

На правах рукописи



Гамаюнова Екатерина Алексеевна

**Исследование температурных зависимостей оптических характеристик  
биологических объектов**

1.3.6. – Оптика

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Саратов 2024

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Научный руководитель: **Кочубей Вячеслав Иванович**,  
д.ф.-м.н., профессор, профессор кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского»;

Официальные оппоненты: **Захаров Валерий Павлович**,  
доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой лазерных и биотехнических систем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»  
**Дрёмин Виктор Владимирович**,  
кандидат технических наук, старший научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский Государственный Университет имени И.С. Тургенева»

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (ТГУ)

Защита диссертации состоится «24» октября 2024 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.392.06 при ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корпус 11, ауд. 515

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» и на сайте

<https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-06/kandidatskaya-dissertaciya-gamayunovoy-ekateriny>

Отзыв на автореферат в двух экземплярах, заверенных гербовой печатью организации, просим направлять по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
24.2.392.06  
д.ф.-м.н.



Генина Элина Алексеевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Хорошо известно, что оптические свойства биологических тканей могут меняться при изменении физического состояния этих тканей. В настоящее время в основном исследуются изменения оптических свойств биологических тканей, происходящие при повышенных температурах (до температуры коагуляции ткани) [1, 2, 3] или при комнатной температуре образцов. К сожалению, несмотря на тот факт, что оптические свойства биотканей изменяются даже при повышении от комнатной температуры до физиологического диапазона температур, то есть диапазона нормального функционирования организма [4, 5, 6], данные о них разрозненны и явно недостаточны. Основная часть исследований при физиологической температуре выполнена несколько десятилетий назад. Возникает вероятность того, что использование литературных данных может привести к неправильной оценке условий распространения света через биологическую ткань в живом объекте. В свою очередь, это может привести к недостоверным результатам при медицинской оптической диагностике или терапии. Соответственно, ввиду недостаточности информации, возникает актуальность уточнения и получения новых данных об оптических характеристиках биотканей при физиологической температуре.

В частности, одной из перспективных методик измерения внутриклеточной температуры в процессе диагностики или терапии является нанотермометрия (использование наночастиц и наноустройств в качестве термометров). В данной методике изменение температуры ткани определяется с помощью спектров люминесценции наночастиц, внедренных в биологическую ткань. Для этого, как правило, используют регистрацию люминесценции в широкоугольном режиме, что повышает интенсивность регистрируемого сигнала. В то же время это дает ряд сложностей при определении температуры ткани по спектрам люминесценции наночастиц. При прохождении люминесценции через ткань спектры искажаются, так как поглощение и рассеяние люминесценции на разных длинах волн различно. Степень искажения зависит, в том числе, и от угла сбора люминесценции. Для учета искажений также необходимо знание значений коэффициентов поглощения и рассеяния света биотканью и их зависимостей от температуры.

Целью диссертационной работы является выявление закономерностей изменения оптических свойств различных биологических тканей в зависимости от температуры.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- Исследование различий в оптических характеристиках биологических объектов (кожи, подкожной жировой и мышечной тканей), находящихся при комнатной (25 °С) и физиологической (38– 39 °С) температурах;
- Исследование изменения оптических характеристик (коэффициентов поглощения, рассеяния и фактора анизотропии) биологических объектов при сильном нагреве;
- Исследования изменений коэффициента ослабления коллимированного излучения биологических объектов при нагревании до температуры 60 °С;
- Проведение синтеза наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ , определение температурных зависимостей их спектров люминесценции;
- Исследование изменений спектров люминесценции наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ , находящихся под слоем кожи, при сборе излучения в малой апертуре;
- Исследование изменений спектров коллимированного пропускания и люминесценции апконверсионных наночастиц при помощи широкоапертурных фотообъективов.

### **Научная новизна работы**

Впервые показаны обратимые изменения коэффициентов поглощения и рассеяния, а также фактора анизотропии рассеяния кожи, жировой и мышечной ткани при изменении их температуры в диапазоне от комнатной до физиологической.

Показано, что при нагреве мышечной ткани от комнатной до физиологической температуры изменяется спектральная зависимость фактора анизотропии при практической неизменности коэффициентов поглощения и рассеяния.

Выявлены закономерности изменения оптической плотности исследованных образцов при нагреве вплоть до 60°C.

Разработана методика определения температуры наночастиц  $\text{CuInS}_2$  по спектрам их люминесценции.

Показано, что при прохождении лазерного излучения с длиной волны 800 нм, используемого для лазерной термотерапии, через такую многослойную среду, как кожа/жировая/мышечная ткань крысы, изменение температуры от комнатной до физиологической приводит к уменьшению поглощения в коже и увеличению в мышечной ткани.

Впервые показано, что при регистрации сквозь кожу крысы люминесценции наночастиц  $\text{CuInS}_2$ , внедренных в подкожный слой, зависимость от температуры отношения интенсивностей люминесценции на двух фиксированных длинах волн, соответствующих полувысоте линии люминесценции свободных наночастиц, позволяет выявить вызванные температурой фазовые изменения липидов кожи.

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

Результаты работы дают основу для дальнейших научных исследований оптических свойств биологических тканей при изменении температуры. Данные исследования могут способствовать созданию малоинвазивного метода диагностики и терапии заболеваний внутренних органов и осуществления мониторинга воспалительных процессов в организме, и развить и оптимизировать методы лазерной терапии и оптической диагностики.

### **Основные результаты и положения, выносимые на защиту:**

1. Повышение температуры мышечной ткани крысы от комнатной до физиологической приводит к увеличению фактора анизотропии рассеяния ткани от 5 % до 50% в зависимости от длины волны в диапазоне 350-1100 нм, при этом коэффициенты поглощения и рассеяния практически не изменяются.

2. Коэффициенты поглощения и рассеяния кожи крысы, полученные при температуре 25 °С, при прохождении света со стороны эпидермиса и со стороны дермы, различаются следующим образом: коэффициент поглощения выше в среднем в 1,3–1,7 раз, а транспортный коэффициент рассеяния ниже в 1,2–1,9 раз в зависимости от длины волны в диапазоне 350–1100 нм. При повышении температуры кожи до физиологической, одновременно с ростом поглощения и уменьшением рассеяния, наблюдается сближение значений коэффициентов до 1,1-1,3 раз.

3. Показано, что отношение интенсивностей люминесценции наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$  на полувысоте спектральной линии их люминесценции линейно зависит от температуры наночастиц.

4. При помещении наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$  под дерму кожи крысы изменение линейности отношения интенсивностей их люминесценции на полувысоте спектральной линии, вызванное ослаблением люминесценции в коже, позволяет выявить температуры фазовых переходов в липидах эпидермиса и дермы.

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

Достоверность научных результатов подтверждается:

1. Использованием современного научно-исследовательского оборудования и программного обеспечения и применением апробированных методик измерений и расчёта.
2. Адекватностью используемых теоретических моделей.
3. Объемом использованного в работе материала и применением традиционных статистических методов обработки результатов.
4. Воспроизводимостью экспериментальных и расчетных данных, а также их согласованностью с результатами независимых исследований других авторов.
5. Опубликованием результатов в рецензируемых российских и международных научных изданиях.

Работы, изложенные в диссертации, осуществлялись в соответствии с программами научно-исследовательских работ, поддерживаемых грантами: Грант Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущей научной школы Российской Федерации НШ-7898.2016.2; Грант Российского научного фонда № 19-12-00118 «Методы контроля процессов лазерной термотерапии по спектрам люминесценции наночастиц».

### **Личный вклад автора диссертации**

В рамках выполнения диссертационного исследования автор принимал непосредственное участие на всех этапах проведенных исследований: от реализации поставленных научным руководителем задач до обсуждения результатов и написания статей. Автор лично принимал участие в проведении экспериментальных исследований, аналитической и статистической обработке полученных данных, анализе и обсуждении полученных результатов, изложении полученных фактических данных в материалах диссертационной работы, статьях, подготовке докладов на научно-практических конференциях.

### **Публикации результатов исследований**

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 6 работ в изданиях, рекомендованных ВАК, и зарубежных изданиях, индексируемых «Scopus» и «Web of Science».

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка цитируемой литературы, состоящего из 66 наименований. Диссертация изложена на 103 страницах, содержит 59 рисунков.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во **введении** обосновывается актуальность исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы, формируется цель, ставятся задачи, излагается научная новизна и практическая значимость представляемой работы.

**Глава 1** представляет собой обзор научной литературы по изучаемой проблеме. Рассматриваются современное состояние и особенности исследований в области температурных зависимостей оптических характеристик биотканей. Перечислены основные актуальные проблемы в этой области и способы их решения.

**Глава 2** посвящена описанию методик экспериментальных исследований температурных зависимостей оптических свойств биологических тканей. **В разделе 2.1** описаны материалы, использованные в работе. Представленное исследование было выполнено на белых половозрелых крысах линии Wistar. Исследовались образцы биологических тканей,

взяты от 20 крыс, размером 10x10x1 мм. Исследовались образцы тканей здоровых крыс: кожа с удаленной шерстью и жиром, мышечная ткань, подкожная жировая ткань.

**В разделе 2.2** описана важность выбора методики регистрации и влияние ее на получаемые температурные зависимости оптических характеристик биологических объектов. Одним из основных методов исследования спектральных характеристик биологических сред является спектроскопия с использованием интегрирующих сфер. Однако данный метод в случае исследования биологических объектов имеет ряд особенностей, затрудняющих получение корректных результатов.

1) Для устранения потерь влаги во время регистрации спектра, необходимо помещать объект между двумя стеклами. При изменении температуры объекта, необходимо учитывать, что показатели преломления объекта и стекла зависят от температуры.

2) Неоднородность поверхности объекта, из-за непостоянства оптического контакта между стеклом и объектом, приводит к тому, что коэффициент отражения границы стекло-биообъект непрерывно изменяется в течение времени.

Одним из методов исследования является регистрация спектров люминесценции образцов. Однако регистрируемые спектры могут быть искажены вследствие рассеяния и перепоглощения люминесценции тканями, через которые проходит излучение [7]. Люминесценция *in vivo*, как правило, регистрируется с использованием оптических волокон и коллиматоров [75], то есть, в режиме достаточно близком к режиму регистрации коллимированного излучения. В результате, для учета искажений спектров можно использовать спектры коллимированного пропускания.

В связи с этим наши исследования характеристик биологических тканей были направлены, в основном, на исследование коллимированного пропускания света через образец и рассчитываемого по нему коэффициента ослабления коллимированного излучения при заданной температуре.

Такие исследования позволяют получить корректную статистику для температурных изменений, как оптических характеристик биологической ткани, так и измеряемого сигнала интенсивности люминесценции.

**В разделе 2.3.1** описана методика регистрации спектров полного пропускания и диффузного отражения с интегрирующей сферой. Регистрация спектров проводилась в спектральном диапазоне 380-2000 нм на спектрофотометрах Perkin Elmer Lambda 950 (США) и Shimadzu UV-3600 с интегрирующей сферой.

