

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации

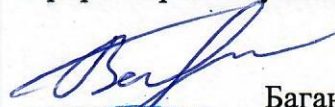
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)»
(МФТИ, Физтех)

Юридический адрес: 117303, г. Москва,
ул. Керченская, дом 1А, корпус 1
Почтовый адрес: 141700, Московская обл.,
г. Долгопрудный, Институтский переулок, дом 9
Тел.: +7 (495) 408-42-54, факс: +7 (495) 408-68-69
info@mipt.ru

06.09.2023 № 6.02-05/6859
на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе



Баган Виталий
Анатолевич

2023 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию **Зайцева Кирилла Игоревича** «Импульсная спектроскопия и микроскопия биологических тканей в терагерцовом диапазоне», представленную на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.3.6. Оптика

Актуальность работы. Терагерцовый (ТГц) диапазон шкалы электромагнитных волн активно осваивается в последние десятилетия. Методы ТГц спектроскопии, визуализации и сенсорики находят применения в астрофизике, физики конденсированного состояния, полупроводниковой электронике, науках о материалах, технологиях неразрушающего контроля. Одной из наиболее перспективных сфер применения ТГц техники остается медицинская диагностика заболеваний организма человека, включая новообразования, диабет и травматические повреждения.

Тем не менее ТГц биофотоника остается новым направлением научных исследований, дальнейшее развитие которого невозможно без решения следующих проблем:

- исследования эффектов взаимодействия ТГц волн с тканями, накопления и анализа верифицированной базы данных эффективных ТГц оптических / диэлектрических характеристик тканей в норме и при патологии для объективного анализа возможности их дифференциации ТГц методами;
- развития методов решения обратных задач ТГц импульсной спектроскопии для различных геометрий эксперимента, направленных на оценку эффективных ТГц оптических характеристик тканей;
- разработки методов сверх разрешающей ТГц визуализации, преодолевающих дифракционный предел разрешения Аббе, обеспечивающих подходящие для клинических приложений уровни разрешения и адаптированных для исследования биологических объектов, оценки их локальных ТГц оптических свойств и гетерогенности.

На решение перечисленных проблем и направлена диссертация К.И. Зайцева.

Содержание работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка использованных источников из 892 позиций. Ее полный объем – 302 страницы. Она включает 96 рисунков и 11 таблиц.

Во **введении** обоснована актуальность выбранного направления исследований, сформулированы цели и задачи, отмечены новизна, фундаментальная и практическая значимость работы, приведены выносимые на защиту положения и результаты.

В **первой главе** проведен обзор современного состояния исследований в области ТГц оптики и биофотоники, взаимодействия ТГц излучения с тканями и ТГц медицинской диагностики. Отмечены проблемы, сдерживающие развитие методов ТГц биофотоники и их трансляцию в клиническую практику. Сформулированы цель и задачи диссертации.

Вторая глава посвящена моделированию взаимодействия ТГц излучения с объектом исследования в ТГц импульсной спектроскопии. На основе оригинальных моделей предложен метод решения обратной задачи ТГц импульсной спектроскопии, а именно: оценки ТГц оптических характеристик объекта по наблюдаемым сигналам для различных геометрий эксперимента.

В **третьей главе** разработан метод сверхразрешающей ТГц микроскопии, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, преодолевающий предел Аббе и адаптированный для визуализации мягких биологических тканей.

В **четвертой главе** разработан метод решения обратной задачи сверхразрешающей ТГц микроскопии, а именно: оценки пространственного распределения локальных ТГц оптических характеристик и гетерогенности объекта исследования.

В **пятой главе** новые методы ТГц спектроскопии и микроскопии применены для исследования интактных тканей и глиомы головного мозга человека различной степени злокачественности, а также модели глиомы 101.8.

