ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МИКРОВОЛНОВАЯ ТЕРМОГРАФИЯ ПЕРВИЧНОГО ОЧАГА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

С.В. Зиновьев[1], А.В. Иванов[1,2]
[1] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва
[2] Государственный научный центр лазерной медицины ФМБА России, Москва

Обосновывается целесообразность создания новой медицинской технологии – функциональной микроволновой термографии (ФМТ). Рассмотрен теоретический базис данной технологии, её техническая реализация. Один из путей повышения информативности и чувствительности метода ФМТ – применение агентов (в частности, углеводной нагрузки), оказывающих влияние на механизмы формирования и усиления тепловых проявлений в первичном узле злокачественных новообразований. Приведены примеры экспериментального подтверждения данного подхода.

Ключевые слова: *функциональная микроволновая термография, радиотермометрия, злокачественные опухоли*

Введение

Оценка чувствительности к определённым видам терапии и индивидуализация схем лечения онкологических больных является одной из важнейших задач клинической онкологии. В настоящее время применяются различные стандартные схемы химиотерапевтического лечения злокачественных новообразований. При этом имеет место довольно широкий диапазон чувствительности (отклика) к выбранной схеме лечения у конкретных больных [1]. Быстрое прогрессирование злокачественных новообразований на поздних стадиях их развития, интенсивная динамика системных патологических изменений в организме пациента, широкая вариабельность эффективности применения терапевтических схем формирует определённые требования к методам решения данной задачи.

Неинвазивные физические методы контроля эффективности лечения (инфракрасная термография, магнитно-резонансная и ультразвуковая томография, лазерный спектральный анализ молекул-биомаркеров в выдыхаемом воздухе и т.п.), как правило, выявляют уже состоявшиеся на микро- и макроуровне морфологические изменения в ткани опухоли как результат взаимодействия развивающегося опухолевого процесса и проводимой терапии.

Развитие злокачественного новообразования – процесс существенно нестационарный, высоко чувствительный к непрерывно изменяющейся микрофизиологии опухоли, взаимодействию опухоли и организма, влиянию внешних факторов [2].

Необходимо практическое применение методов контроля, имеющих характерные времена такие же, как и характерные времена

взаимодействия новообразований и терапевтического агента (лекарственного препарата, лучевых методов терапии, термических воздействий и т.п.) при их воздействии на организм больного – то есть секунды, минуты и десятки минут. Такие методы дают возможность создать фактически новое направление в клинической терапии, и в частности, клинической онкологии – триггерную терапию, которая в органичном дополнении с методологией таргетной терапии, успешно внедряемой в онкологическую практику, позволит существенно повысить эффективность лечения онкологических больных.

В настоящее время такой подход развивается на основе идеологии молекулярной биологии, когда быстрые изменения экспрессии пептидных онкомаркёров регистрируются с помощью молекулярных биочипов, оптических и магнитно-резонансных методов. При этом фактически отслеживаются изменения, происходящие на генетическом и эпигенетическом уровне в опухолевых клетках. Однако опухоль представляет собой сложное динамическое морфо-физиологическое образование, прогноз развития которого можно сделать только на основе анализа изменений в опухоли как целостной структуре.

Одним из таких информативных системных изменений является динамика интегральной температуры в зоне опухолевого роста, отражающая соотношение процессов термопродукции и термодиссипации и выявляемая путем локальной регистрации электромагнитного микроволнового широкополосного излучения на основе принципов контактной радиотермометрии. Флуктуации регистрируемого электромагнитного излучения биообъекта в микроволновом диапазоне могут служить диагностическим маркёром развития опухолевого процесса, а также свидетельствовать об эффективности его терапевтической коррекции.