Эксперименты проводились по двум алгоритмам:

1) Биологические ткани нагревались при заданной температуре, охлаждались до комнатной, после чего регистрировались спектры полного пропускания, диффузного отражения и коллимированного пропускания. Нагрев проводился до 70 °С.

2) Все измерения проводились при заданной температуре, которая поддерживалась постоянной при помощи специально разработанного столика с подогревателем. Этот метод использовался при более низких температурах. Регистрация спектров проводилась при 25 °С и 38–39 °С.

**В разделе 2.3.2** описана методика регистрации спектров коллимированного пропускания. Для регистрации спектров коллимированного пропускания была использована установка, в которой часть оптического тракта, содержащая коллиматоры и исследуемый образец, была помещена в нагревательный шкаф с температурой, регулируемой с точностью до 0,1 °С. блок-схема которой приведена на Рисунке 1а.

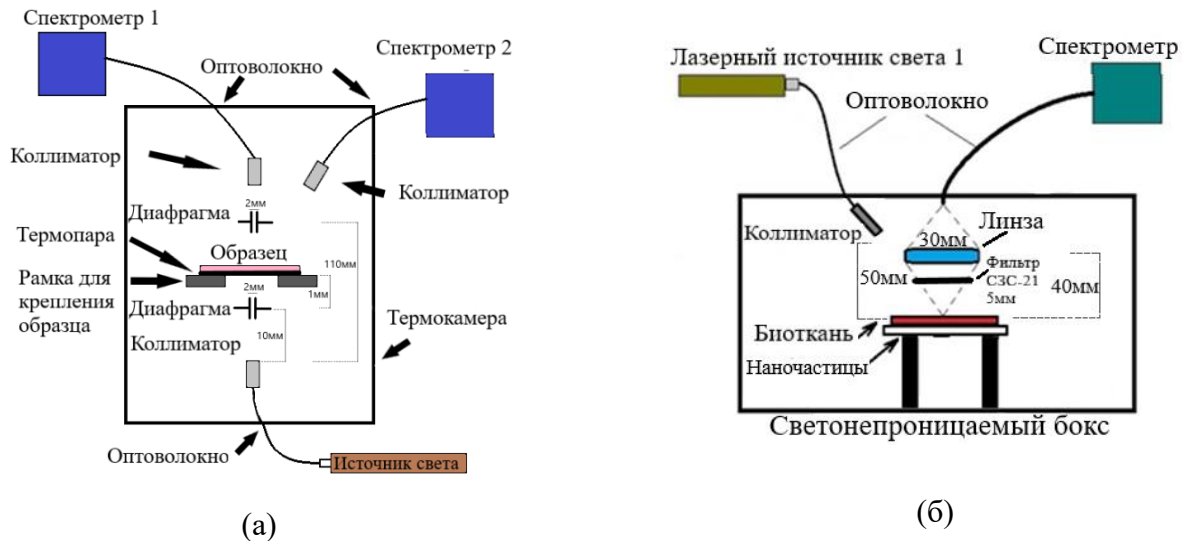


Рисунок 1: (а) - блок-схема установки для регистрации коллимированного пропускания; (б) - блок-схема установки для регистрации при широкоугольном сборе излучения люминесценции

Регистрация коллимированного пропускания осуществлялась при помощи спектрометра QE6500, Ocean Optics (США) в диапазоне 350–1000 нм. Данная установка позволяет также регистрацию спектров люминесценции, сбор которой производится при помощи коллиматора, расположенного под углом  $15^\circ$  к нормали.

Образцы фиксировались на рамке без стекла, помещались в нагревательный шкаф и прогревались до заданной температуры постепенно. В шкафу поддерживалась насыщенная влажность для предотвращения высыхания образцов. Спектры регистрировались в диапазоне температур 25,5–45 °С, так как при 50 °С начинается коагуляция белков ткани. Таким образом, в этой методике регистрации спектров учитываются и предотвращаются факторы мешающие анализу результатов, описанные выше.

На Рисунке 1б изображена установка для регистрации люминесценции, собираемой при помощи широкоапертурной линзы.

**Глава 3** посвящена измерениям с помощью интегрирующей сферы. **В разделе 3.1** показаны различия оптических свойств мышечной, жировой ткани и кожи крыс при 25 °С и 38–39 °С. Нами рассчитаны спектральные зависимости коэффициентов поглощения, транспортного коэффициента рассеяния и фактора анизотропии исследованных образцов.

Для мышечной ткани изменения коэффициентов поглощения при повышении температуры находятся в пределах погрешности, поэтому можно сделать вывод об отсутствии влияния температуры на поглощение (Рисунок 2а). Транспортный коэффициент рассеяния (Рисунок 2б) при переходе от комнатной к физиологической температуре достаточно сильно уменьшается. Это сопровождается одновременным увеличением фактора анизотропии (Рисунок 2в). Такие изменения могут быть вызваны как изменением показателей преломления мышечных волокон и межклеточной жидкости, так и изменением вклада различных процессов рассеяния в общую картину.

Как видно на Рисунке 2г, коэффициент рассеяния изменяется значительно слабее. Ввиду малой вероятности изменения формы размеров рассеивателей, изменение коэффициента рассеяния может быть вызвано только изменением относительного показателя преломления.

Следовательно, основной вклад в изменение транспортного коэффициента рассеяния, дает изменение фактора анизотропии, а именно, его увеличение при увеличении температуры.

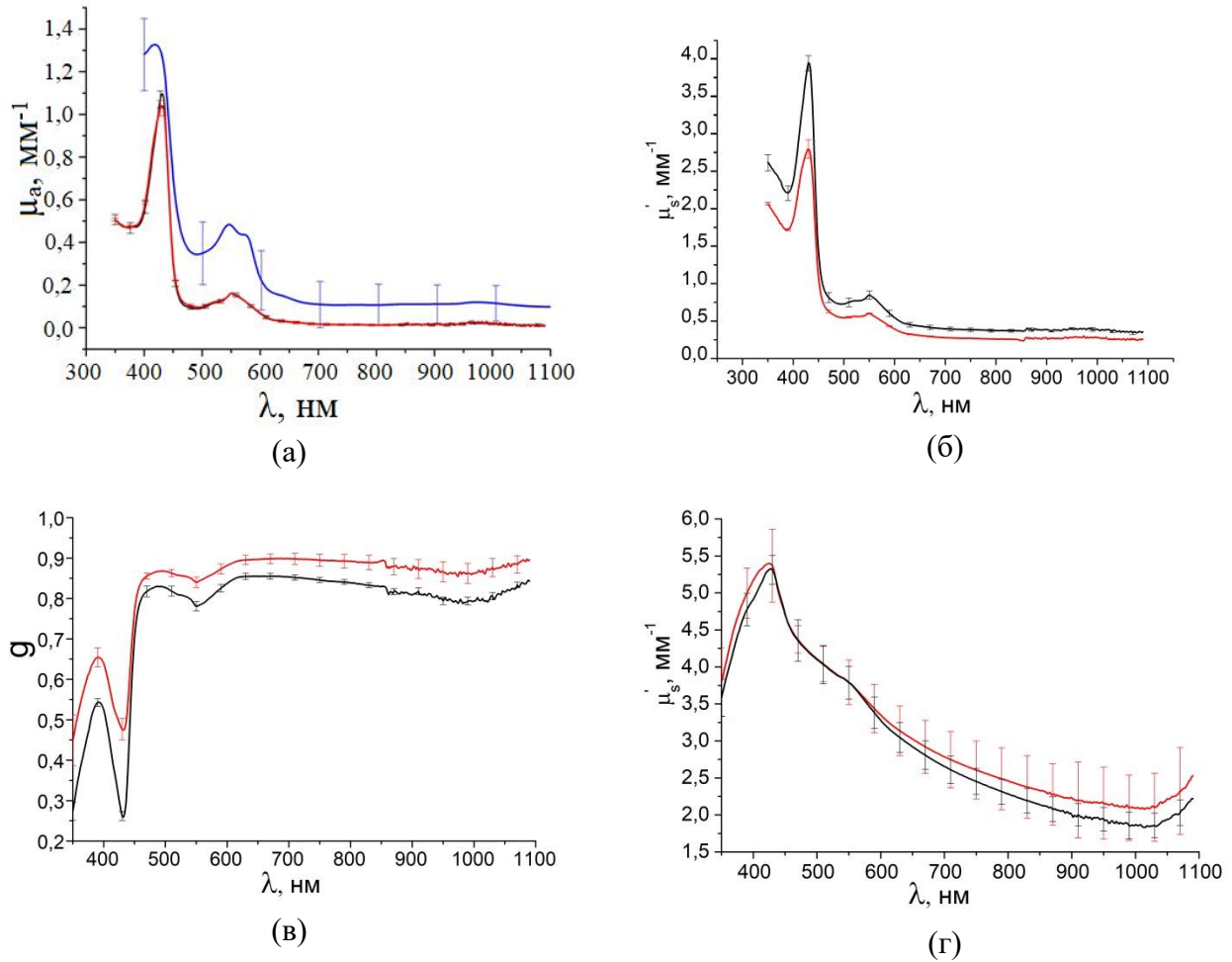


Рисунок 2 – Спектральные зависимости: (а)- коэффициентов поглощения, (б)- транспортных коэффициентов рассеяния (в)- фактора анизотропии, (г)- коэффициентов рассеяния мышечной ткани крысы при 25°C (черная линия), 39°C (красная линия), литературные данные [8] (синяя линия)

При исследовании кожи регистрация спектров проводилась как при прохождении света со стороны эпидермиса, так и со стороны дермы. Как видно, из Рисунков 3а и 3б, при прохождении света через эпидермис коэффициент поглощения значительно растёт при увеличении температуры с комнатной до физиологической. Этот факт надо учитывать при проведении экспериментов и обязательно указывать в публикациях геометрию прохождения света через образец и температуру образца, иначе эксперименты не имеют практической значимости.

Транспортный коэффициент рассеяния при переходе от комнатной к физиологической температуре незначительно уменьшается. Однако, при изменении температуры кожи напротив, фактор анизотропии изменяется слабо в отличие от коэффициента рассеяния (Рисунок 4).



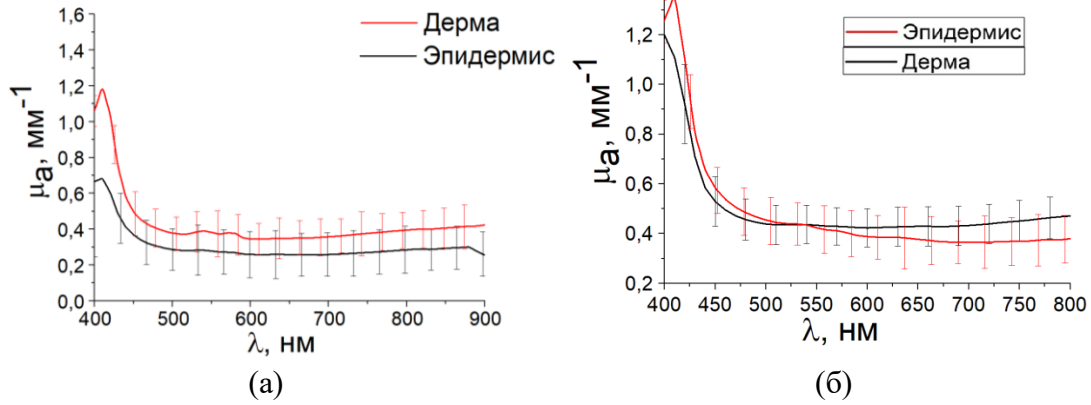


Рисунок 3 – Спектральные зависимости коэффициентов поглощения кожи крысы при 25°C (а) и при 38°C (б), полученные при прохождении света со стороны эпидермиса (черная линия) и дермы (красная линия). Формы спектров коррелирует с литературными данными, представленными в работе [9].

