# Развитие оптических методов диагностики биологических тканей и их лазерноиндуцированной модификации

Баграташвили В.Н., Свиридов А.П.

### 1. Введение

Сегодня лазерные и информационные технологии все более широко внедряются в различные отрасли медицинской науки и практики. Лазеры предоставляют широкие возможности для воздействия на биоткани путем выбора длины волны излучения, длительности воздействия и плотности энергии. Так, при одних сочетаниях указанных параметров лазерное излучение используется для послойного удаления ткани (импульсная абляция), а при других - оно служит скальпелем, коагулятором или терапевтическим инструментом широкого профиля. Зачастую при лазерных операциях требуется локализовать температурное поле внутри биологической ткани в заданных пространственных и временных границах. Это в принципе позволяет осуществить целенаправленную модификацию свойств биологических тканей в заданной области при минимальных повреждениях в примыкающих областях. Однако внедрение лазерных технологий в медицинскую практику часто сдерживается отсутствием достаточно полных сведений о физико-химических процессах, протекающих в биотканях при воздействии лазерного излучения, способных наряду с лечебным эффектом вызвать нежелательные побочные действия. Во многих случаях диапазон параметров лазерного облучения тканей, при которых достигается требуемый лечебный эффект, весьма узок и, кроме того, он может зависеть от индивидуальных характеристик тканей пациента. Например, хрящевые ткани, могут значительно отличаться по толщине, их состав и структура может изменяться в зависимости от возраста. Оптические свойства кожи и подкожных тканей зависят от наличия жировых отложений, возраста или расы пациента.

Ситуация может существенно усложниться при изменении оптических и теплофизических свойств биотканей в процессе лазерного воздействия за счет термических и фотохимических реакций. В таких случаях процесс лазерного воздействия может стать трудно контролируемым. Например, образование нагара приводит к увеличению объемного поглощения излучения, что в свою очередь вызывает перегрев и ускорение образования нагара. Аналогично, денатурация белков, испарение воды при локальной лазерной гипертермии приводит к изменениям оптических свойств и к росту глубины проникновения излучения, что может привести к повреждению близлежащих тканей.

Поэтому важное практическое значение имеет разработка методов диагностики биологических тканей в процессе лазерного воздействия. Их особенность состоит в установлении взаимосвязей между параметрами лазерного излучения, динамикой физикохимических свойств биотканей и эффективностью воздействия. С одной стороны эти методы позволяют исследовать микро- и макроскопические процессы, индуцируемые лазерным излучением в биологических тканях. Их качественное и количественное описание позволяет выяснить механизмы лазерного воздействия и оптимизировать режимы облучения. С другой стороны, они же могут в ряде случаев служить средством мониторинга и управления процедуры воздействия. Для решения подобных задач, как правило, требуется проведение целого ряда исследований сначала на выделенных тканях или их эквивалентах и затем на животных. Лишь при положительных результатах исследований на первых двух этапах можно переходить к клиническим испытаниям и к внедрению разработанной методики в клиническую практику.

Поскольку физико-химические процессы при лазерном воздействии протекают, как правило, в сугубо нестационарных и неравновесных условиях, то на первый план выходит задача динамической диагностики этих процессов и измерения физико-химических параметров, характеризующих состояние биоткани. В некоторых случаях поведение измеряемого параметра имеет выраженные черты, позволяющие устанавливать оптимальные дозы облучения и создавать системы обратной связи для управления мощностью лазерного излучения. Наиболее очевидным характеризующим параметром является температурное поле внутри биологической ткани и его пространственно-временное распределение. Однако нередко измерение температурного поля технически сложно для реализации, а другие характеризующие параметры далеко не очевидны. Им может оказаться сложный функционал, который удается измерять и вычислять лишь благодаря последним достижениям информационных технологий. Так, например, состояние хрящевой ткани при лазерном нагреве может выражаться статистическими параметрами спеклов, измеряемыми в режиме реального времени цифровой камерой при компьютерной обработке изображений. Выявление таких параметров и установление корреляции между их поведением и изменением состояния биологической ткани является основной задачей настоящей работы. Во многих случаях для ее решения потребовались разработки новых методик диагностики биологических тканей и соответствующей измерительной аппаратуры. В данной работе представлены некоторые результаты подобных исследований, выполненных в ИПЛИТ РАН в течение 1995-2009 годов.

# 2. Диагностика костной ткани под действием излучения эксимерных лазеров

# 2.1. Генерирование свободных радикалов

При действии лазерного излучения на биологические объекты возможно образование химически активных частиц, в частности, свободных радикалов, которые могут оказывать нежелательные побочные действия, например, мутагенное или канцерогенное. При комнатной температуре и выше образующиеся в биоткани свободные радикалы быстро рекомбинируют, что существенно затрудняет их исследования. Обычно в таких случаях используют метод спиновых ловушек, основанный на реакции короткоживущего радикала с молекулой-ловушкой и образованием долгоживущего радикала, который можно легко детектировать ЭПР спектрометром даже при достаточно высоких температурах. Недостаток метода состоит в том, что при введении вещества ловушки биологическая ткань подвергается значительной модификации. Поэтому мы развивали методику лазерного генерирования свободных радикалов, измерения ЭПР и УФ спектров образцов при температуре жидкого азота (77 К). Для этого использовался специально изготовленный из кварцевого стекла сосуд Дьюара, в который помещалась запаянная ампула с образцом. Сосуд Дьюара заполнялся жидким азотом и образец, охлажденный до 77К, подвергался воздействию импульсов излучения KrF лазера (248). В промежутке времени между облучением и измерениями ЭПР спектров, а также в течение измерений ампулы с образцами находились в жидком азоте. В ряде экспериментов изменение концентрации радикалов в образце костной ткани исследовалось при ступенчатом размораживании. После облучения при температуре 77К ампула с образцом помещалась на 5 минут в криогенный раствор, температура которого соответствовала температуре плавления раствора. Затем эту ампулу помещали обратно в сосуд Дьюара с жидким азотом и прописывали ЭПР спектр. Такую процедуру с одним и тем же образцом повторяли последовательно несколько раз при различных температурах.

Независимо, с помощью спектрофотометра (SPECORD-M40, Carl Zeiss) проводились измерения оптических спектров поглощения облучаемых образцов при температуре жидкого азота. Образцы запаивали в кварцевые ампулы с плоско-параллельными стенками. Эти ампулы помещались в кварцевый сосуд Дьюара, имеющий также плоско-параллельные стенки. Облучение образцов и измерение их спектров осуществлялось через стенки ампулы и сосуда Дьюара с жидким азотом.

Были получены ЭПР спектры радикалов, образующихся в костных и хрящевых тканях, рыбьей чешуе, коллагене, и хондроитин сульфате под действием УФ лазерного излучения при температуре 77К. Спектры ЭПР костной ткани и рыбьей чешуи оказались близкими по форме. В них отсутствует тонкая структура, что свидетельствует о наличии в образцах

3

множества различных радикалов. Спектры ЭПР коллагена и хондроитин сульфата имеют тонкую структуру, которую можно отнести к ·CH–CH<sub>3</sub> или ·CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>. Спектры ЭПР хрящевой ткани являются, по-видимому, суперпозицией спектров ЭПР коллагена и хондроитин сульфата.