Анализ интенсивности собственного электромагнитного излучения биологического объекта в микроволновом диапазоне лежит в основе разрабатываемого нами метода функциональной микроволновой термографии (ФМТ) – регистрации температурных вариаций в первичном узле злокачественной опухоли, связанных с кинетикой её роста и изменением её морфологии [3–8]. Применение методологии нелинейной динамики (вычисление фрактально-топологических характеристик исследуемого сигнала, нормированной энтропии временного ряда, анализ аттракторов фазовых траекторий и др.) даёт возможность определить закономерности изменения регистрируемого параметра в режиме реального времени на действие различных терапевтических агентов [9–13].

Материал и методы

Аппаратно-программный комплекс

В наших исследованиях использовался специально созданный (по техническому заданию к ООО “Фирма РЭС”) многоканальный аппаратно-программный комплекс (МАПК) для неинвазивного выявления температурных аномалий внутренних тканей лабораторных животных на глубине нескольких сантиметров (рис. 1). Измеряя собственное излучение тканей в микроволновом диапазоне, можно выявлять глубинные температурные аномалии [7, 8]. Глубина измерения определяется длиной волны, влагосодержанием ткани и параметрами антенны. Все ткани в зависимости от влагосодержания можно разделить на две группы. К тканям с низким влагосодержанием относится жир, кости и молочная железа. Для них глубина измерения при длине волны 30 см равна 7 см, при длине волны 10 см глубина $D_{изм}$=4 см. Для тканей с высоким влагосодержанием (мышцы и кожа) глубина измерения равна 2–3 см в 10-сантиметровом диапазоне и 4 см в 30-сантиметровом диапазоне.

С помощью МАПК производится измерение температуры внутренних тканей путем регистрации собственного электромагнитного излучения лабораторных животных в микро-

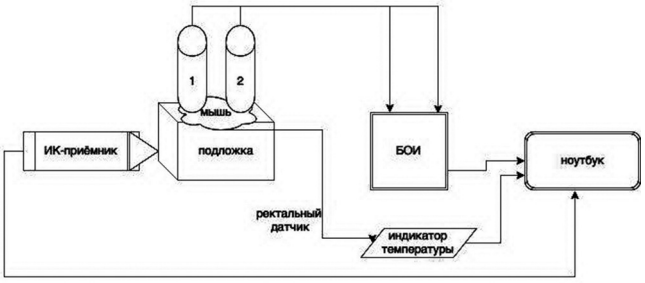

Рис. 1. *Схема экспериментальной установки функциональной микроволновой термографии злокачественных новообразований мелких лабораторных животных: 1, 2 – датчики микроволнового излучения, БОИ – блок обработки информации*

волновом диапазоне; рабочий диапазон частот приемного канала от 3150 до 3800 МГц. Мощность излучения, поступающая в антенну, определяется термодинамической температурой, параметрами среды и диаграммой направленности антенны [14]. Разработаны помехозащищенные приемные антенны для радиодатчиков, позволяющие использовать МАПК в помещениях без специальной экранировки [15]. Датчики используют цифровые каналы передачи информации, связь с ПЭВМ осуществляться через USB порт и (или) по интерфейсу RS-232 – межпроцессорному интерфейсу передачи данных I^2C.

МАПК обеспечивает возможность проведения динамического мониторинга температуры одновременно в нескольких точках тела лабораторных животных, при этом число одновременно функционирующих каналов не менее двух. Реализована возможность визуализации результатов измерений, хранение, обработка и передача данных о проведенных обследованиях. В состав МАПК входит специальное программное обеспечение в виде пользовательского интерфейса для проведения обследований, визуализации результатов измерений, обработки и анализа результатов измерений, автоматической подготовки протоколов, формирования базы данных.

Лабораторные животные и опухолевые штаммы

В экспериментах использовали мышей линии C57Bl6 и гибриды первого поколения F1(C57Bl x DBA) с массой тела 20–25 гр. Мышей получали из питомника "Столбовая" и содержали в виварии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России на обычном рационе питания. В качестве моделей сóлидных опухолей использовали трансплантируемые новообразования следующих типов: карцинома легких Льюис (LLC), меланома B-16 (B-16), рак легкого-67 (РЛ-67). Все опухолевые штаммы получены из банка опухолевых штаммов НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Трансплантацию сóлидных опухолей (LLC, B-16, РЛ-67) производили гомогенатом опухолевой ткани в стерильном растворе среды 199. Животных-доноров усыпляли, вырезали кусочки опухоли без некротических участков и измельчали. Полученную массу опухоли разводили средой 199 и вводили мышам внутримышечно или подкожно в 0,2–0,4 мл среды 199 для культивирования клеток. В проведённых нами экспериментах опухоли перевивали внутримышечно в мышцу бедра, а также подкожно в паравертебральную область по стандартным методикам.

