

*На правах рукописи*

**Ардамакова Алеся Валерьевна**

**ТЕХНОЛОГИЯ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЛАЗЕРНОЙ  
КОАГУЛЯЦИИ ТКАНЕЙ ГЛАЗНОГО ДНА**

**(экспериментальное исследование)**

14.01.07 – глазные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном научном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней».

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук, профессор **Большунов Андрей Валентинович**

**Официальные оппоненты:**

**Володин Павел Львович**, доктор медицинских наук, Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н.Федорова» Министерства здравоохранения РФ, заведующий отделом лазерной хирургии сетчатки

**Корниловский Игорь Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, профессор кафедры глазных болезней Института усовершенствования врачей

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ

Защита диссертации состоится 11 февраля 2019 г. В 14-00 на заседании диссертационного совета Д 001.040.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней» по адресу: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, д.11, корп. А, Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте [www.niigb.ru](http://www.niigb.ru) Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт глазных болезней»

Автореферат диссертации разослан «   » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук

Иванов М.Н.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность темы и степень ее разработанности.**

Более чем 30-летний опыт использования ЛК показывает, что и в настоящее время данный метод является наиболее эффективным для лечения ряда заболеваний сетчатой оболочки, таких как диабетическая ретинопатия, периферические дегенерации и отслойка сетчатки, влажная форма возрастной макулярной дегенерации, пролиферативные изменения сетчатки после тромбоза центральной вены сетчатки и ее ветвей. Лечение основано на быстром локальном нагреве тканей, приводящем к их денатурации. Степень коагуляции сетчатой оболочки в процессе нагрева в основном зависит от уровня повышения температуры в результате поглощения лазерной энергии. Тем не менее, на данный момент не существует надежного метода контроля температуры в процессе проведения лазерной операции. Выбор параметров ЛИ основан на субъективной оценке лечащим врачом-офтальмологом изменений внешнего вида сетчатки в процессе нанесения лазерных коагулятов (Ober M.D., Hariprasad S.M., 2009). Однако, в связи с локальными особенностями интенсивности пигментации в слое пигментного эпителия сетчатки и сосудистой оболочки глаза, выбранные врачом параметры ЛИ способны вызвать неоправданно высокое повышение температуры, нередко приводящее к таким осложнениям, как разрывы сетчатки и сосудистой оболочки, отслойка сетчатки и кровоизлияние в стекловидную камеру глаза или, наоборот, к недостаточному нагреву тканей без достижения желательного терапевтического эффекта (Sanghvi C., McLauchlan R., Delgado C., 2008). В некоторых ситуациях процедуры могут быть чрезвычайно болезненными для пациентов. Поэтому, мониторинг и прогнозирование температурного режима в облучаемых тканях в процессе ЛК, позволил бы существенным образом ее оптимизировать и тем самым снизить количество послеоперационных осложнений, что, несомненно, имеет важное клиническое значение.

Для мониторинга температурного режима в сетчатой оболочке при ЛК предлагалось использование МРТ сканирования. Однако данный метод оказался слишком медленным для регистрации быстротекущих процессов и достаточно дорогостоящим (Saher M. Maswadi; Stephen J., et al., 2004).

Известен также способ контроля лазерного воздействия при ЛК сетчатки с помощью люминесцентной спектроскопии (S.Miura, H.Nishiwaki, Y.Ieki, et al., 2005). В этом случае предлагается применение препарата, распадающегося по достижении определенной температуры, который связан с люминесцентным веществом и заключен в синтезированные глобулы-контейнеры. Препарат вводят пациенту внутривенно перед процедурой ЛК и во время нагрева ХРК лазерным излучением происходит детектирование люминесценции. Однако способ является инвазивным, возможна индивидуальная реакция пациента на вводимый препарат, что может влиять на результаты ЛК.

Теоретические исследования лазерного воздействия на ткани сетчатки проводились в работах Г.И Желтова (2009). Были разработаны программы для расчета температурного поля в слоях сетчатки при лазерном воздействии с целью его контроля. Однако расхождение теоретических расчетов и экспериментальных данных было довольно высоким (в пределах 50%).

Активные исследования по разработке методики температурного контроля в процессе ЛК ведутся в институте биомедицинской оптики Университета Любек (Германия) (Brinkmann R., Roeder J., Birngruber R., 2008, Baade A., Burchard C. et al., 2017). Для контроля температуры в процессе ЛК предложили использовать зависимость физических (а именно, акустических) параметров тканей глазного дна от температуры. При воздействии на биологическую ткань короткого (порядка нескольких нс) лазерного импульса, в результате быстрого локального нагрева происходит ее тепловое расширение, создающее АИ достаточной интенсивности для его регистрации современными пьезоэлектрическими датчиками. При изменении

температуры меняются такие физические параметры как коэффициент теплового расширения, плотность, скорость звука и удельная теплоемкость тканей. В результате меняются характеристики возникающего АИ, такие как амплитуда, форма и время регистрации. Надежное измерение амплитуды АИ представляет собой непростую задачу, что может существенно понизить точность определения температуры. В этом плане интересен альтернативный подход, основанный на непосредственном измерении локального коэффициента поглощения структур сетчатки в месте предполагаемой ЛК (Лыткин А.П., Ларичев А.В., 2016). Данный метод может быть реализован путем оптоакустического зондирования коротким импульсом непосредственно перед основным воздействием. При этом параметры воздействия корректируются в онлайн-режиме по результатам измерений.