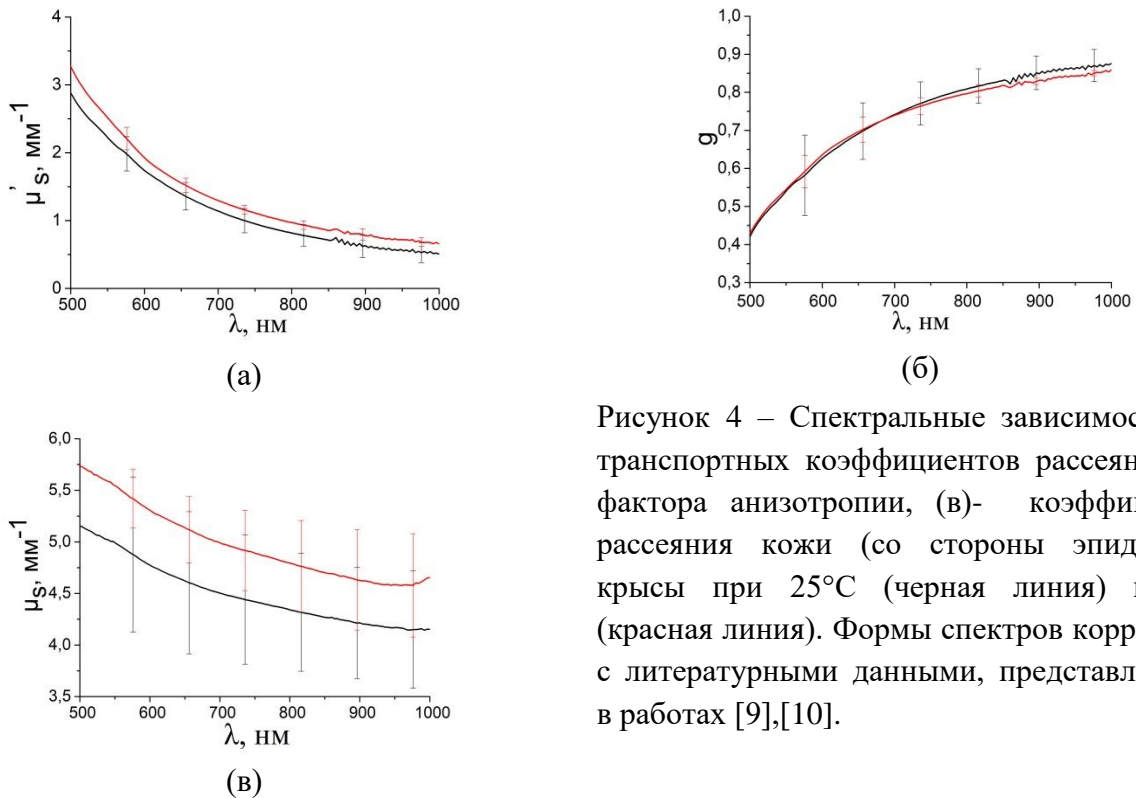


Рисунок 4 – Спектральные зависимости: (а)-транспортных коэффициентов рассеяния, (б)-фактора анизотропии, (в)- коэффициентов рассеяния кожи (со стороны эпидермиса) крысы при 25°C (черная линия) и 39°C (красная линия). Формы спектров коррелирует с литературными данными, представленными в работах [9],[10].

На Рисунках 5 а-г приведены спектры коэффициентов поглощения жировой ткани крысы при 24 и 38<sup>0</sup>С. Поглощение при достижении физиологической температуры уменьшается. Транспортный коэффициент рассеяния при переходе от комнатной к физиологической температуре, так же как и в коже уменьшается незначительно. Это сопровождается одновременным увеличением фактора анизотропии и коэффициента рассеяния.

Для выяснения влияния температуры на эффективность терапии или диагностики нами было рассчитано поглощение лазерного излучения по глубине биоткани. Расчет проводился методом Монте-Карло при помощи разработанной на кафедре программы. Для расчета выбраны две длины волны, часто используемые для терапии: 800 нм, используемая при лазерной термотерапии для возбуждения золотых плазмонных наночастиц, и 980 нм, используемая для возбуждения люминесценции апконверсионных наночастиц NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er.

При расчете использовались полученные нами значения коэффициента поглощения, транспортного коэффициента рассеяния и фактора анизотропии для температур 25 и 38 °С. Рассматривался плоскопараллельный образец, состоящий из слоев кожи крысы (1 мм), абдоминального жира (1 мм) и мышечной ткани (10 мм).

Результаты расчета приведены на Рисунке 6. По вертикали отображено количество поглощенных фотонов в относительных единицах.

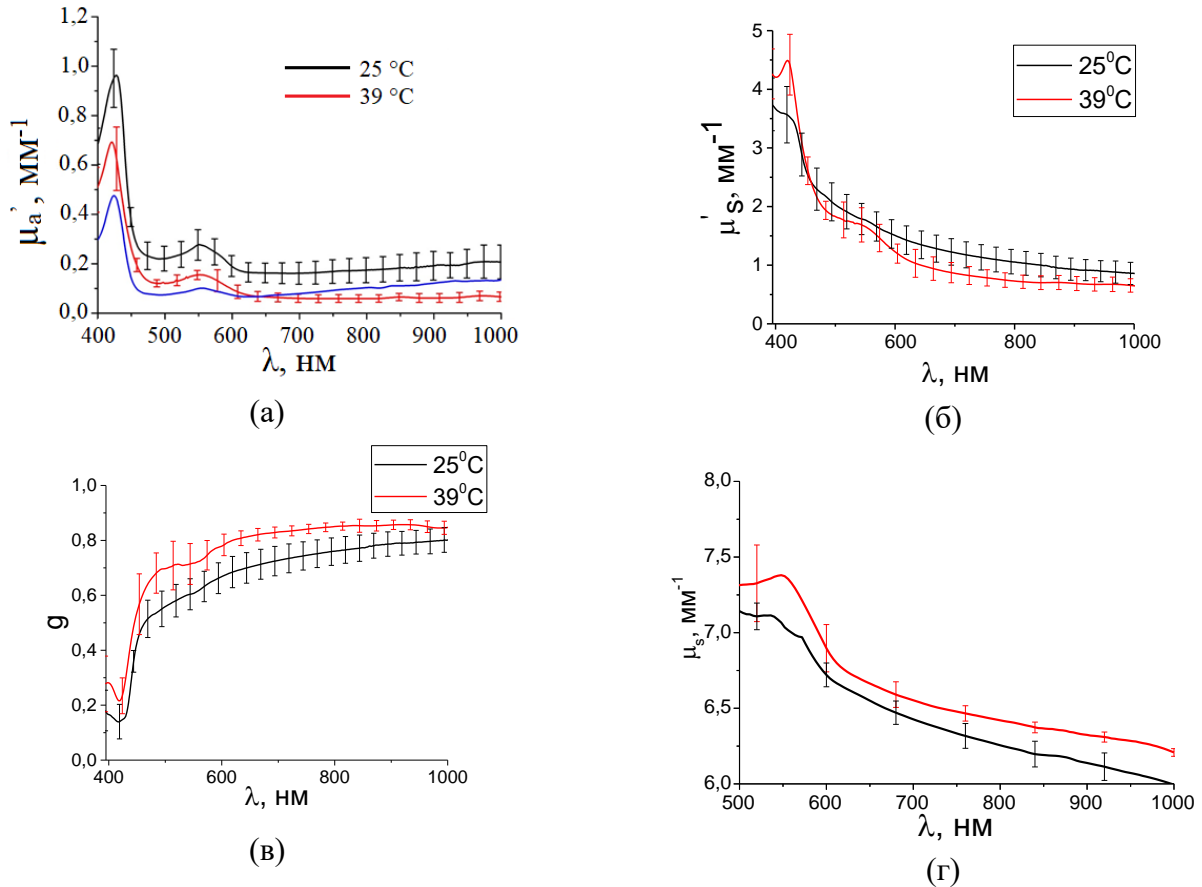


Рисунок 5 – Спектральные зависимости (а) – коэффициентов поглощения, (б) – транспортных коэффициентов рассеяния (в) – фактора анизотропии, (г) – коэффициентов рассеяния жировой ткани крысы при 24°C (черная линия), 38°C (красная линия), литературные данные [11] (синяя линия)

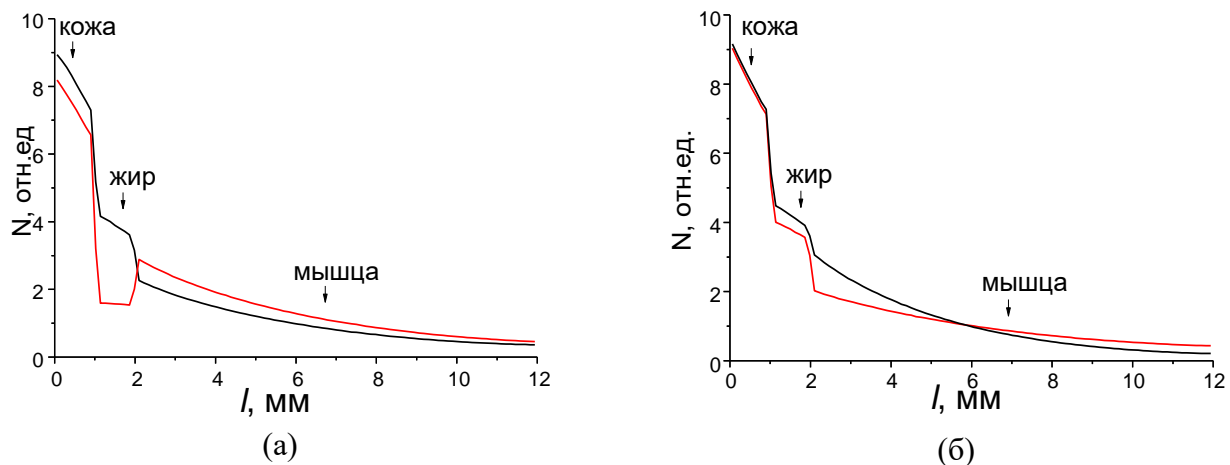


Рисунок 6 – Поглощение лазерного излучения с длиной волны 800 нм (а) и 980 нм(б) по глубине биоткани. Черная линия соответствует температуре образца 24 °С, красная 38 °С

**В разделе 3.2** показаны изменения оптических характеристик кожи при сильном нагреве. Нами регистрировались изменения в результате нагрева при фиксированной температуре в течение 60 мин в диапазоне 25–70°C. Спектральные зависимости коэффициентов поглощения и транспортного рассеяния образцов представлены на Рисунках 7 и 8. На Рисунке 8а представлена аппроксимация зависимости транспортного коэффициента рассеяния от длины волны степенным законом  $\mu'_s = A\lambda^{-n}$  в диапазоне 500–800 нм. Значения параметров аппроксимации приведены в Таблице 1.