Анализ и устранение возможных артефактов

1. Геометрия эксперимента

Уровень регистрируемого сигнала критично зависит от плотности и стабильности механического контакта антенны и поверхности объекта. Следовательно, необходимо было разработать систему иммобилизации и фиксации лабораторного животного, исключающую движение его биологических тканей относительно воспринимающей антенны на всё время регистрации сигнала (1–2 ч). Это было сделано при помощи подбора определённого миорелаксанта и отработки его оптимальной дозы. Помимо этого проводили щадящую механическую фиксацию к подложке с помощью гипоаллергенного медицинского пластыря.

2. Теплофизические параметры среды и регистрирующей системы

Для корректной регистрации микроволнового излучения от биообъекта необходимо его согласование по теплофизическим характеристикам (температура, теплоёмкость, теплопроводность) с регистрирующей системой, то есть температуры антенны, мышечной или опухолевой ткани, причем подложки должны быть близки друг к другу. Это достигалось наличием встроенного адаптивного нагревателя в регистрирующей системе, а также использованием в качестве подложки водной среды в пластиковом пенале. С боковой стенки пенала на протяжении всего эксперимента регистрировалась динамика температуры в ИК-диапазоне.

3. Внешние электромагнитные помехи

а) Микроволновое излучение от биообъекта, которое регистрируется данным методом, находится в том же радиочастотном диапазоне, что и сигнал сотового телефона – единицы ГГц. Мощность излучения сотового телефона вблизи его антенны может достигать сотен милливатт, что на несколько порядков выше средней величины сигнала от биологической ткани в микроволновом диапазоне. Даже с учётом того, что внешний паразитный высокочастотный сигнал частично экранируется самой же биотканью (точнее, её водной компонентой) степень зашумлённости информативной компоненты может быть достаточно высо-

кой. Экспериментальная проверка данного предположения показала, что амплитуда и частота флуктуаций термограммы при наличии внешних помех на порядок выше, чем в случае отсутствия источника паразитного сигнала. Данное наблюдение говорит о необходимости выключения источников СВЧ излучения в помещении, в котором находится экспериментальная установка.

б) Было предположено, что дополнительные искажения в регистрируемые параметры вносят электрические и электронные компоненты системного блока стационарного компьютера. В данном случае, наряду с высокочастотной составляющей, непосредственно влияющей на блок приёма сигнала экспериментальной установки, существует и низкочастотная, связанная с работой мощного блока питания настольного компьютера, которая может оказывать влияние на блок обработки информации и коммутационные соединения. Данное предположение было подтверждено экспериментально, что нашло своё отражение в замене регистрирующей компьютерной системы.

4. Калибровочное тестирование системы регистрации микроволнового излучения

Прежде чем приступать к записи термограмм нормальных тканей и злокачественных новообразований у лабораторных животных, необходимо было провести калибровочное тестирование полученных систем регистрации микроволнового излучения. С этой целью был сконструирован модельный объект, который по электрофизическим характеристикам был близок к мелким лабораторным животным. Объект нагревали до 40°С в водяной бане и кинетику его остывания синхронно записывали двумя датчиками микроволнового излучения. Получили практически идентичную динамику данного параметра для обоих датчиков. Это позволило нам все последующие эксперименты на лабораторных животных проводить без опасения получить артефакты, вызванные асинхронностью работы двух каналов получения информации.