**Целью** настоящей работы является теоретическое обоснование и экспериментально-морфологическое подтверждение возможности контроля степени термического повреждения сетчатки в процессе лазерного воздействия путем измерения амплитуды и формы акустического импульса.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие конкретные **задачи**:

1. Разработать технологию для определения оптимального режима лазерного воздействия, основанную на вычислении распределения температурного поля в пределах ХРК глаза посредством измерения локального коэффициента поглощения РПЭ с помощью оптоакустического зондирования.
2. Определить нагрев ХРК импульсным излучением зондирующего лазера с параметрами способными генерировать регистрируемый пьезоэлектрическим приёмником АИ.
3. Изучить взаимосвязь температуры ХРК и характеристик регистрируемого АИ.

4. Изучить возможность определения коэффициента поглощения ЛИ по характеристикам АИ в различных точках ХРК и состоятельность цифровой модели температурного поля нагрева непрерывным излучением близкого спектрального диапазона.
5. Выявить наиболее устойчивый показатель АИ для определения коэффициента поглощения ЛИ в конкретной точке, а также взаимосвязь последнего со степенью повреждения ХРК в результате стандартного воздействия непрерывным ЛИ близкого спектрального диапазона.
6. Разработать оригинальную программу для цифрового моделирования температурного поля в процессе нагрева ХРК глаза непрерывным ЛИ на длине волны 0,532 мкм для каждой степени коагулята по классификации L' Esperance.
7. Разработать и апробировать действующую модель миниатюрного дистантного акустического приёмника для термометрического контроля ЛК сетчатки.

### **Научная новизна.**

Впервые были изучены возможности анализа амплитуды и формы АИ для вычисления локального коэффициента поглощения РПЭ, а также для прогнозирования степени морфологических изменений сетчатки непосредственно в процессе лазерного воздействия.

### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

1. Предложена технология оптоакустического контроля прецизионной ЛК сетчатки, основанная на теоретическом расчете дозы лазерного воздействия по результатам измерения локального коэффициента поглощения РПЭ.
2. Предложена технология оптоакустического контроля в онлайн-режиме, позволяющая проводить прецизионную таргетную субпороговую ЛК сетчатки, включая макулярную область.

3. Разработан, апробирован и откалиброван миниатюрный акустический приемник, встроенный в трехзеркальную линзу собственной конструкции, помещаемую на роговицу глаза, для осуществления термометрического контроля в процессе ЛК сетчатки.

### **Методология и методы диссертационного исследования.**

Методологической основой диссертационной работы послужил комплекс методов и основных принципов научного исследования. Соблюдены схема и этапы последнего. В работе сочетаются методологии качественных и количественных исследований. Работа выполнена в дизайне открытого сравнительного исследования с использованием инструментальных, аналитических и статистических методов.

### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Впервые предложена технология, основанная на вычислении распределения температурного поля в пределах ХРК глаза и подборе параметров ЛИ для определения оптимального режима лазерного воздействия, посредством измерения локального коэффициента поглощения РПЭ с помощью оптоакустического зондирования.
2. Эксперименты, проведенные на образцах аутопсийных глаз человека *in vitro*, продемонстрировали возможность достаточно точного определения коэффициента поглощения ЛИ в любой точке ХРК и состоятельность разработанной математической модели температурного поля, создаваемого непрерывным ЛИ в ХРК.
3. Проведенные на глазах кроликов эксперименты *in vivo* показали, что при использовании значения амплитуды первого пика АИ для определения коэффициента поглощения РПЭ и расчета параметров лазерного воздействия можно добиваться прогнозируемых результатов и предотвращать возможные негативные последствия в виде побочных эффектов ЛК.

### **Степень достоверности и апробация результатов.**

В работе использовано современное сертифицированное офтальмологическое оборудование. Степень достоверности результатов проведенных исследований определяется достаточным количеством экспериментальных наблюдений с использованием современных методов исследования и подтверждается результатами статистической обработки материала на должном уровне. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, строго аргументированы и логически вытекают из системного анализа результатов экспериментальных исследований.

Основные положения диссертации были представлены на европейском конгрессе 8th European Meeting on Visual and Physiological Optics (Антверпен, Бельгия, 2016); международной конференции The International Conference on Coherent and Nonlinear Optics (ICONO 2016) / The Lasers, Applications, and Technologies Conference (LAT 2016) ICONO/LAT 2016, (Минск, Беларусь, сентябрь 2016); международном симпозиуме International Symposium Optics and Biophotonics-IV (Саратов, Россия, 2016); Научно-практической конференции с международным участием "IX РОССИЙСКИЙ ОБЩЕНАЦИОНАЛЬНЫЙ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИЙ ФОРУМ" (Москва, 2016); XIII-ой Всероссийской научной конференции молодых ученых с международным участием («Актуальные проблемы офтальмологии», Москва, 2018); заседании проблемной комиссии ФГБНУ НИИ ГБ (Москва, 17 сентября 2018г).

### **Личный вклад автора в проведенное исследование.**

Автор непосредственно участвовал в подготовке и проведении экспериментальных исследований. Автором осуществлены лазерные операции на сетчатке, забор материала для гистологического исследования у лабораторных животных. Личный вклад автора состоит в осуществлении



статистической обработки полученных данных, анализе результатов исследования, подготовке диссертации, автореферата, докладов, презентаций и публикаций по теме диссертации.

