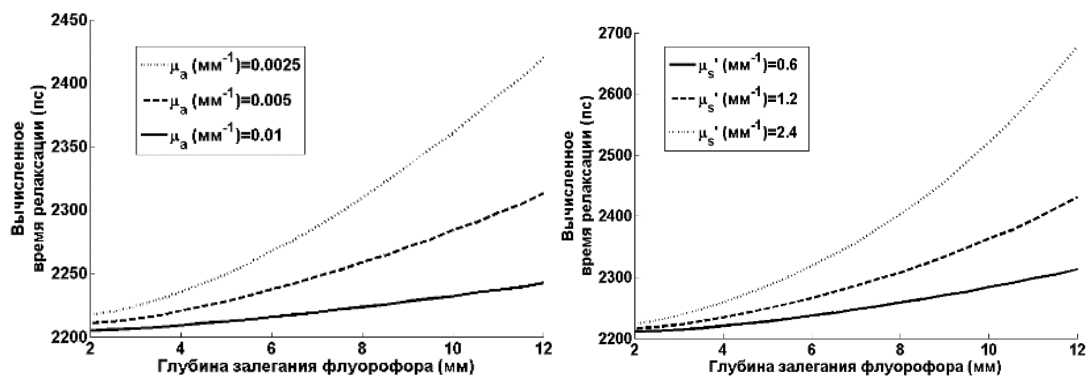


Рисунок 1. Зависимость вычисленного с использованием метода Монте-Карло моделирования времени релаксации от глубины залегания флуорофора с истинным временем релаксации 2200 пс при а) различном поглощении и транспортном рассеянии $0,6 \text{ мм}^{-1}$; б) различном транспортном рассеянии и поглощении $0,005 \text{ мм}^{-1}$.

Отличие вычисленного времени релаксации от истинного тем больше, чем больше показатель рассеяния и чем меньше показатель поглощения в биоткани, а также чем глубже в нее помещен флуорофор. С увеличением истинного времени релаксации отличие от него вычисленного времени релаксации уменьшается.

На основе проведённых исследований предложен численный метод с простой программной реализацией для уточнённой оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции. Для произвольного вида $K(t)$ свёртки функций Грина (решения УПИ в среде для изотропного точечного источника), соответствующих длинам волн возбуждения и эмиссии флуоресценции, а также аппаратной функции измерительной системы, которую необходимо учитывать в эксперименте, выражение для оцениваемого времени релаксации представляется в виде

$$\tau_0 = \frac{\delta\tau\tau_m}{\delta\tau + \tau_m} \quad (1)$$

где

$$\delta\tau = \frac{\int_0^{t_0} K(t')e^{\frac{t'}{\tau_m}} dt'}{K(t_0)e^{\frac{t_0}{\tau_m}}} \quad (2)$$

t_0 — выбранный момент времени для вычисления. Обсуждается вопрос выбора времени t_0 для достижения наибольшей точности оценки величины τ_0 . Результаты апробации предложенного метода в численном и модельном эксперименте (рис. 2) показали высокую точность предложенного метода по сравнению с традиционным подходом.

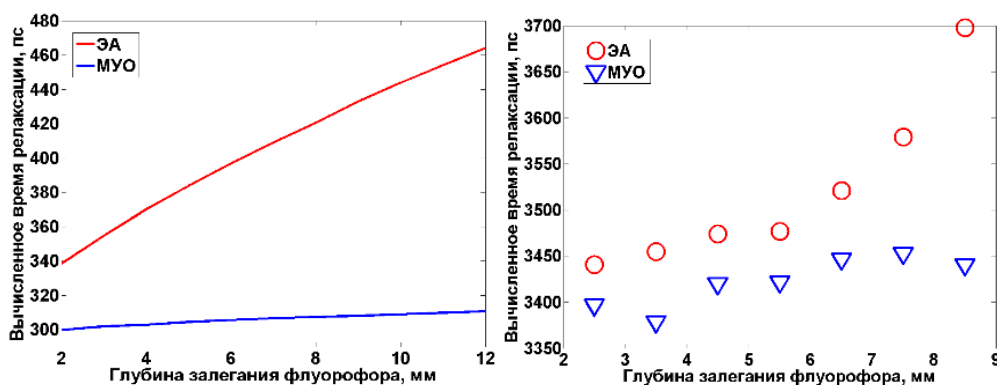


Рисунок 2. Зависимости вычисленного времени релаксации от глубины залегания флуорофора в биоткани с показателем транспортного рассеяния $0,6 \text{ мм}^{-1}$ и показателем поглощения $0,005 \text{ мм}^{-1}$, полученные в рамках экспоненциальной аппроксимации (ЭА) и на основе метода уточненной оценки (МУО) для флуорофоров с истинными временами релаксации 300 пс в численном эксперименте (а) и 3400 пс в модельном эксперименте (б).