Из кинетических измерений при ступенчатом и изотермическом размораживании были получены значения предельных энергий активации и предэкспоненциального множителя константы скорости, позволяющие описывать гибель радикалов в костных тканях в рамках феноменологической модели, в которой их бимолекулярная рекомбинация характеризуется различными энергиями активации.

Измерены оптические спектры поглощения костной ткани, рыбьей чешуи и коллагеновой пленки. Исследована динамика спектра поглощения рыбьей чешуи под действием излучения KrF лазера при температуре 77К. Показано, что наведенное поглощение обусловлено образованием лабильных продуктов.



Рис. 2.1. Изменения оптической плотности коллагеновой пленки толщиной 30 мкм на длине волны излучения KrF эксимерного лазера (248 нм) при прерывистом режиме облучения в атмосфере азота (верхняя кривая) и кислорода (нижняя кривая). Заштрихованы периоды работы лазера. Частота следования лазерных импульсов – 1 Гц. Плотность энергии в одном лазерном импульсе – 100 мДж/см<sup>2</sup>.

Исследована динамика изменения оптической плотности рыбьей чешуи И коллагеновой процессе пленки В лазерной обработки на длине волны 248 нм в воздухе, азоте и кислороде при комнатной температуре. Обнаружено принципиальное отличие в кинетике генерирования и гибели лабильных оптически активных продуктов в различных атмосферах. В кислородной атмосфере оптически активные продукты формируются как во время, так и после облучения (до 10 с). В азотной среде эти продукты активно генерируются лишь в процессе облучения, после облучения их количество уменьшается. При ЭТОМ как в азотной, так и в кислородной атмосферах. В образцах коллагенсодержащих тканей происходит накопление конечных продуктов, оптическая плотность которых на длине волны 248 нм увеличивается по сравнению с исходной. На Рис. 2.1 представлены результаты таких измерений.

### 2.2. Генерирование ударных волн

В настоящее время лазеры применяются для деликатного удаления костной ткани в стоматологии, отоларингологии, ортопедии и др. Так, для лечения частичной или полной потери слуха при отосклерозе осуществляют сверление круглого отверстия (d≈0.6 мм) в овальном окне среднего уха (стапедотомия). При механическом сверлении в овальном окне могут образовываться трещины, внутрь лабиринта могут проникнуть остатки окостеневшей мембраны, увеличивая вероятность осложнений. Правильно установленные режимы лазерного сверления в принципе позволяют избежать подобных осложнений, однако появляются другие факторы физического воздействия, которые необходимо учитывать. Так, если длительность лазерного импульса относительно велика, трудно избежать перегрева физиологической жидкости, заполняющей лабиринт и термической модификации прилегающих областей ткани. При лазерной абляции короткими и мощными импульсами перегрев прилегающих областей практически незначителен, однако в зоне сверления могут генерироваться ударные волны. Они являются потенциально опасными, прежде всего, для системы баланса, лицевого нерва и всего слухового механизма и поэтому желательно их контролировать, а скачок давления в ударной волне минимизировать. Кроме того, важно чтобы дно лазерного кратера оставалось плоским до конца процедуры. Это позволило бы избежать прямого действия лазерного излучения на жидкость лабиринта и попадание туда остатков ткани. Отметим, что сходные проблемы безопасности, связанные с ударными волнами, возникают при коррекции зрения путем лазерной абляции роговицы глаза, при лазерном удалении кальцинированных внутривенных бляшек, при лазерном дроблении камней в почках и в некоторых других случаях.

Нами была разработана модель овального окна среднего уха человека при отосклерозе и развита методика измерения интенсивности ударных волн, генерируемых излучением ArF эксимерных лазеров при его абляции. По составу и строению окостеневшее овальное окно аналогично обычной кости. Поэтому в качестве образцов для исследований мы выбирали костную ткань бедра кролика в местах, где имеются плоские участки толщиной 0,5-1,2 мм, соответствующие характерной толщине овального окна среднего уха человека. Для абсолютных измерений давления ударной волны использовался опто-акустический датчик WAT-04 (Алькор, Россия), в котором чувствительным элементом является кристалл LiNbO<sub>3</sub>. Он позволял детектировать акустические импульсы длительностью от 7 до 800 нс. Заметим, что длительность импульсов эксимерных лазеров составляет примерно 15-20 нс. Датчик был откалиброван производителем, его чувствительность составляла 18 мВ/бар при диаметре приемной площадки 6 мм. Отклик датчика регистрировали осциллографом Lecroy 9400А посредством BNC коннектора при входном импедансе 50 Ω и полосе пропускания 175 МГц. Осциллограммы записывались на бумажный носитель плоттером. Образец биологической ткани устанавливали на приемную площадку вертикально расположенного датчика, а между поверхностями образца и датчика наносили прослойку воды для акустического контакта. Однородное освещение образца в зоне сверления обеспечивали линзой, формирующей 5-ти кратно уменьшенное изображение ирисовой диафрагмы диаметром 3 мм, выделяющей лишь центральную часть пучка эксимерного лазера.

На Рис. 2.2 показана зависимость амплитуды акустических волн как функция плотности энергии лазерного импульса при толщине образца 1,1 мм. Видно, что



Рис. 2.2. Скачок давления в акустической ударной волне, генерируемой в костной ткани ArF эксимерным лазером, как функция плотности энергии излучения.

ульса при толщине образца 1,1 мм. Видно, что акустическое давление изменяется практически линейно в диапазоне 0,1-1,8 Дж/см<sup>2</sup>.

Дж/см<sup>2</sup> энергии При плотности 0,4 давление акустической волны составляет примерно 25 бар. Измерения толщинах образца при разных И фиксированных прочих параметрах позволили установить коэффициент поглощения ударных акустических волн в костной ткани - 14±1,5 см<sup>-1</sup>. Оценки градиента давления, основанные на скорости роста давления и скорости звука, дают величину примерно 0,35 бар/мкм.





Рис. 2.3. Глубина абляции костной ткани за один импульс ArF эксимерного лазера, как функция плотности энергии излучения. Черные квадраты – максимальное значение, белые – минимальное.

Помимо диагностики давления в акустической ударной волне осуществлялась также диагностика глубины абляции и неоднородностей дна кратера, образующегося при лазерном сверлении отверстий. С помощью оптического микроскопа измеряли глубину абляции и неоднородности дна лазерного кратера в зависимости от плотности энергии лазерного излучения и числа 2.3 лазерных импульсов. Ha Рис. представлены результаты измерений глубины абляции за ОДИН импульс для костной ткани при различных значениях плотности энергии лазерного пучка, усредненные по 600 импульсов. Видно, что эта зависимость немонотонная.

При плотностях энергии примерно 0,4 Дж/см<sup>2</sup> происходит резкое уменьшение глубины

абляции и одновременно увеличивается неоднородность дна кратера. Важно отметить, что глубина абляции за один импульс монотонно возрастает по мере увеличения числа импульсов, по крайней мере, при достаточно больших плотностях энергии, выходя на некоторый уровень насыщения. Полученные экспериментальные данные позволяют



Рис. 2.4. Электронная микроскопия кратера, сформированного в костной ткани ArF лазером при плотности энергии 1,6 Дж/см<sup>2</sup>. Левый снимок соответствует 300 импульсам, правый - 600 импульсам. Реальный диаметр кратера 0,6 мм.