Были определены оптимальные режимы регистрации интенсивности теплового излучения внутренних тканей лабораторных животных в микроволновом диапазоне. Поверхность кожи мыши предварительно готовили к проведению эксперимента: выстригали шерсть, а затем с помощью специального крема деэпилировали поверхность кожи в месте её контакта с антенной радиодатчика. Само лабораторное животное фиксировали при помощи гипоаллергенного медицинского лейкопластыря к подложке. Длительность эксперимента варьировали от нескольких минут до 3 ч. Средняя длительность регистрации микроволнового излучения лабораторного животного составляла 1 ч.

Результаты и обсуждение

Исследования термограмм солидных опухолей у лабораторных животных в условиях углеводной нагрузки

Оценку информативности предлагаемого метода проводили в условиях модификации метаболической активности и энергетического статуса новообразований. Глюкоза в данном случае является универсальным метаболическим маркёром функционального состояния злокачественной опухоли.

На рис. 2 представлена запись термограммы карциномы лёгких Льюис (LLC) при введении лабораторному животному внутривенно гипертонического раствора глюкозы. Через 2,5 мин после введения можно наблюдать существенное усиление термогенерации в объёме ткани опухоли, а также достаточно быструю утилизацию глюкозы и кинетику возвращения термального баланса к прежней величине. При этом амплитуда флуктуаций темпера-

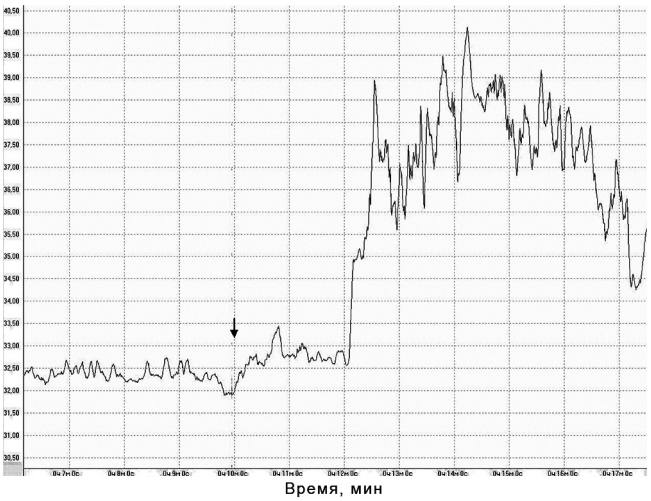

Рис. 2. *Скриншот термограммы опухоли карциномы лёгких Льюис (LLC). Внутривенное введение 40 % р-ра глюкозы отмечено стрелкой. Диапазон по оси Y: 30,5–40,5°С ; по оси X: 6,0–17,5 мин*

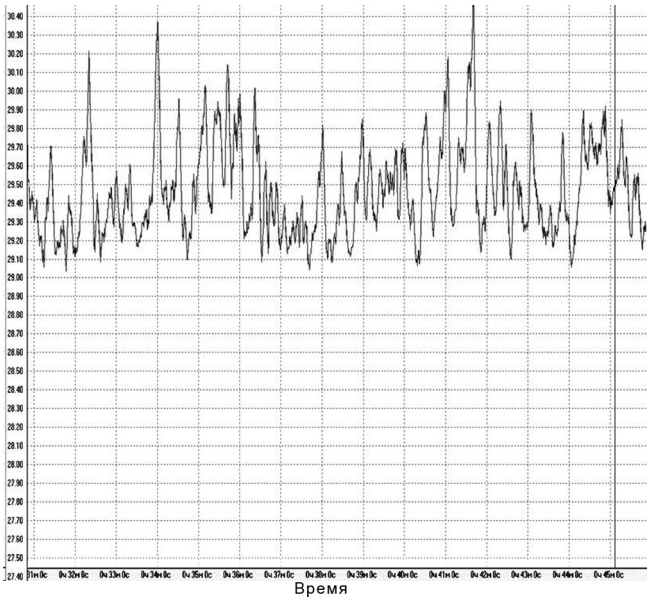

Рис. 3. *Скриншот термограммы опухоли меланомы B-16. Введение в ретроорбитальный синус 0,2 мл 40 % раствора глюкозы на 30 минуте записи термограммы. Диапазон по оси Y: 27,5–30,5°С; по оси X: 6,0–17,5 мин*