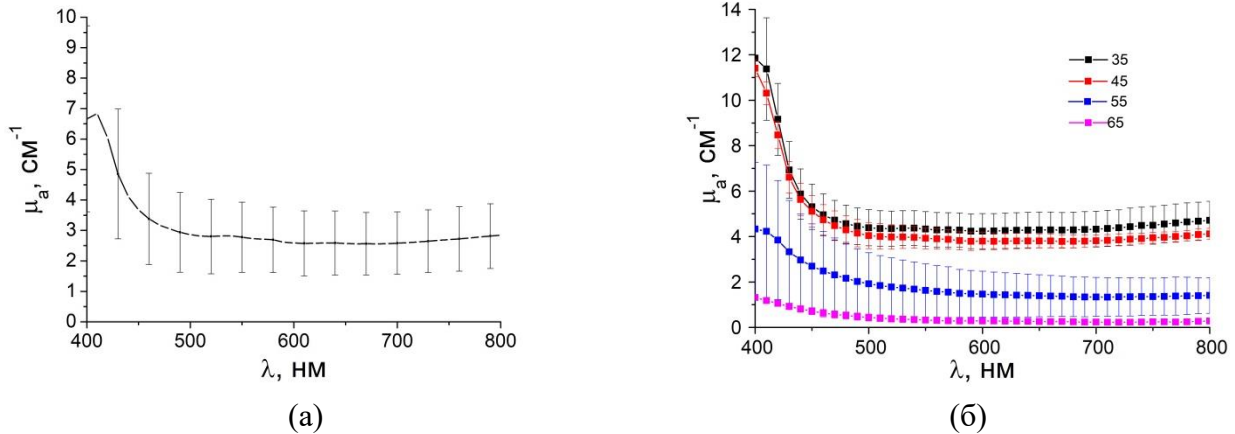


Рисунок 7 – Спектральная зависимость коэффициента поглощения образцов кожи до (а) и после (б) 60-минутного нагрева при фиксированной температуре при прохождении света со стороны эпидермиса

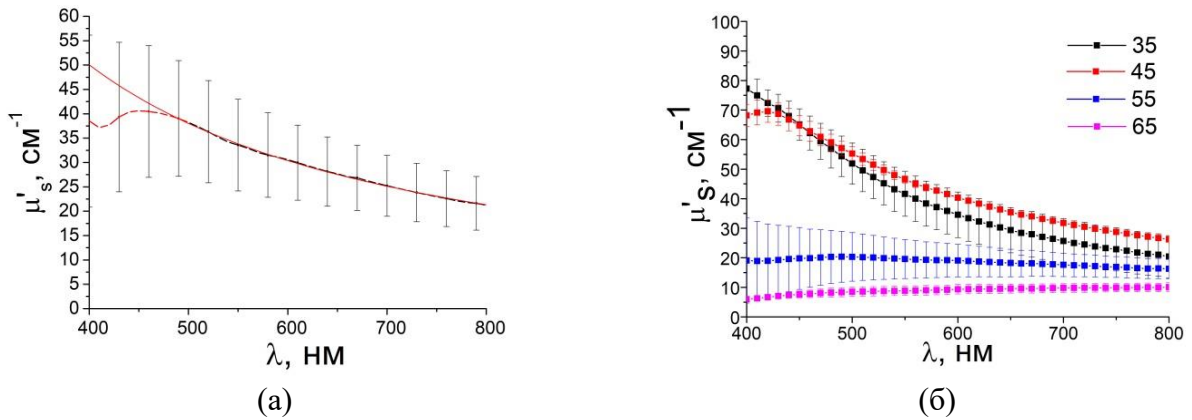


Рисунок 8 – Спектральная зависимость транспортного коэффициента рассеяния образцов кожи до (а) и после (б) 60-минутного нагрева при фиксированной температуре при прохождении света со стороны эпидермиса

Таблица 1 – Значения параметров аппроксимации

Temperature, °C	A	n
35	$2.33 \times 10^6$	2
45	$1.19 \times 10^5$	1.61
55	39.4	0.47
65	0.097	-0.35
70	0.083	-0.37

Уменьшение степени длины волны указывает на увеличение размеров рассеивателей при нагревании. Поскольку коллагеновые волокна являются рассеивателями в коже, можно сделать вывод, что увеличение обусловлено коагуляцией волокон. Очевидно, что нагрев даже при температуре 35 °С приводит к изменению состояния волокон. Это подтверждается разницей между коэффициентами, приведенными в Таблице 1, и коэффициентами, рассчитанными для непрогретой кожи ( $A=8000$ ,  $n=1,23$ ).

Так же нами получены спектры коэффициентов поглощения, транспортного рассеяния, а также коэффициентов рассеяния коллимированного излучения и фактора анизотропии кожи крысы при прохождении света со стороны эпидермиса, до и после 60-минутного прогрева при 60 °С (Рисунок 9).

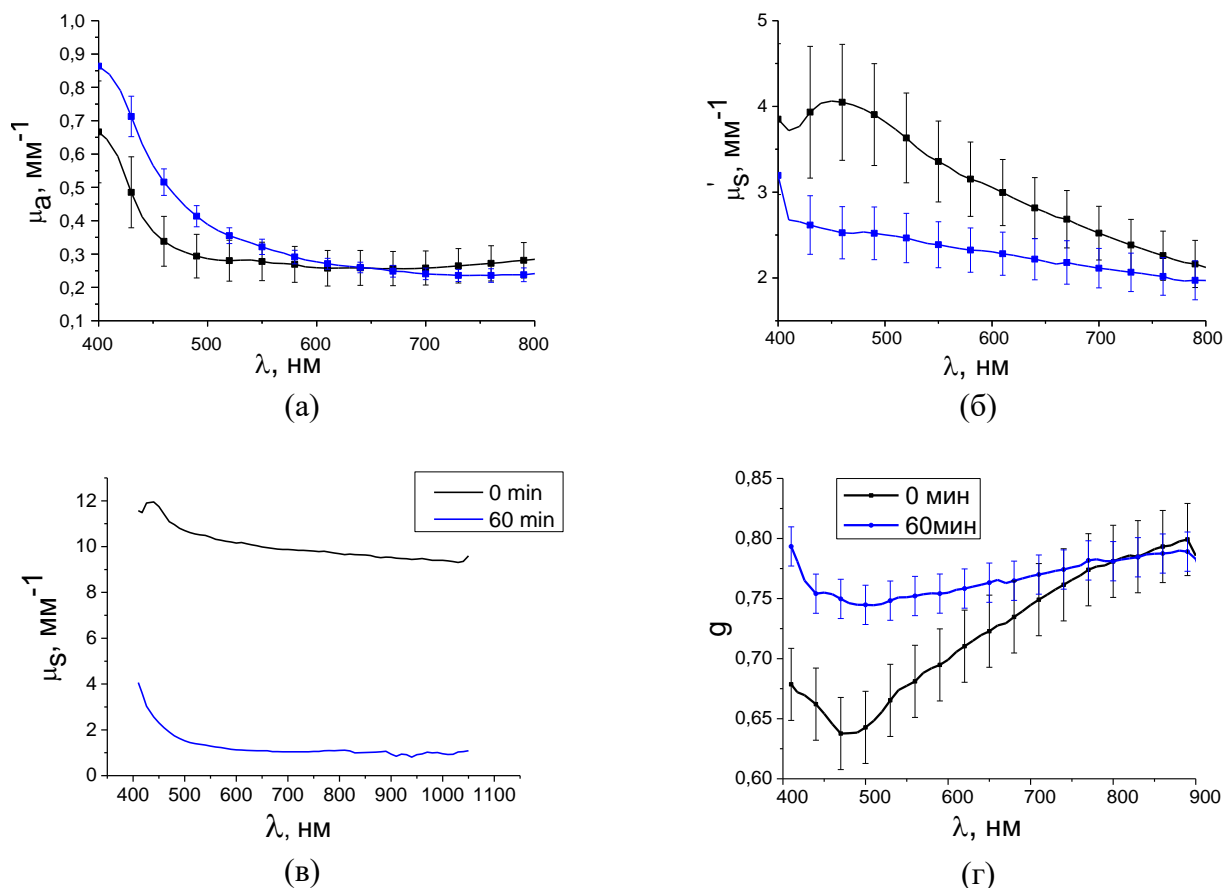


Рисунок 9 – Спектры: (а)- коэффициентов поглощения, (б)- транспортных коэффициентов рассеяния, (в)- коэффициентов рассеяния, (г)- фактора анизотропии кожи крысы до (черный) и после (синий) 60-минутного нагревания при 60°С при прохождении света со стороны эпидермиса

**Глава 4** посвящена исследованиям коллимированного пропускания света биологическими объектами. **В разделе 4.1** показана динамика изменений коэффициентов ослабления коллимированного излучения биологических объектов при ступенчатом повышении температуры. В **разделе 4.1.1** исследовались изменения спектров коллимированного пропускания при ступенчатом повышении температуры в диапазоне 25–70 °С без поддержания влажности. Примеры зависимостей показаны на Рисунке 10. Очевиден нелинейный характер изменений спектров, причем эти изменения различны для разных участков спектра. Наличие изобестической точки в районе 575 нм, вероятно, связано с

совпадением показателей преломления рассеивателей и межклеточной жидкости, что приводит к уменьшению светорассеяния.

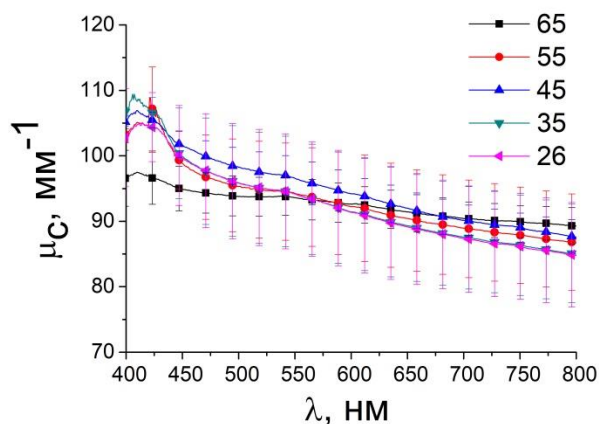


Рисунок 10 – Спектральные зависимости коэффициента ослабления коллимированного излучения кожей, при достижении заданной температуры образца. На рисунке показаны температуры в градусах Цельсия. Вертикальные линии показывают значения стандартного отклонения

Примеры изменений коэффициента ослабления на фиксированных длинах волн от температуры нагрева образца приведены на Рисунке 11. Коэффициент незначительно изменяется в диапазоне 25–50 °C. В диапазоне 50–65 °C наблюдается увеличение коэффициента поглощения, обусловленное, по нашему мнению, изменением показателя преломления коллагеновых волокон. В интервале 65–70 °C коэффициент поглощения, наоборот, резко снижается. Наиболее вероятно, что это связано с увеличением размеров рассеивателей при коагуляции коллагена.