### **Внедрение результатов работы.**

В научно-исследовательской лаборатории новых лазерных технологий в офтальмологии ФГБНУ «НИИ ГБ» продолжаются исследования оригинальной технологии оптоакустического контроля ЛК тканей глазного дна с целью внедрения ее в клиническую практику. Результаты наших исследований имеют реальную основу для создания отечественного прибора термометрического контроля нагрева сетчатки в процессе ЛК.

### **Публикации.**

По теме диссертационной работы опубликовано 7 печатных работ, из них 4 в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, определённых Высшей аттестационной комиссией: «Вестник офтальмологии», «Уральский медицинский журнал», «Сибирский научный медицинский журнал». Подана заявка на выдачу патента на изобретение "Способ выбора параметров лазеркоагуляции сетчатки" RU 2018133864 с приоритетом от 29.09.18.

### **Объем и структура диссертационной работы.**

Диссертация изложена на 102 страницах и состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 173 источника, из них 44 отечественных и 129 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 1 таблицей и 53 рисунками.

Работа выполнена в научно-исследовательской лаборатории новых лазерных технологий ФГБНУ «НИИ ГБ» под руководством доктора медицинских наук, профессора А.В. Большунова, совместно с лабораторией лазерной

оптоакустики ИПЛИТ РАН и кафедрой медицинской физики физического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова. Морфологический фрагмент работы выполнен на базе лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ ГБ» (зав. А.А.Федоров).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

### *Материалы и методы исследования.*

Эксперименты проводили *in vitro* на 20-ти аутопсийных глазах и *in vivo* на 16 глазах 8 кроликов породы шиншилла-серый весом 2 – 2,5 кг. Изначально для решения поставленных задач планировали проведение экспериментальных исследований на большем количестве наблюдений, однако однородность и достоверность полученных результатов дали возможность ограничить количество экспериментального материала.

Для проведения экспериментов использовалось следующее оборудование:

1. Зондирующий лазер **DTL-319QT** фирмы **Laser Compact** (Россия), с излучением на длине волны 0,527 мкм., энергией импульса 1 мкДж, в микроимпульсном режиме с частотой повторения 1 кГц с экспозицией импульсов 10 нс.
2. Офтальмокоагулятор **Novus Spectra** фирмы **Lumenis** (США) с излучением на длине волны 0,532 мкм., мощностью до 3 Вт в непрерывном режиме с экспозицией импульсов до 1 с.

Доставку ЛИ осуществляли по оптоволокну с диаметром 600 мкм.

3. Измеритель мощности излучения **Fieldmaster** фирмы **Coherent** (США).
4. Щелевая лампа **Xcel-400** фирмы **Reichert** (США).
5. Термопара **Physitemp IT-24P** (США).
6. Осциллограф **WaveJet 314** фирмы **LeCroy** (США).
7. Оптический когерентный томограф **RTVue-100** фирмы **Optovue** (США).

8. Навигационная офтальмологическая лазерная система **Navilas** фирмы **OD-OS** (Германия), позволяющая производить фоторегистрацию глазного дна.
9. Специально для проведения экспериментов в лаборатории лазерной оптоакустики ИППИТ РАН был разработан миниатюрный приемник акустической волны. Приемник **ПЛУ-12У-02** осуществляет прием ультразвуковых импульсов в частотном диапазоне 0,1 – 20 МГц. Приемник содержит: звуковод (материал оргстекло, диаметр 5 мм), широкополосную ПВДФ пьезопленку (толщина пленки 28 мкм), нагрузку (материал оргстекло) и усилитель электрического сигнала.
10. Трехзеркальная линза с вмонтированным в нее оптоакустическим датчиком, изготовленная в лаборатории лазерной оптоакустики ИППИТ РАН.

**Изучение зависимости амплитуды регистрируемого АИ от температуры ХРК аутопсийного человеческого глаза** производили на специально разработанной совместно с сотрудниками кафедры медицинской физики физического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова установке. Эксперимент проводили в следующей последовательности. Зондирующим лазером посылали серию импульсов, которые проходили через собирающую линзу и фокусировались на образце ХРК. В качестве модели глаза использовали специально разработанную кювету, размеры которой соответствовали размеру глаза человека. Импульсное лазерное облучение подводили через прозрачное окно в экспериментальной кювете. На заднюю стенку кюветы помещали фрагмент заднего отрезка донорского глаза диаметром 5 мм. Для регистрации АИ использовали оптоакустический датчик, описанный выше. Кювету заполняли физиологическим раствором. На дне кюветы был расположен терморегулятор, который использовали для поддержания постоянной температуры, при этом кювета была окружена слоем теплоизолирующего материала. Терморегулятор был также оснащен термопарой, которую помещали в кювету для контроля температуры. Сигнал

с датчика через усилитель подавали на осциллограф и записывали на ПК для дальнейшей обработки экспериментальных данных. С помощью устройства синхронизации достигали согласованности запуска импульсного лазера и записи АИ, регистрируемого датчиком.

Следующим этапом проводили **изучение зависимости формы регистрируемого АИ от температуры ХРК аутопсийного человеческого глаза.** В качестве исследуемых образцов использовали аутопсийные глаза человека. Образец заднего отрезка глаза диаметром 10 мм помещали в специальную кювету. Крышка кюветы имела входное окошко для заведения ЛИ, акустический приемник, регистрирующий сигнал с образца, и отверстие для манипуляций образцом и заведения термопары. После расположения образца кювету заполняли физиологическим раствором. Последний служил средой для распространения сигнала к приёмнику и был выбран из-за сходства акустических свойств с исследуемыми тканями глаза. Таким образом, вся система объект-кювета моделировала физиологические условия. Схема экспериментальной установки изображена на Рис.1.

