

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ФИЗИКИ ТВЕРДОГО ТЕЛА ИМЕНИ Ю.А. ОСИПЬЯНА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИФТТ РАН)

На правах рукописи

Зотов Арсен Каренович

**ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ МОНИТОРИНГА КРИОДЕСТРУКЦИИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
САПФИРОВЫХ КРИОАППЛИКАТОРОВ**

Специальность 1.3.8 – Физика конденсированного состояния

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
кандидат технических наук
Долганова Ирина Николаевна

Черноголовка 2026

Оглавление

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	17
1.1 Актуальность применения методов криовоздействия.....	17
1.2 Требования к материалам для криоинструментов на основе механизмов и факторов повреждения тканей при криодеструкции.....	19
1.2.1 Прямые механизмы клеточного повреждения	19
1.2.2 Косвенные механизмы повреждения тканей.....	21
1.2.3 Стратегии повышения эффективности криодеструкции	21
1.2.4 Факторы, влияющие на клеточное повреждение.....	22
1.2.5 Требования к материалам для криохирургических инструментов	23
1.3 Классификация криоаппликаторов.....	24
1.4 Анализ свойств сапфира как материала для криоаппликаторов	28
1.4.1 Теплофизические свойства.....	28
1.4.2 Механические и химические свойства	30
1.4.3 Биосовместимость.....	31
1.4.4 Оптические свойства	31
1.4.5 Перспективность сапфировых криоинструментов	32
1.5 Анализ существующих методов мониторинга процесса криодеструкции ...	34
1.5.1 Термометрия	35
1.5.2 Ультразвуковой мониторинг.....	36
1.5.3 Оптоакустический метод температурной визуализации и мониторинга	38
1.5.4 Магнитно-резонансная томография и компьютерная томография	41
1.5.5 Методы компьютерного моделирования.....	42

1.5.6 Недостатки существующих методов мониторинга.....	44
1.6 Перспективные методы мониторинга процесса криодеструкции.....	45
1.6.1 Анализ интенсивности диффузного рассеяния излучения	45
1.6.2 Терагерцовая импульсная спектроскопия.....	47
Выводы по 1 главе	49
 ГЛАВА 2. ВЫРАЩИВАНИЕ ПРОФИЛИРОВАННЫХ КРИСТАЛЛОВ САПФИРА ДЛЯ КРИОАППЛИКАТОРОВ.....	52
2.1 Метод Edge-defined Film-fed Growth	53
2.2 Метод некапиллярного формообразования	59
2.2.1 Выращивание монокристаллов сапфира.....	59
2.2.2 Выращивание кристаллов сапфира переменного сечения.....	62
Выводы по 2-й главе.....	71
 ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ФАНТОМОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ САПФИРОВЫХ И МЕТАЛЛИЧЕСКИХ КРИОАППЛИКАТОРОВ.....	72
3.1 Экспериментальное сравнение температурных зависимостей фантомов биологической ткани при использовании полых и монокристаллических аппликаторов.....	73
3.1.1 Описание эксперимента	73
3.1.2 Результаты эксперимента	75
3.2 Экспериментальное сравнение температуры фантомов биологической ткани при использовании полых и монокристаллических аппликаторов	78
3.2.1 Описание эксперимента.....	78

3.2.2 Результаты эксперимента	81
Выводы по 3 главе	83
 ГЛАВА 4. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ МОНИТОРИНГА ПРОЦЕССА КРИОДЕСТРУКЦИИ.....	84
4.1 Метод мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа диффузно рассеянного излучения	84
4.1.1 Разработка математической модели диффузного рассеяния излучения в среде в процессе формирования ледяного слоя	84
4.1.2 Оценка толщины ледяного слоя в процессе криодеструкции на основе анализа диффузно рассеянного излучения	91
4.1.3 Сапфировый криоаппликатор с возможностью оптического мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа диффузного рассеяния в частотной области	95
4.1.4 Экспериментальная апробация метода мониторинга и сапфирового криоаппликатора (анализ в частотной области).....	97
4.1.5 Сапфировый криоаппликатор с возможностью оптического мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа диффузного рассеяния в стационарном режиме.....	100
4.1.5 Экспериментальная апробация метода мониторинга и сапфирового криоаппликатора (анализ в стационарном режиме)	102
4.2 Метод восстановления оптических и структурных свойств среды на основе терагерцовой импульсной спектроскопии	109
4.2.1 Экспериментальная установка для исследования возможности мониторинга криодеструкции среды на основе ТГц импульсной спектроскопии	110
4.2.2 Метод восстановления диэлектрических и структурных свойств среды с помощью ТГц импульсной спектроскопии	113

4.2.3 Апробация метода мониторинга процесса криодеструкции на основе ТГц импульсной спектроскопии	114
Выводы по 4й главе	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	123

Введение

Актуальность. Достижения в области физики и материаловедения играют ключевую роль в современной медицине, способствуя созданию инновационных методов и инструментов для воздействия на биологические ткани. Эти разработки открывают новые возможности для решения клинических и исследовательских задач, включая терапию, хирургию и диагностику. Одним из перспективных направлений, основанных на междисциплинарном подходе, является криохирургия. В ее основе лежит использование экстремально низких температур для направленного разрушения патологических тканей в процессе формирования ледяного слоя, что обеспечивает лечебный эффект. Метод криодеструкции, подразумевающий контролируемое замораживание тканей, активно применяется для удаления новообразований различной этиологии. Широкое внедрение криодеструкции в клиническую практику обусловлено ее преимуществами: минимальной инвазивностью, гемостатическим действием, сокращением реабилитационного периода, стимуляцией иммунного ответа, а также снижением риска интраоперационных осложнений [1–3].

Криодеструкция обладает широким спектром лечебных эффектов, включая эффективное разрушение опухолевых структур, стимуляцию регенерации тканей, активацию местного иммунитета, а также обезболивающее, противовоспалительное и кровоостанавливающее действие [2, 4]. Механизмы криодеструкции основаны на формировании внутри- и внеклеточных кристаллов льда, вызывающих механическое повреждение клеточных мембран, ишемию и апоптоз клеток вследствие разрушения микроциркуляторного русла. Для достижения максимальной эффективности критически важны скорость охлаждения и поддержание температуры ниже порога крионекроза (обычно -40°C и ниже), что требует разработки специализированной криоаппаратуры.

Ключевым элементом криохирургических систем являются криоапликаторы, которые должны соответствовать требованиям биосовместимости, химической инертности, высокой теплопроводности при криогенных температурах и устойчивости к методам стерилизации.

Традиционные металлические инструменты (медь, латунь, никелид титана) при их использовании в криохирургии сталкиваются с некоторыми ограничениями, такими как неоднородность теплового поля, сложность интеграции систем мониторинга, риски неполного разрушения зоны патологии или повреждения здоровых тканей [1, 2, 5–7]. Решением этих проблем может стать использование кристаллов сапфира (Al_2O_3), обладающих уникальным сочетанием физико-химических свойств. Сапфир имеет высокую механическую прочность и твердость (9 по шкале Мооса), высокую теплопроводность (35–40 Вт/(м·К) при -196°C , превосходящую большинство металлов, а также исключительную химическую инертность к биологическим средам и устойчивость к деградации поверхности. Его биосовместимость подтверждена стандартами ISO 10993, а оптическая прозрачность в широком спектральном диапазоне (0,15–5,5 мкм и терагерцовая (ТГц) область) позволяет совмещать криовоздействие с лазерным нагревом, флуоресцентной экспресс-диагностикой, фотодинамической терапией и визуализацией зоны деструкции в реальном времени [8, 9].

Несмотря на многочисленные преимущества, криодеструкция имеет недостатки, которые могут ограничивать ее эффективность и безопасность. Из-за существенной вариабельности теплофизических и химических параметров живых тканей и влияния внешней среды процесс формирования ледяного слоя является слабо предсказуемым и контролируемым. Скорость увеличения ледяного слоя и его объем изменяются в значительных пределах. В свою очередь, это ведет к риску повреждения окружающих здоровых тканей либо к неполному воздействию на интересующую область. Поэтому возникает необходимость мониторинга процесса криодеструкции, заключающегося в точном определении положения границы ледяного слоя.

Современные методы мониторинга основаны на неинвазивном измерении различных физических параметров объекта или отклика на разные виды физического воздействия. Среди них наиболее распространены ультразвуковая визуализация (УЗИ) [10–13], магнитно-резонансная томография (МРТ) [14–16] и компьютерная томография (КТ) [17–20], а также термометрия [21, 22]. Однако

они имеют свои ограничения: высокая стоимость, сложность интеграции в хирургический процесс или недостаточная точность. Перспективным методом слежения за процессом криовоздействия является оптоакустический мониторинг [23, 24], основанный на регистрации температурно-зависимых импульсов акустического давления, вызванных воздействием на ткани коротких световых импульсов. Этот метод позволяет обнаруживать ледяной фронт с точностью до 4 мм и визуализировать температурную картину продольных срезов ткани в процессе криовоздействия с погрешностью менее 2°C [25]. Однако на данной стадии разработки обладает достаточно большой погрешностью измерений и дает возможность анализировать лишь срезы биотканей *in vitro*. Поэтому поиск и создание новых методов мониторинга остается в настоящее время актуальной задачей.

Помимо вышеперечисленных методов особое внимание стоит уделить оптическим методам, которые, при использовании сапфира в качестве материала криоаппликатора, могут быть интегрированы в конструкцию криохирургической системы, что соответствует современным тенденциям использования многофункциональных и компактных медицинских устройств в клинической практике. В основе таких методов лежит измерение оптического отклика на зондируемое излучение и решение обратной задачи, заключающейся в оценке параметров ледяного слоя на основе результатов измерения.

При формировании ледяного слоя изменяются рассеивающие и диэлектрические параметры среды, формируя контраст на границе раздела ледяной слой – окружающие ткани. Для измерения этих параметров могут быть использованы различные методы: оптическая когерентная томография, ИК-Фурье и ТГц спектроскопия, анализ диффузного рассеяния. Поскольку ТГц спектроскопия обладает высокой чувствительностью к изменению коэффициента поглощения тканей, а анализ диффузного рассеяния обеспечивает большую глубину зондирования тканей, они представляются перспективными для создания на их основе методов мониторинга процесса криодеструкции.

В связи с этим тема диссертационной работы, посвященная разработке оптических методов мониторинга криодеструкции и реализующих эти методы сапфировых криоаппликаторов, представляется актуальной в научном плане и практически значимой.

Целью работы разработка оптических методов мониторинга формирования ледяного слоя в биологических тканях в процессе криодеструкции с использованием сапфировых криоаппликаторов.

Для достижения данной цели были решены следующие **задачи**:

- Выращивание профилированных кристаллов сапфира для создания криоаппликаторов контактного типа, в том числе с возможностью оптического мониторинга процесса криодеструкции.
- Экспериментальное сравнение временной зависимости температуры фантомов биологических тканей при использовании сапфировых и металлических криоаппликаторов.
- Разработка на основе теории диффузии оптического излучения математической модели взаимодействия излучения с рассеивающей средой при контакте с ней сапфировых криоаппликаторов.
- Разработка сапфирового криоаппликатора с возможностью мониторинга процесса криодеструкции с помощью анализа интенсивности диффузного рассеяния.
- Разработка и экспериментальная апробация методов мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа интенсивности диффузного рассеяния и ТГц импульсной спектроскопии с помощью сапфировых криоаппликаторов и оснастки.

Научная новизна:

- Предложена новая математическая модель, описывающая диффузно рассеянное излучение в среде в процессе формирования в ней ледяного слоя. На ее основе разработан новый метод мониторинга процесса криодеструкции с помощью сапфировых криоаппликаторов.

- Разработан новый метод мониторинга процесса криодеструкции биологических сред с помощью ТГц импульсной спектроскопии.
- Впервые экспериментально изучены сравнительные временные зависимости температуры фантомов биологических тканей при криодеструкции сапфировыми и металлическими криоаппликаторами, количественно оценивающие эффективность охлаждения.

Практическая значимость работы:

Разработанные сапфировые криоаппликаторы и новые методы оптического мониторинга криодеструкции могут быть использованы в практической криохирургии для повышения ее безопасности, позволяя оценивать толщину формируемого ледяного слоя до 8 мм без использования дополнительных датчиков и методов визуализации.

Экспериментально продемонстрированы практические преимущества использования сапфировых криоаппликаторов по сравнению с металлическими. Продemonстрировано достижение более низких температур, более высоких скоростей охлаждения биологической ткани и получения большего объема замороженной ткани в процессе криодеструкции.

Получены выражения для программного изменения весового сигнала в процессе формирования переходной трубчато-монолитной зоны полого сапфирового криоаппликатора при использовании метода некапиллярного формообразования. Это позволяет выращивать полые кристаллы различного диаметра и геометрии дна полости, предотвращая образование газовых включений. Спектр применения таких кристаллов не ограничивается рассматриваемой в диссертации областью.

Методы исследований. При выполнении работы применялись методы теории переноса излучения, теории диффузии оптического излучения в рассеивающих средах, ТГц импульсной спектроскопии, термометрии, методы выращивания профилированных кристаллов.

Достоверность результатов диссертации обеспечивается подготовкой и проработкой методик проведения натурных экспериментов,

воспроизводимостью экспериментальных данных, адекватным сравнением результатов эксперимента с данными контрольных измерений, осуществляемых с помощью микроскопии, визуализации и гистологического исследования образцов.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Разработанные и изготовленные криоаппликаторы на основе профилированных кристаллов сапфира позволяют осуществлять оптический мониторинг процесса формирования ледяного слоя в процессе криодеструкции.
- Получены значения температуры и объема ледяного слоя в модельных средах при использовании металлических и сапфировых криоаппликаторов, демонстрирующие способность последних увеличивать скорость и объем формируемого ледяного слоя.
- Разработанный метод мониторинга процесса криодеструкции с помощью сапфировых криоаппликаторов и анализа диффузно рассеянного излучения позволяет восстанавливать толщину ледяного слоя до 8 мм.
- Разработанный метод мониторинга процесса криодеструкции с помощью ТГц импульсной спектроскопии позволяет восстанавливать толщину ледяного слоя на малой глубине до 650 мкм.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.3.8. «Физика конденсированного состояния» (отрасль науки – физико-математические) по п. 6. Разработка экспериментальных методов изучения физических свойств и создание физических основ промышленной технологии получения материалов с определенными свойствами.

Личный вклад

Все результаты, представленные в диссертационной работе, получены лично автором либо при его непосредственном участии. Автор участвовал в постановке задач, разработке конструкций сапфировых криоаппликаторов, разработке экспериментальных методов измерения и анализа оптического диффузного и ТГц откликов от образцов рассеивающих сред при формировании

в них ледяного слоя. Автором лично проведены все экспериментальные исследования по изучению эффективности сапфировых криоаппликаторов и влияния их теплофизических параметров и формы на скорость и объем формирования ледяного слоя, исследования по апробации разработанных методов, включая разработку алгоритмов мониторинга и обработку экспериментальных данных.

Апробация работы:

Результаты диссертации докладывались и обсуждались на следующих российских и международных научных мероприятиях:

- **Zotov, A.K.** Sapphire shaped crystals for optically controlled cryodestruction of biological tissue/**A.K. Zotov**, I.N. Dolganova, I.A. Shikunova, A.A. Kuznetsov, K.I. Zaytsev, V.N. Kurlov//Saratov Fall Meeting 2019 (SFM'19), 23-27 сентября 2019, Саратов, Россия;
- **Zotov, A.K.** Optically-controlled cryodestruction of biological tissues using sapphire applicators/**A.K. Zotov**, I.N. Dolganova, I.A. Shikunova, N.A. Naumova, L.P. Safonova, P.V. Aleksandrova, V.N. Kurlov//Saratov Fall Meeting 2020 (SFM'20), 29 сентября – 2 октября 2020, Саратов, Россия;
- **Zotov, A.K.** Control of the ice ball formation during tissue cryosurgery using sapphire shaped crystals/**A.K. Zotov**, I.N. Dolganova, I.A. Shikunova, N.A., L.P. Safonova, V.N. Kurlov//Saratov Fall Meeting 2021 (SFM'21), 27 сентября – 1 октября 2021, Саратов, Россия;
- **Zotov, A.K.** Control of the ice ball formation during tissue cryosurgery using sapphire shaped crystals/**A.K. Zotov**, I.N. Dolganova, I.A. Shikunova, N.A., L.P. Safonova, V.N. Kurlov//Saratov Fall Meeting 2022 (SFM'22), 26–30 сентября 2022, Саратов, Россия;
- **Zotov, A.K.** Ice ball formation monitoring during tissue cryoablation using sapphire shaped crystals/**A.K. Zotov**, I.N. Dolganova, I.A. Shikunova, V.N. Kurlov//Saratov Fall Meeting 2023 (SFM'23), 25–29 сентября 2023, Саратов, Россия;

- **Zotov, A.K.** Optical diagnosis of tissue freezing depth in cryosurgery using the sapphire cryoprobes/**A.K. Zotov**, Zaytsev K.I, V.N. Kurlov, I.N. Dolganova //Saratov Fall Meeting 2024 (SFM'21), 23–27 сентября 2024, Саратов, Россия
- Dolganova I.N. Sapphire-based medical instruments for diagnosis, surgery and therapy/ I.N. Dolganova, G.M. Katyba, I.A. Shikunova, **A.K. Zotov**, P. V. Aleksandrova, N.A. Naumova, M.A. Shchedrina, K.I. Zaytsev, V.V. Tuchin, V.N. Kurlov // SPIE Photonics Europe Digital Forum 2020, 29 марта – 2 апреля 2020, Страсбург, Франция;
- **Zotov, A.K.** Optically-controlled measurements of cryodestruction of biological tissues using sapphire shaped crystals/ **A.K. Zotov**, I.N. Dolganovaa, I.A. Shikunovaa, K.I. Zaytsev, V.N. Kurlova//19th International Conference Laser Optics 2020 (ICLO'20), 2–6 ноября 2020, Санкт-Петербург, Россия;
- **Zotov, A.K.** Monitoring of the ice ball formation in biological tissues during cryoablation using sapphire-shaped crystals/ **A.K. Zotov**, I.N. Dolganova, K.I, Zaytsev, L.P. Safonova, I.A. Shikunova, N.A., V.N. Kurlov //SPIE Optics+Photonics 2021, 23–27 августа 2021, Сан Диего, США;
- **Zotov, A.K.** Monitoring of the Ice Ball Formation During Tissue Cryosurgery Using Sapphire Shaped Crystals/**A.K. Zotov** , I.N. Dolganova, K.I. Zaytsev, I.A Shikunova, L.P. Safonova, V.N. Kurlov //Advanced Laser Technologies (ALT'22), 11–16 сентября 2022, Москва, Россия;
- **Катыба, Г.М.** Приборы и инструменты на основе профилированных кристаллов сапфира для ТГц эндоскопии и медицинских приложений" авторов/ Г.М. Катыба, А.С. Кучерявенко, А.В. Каледин, **А.К. Зотов**, И.Н. Долганова, К.И. Зайцев, В.Н. Курлов//17-я Международная конференция “Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации” (ARMIMP-2024), 23–26 сентября 2024, Суздаль, Россия;
- Katyba, G.M. Sapphire THz waveguides for sensing and endoscopy applications / G.M. Katyba, S.P. Lebedev, A.S. Kucheryavenko, I.N. Dolganova, A.V. Kaledin, **A.K. Zotov**, M.G. Burdanova, K.I. Zaytsev, V.N. Kurlov // 21st

International Conference Laser Optics (ICLO 2024), 1–5 июля 2024, Санкт-Петербург, Россия;

- Dolganova I.N. Application of NIR microsecond laser pulses for tissue coagulation and resection. Current results and perspectives/ I.N. Dolganova, **A.K. Zotov**, P.V. Aleksandrova, A.I. Alekseeva, E.V. Yakovlev, K.I. Zaytsev, D.G. Kichiev, V.N. Kurlov //18th International Conference on Laser Applications in Life Sciences 2024 (LALS'24), 11–14 октября, 2024, Мюгла, Турция.

Публикации. По результатам диссертации опубликованы 9 научных статей, представленных в научных изданиях, включенных в перечень изданий рекомендованных ВАК РФ, получен один патент РФ.

Научные статьи в ведущих рецензируемых журналах, входящих в перечень изданий рекомендованных ВАК:

1. Dolganova, I. N. Manufacturing of Sapphire Crystals with Variable Shapes for Cryosurgical Applications / I. N. Dolganova, **A. K. Zotov**, S. N. Rossolenko [et al.] // Crystals. – 2024. – Vol. 14. – Iss.4. – P. 346.
2. Dolganova, I. N. Proof of concept for the sapphire scalpel combining tissue dissection and optical diagnosis / I. N. Dolganova, D. A. Varvina, I. A. Shikunova, A. I. Alekseeva, P. A. Karalkin, M. R. Kuznetsov, P. V. Nikitin, **A. K. Zotov**, E. E. Mukhina, G. M. Katyba, K. I. Zaytsev, V. V. Tuchin, V. N. Kurlov. // Lasers in surgery and medicine. – 2022. – Vol. 54. – Iss. 4. – P. 611–622.
3. Pushkarev, A.V. Comparison of Probe Materials for Tissue Cryoablation: Operational Properties of Metal and Sapphire Cryoprobes / A. V. Pushkarev, S. S. Ryabikin, D. I. Tsiganov, **A. K. Zotov**, V. N. Kurlov, I. N. Dolganova. // Journal of Biomedical Photonics and Engineering. – 2022. – Vol. 8. – Iss. 4. – P. 40501.
4. Dolganova, I. N. Feasibility test of a sapphire cryoprobe with optical monitoring of tissue freezing / I. N. Dolganova, **A. K. Zotov**, L. P. Safonova [et al.]. // Journal of Biophotonics. – 2023. – Vol. 16. – Iss. 3. P. e202200288.

5. Долганова, И. Н. Определение эффективных рассеивающих свойств среды в процессе криодеструкции с помощью сапфирового криоаппликатора / И. Н. Долганова, **А. К. Зотов**, Л. П. Сафонова [и др.]. // Оптика и спектроскопия. – 2023. – Т. 131. – № 6. – С. 782–786;
6. **Zotov, A. K.** Optical Sensing of Tissue Freezing Depth by Sapphire Cryo-Applicator and Steady-State Diffuse Reflectance Analysis / **A. K. Zotov**, A. V. Pushkarev, A. I. Alekseeva [et al.]. // Sensors. – 2024. – Vol. 24. – Iss. 11. P. 3655.
7. Platonova, A. A. Feasibility of Monitoring Tissue Properties During Microcirculation Disorder Using a Compact Fiber-Based Probe With Sapphire Tip / A. A. Platonova, P. V. Aleksandrova, A. I. Alekseeva, S. P. Kudryavtseva, **A. K. Zotov**, K. I. Zaytsev, K. B. Dolganov, I. V. Reshetov, V. N. Kurlov, I. N. Dolganova. // Journal of Biophotonics. – 2024. – Vol. 17. – Iss. 11. – P. e202400368.
8. Pushkarev, A.V. Thermal analysis of frozen region using sapphire cryoapplicator / A. V. Pushkarev, I. N. Dolganova, I. A. Burkov, S. S. Ryabikin, D. A. Zhidkov, **A. K. Zotov**, V. N. Kurlov, A. O. Vasilev, D. I. Tsiganov. // International Journal of Heat and Mass Transfer. – 2026. – Vol. 255. – P. 127755.
9. **Zotov, A. K.** In situ terahertz monitoring of an ice ball formation during tissue cryosurgery: a feasibility test / **A. K. Zotov**, A. A. Gavdush, G. M. Katyba [et al.]. // Journal of Biomedical Optics. – 2021. – Vol. 26. – Iss. 4. – P. 043003.

Свидетельство РИД:

1. Патент № 2719911 Российская Федерация, МПК А61В18/00 (2006.01). Способ слежения за глубиной промораживания ткани при криодеструкции и система для его осуществления / И.А. Шikuнова, И.Н. Долганова, **А.К. Зотов**, В.Н. Курлов, К.И. Зайцев; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики твердого тела Российской академии наук (ИФТТ РАН), № 2019137138; заявл. 19.11.2019; опубл. 23.04.2020, Бюл. № 12.

Структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка сокращений и списка использованных источников (222 наименования). Общий объем диссертационной работы составляет 142 страниц, 121 страниц основного текста, 1 страница списка сокращений, 21 страниц списка использованных источников, 45 рисунков, 2 таблицы.

ГЛАВА 1. Литературный обзор

1.1 Актуальность применения методов криовоздействия

Воздействие низких, в том числе криогенных, температур на биологические среды занимает важное место в различных научных и прикладных сферах. Среди них можно выделить

- криофиксацию, используемую для сохранения структуры тканей при микроскопических исследованиях;
- криоконсервацию, обеспечивающую длительное хранение клеток, тканей и органов;
- криодеструкцию – метод локального разрушения патологических тканей с помощью экстремально низких температур.

Криодеструкция основана на принципах быстрого замораживания и медленного оттаивания, что приводит к необратимому повреждению клеточных структур и сосудов в оперируемой области. Этот метод активно применяется в онкологии, кардиологии, дерматологии и других медицинских направлениях, демонстрируя высокую эффективность, минимальную инвазивность и широкий спектр лечебных эффектов: стимулирует регенерацию, активизирует местный иммунитет, оказывает обезболивающее, противовоспалительное и кровоостанавливающее действие [2, 4]. Эти свойства делают его удобным инструментом для лечения различных заболеваний, включая злокачественные и доброкачественные опухоли, хронические воспаления и патологии внутренних органов, мягких и соединительных тканей. Например, криодеструкция успешно применяется для лечения патологий печени [26], предстательной железы [27], молочной железы [28], легких [29, 30], почек [29, 30] и других органов.

Одним из ключевых преимуществ криодеструкции является ее минимальная инвазивность. В отличие от традиционных хирургических методов, криодеструкция не требует иссечения ткани, что снижает риск кровотечений, инфекций и других послеоперационных осложнений. Кроме того, охлаждение тканей обеспечивает анестезирующий эффект [31], делая процедуру менее

болезненной по сравнению с термическими методами, такими как радиочастотная или микроволновая абляция, например, для лечения фибрилляции предсердий [32]. Это позволяет проводить лечение в амбулаторных условиях с использованием умеренной седации, что значительно сокращает время восстановления пациентов [31].

Еще одним важным аспектом криодеструкции является ее способность стимулировать иммунный ответ [33]. В процессе замораживания и последующего оттаивания опухолевые клетки разрушаются, высвобождая антигены, которые активируют иммунную систему [33, 34]. Это явление, известное как криоиммунный ответ [33], может способствовать уничтожению оставшихся раковых клеток и предотвращению рецидивов [1,40]. Однако в некоторых случаях этот процесс может сопровождаться сильной воспалительной реакцией, известной как криошок, который может привести к нарушению дыхания, гипотонии и внутрисосудистому свертыванию крови, особенно при обработке больших объемов тканей, таких как печень [34–37].

Таким образом, криодеструкция представляет собой перспективный и многофункциональный метод терапии, который продолжает развиваться и находить новые применения в медицине. Ее уникальные свойства, такие как минимальная инвазивность, стимуляция иммунитета и короткий период восстановления, делают ее важным инструментом в борьбе с различными заболеваниями. Как и другие динамично развивающиеся области прикладной медицины, криодеструкция и криохирургия в целом сопровождаются разработкой высокотехнологичных инструментов и методик, обеспечивающих повышение безопасности и эффективности воздействия низких температур. Это подтверждается большим интересом к созданию новых криохирургических систем, отраженным в многочисленных научных публикациях. На основе различных физических принципов и эффектов разрабатываются методы повышения теплопередачи и направленного распространения теплового поля, а также визуализации и контроля области криодеструкции.

1.2 Требования к материалам для криоинструментов на основе механизмов и факторов повреждения тканей при криодеструкции

Определим требования к материалам криоаппликаторов. Для этого рассмотрим особенности их практического применения и факторы, влияющие на эффективность работы. Обратимся к данным из смежных областей (биологии и медицины) для освещения этого вопроса. Известно, что результатом криовоздействия на ткани является некроз, повреждение и гибель клеток, которые возникают вследствие прямых и косвенных механизмов. Прямые механизмы связаны с непосредственным повреждением клеток под действием холода, тогда как косвенные механизмы возникают из-за изменений в клеточном микроокружении, которые ухудшают жизнеспособность тканей [38]. Рассмотрим особенности этих механизмов.

1.2.1 Прямые механизмы клеточного повреждения

В процессе криовоздействия по мере охлаждения тканей в межклеточном пространстве образуются кристаллы льда. Эти кристаллы связывают свободную воду, увеличивая осмотическое давление в межклеточной среде. Осмотический стресс приводит к оттоку внутриклеточной воды, что приводит к обезвоживанию клеток [39]. Одновременно повышается концентрация растворенных веществ внутри клеток, что вызывает повреждение цитоплазматических ферментов и дестабилизацию клеточной мембраны. Эти эффекты могут быть связаны с денатурацией белков под действием холода, при которой белки изменяют свою структуру из-за охлаждения и дегидратации [40]. Поскольку пептидные связи остаются неповрежденными, холодовая денатурация может быть обратимой при нагревании и регидратации [41].

Однако при достаточно высокой скорости охлаждения (более 120 °С/мин) внутриклеточное обезвоживание не успевает произойти. Свободная вода остается внутри клеток, что приводит к образованию внутриклеточных

кристаллов льда, которые являются основной причиной быстрой гибели клеток [42]. Хотя точный механизм повреждения клеток внутриклеточным льдом до конца не изучен, предполагается, что он связан с физическим разрушением мембран внутриклеточных органелл и плазматической мембраны [43]. Внутриклеточные кристаллы льда создают поры в клеточной мембране, и, если эти поры достаточно велики, клеточные компоненты могут диффундировать в межклеточное пространство (Рисунок 1 (а)). Таким образом, во время замораживания образование внеклеточного льда приводит к обезвоживанию клеток, разрушению органелл и плазматических мембран, нарушая клеточную функцию.

Оттаивание льда в межклеточном пространстве снижает осмотическое давление, делая его гипотоничным по отношению к внутриклеточной среде. Это вызывает осмотический сдвиг жидкости, что может привести к набуханию или даже разрыву клеток (Рисунок 1 (б)). Кроме того, приток свободной воды во внутриклеточное пространство может способствовать росту внутриклеточных кристаллов льда [7]. Этот рост может происходить даже при таянии льда в межклеточном пространстве, поскольку высокие концентрации растворенных веществ снижают температуру замерзания воды. Максимальный рост внутриклеточных кристаллов льда наблюдается при температурах от -20°C до -25°C [44].

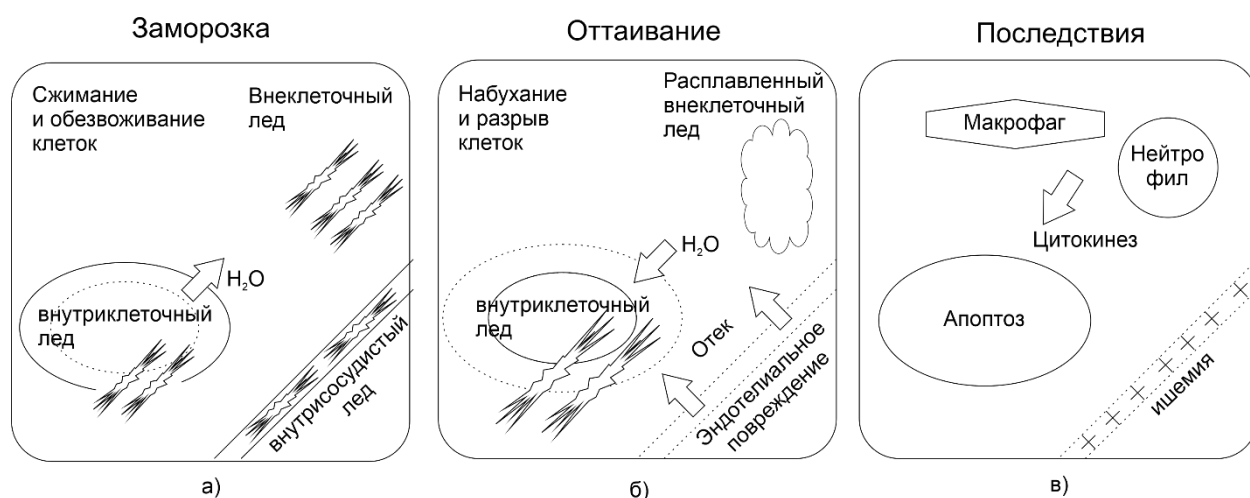


Рисунок 1 – Схематичное изображение механизмов повреждения клеток при криодеструкции в процессе (а) замораживания, (б) оттаивания, (в) по истечении некоторого времени. [31].

Клетки, которые не погибают сразу от прямого криогенного повреждения, могут подвергнуться апоптозу – запрограммированной гибели клеток [45] (Рисунок 1 (в)). Апоптотическая гибель клеток после криодеструкции обычно наблюдается на периферии зоны воздействия, где температуры недостаточны для немедленной гибели клеток, но вызывают необратимое повреждение [46].

1.2.2 Косвенные механизмы повреждения тканей

Косвенное клеточное повреждение возникает из-за изменений в микроокружении ткани, создающих неблагоприятные условия для выживания клеток. Образование внутриклеточного льда в кровеносных сосудах повреждает эндотелиальные клетки [47]. После оттаивания восстановленный кровоток доставляет тромбоциты к поврежденному эндотелию, что приводит к образованию тромбов и ишемии [48]. Ишемия запускает каскад молекулярных событий, увеличивающих проницаемость сосудов и вызывающих отек тканей [7].

Ишемия также стимулирует выработку веществ, привлекающих воспалительные клетки, такие как нейтрофилы и макрофаги. Этот процесс может продолжаться от нескольких недель до нескольких месяцев после криодеструкции, завершаясь образованием зоны некроза в центре зоны воздействия, окруженной полосой нейтрофилов на периферии [48].

1.2.3 Стратегии повышения эффективности криодеструкции

Для повышения эффективности криодеструкции используются различные стратегии, направленные на усиление повреждения тканей и оптимизацию

результатов воздействия. Среди наиболее распространенных существующих подходов выделяются:

1. Повторные циклы замораживания-оттаивания: многократное замораживание и оттаивание увеличивает степень некроза, особенно на периферии зоны воздействия, где температуры могут быть недостаточно низкими при однократном цикле [49, 50]. Интервал между циклами должен составлять несколько минут, чтобы обеспечить сосудистый застой, усиливающий разрушительный эффект последующих циклов [51, 52].
2. Введение адъювантных агентов: использование магниточувствительных гелей или других веществ, усиливающих повреждение клеток или улучшающих контроль замораживания, повышает эффективность криодеструкции [53].
3. Предварительная ишемия: временное снижение кровотока в целевой области перед криодеструкцией снижает устойчивость тканей к холоду, усиливая повреждение [54].
4. Сочетание с ультразвуком: ультразвуковое воздействие способствует образованию внутриклеточного льда и улучшает проникновение холода в ткани, повышая эффективность лечения [55].

Помимо перечисленных подходов повышение эффективности может быть достигнуто за счет повышения скорости формирования ледяного слоя и создания большего градиента температур в ткани. Для этого могут применяться криоапликаторы из материалов с высокой теплопроводностью, либо необходимо обеспечивать постоянную циркуляцию хладагента.

1.2.4 Факторы, влияющие на клеточное повреждение

Исходя из всего вышеописанного, клеточное повреждение, как прямое, так и косвенное, зависит от четырех ключевых факторов: скорости охлаждения,

достигнутой температуры, продолжительности воздействия при целевой температуре и скорости оттаивания [56–58].

1. *Скорость охлаждения* должна быть максимально высокой для обеспечения образования внутриклеточного льда. Наибольшая скорость охлаждения наблюдается вблизи наконечника криоаппликатора, тогда как на периферии зоны воздействия она снижается из-за большей площади поверхности и меньшего отвода тепла [59].
2. *Температура ткани* также является критическим фактором гибели клеток. Клетки различных тканей имеют разную чувствительность к холоду [49, 60, 61]. Однако быстрое охлаждение ниже -40°C , как правило, приводит к гибели клеток в большинстве тканей [62, 63]. Клетки на периферии зоны воздействия подвергаются меньшему охлаждению, что приводит к внутриклеточному обезвоживанию.
3. *Продолжительное воздействие* при низких температурах повышает вероятность образования внутриклеточного льда в периферических областях [64].
4. *Скорость оттаивания* также влияет на эффективность криодеструкции. Быстрое оттаивание может повысить выживаемость клеток за счет ограничения роста внутриклеточных кристаллов льда. Исследования показывают, что пассивное оттаивание вызывает большую гибель клеток, чем активное [44].

1.2.5 Требования к материалам для криохирургических инструментов

Эффективность криохирургических инструментов во многом зависит от материалов, используемых для их изготовления. Для достижения оптимальной криодеструкции эти материалы должны соответствовать строгим требованиям для осуществления вышеуказанных факторов, влияющих на клеточное повреждение:

- Материалы с высокой теплопроводностью, необходимы для эффективного отвода тепла во время охлаждения. Это обеспечивает быстрое снижение температуры на контактной части криоаппликатора, что максимизирует образование внутриклеточного льда и гибель клеток.
- Материалы с низкой удельной теплоемкостью требуют меньше энергии для охлаждения, что позволяет проводить более быстрые и эффективные циклы замораживания.
- Биосовместимость и устойчивость к коррозии: криоаппликаторы должны изготавливаться из биосовместимых материалов, устойчивых к коррозии и окислению, как при контакте с биологическими тканями и жидкостями, так и в процессе стерилизации [65, 66].
- Криоаппликаторы должны быть прочными и сохранять структурную целостность при экстремальных температурных перепадах [65, 66].

Криодеструкция вызывает гибель клеток через сложные механизмы, включающие прямое образование внутриклеточного льда и косвенные эффекты, такие как ишемия и воспаление. Оптимизация параметров криовоздействия, включая увеличение скорости охлаждения, достижение более низкой температуры и возможность управления циклами замораживания-оттаивания, повышает эффективность лечения. Дополнительные стратегии, такие как использование адъювантных агентов, ультразвука и пневмогипертермии, усиливают эффект криодеструкции. Разработка современных криохирургических инструментов с использованием материалов, обладающих превосходными тепловыми и механическими свойствами, играет ключевую роль в улучшении результатов лечения.

1.3 Классификация криоаппликаторов

Для реализации методов криодеструкции используются специальные контактные и бесконтактные криоинструменты, которые должны соответствовать ряду ключевых требований, описанных выше. Контактные

инструменты можно разделить на две основные группы в зависимости от их применения. Первая группа – поверхностные криоаппликаторы, которые используются для локального замораживания тканей на поверхности или в приповерхностных слоях органов (Рисунок 2 (а)). Такие инструменты позволяют удалять большие объемы тканей и часто применяются в дерматологии, гинекологии и других областях, где требуется обработка поверхностных структур. Вторая группа – внутритканевые криоаппликаторы, которые вводятся непосредственно в ткани органа для замораживания небольших областей (Рисунок 2 (б)) [13, 30, 67]. Например, игольчатые устройства диаметром около 1,5 мм используются для удаления новообразований в предстательной железе, печени, почках и других органах. Обычно для обработки больших объемов тканей применяется несколько аппликаторов одновременно [68, 69].