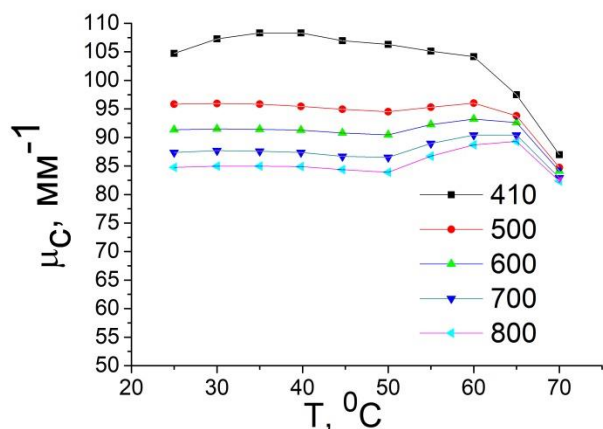


Рисунок 11 – Коэффициента ослабления коллимированного излучения кожей на фиксированных длинах волн в зависимости от температуры нагрева образца. На рисунке показаны длины волн в нанометрах

**В разделе 4.1.2** проведены исследования спектров коллимированного пропускания образцов кожи, мышечной и подкожной жировой ткани крысы в условиях ступенчатого нагрева в диапазоне 25–50 °C, а также стабилизации влажности окружения (при насыщенном давлении паров воды).

Показано, что для кожи, как многослойной среды коэффициенты ослабления излучения, проходящего извне (со стороны эпидермиса) (Рисунок 12 а) и изнутри (со стороны дермы) (Рисунок 12 б) различны. При прохождении света со стороны дермы ослабление света меньше, что может быть связано с тем, что рассеяние света в эпидермисе выше, чем в дерме.

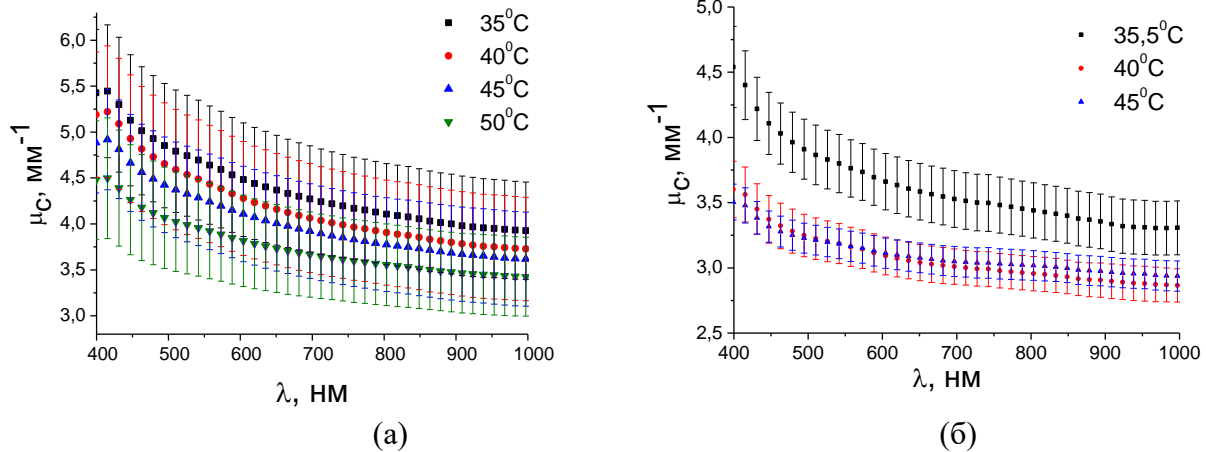


Рисунок 12 – Спектры коэффициента ослабления коллимированного излучения кожей крысы при прохождении света: (а)- со стороны эпидермиса, (б)- со стороны дермы

Следует отметить, что полученные результаты отличаются от полученных ранее, без поддержания влажности. Возможно, это связано с высыханием верхнего и нижнего слоев образца, вследствие чего увеличивается отражение и рассеяние света на них.

На Рисунке 13 а представлены спектры мышечной ткани крысы, полученные при разных температурах. Полученные изменения можно связать с фазовыми переходами в жировой ткани, неизбежно присутствующей в образцах. Эти изменения согласуются с поведением спектров жировой ткани при разных температурах (Рисунок 13 б).

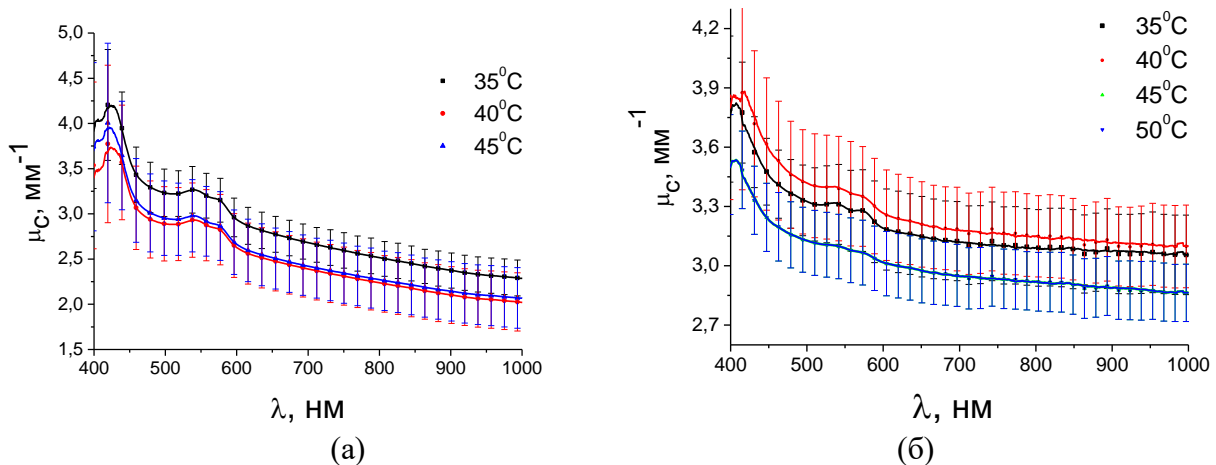


Рисунок 13 – Спектры коэффициента ослабления коллимированного излучения (а) - мышечной и (б) - жировой ткани крысы

**В разделе 4.2** показана динамика изменений коэффициентов ослабления коллимированного излучения биологических объектов, выдерживаемых при различных температурах.

Временные зависимости коэффициента поглощения коллимированного излучения мышечной ткани крысы, выдерживаемой при различных температурах представлены на Рисунке 14. В качестве примера были использованы длины волн, применяемые в лазерной термотерапии: 800 нм — длина волны облучения нагретых золотых плазмонных наночастиц, 980 нм — длина волны возбуждения нанотермометров на основе ап-конверсионных наночастиц

NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>, 545 нм — длина волны, соответствующая области регистрации люминесценции ап-конверсионных наночастиц, по которой рассчитывается температура образца.

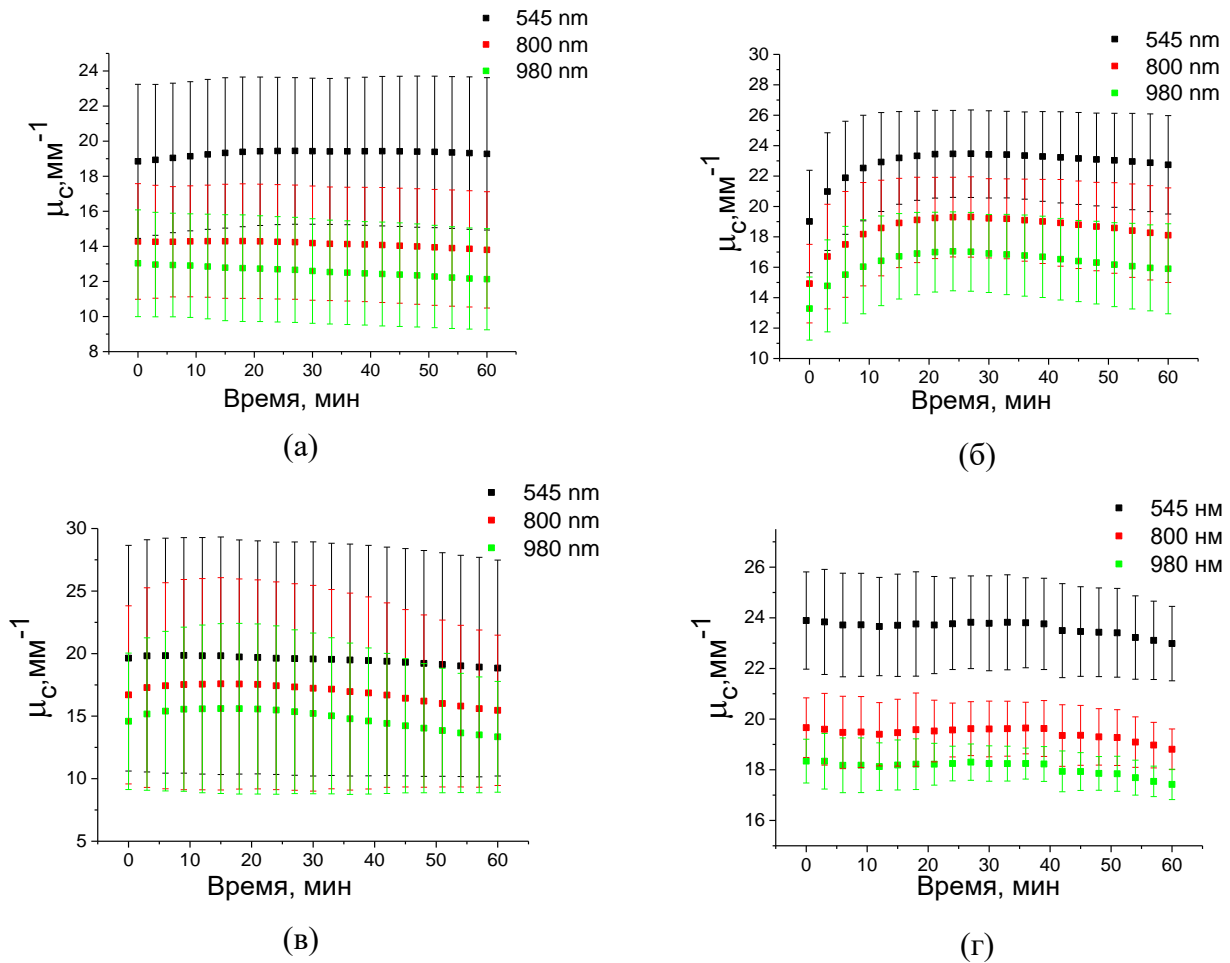
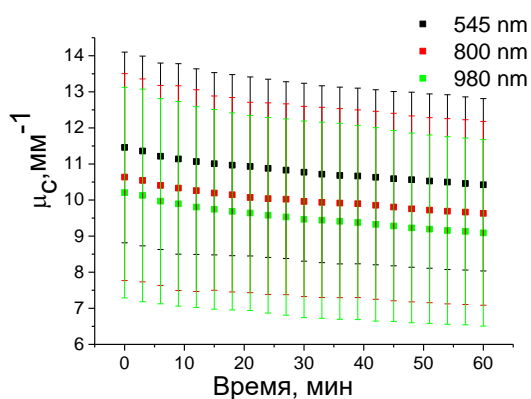