Во второй главе предложен метод оценки локализации флуорофоров внутри биоткани при двухволновом ФИ на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения в спектре поглощения флуорофора.

В рамках диффузионного приближения уравнения переноса излучения получено выражение для флуоресцентного отклика распределённого в приповерхностном слое биоткани флуорофора. Результаты аналитического исследования верифицированы данными численного моделирования

и модельного эксперимента. Показано, что отношение флуоресцентных сигналов R_λ , соответствующих различным длинам волн возбуждения флуоресценции, является критерием оценки толщины d приповерхностного флуоресцентного слоя биоткани. Результаты для случая однородного распределения внутри биоткани ФС хлоринового ряда представлены на рис. 3.

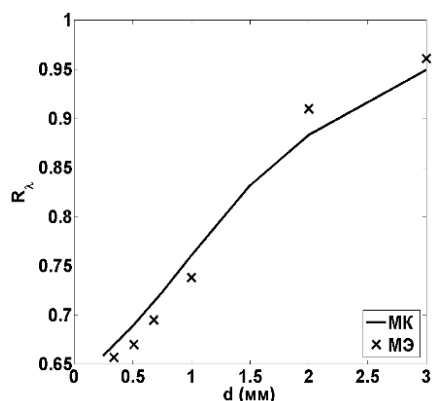


Рисунок 3. Зависимость отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих пикам поглощения фотосенсибилизаторов хлоринового ряда 660 нм и 405 нм от толщины d приповерхностного слоя биоткани, содержащего фотосенсибилизатор, вычисленная в рамках Монте-Карло моделирования (МК) и модельного эксперимента (МЭ).

В рамках численного моделирования исследовано влияние вариаций оптических свойств биоткани и концентрации ФС хлоринового ряда на R_λ , а также показано, что параметр R_λ является критерием локализации в биоткани ФС хлоринового ряда при его поверхностном нанесении на кожу или слизистые и последующем неоднородном распределении в приповерхностном слое биоткани, а также при внутривенном введении ФС в организм и однородном распределении в слое на некоторой глубине внутри биоткани (рис. 4).

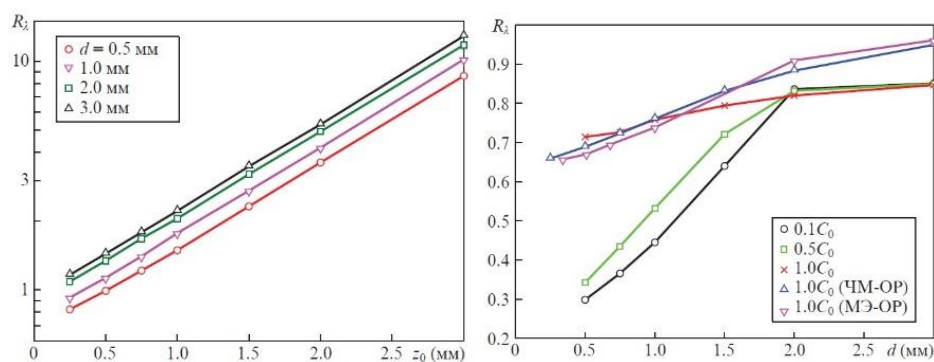


Рисунок 4. Зависимость величины R_λ от глубины залегания z_0 флуоресцентного слоя толщины d при внутривенном введении ФС (а) и от толщины d приповерхностного флуоресцентного слоя при поверхностном нанесении ФС (б). Объёмная концентрация C_0 соответствует 0,5%. Представлены также результаты численного моделирования (ЧМ-ОР) и модельного эксперимента (МЭ-ОР) для однородного распределения ФС.

В третьей главе представлены результаты экспериментов по *in vivo* двухволновому флуоресцентному мониторингу ФДТ с использованием ФС хлоринового ряда. Исследования включают в себя проведение экспериментов на интактной и опухолевой ткани лабораторных животных, а также мониторинг ФДТ в клинических условиях при лечении актинического кератоза и плоскоклеточного рака.