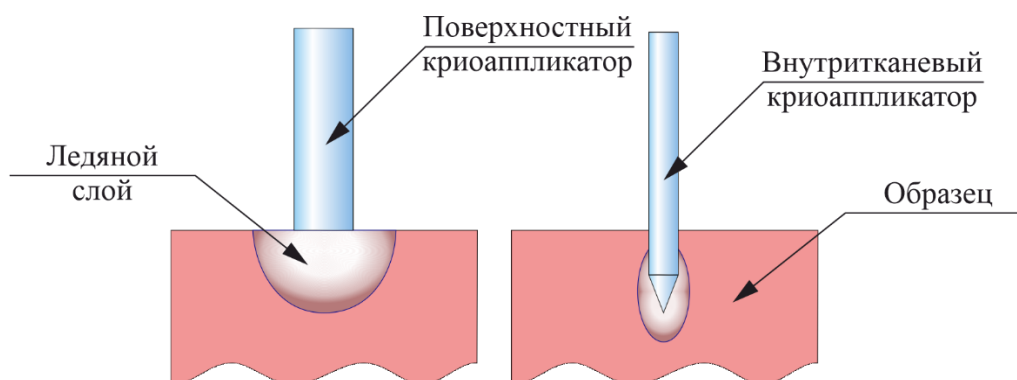


Рисунок 2 – Принцип действия поверхностного и внутритканевого криоаппликаторов.

Криоаппликаторы также могут быть классифицированы по принципу работы и конструкции. Криоаппликаторы погружного типа, или «пассивные», представляют собой хладозапасающие наконечники, которые предварительно погружаются в жидкий азот. После охлаждения наконечник контактирует с тканью, обеспечивая быстрое замораживание. Преимуществом таких инструментов является простота конструкции, однако они имеют ограниченное время работы после охлаждения. Температура в месте контакта быстро снижается, но затем начинает повышаться. Такие аппликаторы эффективны для

криодеструкции небольших объемов тканей или могут применяться для криотерапии. Криоаппликаторы наливного типа оснащены резервуаром для хладагента (например, жидкого азота), что позволяет увеличить время воздействия низких температур на ткани. Эти инструменты обеспечивают более длительное и стабильное охлаждение, что делает их пригодными для обработки больших объемов тканей (Рисунок 3 (а)). Криоаппликаторы с принудительной циркуляцией хладагента, или «активные», используют циркуляцию, например, жидкого азота для поддержания низкой температуры на контакте с тканью (Рисунок 3 (б)). Такие инструменты обеспечивают максимальную скорость охлаждения и позволяют замораживать большие объёмы тканей, что особенно важно для воздействия на новообразования.

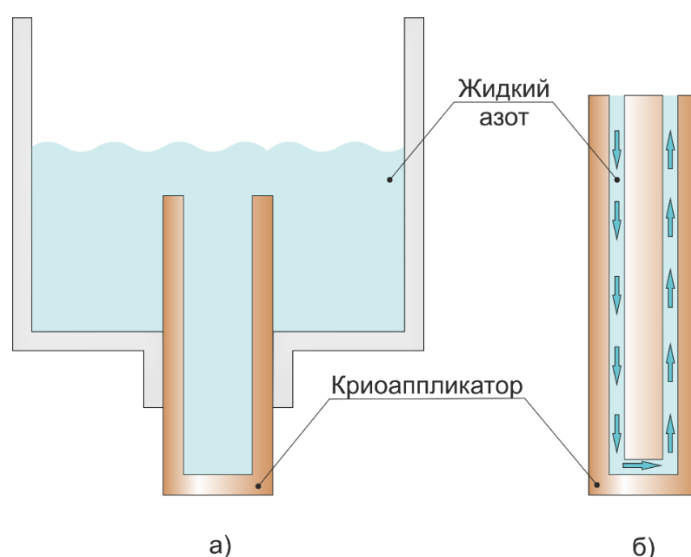


Рисунок 3 – Схема наливного криоаппликатора (а) и криоаппликатора с принудительной циркуляцией азота (б).

Для охлаждения криоаппликаторов могут использоваться различные методы. Жидкий азот применяется в проточных или наливных схемах, где важно, чтобы материал криоаппликатора обладал высокой теплопроводностью при низких температурах, например, при температуре жидкого азота. Газы, такие как аргон и гелий, используются с учетом эффекта Джоуля-Томпсона [70–73], который основан на изменении температуры газа при его адиабатическом

дросселировании (Рисунок 4). В криохирургических системах, основанных на этом эффекте, газообразный аргон используется для замораживания, а гелий – для оттаивания. При расширении внутри корпуса аппликатора аргон снижает температуру, что приводит к замораживанию тканей, тогда как гелий выделяет тепло, способствуя оттаиванию.

Также стоит отметить, что немаловажным фактором являются форма и материал наконечников криоаппликаторов, которые должны обладать высокой теплопроводностью, устойчивостью к воздействию биологических тканей и жидкостей, а также обеспечивать возможность эффективной стерилизации.

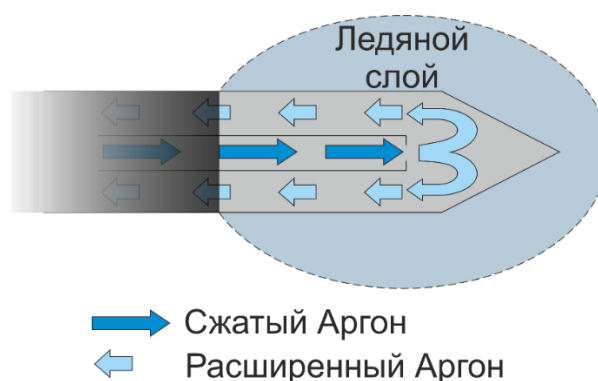


Рисунок 4 – Криоаппликатор на основе эффекта Джоуля-Томсона.

Одним из наиболее часто используемых материалов для наконечников криоаппликаторов является медь. Медные наконечники имеют ряд недостатков. В процессе работы и стерилизации на их поверхности образуется толстый слой окислов переменного состава, который имеет рыхлую структуру, способствующую размножению бактерий и затрудняющую очистку. Окислы меди также ухудшают теплоотвод от хладагентов, что может провоцировать переход от пузырькового к пленочному режиму кипения жидкого азота, снижая эффективность криодеструкции. Кроме того, пластичность меди не обеспечивает длительную стабильность геометрии наконечника, особенно если он выполнен в виде острия для внутритканевой криохирургии. Для решения этих проблем медные наконечники часто покрывают тонким слоем никеля или хрома. Однако

нанесение таких покрытий на внутренние поверхности деталей затруднено, что приводит к неизбежному окислению и снижению эффективности инструментов.

Еще одним недостатком медных наконечников являются значительные потери криоагента, связанные с большими теплопритоками от корпуса устройства к жидкому азоту через медный хладопровод. Для снижения потерь жидкого азота и минимизации воздействия холода на окружающие предметы приходится использовать теплоизоляцию корпуса, что увеличивает вес и габариты криоаппликатора.

Также в качестве альтернативных материалов для изготовления криоаппликаторов могут использоваться латунь, нержавеющая сталь и никелид титана [56–58, 74, 75]. Никелид титана, благодаря своей пористой структуре, обеспечивает более оптимальные условия для криовоздействия. Однако изготовленные из него аппликаторы имеют проблемы с очисткой и стерилизацией [75].

1.4 Анализ свойств сапфира как материала для криоаппликаторов

Сапфир, благодаря уникальному сочетанию физико-химических характеристик, является одним из наиболее перспективных материалов для создания криоаппликаторов [9, 76, 77]. Его свойства, такие как высокая теплопроводность, низкая удельная теплоемкость при криогенных температурах, механическая прочность, термостойкость и биосовместимость, делают его идеальным кандидатом для применения в криохирургии. Далее проведен обзор теплофизических, оптических и механических свойств сапфира в контексте поставленной задачи.

1.4.1 Теплофизические свойства

Коэффициент теплопроводности сапфира (λ_T) не только зависит от температуры, но и демонстрирует выраженную анизотропию, связанную с гексагональной кристаллической решёткой корунда ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$). Вдоль оси c

кристалла теплопроводность при 77 К может превышать 1100 Вт/(м·К), тогда как в перпендикулярном направлении значения снижаются на 30–40% [78]. Это позволяет проектировать инструменты с направленным теплоотводом, оптимизируя скорость охлаждения биологических образцов. Для сравнения: теплопроводность меди при 77 К составляет 544 Вт/(м·К), что в 2 раза ниже, чем у сапфира.

Температурная зависимость λ_T сапфира представлена на Рисунке 5. Очевидно, что высокие значения теплопроводности сапфира при низких температурах ($T < 100$ К) позволяют быстро охлаждать биологические ткани, что немаловажно для процесса их некроза.

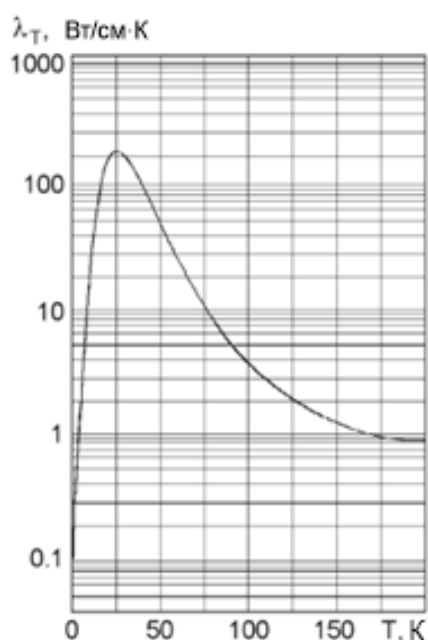


Рисунок 5 – Температурная зависимость коэффициента теплопроводности сапфира [78].

Сапфир также обладает низкой удельной теплоёмкостью при криогенных температурах (Таблица 1), что минимизирует энергозатраты на охлаждение системы. Удельная теплоёмкость сапфира зависит от температуры: с её ростом теплоёмкость увеличивается. Температурная зависимость удельной теплоёмкости показана на Рисунке 6. При этом коэффициент линейного термического расширения (КТР) сапфира составляет $\sim 5,8 \cdot 10^{-6} \text{ К}^{-1}$ в диапазоне

20–300 К [78], что значительно ниже, чем у металлов (например, КТР меди составляет $16,5 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$). Это снижает риски деформации инструмента при циклических температурных нагрузках.

Таблица 1 – Удельная теплоемкость сапфира [78]

$T, \text{ K}$	10	25	50	100	150	200	298
$C_p, \frac{\text{кДж}}{\text{кмоль K}}$	0,04	0,20	1,9	13,4	33,5	51,92	79,13

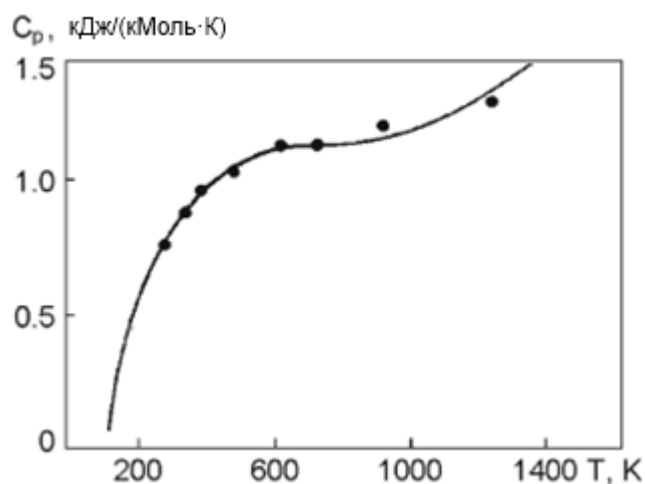


Рисунок 6 – Температурная зависимость удельной теплоемкости сапфира [78].

1.4.2 Механические и химические свойства

Сапфир обладает высокой твердостью (9 по шкале Мооса и 12 по 15-балльной шкале Риджуэя), а также высокой прочностью на изгиб (до 1000 МПа) и модулем Юнга (~ 400 ГПа) [78], что превосходит аналогичные параметры нержавеющей стали (прочность на изгиб ~ 600 МПа, модуль Юнга ~ 200 ГПа). Эти характеристики делают сапфировые инструменты устойчивыми к механическим повреждениям в процессе эксплуатации.

Кроме того, обладая высокой химической инертностью, сапфир имеет высокую радиационную и термическую стойкость [78], что позволяет использовать широкий спектр методик (термическая, химическая, плазменная, ионизирующее излучение) для очистки и стерилизации биомедицинских инструментов на его основе.

1.4.3 Биосовместимость

Сапфир обладает хорошей биосовместимостью и не вступает в реакцию с биологическими жидкостями и тканями. Он не токсичен для человека и не вызывает изменений в функциях центральной нервной системы, печени, почек, а также не влияет на белковый и жировой обмен [79]. Кроме того, гладкая поверхность сапфира препятствует адгезии бактерий, снижая риск инфекций, что делает его безопасным для использования в медицине.

1.4.4 Оптические свойства

Сапфир прозрачен или полупрозрачен для электромагнитных волн в широком спектральном диапазоне, включая ультрафиолетовый, видимый, ближний инфракрасный, ТГц и микроволновый диапазоны [78, 80–82] (Рисунок 7). Он также обладает высоким показателем преломления и оптической анизотропией [83]. Высокая радиационная стойкость сапфира позволяет использовать его в условиях интенсивного электромагнитного излучения [84, 85].

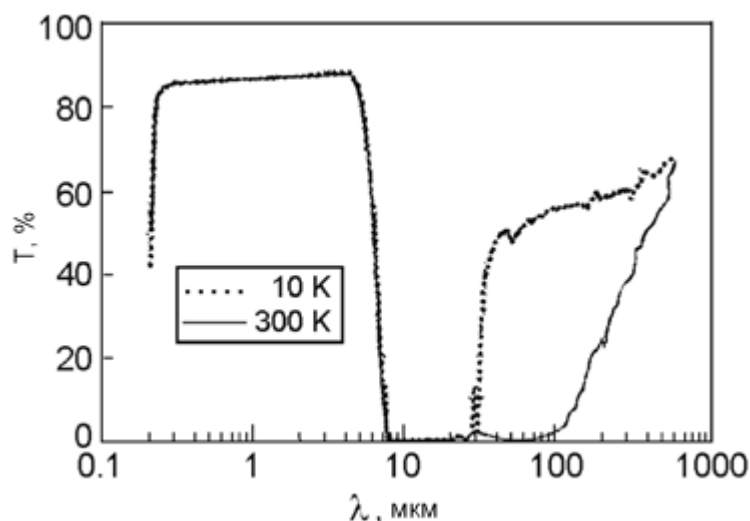


Рисунок 7 – Спектр пропускания плоскопараллельной сапфировой пластинки толщиной 2 мм при 10 и 300 К [78].

1.4.5 Перспективность сапфировых криоинструментов

Обладая уникальными физико-химическими характеристиками, приведенными выше, сапфир рассматривается как подходящий материал для разработки криогенных инструментов. Его высокая теплопроводность, низкая теплоемкость в условиях низких температур, сочетающаяся с прочностью, устойчивостью к химическим воздействиям и биологической совместимостью, открывают широкие перспективы для биомедицинских применений, включая криохирургию. Сравнительный анализ термических свойств сапфира с традиционными материалами для криоинструментов (медь, латунь, нержавеющая сталь, алюминий) представлен в таблице 2 [86–88].

Таблица 2 – Теплофизические свойства материалов для криоаппликаторов

	Теплопроводность при 77К Вт/м·К	Теплопроводность при 300К Вт/м·К	Теплоемкость при 77К кДж/кг·К	Теплоемкость при 300К кДж/кг·К
Медь	544	397	0,192	0,286

Латунь	29	86	0.216	0.377
Нержавеющая сталь	7.8	16.2	0,516	0,267
Алюминий	105	235	0,904	0.438
Сапфир	1100	47	0.060	0.779

Из Таблицы 2 видно, что сапфир обладает значительно более высокой теплопроводностью и меньшей удельной теплоемкостью при криогенных температурах (77 K) по сравнению с другими альтернативными материалами. Это позволяет достичь высокой скорости охлаждения как самого криоинструмента, так и окружающей среды, что критически важно для поддержания низкой температуры тканей и достижения ее крионекроза [2, 39, 44].

Оптическая прозрачность сапфира в широком диапазоне длин волн открывает возможность совмещения криодеструкции, реализуемой через такие аппликаторы, с методами оптической диагностики и мониторинга зоны воздействия в режиме реального времени.

Также важным преимуществом материала является его термостойкость, механическая стабильность и способность сохранять структуру при агрессивных воздействиях, что упрощает процессы стерилизации и позволяет создавать многократно используемые криоаппликаторы.

Как было описано выше, для реализации методов криодеструкции требуется создание криоаппликаторов с разнообразной формой и геометрией наконечников. Однако сложность механической обработки сапфира, обусловленная его высокой твердостью, ограничивает возможности формирования таких структур традиционными методами [76, 77]. Для преодоления этого ограничения применяются различные технологии

выращивания профилированных кристаллов сапфира, основанных на методе Степанова [89], которые позволяют получать кристаллы заданного поперечного сечения непосредственно в процессе их выращивания. Это минимизирует необходимость последующей механической обработки, обеспечивая создание сложных геометрий, критически важных для медицинских приложений.

1.5 Анализ существующих методов мониторинга процесса криодеструкции

Ключевой проблемой криохирургии является сложность прогнозирования и контроля границ ледяного слоя и крионекроза [1], что связано в основном с отсутствием эффективных методов измерения его области [12], так и негативным влиянием градиента температур в замораживаемой ткани на смертность клеток [13].

Существующие методы мониторинга часто ограничены тем, что градиенты температур в тканях создают неоднородные условия для клеточной деструкции: вблизи криоаппликатора температура может достигать критических значений, вызывающих мгновенный некроз, тогда как на периферии из-за снижения холодового воздействия возможна лишь частичная гибель клеток или их переход в обратимое состояние [31]. Это повышает риск неполного удаления патологической ткани (что ведет, например, к рецидиву опухоли) и повреждения здоровых структур, особенно в чувствительных анатомических областях. Например, применение криохирургии для лечения церебральных новообразований до сих пор ограничено из-за близости критических зон мозга, риска отека и нарушения нейрососудистых функций [66]. Дополнительным осложнением при обработке крупных объемов паренхиматозных органов (печень, почки) является риск развития системного криошока – патологического состояния, связанного с массивным выбросом продуктов клеточного распада в кровотоки, что может привести к полиорганной недостаточности и летальному исходу [35–37].

В связи с этим приоритетным направлением развития криохирургии является разработка технологий интраоперационного мониторинга, обеспечивающих точную визуализацию и измерение зоны криодеструкции в режиме реального времени. Такие системы позволят не только контролировать пространственные параметры ледяного фронта, но и динамически корректировать степень криогенного воздействия, минимизируя повреждение окружающих тканей и повышая селективность лечения. На текущий момент для этих целей применяются четыре основных метода: температурный мониторинг, ультразвуковая визуализация, оптоакустические технологии и магнитно-резонансная томография (МРТ), каждый из которых имеет определенные преимущества и ограничения.

1.5.1 Термометрия

Контроль температуры тканей остается одним из базовых методов оценки криодеструкции. Его принцип основан на установлении корреляции между температурой и зоной необратимого повреждения, что подтверждено экспериментальными исследованиями *in vivo* и *ex vivo* [90, 91]. Современные криохирургические системы, такие как криоаппликаторы с интегрированными термодатчиками, обеспечивают измерение температуры в реальном времени с частотой до нескольких сотен отсчетов в секунду [1, 29, 92–95]. Однако ключевое ограничение метода связано с его точечным характером: термопары или термисторы фиксируют данные лишь в непосредственной близости от криоаппликатора (обычно в радиусе 2-5 мм) или на поверхности ткани, что не отражает температурное распределение в объеме. Например, в печени при температуре -40°C у аппликатора на расстоянии 1 см температура может повышаться до -10°C из-за теплопереноса от соседних сосудов, что недостаточно для гарантированного некроза [51, 52]. Попытки мониторинга поверхностных температур с помощью инфракрасных камер расширяют зону

контроля, но вносят погрешности из-за различий в теплоотдаче тканей, наличия кровотока и артефактов от хирургических инструментов.

Дополнительную сложность создает вариабельность критических температурных порогов для разных типов тканей. Например, для гепатоцитов порог крионекроза составляет около -20°C , тогда как фиброзные структуры требуют охлаждения до -30°C , а опухолевые клетки почек могут сохранять жизнеспособность даже при -25°C [31, 96]. Эти различия обусловлены различным химическим составом и структурой тканей. В результате интерпретация температурных данных требует индивидуального подхода для каждого клинического случая, что делает универсализацию протоколов криодеструкции практически невозможной. Метод экспериментального прогнозирования, предполагающий создание баз данных по теплофизическим параметрам тканей, также сталкивается с трудностями: помимо огромного объема требуемых исследований (учитывая возрастные, патологические и видовые вариации), остается проблема моделирования *in vivo* условий в рамках *in vitro* моделей, что обусловлено сложностью учета динамических процессов (кровоток, метаболическая активность) в живых системах [95, 96]. Таким образом, температурный мониторинг остается вспомогательным инструментом, требующим интеграции с методами визуализации для повышения точности криохирургических вмешательств.

1.5.2 Ультразвуковой мониторинг

Ультразвуковая (УЗ) визуализация/имиджинг (УЗИ) широко применяется в нейрохирургии, урологии и гепатобилиарной хирургии благодаря своей доступности, неинвазивности и способности предоставлять трехмерные изображения тканей в режиме реального времени [108]. Эта технология обеспечивает визуальный контроль расположения инструментов относительно анатомических структур [108]. Внедрение миниатюрных высокочастотных датчиков и алгоритмов цифровой обработки сигналов за последнее десятилетие

позволило интегрировать этот метод непосредственно в интраоперационные протоколы, что сделало его одним из наиболее распространенных способов мониторинга криодеструкции [9,15,28]. В частности, при внутритканевой криодеструкции УЗИ используется для локализации криоаппликатора и приблизительной оценки зоны крионекроза.

Ключевым маркером криодеструкции при УЗ-мониторинге является формирование гиперэхогенной границы на стыке замороженной и здоровой ткани, связанное с изменением акустического импеданса из-за кристаллизации внутриклеточной жидкости [97]. Однако визуализируется только периферическая часть ледяного слоя, тогда как его центральные области, находящиеся в непосредственной близости от криоаппликатора, остаются «акустически слепыми» из-за полного отражения ультразвуковых волн от плотной ледяной матрицы (Рисунок 8). Современные линейные УЗ-трансдюсеры с частотой 7–15 МГц [11] обеспечивают точное позиционирование криоаппликатора, но не позволяют оценить морфологию зоны некроза – ее контуры реконструируются по косвенным признакам, таким как размер безэховой зоны, что сопряжено с субъективными погрешностями.

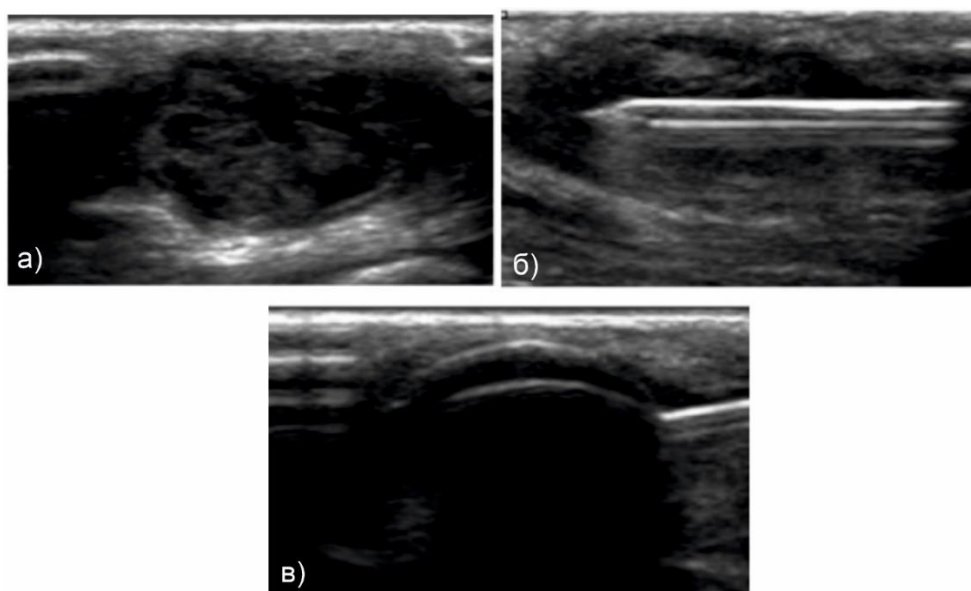


Рисунок 8 – Ультразвуковой мониторинг процесса криодеструкции подошвенной фибромы. Исходное УЗИ изображение (а). Размещение

криоаппликатора диаметром 2,4 мм (б). Безэховый артефакт, вызванный образованием ледяного слоя (в) [97].

В то же время нет возможности наблюдать формирование ледяного слоя непосредственно в месте приложения аппликатора, т.к. положение УЗ-зонда всегда смещено относительно аппликатора. Данное обстоятельство снижает точность получаемой информации и делает восстановление размеров ледяного слоя практически невозможным. В случае внутритканевой криодеструкции использование нескольких зондов повышает инвазивность процедуры контроля и увеличивает сложность метода. Также пространственное разрешение УЗИ сильно зависит от глубины целевого поражения под поверхностью и фактического используемого ультразвукового датчика: чем глубже целевое поражение расположено в органе, тем хуже пространственное разрешение УЗИ [98]. В хирургии печени это вынуждает использовать открытый доступ для сокращения расстояния между датчиком и зоной воздействия, что повышает сложность и травматичность операции [99]. Также немаловажным фактором является пульсация крупных кровеносных сосудов и движение диафрагмы, которые создают динамические помехи, искажающие изображение. Например, при криодеструкции почечных опухолей близость почечной артерии осложняет дифференциацию ледяного слоя от окружающей паренхимы.

1.5.3 Оптоакустический метод температурной визуализации и мониторинга

Оптоакустический метод представляет собой перспективное направление в мониторинге криодеструкции, основанном на лазерно-индуцированной генерации ультразвуковых волн. Принцип метода заключается в том, что короткие лазерные импульсы поглощаются биологическими тканями, вызывая их термоупругое расширение и генерацию акустических волн. Эти волны регистрируются ультразвуковыми датчиками, а их временной и спектральный

профиль несет информацию о пространственном распределении температуры в ткани. Это позволяет реконструировать распределение теплового поля (тепловые карты) с точностью до $\pm 1^{\circ}\text{C}$ [100].

Одним из ключевых преимуществ оптоакустического метода является возможность его сочетания с традиционными методами визуализации, такими как УЗИ. Например, в экспериментах на модели печени крысы гибридная система, объединяющая УЗИ и оптоакустический метод, продемонстрировала повышение точности определения границ крионекроза на 30% по сравнению с использованием только ультразвука [25, 101]. Это достигается за счет преобразования оптоакустических данных в температурные карты, которые дополняют структурную информацию, полученную с помощью УЗИ. На Рисунке 9 приведен пример оптоакустической визуализации *in vivo* температуры в области стенки прямой кишки во время формирования ледяного слоя (а) и пассивного оттаивания (б) при криотерапии простаты. Указанные времена соответствуют моментам получения кадра после начала формирования ледяного слоя. Также показаны продольные ультразвуковые изображения сразу после криотерапии (Рисунок 9 (б)). Красный пунктирный прямоугольник указывает на интересующую область, визуализируемую оптико-акустическим методом.

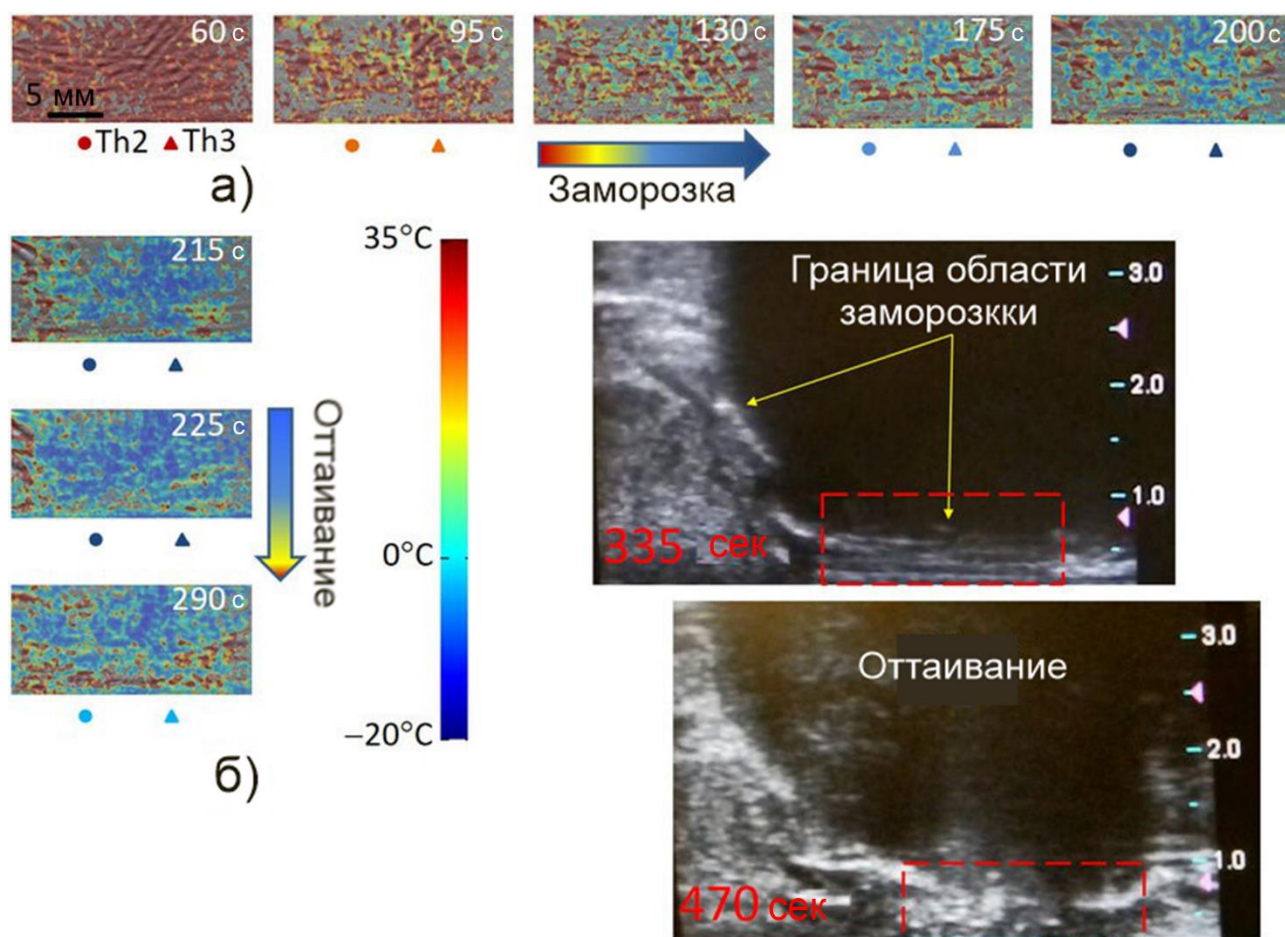


Рисунок 9 – Пример использования оптоакустического метода [27].

(а) Визуализация *in vivo* температуры ткани во время формирования ледяного слоя; (б) визуализация в процессе пассивного оттаивания в сочетании с УЗИ изображениями.

Однако на текущем этапе развития метод имеет ряд ограничений. Во-первых, оптоакустическая визуализация применима преимущественно для анализа продольных срезов тканей после криовоздействия, что не позволяет в полной мере контролировать процесс криодеструкции в режиме реального времени. Во-вторых, ледяной слой значительно снижает оптическую прозрачность тканей, что приводит к затуханию лазерного сигнала и ограничивает глубину мониторинга [24]. В экспериментах на срезах печени толщиной 2–3 см метод показал возможность отслеживания ледяного фронта с погрешностью 0,5 мм, однако в условиях *in vivo* погрешность существенно возрастает из-за влияния кровотока и дыхательных движений [24].

Таким образом, оптоакустический мониторинг толщины ледяного слоя хоть и является достаточно перспективным методом контроля криодеструкции тканей, однако на данной стадии разработки обладает относительно большой погрешностью измерений и дает возможность анализировать лишь срезы биотканей *in vitro*.

1.5.4 Магнитно-резонансная томография и компьютерная томография

Магнитно-резонансная томография (МРТ) и компьютерная томография (КТ) являются высокоточными методами визуализации, используемыми для контроля криодеструкции тканей. МРТ, благодаря своему превосходному контрастному разрешению, позволяет четко дифференцировать зоны крионекроза, отечные участки и жизнеспособные ткани, что делает ее особенно полезной для сложных анатомических областей, таких как головной мозг и предстательная железа [92, 97, 102–106]. КТ, хотя и менее информативна в оценке мягких тканей, остается востребованной благодаря своей скорости и доступности, что делает ее полезной для быстрого интраоперационного контроля [107].

В экспериментальных исследованиях поверхностной [108, 109] и внутритканевой криодеструкции [97, 110] было показано, что чувствительность МРТ хорошо подходит для визуализации различных фаз воды и что МРТ по сравнению с КТ позволяет проводить более точный контроль криохирургических операций [105]. Однако оба метода накладывают строгие ограничения на используемые криоинструменты: для МРТ необходимы немагнитные материалы, а для КТ – радиопрозрачные конструкции, минимизирующие артефакты [111]. Переход на полимерные или керамические материалы частично решает эту проблему, но металлические фиксирующие устройства, такие как стереотаксические рамки, продолжают вносить искажения (Рисунок 10) [111].

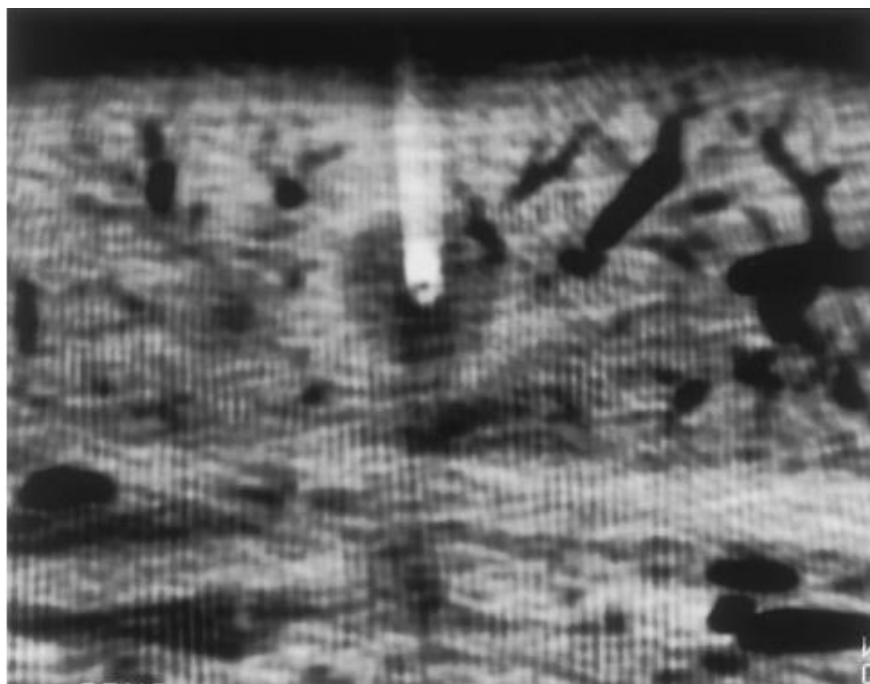


Рисунок 10 – Аксиальная компьютерная томография среза ткани толщиной 8 мм.Arteфакты вызваны металлическим удерживающим устройством [111].

Также несмотря на свои преимущества, МРТ и КТ имеют ряд практических ограничений. Во-первых, их использование требует дорогостоящего оборудования и инструментов, а также специализированных операционных, что значительно увеличивает стоимость процедур. Во-вторых, большинство криоаппликаторов, работающих на основе эффекта Джоуля-Томсона (например, аргонные системы), изготавливаются из титана или нержавеющей стали, что делает их несовместимыми с МРТ [73, 94].

1.5.5 Методы компьютерного моделирования

Моделирование процессов теплопередачи, связанных с фазовыми переходами (вода $\leftrightarrow$ лед), играет ключевую роль в изучении термического повреждения биологических тканей и оптимизации криохирургических процедур [112, 113]. Эти модели позволяют прогнозировать распределение температуры, размеры зоны крионекроза и степень повреждения окружающих здоровых тканей, что особенно важно при лечении злокачественных опухолей

[114]. Оптимизация параметров криодеструкции, таких как скорость охлаждения, продолжительность криовоздействия и количество циклов заморозки-оттаивания, способна значительно повысить эффективность лечения, снизить его стоимость и минимизировать риск послеоперационных осложнений [114]. Кроме того, использование компьютерного моделирования на этапе клинической подготовки позволяет сократить время обучения специалистов и улучшить качество планирования операций.

Однако современные методы компьютерного моделирования имеют ряд ограничений. Во-первых, они не позволяют проводить мониторинг криодеструкции в реальном времени, что ограничивает их применение в интраоперационных условиях [91, 93, 95, 115–119]. Во-вторых, создание точных физико-математических моделей, используемых для прогнозирования, требует учета множества факторов, включая анатомические особенности тканей, их теплофизические свойства (теплопроводность, удельная теплоемкость) и динамику кровотока [91, 93, 95, 115–119]. Для получения этих данных необходимо использовать комплекс методов медицинской визуализации, таких как МРТ, КТ и УЗИ, что значительно усложняет процесс подготовки и планирования процедуры.

Еще одной проблемой является учет характеристик криоаппликаторов, таких как неравномерное нагревание и охлаждение, что может приводить к неоднородности зоны крионекроза [95]. Одним из путей решения данной проблемы является применение сапфировых аппликаторов, демонстрирующих уникальные теплофизические характеристики, благодаря которым возможно обеспечивать формирование равномерного температурного поля в зоне воздействия.

1.5.6 Недостатки существующих методов мониторинга

Таким образом, существующие методы мониторинга и визуализации процесса криодеструкции имеют ряд недостатков, ограничивающих возможность их использования:

- Температурный контроль может повышать инвазивность процедуры и сопровождается большими неточностями и допущениями при оценке границ ледяного слоя. Также температура крионекроза может отличаться для разных видов тканей, что не позволяет точно оценить его область в процессе криовоздействия.
- При УЗ мониторинге криодеструкции визуализируется граница между ледяным и незамороженным слоем в области нахождения УЗ-зонда, а большая часть ледяного слоя не просматривается. В то же время нет возможности наблюдать процесс формирования ледяного слоя непосредственно в месте приложения аппликатора, т.к. положение УЗ-зонда всегда смещено. Это снижает точность получаемой информации.
- Оптоакустический мониторинг дает возможность оценки только температурной карты на срезах замороженной ткани и в случае оценки толщины ледяного слоя обладает достаточно большой погрешностью измерений.
- МРТ и КТ накладывают существенные ограничения на использование МТР- и КТ-совместимых криоинструментов. Стоимость такой процедуры увеличивается за счет использования специально оборудованных операционных и немагнитных криоинструментов.
- Методы компьютерного моделирования не позволяют проводить мониторинг формирования ледяного слоя в тканях в процессе самой процедуры, а также требуют создания физико-математических моделей для каждого конкретного случая, учитывая теплопотери как в самом образце, так и в криоаппликаторе.

1.6 Перспективные методы мониторинга процесса криодеструкции

Для решения проблем, связанных с неточностью, инвазивностью и высокой стоимостью существующих методов мониторинга криодеструкции, возможно использовать оптические методы мониторинга, которые при сохранении минимальной инвазивности процедуры не требуют введения контрастных агентов или маркеров. Помимо этого, оптический метод позволяет использовать волоконную доставку излучения к ткани, а значит, интегрировать оптический датчик в корпус самого криоаппликатора при условии его прозрачности в зоне вывода оптических волокон. Среди возможных интегрируемых методов можно выделить оптическую когерентную томографию (ОКТ) и анализ диффузного рассеяния. Однако, ОКТ ограничивается глубиной зондирования до 3 мм, что по сравнению с характерной величиной для анализа диффузного рассеяния (десятки миллиметров при различных условиях) позволяет сделать выбор в пользу последнего. Перспективным методом анализа границы раздела является ТГц импульсная спектроскопия, основанная на наличии диэлектрического контраста между слоями замороженной и незамороженной ткани. Несмотря на малую глубину проникновения ТГц излучения (сотни микрометров), его точность превышает точность ОКТ и анализа диффузного рассеяния. В то же время, отсутствие эффективных волокон и волноводов в ТГц диапазоне не позволяют интегрировать этот метод в корпус криоаппликатора, поэтому разработка метода ТГц мониторинга процесса криодеструкции представляется перспективной задачей.