В **заключении** сформулированы основные результаты диссертации:

1. Разработана физико-математическая модель взаимодействия ТГц излучения с объектом исследования в импульсной спектроскопии для различных геометрий эксперимента (пропускание и отражение) с учетом конечного размера временного окна, в котором регистрируется сигнал спектрометра. На ее основе разработан метод восстановления ТГц оптических (диэлектрических) характеристик объектов различной природы для разных геометрий эксперимента.

2. Экспериментально изучены ТГц оптические характеристики распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов. Сравнительный анализ агентов с помощью двумерных номограмм «ТГц коэффициент поглощения – коэффициент бимодальной диффузии» позволил выбрать из них оптимальные для ТГц биофотоники.

3. Экспериментально изучены эффективные ТГц оптические или диэлектрические характеристики *in vivo* здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов. Показана существенная вариабельность ТГц отклика кожи. Показана возможность дифференциации обыкновенных и диспластических невусов кожи на основе ТГц спектров.

4. Разработан ТГц микроскоп субволнового разрешения, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, использующий иммерсионную полусферу из высокорезистивного кремния и обеспечивающий пространственное разрешение до $0,15\lambda$. Теоретически и экспериментально показано, что разрешение микроскопа зависит от оптических характеристик объекта, оставаясь субволновым ($r/\lambda \in (0,15, 0,4)$) в широких пределах изменения его показателя преломления ($n_{obj} \in (1,0, 5,0)$) и коэффициента поглощения ($\alpha_{obj} \in (0, 400) \text{ см}^{-1}$, по мощности).

5. С помощью разработанного ТГц микроскопа изучены биологические ткани различной природы: листовые пластины растений, клеточные сфероиды и

свежеиссеченные ткани организма человека. Показана возможность ТГц визуализации субволновых неоднородностей тканей.

6. Разработана физико-математическая модель отражения ТГц излучения от объекта исследования позади оптической системы, использующей эффект твердотельной иммерсии. На ее основе разработан метод решения обратной задачи ТГц микроскопии субволнового разрешения, связанной с оценкой локальных оптических характеристик объекта. Рассмотрены случаи оценки показателя преломления n для слабо поглощающих ($\alpha < 10 \text{ см}^{-1}$, по мощности) сред, а также одновременно показателя преломления n , коэффициента поглощения α и объемного содержания воды C для сильно поглощающих ($\alpha > 10 \text{ см}^{-1}$) водосодержащих сред.

7. ТГц импульсная спектроскопия и микроскопия применены для анализа эффективного диэлектрического отклика и изображений дегидратированных и гидратированных децеллюлярированных клеточных матриц на основе бычьего перикарда, интактных, обработанных химически или плазмой. Для матриц разного типа впервые измерены ТГц комплексная диэлектрическая проницаемость и данные о ее флуктуации по апертуре образца с субволновым разрешением. Оценено характерное время адсорбции паров воды матрицами – $\tau = 8\text{--}10$ мин.

8. Экспериментально изучены эффективные ТГц оптические характеристики глиом человека различной степени злокачественности (WHO Grade I–IV), интактных и отечных тканей *ex vivo*. Показаны статистические различия ТГц отклика интактных тканей и глиом, а также схожесть отклика отечных тканей и опухолей.

9. Построены физико-математические модели эффективной ТГц комплексной диэлектрической проницаемости глиом человека WHO Grade I–IV, интактных и отечных тканей *ex vivo*. На основе анализа эффективных оптических характеристик выявлено повышенное содержание воды в отечных тканях и опухолях по сравнению с интактными.

10. Зарегистрированы эффективные оптические характеристики и микроскопические изображения интактных тканей и модели глиомы 101.8 *ex vivo*. Они подтвердили наличие контраста между интактными тканями и опухолью. Микроскопия свежесеченных тканей выявила их мезомасштабную гетерогенность. Микроскопия парафинизированных тканей показала, что различия ТГц отклика интактных тканей и глиом пропадают после дегидратации, подтверждая, что тканевая вода является основным эндогенным маркером опухоли.

