

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВЫХ ЗНАЧЕНИЙ ПЛОТНОСТИ ЭНЕРГИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗМОЖНОСТИ БЕЗОПАСНОЙ ТЕРМОАКТИВАЦИИ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

^{1,2}Леонтьев Е. А. ORCID ID 0000-0002-7406-2074,
¹Горшкова С. П. ORCID ID 0009-0008-0796-4626,
¹Романова А. В. ORCID ID 0009-0001-9458-8575,
¹Скуратов И. А. ORCID ID 0009-0003-5053-5011,
²Сингх П. Р., ¹Елдырёва М. В. ORCID ID 0000-0003-2076-9477

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», Чебоксары, Российская Федерация, e-mail: lea737@yandex.ru;

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Марийский государственный университет», Йошкар-Ола, Российская Федерация

Перспективный метод нейромодуляции - фототермическая активация нейронов с использованием лазера и имплантированных пигментов. Ключевое ограничение для клиники - риск термического повреждения тканей на пути лазерного луча. Отсутствие количественных данных о проникновении лазерной энергии через покровы черепа не позволяет рассчитать безопасные режимы. Цель: определить пороговые значения плотности энергии лазерного излучения для оценки возможности достижения целевой температуры на глубине пигментного модуля в эпидуральном пространстве при сохранении безопасных границ воздействия. Эксперимент проведен на белых крысах Wistar с имплантированным пигментом. Животные разделены на две группы в зависимости от длины волны лазера. Плотность потока на разной глубине измеряли на гистологических срезах, затем рассчитывали плотность энергии на поверхности для достижения целевой температуры. Установлена зависимость задержки энергии роговым слоем от длины волны. Короткие волны имеют ограниченную глубину проникновения, что делает их непригодными для эпидуральной стимуляции коры. Для длинных волн энергия лучше сохраняется на глубине, но при интактном эпидермисе доставка энергии к пигменту физически ограничена и не превышает порога повреждения тканей. В эксперименте на крысах с интактным эпидермисом транскраниальная доставка лазерной энергии на глубину активации эпидурального пигмента физически ограничена. Необходимы методы преодоления оптического барьера покровных тканей.

Ключевые слова: фототермическая нейромодуляция, лазерная безопасность, порог активации нейронов, глубина проникновения лазера, эпидуральная стимуляция, биологические ткани.

DETERMINATION OF THRESHOLD VALUES OF LASER RADIATION ENERGY DENSITY FOR ASSESSING THE POSSIBILITY OF SAFE THERMAL ACTIVATION OF CORTICAL NEURONS

^{1,2}Leontiev E. A. ORCID ID 0000-0002-7406-2074,
¹Gorshkova S. P. ORCID ID 0009-0008-0796-4626,
¹Romanova A. V. ORCID ID 0009-0001-9458-8575,
¹Skuratov I. A. ORCID ID 0009-0003-5053-5011,
²Singh P. R., ¹Eldyreva M. V. ORCID ID 0000-0003-2076-9477

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Chuvash State University named after I. N. Ulyanov, Cheboksary, Russian Federation, e-mail: lea737@yandex.ru;

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Mari State University, Yoshkar-Ola, Russian Federation

Photothermal activation of neurons using laser radiation and implanted pigments is a promising neuromodulation method. A key clinical limitation is the risk of thermal damage along the laser beam path. Lack of quantitative data on laser energy penetration through the scalp prevents safe irradiation regimes. Aim: to determine threshold laser energy density values for assessing the possibility of achieving target temperature at the depth of an epidural pigment module while maintaining safe exposure limits. Experiment on white Wistar rats with implanted pigment. Animals were divided into two groups by laser wavelength. Light flux density at various

depths was measured on histological sections, then surface energy density required for target temperature was calculated. Dependence of laser energy retention by the stratum corneum on wavelength was found. Shorter wavelengths have limited penetration depth, making them unsuitable for epidural cortical stimulation. Longer wavelengths show better energy preservation at depth, but with intact epidermis, energy delivery to the pigment is physically limited and does not exceed the tissue damage threshold. In rats with intact epidermis, transcranial delivery of laser energy to the depth required for activating epidural pigment is physically limited. Methods to overcome the optical barrier of integumentary tissues are needed.