ФДТ опухолевой ткани лабораторных животных осуществлялась на мышах линии Balb/c с привитыми на бедро опухолями линии СТ-26. Результаты двухволнового флуоресцентного мониторинга представлены на рис. 5.

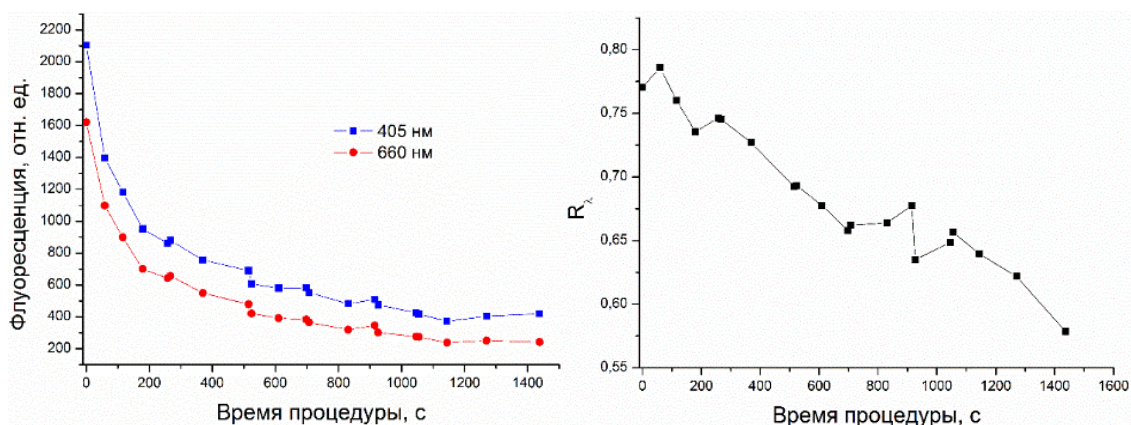


Рисунок 5. Динамика флуоресцентных сигналов (а) и параметра R_λ (б) при проведении ФДТ на модельных опухолях на длине волны 660 нм и световой дозой 250 Дж/см².

Двухволновой флуоресцентный мониторинг ФДТ *in vivo* проводился при лечении актинического кератоза пациента женского пола, 78 лет. Результаты двухволнового флуоресцентного мониторинга представлены на рис. 6.

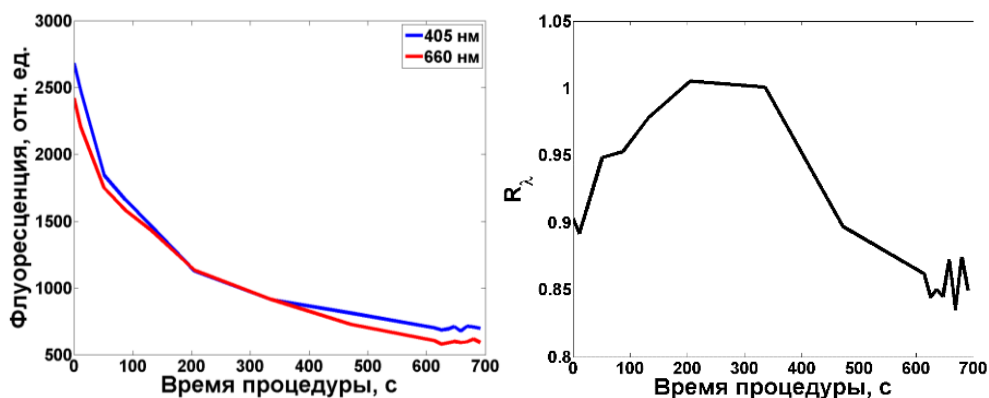


Рисунок 6. Динамика флуоресцентных сигналов (а) и параметра R_λ (б) при проведении ФДТ актинического кератоза на длине волны 405 нм и световой дозой 50 Дж/см².

Результаты двухволнового флуоресцентного мониторинга демонстрируют значительное уменьшение флуоресцентного сигнала при проведении ФДТ (фотовыгорание ФС), что свидетельствует об успешности процедуры. При этом динамика параметра R_λ различается для

длин волн терапевтического воздействия 405 нм и 660 нм, что позволяет оценивать глубину терапевтического воздействия при ФДТ. Количественные оценки параметра R_λ для случая поверхностного нанесения ФС и внутривенного введения ФС хорошо согласуются с результатами, полученными в рамках численного моделирования.