Рассмотрим отдельно методы анализа диффузного рассеяния и ТГц импульсной спектроскопии.

1.6.1 Анализ интенсивности диффузного рассеяния излучения

Метод анализа диффузного рассеяния излучения видимого и ближнего инфракрасного диапазонов (650–900 нм) применяется для исследования сильно рассеивающих сред. Регистрируется диффузная составляющая рассеянного

излучения чаще всего в обратном направлении в точке падения излучения на объект, либо на некотором от нее расстоянии. Анализ позволяет измерять поглощающие и рассеивающие свойства образцов. Применительно к биологическим тканям, коэффициенты рассеяния μ_s и поглощения μ_a зависят от их биохимического состава и морфологии, поэтому изменение этих параметров зачастую отражает некоторые изменения в составе и/или структуре тканей. Метод допускает использование как монохроматического источника излучения, так и широкополосного. В последнем случае (метод спектроскопии диффузного рассеяния (СДР)) появляется возможность исследования спектральных зависимостей параметров рассеивающих сред и определения концентрации их отдельных компонентов.

СДР широко используется для дифференциации злокачественных и здоровых тканей в различных областях онкологии [120]. Рост злокачественной опухоли сопровождается морфологическими, биохимическими и функциональными изменениями на клеточном и внутриклеточном уровнях, которые можно выявить с помощью анализа диффузно рассеянного излучения. Например, метод успешно применяется для диагностики опухолей мозга [121, 122], кожи [123, 124], ротовой полости [125, 126], легких [127–129], молочных желез [127, 130–132], печени [133–135], поджелудочной железы [136, 137], прямой кишки [138, 139] и других органов.

Также СДР и монохроматический анализ диффузного рассеяния в ближнем инфракрасном диапазоне используется для оценки оксигенации крови в исследованиях мозговой активности в норме и патологии, при совершении каких-либо действий или эмоциональных нагрузках [140, 141].

В формировании сигналов значительную роль играют два основных процесса взаимодействия света с биологическими тканями – поглощение и рассеяние [142]. То есть данный метод очень чувствителен к изменениям рассеивающих и поглощающих свойств ткани, концентрации отдельных ее компонентов, которые меняются в ходе различных патологических процессов.

Эти изменения также характерны для формирования ледяного слоя, что позволяет использовать этот метод для мониторинга процесса криодеструкции.

Математическое описание интенсивности диффузно рассеянного излучения будет подробно рассмотрено в Главе 4 диссертации. Однако отметим, что для анализа диффузно рассеянного излучения при исследовании сильно рассеивающих сред широко применяется теория переноса излучения и, в частности, ее диффузионное приближение.

1.6.2 Терагерцовая импульсная спектроскопия

ТГц импульсная спектроскопия с временным разрешением использует излучение с частотой 0.1–10 ТГц и позволяет регистрировать временную зависимость напряженности электрического поля, содержащую информацию об амплитудной и фазовой ее составляющих. ТГц импульсная спектроскопия используется для определения комплексной диэлектрической проницаемости различных сред в ТГц диапазоне, т.е. показателя преломления и коэффициента поглощения. Анализ временной зависимости напряженности поля позволяет не прибегать к соотношениям Крамерса-Кронига для восстановления действительной и мнимой частей диэлектрической проницаемости.

ТГц импульс, распространяясь в неоднородной среде, формирует последовательность импульсов, прошедших и/или отраженных от внутренних и внешних границ раздела. На анализе этой последовательности, амплитуде и временной задержке между детектируемыми импульсами, основан принцип восстановления профиля диэлектрической проницаемости исследуемых объектов.

В ТГц диапазоне лежат линии поглощения воды, которая составляет значительную долю в составе биологических сред. При различных патологических процессах происходит изменение концентрации свободной и связанной воды в ткани, что дает возможность использовать данный метод для дифференциации различных типов и состояний биологических тканей, как *ex*

vivo, так и *in vivo* [143–147]. Кроме того, он позволяет точно визуализировать и характеризовать новообразования различной локализации [148–152]. Этот подход исключает необходимость введения контрастных агентов, поскольку ключевые параметры патологии выявляются за счет естественных физико-химических свойств биологических сред.

Однако высокая чувствительность ТГц излучения к концентрации свободной и связанной воды в тканях также является и недостатком данного метода, так как сильно ограничивает глубину проникновения ТГц волн. Для повышения глубины проникновения используются различные подходы, такие как дегидратация тканей [153], заливка парафином [154], лиофилизация [155], компрессия [156], иммерсионное оптическое просветление [157, 158] и замораживание [159–162]. В частности, замораживание позволяет увеличить проникновение ТГц излучения до 1 мм, изменяя при этом диэлектрические свойства тканей в данном диапазоне [162]. Замороженные ткани, в отличие от незамороженных, обладают значительно более низким коэффициентом поглощения ТГц излучения, что создает выраженный контраст на границе раздела с незамороженной средой. Наряду со снижением поглощения низкие температуры изменяют показатель преломления в определенных пределах, что приводит к диэлектрическому контрасту между тканями, находящимися в разных состояниях. Соответственно благодаря диэлектрическому контрасту возможно различить границу раздела замороженная–незамороженная ткань. В связи с этим возможно применение ТГц импульсной спектроскопии для мониторинга толщины ледяного слоя в процессе его формирования.

Выводы по 1 главе

Криодеструкция тканей в настоящее время широко используется для различных клинических задач. Популярность этого метода обусловлена его преимуществами перед традиционной хирургией и другими методами термического воздействия. Метод подразумевает использование специализированных криоаппликаторов, которые должны быть биосовместимы, обеспечивать достаточную скорость охлаждения и поддерживать температуру, необходимую для некроза тканей. К материалам криоаппликаторов применяются соответствующие требования по теплопроводности, теплоемкости, термической, химической и механической прочности, отсутствия цитотоксичности.

Несмотря на свои преимущества, криодеструкция сопряжена с определенными рисками. Одним из основных является возможность повреждения здоровых тканей, окружающих зону воздействия, или неполная гибель клеток в этой зоне, что может привести к рецидиву. Для минимизации этих рисков критически важно разработать методы мониторинга процесса криодеструкции тканей.

В настоящее время для мониторинга используются различные методы, такие как температурный мониторинг, ультразвуковая визуализация, оптоакустические методы, КТ и МРТ. Однако эти подходы имеют существенные ограничения.

Для решения этих проблем предлагается использовать сапфир в качестве материала контактных криоаппликаторов поверхностного типа в сочетании с оптическими методами контроля, такими как анализ диффузного рассеяния и ТГц импульсная спектроскопия.

Сапфир обладает уникальными свойствами, которые делают его перспективным материалом для криохирургических инструментов:

- Высокая теплопроводность при криогенных температурах (77 К) позволяет достичь высокой скорости охлаждения и поддерживать низкие температуры в зоне контакта аппликатора с тканью.

- Химическая инертность и термостойкость сапфира позволяет применять его в контакте с биологическими тканями и жидкостями, а также использовать различные методы стерилизации.
- Прозрачность в широком диапазоне длин волн позволяет использовать сапфировые аппликаторы в комбинации с оптическими методами мониторинга контроля криодеструкции.

Анализ диффузно рассеянного излучения и ТГц импульсная спектроскопия чувствительны к изменениям оптических свойств тканей, что потенциально позволяет визуализировать границу ледяного слоя при мониторинге процесса криодеструкции.

Таким образом, **целью** данной работы является разработка оптических методов мониторинга формирования ледяного слоя в биологических тканях в процессе криодеструкции с использованием сапфировых криоаппликаторов.

Для достижения данной цели были поставлены и решены следующие **задачи**:

- Выращивание профилированных кристаллов сапфира для создания криоаппликаторов контактного типа, в том числе с возможностью оптического мониторинга процесса криодеструкции.
- Экспериментальное сравнение временной зависимости температуры фантомов биологических тканей при использовании сапфировых и металлических криоаппликаторов.
- Разработка на основе теории диффузии оптического излучения математической модели взаимодействия излучения с рассеивающей средой при контакте с ней сапфировых криоаппликаторов.
- Разработка сапфирового криоаппликатора с возможностью мониторинга процесса криодеструкции с помощью анализа интенсивности диффузного рассеяния.
- Разработка и экспериментальная апробация методов мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа интенсивности диффузного

рассеяния и ТГц импульсной спектроскопии с помощью сапфировых криоаппликаторов и оснастки.

ГЛАВА 2. Выращивание профилированных кристаллов сапфира для криоаппликаторов

Выбор сапфира в качестве материала криоаппликатора контактного поверхностного типа обусловлен не только соответствующим задаче криодеструкции сочетанием физико-механических свойств, химической инертности и биосовместимости, но и возможностью изготовления из этого материала криоаппликаторов различной геометрии (в том числе и довольно сложной) в зависимости от конструкции аппликатора и предполагаемого набора его функциональных свойств. Для решения различных задач по достижению необходимых температур в зоне контакта криоаппликатора с биологической тканью, скоростей охлаждения и отогрева участков обрабатываемой ткани, а также оснащению криоаппликатора функцией мониторинга формирования ледяного слоя в ткани непосредственно в процессе криодеструкции требуется набор аппликаторов различной формы. Необходимы криоаппликаторы как постоянного (монолитные стрежни, кристаллы с продольными каналами и т.п.), так и переменного сечения (стержни с изменяемой геометрией сечения, полые кристаллы, стержни с закрытыми каналами и т.п.).

Из-за высокой твердости сапфира применение механической обработки создает определенные трудности при разработке криоинструментов и других устройств на его основе, так как традиционные методы обработки, такие как резка, сверление, шлифовка и полировка, требуют значительных временных и финансовых затрат. Однако данная проблема может быть успешно решена с помощью методов выращивания кристаллов из расплава, которые позволяют получать сапфир заданной формы непосредственно в ходе ростового процесса. Это минимизирует или полностью исключает необходимость сложной механической обработки, что значительно снижает стоимость изготовления и повышает эффективность использования материала. Более того, некоторые профили кристаллов сапфира не могут быть получены другими методами, в том числе и механическими. Например, тонкие протяженные внутренние каналы

постоянного диаметра с высоким качеством поверхности могут быть сформированы в сапфире только в процессе их выращивания.

Одним из наиболее перспективных подходов к решению этой задачи является использование различных методов выращивания профилированных кристаллов из расплава, основанных на концепции формообразования, предложенной в середине прошлого века А.В. Степановым [89]. Эти методы позволяют получать кристаллы сапфира с постоянной или изменяемой сложной формой поперечного сечения, что открывает широкие возможности для создания изделий различной геометрии без необходимости последующей механической обработки.

Для получения кристаллов сапфира различной формы для криоаппликаторов в диссертационной работе использовалось два метода: 1) Edge-defined Film-fed Growth (EFG), или метод с капиллярной подпиткой; 2) Non-Capillary Shaping (NCS), или метод некапиллярного формообразования.

2.1 Метод Edge-defined Film-fed Growth

Метод EFG основан на подаче расплава из тигля через капиллярные каналы на рабочую поверхность формообразователя, где происходит зацепление за его внешние кромки (Рисунок 11) [163–165]. Использование смачиваемого расплавом оксида алюминия молибденового формообразователя позволяет осуществлять за счет капиллярных сил не только подпитку фронта кристаллизации, но и дает возможность образовывать мениск расплава на торцевой поверхности формообразователя, который задает форму поперечного сечения кристалла.

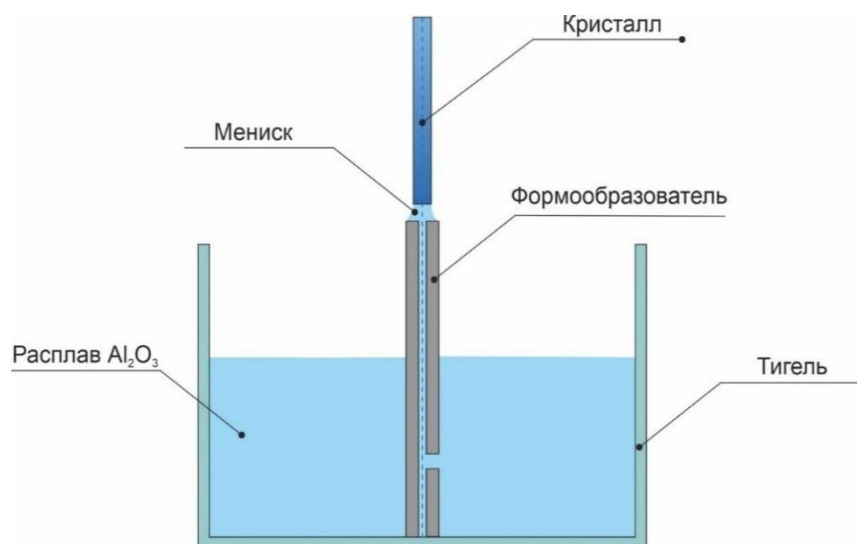


Рисунок 11 – Схема выращивания профилированных кристаллов сапфира методом EFG.

Для достижения необходимой температуры в зоне кристаллизации (температура плавления шихты оксида алюминия в тигле 2053°C), а также для обеспечения равномерного распределения температуры и низкого уровня термоупругих напряжений в непосредственной близости к фронту кристаллизации используется тепловая зона, состоящая из графитового концентратора с теплоизоляцией и молибденовой оснастки (тигля, формообразователя, затравкодержателя, а также системы нижних и верхних экранов) (Рисунок 12).

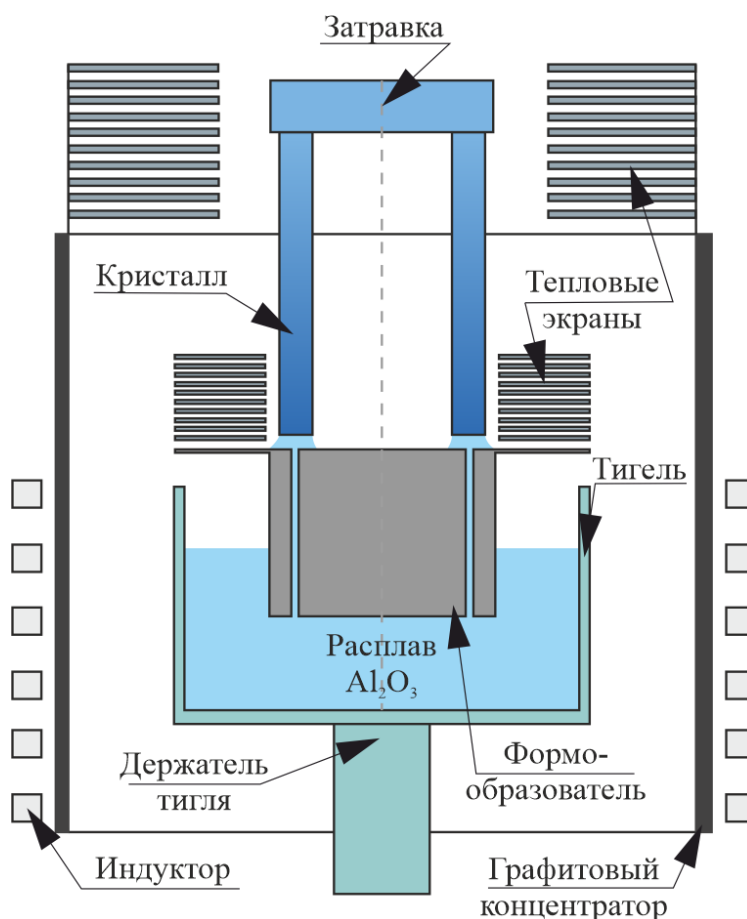


Рисунок 12 – Тепловая зона для выращивания профилированных кристаллов сапфира методом EFG.

Поперечное сечение кристалла в основном определяется конструкцией формообразователя [77, 166–168] и может изменяться в узких пределах, определяемых зоной существования мениска расплава. Выбор молибдена в качестве материала формообразователя обусловлен его высокой химической стойкостью к расплаву оксида алюминия и простотой механической обработки. Расплав подается из тигля через капиллярный канал на рабочую поверхность формообразующего устройства, в котором реализуется зацепление за внешние кромки рабочей поверхности формообразователя. На его торцевой части формируется мениск расплава, который затем кристаллизуется на определенной высоте с фиксированным поперечным сечением. При условии зацепления расплава за кромки формообразователя обеспечивается устойчивость формы мениска к флуктуациям температуры формообразователя и скорости

вытягивания в значительно более широком интервале параметров процесса по сравнению с выращиванием со свободной поверхности расплава.

Выращивание профилированных кристаллов сапфира проводилось на ростовых установках индукционного нагрева НИКА (частота 22 кГц) и НИКА-ПРОФИЛЬ (частота 12 кГц) (обе – производства ФГУП ЭЗАН, г. Черноголовка), снабженных датчиками веса (Рисунок 13).

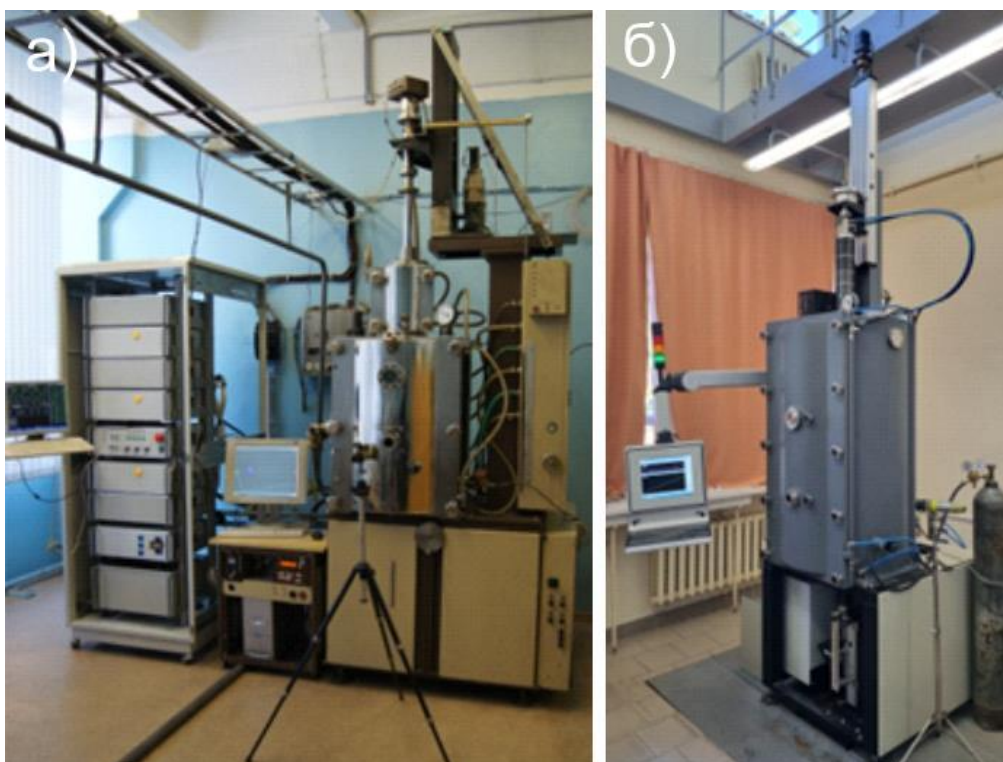


Рисунок 13 – Установки индукционного нагрева для выращивания профилированных кристаллов сапфира: (а) НИКА и (б) НИКА-ПРОФИЛЬ.

В качестве исходного материала для роста использовались кристаллы, полученные методами Вернейля или Киропулоса. Выращивание проводилось в защитной атмосфере высокочистого аргона под давлением в ростовой камере 1,1–1,3 атм. Для инициирования процесса роста использовались затравочные кристаллы сапфира, ориентированные вдоль оси $\{0001\}$, скорость вытягивания составляла 40–80 мм/ч.

Для выращивания профилированных кристаллов сапфира использовалась автоматизированная система управления с использованием датчика веса кристалла [77, 169], который служит основным источником информации о ходе

процесса, позволяя отслеживать динамику роста кристалла. На основе данных, полученных от весового датчика и программных функций, система автоматически регулирует мощность нагрева, скорость вытягивания кристалла и перемещения тигля, что позволяет контролировать и поддерживать в процессе роста не только поперечное сечение кристалла, но и состояние фронта кристаллизации, от которого во многом зависит качество кристалла.

Измеряемый в процессе роста весовой сигнал M_d (эквивалент массы) сравнивается с программным (расчетным) значением. По отклонению веса и его первой и второй производным вводится управление мощностью нагрева тепловой зоны с использованием пропорционально-интегрально-дифференциального (ПИД) закона. Независимо от реальной формы поперечного сечения кристалла или их количества в случае группового выращивания для простоты расчета используется радиус R_{eq} эквивалентного цилиндрического стержневого кристалла, поскольку первая производная (пропорциональная составляющая ПИД-закона) пропорциональна отклонению площади поперечного сечения, т.е. отклонению R_{eq}^2 . Таким образом, для поддержания процесса выращивания важно проанализировать отклонение измеряемого сигнала M_d и скорость изменения $\dot{M}_d$ из эквивалентной массы программы и массовой скорости.

Для выращивания высококачественных профилированных кристаллов сапфира необходимо контролировать и предотвращать переохлаждение межфазной границы, которое сопровождается образованием ячеистого фронта кристаллизации с последующим возникновением газовых включений в объеме кристаллов. Как показали проведенные эксперименты по выращиванию профилированных кристаллов сапфира с использованием датчика веса, чем больше переохлаждение фронта кристаллизации, тем больше амплитуда колебаний отклонения скорости изменения массы от программной ($\delta\dot{M}$). Эта величина использовалась в качестве основного параметра, по которому проводилось управление. Т.е. наряду с анализом всех величин (отклонения

массы от программной (δM), его первой ($\delta \dot{M}$) и второй ($\delta \ddot{M}$) производных) программа осуществляла постоянный временной анализ амплитуды колебаний $\delta \dot{M}$. Измеряемый параметр $\delta \dot{M}$ является характеристикой колебательного режима отклонения скорости нарастания массы, всегда присутствующего в реальной ростовой системе. Период колебаний определяется временными характеристиками самого процесса и программного регулятора. Амплитуда колебаний определяется тепловыми и скоростными режимами механической системы.

Используя данный параметр, точнее проводя анализ его амплитуды, можно прецизионно контролировать высоту мениска и состояние межфазной границы. Необходимо выбрать диапазон амплитуды колебаний $\delta \dot{M}$ и в процессе выращивания кристаллов удерживать амплитуду колебаний в этом диапазоне. На основе этих данных рассчитывается управляющее изменение мощности нагрева согласно ПИД-закону, где пропорциональная составляющая соответствует отклонению скорости изменения реальной массы от программной.

Метод позволяет получать различные формы инструментов из сапфира со сложным поперечным сечением, геометрией и размерами при кристаллизации сформированного формообразователем жидкого столбика расплава [170–178]. Методом EFG были изготовлены различные монолитные, одно- и многоканальные кристаллы [173-175], в том числе для использования в качестве криоаппликаторов были выращены профилированные кристаллы сапфира в виде стержней, стержней со сквозными и несквозными каналами (Рисунок 14).

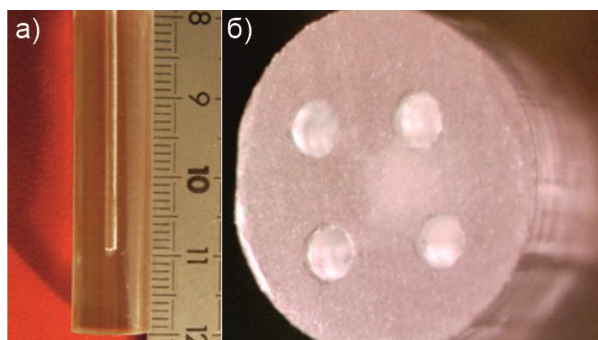


Рисунок 14 – Криоаппликаторы, выращенные с помощью метода EFG: (а) одноканальный и (б) многоканальный.

Из сапфирового стержня, выращенного EFG методом, был изготовлен криоаппликатор погружного типа диаметром 10 мм и длиной 40 мм, с использованием которого были проведены испытания на печени *ex vivo* (Рисунок 15). Данный аппликатор выдерживался в жидком азоте в течение 50 секунд до окончания кипения азота, а затем приводился в контакт с тканью в течение 3 минут. По истечении заданного времени проводились измерения диаметра и глубины сформированной области ледяного слоя, объем которой составил $V_{\text{EFG}} = 376 \text{ мм}^3$.

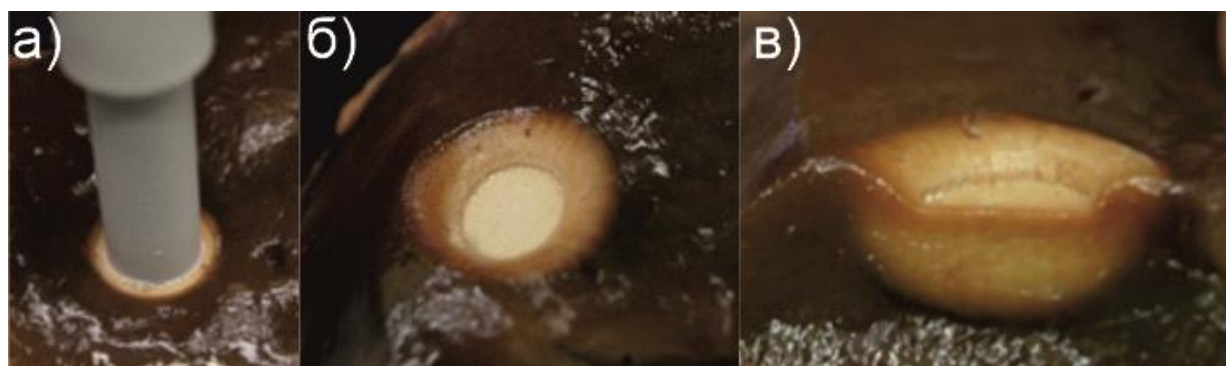


Рисунок 15 – Демонстрация криодеструкции с помощью сапфирового криоаппликатора погружного типа, полученного из заготовки, выращенной методом EFG. (а) Контакт с тканью, (б) вид сформированного ледяного слоя, (в) поперечной срез в области контакта.

2.2 Метод некапиллярного формообразования

2.2.1 Выращивание монокристаллов сапфира

Метод EFG позволяет выращивать из расплава высококачественные кристаллы сапфира различного профиля с относительно небольшой площадью поперечного сечения. При его увеличении требуется использование нескольких капиллярных каналов для снабжения фронта кристаллизации необходимым количеством расплава. Это приводит к образованию скопления газовых включений и повышенной концентрации примесей в зонах встречи потоков расплава в мениске из разных капиллярных каналов. В данных зонах

формируются области с минимальными компонентами скорости течения расплава, в которых имеется большая вероятность зарождения, роста и захвата газовых включений.

Для выращивания высококачественных профилированных кристаллов с большой площадью поперечного сечения используется метод некапиллярного формообразования (NCS – Noncapillary Shaping) [168, 179], который позволяет предотвращать образование скопления газовых включений, вызванных встречными потоками расплава под фронтом кристаллизации, характерных для выращивания стержней большого сечения при использовании капиллярной подпитки. Принцип метода NCS заключается в подаче расплава из тигля к фронту кристаллизации через канал, диаметр которого превышает величину капиллярной постоянной расплава, чтобы поток расплава под фронтом кристаллизации был ламинарным и перемещался от центра к периферии, когда свободная поверхность мениска является стоком для газовых включений и примеси. Один из вариантов поднятия расплава к фронту кристаллизации через некапиллярный канал осуществляется за счет разности между давлением в ростовой камере и давлением внутри замкнутого объема под затравочной пластиной (Рисунок 16).

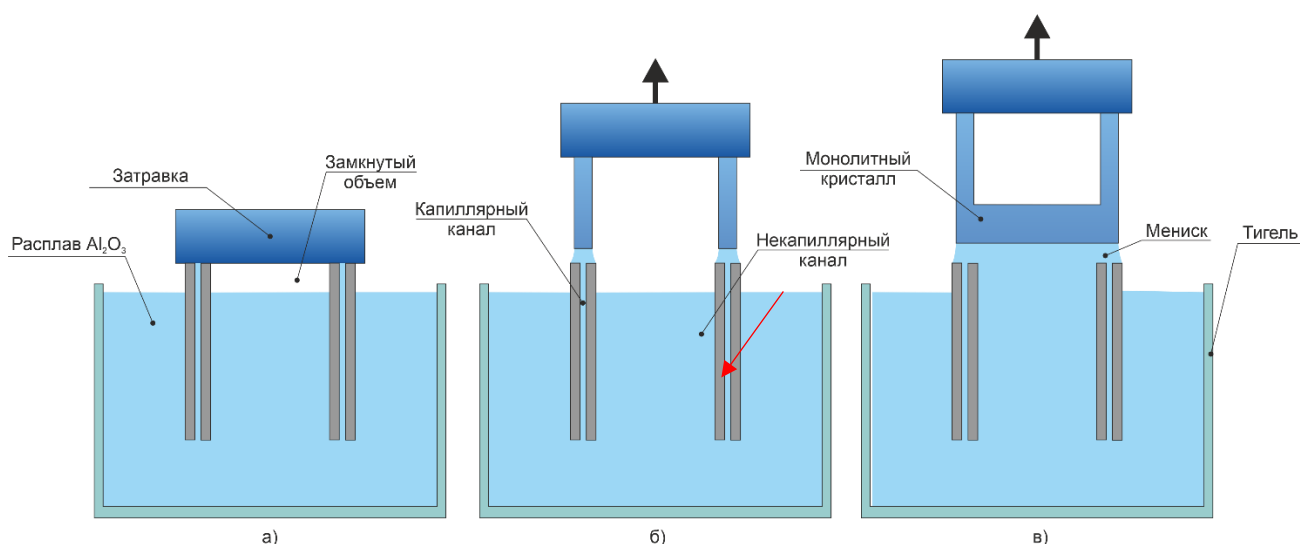


Рисунок 16 – Схема выращивания кристаллов сапфира методом NCS: (а) затравливание, (б) поднятие расплава с помощью разницы давлений, (в) начало формирования монолитного кристалла [77].

После затравливания пластиной на весь рабочий торец формообразователя с кольцевым капиллярным каналом под пластиной образуется замкнутая полость. На начальном этапе вытягивания растет кристалл в виде трубы, и расплав из-за разности давления начинает подниматься через центральный канал формообразователя. После того, как расплав достигает уровня рабочих кромок формообразователя, начинает расти монолитная часть.

Использование подпитки только из центрального некапиллярного канала позволяет выращивать монолитные кристаллы сапфира большого поперечного сечения практически свободные от газовых включений в их объеме. Рисунок 17 иллюстрирует неискаженное изображение, формируемое через такой кристалл.



Рисунок 17 – Кристалл сапфира диаметром 32 мм, выращенный методом NCS.

Для управления формой и предотвращения переохлаждения фронта кристаллизации при выращивании монолитных кристаллов методом NCS на стадиях затравливания, стационарного роста и перехода от одного профиля к другому также использовалась автоматизированная система с датчика веса [169], аналогично методу EFG.

Методом NCS были выращены монолитные кристаллы сапфира различного диаметра без газовых включений в их объеме, которые использовались в качестве аппликаторов в криодеструкторах погружного типа

(Рисунок 18). Изготовленные криодеструкторы с сапфировыми аппликаторами диаметром 24 и 32 мм были экспериментально испытаны на свиной печени *ex vivo* по той же методике, что и аппликаторы, полученные EFG методом. С их помощью были получены объёмы ледяного слоя $V_{NCS} = 442 \text{ мм}^3$ и $V_{NCS} = 1357 \text{ мм}^3$ для аппликаторов с диаметрами 24 и 32 мм, соответственно.

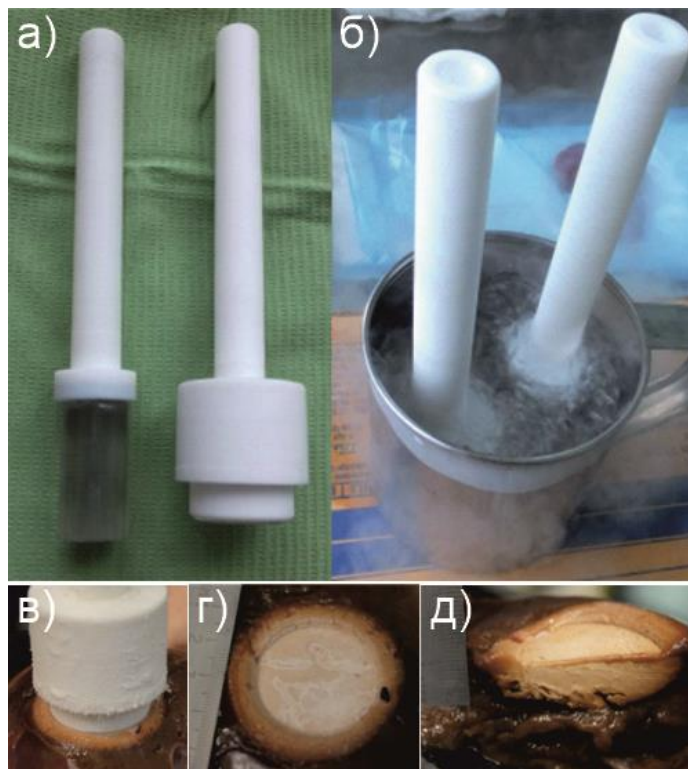


Рисунок 18 – Криоаппликаторы погружного типа с диаметром 24 и 32 мм, выращенными NCS методом: (а) внешний вид, (б) охлаждение в жидком азоте, (в) контакт с тканью криоаппликатора с диаметром 32 мм, (г) вид ледяного слоя, (д) сечение ткани в области ледяного слоя.

2.2.2 Выращивание кристаллов сапфира переменного сечения

Для выращивания полых сапфировых криоаппликаторов использовалась модификация метода NCS, который позволял контролировать длину трубчатой и монолитной частей кристалла за счет «включения» или «отключения» подъема расплава по центральному каналу. Для этого в формообразователе делалось боковое отверстие, которое на стадии роста монолитного кристалла находилось

ниже уровня расплава в тигле, а при переходе к трубчатой части кристалла за счет перемещения тигля с расплавом боковое отверстие находилось выше уровня расплава (Рисунок 19) [176, 180].

Этот подход позволяет эффективно формировать как трубчатую, так и монолитную части кристалла. Для образования трубчатой части расплав подается через кольцевой капиллярный канал (Рисунок 19 (а)), а для формирования монолитной части – через центральный некапиллярный канал (Рисунок 19 (б)). Подъем расплава к фронту кристаллизации по некапиллярному каналу осуществляется за счет разности между давлением в ростовой камере и давлением внутри замкнутого объема под затравочной пластиной. Этот подход обеспечивает стабильность процесса и высокое качество получаемых кристаллов.

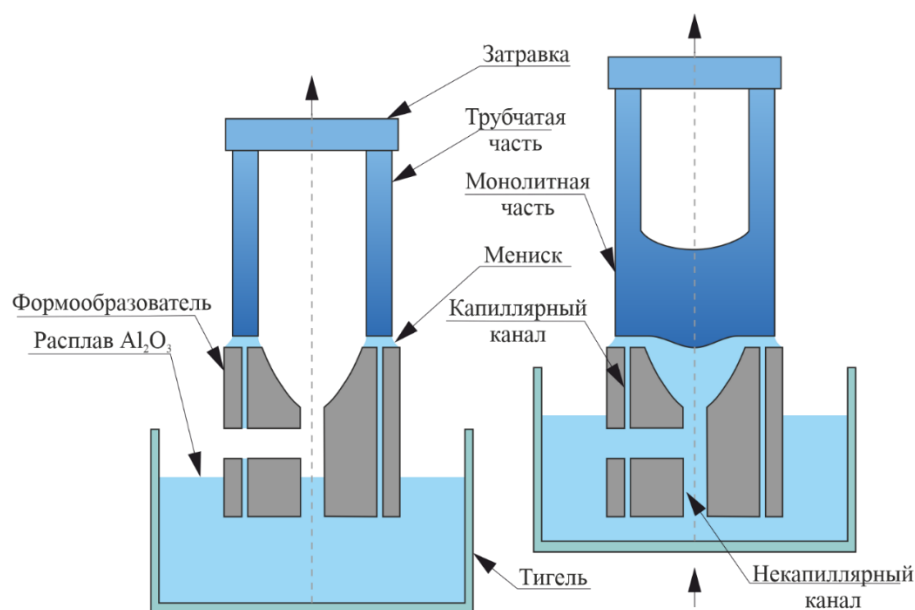


Рисунок 19 – Схема выращивания (а) трубчатой и (б) монолитной частей кристаллов переходного сечения методом NCS [176].

Для выращивания кристаллов сапфира переменного профиля методом NCS также использовалась автоматизированная система управления с датчиком веса кристалла. Поскольку для выращивания кристалла переходной формы методом NCS программные функции изменения веса кристалла отсутствуют, решалась задача получения функции для программного изменения весового сигнала в

процессе формирования переходной трубчато-монокристаллической зоны на основе закона Бойля-Мариотта и уравнения сохранения массы с учетом геометрии кристалла, геометрии формообразователя и тигля.

Так же как в случае выращивания профилированных кристаллов методом EFG, для расчета использовался радиус R_{eq} эквивалентного цилиндрического стержневого кристалла. Если на этапе стационарного выращивания трубчатого или монокристаллов программная скорость нарастания массы определяется площадью сечения выращиваемого профиля [181], то для управления процессом выращивания переходного участка от трубчатой части к монокристаллической важно знать в каждый момент времени соответствие между требуемой геометрией сечения кристалла и сигналом датчика веса [176].

При выращивании достаточно длинной кристаллической трубки ее температура изменяется вдоль длины. Однако для фиксированной точки внутри трубки и объема расплава, поднимаемого за счет разности давления через некапиллярный канал (Рисунок 20 (а)), температура почти не зависит от времени. Таким образом, можно предположить, что газ внутри и около стенки трубки находится в изотермических условиях и выполняется закон Бойля-Мариотта. Если P_0 – исходное давление в ростовой камере до начала процесса перехода от трубчатой части кристалла к монокристаллической, $V_{i,0}$ – начальный объем газа внутри полости трубки, P_i и V_i – соответствующие параметры во время перехода, то согласно закону Бойля-Мариотта:

$$P_0 V_{i,0} = P_i V. \quad (1)$$

Изменение объема газа V_i связано с увеличением длины трубки, что увеличивает V_i , и одновременно с объемом расплава V_m , поступающего через некапиллярный канал выше уровня расплава в тигле, что уменьшает V_i :

$$V_i = V_{i,0} + \pi R_2^2 \int_{t_0}^t v_c d\tau - V_m, \quad (2)$$

$$V_m = \pi \int_0^{h_p} R_d(z) dz, \quad (3)$$

где $\int_{t_0}^t v_c d\tau = \Delta l_c(t)$ – приращение длины трубки с внешним радиусом R_1 и внутренним радиусом R_2 ; v_c – скорость вытягивания кристалла, $R_d(z)$ и h_p – текущий радиус и высота уровня расплава в некапиллярной части формообразователя, соответственно.