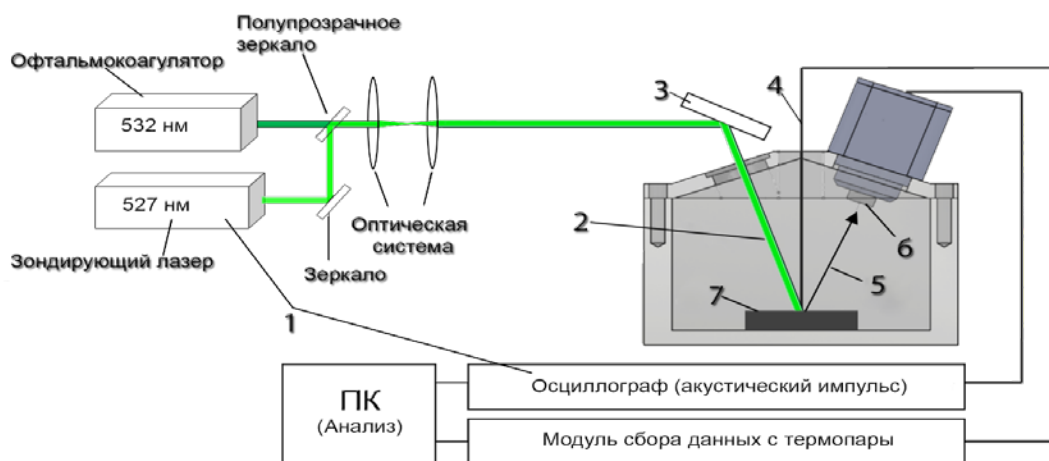


Рис.1. Принципиальная схема экспериментальной установки, разработанной совместно с кафедрой медицинской физики Физического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова. 1 - синхронизирующий сигнал, 2 - лазерное излучение, 3 - зеркало, 4 - термопара с чувствительным элементом, погруженным в исследуемый образец, 5 - направление акустического импульса, регистрируемого приемником, 6 - приемник, 7 - исследуемый образец.

Основными элементами установки являлись зондирующий лазер, офтальмокоагулятор, щелевая лампа, кювета с акустическим приёмником, в которой располагался образец тканей глазного дна, и термопара. Для

определения коэффициента поглощения использовали импульсное излучение зондирующего лазера, которое заводили через прозрачное окно в экспериментальной кювете. Блок управления зондирующим лазером одновременно запускал одиночный лазерный импульс из излучателя и подавал синхронизирующий сигнал на осциллограф. Этот сигнал служил началом записи АИ с приемника. Сгенерированный лазерный импульс, проходя через систему доставки, попадал в выбранную точку на исследуемом образце. Попадание одиночного импульса генерировало акустическую волну, которая распространялась от образца во все стороны, в том числе и к акустическому приемнику, который её регистрировал. Сигнал с приемника фиксировали осциллографом. Форма этого сигнала служила для определения коэффициента оптического поглощения света с длиной волны зондирующего лазера — 0,527 мкм. После получения АИ, в ту же самую точку, в которую попадал зондирующий лазер, направляли импульс офтальмокоагулятора с заранее заданными параметрами — временем экспозиции и мощностью излучения. Для определения степени теплового воздействия ЛИ на структуры ХРК использовали метод прямого измерения температуры в точке коагуляции с помощью термопары, чувствительный элемент которой располагался в непосредственной близости. Термопара производила измерения во время действия зондирующего лазера и некоторое время после окончания импульса офтальмокоагулятора. Сигнал с термопары подавали на модуль сбора данных, и далее на ПК для последующей обработки. Взаимное расположение термопары и места попадания лазера (которое определялось с помощью пилотного лазерного излучения), фиксировали через окуляры щелевой лампы. Нас интересовали показания термопары при различной удаленности от нагреваемой лазером области. Полученные значения температуры, измеренной в эксперименте, сравнивали с расчетными значениями, определяемыми из цифровой модели.

Для определения степени воздействия ЛИ на сетчатку использовали программу для цифрового моделирования температурного поля в

процессе нагрева ХРК глаза лазером, которая основана на решении уравнения теплопроводности в трехслойной среде, состоящей из РПЭ, хориоидеи и стекловидного тела. Распределение температуры в сетчатке рассчитывали в трехмерной геометрии в процессе нагрева и остывания при различной мощности и длительности лазерного импульса. Модель ХРК глаза, используемая при численном моделировании уравнения теплопроводности представлена на Рис.2.

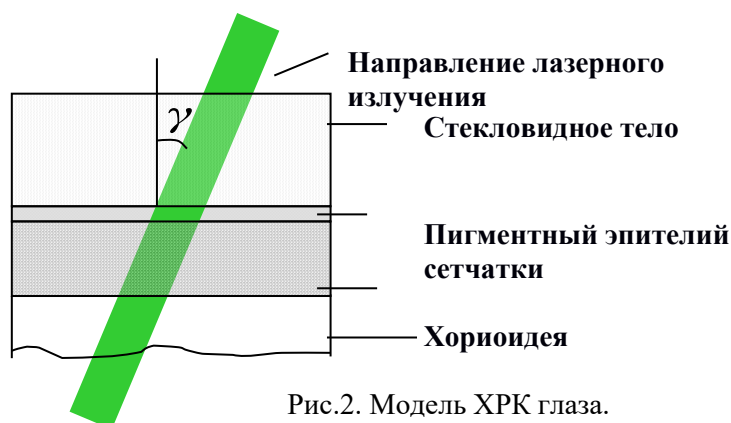


Рис.2. Модель ХРК глаза.