В **заключении** сформулированы основные результаты научно-квалификационной работы (диссертации).

Основные результаты научно-квалификационной работы (диссертации)

1. В рамках численного моделирования методом Монте-Карло исследовано влияние оптических свойств биоткани и глубины залегания в ней флуорофора на временные характеристики зондирующих импульсов и флуоресцентного сигнала, а также на вычисляемое по кинетике флуоресценции в рамках традиционной экспоненциальной аппроксимации время релаксации флуорофора. Показано, что вычисляемое время релаксации увеличивается по сравнению с истинным, причём различие более существенно для флуорофоров с меньшим временем релаксации, а также для сред с большим рассеянием и меньшим поглощением.

2. Разработан метод уточнённой оценки времени релаксации флуорофора по кинетике флуоресценции с простой программной реализацией. Апробация метода в численном и модельном эксперименте продемонстрировала его эффективность.

3. В рамках диффузионного приближения УПИ получено аналитическое выражение для флуоресцентного отклика от распределённого в цилиндрическом слое биоткани флуорофора. Разработан метод оценки локализации флуорофора внутри биоткани на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов R_λ , соответствующих различным длинам волн возбуждения флуоресценции в спектре поглощения флуорофора. Метод апробирован в численном и модельном эксперименте, результаты которых продемонстрировали возможность оценки толщины приповерхностного слоя биоткани до 3 мм с накопленным ФС хлоринового ряда при двухволновом ФИ. Данное ограничение связано с лимитированным проникновением света в биоткань и зависит от оптических свойств биоткани, накопившей ФС, а также от концентрации ФС. В рамках численного моделирования методом Монте-Карло продемонстрирована возможность определения глубины проникновения ФС хлоринового ряда в биоткань при его поверхностном нанесении, а также оценки толщины и глубины залегания слоя биоткани, накопившей ФС хлоринового ряда после внутривенного введения.

4. В рамках серии *in vivo* экспериментов по ФДТ с использованием ФС хлоринового ряда на интактной и опухолевой ткани лабораторных животных и в клинических условиях при лечении актинического кератоза и плоскоклеточного рака продемонстрированы возможности двухволнового ФИ для оценки фотовыгорания ФС, что позволяет судить об эффективности

процедуры. Несмотря на монотонное убывание флуоресцентных сигналов ФС при проведении ФДТ на длинах волн 405 нм и 660 нм, продемонстрированы различия в динамике отношения флуоресцентных сигналов фотосенсибилизаторов хлоринового ряда, соответствующих длинам волн возбуждения флуоресценции 405 нм и 660 нм. Показан монотонный характер динамики для красного света и немонотонный для синего света, что позволяет судить об эффективности процедуры. Величина R_λ монотонно убывает в ходе процедуры ФДТ на длине волны 660 нм, что связано с засветкой достаточно широкого слоя биоткани; в свою очередь, при проведении процедуры на длине волны 405 нм величина R_λ сначала растёт, что связано с достаточно быстрым фотовыгоранием приповерхностных слоёв в силу меньшей глубины проникновения синего света в биоткань по сравнению с красным.

Список публикаций по теме научно-квалификационной работы (диссертации)