Keywords: photothermal neuromodulation, laser safety, neuronal activation threshold, laser penetration depth, epidural stimulation, biological tissues.

Введение

Фототермическая нейромодуляция – это новый и быстро развивающийся метод управления нейрональной активностью, основанный на преобразовании световой энергии в тепловую с помощью имплантированных пигментов или наночастиц с последующей активацией термочувствительных ионных каналов нейронов (TRPV1, TRPV2) [1; 2]. Данный подход рассматривается как перспективная альтернатива инвазивной глубокой стимуляции мозга (DBS) и генной оптогенетике, так как не требует пенетрации мозговой ткани и генетической модификации нейронов [3; 4].

Одним из наиболее клинически значимых направлений является транскраниальная активация коры головного мозга через эпидурально имплантированный пигментный модуль [5]. Однако прежде, чем метод может быть применен в клинике, необходимо решить фундаментальную задачу биофизики: определить безопасный «коридор» параметров лазерного воздействия. С одной стороны, энергия лазера должна быть достаточной для прохождения через покровные ткани (кожа, кость, твердая мозговая оболочка) и нагрева пигмента до температуры активации нейронов (39–42 °C) [6; 7]. С другой стороны, превышение порога энергии приведет к неселективному перегреву и коагуляции тканей на пути луча: эпидермиса, надкостницы и твердой мозговой оболочки, что нивелирует главное преимущество метода - его безопасность.

Несмотря на обилие работ по лазерной биофизике, количественные данные о проникновении лазерного излучения специфических длин волн (532 и 1064 нм) через многослойные биологические структуры применительно к задачам нейромодуляции отсутствуют. Большинство исследований выполнено либо на гомогенных фантомах, либо в контексте дерматологии (удаление татуировок), где мишень (пигмент) расположена в дерме [8; 9].

Цель исследования – экспериментально определить пороговые значения плотности энергии лазера для оценки возможности безопасной термоактивации нейронов коры при интактном эпидермисе.

Материалы и методы исследования

Дизайн эксперимента полностью соответствовал ранее опубликованному протоколу [4]. Работа выполнена на 60 половозрелых белых крысах-альбиносах линии Wistar массой 180–200 г. Выбор животных обусловлен сходством оптических свойств их покровных тканей с тканями человека в исследуемом диапазоне длин волн [10].

Эксперимент одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова» (протокол № 08/23 от 12.03.2023). Все процедуры с животными выполняли в соответствии с Directive 2010/63/EU и правилами лабораторной практики РФ.

Всем животным под общей анестезией (золетил + ксилазин) в эпидермис дорсальной поверхности (область лопаток) имплантировали пигмент Millennium Moms Colors Set-2 (Magic Magenta). Выбор пигмента обусловлен его спектром поглощения, перекрывающим обе исследуемые длины волн: коэффициент поглощения для 532 нм - 0,78; для 1064 нм - 0,65. Через 4 недели, после завершения воспалительной реакции и стабилизации пигмента, животных рандомизировали на две группы (простая случайная выборка с помощью генератора случайных чисел, без ослепления исследователей, так как длина волны лазера является физическим параметром):

- группа А (n = 30) - воздействие лазером 532 нм (интактный эпидермис);
- группа Б (n = 30) - воздействие лазером 1064 нм (интактный эпидермис).

В работе использовали твердотельный лазер с диодной накачкой (DPSS, LaserTo, Китай), работающий в непрерывном режиме (CW). Для экспериментов применяли сменные лазерные головы на длины волн 532 нм (зелёный диапазон, модель LSR532H) и 1064 нм (LSR1064H) с выходной мощностью до 1 Вт. Диаметр лазерного пятна на поверхности образца 2,5 мм, время экспозиции 10 с. Плотность светового потока на различной глубине (от 0,1 до 2,5 мм с шагом 0,1–0,2 мм) измеряли на гистологических срезах тканей с помощью высокочувствительного фотоэлектронного умножителя ФЭУ-1 (чувствительность 101–1200 нм, коэффициент усиления 10^5) [11]. Измерения проводились *ex vivo* для исключения влияния кровотока и движения тканей.

Все расчеты выполнены для непрерывного режима лазерного излучения с экспозицией 10 секунд. Выбор данного режима обоснован типичным временем, необходимым для тепловой активации TRPV-каналов в отсутствие быстрого кровотока.