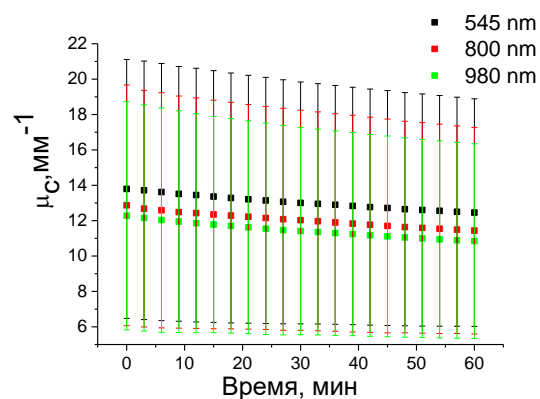
Рисунок 14 – Зависимость коэффициента ослабления коллимированного излучения мышцей крысы от времени при температуре 40 (а), 50 (б), 60 (в) и 70 (г)°С

Коагуляция тканей отсутствует при нагревании образцов мышечной ткани до заданной температуры при температуре до 50 °С. При 70 °С нагрев приводит к увеличению поглощения. Скорость увеличения поглощения при выдержке при данной температуре увеличивается с повышением температуры. При этом коагуляция гемоглобина происходит быстрее, чем мышечной ткани. Последующее уменьшение поглощения, скорее всего, связано с изменением содержания воды в образце, что подтверждается более высокой скоростью изменения при длине волны 980 нм.

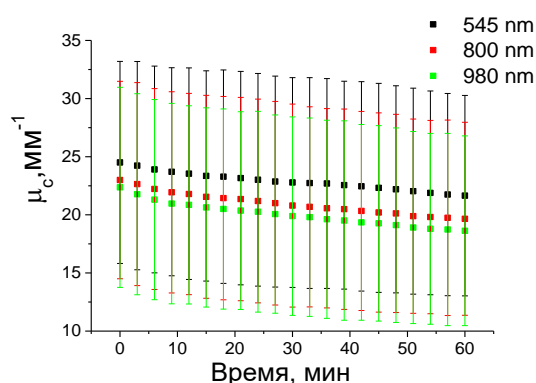
На Рисунке 15 представлены временные зависимости коэффициента ослабления коллимированного излучения жировой тканью крысы, выдерживаемой при различных постоянных температурах. Очевидно, что фазовые переходы происходят уже в процессе нагревания жировой ткани до заданной температуры. В то же время при нагреве до заданной температуры наблюдается увеличение коэффициента ослабления, обусловленное коагуляцией белковой части образца. При этом степень коагуляции и, соответственно, коэффициент ослабления зависят от скорости нагрева и температуры. А именно, чем выше поднимается температура, тем больше у нас начальное значение коэффициента ослабления.



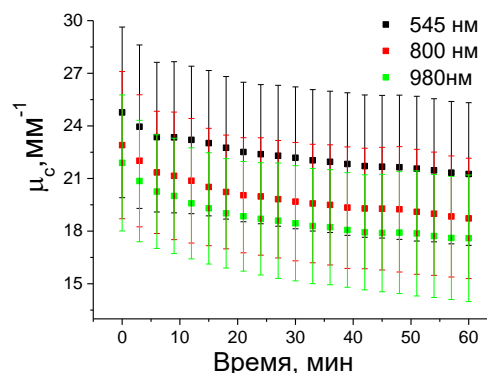
(а)



(б)



(в)

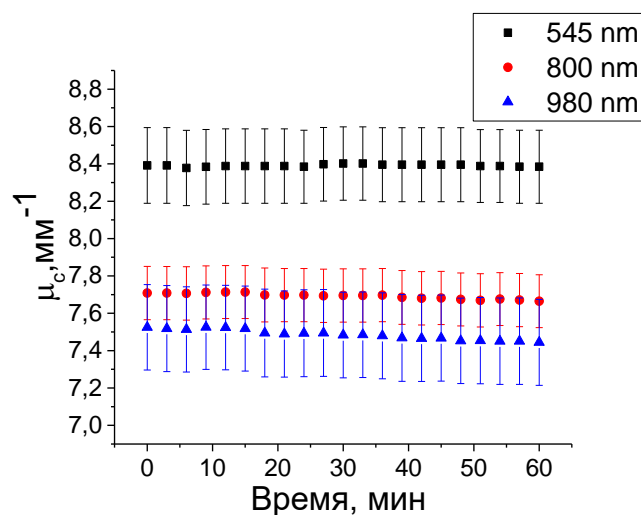


(г)

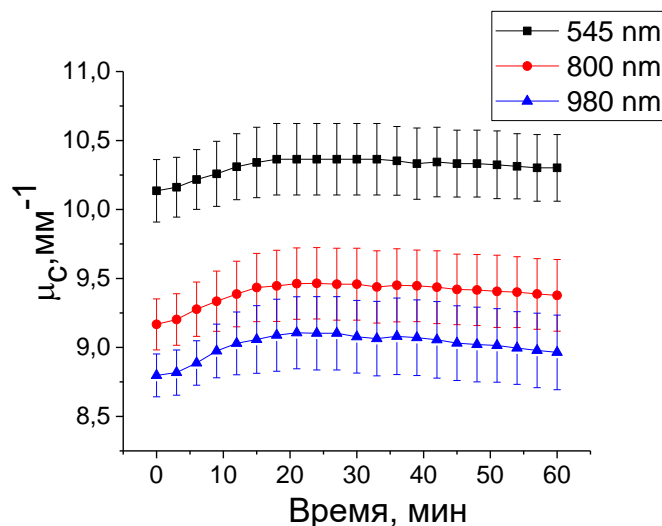
Рисунок 15 – Зависимость коэффициента ослабления коллимированного излучения жиром крысы от времени при температурах 40 (а), 50 (б), 60 (в) и 70 (г) °С

На Рисунке 16 представлены временные зависимости коэффициента ослабления коллимированного излучения кожей крысы, выдерживаемой при различных фиксированных температурах. Изменение ослабления при нагревании начинается при температурах 60–70 °С в связи с большей термостабильностью кожи по сравнению с мышечной тканью. Из рисунков следует, что коэффициент ослабления незначительно изменяется при длительном нагреве. Однако анализ начальных значений коэффициента ослабления показывает, что они сильно зависят от температуры. Можно сделать вывод, что изменения коэффициента ослабления происходят быстро и в основном заканчиваются при достижении образцом заданной температуры (3–4 мин).

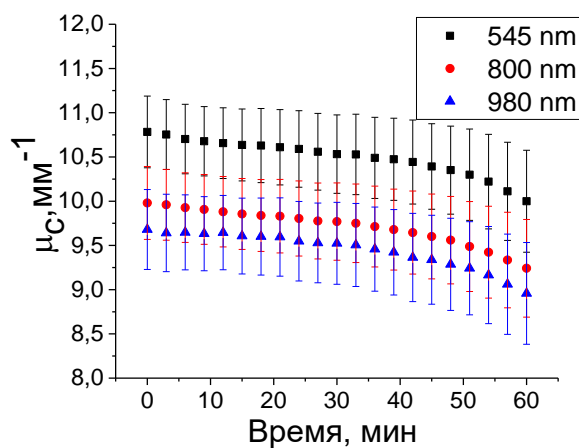




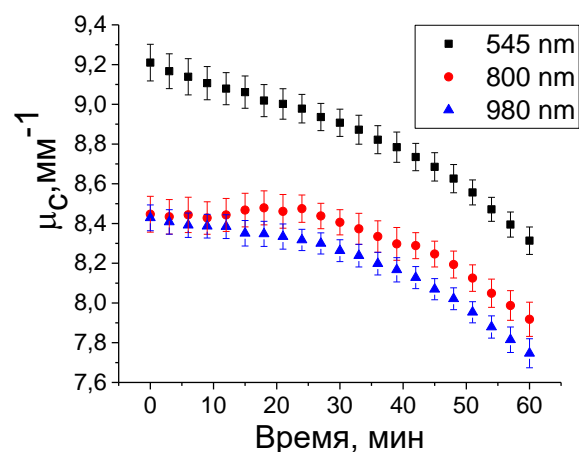
(a)



(б)



(в)

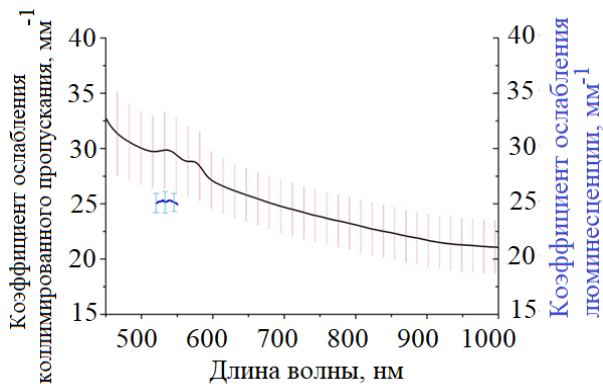


(г)

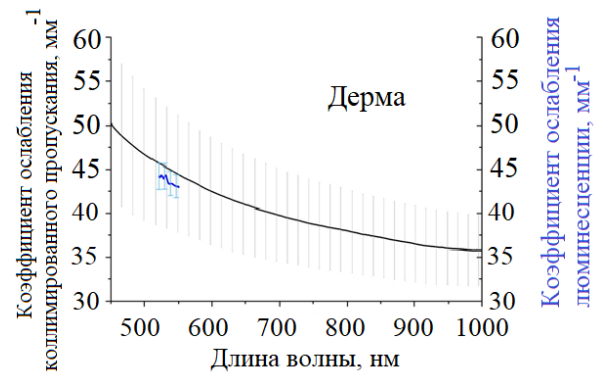
Рисунок 16 – Зависимость коэффициента ослабления коллимированного излучения кожей крысы со стороны эпидермиса при температурах 40 (а), 50 (б), 60 (в) и 70 (г) °С

**Глава 5** посвящена регистрации люминесценции наночастиц, помещенных под кожу. Контроль состояния живых объектов спектральными методами, как правило, осуществляется по спектрам отражения и люминесценции. При этом возможно одновременное фототермическое или фотодинамическое воздействие и контроль результатов данного воздействия. Однако спектры люминесценции и отражения искажаются вследствие рассеяния и переотражения света в объекте.