1. Khilov A., Fiks I., Plekhanov V., Kirillin M., Turchin I. Fluorescence lifetime imaging for deep-seated fluorophore in turbid medium // Saratov Fall Meeting 2014: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVI; Laser Physics and Photonics XVI; and Computational Biophysics. – Т. 9448 –, 2015. –.
2. Khilov A. V., Fiks I., Plehanov V. I., Kirillin M. Y., Turchin I. Fluorescence lifetime imaging of deep-seated fluorophore in turbid medium // Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue XI. – Т. 9319 –International Society for Optics and Photonics, 2015. – С. 93190S.
3. Khilov A., Kirillin M. Y., Loginova D., Turchin I. Estimation of chlorin-based photosensitizer penetration depth prior to photodynamic therapy procedure with dual-wavelength fluorescence imaging // Laser Physics Letters. – 2018. – Т. 15, № 12. – С. 126202.
4. Khilov A., Kirillin M., Loginova D., Turchin I. Estimation of chlorine-based photosensitizer penetration depth prior to PDT procedure from two-wavelength excitation fluorescence measurements // Optical Tomography and Spectroscopy –Optical Society of America, 2018. – С. JW3A. 9.
5. Хилов А. В., Куракина Д. А., Турчин И. В., Кириллин М. Ю. Мониторинг локализации фотосенсибилизаторов хлоринового ряда с помощью двухволнового флуоресцентного имиджинга: численное моделирование // Квантовая электроника. – 2019. – Т. 49, № 1. – С. 63-69.
6. Shakhova M., Loginova D., Meller A., Sapunov D., Orlinskaya N., Shakhov A., Khilov A., Kirillin M. Photodynamic therapy with chlorin-based photosensitizer at 405 nm: numerical, morphological, and clinical study // Journal of biomedical optics. – 2018. – Т. 23, № 9. – С. 091412.
7. Khilov A., Kirillin M., Loginova D., Gamayunov S., Turchin I. Two-color fluorescence monitoring in PDT treatment // 2018 International Conference Laser Optics (ICLO) –IEEE, 2018. – С. 494-494.
8. Kirillin M. Y., Shakhova M., Khilov A., Loginova D., Sergeeva E., Meller A., Sapunov D., Perekatova V., Turchin I., Orlinskaya N. Y. Optical techniques for advancement of photodynamic therapy: from model experiments to clinical studies // 2018 International Conference Laser Optics (ICLO) –IEEE, 2018. – С. 463-463.
9. Kirillin M., Shakhova M., Meller A., Sapunov D., Agrba P., Khilov A., Pasukhin M., Kondratieva O., Chikalova K., Motovilova T. Quantitative optical diagnostics in pathology recognition and monitoring of tissue reaction to PDT // European Conference on Biomedical Optics –Optical Society of America, 2017. – С. 104170C.

Оглавление научно-квалификационной работы (диссертации)

ВВЕДЕНИЕ	Ошибка! Залка не определена.
Глава 1. Восстановление времени релаксации флуорофора в условиях рассеяния и поглощения света.....	Ошибка! Залка не определена.
1.1 Влияние оптических свойств биотканей на временные характеристики распространяющихся в них импульсов	Ошибка! Залка не определена.
1.2. Метод уточнённой оценки времени релаксации флуорофора, находящегося в биоткани, по его кинетике затухания флуоресценции	Ошибка! Залка не определена.
1.3 Оценка времени релаксации флуорофора в численном и модельном эксперименте	Ошибка! Залка не определена.
1.4 Выводы	Ошибка! Залка не определена.
Глава 2. Оценка локализации флуорофора в биоткани на основе двухволнового флуоресцентного имиджинга	Ошибка! Залка не определена.
2.1 Аналитическая модель расчёта флуоресценции распределённого в биоткани флуорофора	Ошибка! Залка не определена.
2.2 Двухволновой флуоресцентный имиджинг для определения локализации фотосенсибилизатора хлоринового ряда в биоткани.	Ошибка! Залка не определена.
2.3 Апробация метода определения локализации фотосенсибилизатора в модельном эксперименте	Ошибка! Залка не определена.
2.4 Монте-Карло моделирование флуоресценции фотосенсибилизатора, распределённого внутри биоткани, при системном введении и поверхностном нанесении	Ошибка! Залка не определена.
2.5 Выводы	Ошибка! Залка не определена.
Глава 3. Двухволновой флуоресцентный мониторинг фотодинамической терапии	Ошибка! Залка не определена.
3.1 Фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизаторов хлоринового ряда in vivo на интактной ткани лабораторных животных	Ошибка! Залка не определена.
3.2 Фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизаторов хлоринового ряда in vivo на опухолевой ткани лабораторных животных....	Ошибка! Залка не определена.
3.3 Фотодинамическая терапия актинического кератоза с использованием фотосенсибилизаторов хлоринового ряда in vivo в клинических условиях	Ошибка! Залка не определена.
3.4 Фотодинамическая терапия плоскоклеточного рака с использованием фотосенсибилизаторов хлоринового ряда in vivo в клинических условиях	Ошибка! Залка не определена.
3.5 Выводы	Ошибка! Залка не определена.
Заключение. Основные результаты.....	Ошибка! Залка не определена.
Список литературы.....	Ошибка! Залка не определена.