На основе полученных данных об энергетическом профиле тканей рассчитывали плотность энергии на поверхности (E_{surf}), необходимую для достижения целевой плотности энергии на глубине залегания пигмента (E_{depth}), достаточной для его нагрева до температур активации нейронов (39–42 °C). Предварительные калориметрические исследования показали, что для нагрева 1 мм³ пигментсодержащего гидрогеля до 42 °C требуется поглощенная энергия

~0,8 Дж/см² (с учетом удельной теплоемкости ткани ~3,5–4,0 Дж/(г·К) и плотности ~1 г/см³). Таким образом, искомый порог безопасности рассчитывался с учетом как прямого пропускания, так и обратного рассеяния по формуле:

$$E_{surf} = E_{depth} / K, \quad (1)$$

где K - коэффициент доставки энергии на заданную глубину (доля падающего излучения, достигающая цели с учетом рассеяния и поглощения).

Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро – Уилка ($p > 0,05$ для всех групп). На всех глубинах распределение не отличалось от нормального, что позволило использовать параметрический t-критерий. Для каждого значения глубины измерения проводили в 5 технических повторах на каждом из 30 образцов в группе. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе эксперимента установлено, что роговой слой задерживает от 38 до 45% падающей лазерной энергии в зависимости от длины волны, что согласуется с литературными данными [6; 11; 12].

В таблице 1 представлены результаты измерений доли исходной энергии, регистрируемой на различных глубинах биоткани.

Таблица 1

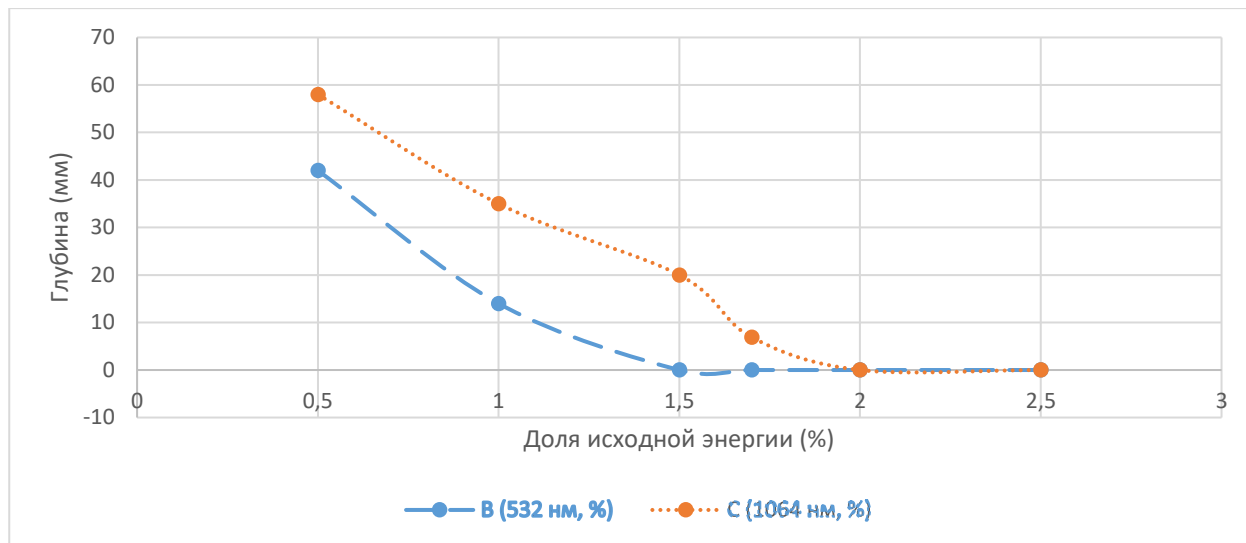
Процент исходной плотности энергии лазерного излучения, регистрируемый на различных глубинах биоткани ($M \pm SD, \%$)

Глубина, мм	Длина волны 532 нм (группа А)	Длина волны 1064 нм (группа Б)
0,5	42 ± 3,2%	58 ± 3,5%
1,0	14 ± 1,8%	35 ± 2,8%
1,5	<5 % (сигнал на уровне шума)	20 ± 1,9%
1,7	не детектируется	6,9 ± 1,1%
2,0	не детектируется	не детектируется
2,5	не детектируется	не детектируется

Примечания: «не детектируется» означает, что зарегистрированное значение не превышало уровень темнового шума ФЭУ-1 (менее 0,5% от исходной энергии) при доверительном

интервале 95%. Таблица составлена авторами на основе данных, полученных в ходе исследования.