Соответствие автореферата диссертационной работе. Автореферат удовлетворяет предъявляемым требованиям и полностью соответствует диссертационной работе. Он в полном объеме отражает результаты и выводы диссертации.

Научная новизна. Научная новизна диссертации связана как с новизной методов исследования (разработаны новые методы ТГц спектроскопии и микроскопии тканей), так и с новизной результатов исследования (получены новые данные о взаимодействии ТГц излучения с тканями):

1. Предложена новая физико-математическая модель взаимодействия ТГц импульсного излучения с плоско-слоистыми средами в импульсной спектроскопии. Она использует приближение плоской волны, предполагает трассировку комплексной амплитуды волны в измерительном тракте, учитывает деление амплитуды волны и фазовые набег на границах раздела, фазовые набег и поглощение в объеме вещества, а также конечное число резонансов в слое образца. На ее основе разработан метод оценки ТГц оптических свойств объектов спектроскопических исследований, включая биологические ткани.

2. Разработан новый метод ТГц микроскопии субволнового разрешения, использующий эффект твердотельной иммерсии и иммерсионную полусферу из высокорезистивного кремния, адаптированный для визуализации биологических тканей и

преодолевающий дифракционный предел Аббе. Теоретически и экспериментально показано, что пространственное разрешение нового метода зависит от оптических свойств объекта, однако остается субволновым ($0,15\lambda - 0,40\lambda$; λ – длина волны) в широком диапазоне его показателей преломления (1,0–5,0) и коэффициентов поглощения ($0-400 \text{ см}^{-1}$, по мощности).

3. Предложена новая физико-математическая модель взаимодействия непрерывного ТГц излучения с объектом исследования в микроскопии субволнового разрешения, использующей эффект твердотельной иммерсии. Она учитывает широкую апертуру и поляризацию пучка, возбуждение эванесцентных волн на границе раздела между иммерсионной линзой и образцом, а также стоячие волны в иммерсионной линзе. На ее основе разработан метод оценки пространственного распределения (с субволновым разрешением) ТГц оптических свойств оптически неоднородных объектов микроскопических исследований, включая биологические ткани.

4. Впервые экспериментально изучены ТГц оптические свойства водных растворов агентов, применяемых в иммерсионном оптическом просветлении тканей, в диапазоне 0,3–2,5 ТГц. Рассмотрены глицерин, полиэтиленгликоль молекулярной массы 200, 300, 400 и 600, пропиленгликоль и диметилсульфоксид (для них рассмотрены объемные доли в растворах от 0 до 100%), сахароза, фруктоза и глюкоза (для них массовые доли в растворах – 0–50%), декстран молекулярной массы 40 и 70 (для них объемные доли в растворах – 0–50%).

5. Впервые экспериментально изучены эффективные ТГц оптические (диэлектрические) свойства *in vivo* обыкновенных и диспластических невусов кожи человека в диапазоне 0,3–1,0 ТГц, здоровой кожи человека (в различных областях организма) в диапазоне 0,3–1,4 ТГц, *ex vivo* децеллюляризованного бычьего перикарда в диапазоне 0,4–2,0 ТГц, свежесеченных интактных тканей головного мозга человека и глиом различной степени злокачественности в диапазоне 0,2–1,5 ТГц, а также свежесеченной модели глиомы 101.8 в мозгу крысы в диапазоне 0,2–1,0 ТГц. Для интактных тканей и глиом человека построены модели эффективной ТГц комплексной диэлектрической проницаемости.

6. Впервые экспериментально зарегистрированы ТГц микроскопические изображения различных биологических тканей *ex vivo*: клеточных сфероидов, свежесеченных тканей молочной железы и языка человека *ex vivo*, децеллюляризованного бычьего перикарда, а также свежесеченной или парафинизированной модели глиомы 101.8 *ex vivo*.