Единственным источником тепла служит объем, высекаемый лазерным лучом из слоев хориоидеи и РПЭ. Областью рассмотрения является параллелепипед со сторонами  $[0 \dots L_x=3000 \text{ мкм}, 0 \dots L_y=2000 \text{ мкм}, 0 \dots L_z=600 \text{ мкм}]$ . Задача определения температурного поля с заданными источниками тепла — задача теплопроводности. Граничные условия определяют как изменение температуры, равное нулю, т.к. граничные области расположены достаточно далеко, и до них не доходит температурный фронт. Начальное условие — изменение температуры, равное нулю, так как до начала воздействия офтальмокоагулятора все точки исследуемого образца имели одинаковую температуру. Таким образом, конечная задача выглядит следующим образом:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial T}{\partial t} = \chi \Delta T + F(x, y, z, t), \\ T|_{x=0, y=0, z=0, x=L_x, y=L_y, z=L_z} = 0, \\ T|_{t=0} = 0. \end{array} \right.$$

где функция неоднородности

$$F = f_0(t) * \exp\left(\frac{-\alpha(z - z_c)}{\cos \gamma}\right) * \exp\left(\frac{-((x - x_c) - (z - z_c) \operatorname{tg} \gamma)^2 \cos^2 \gamma - (y - y_c)^2}{ar_0^2}\right) * \cos \gamma$$

здесь  $f_0(t) = \alpha I_0 / \rho C$  – временная зависимость, показывающая включен лазер или нет,  $\rho=993$  кг/м<sup>3</sup>,  $C=4180$  Дж/(кг<sup>0</sup>С),  $\chi=1.52 \cdot 10^{-7}$  м<sup>2</sup>/с, первая экспонента описывает Бугеровский закон затухания излучения в поглощающей среде, а остальная часть — геометрию области поглощения лазера, обусловленную падением пучка под углом  $\gamma$ ;  $(x_c, y_c, z_c)$  – координаты центра пятна на границе РПЭ-стекловидное тело,  $I_0$  – интенсивность, задаваемая на офтальмокоагуляторе,  $\alpha$  – оптический коэффициент поглощения, определяемый из акустического профиля. При этом  $T(x, y, z, t)$  – это отклонение от начального значения температуры в точке  $(x, y, z)$  в момент времени  $t$ .

Описанная модель позволяет рассчитывать температурное поле, создаваемое в процессе нагрева ХРК глаза непрерывным ЛИ. В качестве результата возможно получить полное пространственное распределение температуры в любой момент времени. Расчет результатов для заданных параметров производили численно с помощью метода Галёркина.

**Определение температурного поля при ЛК ХРК с помощью оптоакустики в эксперименте *in vivo*.** Эксперимент проводили на 4 кроликах (8 глаз) породы шиншилла серый обоих полов массой 2,0 – 2,5 кг, под наркозом («Золетил 100» в/м) после максимального расширения зрачка (1,0% раствор мидриацила и 2,5% раствор ирифрина). ЛИ на глазном дне кроликов фокусировали с помощью контактной трехзеркальной линзы с оптоакустическим датчиком. Коагуляты наносили книзу от миелиновых волокон в виде 2 рядов с расстоянием между ними в 1-2 диаметра коагулята. Верхний ряд – 4 коагулята разной степени интенсивности: субпороговый, 1, 2 и 3 степени по классификации L' Esperance, параметры ЛИ: экспозиция 0,2 с, мощность – 30 мВт, 60 мВт, 120 мВт и 150 мВт соответственно. Нижний ряд – цепочка из 4 коагулятов, нанесенных ЛИ с одинаковыми параметрами.

После проведения коагуляции зону воздействия отграничивали метками в виде нескольких коагулятов 4 степени интенсивности. В каждом случае перед нанесением основного коагулята в этой точке измеряли АИ и вычисляли коэффициент поглощения РПЭ.

Получаемый АИ с пьезоэлектрического датчика, закрепленного на трехзеркальной линзе, отличался от АИ, получаемого в эксперименте *in vitro* в кювете. Поскольку он постоянно изменял свою форму, что вероятно связано с многократным отражением оптоакустического сигнала от стенок глазного яблока, было принято решение использовать для вычисления коэффициента поглощения амплитуду первого пика АИ.

Коэффициент поглощения ЛИ вычисляли по формуле

$$a_{abs} = k * A$$

где  $a_{abs}$  – коэффициент поглощения в точке-мишени;  $A$  – амплитуда АИ,  $k$  – калибровочный коэффициент.

Мощность ЛИ для каждой точки-мишени выбирали по формуле:

$$N = \frac{C * T_{кон}}{[1 - e^{-k * a_{abs}}] * [1 - Q * e^{-r * t}]}$$

где  $N$  – мощность ЛИ для каждой точки мишени;  $T_{кон}$  – конечная температура, до которой хирург хочет нагреть слой РПЭ;  $C = 0,75$  мВт/°С – величина, характеризующая температурный отклик тканей глазного дна на излучение заданной мощности;  $a_{abs}$  – коэффициент поглощения в точке-мишени, вычисленный с помощью зондирующего импульса;  $k = 28$  мкм<sup>-1</sup>;  $r = 3.5$  с<sup>-1</sup>;  $Q = 0.465$ ;  $t$  – экспозиция коагулирующего излучения.