Результаты визуализированы на рисунке (экспоненциальные кривые затухания).



Экспериментальные кривые затухания лазерного излучения в биоткани (532 и 1064 нм).

Составлено авторами по результатам данного исследования

По оси абсцисс - глубина (мм), по оси ординат - доля исходной плотности энергии (%). Точки - экспериментальные данные (средние значения из табл. 1), вертикальные отрезки - стандартные отклонения. Цвета кривых: синий - 532 нм, красный - 1064 нм. Пунктирная горизонтальная линия на уровне 0,5% соответствует порогу детектирования ФЭУ-1 (уровень темнового шума). Экспоненциальные линии тренда (пунктир) аппроксимированы по формуле

$$I = I_0 \cdot \exp(-\mu_{\text{eff}} \cdot z). \quad (2)$$

Для 532 нм $\mu_{\text{eff}} \approx 2,3 \text{ мм}^{-1}$, для 1064 нм $\mu_{\text{eff}} \approx 1,1 \text{ мм}^{-1}$. Сигнал выше уровня шума регистрируется: для 532 нм - до глубины 1,0 мм (на 1,5 мм - на уровне шума), для 1064 нм - до 1,7 мм. На целевой глубине 2,0–2,5 мм сигнал отсутствует в обеих группах, что свидетельствует о физической ограниченности транскутанной доставки лазерной энергии (рис.).

Для оценки значимости различий между группами А (532 нм) и Б (1064 нм) использовали t-критерий Стьюдента. На всех глубинах, где регистрировался сигнал выше уровня шума (0,5–1,5 мм), доля сохранённой энергии в группе 1064 нм была выше, чем в группе 532 нм. Различия статистически значимы на глубинах:

- 0,5 мм: $p = 0,011$ ($t = 2,82$),
- 1,0 мм: $p = 0,003$ ($t = 3,54$),
- 1,5 мм: $p = 0,0004$ ($t = 5,12$).

На основе полученных данных рассчитаны пороговые значения плотности энергии на поверхности. Для длины волны 1064 нм на глубине 1,5 мм доля энергии $K = 0,20$, следовательно, $E_{surf} = 0,8/0,20 = 4,0$ Дж/см². Порог коагуляции тканей составляет приблизительно 5,5 Дж/см² [6; 10]. Таким образом, на глубине 1,5 мм возможен безопасный нагрев пигмента до 42 °С. Однако на целевой глубине 2,0–2,5 мм (которая соответствует расположению пигмента при эпидуральной имплантации у крыс с учётом толщины мягких тканей и кости) доля энергии составляет менее 0,5%, что требует E_{surf} более 160 Дж/см² - многократное превышение порога коагуляции. Для длины волны 532 нм достижение 0,8 Дж/см² на глубине 1,0 мм потребовало бы $E_{surf} \approx 5,7$ Дж/см², что уже превышает порог коагуляции, а глубина 1,5 мм недостижима. Следовательно, длина волны 532 нм непригодна для активации пигмента на глубинах более 1 мм при интактном эпидермисе.

Работа впервые даёт количественные данные для оценки возможности эпидуральной фототермической нейромодуляции с учётом статистической значимости различий между длинами волн. В таблице 2 обобщены основные расчётные и пороговые параметры для двух исследованных длин волн.