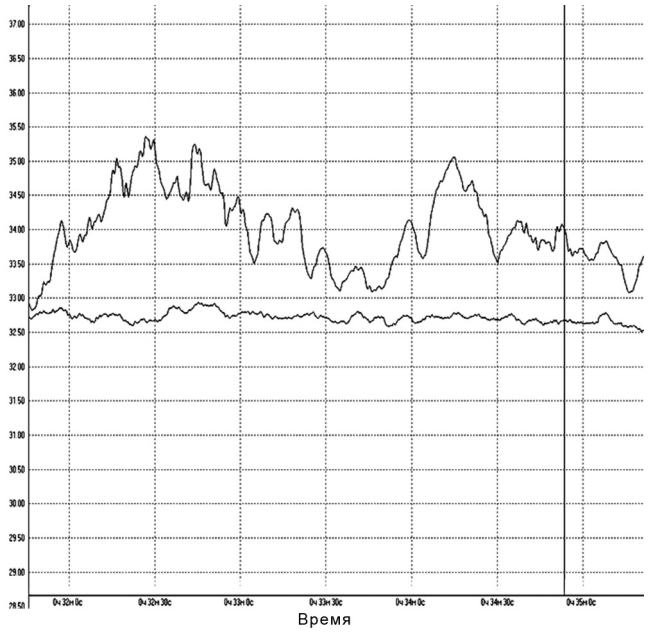

Рис. 4. *Скриншот термограммы переживающей суспензии лейкозных клеток L1210 с добавленным гипертоническим раствором глюкозы – верхний график; контрольная суспензия клеток без добавления глюкозы – нижний график. Диапазон по оси Y: 28,5–37,0°С ; по оси X: 31,5–37,0 мин*

туры в зоне опухолевого роста увеличивается в 2–3 раза и изменяется их частотный спектр.

Высокочастотные флуктуации температуры наблюдались и в ткани опухоли меланомы B-16 со значительной амплитудой колебаний (до 1,5°С) после создания состояния кратковременной гипергликемии в организме лабораторного животного (рис. 3).

Мы сконструировали специальное устройство для анализа термограмм переживающих суспензий опухолевых клеток. На рис. 4 представлена типичная термограмма переживающих суспензий лейкозных клеток L1210 с добавленным гипертоническим раствором глюкозы. Температура при этом не только существенно возрастает (на 1,5°С), но и в объёме суспензии возникают квазигармонические колебания, вероятно, связанные с колебаниями в глюкозном цикле опухолевых клеток.

Интересно отметить, что подобные колебания можно наблюдать и на опухолевых моделях *in vivo*. На рис. 5 представлена двухканальная регистрация термограммы у мышей с привитой им в бедро опухолью РЛ-67. Отчётливо виден колебательный характер температуры в зоне опухолевого роста (верхняя кривая) при