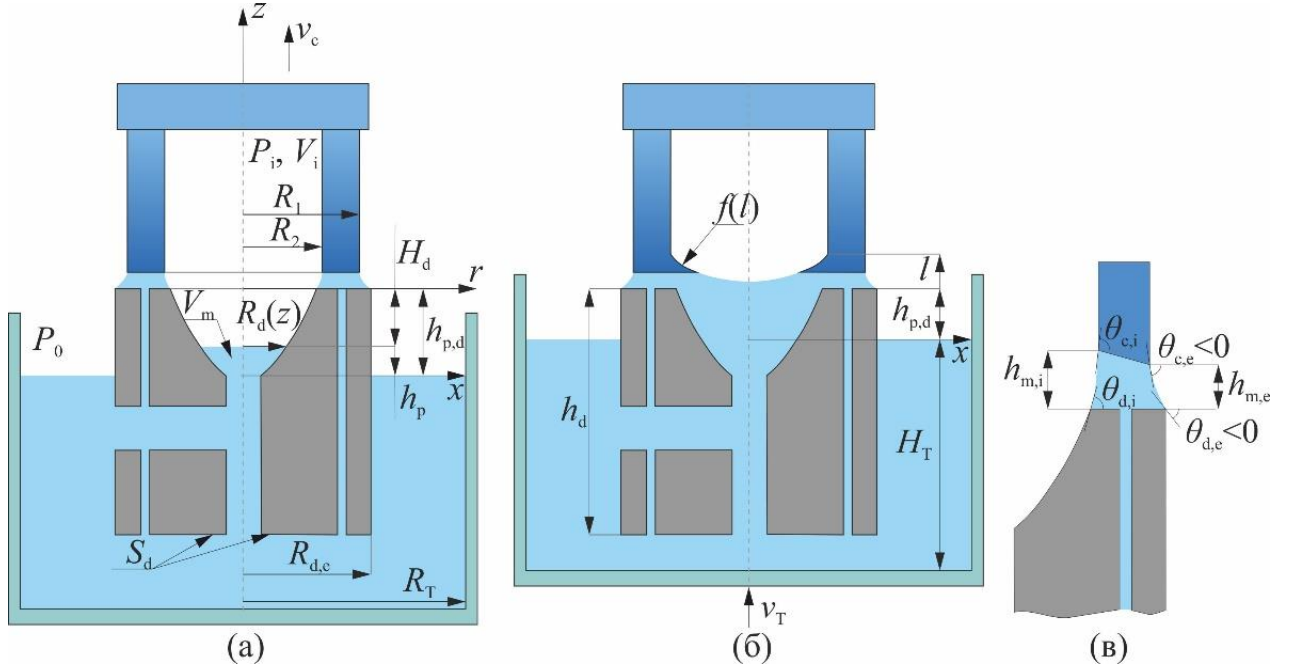


Рисунок 20 – Схема перехода от полый части кристалла к монолитной. (а)

Стадия выращивания трубчатой части кристалла. (б) Стадия начала формирования перехода с трубчатой части кристалла на монолитную. (в) Схема мениска расплава над капиллярным каналом. [176]

Если предположить, что уровень расплава в некапиллярном канале плоский, то, используя уравнение (1), можно найти текущее давление P_i внутри полости над поднимающимся расплавом:

$$P_i = \frac{P_0 V_{i,0}}{\left[V_{i,0} + \pi R_2^2 \Delta l_c(t) - \pi \int_0^{h_p} R_d(z) dz \right]}. \quad (4)$$

Разница давления в ростовой камере P_0 и внутри трубки P_i связана с текущей высотой h_p :

$$P_0 - P_i = \rho_L g h_p \quad (5)$$

где ρ_L – плотность расплава, g – ускорение свободного падения. Тогда

$$h_p = \left(\frac{P_0}{g\rho_L} \right) \left[1 - V_{i,0} \left(V_{i,0} + \pi R_2^2 \Delta l_c(t) - \pi \int_0^{h_p} R_d(z) dz \right) \right]. \quad (6)$$

Данное уравнение описывает связь уровня расплава в некапиллярном канале с формой канала и скоростью вытягивания v_c .

Далее рассмотрим эффективную массу M_d , регистрируемую системой автоматического контроля веса:

$$M_d = M_c + M_m + M_p, \quad (7)$$

где M_c – масса кристаллической трубки, M_m – масса мениска под действием отрицательного внешнего статического давления, M_p – масса, обусловленная давлением расплава высотой h_p в некапиллярном канале.

Текущее значение M_c определяется как:

$$M_c = \rho_s \int_0^t (R_1^2 - R_2^2) v_c dt, \quad (8)$$

где ρ_s – плотность кристалла. M_m зависит от текущей формы мениска (Рисунок 20 (а,в)):

$$\begin{aligned} M_m = & \frac{[\pi \rho_L (R_1^2 - R_2^2)(h_{m,e} + h_{m,i})]}{2} - \pi \rho_L a^2 R_1 \sin \theta_{c,e} + \pi \rho_L a^2 R_2 \sin \theta_{c,i} \\ & + \pi \rho_L a^2 R_{d,e} \sin \theta_{d,e} - \pi \rho_L a^2 R_d(h_{p,d}) \sin \theta_{d,i} \\ & - \pi \rho_L [R_{d,e}^2 - R_d^2(h_{p,d})] H_d, \\ & H_d < 0, \quad H_d = h_p - h_{p,d}, \end{aligned} \quad (9)$$

где a – капиллярная постоянная расплава; $h_{m,e}$, $h_{m,i}$, $\theta_{c,e}$, $\theta_{c,i}$ и $R_{d,e}$ указаны на Рисунке 20. При стационарном росте трубки углы $\theta_{c,e}$ и $\theta_{c,i}$ равны постоянному значению ε , зависящему от материала расплава. Наконец, третий член в уравнении (7) оценивается как:

$$M_p = h_p \rho_L \pi R_d^2(h_p), \quad (10)$$

что с учетом уравнения (6) дает:

$$M_p = \left[\pi \frac{R_d^2(h_p) P^0}{g} \right] \left[1 - V_{i,0} / \left(V_{i,0} + \pi R_d^2 \Delta l_c(t) - \pi \int_0^{h_p} R_d^2(z) dz \right) \right]. \quad (11)$$

Таким образом, уравнения (7)–(11) определяют весовой сигнал при подъеме расплава в некапиллярном канале до начала закрытия трубки.

После подъема расплава и достижения им стенок трубки начинается формирование монолитной части кристалла. Это сопровождается частичной кристаллизацией расплава у стенок (Рисунок 20 (б)). Общий процесс перехода с трубчатой части кристалла на монолитную удобно проводить, используя скорость изменения массы $\dot{M}_d$ как параметр, связанный с отклонением площади поперечного сечения кристалла.

На этом этапе зарегистрированная масса, рассчитанная из весового сигнала, является суммой массы $\dot{M}_c$ (учитывающей кристаллическую трубку и кристаллизующуюся часть у стенок), эквивалентной массы $\dot{M}_m$ мениска и массы $\dot{M}_p$, связанной с разницей внешнего и внутреннего давлений трубки. Скорость изменения массы $\dot{M}_d$ определяется как:

$$\dot{M}_d = \dot{M}_c + \dot{M}_m + \dot{M}_p \quad (12)$$

Эквивалентная масса M_p и ее скорость изменения зависят от расстояния $h_{p,d}$ между рабочими кромками формообразователя и уровнем расплава в тигле:

$$M_p = \pi \rho_L h_{p,d} f^2(l), \quad (13)$$

$$\dot{M}_p = \pi \rho_L h_{p,d} f^2(l) + 2\pi \rho_L h_{p,d} f(l) \left(\frac{\partial f(l)}{\partial z} \right) v_c, \quad (14)$$

где $f(l)$ – функция, описывающая растущее продольное сечение кристаллизующейся части внутри трубки, l – длина кристаллизующейся части.

Для нахождения $h_{p,d}$ используется закон сохранения массы:

$$\pi \rho_s [R_1^2 - f^2(l)] v_c = \rho_L (\pi R_T^2 - S_d) (h_{p,d} + v_T), \quad (15)$$

где S_d – площадь нижней части формообразователя, погруженного в расплав, v_T – скорость перемещения тигля, R_T – внутренний радиус тигля. Из уравнения (15) следует:

$$h_{p,d} = \left[\pi \rho_s \frac{(R_1^2 - f^2(l))}{\rho_L (\pi R_T^2 - S_d)} \right] v_c - v_T \quad (16)$$

Поскольку масса трубчатой части постоянна на этом этапе, скорость $\dot{M}_c$ учитывает только изменение массы кристаллизующейся части:

$$\dot{M}_c = \pi \rho_s [R_1^2 - f^2(l)] v_c. \quad (17)$$

Основной вклад в скорость изменения эквивалентной массы мениска вносит изменение внешнего статического давления, связанное с изменением уровня расплава в тигле. Приближенное выражение для $\dot{M}_m$:

$$\dot{M}_m \approx \pi \rho_L [R_{d,e}^2 - f^2(l)] h_{p,d} - 2\pi \rho_L h_{p,d} f(l) \left(\frac{\partial f(l)}{\partial z} \right) v_c. \quad (18)$$

Из уравнений (12)–(18) получаем:

$$\dot{M}_d \approx \pi \rho_s [R_1^2 - f^2(l)] v_c + \pi \rho_L R_{d,e}^2 h_{p,d}, \quad (19)$$

где $h_{p,d}$ рассчитывается по уравнению (16).

Таким образом, используя уравнение (19), можно реализовать весовой контроль перехода с одного сечения кристалла на другое и поддерживать желаемую геометрию дна, формирующегося внутри кристаллической полости.

Для верификации полученных выражений был проведен следующий тест. Используя заданные параметры тепловой зоны и режимы выращивания кристалла, программный весовой сигнал был рассчитан по уравнениям (7)–(11). Затем в процессе ростового эксперимента без использования системы автоматического контроля был измерен весовой сигнал при подъеме расплава (Рисунок 21), который описывает квазилинейный характер изменения веса. Стационарный рост трубчатой части характеризуется увеличением сигнала веса. Затем подъем тигля приводит к уменьшению весового сигнала, что связано с уменьшением модуля внешнего статического давления в мениске из-за снижения расстояния $h_{p,d}$ между верхней поверхностью формообразователя и уровнем расплава в тигле. Далее подъем расплава через некапиллярный канал вызывает резкое увеличение веса. После дополнительного перемещения тигля, уменьшающего сигнал, начинается формирование монолитной части.

Рассчитанный сигнал полностью совпадает с измеренным, что подтвердило корректность уравнений (7)–(11). Для проверки уравнения (19)

было сделано предположение, что при формировании монолитной части внутренняя поверхность продольного сечения кристалла описывается слабо параболической кривой. Реальная форма поверхности кристалла сравнивалась с предполагаемой. Они хорошо согласовывались, погрешность составила менее 5%.

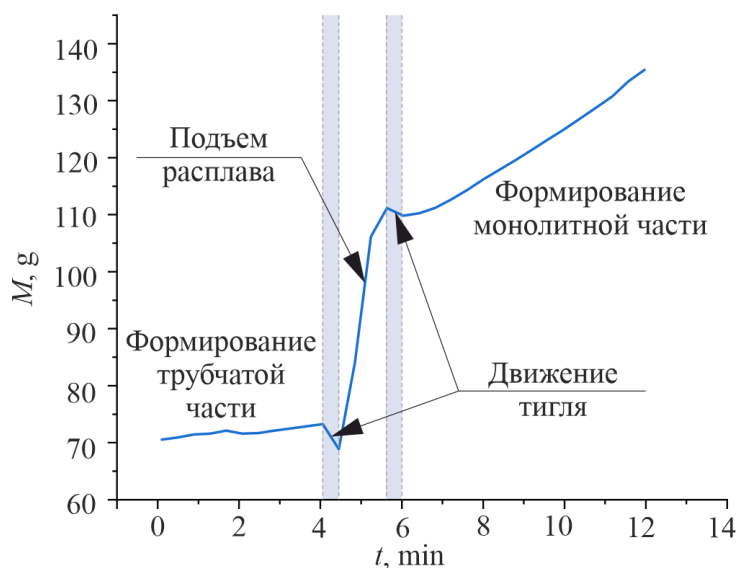


Рисунок 21 – Изменение весового сигнала при выращивании кристалла сапфира с переходом от трубчатой части к монолитной.

На Рисунке 22 показано продольное сечение кристалла сапфира на участке перехода от трубчатой части к монолитной. Внешний диаметр кристалла 32 мм.

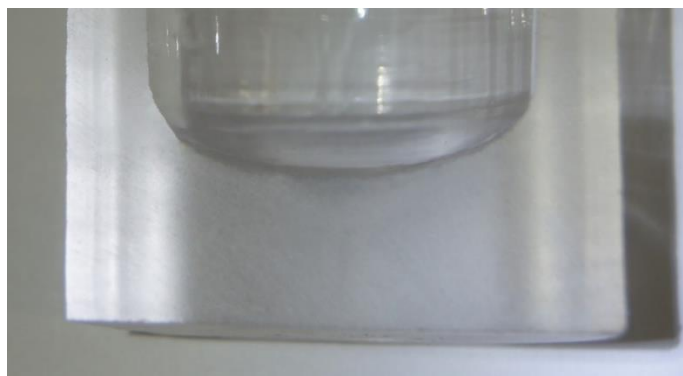


Рисунок 22 – Продольное сечение переходного участка кристалла сапфира от трубчатой части к монолитной.

Методом NCS в автоматическом режиме с использованием весового контроля были выращены профилированные кристаллы сапфира переменного сечения (Рисунок 23), которые были использованы в качестве криоаппликаторов наливного типа. В отличие от метода вариационного формообразования (VST) [77, 182, 183] метод NCS обеспечивает выращивание кристаллов с минимальным количеством структурных дефектов. Это подтверждается экспериментальными данными: на Рисунке 23 (г) видно, что кристалл, выращенный методом VST, содержит газовые включения в монолитной части, тогда как образец, полученный методом NCS, отличается отсутствием подобных дефектов. Это позволяет достигать не только большей однородности распределения температуры в зоне контакта криоаппликатора с тканью, но и использовать высококачественные кристаллы переменного сечения для оптического контроля процесса криодеструкции.

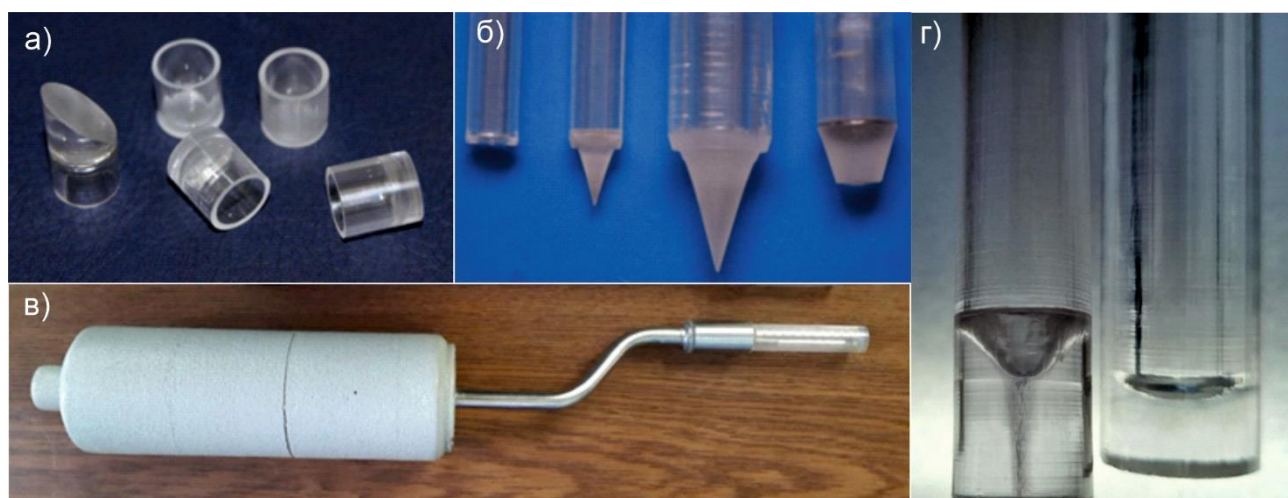


Рисунок 23 – Полые сапфировые криоаппликаторы с различной формой торцевой поверхности (а, б), выращенные методом NCS; азотный криоаппликатор наливного типа с полым сапфировым наконечником (в); полые кристаллы, выращенные методами VST (слева) и NCS (справа) диаметром 16 и 18 мм соответственно.

Выводы по 2-й главе

1. Для метода некапиллярного формообразования проведен расчет программного изменения весового сигнала для участка перехода с трубчатой части кристалла на монолитную. Эксперименты по выращиванию кристаллов переменного профиля показали, что расчеты хорошо согласуются реальным изменением веса.
2. Методами с капиллярной подпиткой и некапиллярного формообразования выращены профилированные кристаллы сапфира постоянного и переменного сечения для их использования в качестве криоаппликаторов.

ГЛАВА 3. Экспериментальное изучение изменения температуры фантомов биологических тканей при использовании сапфировых и металлических криоаппликаторов

Криоаппликаторы традиционно производятся из металлов и металлических сплавов, таких как медь, латунь, никелид титана, нержавеющая сталь, алюминий [56–58], что в основном обусловлено прежде всего их относительно высокой теплопроводностью и возможностью получения криоинструментов различных форм и размеров. Тем не менее, использование металлических криоаппликаторов имеет ряд ограничений, препятствующих достижению высокой эффективности при проведении криохирургии: низкую скорость охлаждения биоткани, недостаточно низкую температуру контактной зоны по сравнению с температурой жидкого азота, что, как следствие, препятствует увеличению объема ледяного слоя, необходимость использования сложной и дорогостоящей аппаратуры (например, проточный криоаппликатор) для достижения более низких температур, большой градиент температуры для аппликаторов с относительно большой площадью контактной зоны, а также сложности при использовании некоторых методов стерилизации.

По сравнению с металлами и сплавами сапфир обладает более высокой теплопроводностью при криогенных температурах, биосовместимостью, оптической прозрачностью в широком спектральном диапазоне, высокой химической инертностью и механической прочностью [9]. Современные технологии выращивания кристаллов, такие как методы EFG и NCS, позволяют получать профилированные кристаллы сапфира заданной геометрии, включая сложные формы, что существенно снижает затраты на механическую обработку. Комбинация уникальных физико-химических свойств сапфира с возможностью получения кристаллов различного поперечного сечения делает этот материал перспективным для производства криоаппликаторов нового поколения.

Указанные особенности подчеркивают необходимость экспериментального анализа температурной динамики в биологических тканях

или их фантомах при использовании стандартных металлических и сапфировых криоаппликаторов. Актуальность такого сравнения обусловлена необходимостью объективной оценки их эффективности.

3.1 Экспериментальное сравнение температурных зависимостей фантомов биологической ткани при использовании полых и монолитных сапфировых аппликаторов

3.1.1 Описание эксперимента

Для изучения температурной динамики в фантомах биологических тканей при использовании металлических и сапфировых криоаппликаторов была разработана экспериментальная установка, которая состояла из емкости (резервуара) для хладагента, имеющая разъем для соединения с аппликатором с возможностью его замены, термостата с водяной циркуляцией для поддержания начальной температуры образца, температурных датчиков и цифровой камеры (Рисунок 24) [184]. В качестве криоаппликаторов использовались медные, латунные и сапфировые стержни одинаковой геометрии (диаметром 11 мм и длиной 180 мм).

Для визуализации фронта замерзания использовался фантом биологической ткани на основе гидрогеля «Медиагель» («Гельтек-Медика», Москва), обладающего термическими свойствами, близкими к биологическим тканям [184–186]. Фантом размером 90×90×90 мм³ предварительно нагревался до 37 °С, после чего помещался в водяной термостат для поддержания стабильной температуры на его границах (Рисунок 24 (а)). Температура окружающей среды составляла около 24 °С.

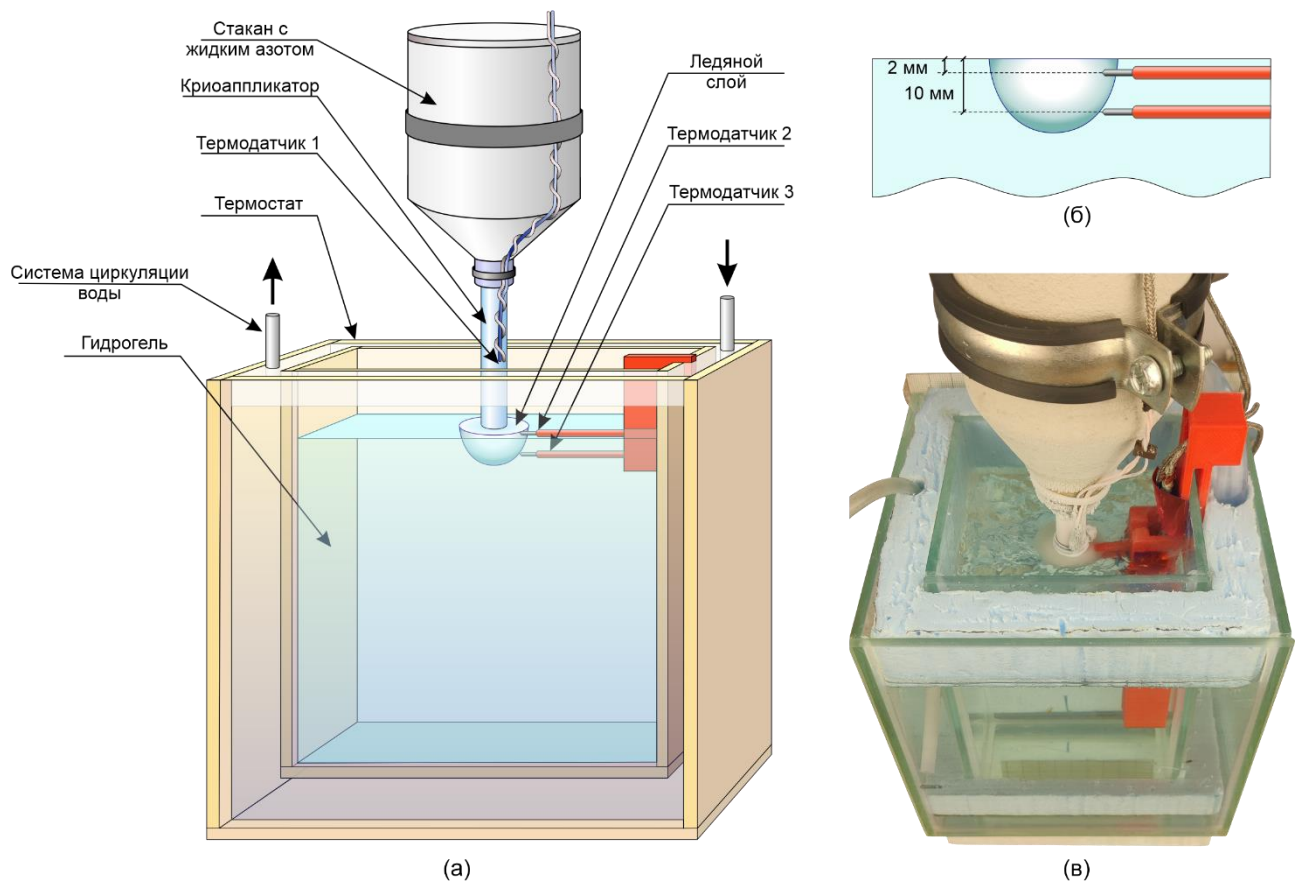


Рисунок 24 – (а) Схема экспериментальной установки исследования температуры фантома ткани в процессе формирования ледяного слоя.
 (б) Положение термодатчиков, зафиксированных внутри модельной среды.
 (в) Фотография экспериментальной установки [184].

В ходе эксперимента криоаппликатор охлаждался с помощью жидкого азота, а затем приводился в контакт с поверхностью фантома. Процесс формирования ледяного слоя и распространение ледяного фронта вглубь образца фиксировались с помощью цифровой камеры для оценки размеров ледяного слоя. Погрешность измерений не превышала 1 мм.

Кроме того, в эксперименте использовались три термодатчика сопротивления (класс А, Heraeus Sensor Technology, Ханау, Германия) для измерения температуры. Калибровка датчиков проводилась с использованием комплекта измерительного оборудования третьей категории: платинового эталонного термометра сопротивления и цифрового эталонного термометра

(ООО «ЭЛЕМЕР», Зеленоград) в соответствии с ГОСТ 8.558-2009. Применялся метод прямого сравнения, а погрешность измерений не превышала 0,5 °С. Расположение термодатчиков показано на Рисунке 24 (б) и (в). Первый датчик измерял температуру поверхности аппликатора, а второй и третий были закреплены внутри фантома на глубине 2 и 10 мм, соответственно.

3.1.2 Результаты эксперимента

Результаты описанного в разделе 3.1.1 эксперимента по измерению температуры в фантоме биологической ткани при использовании металлических и сапфировых криоаппликаторов представлены на Рисунке 25 (а). Как видно из графиков, сапфировый криоаппликатор обеспечивает более низкие температуры во всех трех точках измерения: как на поверхности аппликатора, так и в объеме образца. Благодаря способности сапфира поддерживать более низкую температуру поверхности вблизи температуры жидкого азота, достигается более интенсивное и быстрое формирование ледяного слоя на глубине 2 и 10 мм от поверхности (Рисунок 25 (а), (б) и (в)). Кроме того, сапфировый аппликатор формирует ледяной слой большего объема (Рисунок 25 (г)–(ж)), что указывает на потенциально больший объем крионекроза тканей при однократном применении. На Рисунке 24 (з) показана фотография ледяного слоя, образовавшегося с использованием сапфирового аппликатора в фантоме биологической ткани на основе гидрогеля.

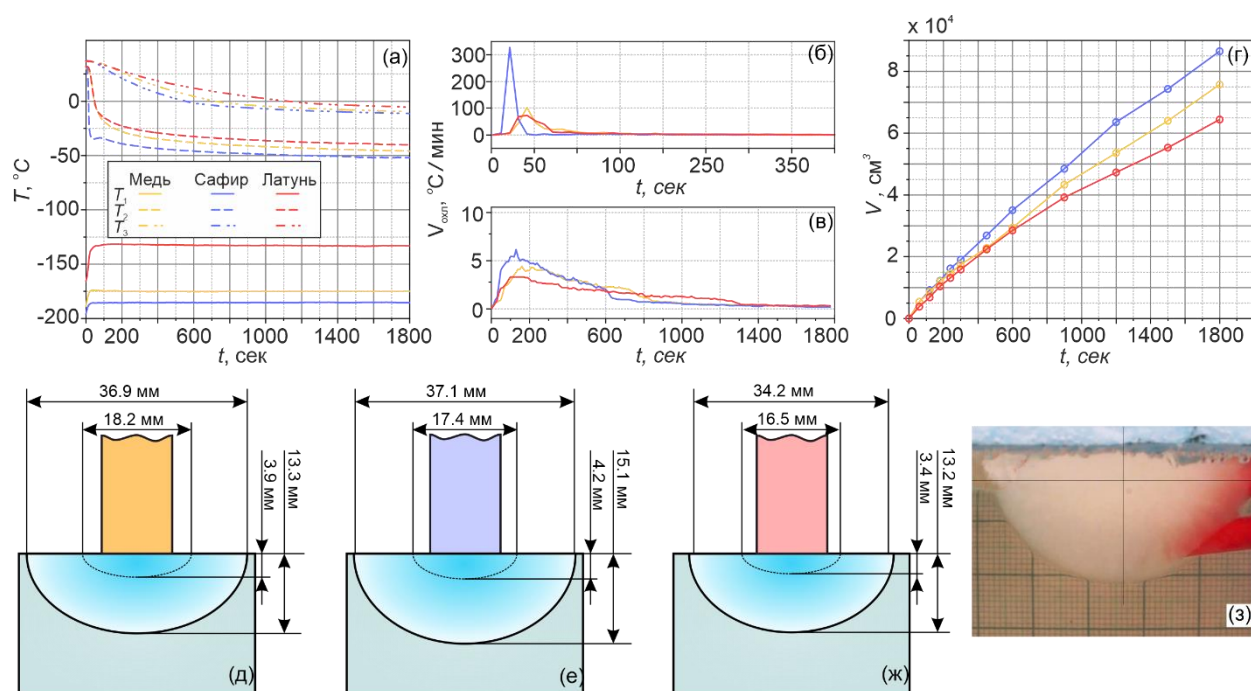


Рисунок 25 – Результаты экспериментов, проведенных с помощью медных, латунных и сапфировых криоаппликаторов диаметром 11 мм. (а) Температура на поверхности аппликатора (T_1), на глубине 2 мм (T_2) и 10 мм (T_3) в объеме образца. Скорости охлаждения на глубине (б) 2 мм и (в) 10 мм. (г) Объем ледяного слоя, полученный рассматриваемыми аппликаторами. Измеренные параметры ледяного слоя через 60 (пунктир) и 1800 (сплошная линия) секунд с момента контакта образца с медным (д), латунным (е) и сапфировым (ж) аппликаторами. (з) Фотография типичного сформированного ледяного слоя в фантоме биологической ткани [184].

Было исследовано влияние однократного криовоздействия на поверхность сапфирового и металлических аппликаторов, а также проанализировано влияние адгезии на процесс их отделения от биологической ткани. Как уже отмечалось, поверхность металлических криоаппликаторов подвержена значительному загрязнению после использования, а их очистка и стерилизация возможны только с применением химических методов, таких как обработка кислотами. Качество поверхности большинства металлических аппликаторов после таких процедур значительно снижается.

Для изучения деградации поверхности был проведен эксперимент с 15-секундным контактом предварительно полированных аппликаторов с образцом говяжьей печени *ex vivo* (Рисунок 26 (а)). Как видно из панелей (д), (ж), (и) на Рисунке 26, сапфировый аппликатор изначально имеет более высокое качество поверхности по сравнению с металлическими. После контакта и криовоздействия на поверхности медного и латунного аппликаторов наблюдаются признаки деградации и прилипшие частицы ткани (Рисунок 26 (е) и (з)), тогда как сапфировый аппликатор сохраняет свою чистоту и целостность (Рисунок 26 (к)).

Эффект адгезии ткани к аппликаторам был подтвержден в ходе эксперимента, где они поднимались на высоту 4 мм и 8 мм после криовоздействия (Рисунок 26 (б–г)). На изображениях видно, что металлические аппликаторы демонстрируют заметное прилипание ткани, в то время как сапфировый легко отделяется от образца. Это свидетельствует о том, что сапфировый аппликатор не вызывает дополнительного напряжения в прилегающих тканях, что исключает риск непредсказуемых повреждений.

Измерения температуры, оценка скорости охлаждения образца и объема ледяного слоя выявили преимущества сапфира перед металлами. Более высокая скорость охлаждения и больший объем области воздействия, получаемые с помощью сапфирового аппликатора, подтверждают возможность достижения крионекроза тканей в большем объеме за один цикл. Кроме того, практически полное отсутствие адгезии тканей к сапфировому аппликатору и его способность сохранять контактную поверхность неповрежденной, а также высокая термическая и химическая стабильность подчеркивают способность сапфировых криоаппликаторов к многократному использованию. Согласно полученным результатам, сапфир является перспективным материалом для изготовления криоаппликаторов.

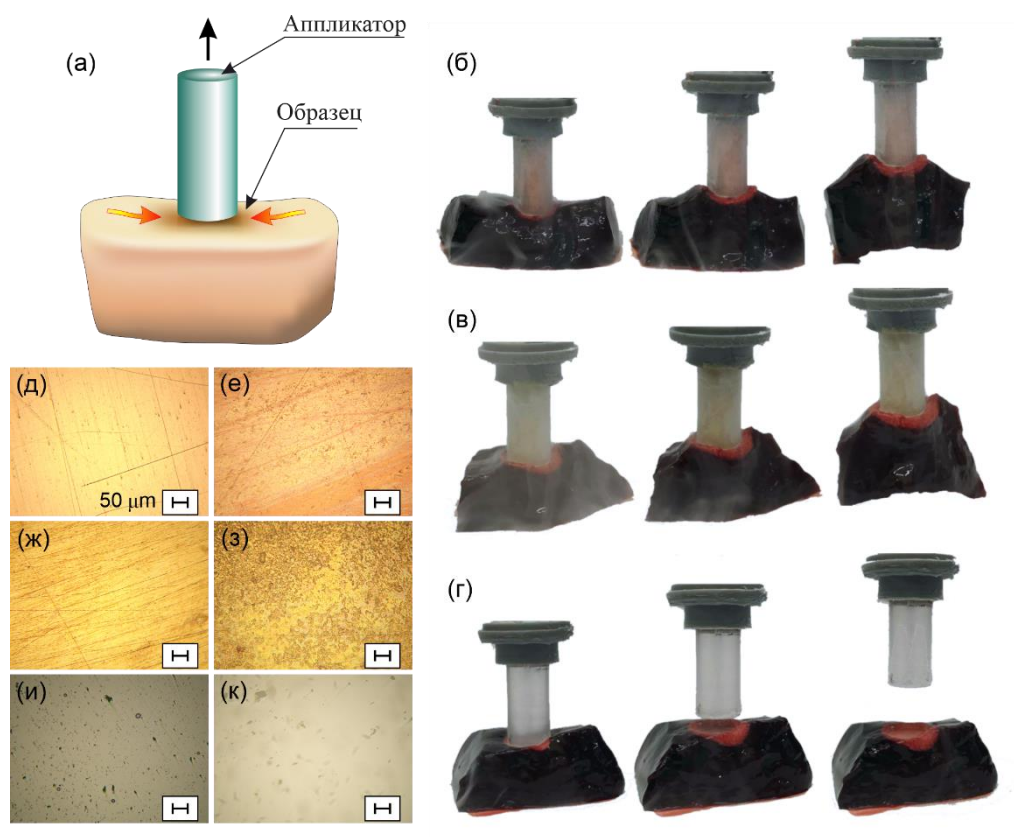


Рисунок 26 – Результаты однократного взаимодействия криоаппликаторов с тканью. (а) Схема однократной аппликации. Наблюдение адгезии ткани к медному (б), латунному (в) и сапфировому (г) аппликаторам.

Микроскопические изображения поверхностей (д), (е) медного, (ж), (з) латунного и (и), (к) сапфирового аппликаторов до (левый столбец) и после (правый столбец) криовоздействия на ткань [184].

3.2 Экспериментальное сравнение температуры фантомов биологической ткани при использовании полых и монолитных сапфировых аппликаторов

3.2.1 Описание эксперимента

Криоаппликатор, наполненный охлаждающей жидкостью, или даже циркулирующая охлаждающая жидкость (например, жидкий азот) может применяться для дальнейшего улучшения эффективности криодеструкции. Это будет способствовать поддержанию низкой температуры контактной части

аппликатора во время процедуры, что приводит к формированию большего объема ледяного слоя в ткани и более эффективному некрозу глубоких тканей. Для таких целей использовался выращенный методом NCS полый кристалл сапфира с переходом от трубчатой к монолитной части [176]. Отсутствие включений в монолитной части кристалла способствует более равномерному и предсказуемому распределению температуры на контактной поверхности, а также позволяет осуществлять доставку оптического излучения к объекту криодеструкции с минимальными потерями.

Для анализа эффективности применения полого сапфирового аппликатора для криохирургии было проведено сравнение его способности к формированию ледяного слоя с сапфировым цилиндрическим монолитным стержнем аналогичной длины и внешнего диаметра, также выращенным методом NCS.

Схема эксперимента представлена на Рисунке 27. Модельная среда была изготовлена из водного раствора желатина с массовой концентрацией 11% и была помещена в кювету с размерами $105 \times 105 \times 105$ см³. Желатиновая среда была выбрана в качестве образца в связи с тем, что она обладает схожими с реальными тканями теплофизическими свойствами. В таблице 2 приведено сравнение свойств 10% раствора желатина, который используется в качестве фантома, и некоторых биологических тканей при температуре 37°C. Очевидно, что раствор желатина обладает сходными с биологическими тканями тепловыми свойствами, как удельной теплоемкостью, так и теплопроводностью [176]. Кроме того, плотность фантома очень близка к реальным биологическим тканям. Таким образом, раствор желатина достаточно точно воспроизводит тепловые свойства биологических тканей и может быть использован в качестве фантома в данном экспериментальном исследовании.

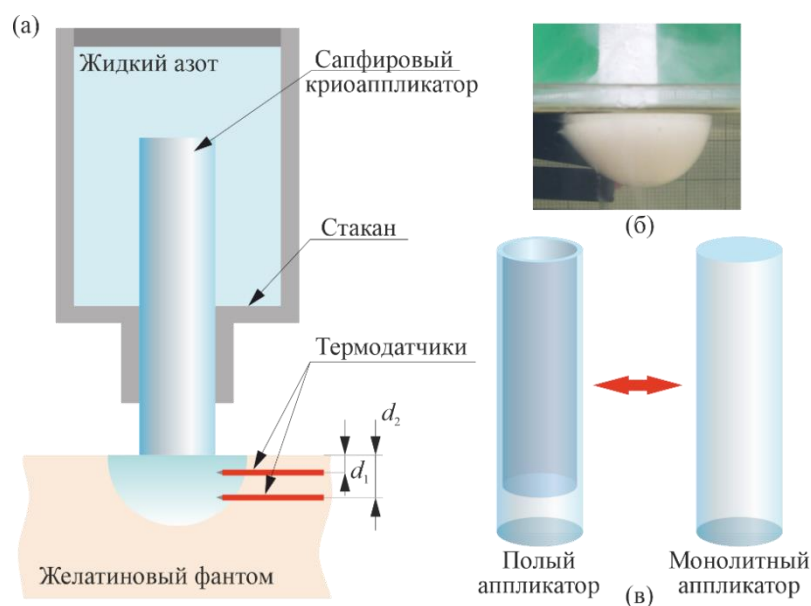


Рисунок 27 – Экспериментальное исследование формирования ледяного слоя с помощью сапфировых криоаппликаторов разной формы. (а) Схема эксперимента, (б) фотография ледяного слоя, образовавшегося в желатиновой среде, (в) схемы исследуемых криоаппликаторов [176].

Таблица 1 Сравнительная таблица теплофизических свойств желатина и биологических тканей

Образец	Удельная теплоемкость, Дж/гК	Теплопроводность, Вт/мК	Плотность, г/см ³	Источники
Желатиновый раствор 10%	3.80	0.511	0.998	[187, 188]
Печень	3.54	0.566	1.050	[189–193]
Мозг	3.62	0.528	1.050	[189–192]
Почка	3.76	0.545	1.050	[189–193]
Сердце	3.69	0.587	1.060	[189–193]

Желатиновый фантом был предварительно нагрет до 37°C. Аппликатор фиксировался в изолированном контейнере, который затем заполнялся жидким

азотом. Таким образом, перед контактом с образцом аппликатор охлаждался до постоянной температуры, близкой к температуре жидкого азота. Для исследования процесса формирования ледяного слоя температуру образца измеряли двумя термодатчиками сопротивления (класс Б, ОВЕН, г. Москва), которые фиксировались в образце на расстоянии $d_1 = 2$ мм и $d_2 = 11$ мм от поверхности (Рисунок 27 (а)).

3.2.2 Результаты эксперимента

Для оценки температуры образца был проведен анализ полученных с помощью термодатчиков данных. На Рисунке 28 (а) показаны результаты измерения температуры, из которых видно, что вблизи границы раздела сапфир–образец разница температур невелика при использовании монолитного и полого аппликаторов. Но при удалении от торца происходит более интенсивное замораживание образца полым аппликатором.