Таблица 2

Сравнение параметров лазерного воздействия для 532 и 1064 нм с оценкой возможности безопасной активации на целевой глубине (2,0–2,5 мм)

Параметр	532 нм	1064 нм
Макс. глубина (>5% энергии), мм	1,0	1,7
Коэффициент доставки K на макс. глубине	0,14	0,20
E_{surf} для нагрева до 42 °С на макс. глубине, Дж/см ²	~5,7 (небезопасно)	4,0
Теоретически необходимая E_{surf} на глубине 2,2 мм, Дж/см ²	~127	8–12
Безопасная E_{surf} (< порога коагуляции 5,5 Дж/см ²), Дж/см ²	<5,5	<5,5
Превышение безопасного порога	в 23 раза	в 1,5–2 раза

Параметр	532 нм	1064 нм
Риск коагуляции	критический (100%)	очень высокий (>80%)
Возможность безопасной активации	исключена	практически исключена

Примечания: теоретически необходимая E_{surf} рассчитана исходя из требования достичь $E_{depth} = 0,8 \text{ Дж/см}^2$ на глубине 2,2 мм (среднее значение эпидурального пространства) с использованием коэффициентов эффективного затухания, полученных из экспериментальных данных таблицы 1. Для 532 нм экстраполяция даёт физически абсурдные значения (>100 Дж/см²), что подтверждает полную непригодность этого диапазона.

Ключевой вывод: при интактном эпидермисе глубина доставки энергии, достаточной для активации пигмента ($\sim 0,8 \text{ Дж/см}^2$), $\leq 1,7$ мм. Попытка достичь 2,0–2,5 мм требует многократного превышения безопасного порога.

Физический механизм согласуется с теорией Jacques [6] и Sdobnov et al. [11]: роговой слой и дерма - мощный рассеивающий/поглощающий барьер.

Ограничения: крысы (толщина тканей черепа человека больше), не учтены кость и кровоток, измерения на срезах могут завышать эффективную глубину, пигмент имплантирован в кожу спины, а не эпидурально.

Практические рекомендации: для эпидуральной фототермической нейромодуляции требуется удаление рогового слоя, имплантируемые источники света или более длинноволновое ИК-излучение (>1200 нм) [9; 13]. Согласно [14; 15], локальный нагрев на 2,34 °C подавляет >95% спайковой активности, что подтверждает важность точного температурного контроля.

Выводы

На модели крыс с интактным эпидермисом и подкожной имплантацией пигмента определены пороговые значения плотности энергии лазерного излучения и физические ограничения глубины проникновения для оценки возможности безопасной термоактивации нейронов.

1. Выявлены статистически значимые различия между длинами волн 532 и 1064 нм на глубинах 0,5 мм ($p = 0,011$), 1,0 мм ($p = 0,003$) и 1,5 мм ($p = 0,0004$), что подтверждает преимущество более длинных волн для доставки энергии вглубь тканей.

2. Для длины волны 1064 нм максимальная глубина доставки энергии, достаточной для нагрева пигмента до 42 °С ($0,8 \pm 0,15$ Дж/см²), составляет 1,5–1,7 мм при плотности энергии на поверхности 4,0 Дж/см²; порог коагуляции тканей - приблизительно 5,5 Дж/см².

3. Длина волны 532 нм непригодна для активации пигмента на глубинах более 1,0 мм из-за высокого риска термического повреждения тканей (требуемая плотность энергии превышает порог коагуляции).

4. Транскутанная доставка лазерной энергии к пигменту, расположенному на глубине 2,0–2,5 мм и более, при интактных покровных тканях физически ограничена: безопасный нагрев невозможен без превышения порога коагуляции.

5. Для достижения больших глубин необходимы методы преодоления оптического барьера кожи (химическое или механическое удаление рогового слоя, имплантируемые источники света, использование длин волн более 1200 нм).

Полученные данные не исключают возможность фототермической нейромодуляции при контактном расположении излучателя на твёрдой мозговой оболочке (интраоперационно) или после удаления эпидермиса, однако для транскраниальной стимуляции коры головного мозга через интактные покровные ткани требуются дополнительные технические решения.