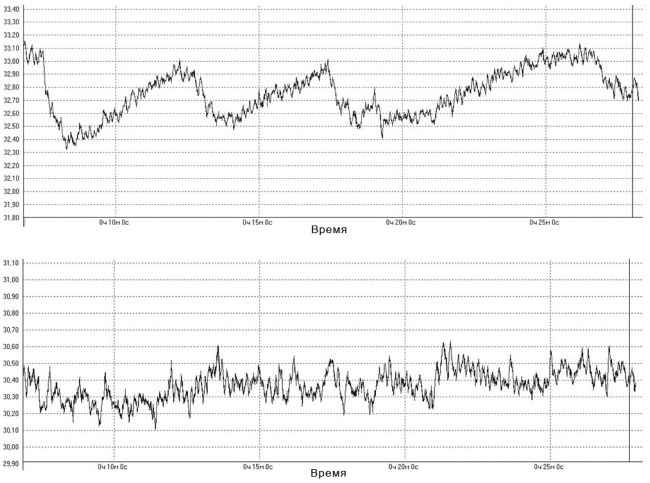

Рис. 5. *Скриншоты термограмм опухоли рака лёгкого (РЛ-67). Схема синхронной двухканальной регистрации сигнала: верхний график – термограмма опухоли с инвазивным внутримышечным ростом, диапазон по оси Y: 31,8–33,4°С, по оси X: 5,0–30,0 мин; внизу – термограмма здорового бедра той же мыши, диапазон по оси Y: 29,9–31,1°С , по оси X: 5,0–28,0 мин*

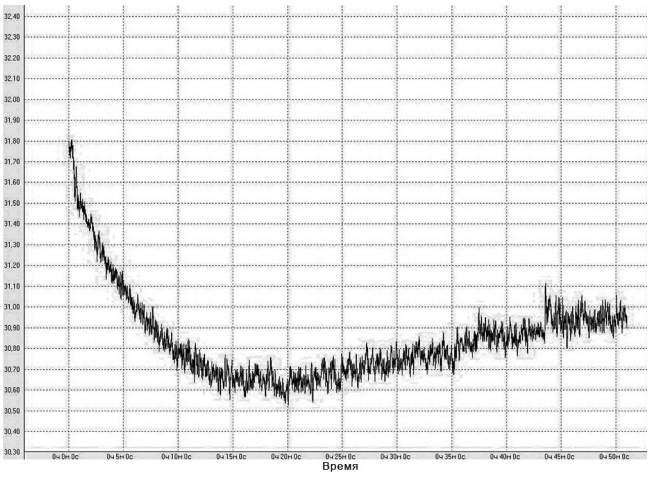

Рис. 6. *Скриншот термограммы подкожно привитой опухоли РЛ-67 в случае внутрибрюшинного введения гипертонического раствора глюкозы. Диапазон по оси Y: 29,9–31,1°С, по оси X: 0,0–52,0 мин*

неизменной температуре здорового бедра (нижняя кривая).

Тепловые процессы в первичном узле опухоли существенно зависят от способа введения в организм лабораторного животного биоэнергетического агента (в данном случае глюкозы). На рис. 6 представлена кинетика температуры подкожно привитой опухоли РЛ-67 в случае внутрибрюшинного введения гипертонического раствора глюкозы. Температура опухолевого узла после введения глюкозы довольно быстро снижается (более чем на 1°С), а затем медленно возвращается к начальному уровню.

Теоретическое обоснование этому феномену дано в монографии С. Осинского и П. Ваупеля [16]. Авторы объясняют это следующим образом. После внутрибрюшинных инъекций раствора глюкозы значительно возрастает гематокрит, что свидетельствует о развитии выраженной гиповолемии вследствие осмотического выхода воды из сосудов в брюшную полость. Это состояние приводит к серьёзным нарушениям микроциркуляции, что выражается в торможении внутриопухолевого кровотока. Опухоль, находящаяся на поверхности тела, охлаждается интенсивнее, так как приток горячей крови из “ядра” организма становится меньше. Мы экспериментально подтвердили данное заключение. Это свидетельствует о том, что метод ФМТ может быть информативен не только в отношении процессов биоэнергетического характера, но и давать информацию об изменении микроциркуляции в зоне злокачественного роста.

Данные результаты хорошо подтверждают наше предложение о целесообразности модификации разрабатываемого метода ФМТ с целью повышения его чувствительности и селективности. В настоящее время составляется база данных по динамике изменения термограмм злокачественных новообразований различных гистологических типов в условиях углеводной нагрузки на организм лабораторного животного. Методами нелинейной динамики проводится анализ полученных результатов с целью их численной формализации.