предложить рабочий механизм взаимодействия излучения эксимерного лазера с костной тканью при сверлении отверстий или шлифовке и рекомендовать оптимальные режимы работы лазера и условия формирования лазерного пучка. изменения скорости Так. абляции И морфологии дна кратера при критической плотности энергии 0,4 Дж/см<sup>2</sup> очевидно является указанием на изменение механизма абляции. Однако неоднородности дна кратера проявляются не сразу, а лишь после некоторого числа лазерных импульсов (см.

электронной микроскопией кратеров, 2.4). Это надежно подтверждается И Рис. образовавшихся при различном числе лазерных импульсов. По-видимому, в процессе лазерного облучения при большой плотности энергии постепенно изменяется соотношение между содержанием органической и минеральной компонент костной ткани. Органическая компонента костной ткани и водные растворы покидают неорганический матрикс через поры по мере лазерного облучения. Поскольку в УФ спектральном диапазоне эти компоненты кости являются основными хромофорами, то глубина проникновения лазерного излучения в ткань постепенно увеличивается. Это приводит к тому, что максимум температуры уходит от поверхности вглубь и повышается вероятность взрывной абляции за счет высокого давления продуктов термического разложения органической компоненты и паров воды внутри. Известно, что в таком случае поверхность материала становится неровной. Если же плотность энергии менее критической, то глубина проникновения излучения и вынос материала согласованы и существенного изменения соотношений различных компонент костной ткани не происходит. В результате поверхность дна кратера остается ровной на протяжении всего процесса сверления отверстия.

Таким образом, выявлено, что сверление отверстий диаметром порядка 0,6 мм в костной ткани с помощью ArF эксимерного лазера ( $\lambda$ =193 нм,  $\tau$ =15 нс) необходимо проводить при плотностях энергии излучения не выше 0,4 Дж/см<sup>2</sup>. Это обеспечивает относительно низкий скачок давления акустической ударной волны, значительную глубину абляции за один импульс и ровную поверхность дна лазерного кратера на всей толщине образца.

## 3. Диагностика кожи при лазерном воздействии

Лазерная абляционная обработка увядшей кожи человека активно используется для ее омоложения и регенерации. При этом необходимо деликатно удалить эпидермис и частично дермис, избегая возможных осложнений. Как правило лазерная шлифовка кожи осуществляется послойно путем сканирования лазерного луча по поверхности кожи. Развитие методов неинвазивного экспрессного мониторинга за состоянием кожи в процессе послойной лазерной абляции имеет важное практическое значение. Задачей данного исследования был поиск объективных параметров, позволяющих охарактеризовать изменения в составе и структуре кожи в процессе послойной лазерной абляции.

## 3.1. Поляризационная спектроскопия

Для облучения кожи применялась портативная дерматологическая установка "Добрый Свет" (ООО "Медицинские Лазерные Технологии", Россия) на основе импульсного ИАГ:Ег лазер.

Длина волны излучения лазера - 2,94 мкм, длительность импульса - 300 мкс. Использовался режим облучения, который обычно применяется при лазерной обработке кожи в



Рис. 3.1. Динамика спектров степени поляризации излучения, обратно рассеянного кожей в процессе лазерной абляции. 1 – нормальная кожа (E = 77); 2 - однократное облучение (E = 99); 3 – трехкратное облучение (E = 112).

применяется при лазернои оораоотке кожи в косметологии. В данном случае энергия излучения в одном лазерном импульсе составляла 5 Дж, диаметр лазерного пучка был примерно 7 мм, частота следования лазерных импульсов - 1 Гц.

Исследования изменений оптических свойств кожи проводились на внутренней поверхности предплечья волонтеров. Выделенный участок кожи сканировали лазерным лучом путем перемещения головки лазера. Сразу после каждого прохода измерялись интенсивности ко-поляризованной и кросс-поляризованной составляющих излучения, рассеянного в обратном направлении. Для этих измерений применялся компактный оптический модуль, состоящий ИЗ волоконно-оптического осветителя и волоконно-оптического приемника рассеянного назад излучения. Осветитель создавал

линейно-поляризованный луч, а перед приемником устанавливался поляризационный фильтр, оптическая ось которого поворачивалась относительно вектора поляризации зондирующего луча. Собранное волоконно-оптическим приемником обратно рассеянное излучение направлялось на оптический многоканальный анализатор спектров LESA-6m ("Биоспек", Россия) работавшего в области длин волн от 450 до 700 нм. В зависимости от ориентации оптической оси поляризационного фильтра измеряли либо ко-поляризованную, либо кросс-поляризованную составляющую рассеянного назад излучения. Калибровка измерительной системы осуществлялась с помощью эталонов, для которых степень остаточной поляризации обратно рассеянного излучения измерялась в независимых экспериментах на фиксированных длинах волн зондирующего излучения. Из измеренных спектров ко-поляризованной  $R_{\rm II}(\lambda)$  и кросс-поляризованной  $R_{\perp}(\lambda)$  составляющих рассеянного назад излучения рассеянного от объекта излучения  $P(\lambda)$  в соответствии с выражением:

$$P(\lambda) = \frac{R(\lambda)_{\rm II} - R(\lambda)_{\perp}}{R(\lambda)_{\rm II} + R(\lambda)_{\perp}}$$
(3.1)

С помощью эритемо-меланинометра EMM-01, измерялся индекс эритемы *E*, который количественно характеризует покраснение кожи. Чем выше индекс эритемы, тем интенсивнее рассеяние кожи в красной области спектра.

На Рис. 3.1 показана спектральная зависимость степени остаточной поляризации  $P(\lambda)$  обратно рассеянного излучения для кожи, подвергнутой лазерной абляции. Индекс эритемы при этом возрастал от 77 до 112 единиц. Характер изменения степени поляризации при увеличении дозы воздействия лазерного излучения на кожу подобен динамике степени поляризации при послойном отрыве кожи адгезионным методом, также сопровождающимся увеличением индекса эритемы. Основная причина такого поведения  $P(\lambda)$  заключается в увеличении концентрации крови в сосочковом слое при лазерной абляции эпидермиса. При этом в спектральной области поглощения гемоглобина зондирующее излучение проникает на меньшую глубину, и парциальные составляющие обратно рассеянного света претерпевают меньшее число актов рассеяния. Подобные эффекты также наблюдались и при удалении эпидермиса с использованием технологии кожных отрывов. В этом случае значительная эритема возникала после удаления эпидермального слоя толщиной порядка 30–40 мкм.

Количественные оценки толщины слоя эпидермиса, удаляемого в процессе лазерной абляции кожи, могут быть осуществлены путем сравнения значений степени остаточной

поляризации и коэффициента диффузного отражения обрабатываемого участка кожи для длин волн зондирующего излучения, соответствующих полосам поглощения гемоглобина и вдали от полос поглощения. Интерпретация полученных подобным образом экспериментальных данных возможна с использованием результатов предварительных калибровочных экспериментов для модельных рассеивающих сред с контролируемым поглощением.

Итак, как показали наши исследования, выполненные в данном разделе, спектр остаточной поляризации излучения, обратно рассеянного кожей человека, существенно изменяется в области длин волн от 450 до 700 нм в процессе абляции излучением импульсного ИАГ:Ег лазера *in vivo*. Рост степени поляризации обратно рассеянного света в области полосы поглощения гемоглобином коррелирует с ростом индекса эритемы.

### 3.2. ИК Фурье спектроскопия НПВО

Весьма эффективными для оперативного контроля изменения состояния кожи при ее обработке представляются также ИК Фурье спектроскопия. Однако практически все исследования проводились до сих пор лишь *in vitro* на выделенных и дегидратированных образцах тканей.