Список литературы

1. Carvalho-de-Souza J. L., Treger J. S., Dang B., Kent S. B. H., Pepperberg D. R., Bezanilla F. Photosensitivity of neurons enabled by cell-targeted gold nanoparticles // *Neuron*. 2015. Vol. 86. № 1. P. 207-217. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.02.033.
2. Lin H., Li D., Zhu J., Liu S., Li J., Yu T., Tuchin V. V., Semyachkina-Glushkovskaya O., Zhu D. Transcranial photobiomodulation for brain diseases: review of animal and human studies including mechanisms and emerging trends // *Neurophotonics*. 2024. Vol. 11. № 1. P. 010601. DOI: 10.1117/1.NPh.11.1.010601.
3. Yona G., Meitav N., Kahn I., Shoham S. Realistic Numerical and Analytical Modeling of Light Scattering in Brain Tissue for Optogenetic Applications // *eNeuro*. 2016. Vol. 3. № 1. ENEURO.0059-15.2015. DOI: 10.1523/ENEURO.0059-15.2015.
4. Johnstone D. M., Moro C., Stone J., Benabid A. L., Mitrofanis J. Turning On Lights to Stop Neurodegeneration: The Potential of Near Infrared Light Therapy in Alzheimer's and Parkinson's Disease // *Frontiers in Neuroscience*. 2016 Vol. 9. P. 500. DOI: 10.3389/fnins.2015.00500.
5. Chen S., Weitemier A. Z., Zeng X., He L., Wang X., Tao Y., Huang A. J. Y., Hashimoto-dani Y., Kano M., Iwasaki H., Parajuli L. K., Okabe S., Teh D. B. L., All A. H., Tsutsui-Kimura I., Tanaka K. F., Liu X., McHugh T. J. Near-infrared deep brain stimulation via upconversion

nanoparticle-mediated optogenetics // *Science*. 2018. Vol. 359. № 6376. P. 679-684. DOI: 10.1126/science.aag1144.

6. Jacques S. L. Optical properties of biological tissues: a review // *Physics in Medicine and Biology*. 2013. Vol. 58. № 11. P. R37-R61. DOI: 10.1088/0031-9155/58/11/R37.

7. Gao J., Yu K., Luo Q., Deng M., Hou X., Wang W., Zeng X., Xiong X., He Y., Hong X., Xiao Y. Near-Infrared II Fluorescence Imaging and Image-Guided siRNA Therapy of Atherosclerosis // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2024. Vol. 67. № 14. P. 12428-12438. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c01208.

8. Ash C., Dubec M., Donne K., Bashford T. Effect of wavelength and beam width on penetration in light-tissue interaction using computational methods // *Lasers in Medical Science*. 2017. Vol. 32. № 8. P. 1909-1918. DOI: 10.1007/s10103-017-2317-4.

9. Tittelmeier J., Kaub L., Milz S., Kugelmann D., Hof P.R., Schmitz C., Nussbaum-Krammer C. Evaluation of near-infrared light therapy for the treatment of neurodegenerative diseases: Limited penetration depth into the brain likely hinders efficacy // *bioRxiv*. 2024. DOI: 10.1101/2024.11.18.624091.

10. Wang T., Yang J., Chen Z., Liu W. Optical properties of the skull in the near-infrared window: a systematic review // *Journal of Biophotonics*. 2020. Vol. 13. № 8. P. e202000032. DOI: 10.1002/jbio.202000032.

11. Sdobnov A. Y., Darvin M. E., Genina E. A., Bashkatov A. N., Lademann J., Tuchin V. V. Recent progress in tissue optical clearing for spectroscopic application // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018. Vol. 197. P. 216-229. DOI: 10.1016/j.saa.2018.01.085.

12. Garrido-Peña A., Sanchez-Martin P., Reyes-Sanchez M., Levi R., Rodriguez F. B., Castilla J., Tornero J., Varona P. Modulation of neuronal dynamics by sustained and activity-dependent continuous-wave near-infrared laser stimulation // *Neurophotonics*. 2024. Vol. 11. № 2. P. 024308. DOI: 10.1117/1.NPh.11.2.024308.

13. Tsai S. R., Hamblin M. R. Biological effects and medical applications of infrared radiation // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2017. Vol. 170. P. 197-207. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2017.04.014.

14. Wang Y., Garg R., Cohen-Karni D. et al. Neural modulation with photothermally active nanomaterials // *Nature Reviews Bioengineering*. 2023. Vol. 1. P. 193-207. DOI: 10.1038/s44222-023-00022-y.

15. Kim D., Lee J. W., Kang S., Hong W., Lee J., Kwon H.-J., Jang J. E., Lee L. P., Kang H., Simultaneous Detection of Neural Activity and Temperature in Photothermal Neural Stimulation. *Adv. Sci.*2025. 12: 2411725. DOI: 10.1002/advs.202411725.2025.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Financing: The research was performed without external funding.