Принципиальный вопрос, встающий здесь перед исследователями, заключается в том, что регистрируемое значение термодинамической температуры данным методом определяется совокупностью различных процессов. Основными из них являются процессы термогенерации, в основе которых лежат изменения метаболизма, и процессы термодиссипации, основной вклад в которые вносит изменение микроциркуляции крови в зоне регистрации. Заметим, что изучение динамики взаимосвязи процессов метаболизма и микроциркуляции, особенно в отношении опухолевого роста, представляет собой отдельную фундаментальную задачу, одним из путей решения которой может быть применение методов нелинейной динамики к анализу информации, полученной посредством пассивного и активного радиометрического контроля.

Известно, что кровоток в ткани опухоли, отражая особенности её васкуляризации, является крайне нестабильным, зависящим как от морфофункционального состояния самой опухоли, так и от различного рода внешних факторов. Установлено, например, что кровоснабжение опухолевой ткани может быть высокочувствительно к слабым воздействиям на организм лабораторного животного или человека [7].

Ряд технологических и инженерно-технических особенностей регистрации и анализа сигнала (широкополосного микроволнового собственного излучения биообъекта), даёт возможность получить принципиально новую информацию о процессах метаболизма, кровоснабжения (микроциркуляции) и клеточной кинетики злокачественных новообразований. Технология функциональной микроволновой термографии позволяет уже на этапе доклинических исследований, на моделях *in vivo*, полу-

чать информацию об эффективности взаимодействия со сформировавшейся злокачественной опухолью фармакологических агентов и (или) физических факторов с момента их введения в организм лабораторных животных.

Критерии такой эффективности могут быть сформированы на основе анализа флуктуационных характеристик тепловых процессов, происходящих в нормальных и патологически изменённых тканях организма лабораторных животных и человека.

Анализ первичных данных, получаемых в виде нестационарных временных рядов определённой длительности с применением методологического аппарата нелинейной, динамики основан на следующих теоретических предпосылках. При воздействие на опухоль (прямом или опосредованном) происходят следующие процессы:

а) изменение микроциркуляции в ткани опухоли и соответственно кинетики транспортных процессов;
б) изменение метаболических и биоэнергетических процессов в опухолевых клетках;
в) изменение клеточной кинетики – процессов пролиферации, некроза и апоптоза клеток опухоли.

Процессы всех трех типов сопровождаются вариацией баланса термогенерации и термодиссипации на молекулярном, клеточном и тканевом уровне, вследствие чего они имеют различные собственные характерные времена.

Как может меняться при этом, например, профиль спектра мощности внутритканевой температуры? Если в спектре будут доминировать высокочастотные флуктуации с низкой амплитудой – агент преимущественно действует на биоэнергетику клетки. Если среднечастотные высокоамплитудные – действующий агент изменяет динамику кровотока. Если мы наблюдаем превалирование низкочастотных флуктуаций с малой амплитудой – изменяется клеточная кинетика, причём имеют место, скорее всего, кооперативные процессы. Кроме того, существует ряд других математических характеристик временных рядов регистрируемого нами параметра, количественные изменения которых потенциально могут коррелировать с изменением функционального состояния злокачественного новообразования.

Объективность интерпретации информации, полученной разрабатываемым методом, может и должна быть подкреплена исследованиями с применением традиционных инвазивных и неинвазивных (физических, биохимических, гистохимических и т.п.) методик оценки функционального состояния и контроля эффективности лечения первичного очага злокачественных новообразований в эксперименте.

Выводы

Разрабатываемый нами метод микроволнового детектирования температурной динамики в биологических тканях – функциональная микроволновая термография (ФМТ) – позволяет на этапе доклинических исследований, на моделях *in vivo*, получать информацию об эффективности взаимодействия со сформировавшейся злокачественной опухолью фармакологических агентов и (или) физических факторов с момента их введения в организм лабораторных животных.

Увеличения чувствительности и селективности метода ФМТ можно достичь путём применения углеводной нагрузки и, возможно, других энергоёмких химических соединений.

Создание базы данных и выявление количественных закономерностей действия термомодификаторов злокачественных новообразований представляется необходимым в плане дальнейшего развития эффективных терапевтических методов.