Разработка ИК волоконных зондов, работающих на эффекте нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО), дает принципиальную возможность осуществлять малоинвазивный мониторинг различных компонент в тканях *in vivo*. Эта методика позволяет путем кратковременного прикосновения зонда к исследуемому участку ткани оперативно измерить изменения ИК спектра пропускания в ее приповерхностном слое с достаточно высоким спектральным разрешением. Измерение ИК Фурье спектров пропускания производилось с помощью спектрофотометра "Vector 20" (BRUKER, Germany), снабженного приставкой ввода-вывода ИК излучения (Infrared Fiber Sensors, Germany).

В качестве датчика использовался оголенный инфракрасный световод диаметром 0,7 мм из AgBr/AgI. Чувствительный участок этого световода имел изгиб радиусом примерно 3-4 мм. При измерении спектра зонд слегка прижимался вершиной изгиба к коже перпендикулярно ее поверхности. ИК спектры усреднялись по 32 последовательным измерениям. Методика обработки участков кожи проводилось по аналогичной схеме, что и в



Рис. 3.2. Изменения в ИК Фурье спектрах пропускания в кожи человека *in vivo* при послойной лазерной абляции в импульсным ИАГ:Ег лазером (в качестве базовой линии и принята интактная кожа). 1, 2 - после одного и трех проходов лазерным излучением, соответственно.

предыдущем разделе.

Ha Рис. 3.2 представлены результаты измерений ИК Фурье спектров пропускания кожи типа II *in vivo* после одного и трех проходов излучением ИАГ: Er лазера. В качестве базовой линии принята интактная кожа, таким образом, представленные спектры являются разностными спектрами, отражающими изменения спектра после лазерной обработки. Рассмотрим поведение наиболее выразительных из них. Из поведения поглощения воды в областях 3450 и 1640 см<sup>-1</sup> видно, что в существенно приповерхностном слое кожи увеличивается содержание воды уже после первого прохода. Этот результат не очевиден, поскольку при воздействии лазерного излучения может происходить высыхание поверхностного слоя вследствие

принята интактная кожа). 1, 2 - после одного и трех теплового воздействия. С другой стороны в областях спектра вблизи 1304, 1380, 1450 см<sup>-1</sup> проявляются

пики, которые можно отнести к различным типам колебаний в CH<sub>3</sub> и CH<sub>2</sub> группах. Интенсивности этих пиков изменяются незначительно, что свидетельствует о практически неизменном содержании органической компоненты в приповерхностном слое кожи после лазерного воздействия.

Практически все биологические ткани, обнаруживают пик поглощения в области между 1610 и 1690 см<sup>-1</sup>, относящийся к валентным колебаниям связи С=О в амидной группе белков (колебания типа Амид I). Поскольку этот пик попадает на пик воды (максимум вблизи 1640 см<sup>-1</sup>), то происходит их наложение друг на друга и существенное взаимное искажение. В области вокруг 1550 см<sup>-1</sup> проявляются колебания полипептидов типа Амид II, являющихся комбинацией валентных колебаний связи С-N и деформационных колебаний связи N-H. Пик, относящийся к колебаниям типа Амид II, расположен существенно дальше от пика воды, хотя также частично искажается его длинноволновым крылом. В нашем случае для него отчетливо проявляется увеличение пропускания по отношению к базисному спектру интактной ткани кожи после первого прохода облучения, а после следующих проходов постепенное уменьшение. По-видимому, пик колебаний полипептидов типа Амид I ведет себя аналогичным образом. В области вокруг 1230 см<sup>-1</sup> слабо проявляется пик. который можно отнести к колебаниям полипептидов типа Амид III. Они представляют собой комбинацию валентных колебаний связи C-N, деформационных колебаний связи N-H и валентных колебаний связи С-С. Этот пик наиболее чувствителен к конформациям белков, в частности, к денатурации. В нашем случае наблюдается некоторое изменение формы этого пика при увеличении дозы лазерного воздействия, однако из-за его слабости сказать чтолибо определенное об изменении его интегральной интенсивности не удается. Изменение пика типа Амид III может свидетельствовать о частичной денатурации белков в приповерхностной зоне кожи.

Итак, как показали наши исследования, с помощью ИК Фурье спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения можно контролировать изменения содержания воды и белков в поверхностном слое кожи при ее абляции импульсным излучением ИАГ:Ег лазера. Содержание воды сначала растет с увеличением числа проходов, а затем быстро достигает своего стационарного уровня. Содержание белков уменьшается по сравнению с интактной кожей после первого прохода лазерным излучением, а при последующих проходах увеличивается.

## 3.3. Импульсная ИК радиометрия

Последние достижения технологии изготовления световых волокон ИК диапазона обусловили появление нового метода радиометрии. Он основан на доставке ИК излучения от нагреваемого объекта до датчика с помощью инфракрасных световодов. Это позволяет осуществлять удобный контроль процесса лазерной абляции в условиях клиники.

Суть метода радиометрии состоит в измерении интенсивности теплового излучения, испускаемого образцом. Тепловое излучение с поверхности кожи с помощью ИК световода (диаметр 0.7 мм), выполненного из галогенидов серебра (AgI/AgBr), передавали на приёмную площадку фотосопротивления HgCdTe (диаметр 200 мкм), охлаждаемую жидким азотом. Сигнал фотосопротивления подавался на цифровой осциллограф С9-16. Регистрация теплового отклика производилась с временным разрешением 1 мс. Площадь лазерного пучка на поверхности образца составляла 0.09 см<sup>2</sup>.

Сигнал, подаваемый с детектора на осциллограф, а затем на компьютер, представляли в виде зависимости от времени. Этот сигнал монотонно уменьшается со временем после окончания лазерного импульса, отражая интегральную интенсивность теплового излучения, исходящего от нагретой ткани. Строго говоря, для его описания необходимо решить достаточно сложную задачу, учитывающую поглощение излучения лазера, распространение тепла, как в течение лазерного импульса, так и по его окончанию, тепловое излучение неоднородно нагретого тела и, наконец, спектральные и частотные характеристики системы регистрации. Однако, не вдаваясь во все эти детали, будем представлять сигнал феноменологически в виде двух экспонент:

$$I(t) = A_0 + A_1 \cdot \exp(-k_1 \cdot t) + A_2 \cdot \exp(-k_2 \cdot t)$$
(3.2)

Постоянные коэффициенты A<sub>0</sub>, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, k<sub>1</sub> и k<sub>2</sub> можно определить, из полученных

экспериментальных зависимостей. Постоянный член приведенной суммы  $A_0$  не имеет определенного смысла, поскольку связан с системой регистрации. Член  $A_1 \cdot \exp(-k_1 \cdot t)$  дает быструю компоненту сигнала, а член  $A_2 \cdot \exp(-k_2 \cdot t)$  медленную. Эти компоненты чувствительны к изменениям состава тканей, связанных с лазерным воздействием. Так, например, при увеличении содержания воды в приповерхностном слое охлаждение нагретого приповерхностного слоя заметно убыстряется, благодаря испарению воды.

Характерным параметром отклика является время, в течение которого сигнал уменьшается в *е* раз. Оно зависит как от глубины проникновения лазерного излучения в ткань, так и от глубины, на которую распространяется тепло за время импульса. Если глубина проникновения излучения мала (большой коэффициент поглощения), а длительность импульса достаточно велика, то отклик в основном будет определяться коэффициентом теплопроводности ткани. Именно такой случай реализуется для ИАГ:Ег лазера, используемого в наших экспериментах.