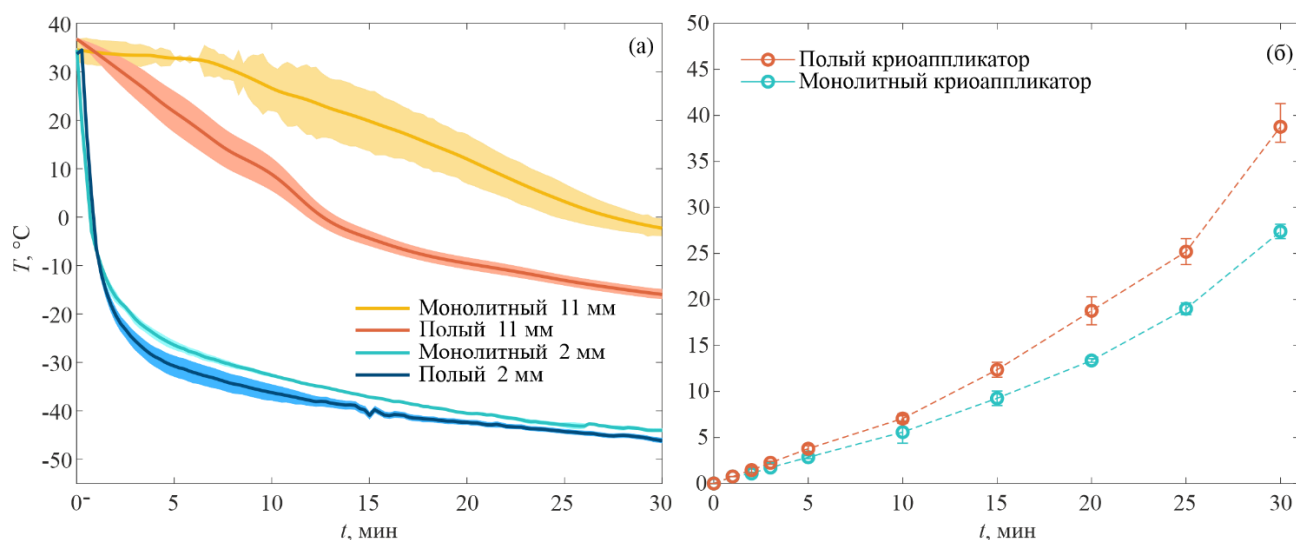


Рисунок 28 – Формирование ледяного слоя монолитным и полым сапфировыми криоаппликаторами. (а) Температуры образца при формировании ледяного слоя на глубине 2 и 11 мм. (б) Объем ледяного слоя в образце [176].

Кроме того, размеры ледяного слоя были проанализированы с помощью цифровой камеры (Рисунок 28 (б)), предполагая его симметрию. Следует

отметить, что изменение формы ледяного слоя из-за наличия термодатчиков не учитывалось. Поскольку кювета для образца имеет прозрачные стенки, фактические размеры анализируются через кювету с помощью масштабной линейки. Результаты демонстрируют преимущество полого аппликатора для формирования больших объёмов ледяного слоя. Разница становится более очевидной в конце процесса.

Обычно для получения больших объемов крионекроза применяют несколько циклов замораживания-оттаивания [194–197]. Примечательно, что замена монолитного аппликатора полым может привести к таким же результатам.

Выводы по 3 главе

Полученные в третьей главе результаты позволили количественно описать влияние теплофизических свойств сапфира на эффективность криодеструкции и подтвердили целесообразность интеграции оптических методов мониторинга в конструкцию сапфировых криоаппликаторов. Основные выводы:

1. Экспериментально изучены особенности формирования ледяного слоя в модельных (имитирующих биологические ткани) средах при использовании сапфировых и металлических криоаппликаторов. Измерены значения температуры модельных сред в различных точках в процессе их криодеструкции.
2. Экспериментально показано, что по сравнению с металлическими сапфировые криоаппликаторы увеличивают скорость достижения критических для крионекроза температур в биологической ткани и объем ледяного слоя.
3. Экспериментально изучены особенности формирования ледяного слоя в модельных (имитирующих биологические ткани) средах при использовании полых сапфировых криоаппликаторов, полученных с помощью метода некапиллярного формообразования. Показано, что по сравнению с монолитными полые сапфировые криоаппликаторы позволяют увеличить скорость достижения критических для некроза температур в биологической ткани и объем ледяного слоя за счет оптимизированного распределения хладагента.
4. Полученные данные подтверждают, что сапфировые криоаппликаторы позволяют повысить эффективность криодеструкции по сравнению с металлическими аппликаторами.

ГЛАВА 4. Оптические методы мониторинга процесса криодеструкции

Глава посвящена разработке и апробации оптических методов мониторинга процесса криодеструкции и оценке толщины ледяного слоя в биологических тканях, основанных на измерении и анализе интенсивности диффузно рассеянного излучения и ТГц импульсной спектроскопии. Используются описанные во второй главе сапфировые криоаппликаторы.

4.1 Метод мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа диффузно рассеянного излучения

Анализ диффузного рассеяния предназначен для измерения поглощающих и рассеивающих свойств различных оптически неоднородных сред. Данный метод (его более подробное описание приведено в Главе 1) чувствителен к изменениям рассеивающих и поглощающих свойств биологической ткани при формировании в ней ледяного слоя, что позволяет его использовать для мониторинга данного процесса.

4.1.1 Разработка математической модели диффузного рассеяния излучения в среде в процессе формирования ледяного слоя

Одним из методов описания распространения оптического излучения в рассеивающих средах является теория переноса излучения. Уравнение переноса излучения, имеющее вид уравнения Больцмана, представляет собой балансовое соотношение, которое рассматривает распространение света как перенос энергии через среду, содержащую рассеивающие частицы. В большинстве практических случаев уравнение переноса не может быть решено точно. Однако в случае, когда ослабление излучения в среде обусловлено в основном рассеянием, то есть среда является сильно рассеивающей и изотропной, применимо диффузионное приближение теории переноса излучения [198, 199]. Уравнение переноса в данном случае сводится к уравнению диффузии.

Пусть μ_a – коэффициент поглощения среды, μ_s и $\mu'_s = (1 - g)\mu_s$ – коэффициент рассеяния и приведенный (редуцированный) коэффициент рассеяния, соответственно, g – параметр анизотропии фазовой функции рассеяния, $D = \frac{1}{3\mu'_s}$ – коэффициент диффузии излучения в среде при условии $\mu_a \ll \mu_s$, а излучение источника в общем случае характеризуется частотной модуляцией с частотой ω , тогда уравнение диффузии в частотной области для плотности потока излучения $\Phi(r, \omega)$ в точке пространства r имеет вид:

$$\nabla[D \nabla \Phi(r, \omega)] - \left[\mu_a + i \frac{\omega}{c} \right] \Phi(r, \omega) = -P(\omega) \delta(r), \quad (20)$$

где c – скорость света в среде, δ – дельта-функция Дирака, описывающая точечный источник излучения с мощностью P . Уравнение (20) сводится к стационарному уравнению диффузии при частоте модуляции $\omega = 0$. Аналитические решения уравнения диффузии были разработаны и опубликованы в литературе во временной области [200–204], в частотной области [204–206] и стационарном случае [201, 206] для однородных [205], двухслойных [200–202, 204] и N -слойных [199, 203, 206, 207] сред. Для построения математической модели для процесса криодеструкции использовались решения как для однородных [205], так и для двухслойных сред

Для полубесконечного цилиндра радиуса a , на который падает излучение точечного мононаправленного источника с частотой модуляции ω (Рисунок 29 (а)) (предполагается, что падающий световой пучок может быть представлен точечным изотропным источником в мутной среде на расстоянии $\frac{1}{\mu'_s + \mu_a}$ от границы раздела между рассеивающей средой и окружающим пространством [199]), общее решение уравнения диффузии для плотности потока излучения $\Phi(\rho, z, L_1(t), \omega)$ в точке (ρ, z) с учетом экстраполированного граничного условия [215] имеет вид:

$$\Phi(\rho, z, L_1(t), \omega) = \frac{1}{\pi a'^2} \sum_{n=1}^{\infty} G(s_n, z, \omega, L_1(t)) J_0(s_n \rho) J_1^{-2}(s_n a') \quad (21)$$

где s_n – положительные корни функций Бесселя первого рода и m -го порядка, нормированные на $a' = a + z_b$, определяемые с помощью выражения $J_0(s_n a') = 0$, a – радиус оцениваемого объема среды, z_b – положение экстраполированной границы раздела, зависящая от показателей преломления, $z_0 = \mu'_{s,1}{}^{-1}$, $G(s_n, z, \omega, L_1(t))$ – функция Грина рассеивающей среды. Корни функций Бесселя определяются с помощью метода Галлея [208]. Длина экстраполяции z_b рассчитывается с помощью выражения:

$$z_b = 2D \frac{1 + R_{\text{eff}}}{1 - R_{\text{eff}}}, \quad (22)$$

где R_{eff} представляет собой долю фотонов, диффузно отраженных внутри образца и на границе с внешней нерассеивающей средой [209]. Для его определения можно воспользоваться выражением $R_{\text{eff}} \simeq -1.4399n_{12}^{-2} + 0.7099n_{12}^{-1} + 0.6681 + 0.0636n_{12}$, где $n_{12} = n_2/n_1$ – отношение показателей преломления рассматриваемой (2) и внешней (1) сред.

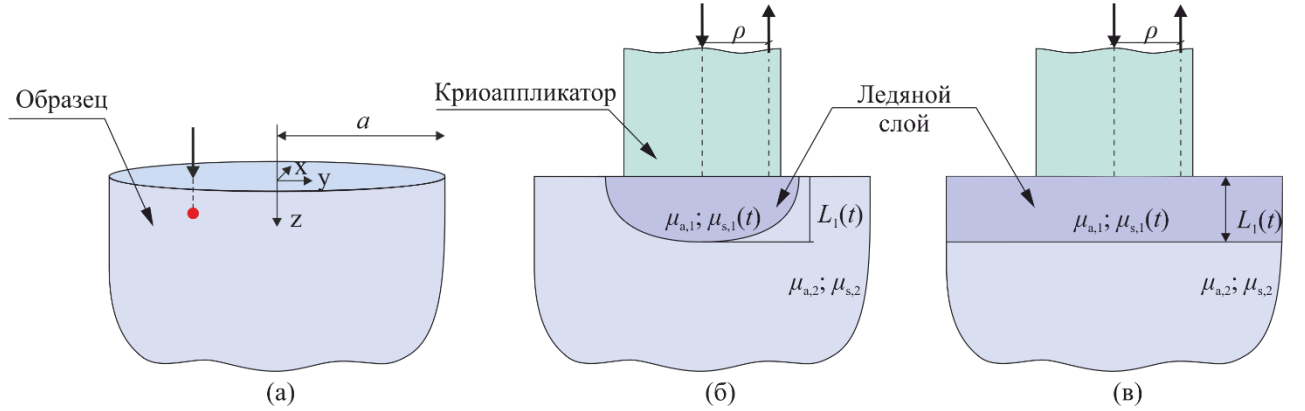


Рисунок 29 – (а) Полубесконечный цилиндрический слой рассеивающей среды. (б) Параметры слоистой среды в произвольный момент $t > 0$ после приложения криоаппликатора. (в) Плоскопараллельная модель среды в момент t [173].

Функция Грина $G(s_n, z, w)$ в выражении (21) рассчитывается с помощью решения следующего уравнения [207]:

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} G(s_n, z, w) - \alpha^2 G(s_n, z, w) = -\frac{1}{D} \delta(z - z_0), \quad (23)$$

где $\alpha^2 = s_n^2 + \frac{\mu_a}{D} + \frac{iw}{Dc}$, $z_0 = 0$ в принятой геометрии задачи (осевое положение источника излучения).

Следует отметить, что при криоаппликации формируется два слоя: верхний ледяной слой толщины $L_1(t)$ и прилегающий к нему незамороженный слой. Это позволяет ввести понятие так называемого «ледяного фронта» – четкой границы раздела между указанными слоями. Строго говоря, из-за гетерогенной структуры многих биологических тканей фронт может размываться в пространстве, формируя переходной слой с градиентом изменения оптических характеристик. Но как будет показано в разделе 4.2 в таких относительно гомогенных средах, как печень, размыванием фронта можно пренебречь. Приведенные в разделе 4.2 результаты ТГц импульсной спектроскопии показали наличие побочного импульса, отраженного от границы раздела ледяной слой – незамороженная ткань. Это косвенно подтверждает сделанное предположение об отсутствии размывания ледяного фронта. В ходе криовоздействия толщина ледяного слоя прогрессивно увеличивается. Для анализа данного процесса предложена двухслойная модель среды, облучаемой световым источником с некоторой модуляцией частоты w (Рисунок 29 (б)).

Для упрощения решения уравнения диффузии было предложено использовать плоскопараллельное приближение рассеивающей среды, то есть было предложено пренебречь кривизной ледяного фронта, как показано на Рисунке 29 (в). Математическое выражение для плотности потока Φ_k в произвольной точке слоистой среды r , в слое k , при облучении модулированным излучением с частотой w , описывается соотношением (21) [199, 207, 210] с учетом функции Грина $G_k(s_n, z, w)$ для k -го слоя:

$$G_1(s_n, z, w) = \frac{\prod_{i=2}^{N-1} (D_i \alpha_i n_i^2) \sinh[\alpha_1(z_0 + z_b)] \sinh[\alpha_N(L_N + z_{bN} - z)]}{D_1 \alpha_1 n_1^2 \cosh[\alpha_1(L_1 + z_b)] + D_2 \alpha_2 n_1^2 \cosh[\alpha_1(L_1 - z_b)]}; \quad (24)$$

а для верхнего (первого) слоя толщины L_1 в двуслойной среде выражение для функции Грина имеет вид

$$G(s_n, z, \omega, L_1(t)) = \frac{e^{-\alpha_1|z-z_0|} - e^{\alpha_1(z+z_0+2z_b)}}{2D_1\alpha_1} + \frac{\sinh[\alpha_1(z_0+z_b)]\sinh[\alpha_1(z+z_b)]}{D_1\alpha_1 e^{\alpha_1(L_1(t)+z_b)}} \cdot \frac{D_1\alpha_1 - D_2\alpha_2}{D_1\alpha_1 \cosh[\alpha_1(L_1(t)-z_b)] + D_2\alpha_2 \sinh[\alpha_1(L_1(t)-z_b)]}, \quad (25)$$

где $\alpha_k = \sqrt{\frac{\mu_{a,k}}{D_k} + s_n^2 + \frac{i\omega}{D_k c}}$, $z = \sqrt{z_0^2 + \rho^2}$, $z_0 = \frac{1}{\mu'_{s,1}}$.

При криодеструкции удобнее всего анализировать излучение, вышедшее на поверхность образца на расстоянии ρ от источника, вследствие многократного рассеяния и поглощения фотонов внутри образца. Интенсивность диффузно рассеянного излучения (нормированная на интенсивность источника), регистрируемого на поверхности образца в произвольной точке на расстоянии ρ от источника, описывается отражательной способностью и равна

$$R(\rho, L_1(t)) = D_1 \frac{\partial}{\partial z} \Phi(\rho, z, L_1(t), \omega)|_{z=0}. \quad (26)$$

При $\omega \neq 0$ интенсивность диффузно рассеянного излучения характеризуется постоянной (DC) и переменной (AC) составляющими, а также разностью фаз (PH) относительно модуляции излучения источника. Для измеренного частотно-модулированного сигнала интенсивности диффузного рассеяния переменная составляющая связана с $R(\rho, L_1(t))$: $AC(\rho, t) = |R(\rho, L_1(t))|$. В общем случае R является функцией коэффициентов рассеяния и поглощения первого $\mu'_{s1} \mu_{a1}$ и второго слоя $\mu'_{s2} \mu_{a2}$. Значения компонент R также зависят от положения ледяного фронта $L_1(t)$.

Зависимости $AC(\rho)$, $DC(\rho)$, $PH(\rho)$ характеризуются соответствующими наклонами S_{AC} , S_{DC} , S_{PH} функций $\ln \rho^m AC(\rho)$, $\ln \rho^m DC(\rho)$, $PH(\rho)$, на основе которых при $L_1 = 0$ определяются коэффициенты рассеяния и поглощения незамороженного слоя среды. Здесь m – параметр, зависящий от расстояния (ρ).

Для этого используется либо измерение диффузного рассеяния в исследуемом образце неохлажденным аппликатором, либо анализируются значения сигнала диффузного рассеяния в момент $t = 0$ процесса криодеструкции, при котором $L_1 = 0$.

Как показано в работе [198], выражения для оптических параметров, полученные для бесконечного слоя, могут быть применены и для оценки параметров полубесконечного слоя рассеивающей среды. Поэтому приведем исходные выражения для бесконечной среды. Тогда в случае точечного источника с частотой модуляции w поток фотонов в бесконечной однородной среде можно свести к следующему выражению:

$$\Phi(\rho, t) = \frac{P(0)}{4\pi D \rho} e^{\left[-\rho \sqrt{\frac{\mu_a}{D}}\right]} + \frac{P(w)}{4\pi D \rho} e^{\left[-\frac{\rho}{\sqrt{Dc}} \sqrt{\mu_a c + iw}\right]} e^{iwt}, \quad (27)$$

где ρ – расстояние между точечным источником и детектором. Из данного уравнения можно извлечь составляющие сигнала DC, AC и PH, которые в случае бесконечной геометрии линейно зависят от ρ следующим образом:

$$\ln(\rho^m DC(\rho)) = -\rho \sqrt{\frac{\mu_a}{D}} + \ln\left(\frac{P(0)}{4\pi D}\right) \quad (28)$$

$$\ln(\rho^m AC(\rho)) = -\rho \left(\frac{c^2 \mu_a^2 + w^2}{c^2 D^2}\right)^{\frac{1}{4}} \cos\left[\frac{1}{2} \tan^{-1} \frac{w}{c \mu_a}\right] + \ln\left(\frac{P(w)}{4\pi D}\right) \quad (29)$$

$$PH(\rho) = \rho \left(\frac{c^2 \mu_a^2 + w^2}{c^2 D^2}\right)^{\frac{1}{4}} \sin\left[\frac{1}{2} \tan^{-1} \frac{w}{c \mu_a}\right]. \quad (30)$$

Коэффициенты поглощения и приведенного рассеяния можно оценить по компонентам DC и PH сигнала, обнаруженным на нескольких различных расстояниях между источником и детектором [211]:

$$\mu_a = -\frac{w}{2c} \frac{S_{DC}}{S_{PH}} \left(\frac{S_{PH}^2}{S_{DC}^2} + 2\right)^{-\frac{1}{2}}, \quad (31)$$

$$\mu'_s = \frac{S_{DC}^2}{3\mu_a} - \mu_a, \quad (32)$$

Стоит заметить, что вместо использования компонент DC и PH можно использовать пару компонент AC и PH [212]:

$$\mu_a = -\frac{w}{2c} \left(\frac{S_{PH}^2}{S_{AC}^2} - \frac{S_{AC}^2}{S_{PH}^2} \right)^{-\frac{1}{2}}, \quad (33)$$

$$\mu'_s = \frac{S_{AC}^2 - S_{PH}^2}{3\mu_a}. \quad (34)$$

Далее, параметры ледяного слоя моделируются с учетом малости коэффициента поглощения по сравнению с коэффициентом рассеяния:

$$\mu'_{s,1} = \mu'_{s,2} + \Delta\mu'_s; \mu_{a1} = \mu_{a2}, \quad (35)$$

где $\Delta\mu'_s$ – некоторое приращение редуцированного коэффициента рассеяния в ледяном слое по сравнению с незамороженной тканью. Выражения (21), (25)-(26), (31)-(35) образуют математическую модель, описывающую взаимодействие излучения с рассеивающей двухслойной средой при контакте с ней сапфировых криоаппликаторов на основе теории диффузии оптического излучения. Приведенные выше выражения также справедливы и для стационарного случая, когда отсутствует частотная модуляция $\omega = 0$.

Дополнительно двухслойная среда характеризуется эффективным коэффициентом ослабления (экстинкции) $\mu_{\text{eff}} = \sqrt{3\mu_a(3\mu_a + \mu'_s)}$, который зависит от параметров первого и второго слоя и может быть оценен с помощью эмпирического выражения для диффузно рассеянного излучения на поверхности среды [175, 213–215]:

$$R(\rho) = \frac{C_1}{\rho^m} e^{-C_2\rho}, \quad (36)$$

где C_1 и C_2 – эмпирически определяемые коэффициенты, зависящие от оптических параметров среды и оптической измерительной системы. В случае, когда расстояния между источником и детектором значительно превышают длину свободного пробега фотона в среде [213] справедлива оценка $C_2 = \mu_{\text{eff}}$. Тогда μ_{eff} может быть найден с помощью интенсивности диффузного рассеяния

на разных расстояниях от источника. При анализе сигнала всего на двух различных расстояниях μ_{eff} будет определяться по формуле

$$\mu_{\text{eff}} = \frac{\ln \rho_1^m R(\rho_1) - \ln \rho_2^m R(\rho_2)}{\rho_2 - \rho_1}. \quad (37)$$

Полученные в данном разделе диссертации выражения были использованы для разработки метода неинвазивного измерения параметра толщины ледяного слоя $L_1(t)$, что составляет основу метода оптического мониторинга.

4.1.2 Оценка толщины ледяного слоя в процессе криодеструкции на основе анализа диффузно рассеянного излучения

На основе предложенной математической модели был разработан метод мониторинга процесса криодеструкции с помощью сапфировых криоаппликаторов, позволяющий восстанавливать толщину ледяного слоя в различные моменты времени [175-177, 179]. Он заключается в решении обратной задачи на основе измерений и моделирования интенсивности диффузно рассеянного от среды излучения в различных точках на поверхности среды. В общем случае, криоаппликатор должен быть оснащен произвольным количеством каналов подсветки/детектирования, создающих набор дискретных значений ρ_i . При большом удалении канала источника от канала детектора интенсивность регистрируемого сигнала падает вместе с отношением сигнал/шум. Поэтому число каналов определяется диаметром контактной площадки криоаппликатора и параметрами источника и детектора излучения.

Для определения толщины ледяного слоя в конкретный момент времени предложено использовать решение обратной задачи с помощью минимизации функционала ошибки:

$$L_1(t) = \arg \min \sum_{i=1}^k [AC(\rho_i, t) - R(\rho_i, L_1(t), \mu'_{s,1}, \mu'_{s,2}, \mu_{a1}, \mu_{a2}, n_1, n_2)]^2, \quad (38)$$

где $AC(\rho_i, t)$ – измеренные значения интенсивности, k – число точек измерения сигнала.

Когда используется малое число пар каналов источник/детектор, либо когда доля сигналов с малым отношением сигнал/шум значительная в общем массиве измеряемых данных, предлагается перейти к альтернативному методу решения обратной задачи посредством минимизации функционала:

$$L_1(t) = \arg \min [\mu_{\text{eff,meas}}(t) - \mu_{\text{eff,th}}(L_1(t), \mu'_{s,1}, \mu'_{s,2}, \mu_{a1}, \mu_{a2}, n_1, n_2)]^2, \quad (39)$$

где $\mu_{\text{eff,meas}}$ и $\mu_{\text{eff,th}}$ – измеряемый и рассчитанный с помощью выражения (36) и математической модели диффузного рассеяния эффективные коэффициенты экстинкции.

При моделировании диффузного рассеяния в частотной области ($\omega \neq 0$) значения $\mu_{a,2}$ и $\mu'_{s,2}$ определяются из выражений (31)–(34), при анализе в стационарном режиме ($\omega = 0$) все параметры слоистой среды задаются из определенного диапазона допустимых значений. Далее опишем алгоритм оценки $L_1(t)$ с помощью предложенного метода.

Для случая частотно модулированного источника излучения и решения обратной задачи с помощью выражения (38) основные этапы алгоритма изображены на Рисунке 30. Сначала выполняется калибровка криоаппликатора: сапфировый криоаппликатор при комнатной температуре приводится в контакт с образцом с известными коэффициентами поглощения и рассеяния, проводятся измерения интенсивности диффузно рассеянного излучения, вычисляется эффективный коэффициент ослабления и сравнивается с теоретическим значением. Вычисляется поправка для измеряемой интенсивности в каждом канале. Затем к образцу ткани в интересующей области прикладывается криоаппликатор при комнатной температуре и регистрируются начальные значения $AC_0(\rho)$, $DC_0(\rho)$ и $RH_0(\rho)$ с целью оценки начальных значений коэффициентов поглощения $\mu_{a,2}$ и приведенного рассеяния и $\mu'_{s,2}$ незамороженного образца. С учетом описанных выше приближений коэффициент поглощения ледяного слоя среды принимается равным незамороженному $\mu_{a,2} \approx \mu_{a,2}$, а $\mu'_{s,1}$ и L_1 в процессе криовоздействия

изменяются; пределы их увеличения устанавливаются как $\Delta\mu'_{s,1}$ и ΔL и используются для теоретической оценки.

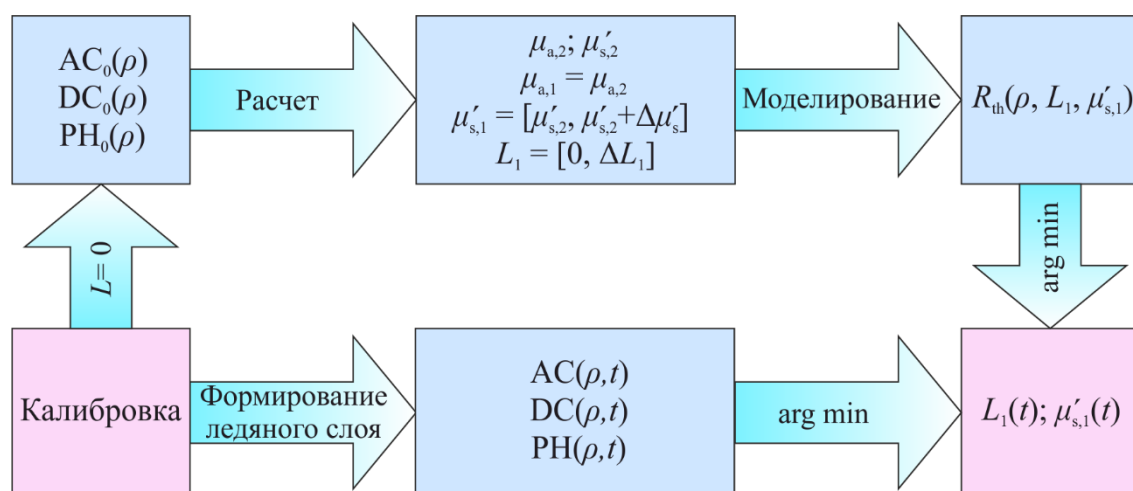


Рисунок 30 – Основные этапы алгоритма оценки толщины ледяного слоя образца L_1 [173] .

После задания параметров обоих слоев образца интенсивность диффузно рассеянного излучения $R(\rho, L_1, \mu'_{s,1})$ рассчитывается с помощью предложенной математической модели для каждого канала подсветки и диапазона допустимых дискретных значений L_1 и $\mu'_{s,1}$, определяемых на основе априорной информации об исследуемом образце рассеивающей среды (ткани).

После охлаждения и приведения аппликатора в контакт с образцом измеряются составляющие переменного сигнала для каждого канала подсветки и каждого момента времени. На каждом временном шаге выполняется решение обратной задачи с помощью выражения (38). Находится наилучшее соответствие и определяются значения $L_1(t)$, дополнительно могут быть установлены значения коэффициента рассеяния ледяного слоя $\mu'_{s,1}$, при которых достигается это соответствие.

Для стационарного случая и решения обратной задачи на основе выражения (39) алгоритм определения толщины ледяного слоя показан на Рисунке 31. Аналогично предыдущему случаю, выполняется калибровка аппликатора, далее производится его предварительное охлаждение.

Определяются пределы изменения оптических параметров ледяного слоя и незамороженного полубесконечного слоя среды. С их учетом выполняется серия предварительных расчетов интенсивности диффузно рассеянного излучения на поверхности среды при разной толщине ледяного слоя и в каждом случае вычисляется эффективный коэффициент ослабления (выражение (37)). После этого аппликатор приводится в контакт с образцом. В процессе формирования ледяного слоя измеряются значения интенсивности диффузного рассеяния в каналах и вычисляется измеренный коэффициент ослабления.

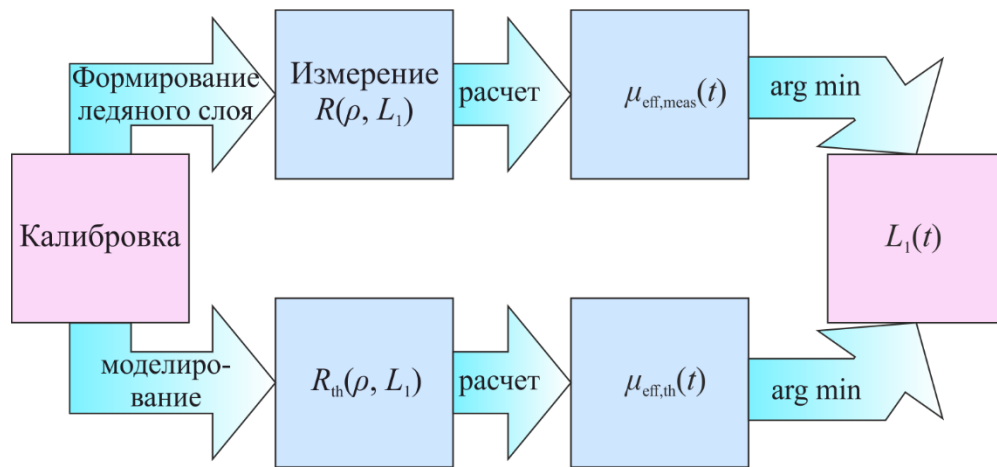


Рисунок 31 – Основные этапы алгоритма оценки толщины ледяного слоя образца L_1 в стационарном режиме.

Из данных расчета определяется зависимость $\mu_{\text{eff}}(L_1)$ для каждого набора параметров среды и определяется предельное начальное значение $L_{1,0}$, соответствующее минимальной толщине слоя, для которого выполняется диффузионное приближение и характер $\mu_{\text{eff}}(L_1)$ становится монотонно убывающим. Измеренные значения $\mu_{\text{eff, meas}}(t)$ сравниваются с расчетными и определяется толщина ледяного слоя в каждый момент времени на основе выражения (39).

4.1.3 Сапфировый криоаппликатор с возможностью оптического мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа диффузного рассеяния в частотной области

Для апробации предложенного метода мониторинга процесса криодеструкции с помощью анализа диффузного рассеяния в частотной области и решения обратной задачи на основе интенсивностей диффузного рассеяния был разработан криоаппликатор на основе профилированного кристалла сапфира [173, 174, 216]. Схема и изображение сапфирового криоаппликатора с возможностью мониторинга толщины ледяного слоя в процессе криодеструкции приведены на Рисунке 32. Профилированный кристалл сапфира в форме цилиндра с диаметром 12,5 мм и с возможностью размещения волокон был выращен из расплава Al_2O_3 методом EFG.

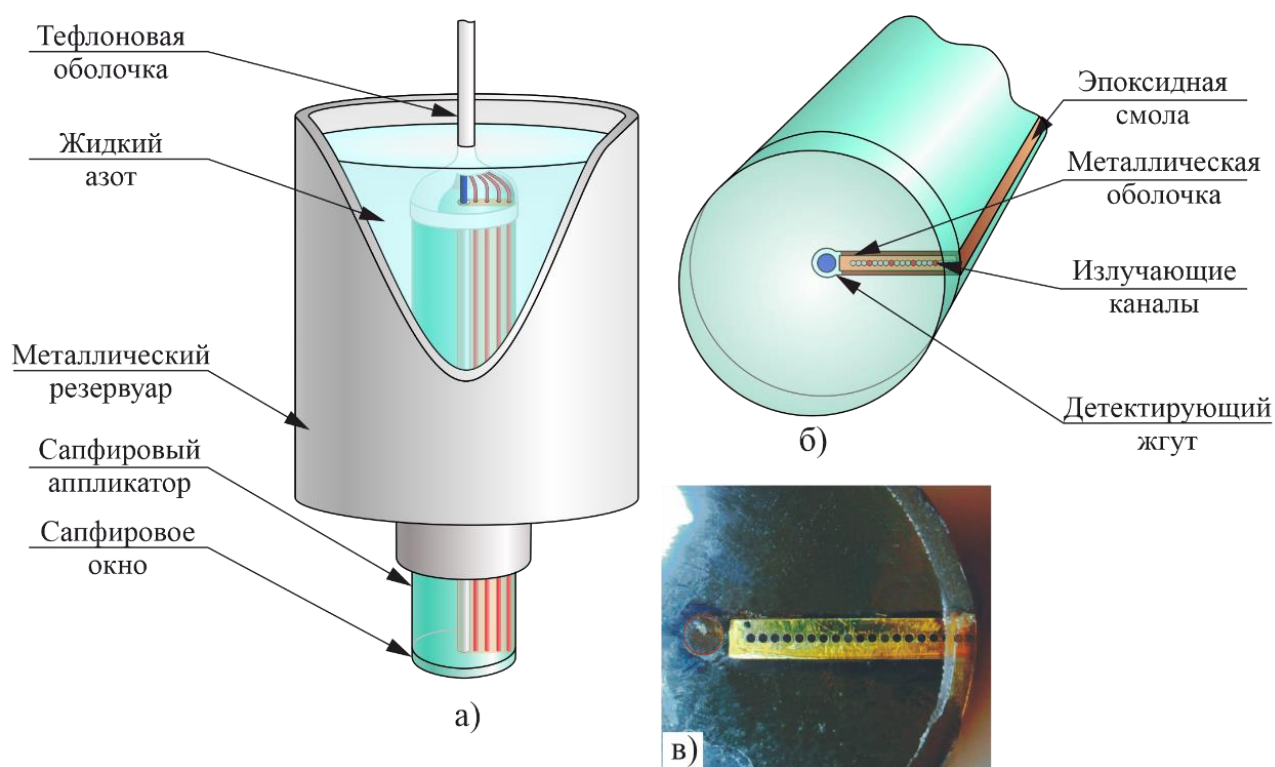


Рисунок 32 – Сапфировый криоаппликатор с функцией оптического мониторинга процесса криодеструкции. (а) Общая схема криоаппликатора. (б) Схема расположения оптических волокон внутри аппликатора. (в) Фотография контактной поверхности аппликатора [173].

Разработанный криоаппликатор включает в себя фиксированный стек из 9 волокон диаметром 200 мкм, как показано на Рисунке 32 (б), (в). Четыре из них (каналы подсветки) подключены к оптоэлектронной установке Oxiplex TS (ISS, США), включающей источник лазерного излучения с длиной волны $\lambda = 692$ нм, а остальные незадействованные волокна использовались как изоляционные прокладки между волокнами подсветки для предотвращения засветки. Описываемые волокна закреплялись в металлической оболочке для предотвращения их смещения. Оболочка размещалась в сквозном отверстии сапфирового стержня и фиксировалась криогенной эпоксидной смолой, рассчитанной на диапазон температур от -196 до 250 °C (НПК СТЭП Т1). Жгут детектирующих волокон диаметром 1,25 мм соединялся с фотоумножителем, также входящим в состав оптоэлектронной установки, и размещался в центральном канале аппликатора. Используемые четыре канала подсветки отстояли от канала детектирования на расстояниях $\rho_1 = 2,11$, $\rho_2 = 3,34$, $\rho_3 = 4,57$ и $\rho_4 = 6,42$ мм. Нижняя поверхность сапфирового криоаппликатора была закрыта плоским сапфировым окном толщиной 0,9 мм, уменьшающим возможное искажение световых лучей и предохраняющим волокна от контакта с тканями. Описываемый сапфировый криоаппликатор также был оснащен резервуаром для хранения хладагента, сделанным из нержавеющей стали и покрытым полиуретановой пеной для теплоизоляции и уменьшения расхода хладагента. В качестве хладагента использовался жидкий азот, позволяющий охладить торец криоаппликатора, приводимый в контакт с тканью, до -180 °C.

С помощью оптических элементов криоаппликатора происходит измерения и предобработка интенсивности диффузно рассеянного излучения от четырех каналов подсветки. Источник света модулировался на частоте 110 МГц с целью восстановления коэффициентов поглощения и рассеяния образца. Процесс измерения толщины ледяного слоя был описан в разделе 4.1.2 и включал калибровку, численное моделирование, измерение параметров незамороженного

образца, охлаждение аппликатора и регистрация диффузно рассеянного излучения в процессе криодеструкции, сопровождающийся определением зависимости $L_1(t)$.

4.1.4 Экспериментальная апробация метода мониторинга и сапфирового криоаппликатора (анализ в частотной области)

Для экспериментальной апробации в качестве объекта криодеструкции был изготовлен фантом ткани на основе желатина и жировой эмульсии интралипида (Intralipid 20%, Fresenius Kabi, Германия). Такие фантомы широко используются в оптике и биофотонике для имитации рассеивающих и оптических свойств тканей [217] и применяются для анализа эксплуатационных свойств различных оптических приборов и устройств [218]. Используемый фантом содержал 11% желатина, 2% интралипидной суспензии для обеспечения светорассеяния и был предварительно нагрет до 37°C для создания условий, соответствующих реальным биологическим образцам, а также для замедления начальной стадии процесса криодеструкции. Фантом был помещен в прозрачную кювету, размеры которой составляли 105x105x105 мм и значительно превышали диаметр аппликатора. Это позволяло рассматривать фантом как полубесконечную среду без учета влияния стенок кюветы.

В соответствии с описанным алгоритмом, для используемого фантома были получены значения коэффициентов поглощения и приведенного рассеяния $\mu_{a,2} = 2 \times 10^{-4}$ и $\mu'_{s,2} = 2 \text{ мм}^{-1}$. Эти результаты, согласуются с данными работы [217].

Был выполнен расчет распределений $R(\rho_i, L_1(t), \mu'_{s,1}, \mu'_{s,2}, \mu_{a1}, \mu_{a2}, n_1, n_2)$ для каждого канала криоаппликатора. В расчетах использовалось предположение малости изменения показателя преломления $n_1 \simeq n_2 = 1,4$. Результаты показаны на Рисунке 33 (а)–(г) для различных расстояний между источником и детектором ρ . На Рисунке 33 (е) показано репрезентативное распределение $R(L_1, \mu'_{s,1} = 6 \text{ мм}^{-1})$. Как видно из результатов расчета, после определенной толщины

ледяного слоя интенсивность диффузного рассеяния монотонно возрастает, достигая некоторого насыщения. Такой же характер измерения интенсивности был получен при непосредственном измерении компонент АС и DC диффузно рассеянного сигнала (Рисунок 33 (д)). Таким образом, формирование и увеличение ледяного слоя ведет к росту сигнала диффузного рассеяния, а при увеличении его толщины сверх глубины зондирования аппликатора наблюдается горизонтальная асимптота сигнала.