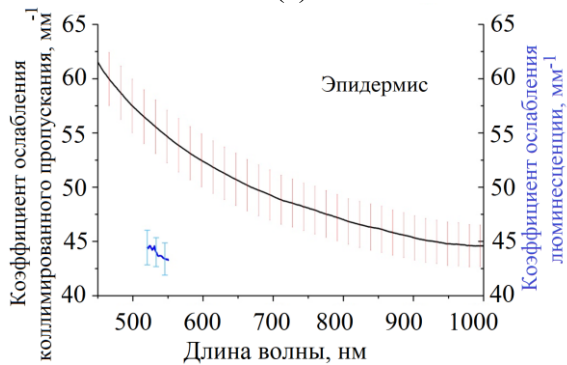
**В разделе 5.1** исследовались спектры ослабления коллимированного излучения, а также люминесценции синтезированных нами наночастиц  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  [7], излучающих в диапазоне 520–550 нм. Сбор люминесценции проводился при помощи широкоапертурной линзы. Исследованы образцы мышц и кожи крысы с обеих сторон. Полученные спектральные зависимости коэффициентов ослабления приведены на Рисунке 17.



(a)



(б)



(в)

Рисунок 17 – Сравнение коэффициента ослабления коллимированного излучения (черный) и люминесценции (синий) образцами ткани крысы: (а)- мышцы; (б)- кожа внутренней стороной к источнику света; (в)- кожа внешней стороной к источнику света

На Рисунке 18 показано отношение  $I_t/I_c$  для различных тканей крысы, где  $I_t$ - коэффициент ослабления люминесценции,  $I_c$ - коэффициент ослабления коллимированного излучения.

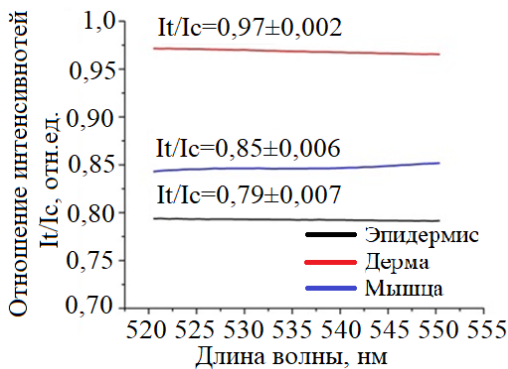


Рисунок 18 – Отношение  $I_t / I_c$  для различных тканей крысы

Сравнение полученных коэффициентов затухания показывает постоянство их отношения с незначительной погрешностью. На основании полученных данных можно сделать вывод, что использование данных коллимированного пропускания для учета затухания люминесценции при прохождении через биологические ткани и сборе излучения в широкой апертуре является правильным. Однако в данном случае исследовался только малый участок спектра шириной 35 нм. Представляет интерес исследование в более широком диапазоне.

**В разделе 5.2** описана методика синтеза и характеристика наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ . Показано, что, в результате синтеза образуются наночастицы, свойства которых изменяются в течение некоторого времени после синтеза. Люминесценция созревших наночастиц находится в области 600–850 нм. Покрытие наночастиц оболочкой  $\text{ZnS}$  значительно увеличивает люминесценцию. На интенсивность температуры также влияет изменение соотношения  $\text{In}/\text{Cu}$  в частицах. При нагревании наночастиц наблюдается тушение люминесценции и небольшое

смещение максимума спектра. Обнаружено, что изменение отношения интенсивностей люминесценции на длинах волн, соответствующих полувысоте спектра люминесценции, полученного при комнатной температуре, линейно относительно наночастиц люминесценции. Изменения pH взвеси наночастиц в физиологических рамках также уменьшает интенсивность люминесценции, но практически не влияет на отношение интенсивностей на половине высоты спектральной линии люминесценции. В связи с этим можно сделать вывод, что интенсивность люминесценции не может быть параметром для определения температуры наночастиц и для этой цели лучше использовать отношение интенсивностей на полувысоте спектральной линии люминесценции.

Полученные наночастицы имеют ряд преимуществ перед подобными нанообъектами:

- имеют широкий спектр люминесценции, который, находится в окне прозрачности биоткани, что позволяет провести более глубокое зондирование биологической ткани;
- дают возможность осуществлять одновременно нагрев наночастиц возбуждающим излучением, и определять их температуру;
- имеют малую токсичность по сравнению с аналогами.

**В разделе 5.3** исследовалось изменение спектров люминесценции наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ , расположенных под слоем кожи со стороны дермы. Таким образом, имитировалось внедрение наночастиц в подкожный слой. Регистрация спектров проводилась при помощи описанной ранее установки с сбором излучения при помощи малоапертурных коллиматоров (Рисунок 1. Сбор излучения проводился спектрометром 2). Коллиматор с входным диаметром 5 мм располагался на расстоянии 15 см от образца, поэтому можно считать, что проводилась регистрация коллимированного излучения.

В отсутствие кожи полувысота спектральной линии располагалась на 636 и 834 нм (Рисунок 19а). Полоса в области 810 нм обусловлена вторым порядком дифракции возбуждающего лазерного излучения.

На спектре видна полоса от второго порядка дифракции возбуждающего излучения, однако, она не мешает расчетам.

Расчет зависимости отношения интенсивностей люминесценции на полувысоте показал практически линейную зависимость (Рисунок 19б). Зависимость описывается формулой  $I=1,38-0,017t$ .

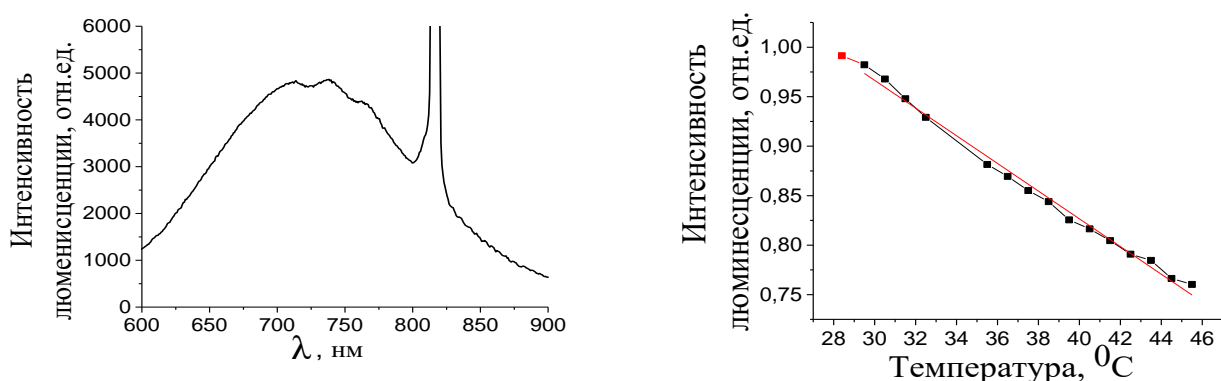


Рисунок 19: (а) - спектр люминесценции наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$  (без слоя кожи), (б)- зависимость отношения интенсивностей люминесценции на полувысоте (без кожи), красная линия-аппроксимация

Нами получено, что результаты восстановления температуры наночастиц по спектрам, полученным при прохождении излучения через кожу, зависят от геометрии эксперимента.

При расположении собирающего люминесценцию коллиматора по нормали к поверхности кожи, то есть при регистрации коллимированного излучения погрешность определения температуры не превышает  $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Такой результат получается при использовании усредненного спектра коллимированного пропускания кожи со стороны дермы. Вызванные температурой изменения отношения коэффициентов пропускания на длинах волн 636 и 824 нм не превышают долей процента, поэтому для коррекции мы использовали фиксированное значение отношений (1,082). Недостаточно высокая точность определения температуры вызвана несовпадением данного отношения, полученного путем усреднения по ряду образцов, с отношением для используемой кожи. Однако полученный результат означает, что можно с относительно высокой точностью определять температуру наночастиц, внедренных под кожу, не зная ее коэффициентов пропускания.

В случае, когда коллиматор расположен под углом  $15^{\circ}$  зависимость кардинально различается (Рисунок 20а).

На графике можно выделить, как минимум, два линейных участка с переходом в области  $35\text{--}38\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Так как этот диапазон соответствует фазовому переходу в жировой ткани, нами была предпринята попытка скорректировать спектры, разделив их на коэффициенты пропускания кожи при используемых температурах. Однако, так как, как указано выше, отношение коэффициентов пропускания на данных длинах волн практически не изменяется, коррекция не дала положительного результата. Погрешность определения температуры достигает  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Можно сделать вывод, что в данном случае не обеспечивается коллимированный режим сбора излучения.

Однако данный режим измерений можно использовать для выявления фазовых переходов в биоткани. Деление полученной с кожей температурной зависимости изменения отношения интенсивностей люминесценции ( $I_1$ ) на зависимость, полученную без кожи ( $I_2$ ) дает некий «коэффициент пропускания» кожи при регистрации в данном режиме (Рисунок 20б).

Из полученного графика следует плавное изменение полученного параметра вплоть до температуры  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , резкое изменение при данной температуре и постоянство его в дальнейшем. Такое изменение, наиболее вероятно, вызвано уменьшением рассеяния света в коже вследствие фазового перехода в липидах кожи. Таким образом, показано, что данный режим пригоден для выявления фазовых переходов.

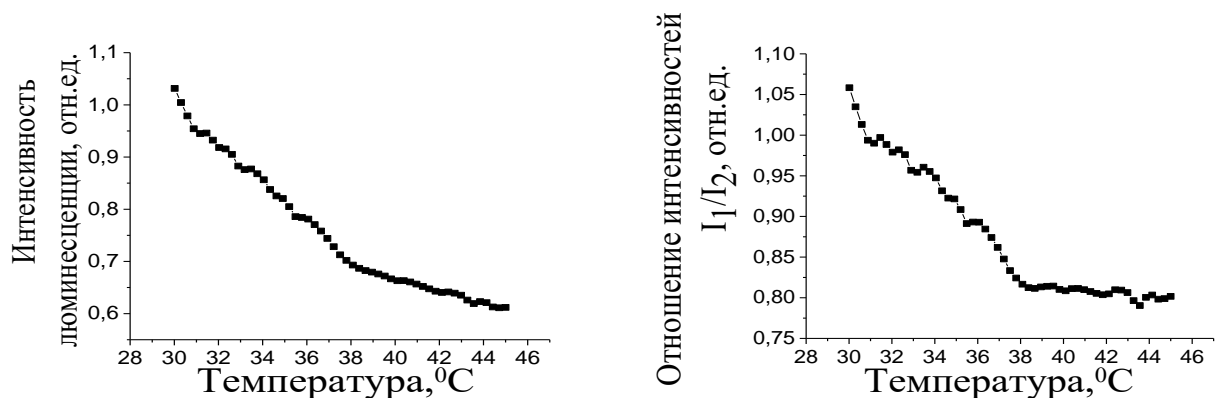


Рисунок 20: (а) - Зависимость отношения интенсивностей люминесценции на полувысоте (с кожей, наночастицы находятся со стороны дермы) при сборе излучения под углом  $15^{\circ}$ , (б) - отношение температурной зависимости изменения отношения интенсивностей люминесценции с кожей на зависимость без кожи

В **Заключении** перечислены основные результаты и выводы работы:

1. Показано, что оптические свойства мышечной ткани изменяются при нагревании и различаются для комнатной и физиологической температур. При этом коэффициенты поглощения и рассеяния практически не изменяются. Основным параметром, изменяющимся при изменении температуры, является фактор анизотропии. Это изменение приводит также к изменению транспортного коэффициента рассеяния. При изменении температуры кожи напротив, фактор анизотропии изменяется слабо в отличие от коэффициента рассеяния.