Опубликование результатов диссертации. По диссертации опубликованы 59 научных работ в журналах из перечня ВАК и международных реферативных баз данных Web of Science и Scopus, 3 главы в монографиях и 6 свидетельств РИД. Значительная часть публикаций вышла в профильных журналах Q1–Q2 в области оптики, биофотоники, терагерцовой науки и техники, включая *Optica*, *Progress in Quantum Electronics*, *Advanced Optical Materials*, *Opto-Electronics Advances*, *Physical Review Applied*, *Applied Physics Letters*, *Optics Express*, *Journal of Biomedical Optics*, *Biomedical Optics Express*.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Опубликованные работы в полной степени отражают содержащиеся в диссертации научные результаты и соответствуют выносимым на защиту положениям и результатам:

#	Положения и результаты, выносимые на защиту
1	Разработанный метод решения обратной задачи ТГц импульсной спектроскопии позволяет оценивать оптические характеристики объекта исследования по наблюдаемым сигналам спектрометра для различных геометрий эксперимента с

	<p>учетом специфики регистрируемых сигналов (напряженности электрического поля ТГц волны, заданной в конечном временном интервале), деления амплитуды и фазовых набегов волны на границах раздела, фазовых набегов и поглощения в объеме вещества, а также конечного числа резонансов в слоистых средах.</p> <p>Основные публикации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Journal of Applied Physics</i> 115, 193105 (2014); – <i>Optics & Spectroscopy</i> 118, 552 (2015); – <i>Astronomy & Astrophysics</i> 629, A112 (2019); – <i>Astronomy & Astrophysics</i> 667, A49 (2022); – <i>Optics Express</i> 30, 9208 (2022).
2	<p>Разработан новый метод ТГц микроскопии субволнового разрешения, использующий эффект твердотельной иммерсии и иммерсионную полусферу из высокорезистивного кремния, адаптированный для визуализации биологических тканей и преодолевающий дифракционный предел Аббе. Теоретически и экспериментально показано, что пространственное разрешение нового метода зависит от оптических свойств объекта, однако остается субволновым ($0,15\lambda$–$0,40\lambda$; λ – длина волны) в широком диапазоне его показателей преломления (1,0–5,0) и коэффициентов поглощения (0–400 см⁻¹, по мощности).</p> <p>Основные публикации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Applied Physics Letters</i> 110, 221109 (2017); – <i>Applied Physics Letters</i> 113, 111102 (2018); – <i>Optical Engineering</i> 59, 061605 (2019); – <i>Optics Express</i> 29, 3553 (2021); – <i>Applied Physics Letters</i> 120, 110501 (2022); – <i>Optical Materials Express</i> 12, 3015 (2022); – <i>Optics Express</i> 31, 13366 (2023).
3	<p>Разработанный метод решения обратной задачи ТГц микроскопии субволнового разрешения, использующей эффект твердотельной иммерсии, позволяет оценивать пространственное распределение ТГц оптических (диэлектрических) характеристик объекта исследования с учетом широкой апертуры пучка, возбуждения эванесцентных волн на границе между иммерсионной линзой и объектом и стоячих волн в иммерсионной линзе.</p> <p>Основная публикация:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Optica</i> 8, 1471 (2021).
4	<p>Для различных биологических тканей, включая ткани молочной железы и языка человека, интактного мозга крысы и модели глиомы 101.8, наблюдаются мезомасштабные и субволновые флуктуации (гетерогенность) ТГц оптических свойств.</p> <p>Основные публикации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Applied Physics Letters</i> 113, 111102 (2018); – <i>Optics & Spectroscopy</i> 126, 560 (2019); – <i>Biomedical Optics Express</i> 12, 5272 (2021); – <i>Optica</i> 8, 1471 (2021).
5	<p>Полученные физико-математические модели комплексной диэлектрической проницаемости релаксационного и осцилляторного типа позволяют описывать взаимодействие излучения со свежееисеченными интактными тканями мозга человека и глиомами различной степени злокачественности <i>ex vivo</i> в диапазоне 0,2–1,5 ТГц.</p> <p>Основная публикация:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Biomedical Optics Express</i> 12, 69 (2021).