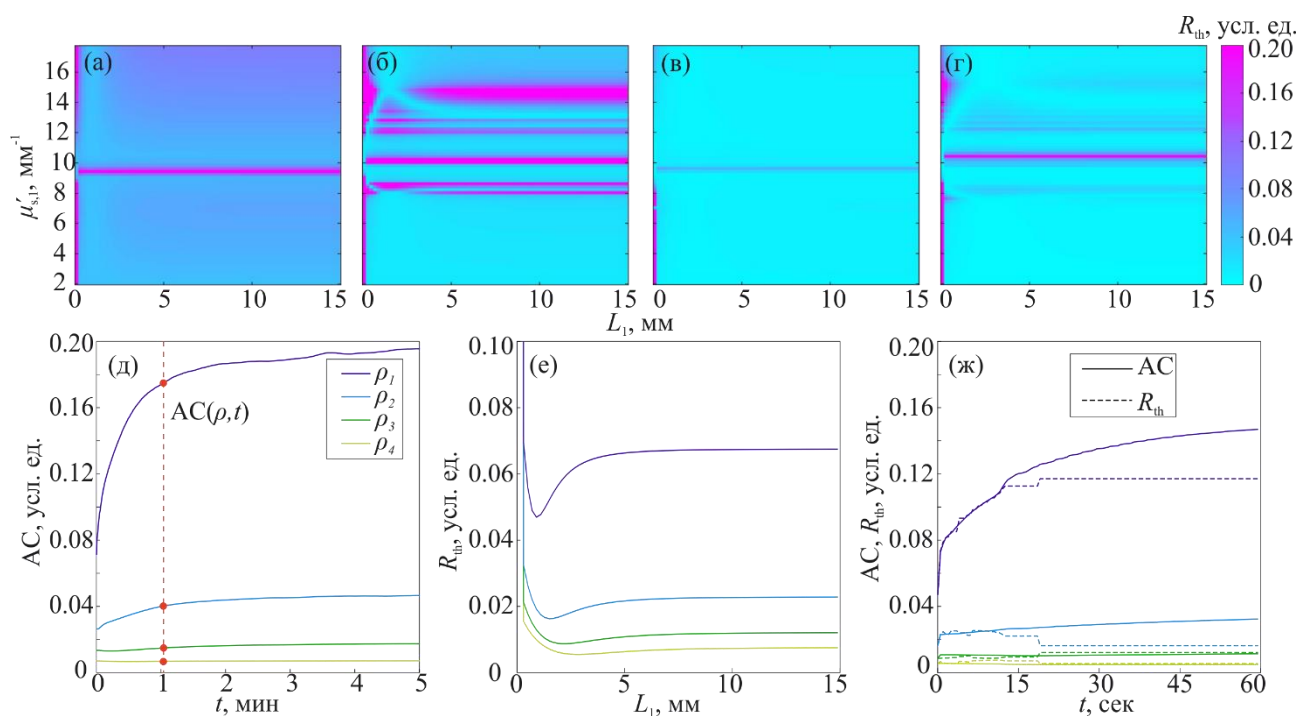


Рисунок 33 – Рассчитанные распределения $R(L_1, \mu'_{s,1})$ для различных расстояний источник-детектор (а) $\rho_1 = 2,11$, (б) $\rho_2 = 3,34$, (в) $\rho_3 = 4,57$ и (г) $\rho_4 = 6,42$ мм. (д) Измеренные значения АС компоненты интенсивности в процессе формирования ледяного слоя. (е) Пример распределения $R(L_1, \mu'_{s,1} = 6 \text{ мм}^{-1})$ для различных ρ . (ж) Аппроксимация АС компонент измеренных интенсивностей диффузного рассеяния расчетными значениями R [173].

На Рисунке 33 (ж) показано найденное с помощью решения обратной задачи соответствие между измеренными значениями АС компоненты интенсивности излучения и расчетными для каждого момента времени. Из

найденного соответствия была восстановлена толщина L_1 ледяного слоя. Результат восстановления показан на Рисунке 34 (а). Дополнительно выполнено сравнение полученных результатов с контрольными измерениями посредством визуализации максимальной толщины ледяного слоя в некоторые моменты времени. Результаты демонстрируют хорошее совпадение, что также можно увидеть на Рисунке 34 (в). Наблюдаемые отклонения, могут быть объяснены применением плоскопараллельного приближения в теоретических расчетах. Поскольку кривизна ледяного слоя в начале мала, а затем со временем увеличивается, это приближение лучше описывает процесс криодеструкции на его начальной стадии. В то же время температура образца при криодеструкции падает, что может несколько изменить параметры рассеяния незамерзшего прилегающего слоя, тогда как в расчетах приведенный коэффициент рассеяния $\mu'_{s,2}$ в этой области остается неизменным.

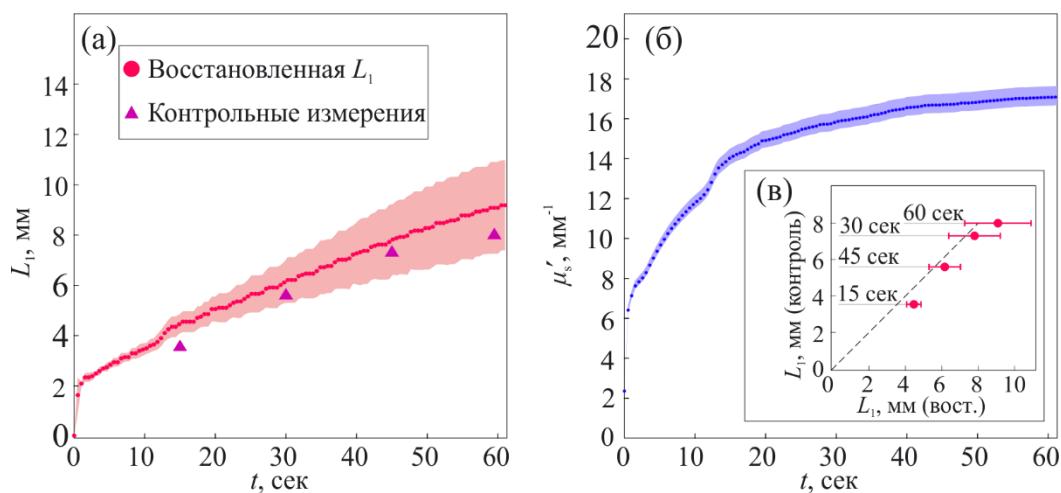


Рисунок 34 – (а), (в) Сравнение толщины L_1 , восстановленной с помощью метода мониторинга криодеструкции, с данными контрольных измерений, погрешность соответствует $\pm \sigma$. (б) Приведенный коэффициент рассеяния фантома в процессе криодеструкции [173].

На Рисунке 34 (б) показан приведенный коэффициент рассеяния двухслойной среды. Он возрастает со временем и затем выходит на насыщение, когда положение ледяного фронта оказывается за пределами глубины

зондирования криоаппликатора. Таким образом, приведенный коэффициент рассеяния двуслойной среды стремится к $\mu'_{s,1}$, то есть к приведенному коэффициенту рассеяния ледяного слоя. Очевидно, что реконструкция толщины ледяного слоя после насыщения невозможна, в связи с этим на данном этапе мониторинг толщины ледяного слоя возможно осуществлять вплоть до 8 мм.

Полученные результаты свидетельствуют о быстром росте ледяного слоя и приведенного коэффициента рассеяния в течение первых нескольких секунд. Это можно объяснить высокой теплопроводностью и низкой удельной теплоемкостью сапфира при криогенных температурах [9].

Таким образом, разработанный метод мониторинга и реализующий его компактный сапфировый криоаппликатор позволяют одновременно оценивать состояние тканей без дополнительных датчиков, температурных измерений и дорогостоящего оборудования, как в случае с МРТ и КТ. Преимуществом подхода на основе диффузного рассеяния является обнаружение реакции ткани непосредственно за контактной поверхностью датчика, что предотвращает искажение сигнала.

4.1.5 Сапфировый криоаппликатор с возможностью оптического мониторинга процесса криодеструкции на основе анализа диффузного рассеяния в стационарном режиме

Для реализации метода мониторинга процесса криодеструкции с помощью анализа диффузного рассеяния в стационарном режиме был разработан сапфировый криоаппликатор заливного типа на основе сапфирового стержня, изготовленного методикой EFG, с диаметром 12 мм и длиной 149 мм с расположенными в нем каналами диаметром 2 мм для размещения оптических волокон (Рисунок 35). Три оптических волокна (диаметром 200 мкм, NA = 0,22) фиксировались в каналах с помощью эпоксидного клея. Первое волокно использовалось для доставки излучения к ткани; оно было подключено к лазерному диоду (M530F2, Thorlabs, США) с центральной длиной волны 530 нм

и минимальной выходной мощностью 6,8 мВт. Для детектирования диффузно рассеянного излучения использовались 2 волокна, каждое из которых было подключено к отдельному спектрометру (CCS100/M, Thorlabs, США). Во время криовоздействия сигналы регистрировались с периодом равным 3 с. Расстояние между излучающим и двумя детектирующими каналами составляло $\rho_1 = 4$ и $\rho_2 = 8$ мм, соответственно. Для защиты волокон от прямого контакта с тканью использовалось сапфировое окно толщиной 2 мм, которое было зафиксировано на рабочем торце аппликатора клеем (IBM Varnish). Сапфировое окно также помогает гомогенизировать температурный профиль в области контакта, который немного изменяется из-за наличия каналов.

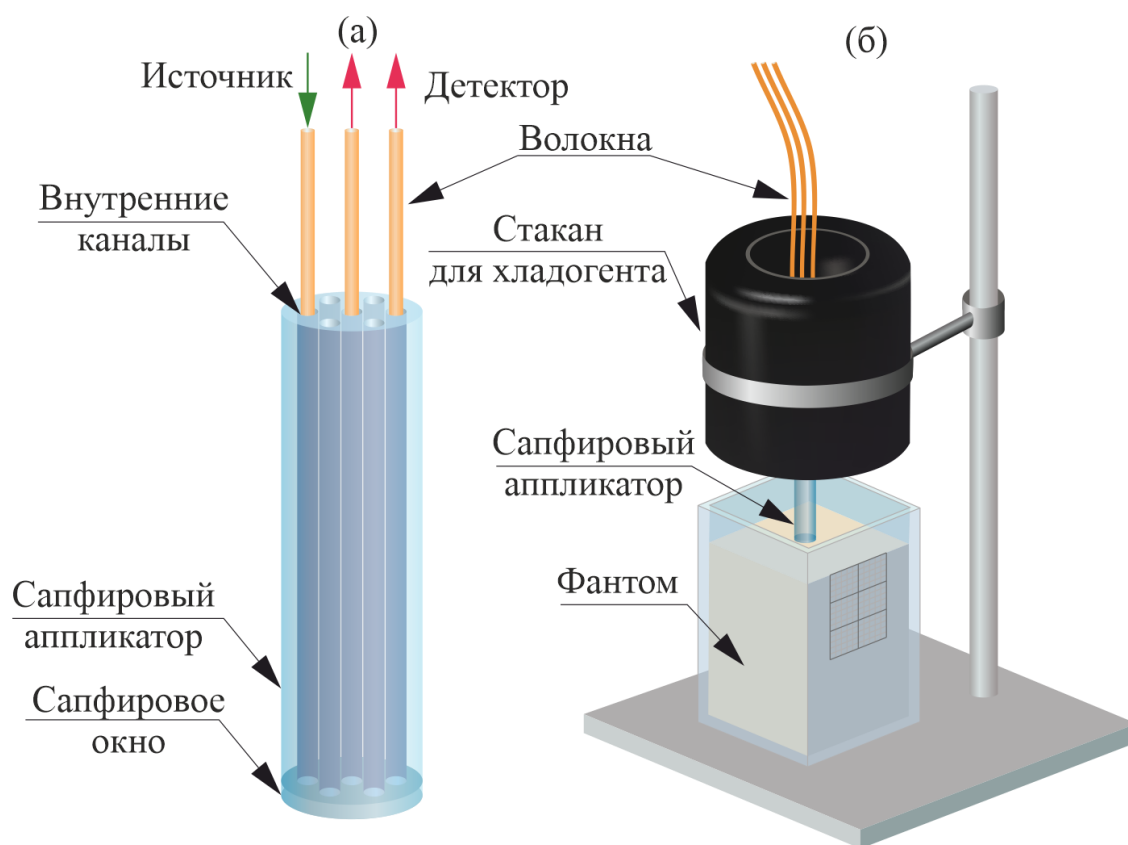


Рисунок 35 – Схема сапфирового криоаппликатора с двумя детектирующими каналами. (а) Схема расположения волокон. (б) Схема эксперимента [177].

Сапфировый криоаппликатор был оснащен теплоизолированным стаканом для жидкого азота (Рисунок 35 (б)). В нижней части емкости имеется резьбовое

крепление для фиксации аппликатора. Необходимо заметить, что малая мощность источника излучения и чувствительность спектрометров, а также наличие лишь двух детектирующих каналов являются предпосылками использования метода решения обратной задачи на основе выражения (39).

4.1.5 Экспериментальная апробация метода мониторинга и сапфирового криоаппликатора (анализ в стационарном режиме)

Экспериментальная апробация предложенного метода мониторинга криодеструкции при анализе излучения в стационарном режиме и решения обратной задачи на основе выражения (39) с использованием описанного в разделе 4.1.4 криоаппликатора была выполнена в два этапа: в первом случае в качестве объекта криодеструкции выступал тканеимитирующий фантом, во втором – образцы тканей печени.

Апробация с помощью фантома биологической ткани.

В эксперименте был использован фантом биологической ткани на основе желатина с добавлением липидной эмульсии (Lipoplus 20) с объемной концентрацией 1 % для моделирования рассеяния. Температура фантома до криовоздействия составляла 24 °С. Предварительно охлажденный аппликатор приводился в контакт с поверхностью фантома для инициации процесса формирования ледяного слоя, в ходе которого измерялись сигналы обратно рассеянного излучения. Они показаны на Рисунке 36 (а). После криовоздействия фантом размораживался при комнатной температуре. Весь эксперимент был повторен трижды. Для контрольных измерений толщины ледяного слоя использовался фантом с тем же соотношением желатина, однако без добавления липидной эмульсии. Процесс криодеструкции фиксировался на цифровую камеру (Sony a7 mark II с объективом Art 24-70 f/2.8 FE). Предполагалось, что образование ледяного слоя в основном регулируется свойствами геля; таким образом, отсутствие эмульсии приводило к незначительным ошибкам в измерении размера ледяного слоя в фантоме.

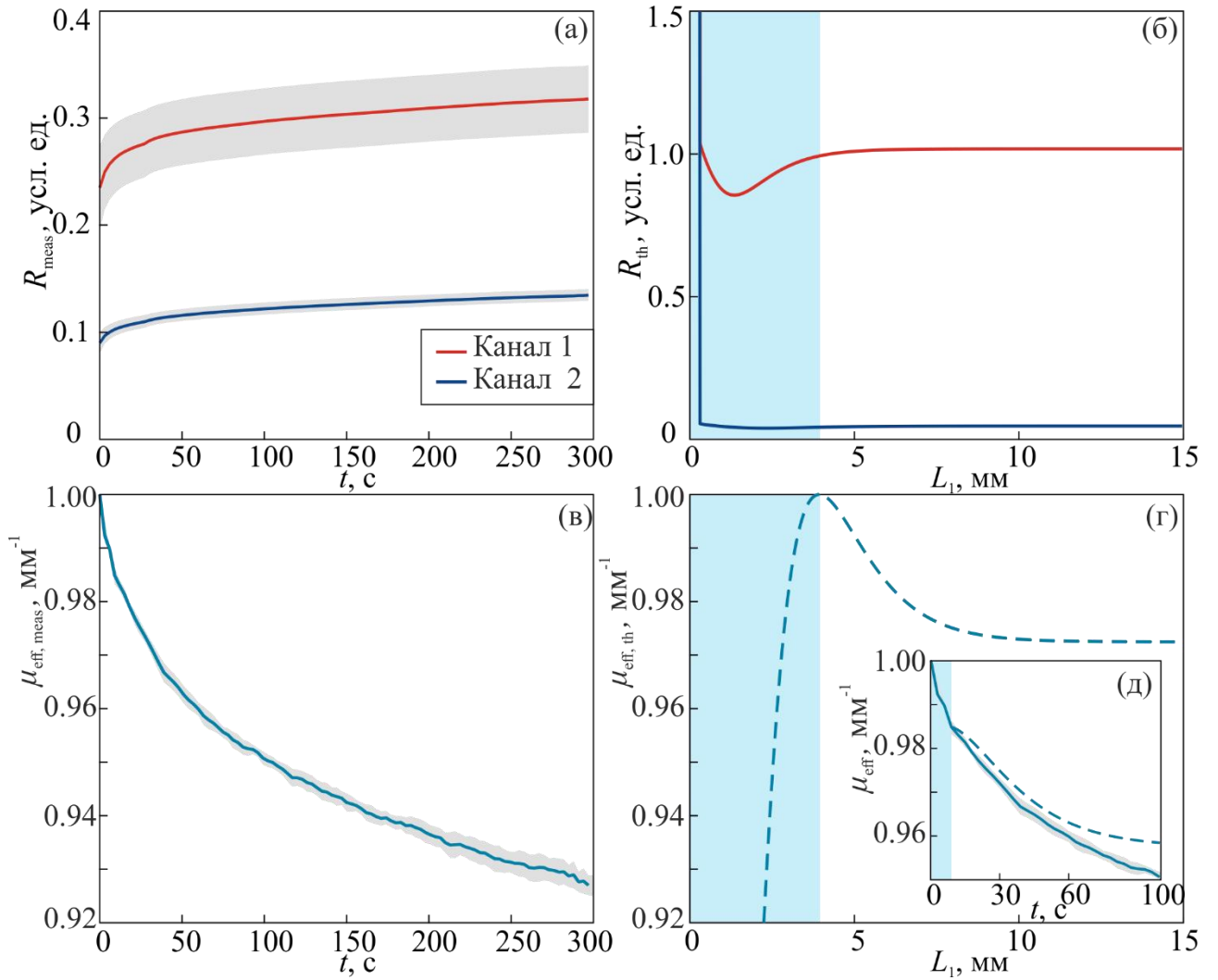


Рисунок 36 – Апробация метода мониторинга криодеструкции с помощью фантома. (а) Измеренные значения интенсивностей диффузно рассеянного излучения $R_{\text{meas}}(t)$ в двух каналах. (б) Пример рассчитанных значений $R_{\text{th}}(L_1)$. (в) Измеренный нормированный коэффициент $\mu_{\text{eff, meas}}(t)$. (г) Пример рассчитанного $\mu_{\text{eff, th}}(L_1)$. (д) Сравнение $\mu_{\text{eff, meas}}$ и $\mu_{\text{eff, th}}$ с учетом предполагаемой задержки по времени (синяя область). Серые области обозначают ошибки измерения [177].

Поскольку рассеивающие и поглощающие свойства фантома в основном определялись липидной эмульсией, которая имеет оптические свойства, подобные свойствам интралипида [219, 220], были выбраны следующие параметры для незамороженного слоя: показатель преломления $n_2 = [1,40 -$

1,42], приведенный коэффициент рассеяния $\mu'_{s,2} = [0,50 - 0,85] \text{ мм}^{-1}$, коэффициент поглощения $\mu_{a,2} = [0,03 - 0,05] \text{ мм}^{-1}$. Эти данные соответствовали ранее измеренным свойствам таких фантомов [220, 221]. Затем предполагалось, что изменение параметров ледяного слоя относительно полубесконечного незамороженного слоя было в пределах $\Delta n = [0,02 - 0,04]$, $\Delta \mu_a = [0,008 - 0,01] \text{ мм}^{-1}$, $\Delta \mu'_s = [0,5 - 1,0] \text{ мм}^{-1}$.

На Рисунке 36 (б) приведены репрезентативные рассчитанные по выражению (26) значения интенсивности $R_{th}(L)$, для частного случая из указанных диапазонов изменения параметров. В отличие от экспериментально измеренной интенсивности диффузно рассеянного излучения R_{meas} , можно заметить неравномерное изменение R_{th} при малой толщине L_1 . Полученная R_{th} уменьшается до определенного значения, прежде чем начать увеличиваться, что объясняется использованием экстраполированных граничных условий. На Рисунке 36 (в) показан эффективный коэффициент экстинкции, полученный на основе измеренных значений интенсивности, а на Рисунке 36 (г) – пример эффективного коэффициента экстинкции, полученного на основе рассчитанных значений интенсивности. На этих графиках показаны нормированные на максимум значения. Это позволяет установить момент криодеструкции (голубая область на Рисунке 36 (д)), с которого выполняется диффузионное приближение и можно использовать выражение (39).

На Рисунке 37 показана восстановленная с помощью предложенного метода толщина ледяного слоя рассмотренного фантома и контрольные ее измерения. Метод демонстрирует достаточно хорошее совпадение двух значений в диапазоне времен от 10 до 50 с. Погрешность оценки L_1 составляет менее 1,5 мм. Однако погрешность резко возрастает после 50 с и $L = 8$ мм. Это аналогично связано с тем, что при таких значениях размер и кривизна ледяного слоя не позволяют контролировать его толщину с помощью данной геометрии аппликатора. Для увеличения верхнего предела восстанавливаемой глубины

необходимо увеличивать расстояние между излучающими и детектирующими каналами, а также учитывать кривизну фронта заморозки.

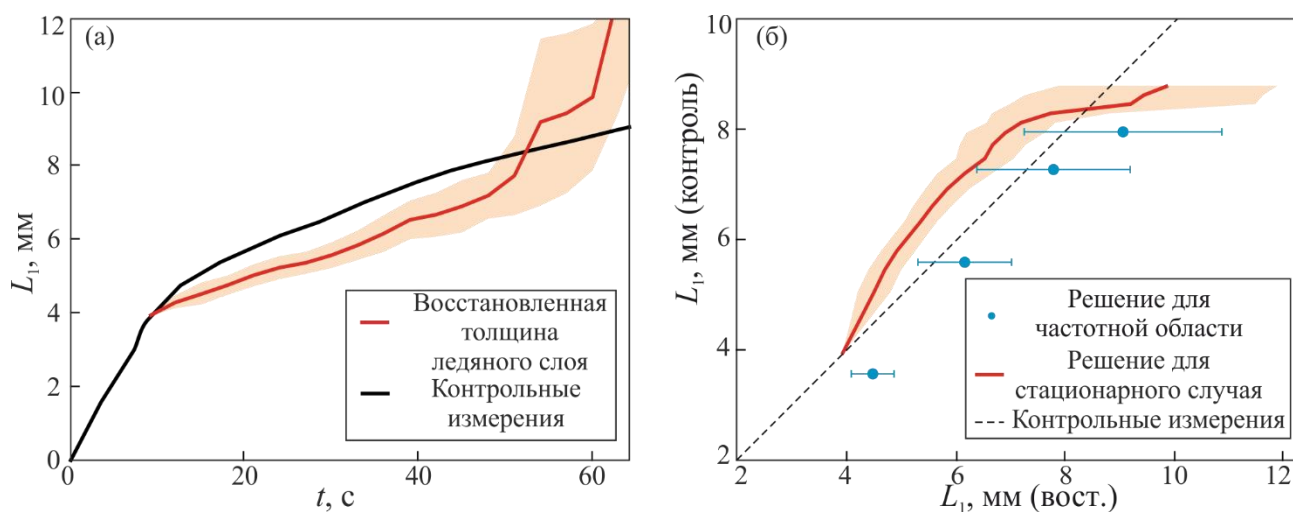


Рисунок 37 – Результаты апробации предложенного метода. (а) Сравнение толщины L_1 , восстановленной с помощью метода мониторинга криодеструкции, с данными контрольных измерений. (б) Сравнение результатов апробации для частотной области и стационарного случая [177].

На Рисунке 37 (б) показано сравнения двух подходов к восстановлению толщины ледяного слоя для частотной области с использованием четырех каналов детектирования и для стационарного случая с использованием двух каналов детектирования. Несмотря на применение только двух каналов-детекторов и стационарного решения, погрешности двух подходов почти сопоставимы. Более того, пределы восстановления L_1 одинаковы и составляют 8 мм, что обусловлено, главным образом, максимальным расстоянием ρ .

Апробация с помощью образцов ткани in vivo.

Была проведена апробация предложенного метода мониторинга процесса криодеструкции с помощью тканей печени *in vivo*. Для этой цели были использованы четыре крысы Wistar (самки) весом 280–380 г. Животные вводились в глубокую анестезию с использованием золетила и ксилазина (Interchemie, Püünsi, Эстония) / пропофола (Fresenius Kabi, Грац, Австрия). Далее

хирургически выделялись несколько долей печени для криодеструкции (Рисунок 38 (а)).

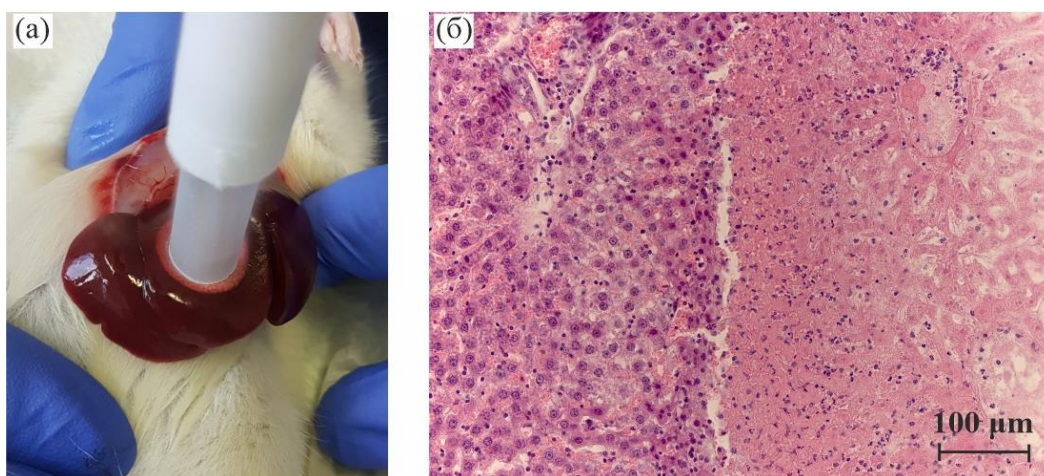


Рисунок 38 – (а) Криодеструкция печени крысы сапфировым криоаппликатором. (б) Характерное гистологическое изображение ткани печени после криодеструкции, полученное методом окрашивания гематоксилином и эозином; поврежденная ткань показана справа [177].

Аппликатор охлаждался и приводился в контакт с тканью, криовоздействие проводилось в течение 5–20 с, а именно 5 с для образца № 1, 15 с для образца № 2 и № 3 и 20 с для образца № 4. Такие длительности криовоздействия выбраны исходя из того, что 20 с является околопредельной длительностью из-за относительно небольших размеров долей печени. После размораживания доли печени помещались обратно в брюшную полость.

Крысы выводились из эксперимента с помощью CO₂-камеры через 24 часа после криовоздействия. После измерения размеров области поврежденной ткани образцы печени отправлялись на гистологическое исследование, чтобы подтвердить разрушение ткани. Образцы тканей фиксировались в растворе формальдегида (4% раствор параформальдегида, pH = 7,4) в течение 48 часов, погружались в растворы этанола и ксилола и заливались в парафиновые блоки. Затем производились срезы толщиной 4–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Гистологические изображения образцов были получены при двухсоткратном увеличении. На Рисунке 38 (б) показано изображение ткани печени крысы после криповреждения. Граница между здоровыми (слева) и поврежденными (справа) областями ткани гладкая; поврежденная область характеризуется либо умеренной, либо выраженной вазодилатацией и отеком.

На Рисунке 39 представлены результаты мониторинга криодеструкции ткани печени крысы. На Рисунке 39 (а) приведены измеренные значения R_{meas} для одного образца. Измерения для разных образцов характеризовались существенной вариабельностью. Это объясняется различной толщиной долей печени, а также естественной дисперсией оптических свойств биологических тканей. Согласно предложенному методу, на основе R_{meas} оценивался эффективный коэффициент ослабления (Рисунок 39 (в)). Для получения $R_{\text{th}}(r, L)$ использовались следующие параметры ткани:

- полубесконечный (незамороженный) слой характеризовался $n_2 = [1,37 - 1,40]$, $\mu'_{s,2} = [2,70 - 2,8] \text{ мм}^{-1}$ и $\mu_{a,2} = [1,00 - 1,15] \text{ мм}^{-1}$
- параметры ледяного слоя характеризовались изменениями параметров $\Delta n = [0,02 - 0,1]$, $\Delta \mu_a = [0,008 - 0,05] \text{ мм}^{-1}$, $\Delta \mu'_s = [0,2 - 1,0] \text{ мм}^{-1}$.

На Рисунке 39 (б) показаны примеры рассчитанных значений интенсивности диффузно рассеянного излучения для двух каналов криоаппликатора. Очевидно, что область неопределенности была намного меньше для ткани печени, чем для фантома на основе желатина, и была меньше 0,5 мм. Это позволило провести зондирование ледяного слоя при довольно коротком криовоздействии. На Рисунке 39 (в) красные круги указывают на значения $\mu_{\text{eff,th}}(t)$ для образца № 4, хорошо согласующиеся со значениями, полученными на основе экспериментальных данных.

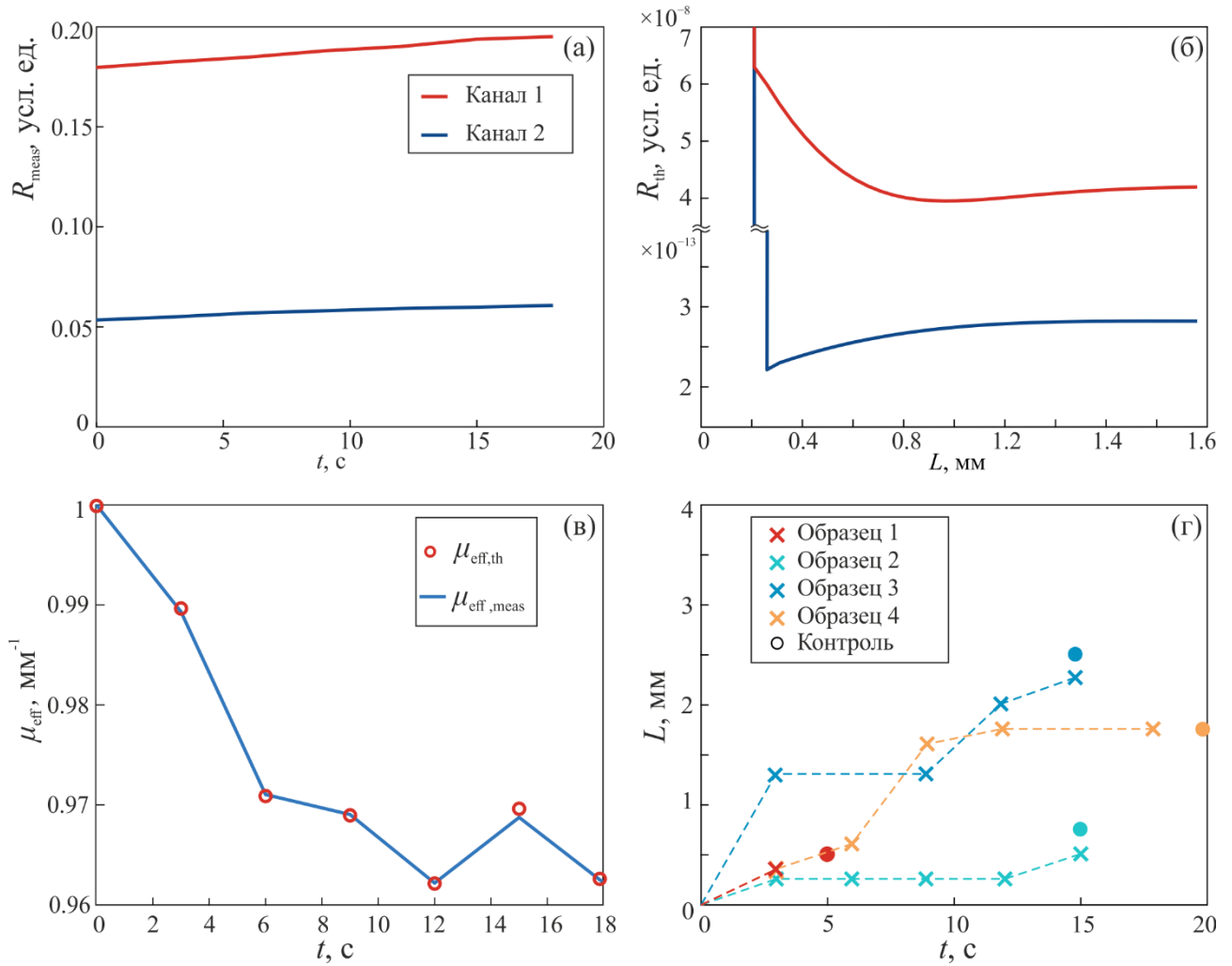


Рисунок 39 – Результаты мониторинга криодеструкции ткани печени крысы: (а) измеренные и (б) рассчитанные значения интенсивностей диффузно рассеянного излучения $R_{\text{meas}}(t)$ и $R_{\text{th}}(L)$; (в) нормированный эффективный коэффициент ослабления; (г) значения восстановленной толщины ледяного слоя (крестики) рассмотренных образцов в сравнении с контрольными измерениями (кружки) [177].

Восстановленная толщина ледяного слоя для каждого образца показана на Рисунке 39 (г). Очевиден довольно разный характер изменения L_1 для всех образцов. Однако значения L_1 хорошо согласуются с результатами контрольных измерений.

Данные результаты подтверждают возможность применения разработанного сапфирового аппликатора и метода для измерения толщины ледяного слоя *in vivo*.

4.2 Метод восстановления оптических и структурных свойств среды на основе терагерцовой импульсной спектроскопии

Оптический мониторинг процесса криодеструкции с помощью анализа диффузно рассеянного излучения не позволяет исследовать с большой точностью движение ледяного фронта в тканях на малой глубине (до ~ 1 мм), что связано с применением диффузионного приближения при оценке переноса излучения в биологических средах. Для преодоления этого недостатка необходимо использовать другие методы. Одним из них, как было описано в первой главе диссертации, является ОКТ. Современные ОКТ системы обладают достаточным разрешением для анализа структуры тканей на такой глубине. Более того, контраст оптических и рассеивающих свойств присутствует для замороженного и незамороженного слоя ткани. Однако совмещение ОКТ измерений с процессом криодеструкции остается нерешенной задачей. Бесконтактные системы не допускают расположение на оптическом пути до поверхности объекта посторонних предметов, в том числе криоаппликаторов. А эндоскопические системы не имеют в настоящее время зондов, стойких к охлаждению до азотных температур. Поэтому ОКТ измерения могут быть проведены только постфактум для анализа толщины ледяного слоя в ткани. При этом, очевидно, происходит смещение ледяного фронта и точность измерений сильно снижается.

Для мониторинга процесса движения ледяного фронта на малой глубине можно использовать методы ТГц импульсной спектроскопии. В ТГц области спектра также наблюдается диэлектрический контраст для замороженных и незамороженных тканей. Кроме того, измерения могут выполняться через сапфировую плоскопараллельную пластину (сапфир обладает малым

поглощением для ТГц длин волн), которая и выступает в качестве контактной части криоаппликатора. Поэтому в диссертационной работе был рассмотрен данный метод и проведено исследование распространения импульсного ТГц излучения в ткани в процессе криодеструкции.

4.2.1 Экспериментальная установка для исследования возможности мониторинга криодеструкции среды на основе ТГц импульсной спектроскопии

Для указанной цели использовался лабораторный импульсный ТГц спектрометр, схема которого изображена на Рисунке 40 [222]. Кратко опишем его принцип действия. Пучок излучения фемтосекундного лазера, падая на светоделитель, разделяется на две части: пучок накачки и пробный пучок. Ультракороткие импульсы пучка накачки фокусируются оптической системой на диэлектрической подложке фотопроводящей антенны. Излучаемая антенной ТГц излучение коллимируется с помощью кремниевой полусферической линзы с высоким сопротивлением, установленной на чипе антенны-излучателя. ТГц пучок имеет диаметр 25,4 мм. Одиночная плосковыпуклая линза с фокусным расстоянием 76,2 мм используется для фокусировки ТГц пучка с числовой апертурой $\approx 0,16$. С помощью двух внеосевых параболических зеркал производится измерение объекта в геометрии «на отражение». Падающий ТГц пучок с помощью первого зеркала фокусируется на границе между эталонным плоскопараллельным окном и тканью. Отраженный импульс с помощью второго зеркала и линзы направляется на антенну-детектор. За счет задержки пробного оптического импульса относительно оптического импульса накачки в ветви задержки и механического изменения оптического пути в ветви задержки производится сканирование отраженного от исследуемого объекта ТГц импульса по времени.

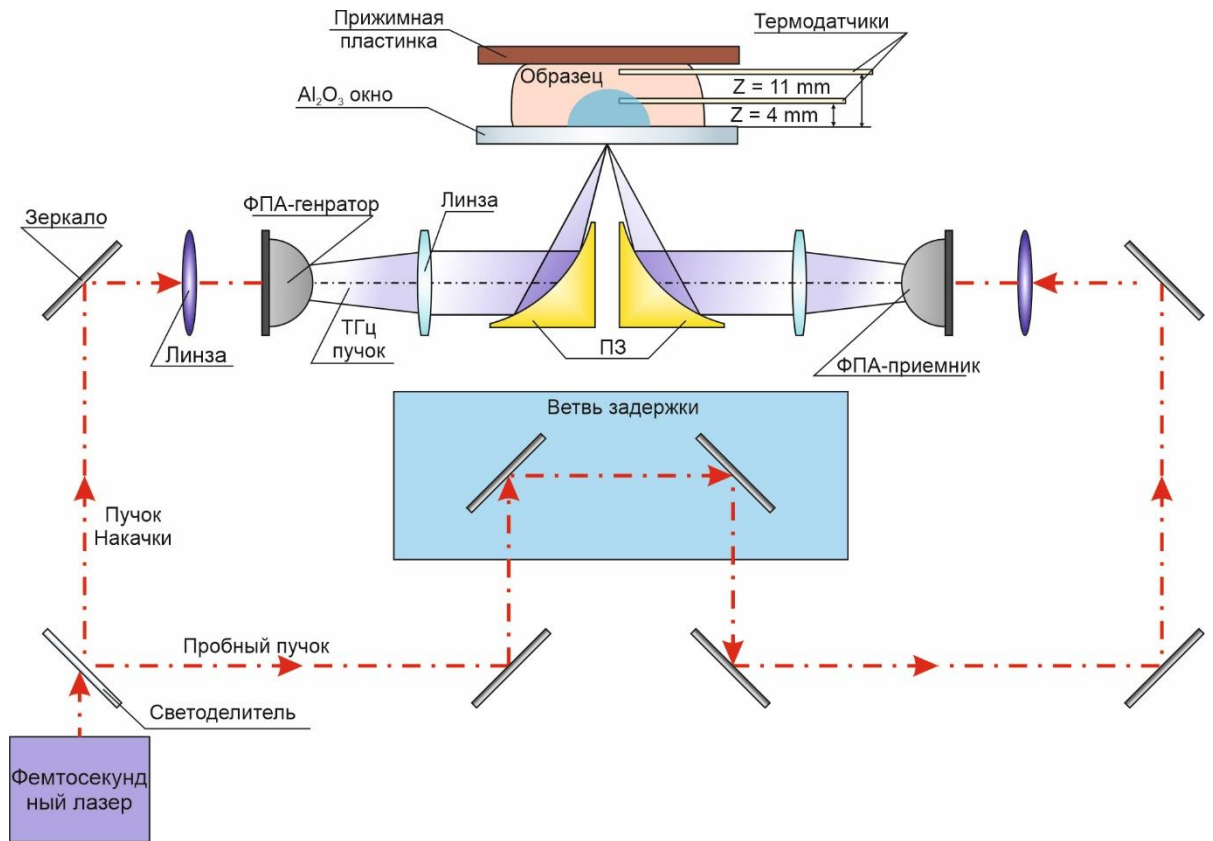


Рисунок 40 – Схема ТГц импульсного спектрометра и расположение образца ткани в процессе криодеструкции, ФПА - фотопроводящая антенна, ПЗ - золотое внеосевое параболическое зеркало [222].

Для исключения влияния внешней среды, а именно паров воды, на регистрируемые ТГц спектры, измерения проводились в азотной атмосфере. Также установка была оснащена держателем образца (Рисунок 41 (а)), состоящего из эталонного окна из сапфира, которое с одной стороны размещается на пути ТГц пучка в контакте с образцом ткани (Рисунок 40). С другой стороны, оно вставляется в металлическую раму, соединенную с резервуаром, заполненным жидким азотом, перед измерениями (Рисунок 41 (а)). Таким образом, благодаря высокой теплопроводности металла и сапфира окно обладает низкой и стабильной температурой во время измерений.