Фоторегистрацию проводили с помощью установки Navilas Navigated Laser, состояние ХРК после нанесения коагулятов оценивали визуально, с помощью оптической когерентной томографии на приборе Optovue-RTVue и



гистологически (сразу после проведения ЛК кроликов выводили из эксперимента). Фактически полученные данные сравнивали с разработанной математической моделью температурного распределения.

Полученные данные позволили разработать **технологиию оптоакустического контроля ЛК сетчатки в эксперименте in vivo**. Эксперимент был проведен на 8 глазах 4 кроликов породы шиншилла серый массой 2,0 – 2,5 кг, под наркозом («Золетил 100» в/м) после максимального расширения зрачка (1,0% раствор тропикамида и 2,5% раствор фенилэфрина). ЛИ на глазном дне кролика фокусировали с помощью контактной трехзеркальной линзы с вмонтированным в нее оптоакустическим приемником. Коагуляты наносили книзу от миелиновых волокон с расстоянием между ними в 1-2 диаметра коагулята. В установке (Рис.3) использовалось 2 лазера с максимально

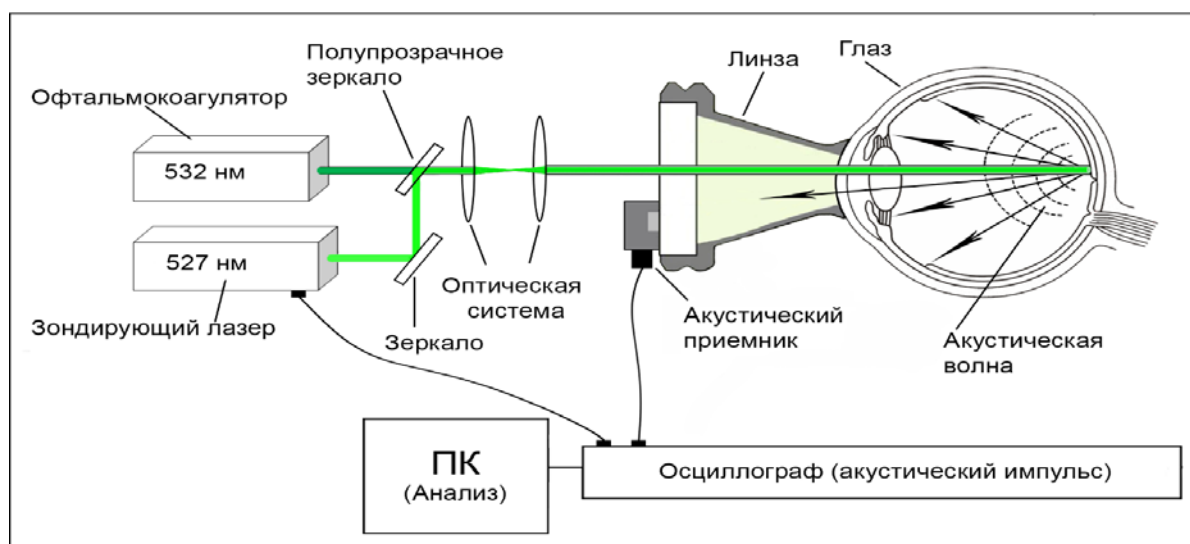


Рис.3. Схема лазерной установки для оптоакустического контроля ЛК сетчатки в эксперименте in vivo

приближенной длиной волны: офтальмокоагулятор, генерирующий непрерывное излучение, и зондирующий лазер, работающий в микроимпульсном режиме. Для определения коэффициента поглощения использовали импульсное излучение зондирующего лазера, которое генерировало акустическую волну в РПЭ. Волну регистрировали приемником, расположенным на трехзеркальной линзе. Сигнал с приемника фиксировали осциллографом. С осциллографа данные подавали на ПК и

анализировали. Амплитуда первого пика АИ служила для определения коэффициента оптического поглощения света с длиной волны зондирующего лазера — 0,527 мкм. В математической модели задавали конечный температурный результат, который было необходимо получить. Планировали получить по 50 коагулятов разной степени интенсивности по классификации L' Esperance (субпороговый, 1-й, 2-й, 3-й ст.), ориентируясь на температурное распределение. После быстрого анализа ПК выдавал данные мощности и экспозиции ЛИ для фактического получения желаемого результата на сетчатке. Коагуляты оценивали 3 лазерных хирурга независимо друг от друга. Результат засчитывали, если их мнение по поводу степени коагулята было единогласным.

### ***Результаты экспериментальных исследований и их обсуждение.***

#### **Результаты изучения зависимости амплитуды регистрируемого АИ от температуры ХРК аутопсийного человеческого глаза.**

Измерения проводили в диапазоне температур от 24°C до 42°C с шагом в 2°C. При проведении экспериментов по измерению температуры ХРК оптоакустическим методом, температуру кюветы не изменяли и поддерживали постоянной с точностью до 0,05°C. Таким образом, были получены зависимости амплитуды АИ, регистрируемого оптоакустическим датчиком, от температуры, измеренной термопарой, для 10 образцов ХРК. При контролируемом нагревании отмечали высокую положительную линейную корреляцию между амплитудой АИ и температурой нагрева, коэффициент корреляции составил 96%. Так же было доказано, что импульсное излучение само по себе не приводит к измеримому повышению температуры образца.