6	Получены оптические характеристики в диапазоне 0,3–2,5 ТГц водных растворов агентов, применяемых в иммерсионном оптическом просветлении тканей, включая глицерин, полиэтиленгликоль молекулярной массы 200, 300, 400 и 600, пропиленгликоль и диметилсульфоксид (для них рассмотрены объемные доли в растворах от 0 до 100%), сахарозу, фруктозу и глюкозу (для них массовые доли в растворах – 0–50%), декстран молекулярной массы 40 и 70 (для них объемные доли в растворах – 0–50%).
	Основные публикации: – <i>Journal of Biophotonics</i> 13 , e202000297 (2020); – <i>Optics & Spectroscopy</i> 128 , 1026 (2020).
7	Выявлены флуктуации эффективных оптических характеристик здоровой кожи в различных областях тела человека <i>in vivo</i> в диапазоне 0,3–1,4 ТГц.
	Основная публикация: – <i>IEEE Transactions on Terahertz Science & Technology</i> 5 , 817 (2015).
8	Обнаружены статистические различия эффективных диэлектрических характеристик обыкновенных и диспластических невусов кожи человека <i>in vivo</i> в диапазоне 0,3–1,0 ТГц.
	Основные публикации: – <i>Applied Physics Letters</i> 106 , 053702 (2015); – <i>Optics & Spectroscopy</i> 119 , 404 (2015); – <i>Journal of Optics</i> 22 , 013001 (2020).
9	Зарегистрированы эффективные диэлектрические характеристики в диапазоне 0,4–2,0 ТГц и микроскопические изображения на частоте 0,6 ТГц децеллюляризованного бычьего перикарда.
	Основные публикации: – <i>Biomedical Optics Express</i> 12 , 5368 (2021); – <i>Soft Mater</i> 19 , 2430 (2023).
10	Обнаружены статистические различия между эффективными оптическими характеристиками свежесеченных интактных тканей головного мозга человека и глиом различной степени злокачественности <i>ex vivo</i> в диапазоне 0,2–1,5 ТГц, а также интактных тканей мозга крысы и модели глиомы 101.8 <i>ex vivo</i> .
	Основные публикации: – <i>Journal of Biomedical Optics</i> 24 , 027001 (2019); – <i>Journal of Biomedical Photonics & Engineering</i> 6 , 3375 (2020); – <i>Biomedical Optics Express</i> 12 , 5272 (2021); – <i>Opto-Electronics Advances</i> 6 , 220071 (2023).

Результаты диссертации представлялись на различных научных мероприятиях (семинарах, конференциях и симпозиумах) в форме устных, приглашенных и пленарных докладов. Работы по диссертации поддержаны грантами РФФИ и РФФИ.

Степень достоверности и обоснованности полученных результатов. Достоверность результатов диссертации, научных положений и выводов подтверждается воспроизводимостью экспериментальных и расчетных данных, а также их соответствием результатам исследований сторонних независимых научных групп. Результаты опубликованы в высокорейтинговых рецензируемых научных журналах.

Теоретическая и практическая значимость. Совокупность результатов диссертации К.И. Зайцева можно охарактеризовать как решение крупной научной проблемы, а именно: разработки новых методов ТГц спектроскопии и микроскопии биологических тканей и получения с их помощью новых знаний о взаимодействии ТГц

излучения с такими объектами. Отличительной особенностью работы является то, что в ней одновременно решались как проблемы разработки уникальных исследовательских ТГц установок, так и их апробации на объектах различной природы, включая ткани.