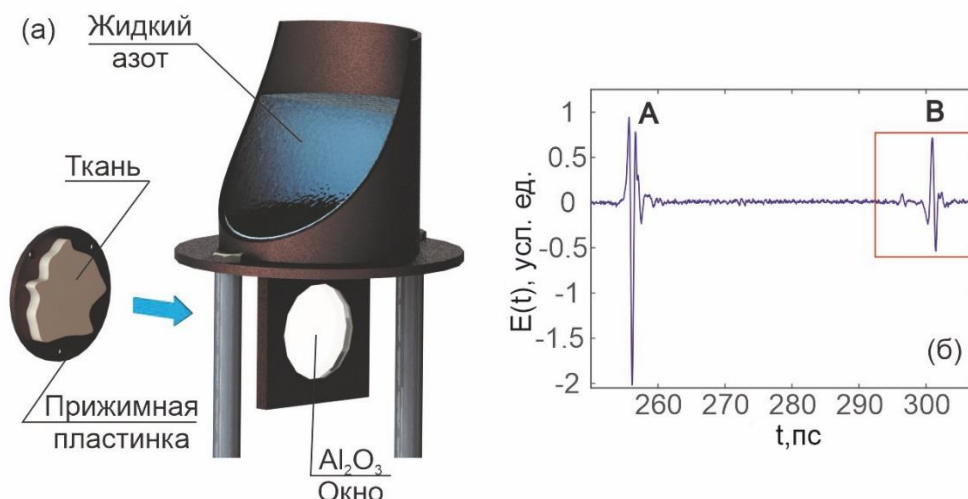


Рисунок 41 – (а) Оснастка для проведения криодеструкции. (б)

Регистрируемая напряженность $E(t)$, А и В – импульсы, отраженные от границ раздела свободное пространство – сапфировое окно и сапфировое окно – образец, соответственно [222].

В качестве образца ткани использовалась бычья висцеральная жировая ткань *ex vivo* из-за ее относительно однородной структуры [222]. Толщина образца составляет около 38 мм. Типичная форма отраженного ТГц сигнала во временной области показана на Рисунке 41 (б). Последовательность импульсов включает сигнал (А), отраженный от границы раздела «свободное пространство–окно», и область (В), включающую отраженный от границы «окно–образец» импульс, а также импульс, отраженный от границы раздела ледяной слой–незамороженный образец, который будет смещаться вправо по мере увеличения толщины ледяного слоя. В связи с этим рассматриваемый диапазон сканирования спектрометра настраивался на область В. Также важно заметить, что изменение положения и формы импульса (А) может быть связано с деформациями и локальным смещением эталонного окна, вызванными воздействием экстремально низких температур.

Измерения проводились при температуре 24°C. Однако образец предварительно нагревался до температуры 37°C с целью замедления начальной скорости движения ледяного фронта. После контакта ткани с охлаждаемым

окном ТГц сигнал постоянно регистрировался с периодом 15 с до полного замораживания образца. Для дополнительного контроля замораживания образца его температура измерялась с помощью температурных датчиков, расположенных на расстоянии 4 и 11 мм от сапфирового окна (Рисунок 40).

4.2.2 Метод восстановления диэлектрических и структурных свойств среды с помощью ТГц импульсной спектроскопии

Метод определения толщины ледяного слоя L_1 основан на использовании временного положения соответствующего импульса и восстановленных на основе коэффициентов Френеля и измеренных значений $E(t)$ показателей преломления образца.

Для получения показателей преломления образца до и после криодеструкции комплексная амплитуда падающего ТГц поля рассматривалась в виде $E(t) = A_0 \exp(i\phi)$, где A_0 и ϕ – амплитуда и фаза ТГц поля, соответственно. В предположении пренебрежимо малых потерь в опорном окне и при нормальном падении ТГц пучка амплитуды сигналов A_1 и A_2 импульсов, отраженных от первой и второй границ, описываются коэффициентами Френеля:

$$A_1 = R_{01}A_0; \quad (40)$$

$$A_2 = T_{01}R_{12}T_{10}A_0, \quad (41)$$

где R_{mk} и T_{mk} – коэффициенты Френеля амплитудного отражения и прохождения для m -й и k -й среды, которые для s-поляризованной волны определяются соответствующими показателями преломления n_m и n_k

$$R_{mk} = \frac{n_m - n_k}{n_m + n_k}; \quad (42)$$

$$T_{mk} = \frac{2n_k}{n_m + n_k}. \quad (43)$$

В рассмотренном случае показатели преломления на частоте 1 ТГц для свободного пространства и эталонного сапфирового окна составляют $n_0 = 1$ и $n_1 = 3.07$, соответственно [81]. С помощью оценки отношения $\left| \frac{A_2}{A_1} \right|$ для

измеренных сигналов возможно определить значения показателя преломления образца n_2 на частоте 1 ТГц для двух состояний ткани: для ледяного слоя n_f и для незамороженной ткани n_r . Значение показателя преломления n_f используется в дальнейшем для оценки толщины ледяного слоя L согласно соотношению $L = \frac{tc}{2n_f}$, где t – временное положение обнаруженного положения ледяного фронта, а c – это скорость света в вакууме.

Для определения временного положения t необходимо проанализировать измеренную последовательность отраженных ТГц импульсов. В зависимости от параметров спектрометра оба импульса (отраженные от границ раздела окно–образец и ледяной слой–незамороженная ткань) могут существенно перекрываться. Для определения положения второго импульса предложено использовать разностные нормированные на максимальное значение спектрограммы интенсивностей сигналов.

4.2.3 Апробация метода мониторинга процесса криодеструкции на основе ТГц импульсной спектроскопии

С помощью описанного метода и экспериментальной установки были получены значения показателей преломления $n_r = 1.84 \pm 0.01$ для образца при комнатной температуре и $n_f = 1.37 \pm 0.01$ для ледяного слоя. Таким образом, криовоздействие биологической ткани приводит к значительным изменениям ее показателя преломления.

Менее чем за 1 минуту толщина ледяного слоя исследуемого образца достигает 4 мм, что значительно превышает типичные значения глубины проникновения ТГц излучения в замороженные биологические ткани [160]. В связи со столь высокой скоростью формирования ледяного слоя возможно зарегистрировать лишь несколько ТГц сигналов до тех пор, пока положение ледяного фронта не превысит предельную глубину проникновения ТГц излучения. Для сохранения достаточной для анализа точности одновременно с

возможностью зафиксировать максимальное количество сигналов было выбрано время накопления равное 15 с. Для увеличения количества регистрируемых сигналов необходимо уменьшить время накопления и дискретность спектрометра.

На Рисунке 42 показана последовательность ТГц сигналов, зарегистрированных через 0 с (I), 15 с (II), 30 с (III) и 45 с (IV) от начала воздействия на образец. В начальный момент времени $t = 0$ распространения ледяного фронта ширина первого ТГц импульса, отвечающего за границу раздела сапфировое окно—образец, составляет около 5 пс, что соответствует $\sim 0,5$ мм глубины образца. В пределах этого слоя второй импульс, вызванный наличием границы раздела ледяной слой— незамороженный слой, вероятно, перекрывается первым. Его амплитуда значительно меньше, так как диэлектрический контраст между ледяным слоем и незамороженной тканью ниже, чем у образца и опорного окна. Таким образом, трудно оценить непосредственно по ТГц сигналам положение перемещения второго импульса.

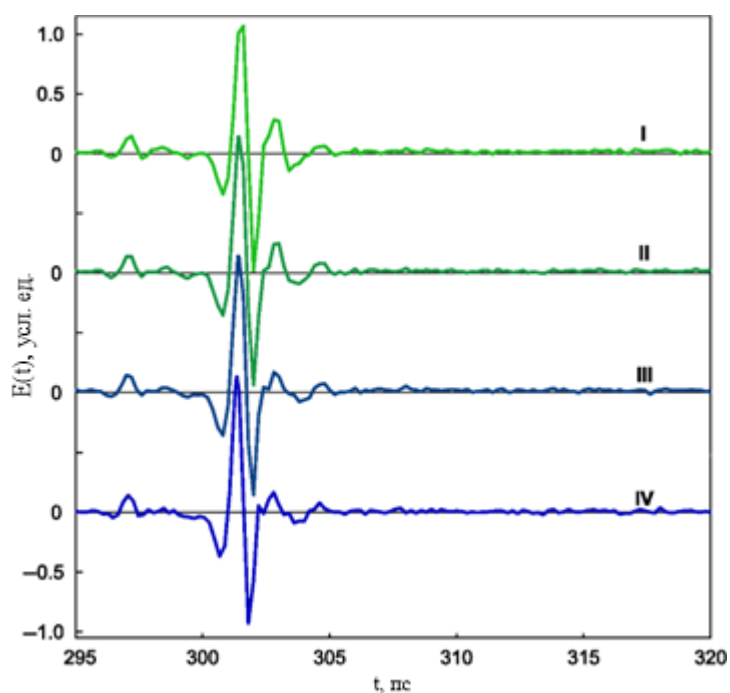


Рисунок 42 – Сигналы во временной области, отраженные от границы раздела «окно-ткань» в процессе криоаппликации. Сигналы I, II, III и IV соответствуют моментам $t = 0, 15, 30$ и 45 с, соответственно [222].

Как указано в разделе 4.2.2, чтобы преодолеть данную проблему, в дополнение к временным зависимостям напряженности поля анализировались спектрограммы интенсивности сигнала. На Рисунке 43 (а)–(г) представлены спектрограммы измеренных сигналов, показанных на вставках (Рисунок 43 (д)–(з)). На данных спектрограммах видно присутствие второго импульса, он обозначен стрелкой на Рисунке 43 (б) и (в). ТГц сигналы во временной области имеют довольно слабые изменения в определенные моменты времени, что не позволяет оценить их напрямую, как было сказано выше. Чтобы продемонстрировать это, обнаруженные положения вторых импульсов при $t = 15$ и 30 с отмечены красными прямоугольниками на ТГц сигналах (Рисунок 43 (е) и (ж)).

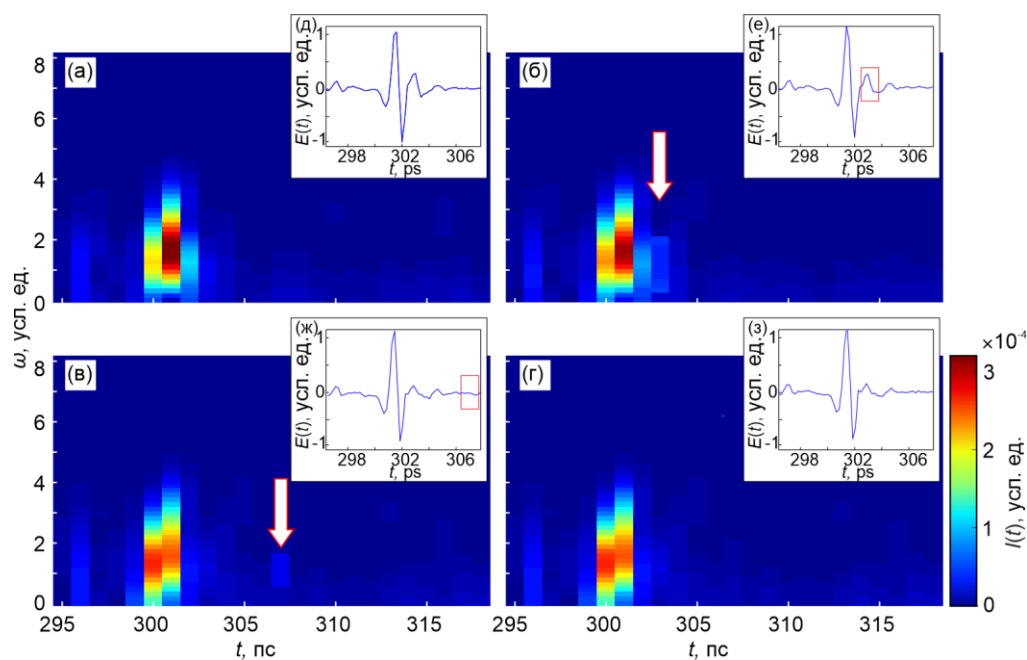


Рис. 43. Спектрограммы интенсивности сигнала, где белыми стрелками указано положение вторых импульсов, отраженных от ледяного фронта (а) - (г).

Амплитуды соответствующих сигналов, где красными прямоугольниками отмечены положения импульса, отраженного от границы ледяного слоя ((д)-(з))

[222].

Для точного обнаружения временного положения импульса, отраженного от границы ледяного слоя было проведено сравнение спектрограмм между собой. На Рисунке 44 показана разность $\Delta I(t)$ между нормированной спектрограммой $I_n(t) = \frac{I(t)}{\max[I(t)]}$ при $t = 15, 30$ и 45 с и исходной нормированной спектрограммой при $t = 0$. Очевидно, первый импульс меняется в течение первых 30 с, затем его вид остается стабильным. Возможно четко наблюдать наличие второго импульса при $t = 15$ и 30 с, что указывает на толщину ледяного слоя $L = 328$ мкм и $L = 657$ мкм, соответственно; затем его амплитуда становится меньше из-за поглощения, что не позволяет его обнаружить. Таким образом, в течение 30 с, начиная с момента охлаждения тканей, ТГц спектроскопия дает возможность проанализировать образование ледяного слоя и оценить его толщину.

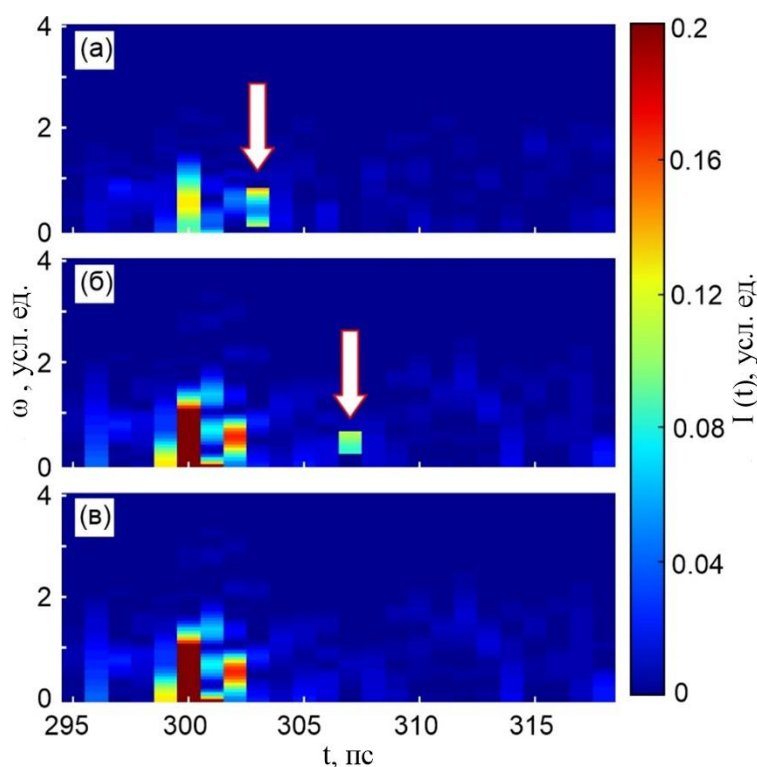


Рисунок 44 – Разности между нормированной спектрограммой $I_n(t) = I(t)/\max[I(t)]$ при (а) $t = 15$ с, (б) 30 с и (в) 45 с и исходной нормированной спектрограммой при $t = 0$ [222].

Оценка толщины ледяного слоя ткани показана на Рисунке 45, где значения, полученные методом ТГц спектроскопии, объединены с измерениями

температуры образца. На Рисунке 45 (б) показано изменение температуры на двух расстояниях 4 и 11 мм от границы раздела окно–ткань. Замедление процесса криодеструкции в начале можно объяснить начальным охлаждением ткани с 37°C до 0°C. Максимальная толщина ледяного слоя, наблюдаемая с помощью ТГц спектроскопии, ограничена значением 657 мкм. Это связано с ограниченными параметрами импульсного спектрометра, в частности, малой скоростью сканирования.

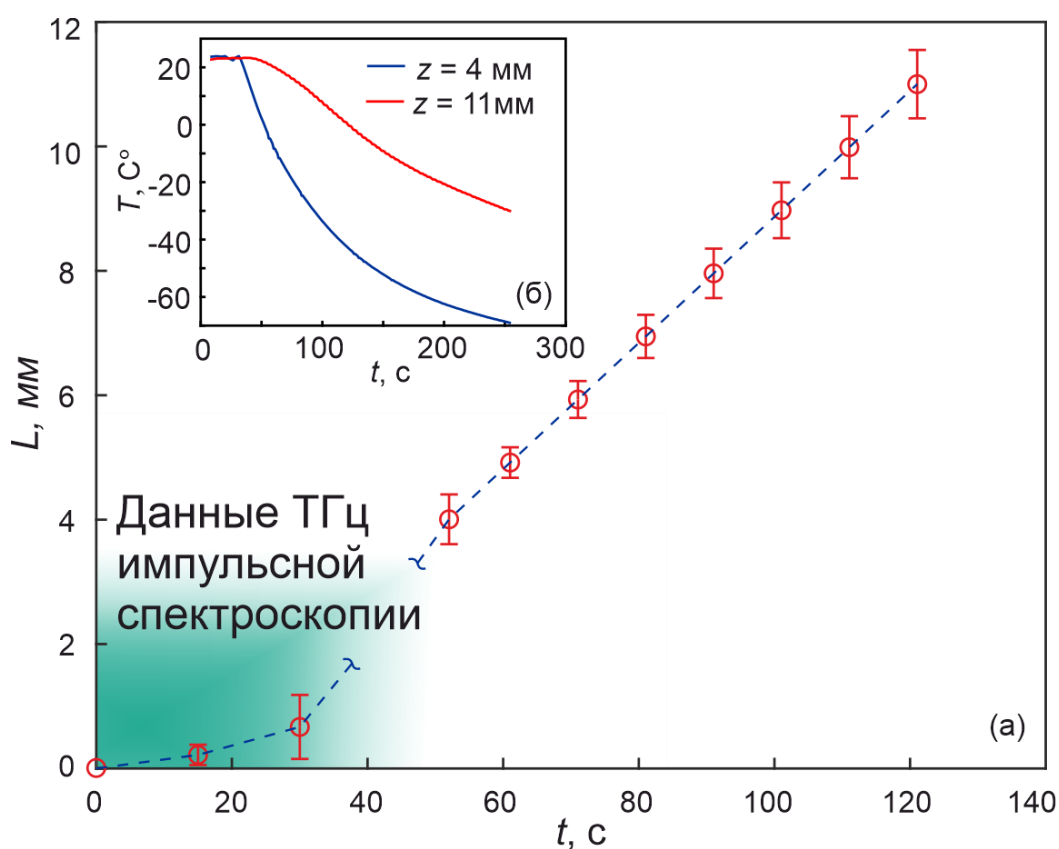


Рисунок 45 – Толщина ледяного слоя образца (а). (б) Изменение температуры образца на глубинах 4 и 11 мм [222].

Хотя глубина проникновения ТГц волн даже в замороженные ткани остается чрезвычайно низкой, определение толщины ледяного слоя с помощью ТГц импульсной спектроскопии может обеспечить достаточно высокую точность мониторинга распространения ледяного фронта, позволяя наблюдать и контролировать криодеструкцию и охлаждение клеточных и искусственных

тканевых структур, и скопление клеточных сфероидов. Обнаружение импульса ТГц волны, отраженного от границы ледяного слоя, подтверждает сделанное ранее предположение об отсутствии размытия ледяного фронта.

Выводы по 4й главе

1. Разработана математическая модель, описывающая диффузно рассеянное излучение в среде в процессе формирования в ней ледяного слоя.
2. На основе предложенной математической модели разработан метод мониторинга процесса криодеструкции с помощью сапфировых криоаппликаторов, заключающийся в определении толщины ледяного слоя на основе анализа диффузно рассеянного излучения.
3. Разработана и запатентована конструкция сапфировых криоаппликаторов, реализующих предложенный метод.
4. Проведена экспериментальная апробация разработанного метода мониторинга процесса криодеструкции. Показана практическая возможность определения толщины ледяного слоя до 8 мм в процессе криодеструкции.
5. Разработан метод мониторинга процесса криодеструкции биологических сред с помощью ТГц импульсной спектроскопии.
6. Проведена экспериментальная апробация разработанного метода мониторинга процесса криодеструкции с использованием ТГц импульсной спектроскопии. Показана практическая возможность определения толщины ледяного слоя до 0,65 мм в биологической среде с помощью данного метода.

Заключение

Приведем основные результаты диссертации:

1. Методами с капиллярной подпиткой (EFG) и некапиллярного формообразования (NCS) выращены профилированные кристаллы сапфира постоянного и переменного сечения для их использования в качестве криоаппликаторов.
2. Экспериментально изучены особенности формирования ледяного слоя в модельных (имитирующих биологические ткани) средах при использовании сапфировых (полых и монолитных) криоаппликаторов. Полученные временные зависимости температуры и объема замороженной области подтверждают, что сапфировые криоаппликаторы позволяют повысить эффективность криодеструкции по сравнению с металлическими аппликаторами.
3. Разработана математическая модель, описывающая диффузно рассеянное излучение в среде в процессе формирования в ней ледяного слоя.
4. На основе математической модели разработан и экспериментально апробирован метод мониторинга процесса криодеструкции с помощью сапфировых криоаппликаторов, заключающийся в определении толщины ледяного слоя на основе анализа диффузно рассеянного излучения. Показана практическая возможность определения толщины ледяного слоя до 8 мм в процессе криодеструкции.
5. Разработана и запатентована конструкция сапфировых криоаппликаторов, реализующих предложенный метод.
6. Разработан и экспериментально апробирован метод мониторинга процесса криодеструкции биологических сред с помощью ТГц импульсной спектроскопии. Показана практическая возможность определения толщины ледяного слоя до 0,65 мм в биологической среде с помощью данного метода.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСУ – автоматизированная система управления

ДС – постоянная составляющая сигнала

АС – переменная составляющая сигнала

РН – фазовая составляющая сигнала

КТ – компьютерная томография

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПЗ – внеосевое параболическое зеркало

СДР – спектроскопия диффузного рассеяния

ТГц – терагерцовый / терагерцовая

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФПА – фотопроводящая антенна

EFG – Edge-defined Film-fed Growth (метод с капиллярной подпиткой)

ISO – International Organization for Standardization (Международная организация по стандартизации)

NCS – Non-Capillary Shaping (метод некапиллярного формообразования)

VST – Variable Shaping Technique (метод вариационного формообразования)

Список литературы

1. *Vansonnenberg, E. Tumor Ablation: Principles and Practice* / E. Vansonnenberg, W. McMullen, L. Solbiati, [et al.]. – New York, USA : Springer-Verlag, 2005.
2. *Rubinsky, B. Cryosurgery* / B. Rubinsky // Annual review of biomedical engineering. – 2000. – Vol. 2. – P. 157-187.
3. *Шафранов, В. В. Современная концепция разрушения биологических тканей при локальной криодеструкции* / В. В. Шафранов, Е. Н. Борхунова, Д. И. Цыганов [и др.] // Гуманитарный Вестник. – 2013. – Вып.12. – С. 1-19.
4. *Korpan, N. Basics of Cryosurgery* / N. Korpan. – Wien : Springer-Verlag, 2001.
5. *Baust, J. G. Mechanisms of cryoablation: Clinical consequences on malignant tumors* / J. G. Baust, A. A. Gage, T. E. Bjerklund Johansen, J. M. Baust // Cryobiology. – 2014. – Vol. 68. – Iss.1. – P. 1-11.
6. *Васильев, С. А. Криодеструкция опухолей головного мозга (криооборудование и методика)* / С. А. Васильев, С. Б. Песня-Прасолов, С. В. Кунгурцев, В. Н. Павлов // Клиническая и Экспериментальная Хирургия. – 2015. – С. 15-21.
7. *Baust, J. G. The molecular basis of cryosurgery* / J. G. Baust, A. A. Gage // BJU International. – 2005. – Vol. 95. – Iss.9. – P. 1187-1191.
8. *Katyba, G. M. Sapphire shaped crystals for waveguiding, sensing and exposure applications* / G. M. Katyba, K. I. Zaytsev, I. N. Dolganova [et al.] // Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials. – 2018. – Vol. 64. – Iss.4. – P. 133 – 151.
9. *Kurlov, V. N. Sapphire: Properties, Growth, and Applications* / V. N. Kurlov // Encyclopedia of Materials: Science and Technology / eds. K. H. J. Buschow [et al.]. – Oxford : Elsevier, 2001. – P. 8259-8264.
10. *Pfleiderer, S. O. Cryotherapy of breast cancer under ultrasound guidance: initial results and limitations* / S. O. Pfleiderer, M. G. Freesmeyer, C. Marx [et al.] // European Radiology. – 2002. – Vol. 12. – Iss.12. – P. 3009-3014.
11. *Ahmed, M. Percutaneous Ultrasound-Guided Cryoablation for Symptomatic Plantar Fibromas* / M. Ahmed, J. Weinstein, J. Hussain [et al.] // Cardio Vascular and Interventional Radiology. – 2018. – Vol. 41. – P. 298-304.

12. *Berim, I. G.* Radial Probe Ultrasound-Guided Cryobiopsy / I. G. Berim, A. I. Saeed, A. Awab [et al.] // Journal of Bronchology & Interventional Pulmonology. – 2017. – Vol. 24. – Iss.2. – P. 170-173.
13. *Ward, R. C.* Ultrasound-Guided Breast Cancer Cryoablation / R. C. Ward, A. P. Lourenco, M. B. Mainiero // American Journal of Roentgenology. – 2019. – Vol. 213. – Iss.3. – P. 716-722.
14. *Lichter, J.* Real-time magnetic resonance imaging-guided cryoablation of the pulmonary veins with acute freeze-zone and chronic lesion assessment / J. Lichter, E. G. Kholmovski, N. Coulombe [et al.] // EP Europace. – 2018. – Vol. 21. – Iss.1. – P. 154-162.
15. *Zhou, K.* Combined magnetic resonance imaging and optical surgical navigation system guidance of percutaneous liver cryoablation in a porcine model / K. Zhou, Z. Zhang, M. Figini [et al.] // American Journal of Translational Research. – 2018. – Vol. 10. – Iss.5. – P. 1531-1538.
16. *Tokuda, J.* Motion compensation for MRI-compatible patient-mounted needle guide device: estimation of targeting accuracy in MRI-guided kidney cryoablations / J. Tokuda, L. Chauvin, B. Ninni [et al.] // Physics in Medicine & Biology. – 2018. – Vol. 63. – Iss.8. – P. 85010.
17. *Jankovic, I.* Preclinical cerebral cryoablation in non-tumor bearing pigs / I. Jankovic, F. R. Poulsen, C. B. Pedersen [et al.] // Scientific Reports. – 2022. – Vol. 12. – P. 1977.
18. *Fan, W.* Percutaneous computed tomography-guided cryoablation for recurrent retroperitoneal soft tissue sarcoma: a study of safety and efficacy / W. Fan, L. Niu, Y. Wang [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7. – Iss.27. – P. 42639-42649.
19. *Pohlan, J.* Computed Tomography Thermography for Ablation Zone Prediction in Microwave Ablation and Cryoablation: Advantages and Challenges in an Ex Vivo Porcine Liver Model / J. Pohlan, W. Kress, K.-G. Hermann [et al.] // Journal of Computer Assisted Tomography. – 2020. – Vol. 44. – Iss.5. – P. 744-749.
20. *Yang, Y.* Retrospective analysis of CT-guided percutaneous cryoablation for treatment of painful osteolytic bone metastasis / Y. Yang, Y. Li, Y. Wu [et al.] // Cryobiology. – 2020. – Vol. 92. – P. 203-207.
21. *Shurrab, M.* The cooling performance of a cryoprobe: Establishing guidelines for the safety margins in cryosurgery / M. Shurrab, H. Wang, N. Kubo [et al.] // International Journal of Refrigeration. – 2016. – Vol. 67. – P. 308-318.
22. *Tokiwa, T.* A Palm-Sized Cryoprobe System With a Built-In Thermocouple and Its Application in an Animal Model of Epilepsy / T. Tokiwa, L. Zimin, H. Ishiguro

[et al.] // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2019. – Vol. 66. – Iss.11. – P. 3168-3175.

23. *Esenaliev, R. O.* Optoacoustic diagnostic modality: from idea to clinical studies with highly compact laser diode-based systems / R. O. Esenaliev // Journal of Biomedical Optics. – 2017. – Vol. 22. – Iss.9. – P. 91512.

24. *Larin, K. V.* Optoacoustic laser monitoring of cooling and freezing of tissues / K. V. Larin, I. V. Larina, M. Motamedi, R. O. Esenaliev // Quantum Electronics. – 2002. – Vol. 32. – Iss.11. – P. 953-959.

25. *Petrova, E. V.* In vivo optoacoustic temperature imaging for image-guided cryotherapy of prostate cancer / E. V Petrova, H. P. Brecht, M. Motamedi [et al.] // Physics in Medicine & Biology. – 2018. – Vol. 63. – Iss.6. – P. 64002.

26. *Seifert, J. K.* Cryotherapy for liver tumors: current status, perspectives, clinical results, and review of literature / J. K. Seifert, T. Junginger // Technology in Cancer Research & Treatment. – 2004. – Vol. 3. – Iss.2. – P. 151-163.

27. *Khan, A.* Focal Cryoablation of the Prostate: Primary Treatment in 163 Patients With Localized Prostate Cancer. / A. Khan, A. U. Khan, L. Siref, M. Feloney // Cureus. – 2023. – Vol. 15. – Iss.4. – P. e37172.

28. *Pfleiderer, S. O.* Cryotherapy of breast cancer under ultrasound guidance: initial results and limitations / S. O. Pfleiderer, M. G. Freesmeyer, C. Marx [et al.] // European Radiology. – 2002. – Vol. 12. – Iss.12. – P. 3009-3014.

29. *Maiwand, M.* Cryosurgery for Lung Cancer: Clinical Results and Technical Aspects / M. Maiwand, G. Asimakopoulos // Technology in Cancer Research & Treatment. – 2004. – Vol. 3. – P. 143-150.

30. *Nomori, H.* The cryoablation of lung tissue using liquid nitrogen in gel and in the ex vivo pig lung / H. Nomori, I. Yamazaki, T. Kondo, M. Kanno // Surgery Today. – 2017. – Vol. 47. – P. 259-264.

31. *Erinjeri, J. P.* Cryoablation: Mechanism of Action and Devices / J. P. Erinjeri, T. W. I. Clark // Journal of Vascular and Interventional Radiology. – 2010. – Vol. 21. – Iss.8. – P. S187-S191.

32. *Andrade, J. G.* Cryoablation for atrial fibrillation. / J. G. Andrade // Heart Rhythm O2. – 2020. – Vol. 1. – Iss.1. – P. 44-58.

33. *Sabel, M. S.* Cryo-immunology: A review of the literature and proposed mechanisms for stimulatory versus suppressive immune responses / M. S. Sabel // Cryobiology. – 2009. – Vol. 58. – Iss.1. – P. 1-11.

34. *Shulman, S.* Cryo-immunology: a method of immunization to autologous tissue / S. Shulman, C. Yantorno, P. Bronson // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.).* – 1967. – Vol. 124. – Iss.2. – P. 658-661.
35. *Washington, K.* Hepatic cryoablation-induced acute lung injury: histopathologic findings / K. Washington, J. P. Debelak, C. Gobbell [et al.] // *The Journal of Surgical Research.* – 2001. – Vol. 95. – Iss.1. – P. 1-7.
36. *Chapman, W. C.* Hepatic cryoablation-induced acute lung injury: pulmonary hemodynamic and permeability effects in a sheep model / W. C. Chapman, J. P. Debelak, T. S. Blackwell [et al.] // *Archives of Surgery.* – 2000. – Vol. 135. – Iss.6. – P. 667-673.
37. *Seifert, J. K.* Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels following hepatic cryotherapy: association with volume and duration of freezing / J. K. Seifert, G. J. Stewart, P. M. Hewitt [et al.] // *World Journal of Surgery.* – 1999. – Vol. 23. – Iss.10. – P. 1019-1026.
38. *Hoffmann, N. E.* The cryobiology of cryosurgical injury / N. E. Hoffmann, J. C. Bischof // *Urology.* – 2002. – Vol. 60. – Iss.2. – P. 40-49.
39. *Mazur, P.* Freezing of living cells: mechanisms and implications / P. Mazur // *The American Journal of Physiology.* – 1984. – Vol. 247. – Iss.3 Pt 1.
40. *Privalov, P. L.* Cold denaturation of proteins / P. L. Privalov // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular biology.* – 1990. – Vol. 25. – Iss.4. – P. 281-306.
41. *Bischof, J. C.* Thermal Stability of Proteins / J. C. Bischof, X. He // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2006. – Vol. 1066. – Iss.1. – P. 12-33.
42. *Mazur, P.* Kinetics of water loss and the likelihood of intracellular freezing in mouse ova. Influence of the method of calculating the temperature dependence of water permeability / P. Mazur, W. F. Rall, S. P. Leibo // *Cell Biophysics.* – 1984. – Vol. 6. – Iss.3. – P. 197-213.
43. *Bryant, G.* DSC measurement of cell suspensions during successive freezing runs: implications for the mechanisms of intracellular ice formation / G. Bryant // *Cryobiology.* – 1995. – Vol. 32. – Iss.2. – P. 114-128.
44. *Gage, A. A.* Mechanisms of tissue injury in cryosurgery / A. A. Gage, J. Baust // *Cryobiology.* – 1998. – Vol. 37. – Iss.3. – P. 171-186.
45. *Hanai, A.* Induction of apoptosis in human colon carcinoma cells HT29 by sublethal cryo-injury: mediation by cytochrome c release / A. Hanai, W. L. Yang, T. S. Ravikumar // *International Journal of Cancer.* – 2001. – Vol. 93. – Iss.4. – P. 526-533.

46. *Clarke, D. M.* Cryoablation of renal cancer: variables involved in freezing-induced cell death / D. M. Clarke, A. T. Robilotto, E. Rhee [et al.] // *Technology in Cancer Research & Treatment*. – 2007. – Vol. 6. – Iss.2. – P. 69-79.

47. *Finelli, A.* Cryotherapy and radiofrequency ablation: pathophysiologic basis and laboratory studies / A. Finelli, J. C. Rewcastle, M. A. S. Jewett // *Current Opinion in Urology*. – 2003. – Vol. 13. – Iss.3. – P. 187-191.

48. *Weber, S. M.* Perivascular and intralesional tissue necrosis after hepatic cryoablation: results in a porcine model / S. M. Weber, F. T. Lee, D. O. Chinn [et al.] // *Surgery*. – 1997. – Vol. 122. – Iss.4. – P. 742-747.

49. *Klossner, D. P.* Cryosurgical technique: assessment of the fundamental variables using human prostate cancer model systems / D. P. Klossner, A. T. Robilotto, D. M. Clarke [et al.] // *Cryobiology*. – 2007. – Vol. 55. – Iss.3. – P. 189-199.

50. *Woolley, M. L.* Effect of freezing parameters (freeze cycle and thaw process) on tissue destruction following renal cryoablation / M. L. Woolley, D. A. Schulsinger, D. B. Durand [et al.] // *Journal of Endourology*. – 2002. – Vol. 16. – Iss.7. – P. 519-522.

51. *Finger, P. T.* “Finger-tip” cryotherapy probes: treatment of squamous and melanocytic conjunctival neoplasia / P. T. Finger // *The British Journal of Ophthalmology*. – 2005. – Vol. 89. – Iss.8. – P. 942.

52. *Jankovic, I.* Preclinical cerebral cryoablation in non-tumor bearing pigs / I. Jankovic, F. R. Poulsen, C. B. Pedersen [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – P. 1977.

53. *Коченов В.И.* Патент № 2246280 Российская Федерация, МПК А61В 18/02. Способ криогенного лечения патологических очагов / Коченов В.И., Королев Ю.В., Цыбусов С.Н., Черкасова О.Г. – Патентообладатель: ГУ “Нижегородская государственная медицинская академия”, ООО Центр медицинской криологии “онколог”, Коченов Владимир Иванович, 2003.

54. *Коченов В.И.* Микрокриокомпрессионный способ лечения мелких папилломавирусных новообразований и гемангиом / Коченов В.И., Цыбусов С.Н., Буланов Г.А. // *Новое в Практической Медицинской Криологии*. – 2004. – С. 38-39.

55. *Шафранов В.В.* Криогенный и комбинированный СВЧ-криогенный методы в лечении гемангиом у детей / Шафранов В.В., Малышева Н.Б., Жаров Б.В. // *Медицинская Криология*. – 2001.

56. *Massalha, L.* Freezing by a Flat, Circular Surface Cryoprobe of a Tissue Phantom With an Embedded Cylindrical Heat Source Simulating a Blood Vessel / L.

Massalha, A. Shitzer // *Journal of Biomechanical Engineering*. – 2005. – Vol. 126. – Iss.6. – P. 736-744.

57. *Etheridge, M. L.* Methods for Characterizing Convective Cryoprobe Heat Transfer in Ultrasound Gel Phantoms / M. L. Etheridge, J. Choi, S. Ramadhyani, J. C. Bischof // *Journal of Biomechanical Engineering*. – 2013. – Vol. 135. – Iss.2.

58. *Goette, J.* Freezing Equals Freezing? Performance of Two Cryoablation Devices in Concomitant Mitral Valve Repair / J. Goette, T. Weimar, M. Vosseler [et al.] // *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*. – 2016. – Vol. 64. – Iss.08. – P. 672-678.

59. *Bischof, J.* A morphological study of cooling rate response in normal and neoplastic human liver tissue: cryosurgical implications / J. Bischof, K. Christov, B. Rubinsky // *Cryobiology*. – 1993. – Vol. 30. – Iss.5. – P. 482-492.

60. *Rupp, C. C.* Cryosurgical changes in the porcine kidney: Histologic analysis with thermal history correlation / C. C. Rupp, N. E. Hoffmann, F. R. Schmidlin [et al.] // *Cryobiology*. – 2002. – Vol. 45. – Iss.2. – P. 167-182.

61. *Uchida, M.* Percutaneous cryosurgery for renal tumours / M. Uchida, Y. Imaide, K. Sugimoto [et al.] // *British Journal of Urology*. – 1995. – Vol. 75. – Iss.2. – P. 132-137.

62. *Mala, T.* Percutaneous cryoablation of colorectal liver metastases: Potentiated by two consecutive freeze-thaw cycles / T. Mala, B. Edwin, T. Tillung [et al.] // *Cryobiology*. – 2003. – Vol. 46. – Iss.1. – P. 99-102.

63. *Baust, J.* Minimally invasive cryosurgery--technological advances / J. Baust, A. A. Gage, H. Ma, C. M. Zhang // *Cryobiology*. – 1997. – Vol. 34. – Iss.4. – P. 373-384.

64. *Baust, J. G.* The pathophysiology of thermoablation: optimizing cryoablation / J. G. Baust, A. A. Gage, A. T. Robilotto, J. M. Baust // *Current Opinion in Urology*. – 2009. – Vol. 19. – Iss.2. – P. 127-132.

65. *Arnott, J.* On the treatment of cancer, by the regulated application of an anaesthetic temperature / J. Arnott. – 1851.

66. *Cooper, I. S.* Cryogenic Freezing of Brain Tumors for Excision or Destruction in Situ / I. S. Cooper, S. Stellar // *Journal of Neurosurgery*. – 1963. – Vol. 20. – Iss.11. – P. 921-930.

67. *Dhaliwal, A.* Endoscopic cryotherapy: Indications, techniques, and outcomes involving the gastrointestinal tract / A. Dhaliwal, S. M. Saghir, A. Mashiana H.S. and Braseth [et al.] // *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*. – 2022. – Vol. 14. – Iss.1. – P. 17-28.