2. Так же, из полученных результатов следует, что при прохождении света через эпидермис и дерму наблюдается различие коэффициентов поглощения. При увеличении температуры с комнатной до физиологической значительно растёт коэффициент поглощения при регистрации света со стороны эпидермиса.

3. В результате исследований показано, что изменения спектральных характеристик кожи при сильном нагреве вызваны изменением светорассеяния в образце. Показано увеличение размеров рассеивателей при нагреве образцов, что приводит к изменению фактора анизотропии за счет коагуляции рассеивателей. Также сделан вывод об изменении показателя преломления коллагеновых волокон при нагревании.

4. Показано, что поддержание влажности позволяет исключить искажения спектров вследствие высыхания и повышенной коагуляции ткани при температурах вплоть до 45 °С. При больших температурах и быстром нагреве происходит изменение состояния поверхностных слоев образца, что приводит к увеличению поглощения и рассеяния в нем. Реализованные условия позволяют получить результаты, наиболее приближенные к результатам, ожидаемым при воздействии тепла или при лазерном нагреве *in vivo*.

5. Показано, что при прохождении света через кожу со стороны дермы ослабление света меньше, чем со стороны эпидермиса. Это может быть связано с тем, что рассеяние света в эпидермисе выше, чем в дерме. Соответственно, данный факт необходимо принимать во внимание при расчете прохождения света через образец.

6. Охарактеризованы изменения спектральных характеристик биологических тканей крыс в результате термообработки при повышенных (> 40 °С) температурах при длительном (60 мин) и при ступенчатом нагреве.

7. Показано, что динамика изменения коллимированного пропускания кожи крысы зависит от температуры. При этом изменения происходят быстро и в основном в течение 3–5 минут заканчиваются. Изменение поглощения при нагревании начинается при температурах 60–70 °С в связи с большей термостабильностью кожи по сравнению с мышечной тканью. Коагуляция мышечной ткани отсутствует при нагревании образцов вплоть до температуры 60 °С. При 70 °С нагрев приводит к увеличению поглощения.

8. Фазовые переходы в жировой ткани происходят уже в процессе нагревания до заданной температуры. Степень коагуляции и, соответственно, коэффициент ослабления зависят от скорости нагрева и температуры. А именно, чем выше поднимается температура, тем больше у нас начальное значение коэффициента ослабления.

9. При регистрации внутренней температуры живого объекта при помощи люминесценции внедренных в него наночастиц существенным является геометрия расположения и угловая апертура сбора люминесценции, прошедшей через живую ткань. Минимальные искажения получаются при регистрации широкоапертурными приемниками, расположенными по нормали к поверхности ткани.

10. Показано, что регистрация отношения интенсивностей люминесценции внедренных в биоткань наночастиц  $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$  на полувысоте спектральной линии позволяет выявлять фазовые переходы в биоткани.

Представленные в данной диссертационной работе экспериментальные данные об изменении коэффициентов поглощения, рассеяния и фактора анизотропии кожи, подкожной жировой и мышечной тканей в широком диапазоне длин волн и температур необходимы для наиболее полного описания оптических свойств многокомпонентных тканей, в частности, при исследованиях *in vivo*. Например, при решении прямой и обратной задач взаимодействия световых пучков со сложноорганизованными тканями с использованием статистического моделирования Монте-Карло. Также полученные результаты важны для усовершенствования и развития оптических методов диагностики и фототерапии социально-значимых заболеваний.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю профессору кафедры оптики и биофотоники СГУ им. Н.Г. Чернышевского, д.ф.-м.н. Вячеславу Ивановичу Кочубею за всестороннюю помощь, советы и поддержку при выполнении данной работы. Автор благодарит инженера кафедры оптики и биофотоники СГУ им. Н.Г. Чернышевского Анну Алексеевну Доронкину, младшего научного сотрудника кафедры квантовой электроники МГУ имени М.В. Ломоносова Казадаеву Наталью Игоревну, ассистента кафедры паталогической анатомии СГМУ им. В.И.Разумовского Мыльникову Артема Михайловича и руководителя центра коллективного пользования экспериментальной онкологии СГМУ им. В.И.Разумовского Аллу Борисовну Бучарскую за содействие в проведении экспериментальных исследований. Кроме того, автор благодарит всех сотрудников кафедры оптики и биофотоники за разностороннюю помощь при выполнении работы, а также семью и близких за поддержку, терпение и понимание.

#### **Основные результаты диссертационной работы изложены в публикациях:**

##### **Публикации в журналах, входящих в Перечень ВАК:**

1. Гамаюнова (Козлова) Е. А. , Доронкина А. А., Лазарева Е. Н., Тучина Д. К., Кочубей В. И., Янина И. Ю., 2022 Различия оптических свойств мышечной ткани крысы при комнатной и физиологической температурах // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 350–356 (К1)

2. Е.А. Козлова, В.И. Кочубей Синтез и характеристика наночастиц  $\text{CuIn}_2\text{S}$  // Оптика и спектроскопия, 2020, том 128, вып. 10. С. 1548-1553 DOI: 10.21883/OS.2020.10.50030.144-20 (К1)

##### **Публикации в трудах конференций, индексируемых международными базами данных «Scopus» и «Web of Science»:**

3. A A Skaptsov, S O Ustalkov, A H M Mohammed, O A Savenko, A S Novikova 2 , E A Kozlova 1 and V I Kochubey Fabrication and characterization of biological tissue phantoms with embedded nanoparticles // IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 917 (2017) 042003 doi:10.1088/1742-6596/917/4/042003

4. I.Yu. Yanina, E.A. Kozlova, V.I. Kochubey Changes in the spectral characteristics of biological tissues depending on temperature // Proc. of SPIE Vol. 11641, 116410X (5 March 2021)·doi: 10.1117/12.2588231

5. Sergey O. Ustalkov; Ekaterina A. Kozlova; Olga A. Savenko; Ammar H. M. Mohammed; Vyacheslav I. Kochubey; Alexander A. Skaptsov Influence of excitation power density on temperature dependencies of  $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$  nanoparticles luminescence spectra // Proc. SPIE. 10336, Saratov

Fall Meeting 2016: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVIII, 1033614. (March 24, 2017) doi: 10.1117/12.2269297

6. **Kozlova, E.A.**, Kochubey, V.I. Synthesis and Characterization of CuInS<sub>2</sub> Nanoparticles // Proceedings - International Conference Laser Optics 2020, ICLO 2020, 2020, 9285790

#### **Статьи в сборниках РИНЦ:**

7. Казадаева Н. И., Кочубей В. И., **Гамаюнова Е. А.** Сравнение ослабления люминесценции, проходящей через биологическую ткань при разных режимах регистрации // В сборнике: МЕТОДЫ КОМПЬЮТЕРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ - 2021. сборник статей Всероссийской школы-семинара. Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского. Саратов, 2021. С. 121-124

8. Кочубей В. И., **Гамаюнова Е.** A synthesis and characterization of CuInS<sub>2</sub> nanoparticles // Presenting Academic Achievements to the World. Natural Science. Материалы XI научной конференции молодых ученых. Саратов, 2021. С. 79-84

#### **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ, ЦИТИРУЕМЫХ В АВТОРЕФЕРАТЕ**

1 Jaywant S., Wilson B., Patterson M., Lilge L., Flotte T. Temperature-dependent changes in the optical absorption and scattering spectra of tissues: correlation with ultrastructure // Proc. SPIE. Laser-Tissue Interaction IV., 1993. Vol. 1882. DOI: 10.1117/12.148080

2 Nagarajan V. K., Yu B. Monitoring of Tissue Optical Properties During Thermal Coagulation of *Ex Vivo* Tissues // Lasers in Surgery and Medicine, 2016. Vol.48. P. 686–694. DOI: 10.1002/lsm.22541

3 Ao HL, Xing D, Wei HJ, Gu HM, Wu GY, Lu JJ. Thermal coagulation-induced changes of the optical properties of normal and adenomatous human colon tissues *in vitro* in the spectral range 400–1100nm // Phys Med Biol., 2008. Vol. 53. P. 2197–2206. DOI: 10.1088/0031-9155/53/8/013

4 Troy T. L., Thennadil S.N. Optical properties of human skin in the near infrared wavelength range of 1000 to 2200 nm // Journal of Biomedical Optics, 2001. Vol. 6. Iss. 2, P. 167–176. DOI: 10.1117/1.1344191

5 Laufer J., Simpson R., Kohl M., Cope M. Effect of temperature on the optical properties of *ex vivo* human dermis and subdermis // Phys. Med. Biol., 1998. Vol. 43. P. 2479–2489. DOI: 10.1088/0031-9155/43/9/004

6 Troy T. L., Page D. L., Sevic-Muraca E. M. Optical properties of normal and diseased breast tissues: prognosis for optical mammography // J. Biomed. Opt., 1996. Vol. 1. P. 342–355. DOI: 10.1117/12.239905

7 В.В. Тучин Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике//М.: ФИЗМАТЛИТ, 2013. с.812

8 Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Tuchin V.V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm // Journal of Physics, D, Applied Physics, 2005, 38, 2543-2555.

9 Генина Э.А., Башкатов А.Н., Кочубей В.И., Тучин В.В. Влияние условий хранения образцов кожи на их оптические характеристики // Оптика и спектроскопия. 2009. Т. 107. № 6. С. 986-991

10 Bashkatov A.N., Genina E.A., Korovina I.V., Kochubey V.I., Sinichkin Yu.P., Tuchin V.V. *In vivo* and *in vitro* study of control of rat skin optical properties by acting of osmotical liquid // Proc. SPIE. 2000, V. 4224. P. 300-311. DOI: 10.1117/12.403935

11 Башкатов А.Н., Генина Э.А., Кочубей В.И., Тучин В.В. Оптические свойства подкожной жировой ткани в спектральном диапазоне 400-2500 нм // Оптика и спектроскопия. 2005. Т. 99. № 5. С. 868-874

---

Подписано в печать 23.04.2024.  
Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная. Гарнитура Times.  
Объем 1,0 печ. л. Тираж 100 экз. Заказ 46958.

---

Типография «Техно-Декор»  
Саратов, ул. Московская, 160  
тел.: (845-2) 77-08-48