#### **Результаты изучения зависимости формы регистрируемого АИ от температуры ХРК аутопсийного человеческого глаза.**

Эксперимент проводили на 10 образцах тканей глазного дна человека, для каждого образца проводили измерения температурной зависимости при

наведении лазерного пучка в три различные точки относительно расположения термопары (так, чтобы каждая точка соответствовала различному расстоянию от термопары, а именно – один, два и три диаметра

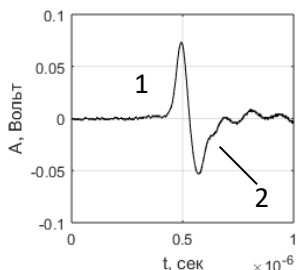


Рис.4. Пример определения коэффициента поглощения. 1 – акустический импульс, издаваемый точкой при использовании зондирующего лазера. 2 – область, определяющая коэффициент оптического поглощения.

лазерного пятна). Типичный вид используемого акустического профиля представлен на Рис.4.

Было проведено сравнение результатов измерения термопары с рассчитанными значениями температурного поля в точке расположения термопары (Рис.5).

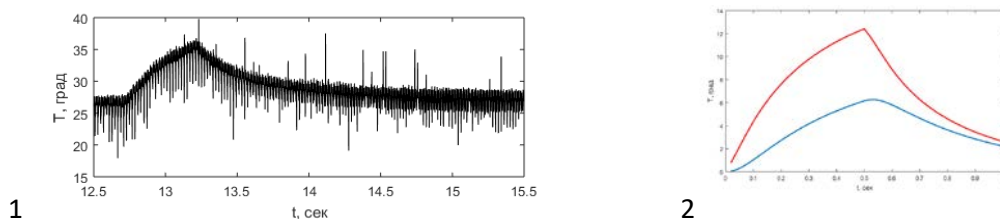


Рис.5. 1-Температурная зависимость, измеренная при нагревании образца терапевтическим лазером (Пример: Мощность 195 мВт, экспозиция 0.5 сек, расстояние до термопары 2 диаметра лазерного пятна). 2 – Теоретически рассчитанная температурная зависимость для тех же параметров. Две кривые ограничивают реальную зависимость, и определяются погрешностью определения положения термопары (Расчет кривых произведен согласно уравнениям математической модели для изменения температуры от начального равновесия).

Статистический анализ с использованием точного критерия Фишера показал, что различия в теоретически рассчитанной температуре и температуре, полученной в эксперименте, можно считать несущественными ( $p < 0,05$ ), что доказывает состоятельность разработанной математической модели температурного поля, создаваемого непрерывным ЛИ в ХРК. Для всех образцов полученные значения коэффициента оптического поглощения лежали в диапазоне 120-300 см<sup>-1</sup>, погрешность определения для каждого составила не более 10 %.

## **Результаты определения температурного поля при ЛК ХРК с помощью оптоакустики в эксперименте *in vivo*.**

Полученные данные температурного распределения позволили откалибровать математическую модель. Каждой степени коагулята по классификации L' Esperance соответствовал температурный коридор (Таблица 1).

Таблица 1.

Степень коагулята по классификации L' Esperance	Температура коагуляции	Количество коагулятов
Субпороговый	$\leq 53^{\circ}\text{C}$	12 (18,75%)
1 ст.	54 – 59 $^{\circ}\text{C}$	15 (23,4%)
2 ст.	60 – 63 $^{\circ}\text{C}$	20 (31,25%)
3 ст.	64 – 68 $^{\circ}\text{C}$	17 (26,6%)

Во всех случаях данные температурного распределения, визуальный контроль очага коагуляции, а также данные оптической когерентной томографии и гистологической картины согласовались между собой. Установлена высокая корреляция между коэффициентом оптического поглощения РПЭ и степенью повреждения ХРК при одинаковых параметрах ЛИ, коэффициент корреляции составил 98%.

## **Результаты сопоставления теоретически рассчитанных с помощью оптоакустического зондирования параметров ЛИ с практическими результатами коагуляции в эксперименте *in vivo*.**

Статистический анализ с использованием критерия согласия Пирсона  $\chi^2$  не выявил значимых отличий между теоретически рассчитанными параметрами лазерного воздействия и экспериментальными данными ( $p > 0,88$ ). Таким образом, проведенный на глазах кроликов эксперимент *in vivo* показывает, что при использовании значения амплитуды первого пика оптоакустического

сигнала для определения коэффициента поглощения РПЭ и расчета параметров лазерного воздействия можно добиваться прогнозируемых результатов и предотвращать возможные негативные последствия в виде побочных эффектов.

## **ВЫВОДЫ.**

1. Впервые на достаточном экспериментальном материале (20 аутопсийных глаз человека и 16 глаз кроликов породы шиншилла-серый) предложена принципиально новая технология оптоакустического контроля лазерной коагуляции тканей глазного дна, основанная на вычислении распределения температурного поля в пределах хориоретинального комплекса глаза и подборе параметров лазерного излучения посредством измерения локального коэффициента поглощения ретинального пигментного эпителия.
2. Технология оптоакустического контроля в онлайн-режиме обеспечивает возможность проведения прецизионной таргетной субпороговой лазеркоагуляции сетчатки, включая макулярную область.
3. В экспериментах, проведенных на образцах аутопсийных глаз человека *in vitro*, установлено:
  - a) отсутствие измеримого повышения температуры хориоретинального комплекса и наличие акустического импульса, регистрируемого пьезоэлектрическим приёмником, при воздействии импульсным излучением;
  - b) высокая прямая корреляционная связь между температурой нагрева хориоретинального комплекса и ростом амплитуды акустического импульса;
  - c) возможность достаточно точного определения коэффициента поглощения лазерного излучения, вычисленного из формы

акустического импульса, в любой точке хориоретинального комплекса и состоятельность разработанной цифровой модели температурного поля, создаваемого непрерывным лазерным излучением в хориоретинальном комплексе.