68. *Говоров, А. В.* Лечение рака предстательной железы при помощи криоабляции: Проспективное исследование / А. В. Говоров, А. О. Васильев, В. Ю. Иванов, М. В. Ковылина // Урология. – 2014. – С. 69-74.
69. *Гафтон, Г. И.* Технология пункционной криодеструкции опухолей мягких тканей / Г. И. Гафтон, Г. Г. Прохоров, Е. В. Костромина // Вопросы Онкологии. – 2016. – Том 62. – С. 63-66.
70. *Surtees, B.* Validation of a low-cost, carbon dioxide-based cryoablation system for percutaneous tumor ablation / B. Surtees, S. Young, Y. Hu [et al.] // PLOS ONE. – 2019. – Vol. 14. – Iss.7. – P. e0207107.
71. *Takeda, H.* Development and estimation of a novel cryoprobe utilizing the Peltier effect for precise and safe cryosurgery / H. Takeda, S. Maruyama, J. Okajima [et al.] // Cryobiology. – 2009. – Vol. 59. – Iss.3. – P. 275-284.
72. *Song, K. D.* Percutaneous cryoablation for hepatocellular carcinoma / K. D. Song // Clinical and Molecular Hepatology. – 2016. – Vol. 22. – Iss.4. – P. 509-515.
73. *Amoils, S. P.* The Joule Thomson cryoprobe / S. P. Amoils // Archives of Ophthalmology. – 1967. – Vol. 78. – Iss.2. – P. 201-207.
74. *Marchenko, E. S.* In vivo study of porous NiTi cryotweezers for bone tissue cryotherapy / E. S. Marchenko, K. M. Dubovikov, I. I. Kuzhelivskiy [et al.] // Cryobiology. – 2024. – Vol. 115. – P. 104894.
75. *Гюнтер, В. Э.* Никелид титана: медицинский материал нового поколения / В. Э. Гюнтер. – НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы Сибирского физико-технического института при Томском гос. университете, 2006.
76. *Классен-Неклюдова, М. В.* Рубин и сапфир / М. В. Классен-Неклюдова, Х. С. Багдасаров, Л. М. Беляев [и др.] – Наука, Москва, 1974.
77. *Kurlov, V.* Shaped crystal growth / V. Kurlov, S. Rossolenko, N. Abrosimov [et al.] // Crystal Growth Processes Based on Capillarity. – John Wiley & Sons, Ltd, 2010. – Vol. 5. – P. 277-354.
78. *Dobrovinskaya, E. R.* Properties of Sapphire / E. R. Dobrovinskaya, L. A. Lytvynov, V. Pishchik // Sapphire. – Springer US, 2009. – P. 55-176.
79. *Dobrovinskaya, E.* Application of Sapphire / E. Dobrovinskaya, L. Lytvynov, V. Pishchik. – 2009. – P. 1-54.
80. *Lacovara, P.* Growth, spectroscopy, and lasing of titanium-doped sapphire / P. Lacovara, L. Esterowitz, M. Kokta // IEEE Journal of Quantum Electronics. – 1985. – Vol. 21. – Iss.10. – P. 1614-1618.

81. *Grischkowsky, D.* Far-infrared time-domain spectroscopy with terahertz beams of dielectrics and semiconductors / D. Grischkowsky, S. Keiding, M. van Exter, Ch. Fattinger // Journal of the Optical Society of America B. – 1990. – Vol. 7. – Iss.10. – P. 2006-2015.
82. *Jianwei, X.* Growth of large-sized sapphire boules by temperature gradient technique (TGT) / X. Jianwei, Z. Yongzong, Z. Guoqing [et al.] // Journal of Crystal Growth. – 1998. – Vol. 193. – Iss.1. – P. 123-126.
83. *Martienssen, W.* Springer handbook of condensed matter and materials data / W. Martienssen, H. Warlimont. – 2006.
84. *Ashkenasi, D.* Laser processing of sapphire with picosecond and sub-picosecond pulses / D. Ashkenasi, A. Rosenfeld, H. Varel [et al.] // Applied Surface Science. – 1997. – Vol. 120. – Iss.1. – P. 65-80.
85. *Uteza, O.* Laser-induced damage threshold of sapphire in nanosecond, picosecond and femtosecond regimes / O. Uteza, B. Bussière, F. Canova [et al.] // Applied Surface Science. – 2007. – Vol. 254. – Iss.4. – P. 799-803.
86. *Mitra, N. R.* Melting Curves of Copper, Silver, Gold, and Platinum to 70 kbar / N. R. Mitra, D. L. Decker, H. B. Vanfleet // Physical Review. – 1967. – Vol. 161. – Iss.3. – P. 613.
87. *Ekin, J.* Experimental Techniques for Low-Temperature Measurements: Cryostat Design, Material Properties and Superconductor Critical-Current Testing / J. Ekin. – Oxford University Press, 2006. – 1-704 p.
88. *Slack, G. A.* The intrinsic thermal conductivity of AlN / G. A. Slack, R. A. Tanzilli, R. O. Pohl, J. W. Vandersande // Journal of Physics and Chemistry of Solids. – 1987. – Vol. 48. – Iss.7. – P. 641-647.
89. *Степанов, А. В.* Будущее металлообработки / А. В. Степанов // Лениздат, Ленинград. – 1963. – С. 131.
90. *Chua, K. J.* An analytical study on the thermal effects of cryosurgery on selective cell destruction / K. J. Chua, S. K. Chou, J. C. Ho // Journal of Biomechanics. – 2007. – Vol. 40. – Iss.1. – P. 100-116.
91. *Thaokar, C.* Temperature field reconstruction for minimally invasive cryosurgery with application to wireless implantable temperature sensors and/or medical imaging / C. Thaokar, Y. Rabin // Cryobiology. – 2012. – Vol. 65. – Iss.3. – P. 270-277.
92. *Hebbadj, S.* Safety Considerations and Local Tumor Control Following Percutaneous Image-Guided Cryoablation of T1b Renal Tumors / S. Hebbadj, R. L.

Cazzato, J. Garnon [et al.] // Cardio Vascular and Interventional Radiology. – 2018. – Vol. 41. – Iss.3. – P. 449-458.

93. *Keelan, R.* Computerized training of cryosurgery – a system approach / R. Keelan, S. Yamakawa, K. Shimada, Y. Rabin // Cryo Letters. – 2013. – Vol. 34. – Iss.4. – P. 324.

94. *Shurrab, M.* The cooling performance of a cryoprobe: Establishing guidelines for the safety margins in cryosurgery / M. Shurrab, H. Wang, N. Kubo [et al.] // International Journal of Refrigeration. – 2016. – Vol. 67. – P. 308-318.

95. *Шакуров, А. В.* Предпосылки для разработки нового поколения криохирургических аппаратов (обзор) / А. В. Шакуров, А. В. Пушкарев, В. А. Пушкарев, Д. И. Цыганов // Современные Технологии в Медицине. – 2017. – Том 9. – Вып.2. – С. 178-187.

96. *Choi, J.* Review of biomaterial thermal property measurements in the cryogenic regime and their use for prediction of equilibrium and non-equilibrium freezing applications in cryobiology / J. Choi, J. C. Bischof // Cryobiology. – 2010. – Vol. 60. – Iss.1. – P. 52-70.

97. *Tacke, J.* MR-guided interstitial cryotherapy of the liver with a novel, nitrogen- cooled cryoprobe / J. Tacke, G. Adam, R. Speetzen [et al.] // Magnetic Resonance in Medicine. – 1998. – Vol. 39. – Iss.3. – P. 354-360.

98. *Braun, B.* Ultraschalldiagnostik: Lehrbuch und Atlas / B. Braun, R. W. Günther, W. Schwerk, [et al.]. – Heidelberg : Ecomed Storck, 2024. – 1-3440 p.

99. *Ravikumar, T. S.* Hepatic cryosurgery with intraoperative ultrasound monitoring for metastatic colon carcinoma / T. S. Ravikumar, R. Kane, B. Cady [et al.] // Archives of Surgery. – 1987. – Vol. 122. – Iss.4. – P. 403-409.

100. *Yamazaki, M. ,.* Measurement of burn depths in rats using multiwavelength photoacoustic depth profiling. Journal of biomedical optics / M. , Yamazaki, S. , Sato, H. , Ashida [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2005. – Vol. 10(6).

101. *Larin, K. V.* Monitoring of temperature distribution in tissues with optoacoustic technique in real time / K. V. Larin, I. V. Larina, M. Motamedi, R. O. Esenaliev // Biomedical Optoacoustics. – 2000. – Vol. 3916. – P. 311-321.

102. *Zhu, M.* Image-guided thermal ablation with MR-based thermometry / M. Zhu, Z. Sun, C. K. Ng // Quantitative Imaging in Medicine and Surgery. – 2017. – Vol. 7. – Iss.3. – P. 356-368.

103. *Kawamura, M.* Percutaneous cryoablation of small pulmonary malignant tumors under computed tomographic guidance with local anesthesia for nonsurgical

candidates / M. Kawamura, Y. Izumi, N. Tsukada [et al.] // The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2006. – Vol. 131. – Iss.5. – P. 1007-1013.

104. *Huber, P.* A new noninvasive approach in breast cancer therapy using magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound surgery / P. Huber, J. Jenne, R. Rastert [et al.] // Cancer Research. – 2001. – Vol. 61(23).

105. *Azevedo, A. A. P.* Image-guided percutaneous renal cryoablation: Five years experience, results and follow-up / A. A. P. Azevedo, A. Rahal, P. M. Falsarella [et al.] // European Journal of Radiology. – 2018. – Vol. 100. – P. 14-22.

106. *Jolesz, F. A.* MR imaging-controlled focused ultrasound ablation: A noninvasive image-guided surgery / F. A. Jolesz, K. Hynynen, N. McDannold, C. Tempany // Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America. – 2005. – Vol. 13. – Iss.3. – P. 545-560.

107. *Isoda, H.* Sequential MRI and CT monitoring in cryosurgery--an experimental study in rats / H. Isoda // Nihon Igaku Hoshasen Gakkai zasshi. Nippon acta radiologica. – 1989.

108. *Matsumoto, R.* Monitoring of laser and freezinginduced ablation in the liver with T1-weighted MR imaging / R. Matsumoto, K. Oshio, F. A. Jolesz // Journal of Magnetic Resonance Imaging. – 1992. – Vol. 2. – Iss.5. – P. 555-562.

109. *Gilbert, J. C.* MRI-monitored cryosurgery in the rabbit brain / J. C. Gilbert, B. Rubinsky, M. S. Roos [et al.] // Magnetic Resonance Imaging. – 1993. – Vol. 11. – Iss.8. – P. 1155-1164.

110. *Rubinsky, B.* Monitoring Cryosurgery in the Brain and in the Prostate with Proton NMR / B. Rubinsky, J. C. Gilbert, G. M. Onik [et al.] // Cryobiology. – 1993. – Vol. 30. – Iss.2. – P. 191-199.

111. *Saliken, J. C.* CT for monitoring cryotherapy / J. C. Saliken, J. G. McKinnon, R. Gray // American Journal of Roentgenology. – 1996. – Vol. 166. – Iss.4. – P. 853-855.

112. *Diller, T. E.* Advances in heat transfer / T. E. Diller // Academic Press. – 1993. – Vol. 23. – P. 5-6.

113. *Charny, C. K.* Advances in heat transfer / C. K. Charny // Advances in Heat Transfer. – 1992. – P. 19-155.

114. *Cooper, I. S.* Cryostatic congelation: A system for producing a limited, controlled region of cooling or freezing of biologic tissues / I. S. Cooper, A. S. J. Lee // Journal of Nervous and Mental Disease. – 1961. – Vol. 133. – Iss.3. – P. 259-263.

115. *Sehrawat, A.* Generating prostate models by means of geometric deformation with application to computerized training of cryosurgery / A. Sehrawat, K. Shimada, Y. Rabin // International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery. – 2013. – Vol. 8. – Iss.2. – P. 301.
116. *Khanday, M. A.* Explicit formula of finite difference method to estimate human peripheral tissue temperatures during exposure to severe cold stress / M. A. Khanday, F. Hussain // Journal of Thermal Biology. – 2015. – Vol. 48. – P. 51-55.
117. *Zhao, X.* Studying the thermal effects of a clinically-extracted vascular tissue during cryo-freezing / X. Zhao, K. J. Chua // Journal of Thermal Biology. – 2012. – Vol. 37. – Iss.8. – P. 556-563.
118. *Jaeger, M.* The Front-Tracking ALE Method: Application to a Model of the Freezing of Cell Suspensions / M. Jaeger, M. Carin // Journal of Computational Physics. – 2002. – Vol. 179. – Iss.2. – P. 704-735.
119. *Hafid, M.* Fast inverse prediction of the freezing front in cryosurgery / M. Hafid, M. Lacroix // Journal of Thermal Biology. – 2017. – Vol. 69. – P. 13-22.
120. *Calin, M. A.* Optical techniques for the noninvasive diagnosis of skin cancer / M. A. Calin, S. V. Parasca, R. Savastru [et al.] // Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. – 2013. – Vol. 139. – Iss.7. – P. 1083-1104.
121. *Nguyen, V.* Dual-modality optical biopsy of glioblastomas multiforme with diffuse reflectance and fluorescence: ex vivo retrieval of optical properties / V. Nguyen, D. Le, J. Provias [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2017. – Vol. 22. – Iss.2. – P. 27002.
122. *Lin, W.-C.* Diffuse reflectance spectroscopy for in vivo pediatric brain tumor detection / W.-C. Lin, D. I. Sandberg, S. Bhatia [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2010. – Vol. 15. – Iss.6. – P. 61709.
123. *Garcia-Urbe, A.* In vivo diagnosis of melanoma and nonmelanoma skin cancer using oblique incidence diffuse reflectance spectrometry / A. Garcia-Urbe, J. Zou, M. Duvic [et al.] // Cancer Research. – 2012. – Vol. 72. – Iss.11. – P. 2738-2745.
124. *Zhang, Y.* Physiological model using diffuse reflectance spectroscopy for nonmelanoma skin cancer diagnosis / Y. Zhang, | Austin, J. Moy [et al.] // Journal of Biophotonics. – 2019. – Vol. 12. – Iss.12.
125. *Brouwer de Koning, S. G.* Toward complete oral cavity cancer resection using a handheld diffuse reflectance spectroscopy probe / S. G. Brouwer de Koning, E. J. M. Baltussen, M. B. Karakullukcu [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2018. – Vol. 23. – Iss.12. – P. 1.

126. *Veld, De*. Autofluorescence and diffuse reflectance spectroscopy for oral oncology / De Veld, Diana C G, M. Skurichina [et al.] // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2005. – Vol. 36. – Iss.5. – P. 356-364.
127. *Harris, K*. Optical imaging of tissue obtained by transbronchial biopsies of peripheral lung lesions / K. Harris, D. Rohrbach, K. Attwood [et al.] // *Journal of Thoracic Disease*. – 2017. – Vol. 9(5). – P. 1386-1392.
128. *Spliethoff, J. W*. Real-time In Vivo Tissue Characterization with Diffuse Reflectance Spectroscopy during Transthoracic Lung Biopsy: A Clinical Feasibility Study / J. W. Spliethoff, W. Prevoo, M. A. J. Meier [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2016. – Vol. 22. – Iss.2. – P. 357-365.
129. *Braun, F*. A customized multispectral needle probe combined with a virtual photometric setup for in vivo detection of Lewis lung carcinoma in an animal model / F. Braun, R. Schalk, M. Nachtmann [et al.] // *Measurement Science and Technology*. – 2019. – Vol. 30. – Iss.10. – P. 104001.
130. *Boer, L. L. de*. Fat/water ratios measured with diffuse reflectance spectroscopy to detect breast tumor boundaries / L. L. de Boer, B. G. Molenkamp, T. M. Bydlon [et al.] // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2015. – Vol. 152. – Iss.3. – P. 509-518.
131. *Nachabé, R*. Diagnosis of breast cancer using diffuse optical spectroscopy from 500 to 1600 nm: comparison of classification methods / R. Nachabé, D. J. Evers, B. H. W. Hendriks [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – Vol. 16. – Iss.8. – P. 087010.
132. *Volynskaya, Z*. Diagnosing breast cancer using diffuse reflectance spectroscopy and intrinsic fluorescence spectroscopy / Z. Volynskaya, A. S. Haka, K. L. Bechtel [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2008. – Vol. 13(2).
133. *Dremin, V*. Optical percutaneous needle biopsy of the liver: a pilot animal and clinical study / V. Dremin, E. Potapova, E. Zharebtsov [et al.] // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – Iss.1. – P. 1-11.
134. *Spliethoff, J. W*. In vivo characterization of colorectal metastases in human liver using diffuse reflectance spectroscopy: toward guidance in oncological procedures / J. W. Spliethoff, L. L. de Boer, M. A. J. Meier [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2016. – Vol. 21. – Iss.9. – P. 097004.
135. *Keller, A*. Diffuse reflectance spectroscopy of human liver tumor specimens - towards a tissue differentiating optical biopsy needle using light emitting diodes / A. Keller, P. Bialecki, T. J. Wilhelm, M. K. Vetter // *Biomedical Optics Express*. – 2018. – Vol. 9. – Iss.3. – P. 1069.

136. *Chandra, M.* Probing pancreatic disease using tissue optical spectroscopy / M. Chandra, J. Scheiman, D. Heidt [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2007. – Vol. 12(6).

137. *Lloyd, W.* In vivo optical spectroscopy for improved detection of pancreatic adenocarcinoma: a feasibility study / W. Lloyd, R. Wilson, S. Lee [et al.] // Biomedical Optics Express. – 2013. – Vol. 5(1). – P. 9-15.

138. *Tanis, E.* In vivo tumor identification of colorectal liver metastases with diffuse reflectance and fluorescence spectroscopy / E. Tanis, D. J. Evers, J. W. Spliethoff [et al.] // Lasers in Surgery and Medicine. – 2016. – Vol. 48. – Iss.9. – P. 820-827.

139. *Baltussen, E. J. M.* Diffuse reflectance spectroscopy as a tool for real-time tissue assessment during colorectal cancer surgery / E. J. M. Baltussen, P. Snaebjornsson, S. G. Brouwer De Koning [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2017. – Vol. 22. – Iss.10. – P. 106014.

140. *Fujiwara, T.* Evaluation of brain activity using near-infrared spectroscopy in inflammatory bowel disease patients / T. Fujiwara, S. Kono, K. Katakura [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8. – P. 402.

141. *Saito, H.* Bedside assessment of regional cerebral perfusion using near-infrared spectroscopy and indocyanine green in patients with atherosclerotic occlusive disease / H. Saito, T. Ishikawa, J. Tanabe [et al.] // Scientific Reports 2018 8:1. – 2018. – Vol. 8. – Iss.1. – P. 1-8.

142. *Potapova, E. V.* Evaluation of microcirculatory disturbances in patients with rheumatic diseases by the method of diffuse reflectance spectroscopy / E. V. Potapova, V. V. Dremin, E. A. Zhrebtssov [et al.] // Human Physiology. – 2017. – Vol. 43. – Iss.2. – P. 222-228.

143. *Wang, J.* In vivo terahertz imaging to evaluate scar treatment strategies: silicone gel sheeting / J. Wang, Q. Sun, R. I. Stantchev [et al.] // Biomedical Optics Express. – 2019. – Vol. 10. – Iss.7. – P. 3584-3590.

144. *Hernandez-Cardoso, G. G.* Terahertz imaging for early screening of diabetic foot syndrome: A proof of concept / G. G. Hernandez-Cardoso, S. C. Rojas-Landeros, M. Alfaro-Gomez [et al.] // Scientific Reports. – 2017. – Vol. 7. – P. 42124.

145. *Bajwa, N.* Non-invasive terahertz imaging of tissue water content for flap viability assessment / N. Bajwa, J. Au, R. Jarrahy [et al.] // Biomedical Optics Express. – 2017. – Vol. 8. – Iss.1. – P. 460-474.

146. *Cao, Y.* Qualitative and quantitative detection of liver injury with terahertz time-domain spectroscopy / Y. Cao, P. Huang, J. Chen [et al.] // *Biomedical Optics Express*. – 2020. – Vol. 11. – Iss.2. – P. 982-993.
147. *Parrott, E.* Terahertz pulsed imaging in vivo: Measurements and processing methods / E. Parrott, S. Sy, T. Blu [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – Vol. 16. – Iss.10. – P. 106010.
148. *Li, D.* Detecting melanoma with a terahertz spectroscopy imaging technique / D. Li, Z. Yang, A. Fu [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2020. – Vol. 234. – P. 118229.
149. *Oh, S.* Study of freshly excised brain tissues using terahertz imaging / S. Oh, S.-H. Kim, Y. Ji [et al.] // *Biomedical Optics Express*. – 2014. – Vol. 5.
150. *Gavdush, A. A.* Terahertz spectroscopy of gelatin-embedded human brain gliomas of different grades: a road toward intraoperative THz diagnosis / A. A. Gavdush, N. V Chernomyrdin, K. M. Malakhov [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2019. – Vol. 24. – Iss.2. – P. 27001.
151. *Ashworth, P.* Terahertz pulsed spectroscopy of freshly excised human breast cancer / P. Ashworth, E. Pickwell-MacPherson, E. Provenzano [et al.] // *Optics Express*. – 2009. – Vol. 17. – P. 12444-12454.
152. *Zaytsev, K.* Highly Accurate in Vivo Terahertz Spectroscopy of Healthy Skin: Variation of Refractive Index and Absorption Coefficient Along the Human Body / K. Zaytsev, A. Gavdush, N. Chernomyrdin, S. Yurchenko // *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*. – 2015. – Vol. 5. – P. 817-827.
153. *He, Y.* Determination of terahertz permittivity of dehydrated biological samples / Y. He, K. Liu, C. Au [et al.] // *Physics in Medicine and Biology*. – 2017. – Vol. 62. – Iss.23. – P. 8882-8893.
154. *Meng, K.* Terahertz pulsed spectroscopy of paraffin-embedded brain glioma / K. Meng, T.-N. Chen, T. Chen [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2014. – Vol. 19. – Iss.7. – P. 77001.
155. *Png, G. M.* The impact of hydration changes in fresh bio-tissue on THz spectroscopic measurements / G. M. Png, J. W. Choi, B. W.-H. Ng [et al.] // *Physics in Medicine and Biology*. – 2008. – Vol. 53. – Iss.13. – P. 3501-3517.
156. *Wang, J.* THz in vivo measurements: the effects of pressure on skin reflectivity / J. Wang, R. I. Stantchev, Q. Sun [et al.] // *Biomedical Optics Express*. – 2018. – Vol. 9. – Iss.12. – P. 6467-6476.

157. *Musina, G. R.* Optimal hyperosmotic agents for tissue immersion optical clearing in terahertz biophotonics / G. R. Musina, I. N. Dolganova, N. V Chernomyrdin [et al.] // Journal of Biophotonics. – 2020. – Iss.early view. – P. e202000297.
158. *Kolesnikov, A. S.* THz monitoring of the dehydration of biological tissues affected by hyperosmotic agents / A. S. Kolesnikov, E. A. Kolesnikova, K. N. Kolesnikova [et al.] // Physics of Wave Phenomena. – 2014. – Vol. 22. – P. 169-176.
159. *Hoshina, H.* Terahertz pulsed imaging of frozen biological tissues / H. Hoshina, A. Hayashi, N. Miyoshi [et al.] // Applied Physics Letters. – 2009. – Vol. 94. – P. 123901.
160. *Sim, Y. C.* Temperature-Dependent Terahertz Imaging of Excised Oral Malignant Melanoma / Y. C. Sim, K.-M. Ahn, J. Y. Park [et al.] // IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology. – 2013. – Vol. 17. – Iss.4. – P. 779-784.
161. *Park, J. Y.* Terahertz imaging of metastatic lymph nodes using spectroscopic integration technique / J. Y. Park, H. J. Choi, H. Cheon [et al.] // Biomedical Optics Express. – 2017. – Vol. 8. – Iss.2. – P. 1122-1129.
162. *Sim, Y. C.* Terahertz imaging of excised oral cancer at frozen temperature / Y. C. Sim, J. Y. Park, K.-M. Ahn [et al.] // Biomedical Optics Express. – 2013. – Vol. 4. – Iss.8. – P. 1413-1421.
163. *Chalmers, B.* Growth of controlled profile crystals from the melt: Part III — Theory / B. Chalmers, H. E. LaBelle, A. I. Mlavsky // Materials Research Bulletin. – 1971. – Vol. 6. – Iss.8. – P. 681-690.
164. *LaBelle, H. E.* Growth of controlled profile crystals from the melt: Part II — Edge-defined, Film-fed Growth (EFG) / H. E. LaBelle // Materials Research Bulletin. – 1971. – Vol. 6. – Iss.7. – P. 581-589.
165. *LaBelle, H. E.* Growth of controlled profile crystals from the melt: Part I — Sapphire filaments / H. E. LaBelle, A. I. Mlavsky // Materials Research Bulletin. – 1971. – Vol. 6. – Iss.7. – P. 571-579.
166. *Borodin, V. A.* Control over gas bubble distribution in shaped sapphire crystals / V. A. Borodin, T. A. Steriopo, V. A. Tatarchenko, T. N. Yalovets // Crystal Research and Technology. – 1985. – Vol. 20. – Iss.3. – P. 301-306.
167. *Kalejs, J. P.* Impurity redistribution in EFG / J. P. Kalejs // Journal of Crystal Growth. – 1978. – Vol. 44. – Iss.3. – P. 329-344.
168. *Kurlov, V.* The noncapillary shaping (NCS) method: A new method of crystal growth / V. Kurlov // Journal of Crystal Growth. – 1997. – Vol. 179. – P. 168-174.

169. *Kurlov, V.* Growth of shaped sapphire crystals using automated weight control / V. Kurlov, S. Rossolenko // *Journal of Crystal Growth*. – 1997. – Vol. 173. – P. 417-426.
170. *Dolganova, I. N.* Sapphire needles, probes, and fibers for medical diagnosis and laser treatment / I. N. Dolganova, I. Shikunova, G. Katyba [et al.] // *Dynamics and Fluctuations in Biomedical Photonics XVIII* / eds. V. V Tuchin [et al.]. – SPIE, 2021. – Vol. 11641. – P. 116410R.
171. *Dolganova, I. N.* Sapphire-based medical instruments for diagnosis, surgery and therapy / I. N. Dolganova, G. M. Katyba, I. A. Shikunova [et al.] // *Proceedings of SPIE*. – 2020. – Vol. 11363. – P. 1136318.
172. *Dolganova, I. N.* Proof of concept for the sapphire scalpel combining tissue dissection and optical diagnosis / I. N. Dolganova, D. A. Varvina, I. A. Shikunova [et al.] // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2022. – Vol. 54. – Iss.4. – P. 611-622.
173. *Dolganova, I. N.* Feasibility test of a sapphire cryoprobe with optical monitoring of tissue freezing / I. N. Dolganova, A. K. Zotov, L. P. Safonova [et al.] // *Journal of Biophotonics*. – 2023. – Vol. 16. – Iss.3. – P. e202200288.
174. *Долганова, И. Н.* Определение эффективных рассеивающих свойств среды в процессе криодеструкции с помощью сапфирового криоаппликатора / И. Н. Долганова, А. К. Зотов, Л. П. Сафонова [и др] // *Оптика и спектроскопия*. – 2023. – Том 131. – С. 782-786.
175. *Platonova, A. A.* Feasibility of Monitoring Tissue Properties During Microcirculation Disorder Using a Compact Fiber-Based Probe With Sapphire Tip / A. A. Platonova, P. V Aleksandrova, A. I. Alekseeva [et al.] // *Journal of Biophotonics*. – 2024. – Vol. 17. – Iss.11. – P. e202400368.
176. *Dolganova, I. N.* Manufacturing of Sapphire Crystals with Variable Shapes for Cryosurgical Applications / I. N. Dolganova, A. K. Zotov, S. N. Rossolenko [et al.] // *Crystals*. – 2024. – Vol. 14. – Iss.4. – P. 346.
177. *Zotov, A. K.* Optical Sensing of Tissue Freezing Depth by Sapphire Cryo-Applicator and Steady-State Diffuse Reflectance Analysis / A. K. Zotov, A. V Pushkarev, A. I. Alekseeva [et al.] // *Sensors*. – 2024. – Vol. 24. – Iss.11.
178. *Pushkarev, A. V.* Thermal analysis of frozen region using sapphire cryoapplicator / A. V. Pushkarev, I. N. Dolganova, I. A. Burkov [et al.] // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. – 2026. – Vol. 255. – P. 127755.
179. *Kurlov, V. N.* Fabrication of near-net-shaped sapphire domes by noncapillary shaping method / V. N. Kurlov, B. M. Epelbaum // *Journal of Crystal Growth*. – 1997. – Vol. 179. – P. 175-180.

180. *Kurlov, V. N.* EFG growth of sapphire tubes upto 85 mm in diameter / V. N. Kurlov, B. M. Epelbaum // *Journal of Crystal Growth*. – 1998. – Vol. 187. – Iss.1. – P. 107-110.
181. *Rossolenko, S. N.* Menisci masses and weights in Stepanov (EFG) technique: ribbon, rod, tube / S. N. Rossolenko // *Journal of Crystal Growth*. – 2001. – Vol. 231. – Iss.1-2. – P. 306-315.
182. *Borodin, V. A.* The variable shaping technique — a new method of the sapphire growth / V. A. Borodin, T. A. Steriopolo, V. A. Tatarchenko // *Crystal Research and Technology*. – 1985. – Vol. 20. – Iss.6. – P. 833-836.
183. *Borodin, V. A.* Development of the Stepanov (edge-defined film-fed growth) method: variable shaping technique and local dynamic shaping technique / V. A. Borodin, V. V. Sidorov, S. N. Rossolenko [et al.] // *Journal of Crystal Growth*. – 1999. – Vols. 198-199. – Iss.PART I. – P. 201-209.
184. *Pushkarev, A.* Comparison of Probe Materials for Tissue Cryoablation: Operational Properties of Metal and Sapphire Cryoprobe / A. Pushkarev, S. Ryabikin, D. Tsiganov [et al.] // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2022. – Vol. 8. – Iss.4. – P. 40501.
185. *Agafonkina, I. V.* Thermal Properties of Human Soft Tissue and Its Equivalents in a Wide Low-Temperature Range / I. V. Agafonkina, A. G. Belozarov, A. O. Vasilyev [et al.] // *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*. – 2021. – Vol. 94. – Iss.1. – P. 233-246.
186. *Agafonkina, I. V.* Thermal Properties of Biological Tissue Gel-Phantoms in a Wide Low-Temperature Range / I. V. Agafonkina, A. G. Belozarov, Y. M. Berezovsky [et al.] // *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*. – 2021. – Vol. 94. – Iss.3. – P. 790-803.
187. *Pottathara, Y. B.* Solidification of Gelatine Hydrogels by Using a Cryoplatfrom and Its Validation through CFD Approaches / Y. B. Pottathara, M. Jordan, T. Gomboc [et al.] // *Gels*. – 2022. – Vol. 8. – P. 368.
188. *Yano, T.* The “Intrinsic” Thermal Conductivity of Wet Soy Protein and Its Use in Predicting the Effective Thermal Conductivity of Soybean Curd / T. Yano, J.-Y. Kong, O. Miyawaki, K. Nakamura // *Journal of Food Science*. – 2006. – Vol. 46. – P. 1357-1361.
189. *Popovic, M.* Thermodynamic properties of human tissues / M. Popovic, M. Minceva // *Thermal Science*. – 2020. – Vol. 24. – P. 151.

190. *Giering, K.* Review of Thermal Properties of Biological Tissues / K. Giering, O. Minet, I. Lamprecht, G. Müller // SPIE-The International Society For Optical Engineering. – 1995. – P. 45-65.
191. *Mcintosh, R. L.* A comprehensive tissue properties database provided for the thermal assessment of a human at rest / R. L. Mcintosh, V. Anderson // Biophysical Reviews and Letters. – 2010. – Vol. 05. – Iss.03. – P. 129-151.
192. *Xu, X.* The specific heat of the human body is lower than previously believed: The Journal Temperature toolbox / X. Xu, T. Rioux, M. Castellani // Temperature. – 2022. – Vol. 10. – P. 1-5.
193. *Patel, S. A.* Estimation of heats of combustion of biomass from elemental analysis using available electron concepts / S. A. Patel, L. E. Erickson // Biotechnology and Bioengineering. – 1981. – Vol. 23. – Iss.9. – P. 2051-2067.
194. *Berth-jones, J.* Value of a second freeze-thaw cycle in cryotherapy of common warts / J. Berth-jones, J. Bourke, H. Eglitis [et al.] // The British Journal of Dermatology. – 1994. – Vol. 131. – Iss.6. – P. 883-886.
195. *Kwak, K.* Recent progress in cryoablation cancer therapy and nanoparticles mediated cryoablation / K. Kwak, B. Yu, R. J. Lewandowski, D. H. Kim // Theranostics. – 2022. – Vol. 12. – Iss.5. – P. 2175-2204.
196. *Stewart, G. J.* Hepatic Cryotherapy: Double-Freeze Cycles Achieve Greater Hepatocellular Injury in Man / G. J. Stewart, A. Preketes, M. Horton [et al.] // Cryobiology. – 1995. – Vol. 32. – Iss.3. – P. 215-219.
197. *Baust, J. G.* Mechanisms of Tissue Injury in Cryosurgery / J. G. Baust, K. L. Santucci, K. K. Snyder [et al.] // The Application of Heat in Oncology. – John Wiley & Sons, Ltd, 2023. – P. 45-71.
198. *Fantini, S.* Semi-infinite-geometry boundary problem for light migration in highly scattering media: a frequency-domain study in the diffusion approximation / S. Fantini, M. A. Franceschini, E. Gratton // Journal of the Optical Society of America B. – 1994. – Vol. 11. – Iss.10. – P. 2128-2138.
199. *Liemert, A.* Light diffusion in a turbid cylinder. I. Homogeneous case / A. Liemert, A. Kienle // Optical Express. – 2010. – Vol. 18. – Iss.9. – P. 9456-9473.
200. *Tualle, J.* Real-space Green's function calculation for the solution of the diffusion equation in stratified turbid media / J. Tualle, J. Prat, E. Tinet [et al.] // Journal of the Optical Society of America A. – 2000. – Vol. 17. – P. 2046-2055.
201. *Dayan, I.* Photon migration in a two-layer turbid medium A diffusion analysis / I. Dayan, S. Havlin, G. W.-J. of M. Optics, undefined 1992 // Journal of Modern Optics. – 2007. – Vol. 39. – Iss.7. – P. 1567-1582.

202. *Martelli, F.* Solution of the time-dependent diffusion equation for layered diffusive media by the eigenfunction method / F. Martelli, A. Sassaroli, S. Del Bianco [et al.] // *Physical Review E*. – 2003. – Vol. 67. – Iss.5. – P. 14.
203. *Liemert, A.* Light diffusion in N-layered turbid media: frequency and time domains / A. Liemert, A. Kienle // *Journal of Biomedical Optics*. – 2010. – Vol. 15. – Iss.2. – P. 25002.
204. *Kienle, A.* Noninvasive determination of the optical properties of two-layered turbid media from time-resolved reflectance measurements / A. Kienle, ... T. G.-, undefined Fibers [et al.] // *Proceedings SPIE Biomedical Sensors*. – 1999.
205. *Fishkin, J. B.* Propagation of photon-density waves in strongly scattering media containing an absorbing semi-infinite plane bounded by a straight edge / J. B. Fishkin, E. A. Gratton // *Journal of the Optical Society of America A*. – 1993. – Vol. 10. – Iss.1.
206. *Liemert, A.* Light diffusion in N-layered turbid media: steady-state domain / A. Liemert, A. Kienle // *Journal of Biomedical Optics*. – 2010. – Vol. 15. – Iss.2. – P. 25003.
207. *Liemert, A.* Light diffusion in a turbid cylinder. II. Layered case / A. Liemert, A. Kienle // *Optics Express*. – 2010. – Vol. 18. – Iss.9. – P. 9266-9279.
208. *Abramowitz, M.* Handbook of Mathematical Functions / M. Abramowitz, I. A. Stegun. – New York : Dover Publications, 1964.
209. *Haskell, R. C.* Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer / R. C. Haskell, L. O. Svaasand, T.-T. Tsay [et al.] // *Journal of the Optical Society of America A*. – 1994. – Vol. 11. – Iss.10. – P. 2727-2741.
210. *Hallacoglu, B.* Optical Characterization of Two-Layered Turbid Media for Non-Invasive, Absolute Oximetry in Cerebral and Extracerebral Tissue / B. Hallacoglu, A. Sassaroli, S. Fantini // *PLOS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – Iss.5. – P. 1-15.
211. *Franceschini, M. A.* Influence of a superficial layer in the quantitative spectroscopic study of strongly scattering media / M. A. Franceschini, S. Fantini, L. A. Paunescu [et al.] // *Applied Optics*. – 1998. – Vol. 37. – Iss.31. – P. 7447-7458.
212. *Fantini, S.* Quantitative determination of the absorption spectra of chromophores in strongly scattering media: a light-emitting-diode based technique / S. Fantini, M. A. Franceschini, J. B. Fishkin [et al.] // *Applied Optics*. – 1994. – Vol. 33. – Iss.22. – P. 5204-5213.
213. *Farrell, T. J.* A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo

/ T. J. Farrell, M. S. Patterson, B. Wilson // Medical Physics. – 1992. – Vol. 19. – Iss.4. – P. 879-888.

214. *Ishimaru, A.* Diffusion of light in turbid material / A. Ishimaru // Applied Optics. – 1989. – Vol. 28. – Iss.12. – P. 2210-2215.

215. *Patterson, M. S.* Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurement of tissue optical properties / M. S. Patterson, B. Chance, B. C. Wilson // Applied Optics. – 1989. – Vol. 28. – Iss.12. – P. 2331-2336.

216. *Шикунова, И. А.* Патент № 2719911 Российская Федерация, МПК A61B18/00 (2006.01). Способ слежения за глубиной промораживания ткани при криодеструкции и система для его осуществления / И. А. Шикунова, И. Н. Долганова, А. К. Зотов [и др.]. – Заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики твердого тела Российской академии наук (ИФТТ РАН), № 2019137138; заявл. 19.11.2019; опубл. 23.04.2020, Бюл. № 12, .

217. *Lai, P.* Dependence of optical scattering from Intralipid in gelatin-gel based tissue-mimicking phantoms on mixing temperature and time / P. Lai, X. Xu, L. V Wang // Journal of Biomedical Optics. – 2014. – Vol. 19. – Iss.3. – P. 1-7.

218. *Campagnoli, E.* Experimental investigation on thermal conductivity and thermal diffusivity of water-agar gel from room temperature to – 60 C / E. Campagnoli, V. Giaretto // International Journal of Heat and Technology. – 2020. – Vol. 38. – Iss.3. – P. 583-589.

219. *Aernouts, B.* Dependent scattering in Intralipid® phantoms in the 600-1850 nm range / B. Aernouts, R. Van Beers, R. Watté [et al.] // Optical Express. – 2014. – Vol. 22. – Iss.5. – P. 6086-6098.

220. *Assadi, H.* Optical Scattering Properties of Intralipid Phantom in Presence of Encapsulated Microbubbles / H. Assadi, R. Karshafian, A. Douplik // International Journal of Photoenergy. – 2014. – Vol. 2014. – Iss.1. – P. 471764.

221. *Lai, P.* Dependence of optical scattering from Intralipid in gelatin-gel based tissue-mimicking phantoms on mixing temperature and time / P. Lai, X. Xu, L. V Wang // Journal of Biomedical Optics. – 2014. – Vol. 19. – Iss.3. – P. 35002.

222. *Zotov, A. K.* In situ terahertz monitoring of an ice ball formation during tissue cryosurgery: a feasibility test / A. K. Zotov, A. A. Gavdush, G. M. Katyba [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2021. – Vol. 26. – Iss.4. – P. 43003.