Разработанные модели, методы и экспериментальные установки ТГц диапазона открывают новые возможности исследований объектов различной природы, включая ткани. Они могут применяться в фундаментальных исследованиях эффектов взаимодействия ТГц волн с биологическими объектами, а также способны найти свои применения в физике твердого тела, науках о материалах, химии и фармацевтике. С помощью оригинальных ТГц методов и систем в диссертации получены важные научные результаты, расширяющие представления о взаимодействии ТГц излучения с биологическими объектами, включая агенты для иммерсионного оптического просветления тканей, здоровую кожу, обыкновенные и диспластические невусы, децеллюляризованный бычий перикард, интактные ткани и глиомы головного мозга различной степени злокачественности.

Практическая значимость диссертации очевидна из результатов апробации новых методов ТГц спектроскопии и микроскопии, включавшей исследования интактных тканей и новообразований различной нозологии и локализации совместно со специалистами из ведущих медицинских учреждений РФ. Эта апробация выявила статистически значимые различия ТГц отклика интактных тканей и новообразований, показала перспективность новых методов в онкодиагностике и позволила сформировать фундаментальные основы применения ТГц техники в медицинской практике.

К диссертации имеются следующие **вопросы и замечания**:

1. Основываясь на данных ТГц микроскопии соискателем получены оценки параметров рассеяния ТГц волн на неоднородностях тканей и сформулирована проблема исследования переноса ТГц излучения в гетерогенных тканях. Однако в диссертации не обсуждается, может ли быть построена теория переноса излучения для подобных систем, в которых и рассеиватели, и матрица являются сильно поглощающими.

2. Для описания взаимодействия ТГц излучения с оптически однородными тканями в диссертации используются методы теории эффективной среды и релаксационные модели комплексной диэлектрической проницаемости изотропных сред. Из оптики биологических тканей видимого и инфракрасного диапазонов известен эффект структурной анизотропии (двулучепреломления) тканей, характерный для объектов, включающих ориентированные субволновые анизотропные рассеиватели. Может ли такой эффект наблюдаться для тканей в ТГц диапазоне?

3. Описанные в диссертации оригинальные ТГц импульсные спектрометры используют преимущественно фотопроводящие антенны в качестве источников и детекторов. Соискатель не обосновывает выбор данного типа источников и детекторов среди распространенных аналогов.

4. Спектроскопические исследования биологических объектов в диссертации выполнены преимущественно в суб-ТГц диапазоне с высокочастотной границей измерений чуть выше 1,0 ТГц. Не обсуждается с чем связано подобное ограничение спектрального диапазона, возможны ли измерения на более высоких частотах, и могут ли они дать полезную информацию об объекте исследования?

5. Диссертация не лишена опечаток, грамматических и пунктуационных ошибок.

Отмеченные замечания не являются принципиальными и не снижают общей высокой оценки диссертации К.И. Зайцева.

Заключение

Диссертационная работа Зайцева Кирилла Игоревича «Импульсная спектроскопия и микроскопия биологических тканей в терагерцовом диапазоне» является законченной научно-квалификационной работой и отвечает всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.3.6. Оптика.

Отзыв ведущей организации был обсужден и одобрен на расширенном научном заседании Центра фотоники и двумерных материалов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт» (национальный исследовательский университет)» (МФТИ, Физтех), протокол № 01-09 от 01 сентября 2023 года.

Доктор физ.-мат. наук  Горшунов Борис Петрович

Почтовый адрес: 141700, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9

Телефон: +7(498)744-65-38

Адрес электронной почты: gorshunov.bp@mipt.ru

Организация – место работы: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Центр фотоники и двумерных материалов, Лаборатория терагерцовой спектроскопии

Должность: главный научный сотрудник-заведующий лабораторией

Web-сайт организации: <https://mipt.ru>

Кандидат физ.-мат. наук  Арсенин Алексей Владимирович

Почтовый адрес: 141700, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9

Телефон: +7(905)712-86-98

Адрес электронной почты: arsenin.av@mipt.ru

Организация – место работы: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Центр фотоники и двумерных материалов, Лаборатория двумерных материалов и наноустройств

Должность: заместитель директора, ведущий научный сотрудник-заведующий лабораторией

Web-сайт организации: <https://mipt.ru>