На Рис. 3.3 представлены кинетики отклика радиометрического сигнала при облучении кожи последовательно импульсами ИАГ:Ег лазера. Наилучшее соответствие этих



Рис. 3.3 Радиометрический отклик кожи при импульсном нагреве излучением ИАГ:Ег лазера.

кривых формуле (3) дают значения для  $k_1$  и  $k_2$ , которые приведены на Рис. 3.4 в зависимости от номера лазерного импульса. Обратим внимание на то, что  $k_1$  и  $k_2$  ведут себя конгрузнтно, то есть, чем больше  $k_1$ , тем больше  $k_2$ , и наоборот. По-видимому, оба эти параметра отражают одни и те же физические процессы, происходящие в ткани при абляции лазерным излучением. Таким процессом, скорее всего, является изменение содержание воды в приповерхностном слое ткани. Действительно, при искусственном смачивании кожи наблюдается резкое уменьшение начальной интенсивности и одновременно увеличение скорости релаксации температуры. Это означает, что практически все энергия лазерного излучения расходуется в таком случае на испарение воды и к тому же уносится из области воздействия вместе с ее парами. В первом

лазерном импульсе в основном удаляется роговой слой кожи и частично эпидермис. Таким образом, достигается слой, в котором содержание воды по сравнению с исходным состоянием увеличено. Это проявляется в существенном росте скорости релаксации температуры во втором лазерном импульсе (см. Рис. 3.4). Однако из-за высушивания ткани



Рис. 3.4. Зависимости скоростей "быстрого" (k<sub>1</sub>) и "медленного" (k<sub>2</sub>) спада интенсивности теплового излучения кожи при импульсной абляции излучением ИАГ:Ег лазера

по окончании второго лазерного импульса в третьем импульсе опять происходит значительное уменьшение параметров k1 и k2. При продолжении облучения достигается сосочковый слой, в котором расположено множество капилляров, наполненных кровью, и соответственно вновь наблюдается некоторое увеличение скорости релаксации температуры.

Таким образом, радиометрические измерения позволяют контролировать *in situ* глубину абляции кожи излучением ИАГ:Ег лазера по динамике изменения скорости релаксации приповерхностной температуры, что открывает хорошие перспективы создания контрольной системы для лазерного омоложении кожи.

## 3.4. Эффект сокращения коллагеновых фибрилл при умеренном лазерном нагреве

Сокращение длины фибриллярных волокон, с одновременным увеличением их поперечного сечения приводит к эффекту сжатия коллагенсодержащих тканей при умеренном лазерном нагреве ( $\sim 70^{\circ}$ C). Для сокращения кожи и поверхностной мышечно-фасциальной системы (ПМФС) лица это свойство может оказаться весьма полезным, что и стимулировало проведение ряда исследований ориентированных на интересы пластической, эстетической и реконструктивной медицины.

Динамика нагрева тканей кожи лазерным излучением. При обработке тканей кожи лазерным излучением, прежде всего, необходимо контролировать пространственное распределение температуры и время нагрева. Нами были проведены соответствующие исследования *in vitro* на выделенных образцах ПМФС скуловой области, кожи и жира свиньи возраста 6-8 месяцев. Образцы ПМФС толщиной 3-4 мм выделяли из участка, прилегающего к скуловой мышце. Они представляли собой многослойную систему, в которой жировые фолликулы находились между пленками фасции, иногда с незначительным включением мышечных волокон. Весовое соотношение жировой и белковой компоненты ПМФС в ацетоне. Белковая компонента ПМФС – это в основном коллаген I, который входит в состав кожи, сухожилий.

Нагрев образцов осуществлялся волоконным эрбиевым лазером, излучающим на длине волны 1.56 мкм. Размер лазерного пучка на поверхности образца составлял 5 мм. Измерения температуры осуществляли с помощью термопар и температурного сенсора оригинальной конструкции. У температурного сенсора термопары располагались на периферии контактной сапфировой пластины, сквозь которую излучение проходило на



Рис. 3.5. Изменение температуры поверхности образцов различных тканей при воздействии лазерным излучением ( $\lambda$ =1,56 мкм).

образец. Конструкция этого сенсора интегрирует световод, термопару и сапфировую пластину в одном узле. Термопара толщиной 30 мкм вводилась внутрь образца, и ее спай располагался на расстоянии 0.5 мм от облучаемой поверхности. Таким образом контролировали одновременно температуру внутри образца и на его поверхности, что позволяло осуществить калибровку показаний температурного сенсора.

В ряде экспериментов применялся радиометрический метод измерения температуры. Использование интегрированных термопарных и радиометрических волоконных сенсоров позволяет осуществлять обработку и мониторинг ткани с помощью эндоскопических устройств.

На Рис. 3.5 приведены изменения температуры поверхности хряща, ПМФС и кожи свиньи при их облучении Ег волоконным лазером. Монотонный рост температуры начинается сразу после включения лазера. При выключении лазера наблюдается резкое падение температуры. Для кожи скорость нагрева оказалась



Рис. 3.6. Схема экспериментальной установки для исследований динамики сокращения ПМФС при воздействии лазерного излучения

значительно больше, чем для ткани ПМФС, состоящей в основном из жира. Это связано, прежде всего, с отсутствием в жировой ткани воды, которая является основным хромофором для данной длины волны. Скорость увеличения температуры в приповерхностном слое в начальный период времени после включения лазера (если пренебречь процессами теплопроводности) можно оценить, исходя из выражения  $dT/dt \approx k_a \cdot I/\rho \cdot c$ , где I – интенсивность излучения в  $BT/cm^2$ ,  $\rho$  - удельная плотность в г/см<sup>3</sup>, c – удельная теплоемкость в Дж/г·°С,  $k_a$  – эффективный коэффициент поглощения в см<sup>-1</sup>. Из приведенного на Рис. 3.5 эксперимента следует, что на начальном этапе температура поверхности образцов

растет со скоростью 3,2 и 8,0 °С/сек, соответственно для ПМФС и кожи. Используя известные данные  $\rho$  и *с* для кожи, хряща и жира, можно заключить, что энергия лазерного излучения на длине волны 1,56 мкм поглощается для ПМФС примерно в 10 раз менее интенсивно, чем для кожи и хряща. Для хряща коэффициент поглощения при  $\lambda$ = 1,56 мкм равен примерно 10 см<sup>-1</sup>. Таким образом, эффективный коэффициент поглощения для жировой ткани на длине волны  $\lambda$ = 1,56 мкм можно оценить как ~1см<sup>-1</sup>.

Исследование механических свойств ПМФС при обработке лазерным излучением. При лазерном нагреве поверхностной мышечно-фасциальной системы можно визуально



Рис. 3.7. Относительное сокращение длины ПМФС при различных плотностях мощности лазерного излучения ( $\lambda = 1,56$  мкм). 1 – P=10 Вт/см<sup>2</sup>; 2 - P=16 Вт/см<sup>2</sup>; 3-P=35 Вт/см<sup>2</sup>

наблюдать, что в определенный момент после начала облучения зона нагрева начинает стремительно сокращаться, смещая к себе периферические области. Это свидетельствует о повышении механического напряжения в облучаемой зоне. Она стремится сжать свои границы и тем самым сокращает линейные размеры ткани в целом. Для изучения динамики этого процесса по отношению к ПМФС была собрана экспериментальная установка, схема которой приведена на Рис. 3.6. Характерные размеры образцов были 6x15 мм. Эти образцы прикреплялись с помощью зажима к неподвижному держателю и располагались вертикально. К нижней части образца с помощью другого зажима подвешивался груз массой 10 г, который создавал постоянную нагрузку И не позволял образцу Облучение самопроизвольно сворачиваться. образца

осуществлялось с помощью волоконного эрбиевого лазера (λ=1,56 мкм).