Список литературы

1. Синельникова О.А. СВЧ-радиотермометрия в диагностике и оценке эффективности неоадъювантного лечения рака молочной железы. Дисс. канд. мед. наук. – М. 2013. 124 с.
2. Профилактика, ранняя диагностика и лечение злокачественных новообразований. // Отв. редактор Ю.В. Шишкин. Москва. 2006.
3. Веснин С.Г. Микроволновая радиотермометрия – национальное достояние России // Здравоохранение, 2007. № 9. С. 159–164.
4. Carr K.L. Microwave radiometry: its importance to the detection of cancer // IEEE MTT. 1989. Vol. 37. № 12. P. 972–979.
5. Вайсблат А.В. Радиотермография как метод диагностики в медицине. – М.: Издатель НЦЗД РАМН. 2003. 80 с.
6. Shisuo M., Yoshinori H., Toshifumi S. A threeband microwave radiometer system for various depth // IEEE MTT-S. 1986. Vol. 34. P. 759–762.

7. Mayers P.O., Sadowski M.I., Barrett A.H. Microwave termography. Principles, methods and Clinical applications // J. Microwave Power. 1979. Vol. 14. № 2, P. 105–115.
8. Троицкий В.С. К теории контактных радиотермометрических измерений внутренней температуры тел. // Изв. вузов. Сер. Радиофизика, 1981. Т. 24. № 9. С. 1054–1059.
9. Анищенко В.С. и соавт. Нелинейные эффекты в хаотических и стохастических системах. – Москва-Ижевск.: Институт компьютерных исследований. 2003.
10. Анищенко В.С. Знакомство с нелинейной динамикой, – М.: УРСС. 2008.
11. Быстрай Г.П. Термодинамика неравновесных процессов в открытых нелинейных физико-химических системах с детерминированным хаосом. Автореф. дисс. д-ра физ.-мат. наук. – Екатеринбург. 2009.
12. Лыков И.А., Быстрай Г.П., Найдич А.М., Охотников С.А. Анализ живых систем по длинным временным рядам методами нелинейной динамики // Современные наукоёмкие технологии, 2010. № 9. С. 202–203.
13. Меклер А.А. Применение аппарата нелинейного анализа динамических систем для обработки сигналов ЭЭГ // Актуальные проблемы современной математики. Учёные записки. – С-Пб. 2004. Т. 13 (вып.2). С. 112–140.
14. Веснин С.Г., Седанкин М.К. Математическое моделирование собственного излучения тканей человека в микроволновом диапазоне // Биомедицинская радиоэлектроника. 2010. № 9. С. 33–44.
15. Патент № 2306099 от 31 октября 2005 г. “Антенна-аппликатор для неинвазивного измерения температуры внутренних тканей биологического объекта”, Веснин С.Г., патентообладатель ООО “Фирма РЭС”.
16. Осинский С., Ваупель П. Микрофизиология опухолей. – Киев: Наукова думка. 2009. С. 187.
17. Зиновьев С.В. Коррекция опухолевого процесса низкоинтенсивным излучением крайне высокой частоты. Автореф. дисс. канд. мед. наук . – М. 2008.

FUNCTIONAL MICROWAVE THERMOGRAPHY OF PRIMARY MALIGNANT TUMORS: AN EXPERIMENTAL STUDY

S.V. Zinoviev[1], A.V. Ivanov[1,2]

[1] N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

[2] State Scientific Center of Laser Medicine of FMBA of Russia, Moscow, Russia

The feasibility of creating a new medical technology – functional microwave thermography (FMT) – is substantiated. The theoretical basis of the given technology, its technical realization is considered. One of the ways to increase the informativeness and sensitivity of the FMT method is the use of agents (in particular, carbohydrate load) that affect the mechanisms of formation and enhancement of the thermal manifestations of the primary node of malignant neoplasms. Examples of experimental confirmation of this approach are given.

Key words: *microwave thermography, radiothermometry, malignant tumors*

E-mail: ivavi@yandex.ru