4. В экспериментах *in vivo* на глазах кролика установлено:

- a) необходимость использования амплитуды первого пика оптоакустического импульса для определения коэффициента поглощения лазерного излучения;
- b) высокая корреляционная связь между коэффициентом оптического поглощения, вычисляемым из амплитуды первого пика оптоакустического импульса, и степенью повреждения хориоретинального комплекса при одинаковых параметрах лазерного излучения.
- c) высокая корреляционная связь между амплитудой акустического импульса и повреждением ретинального пигментного эпителия при субпороговом воздействии.

5. Разработана оригинальная программа для цифрового моделирования температурного поля в процессе нагрева хориоретинального комплекса глаза непрерывным лазерным излучением на длине волны 0,532 мкм. В экспериментах *in vivo* на глазах кролика для каждой степени коагулята по классификации L' Esperance определен температурный коридор: субпороговый уровень  $\leq 53^{\circ}\text{C}$ , 54 – 59, 60 – 63, 64 – 68 $^{\circ}\text{C}$  для 1-й, 2-й и 3-й степени соответственно.

6. Создана и апробирована действующая модель миниатюрного дистантного акустического приёмника для термометрического контроля лазеркоагуляции сетчатки.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.**

В представленных исследованиях была разработана новая технология оптоакустического контроля лазеркоагуляции сетчатки, основанная на теоретическом расчете дозы лазерного воздействия по измеренному локальному коэффициенту поглощения, которая может быть клинически апробирована в дальнейшем.

### **Общая характеристика разработанного протокола оптоакустического контроля ЛК сетчатки:**

1. В установке используют 2 лазера с максимально приближенной длиной волны: офтальмокоагулятор, генерирующий непрерывное излучение на длине волны 0,532 мкм, и зондирующий лазер, работающий в микроимпульсном режиме с излучением на длине волны 0,527 мкм.
2. Для определения коэффициента поглощения используют импульсное излучение зондирующего лазера, которое генерирует АИ в РПЭ.
3. АИ регистрируют приемником, встроенным в трехзеркальную линзу, помещаемую на роговицу глаза. Сигнал с приемника фиксируют осциллографом.
4. С осциллографа данные подают на ПК и анализируют. Амплитуда первого пика АИ служит для определения коэффициента оптического поглощения РПЭ.
5. В программе для цифрового моделирования температурного поля задают конечный результат, который необходимо получить.
6. Данные коэффициента поглощения подставляют в цифровую модель, и ПК выдает необходимые параметры ЛИ.
7. Далее в ту же точку, на которую воздействовали зондирующим лазером, посылают импульс офтальмокоагулятора с заданными параметрами излучения.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Большунов А.В., **Ардамакова А.В.**, Ларичев А.В., Лыткин А.П., Сипливый В.И., Шмелева С.М. Оптико-акустический мониторинг хориоретинального комплекса при лазерной коагуляции тканей глазного дна. // **Вестник офтальмологии – 2016. – 132(6). – с. 36-42;**
2. **Ардамакова А. В.**, Большунов А. В., Ильина Т. С., Федорук Н. А., Сипливый В. И. Транспупиллярная лазерная фотокоагуляция тканей глазного дна: прошлое, настоящее и будущее. // **Вестник офтальмологии – 2017. – 133(1). – с. 81-87;**
3. Lytkin A., Larichev A., Shmeleva S., Simonova V., Sipliviy V., **Ardamakova A.**, Bolshunov A. Method of temperature control during photocoagulation using optoacoustic technique. // Сборник материалов Proceedings of 8th European Meeting on Visual and Physiological Optics, Antwerp, Belgium, 2016, с. 106-108;
4. Lytkin A., Larichev A., Shmeleva S., Simonova V., Sipliviy V., Bolshunov A., **Ardamakova A.** Laser impact monitoring during photocoagulation using optoacoustic technique. // Сборник материалов Proceedings of the International Conference on Coherent and Nonlinear Optics (ICONO 2016) / The Lasers, Applications, and Technologies Conference (LAT 2016) ICONO/LAT 2016, Минск, Беларусь, 2016, с.102 - 103;
5. **Ардамакова А.В.**, Ларичев А.В., Лыткин А.П., Симонова В.А., Сипливый В.И., Федорук Н.А. Технология оптоакустического контроля лазерного воздействия на сетчатку. // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Новые технологии в офтальмологии», Казань, Россия, 2018, с. 16-18;
6. **Ардамакова А. В.**, Лыткин А. П., Федорук Н. А., Сипливый В. И., Ларичев А. В. Определение температурного поля при лазеркоагуляции хориоретинального комплекса с помощью оптоакустики в эксперименте *in vitro*. // **Сибирский научный медицинский журнал. – 2018. – №4 (38). – с. 44-48;**
7. Федорук Н. А., **Ардамакова А. В.**, Лыткин А. П. Оптоакустический контроль лазеркоагуляции сетчатки в эксперименте *in vivo*. // **Уральский медицинский журнал. Стоматология. – 2018. - №6 (161). – с.141-144.**

## СПИСОК ПРИМЕНЕННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АИ – акустический импульс	ЛИ – лазерное излучение
ЛК – лазеркоагуляция	МРТ – магнитно-резонансная томография
ПК – персональный компьютер	РПЭ – ретинальный пигментный эпителий
ПВДФ – поливинилиденфторид	ХРК – хориоретинальный комплекс