Угол между осью световода в дистальной части и нормалью к поверхности образца составлял примерно 30°. Расстояние между концом световода лазера и поверхностью образца составляло примерно 25 мм. Ось световода ИК радиометра направлялась нормально к поверхности образца. Сигнал радиометра записывали на цифровой осциллограф С9-8. Динамику изменения геометрических размеров образца ПМФС при воздействии лазерного изучения снимали с помощью видеокамеры, снабженной дополнительной оптической насадкой на объектив, что позволяло снимать увеличенное изображение образца. Компьютерная обработка видеозаписи позволила измерить длину образца в динамике. На Рис. 3.7 приведены результаты этой обработки для трех различных режимов облучения.

Приведенные в данном разделе исследования были положены в основу разработки методики лазерного лифтинга ПМФС, что существенно сократило время проведения операции и фактически сделало ее бескровной.

#### 4. Рефлектометрия биологических тканей

#### 4.1 Динамика спеклов при лазерном нагреве хрящевых тканей

Для мониторинга биотканей в процессе лазерного воздействия наиболее привлекательны неинвазивные (неразрушающие) методы, к которым можно отнести динамические измерения спеклов. Их достоинством является высокая чувствительность к движению внутритканевой жидкости, фазовым переходам, коагуляции белков и пр. Однако для интерпретации динамики спекл-картин необходимо знать характерные особенности их поведения в конкретных условиях.

В наших работах исследованы изменения контраста и корреляционных параметров спекловых картин, формирующихся при прохождении пробного луча через образец хрящевой ткани или при его диффузном отражении, в зависимости от температуры в процессе лазерного нагрева. Распределение интенсивности спекл-картин измерялось с помощью цифровой фотокамеры с частотой кадров 25 Гц. Для передачи изображения спекл-картин от поверхности образца на фотокамеру в ряде экспериментов использовали оптический жгут. Нагрев тканей осуществлялся излучением эрбиевого волоконного лазера ( $\lambda$ =1560 нм). Двумерное температурное поле поверхности образцов регистрировалось с помощью инфравизора (ИРТИС 200, Россия) с частотой кадров ~1 Гц. В экспериментах использовались зрелые хрящи перегородки носа теленка или поросенка. В качестве измеряемых параметров использовали контраст спекл-картин (отношение дисперсии к среднему значению) и коэффициент корреляции Пирсона.

Было показано, что при лазерном нагреве хрящей от комнатной температуры до 50-60°C наблюдается монотонное уменьшение контраста спекл-картин, затем при дальнейшем нагреве он начинает расти и достигает примерно 20-50% начального уровня при 70-80°С. При охлаждении образца контраст спекл-картин продолжает стремиться к начальному уровню, то есть, эволюция контраста спекл-картин от температуры имеет гистерезисный Уменьшение контраста вначале нагрева мы связываем с движением характер. внутритканевой воды в нагреваемой области, ее испарением и переходом из связанного состояния в свободное. Минимум контраста достигается, когда в хряще начинается усадка (денатурация) коллагена. Примерно в этих же условиях хрящ становится пластичным и способным принять новую стабильную форму. Итак, измеряя контраст спекл-картин, можно осуществлять мониторинг лазерной коррекции формы хрящей. Было установлено, что изображения спеклов можно передавать с помощью оптического жгута без потери информации об их статистических характеристиках. Таким образом, мониторинг спеклов может осуществляться эндоскопически в тех случаях, когда хрящ скрыт от прямого визуального наблюдения, например, в носовой полости (перегородка носа) в суставных сумках или между позвонками. Показано, что измерения динамики спеклов в зависимости от температуры позволяют измерить Аррениусовские параметры физико-химических процессов, индуцируемых в хрящах при лазерном нагреве. Дальнейшие исследования показали, что в качестве параметра, характеризующего релаксацию механических напряжений в материалах и изменения их оптических свойств, удобно также применять коэффициент корреляции Пирсона между последовательными кадрами. При этом контраст и коэффициент корреляции могут дополнять друг друга, повышая надежность диагностической системы. Нами был создан экспериментальный стенд, позволяющий автоматически отключать лазерное излучение в момент достижения пластичности хряща, по изменению знака производной контраста спекл-картин и с учетом коэффициента корреляции, как дополнительного контролирующего параметра.

Отметим, что диагностика спеклов подразумевает измерения сложных функционалов пространственно-временного распределения интенсивности света в качестве выходного параметра в режиме реального времени, как минимум, с частотой 25 Гц. Такой уровень автоматизированного взаимодействия системы сбора данных, их компьютерной обработки и лазера стал возможным лишь благодаря последним достижениям лазерной и информационной техники.

### 4.2. Контуры равной интенсивности светового поля

В статье Dagdug L., и др. (Phys. Med. Biol. V.48, P.1361) были предсказаны эллиптические контуры равной интенсивности для светового поля, создаваемого на поверхности анизотропного образца диффузно отраженным сфокусированным пучком. Они характеризуются полуосями, длина которых обратно пропорциональна корню квадратному коэффициента рассеяния вдоль оптических осей. Ниже представлены основные результаты распределения наших измерений интенсивности линейно поляризованного сфокусированного света, диффузно отраженного от различных образцов биологических тканей и их фантомов, развита методика анализа контуров равной интенсивности.

Измерения распределения интенсивности света монохроматического зондирующего луча (λ=650 нм) проводилось с помощью цифровой ПЗС камеры. На примере образцов оптически изотропного полимера (делрина) и анизотропной деминерализированной кости было экспериментально подтверждено, что контуры равной интенсивности имеют форму



Рис. 4.1.Типичные контуры равной интенсивности диффузно отраженного поляризованного узкого луча, измеренные через ко-поляризационный фильтр, для кожи мышей (а) и предплечья человека (б) *in vivo*.

эллипса. а ось этого эллипса ориентированна вдоль направления коллагеновых волокон кости. Причем вблизи точки ввода зондирующего луча эллипс вытянут перпендикулярно направлению волокон, а при удалении от нее он вытягивается вдоль волокон. На Рис. показаны типичные 41 контуры интенсивности диффузно равной отраженного поляризованного луча, измеренные через кополяризационный фильтр, для кожи мышей (а) и предплечья человека (б) in vivo. Крестами показаны экспериментальные точки, а

сплошными линиями их интерполяция эллипсами с наименьшим средне-квадратичным отклонением. Видно, что фактор анизотропии для кожи человека существенно больше, чем для кожи мышей.

Сравнение контуров равной интенсивности светового поля, измеренного через кросси ко-поляризационные фильтры, выявило, что свет, распространяющийся вдоль коллагеновых волокон, сохраняет исходное состояние поляризации на значительно большем расстоянии, чем свет, распространяющийся в перпендикулярном направлении. Это можно качественно объяснить волноводным эффектов в рассеивающей среде и влиянием многократного френелевского отражения света от поверхности изнутри.

Таким образом, мониторинг контуров равной интенсивности, образующихся при диффузном отражении тонкого луча поляризованного света от биологических тканей, может быть полезным при выявлении их патологий, связанных с изменением структуры волокон, например, при обработке лазерным или ионизирующим излучением.

# 4.3. Поляризационная визуализация текстуры биологических тканей

Большинство биологических тканей и их структурные элементы проявляют поляризационную активность или двулучепреломление, позволяющие охарактеризовать их морфологию или визуализировать скрытые структуры, путем анализа состояния поляризации зондирующего света. В настоящее время усилия многих лабораторий направлены на разработку поляризационных методов диагностики биологических тканей. Значительный практический интерес представляют схемы, в которых объект освещается

монохроматическим линейно-поляризованным светом, а с помощью цифровой камеры через поляризационные фильтры осуществляется регистрация светового поля на поверхности образца. При этом оптическая ось поляризационного фильтра может быть ориентирована параллельно или перпендикулярно оптической оси поляризатора, создавая ко- или кроссполяризованные изображения. Поляризованный пучок света может зеркально или диффузно отразиться от поверхности образца, проникнуть вглубь и вернуться обратно, испытав несколько актов рассеяния. При зеркальном отражении состояние поляризации в основном сохраняется. Для света, диффузно отраженного от поверхности, оно зависит от угла поворота и шероховатости поверхности, но в значительной степени может быть ослаблено кроссполяризационным фильтром. Для вышедших обратно из объема образца диффузных фотонов исходное состояние поляризации быстро рандомизируется с ростом глубины проникновения. Лишь относительно небольшая часть обратно рассеянного излучения, прошедшая через анизотропные биологической структурные элементы ткани, претерпевшая двулучепреломление, несет полезную информацию об этих элементах. Поглощающий объект, погруженный в ткань, также может влиять на состояние поляризации обратно рассеянного света, уменьшая число хаотично поляризованных фотонов, причем, тем сильнее, чем больше коэффициент поглощения и чем ближе он к поверхности. Для выявления структурных элементов биологических тканей ранее было предложено визуализировать степень поляризации отраженного света, по сути, являющейся разностью матричных элементов ко- и кросс-поляризованных изображений, нормированной на их сумму. Эта методика хорошо показала себя при визуализации слабо отражающих или поглощающих элементов, расположенных вблизи поверхности кожи. Нами было показано, что подобный подход может применяться и для выявления скрытых фиброзных структур, образующихся в коже мышей после рентгеновского облучения. Там же впервые был предложен анализ размеров и ориентации этих структур с помощью коэффициента корреляции Пирсона.

Для выявления объемных элементов биологических тканей представляет также значительный интерес анализ кросс-поляризованных изображений. Действительно, в них полностью фильтруется интенсивный свет исходной поляризации, а свет, прошедший через интересующие нас структуры, достигает матричные элементы цифровой камеры, благодаря двулучепреломлению. Тем не менее, полезный сигнал остается довольно слабым на фоне мощного сигнала диффузно-рассеянного деполяризованного света. Поэтому для визуализации внутренних структур биологических тканей поляризованным светом требуется развитие методов обработки получаемых изображений.

Большинство биологических тканей обладают характерной текстурой, то есть наличием некоторых повторяющихся фрагментов. Это обстоятельство подсказывает следующий подход. Если выбрать подматрицу изображения или некоторую шаблонную подматрицу и вычислить коэффициенты ее корреляции со всеми сходными по размеру подматрицами изображения, то можно получить карту областей статистического подобия. Оказалось, что такая процедура хорошо выделяет структуры, которые на исходном изображении не видны глазами. Благодаря инвариантности коэффициента корреляции относительно линейного преобразования, удается практически полностью отфильтровать фон деполяризованного света и крупномасштабные искажения, вызванные неоднородным освещением. Варьируя размер и положение контрольной области, можно как бы рассматривать изображение через масштабируемый фильтр, выделяющий интересующие черты биологической ткани. Наилучшее качество изображения областей статистического подобия получается при совпадении размеров контрольной области и тканевых структур. Оказалось приятной неожиданностью, что основные черты изображения коэффициента корреляции устойчивы к положению контрольной области исходного изображения.

На Рис. 4.2 приведен пример визуализации коэффициента корреляции Пирсона для кросс-поляризованного изображения мышечной фасции цыпленка. На исходном изображении практически невозможно различить какие-либо черты рассматриваемого изображения из-за упомянутого ранее фона деполяризованного света, в то же время на его

образе справа отчетливо проявляется сеть вертикальных и горизонтальных элементов. Они расположены под слоем слизистой оболочки и были не заметны в обычном микроскопе.



Рис. 4.2. Кросс-поляризованное изображение мышечной фасции цыпленка (слева) и его корреляционный анализ (справа).

#### 4.4. Разработка компактной поляризационной камеры

Для визуализации скрытых структур биологических тканей была разработана активная поляризационная камера. Ее схема представлена на Рис. 4.3. Одним из узловых элементов этой камеры является жидкокристаллическая волновая пластина (ЖКВП). Задержка ее фазы может быстро переключаться электроникой с 0 на  $\pi$  (полволны), а ее кристаллографическая ось повернута под углом 45° по отношению к оси пропускания поляризатора (3). Такая геометрия позволяет при нулевой задержке фазы реализовать ко-поляризационную



Рис. 4.3. Поляризационная камера. 1 - ПЗС камера, 2 – узкополосный фильтр (700 ± 25 нм), 3- поляризатор, 4 – жидкокристаллическая волновая пластина (Meadowlark Optics, LRC-200 IR1), 5 - поляризатор, 6 объектив, 7 – кольцевой осветитель, 8 – блок синхронизации и сбора данных, 9 – блок управления жидкокристаллической волновой пластиной, 10 - ПК, 11 - образец геометрию, а при задержке в полволны кросс-поляризационную геометрию. Время волновой пластины переключения примерно 20 Образец составляет MC. освещается помощью кольцевого С оптоволоконного облучателя (6), перед устанавливается линейный которым поляризатор (5) с круглым отверстием. отраженного Часть OT образца света проходит через это отверстие, объектив (6), ЖКПВ (4), поляризатор (3), узкополосный фильтр (2) и попадает на матрицу камеры (1). Объектив (6) передает изображение поверхности образца на плоскость ПЗС матрицы камеры. Камера последовательно записывает ко- и кроссизображения образца, передает их в компьютер, где

осуществляется анализ изображений степени поляризации и кросс-поляризационных изображений. Разработана программа в среде LabView, позволяющая управлять работой камеры, и практически в режиме реального времени проводить анализ коэффициента корреляции относительно выбранной контрольной области изображения или шаблона.

#### Благодарности.

Авторы признательны своим коллегам из ИПЛИТ РАН и других учреждений, участвовавших в развитии описанных в данном обзоре методов - Бутвине Л.Н., Зимнякову Д.А., Игнатьевой Н.Ю., Омельченко А.И., Панченко В.Я., Соболю Э.Н., Цыпиной С.И., , Шах Г.Ш, Helidonis Е., Jones N, Chernomordik V., Gandjbakhche А. Авторы также благодарят Российский Фонд Фундаментальных Исследований за многолетнюю финансовую поддержку большинства этих исследований.

Основные публикации коллектива:

1. Кондюрин А.В., Свиридов А.П. Эквивалент хрящевой ткани для моделирования температурных полей, индуцируемых лазерным излучением // Квантовая электроника. - 2008. - 38. - 641-646.

2. Свиридов А.П. Статистика отклонения света в случайно-неоднородной двухфазной среде // Квантовая электроника. - 2007. - 37. - 1-8.

3. Зимняков Д.А., Свиридов А.П., Кузнецова Л.В., Баранов С.А., Игнатьева Н.Ю., Лунин В.В. Анализ кинетики термической модификации биологических тканей методом спекл-коррелометрии // Журнал физической химии. - 2007. - 81. - 1-7.

4. Баграташвили В.Н., Басков А.В., Борщенко И.А., Игнатьева Н.Ю., Овчинников Ю.М., Омельченко А.И., Свиридов А.П., Свистушкин В.М., Соболь Э.Н., Шехтер А.Б. Лазерная инженерия хрящей // Физматлит. - 2006. - 487.

5. Zimnyakov D.A., Sviridov A.P., Kuznetsova L.V., Baranov S.A., Ignatieva N.Y. Monitoring of tissue thermal modification with a bundle-based full-field speckle analyzer // Applied Optics. - 2006. - 45. - 4480-4490.

6. Sviridov A.P., Ulissi Z., Chernomordik V., Hassan M., Gandjbakhche A. Visualization of biological texture using correlation coefficient images // J. Biomed. Opt. - 2006. - 11. - 060504.

7. Sviridov A.P., Chernomordik V., Hassan M., Russo A., Eidsath A., Smith P., Gandjbakhche A. Intensity profiles of linearly polarized light backscattered from skin and tissue-like phantoms // Journal of Biomedical Optics. - 2005. - 10. - 014012.

8. Sviridov A.P., Chernomordik V., Hassan M., Boccara A.C., Russo A., Smith P., Gandjbakhche A. Enhancement of hidden structures of early skin fibrosis using polarization degree patterns and Pearson correlation analysis // J. Biomed. Opt. - 2005. - 10. - 051706.

9. Sviridov A.P., Zimnyakov D.A., Sinichkin Y.P., Butvina L.N., Omelchenko A.I., Shakh G.S., Bagratashvili V.N. Attenuated total reflection Fourier transform infrared and polarization spectroscopy of in vivo human skin ablated, layer by layer, by erbium:YAG laser // J. Biomed. Opt. - 2004. - 9. - 820-827.

10. Sobol E.N., Sviridov A.P., Kitai M.S., Edwards G.S. Temperature alterations of the light absorption by cartilage and cornea under free electron laser radiation // Appl. Opt. - 2003. - 42. - 2443-2449.

11. Sobol E., Sviridov A., Kitai M., Gilligan J.M., Tolk N.H., Edwards G.S. Time-resolved, light scattering measurements of cartilage and cornea denaturation due to free electron laser radiation // J. Biomed. Opt. - 2003. - 8. - 216-222.

12. Свиридов А.П., Зимняков Д.А., Синичкин Ю.П., Бутвина Л.Н., Омельченко А.И., Махмутова Г.Ш., Баграташвили В.Н. ИК Фурье спектроскопия in vivo кожи человека при ее абляции излучением ИАГ:Ег-лазера и поляризация света, рассеиваемого кожным покровом // Журнал прикладной спектроскопии. - 2002. - 69. - 484-488.

13. Баграташвили В.Н., Баграташвили Н.В., Игнатьева Н.Ю., Лунин В.В., Гроховская Т.Е., Аверкиев С.В., Свиридов А.П., Шах Г.Ш. Структурные изменения в соединительных тканях при умеренном лазерном нагреве // Квантовая электроника. - 2002. - 32. - 913-916.

14. Zimnyakov D.A., Agafonov D.N., Sviridov A.P., Omel'chenko A.I., Kuznetsova L.V., Bagratashvili V.N. Specklecontrast monitoring of tissue thermal modification // Applied Optics. - 2002. - 41. - 5984-5988.

15. Ovchinnikov Y., Sobol E., Svistushkin V., Shekhter A., Bagratashvili V., Sviridov A. Laser septochondrocorrection // Arch Facial Plast Surg. - 2002. - 4. - 180-185.

16. Баграташвили В.Н., Омельченко А.И., Свиридов А.П., Соболь Э.Н., Лунина Е.В., Житнев Ю.Н., Маркарян Г.Л., Лунин В.В. Исследование воздействия лазерного излучения на биологические ткани методами ЭПР и оптической спектроскопии // Химия высоких энергий. - 2001. - 35. - 472-479.

17. Баграташвили В.Н., Баграташвили Н.В., Гапонцев В.П., Махмутова Г.Ш., Минаев В.П., Омельченко А.И., Самарцев И.Э., Свиридов А.П., Соболь Э.Н., Цыпина С.И. Изменение оптических свойств гиалинового хряща при нагреве лазерным излучением ближнего ИК диапазона // Квантовая электроника. - 2001. - 31. - 534-538.

18. Омельченко А.И., Соболь Э.Н., Свиридов А.П., Хардинг С., Джюмель К., Уолкер Р., Джонс Н. Оптоакустический мониторинг лазерной коррекции формы уха // Квантовая электроника. - 2000. - 30. - 1031-1033.

19. Ignat'eva N.Y., Lunin V.V., Majorova A.F., Mudretsova S.N., Bagratashvili V.N., Sobol E.N., Sviridov A.P. A thermoanalytical study of cartilaginous tissues // Mendeleev Commun. - 2000. - 10. - 223-224.

20. Свиридов А.П., Соболь Э.Н., Баграташвили В.Н., Омельченко А.И., Овчинников Ю.М., Шехтер А.Б., Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Шинаев А.Н., Джонес Н. Изменение формы хрящей ушной раковины *in vivo* с помощью излучения гольмиевого лазера (предварительные результаты) // Лазерная медицина. - 1999. - 3. - 12-17.

21. Sobol E.N., Kitai M.S., Jones N., Sviridov A.P., Milner T.E., Wong B.J. Heating and structural alterations in cartilage under laser radiation // IEEE J Quant El. - 1999. - 35. - 532-539.

22. Sviridov A., Sobol E., Jones N., Lowe J. The effect of holmium laser radiation on stress, temperature and structure of cartilage // Lasers Med. Sci. - 1998. - 13. - 73-77.

23. Bagratashvili V.N., Sobol E.N., Sviridov A.P., Popov V.K., Omel'chenko A.I., Howdle S.M. Thermal and diffusion processes in laser-induced stress relaxation and reshaping cartilage // J. Biomechanics. - 1997. - 30. - 813-817.

24. Bagratashvili V.N., Sobol E.N., Sviridov A.P., Helidonis E.S., Kavvalos G.A. Carbonization of bony tissue by pulsed lasers // Lasers in the Life Sciences. - 1997. - 7. - 181-198.

25. Китай М.С., Соболь Э.Н., Свиридов А.П., Омельченко А.И. О проявлениях фотохимических реакций в костных тканях под действием ультрафиолетового лазерного излучения // Биофизика. - 1996. - 41. - 1137-1144.

26. Sviridov A.P., Dmitriev A.K., Karoutis A.D., Christodolou P., Helidonis E. Excimer laser ablation of bone. Shock wave measurements and crater profiles // Lasers in Medical Science. - 1996. - 11. - 37-44.