

На правах рукописи

Ревзина  
Елена Мстиславовна

**Исследование взаимосвязи между  
эффективностью лазерного  
фототермолиза с участием золотых  
наночастиц и оптическими  
характеристиками биотканей**

(03.01.02 – биофизика)

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Саратов - 2012

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского

**Научный руководитель:**

доктор физико-математических наук, профессор И.Л.Максимова

**Официальные оппоненты:**

доктор физико-математических наук, профессор Зимняков Д.А.

доктор физико-математических наук, доцент Хомутов Г.Б.

**Ведущая организация:**

ГБОУ ВПО «Саратовский Государственный Медицинский Университет имени В. И. Разумовского»

Защита диссертации состоится «2» июля 2012г. в 17 часов 30 минут на заседании диссертационного совета (Д.212.243.05) при Саратовском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского по адресу: 410012, г.Саратов, ул. Астраханская, 83, корпус 3, физический факультет СГУ. аудитория 34

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского.

Автореферат разослан «1» июня 2012г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор физико-математических наук, профессор



В.Л. Дербов

### **Актуальность темы**

В настоящее время интенсивно развиваются лазерные методы медицины, в частности лазерная гипертермия новообразований. Для достижения необходимого терапевтического эффекта лазерной гипертермии применяются различные термофотосенсибилизаторы, наиболее эффективными из которых являются золотые наночастицы. Уровень накопления термофотосенсибилизаторов в биологических тканях зависит от времени, поэтому важно проводить облучение в период их максимального накопления. При этом должна достигаться необходимая температура во всем объеме опухолевой ткани, так как недостаточный нагрев может стимулировать рост опухоли. Развитие метода лазерной гипертермии сдерживается отсутствием надежных неинвазивных методик определения оптимальных условий облучения. При этом важно определение как оптических характеристик собственно биоткани в каждом конкретном случае, так и степени селективного накопления термофотосенсибилизаторов в биоткани. От учета спектральных особенностей биоткани и количества накопленных в ней термофотосенсибилизаторов зависит выбор корректной плотности мощности и времени облучения.

В данной диссертационной работе предлагается использовать метод спектроскопии обратного диффузного светорассеяния для предварительной оценки эффективности лазерного нагрева различных биотканей в зависимости от концентрации термофотосенсибилизаторов.

В диссертационной работе использованы методы, основанные на отражательной спектроскопии биологических тканей, которая в настоящее время успешно применяется в *in vivo* исследованиях и мониторинге биотканей [1]. Спектр диффузно отраженного биотканью излучения несет информацию о структуре биоткани, пространственном распределении хромофоров внутри биоткани и их концентрации [2]. Метод диффузной отражательной спектроскопии позволяет проводить в условиях *in vivo* дискриминацию

нормальных и патологических тканей в целом ряде биотканей, в частности, в мочевом пузыре, поджелудочной железе, пищеводе, кровеносных сосудах, толстой кишке, яичнике, легких и коже [2, 3].

Несмотря на значительный успех, достигнутый в этом направлении, существуют проблемы, обусловленные высокой вариабельностью результатов, получаемых с помощью волоконно-оптических спектрометров. Ранее изучалось влияние расстояния между волокнами и апертурных углов приемного и освещающего волокон на вид регистрируемых спектров обратного рассеяния, для рассеивающих систем, образованных или слабопоглощающими рассеивателями, или систем, образованных сильнопоглощающими металлическими частицами. Закономерности изменения спектров обратного светорассеяния биотканей при добавлении к ним сильнопоглощающих частиц практически не исследованы. Вследствие этого необходимость исследований подобной направленности не вызывает сомнения.

**Целью диссертационной работы является:**

Исследование закономерностей изменения спектров диффузного светорассеяния биотканей с внедренными селективными поглотителями в зависимости от концентрации и глубины их локализации, и разработка неинвазивного оптического метода предварительной оценки эффективности гипертермии и оптимизации параметров лазерного воздействия.

**Для достижения целей исследования в работе поставлены и решены следующие задачи:**

1. Исследовать особенности спектров, получаемых с использованием волоконной приемно-осветительной системы, путем сравнения результатов спектральных измерений с помощью волоконно-оптических спектрометров и численного моделирования спектральных характеристик обратного светорассеяния дисперсных систем при различных расстояниях между приемными и освещающими волокнами с заданной апертурой.

2. Определить влияние концентрации термофотосенсебилизаторов в модельных рассеивающих объектах на спектры диффузного рассеяния, регистрируемые в условиях различной кратности рассеяния.

3. Исследовать взаимосвязь величины коэффициентов диффузного отражения модельных объектов и фантомов биотканей, полученных при помощи волоконно-оптического спектрометра, с соответствующей динамикой температуры при последующем лазерном нагреве.

### **Положения и результаты, выносимые на защиту**

1. Для модели биоткани, содержащей слабопоглощающие рассеиватели и сильнопоглощающие плазмонно-резонансные наночастицы, при увеличении кратности рассеяния вид спектра обратного диффузного рассеяния меняется от спектральной кривой, имеющей максимум в области полосы плазмонного резонанса частиц, до спектральной кривой с минимумом в этой области.

2. Глубина возможной визуализации золотых нанооболочек по спектрам диффузного рассеяния в биоткани с коэффициентом рассеяния  $\mu=10 \text{ см}^{-1}$  зависит от концентрации золотых наночастиц и меняется в пределах от 200 мкм при  $C_{\text{Au}}=1 \cdot 10^8 \text{ мл}^{-1}$  до 2 мм при  $C_{\text{Au}}=1.7 \cdot 10^9 \text{ мл}^{-1}$ .

3. Критерий, построенный на основе различия спектральных характеристик диффузного отражения объекта с золотыми наночастицами в области максимума поглощения и на границе полосы плазмонного резонанса, позволяет оценить эффективность нагрева при лазерном облучении данного объекта

Настоящее диссертационное исследование выполнено при поддержке Министерства науки и инноваций РФ госконтракт № 02.512.11.2034 «Разработка нанотехнологии лазерного селективного фототермолиза и контрастирования злокачественных новообразований на основе использования плазмонно-резонансных наночастиц», госконтракт № 02201163715 «Разработка нового способа динамического моделирования опухолевого роста при лазерной гипертермии», госконтракт № 02.740.11.0484 «Исследование терапевтических,

токсических и термических воздействий комплексов наночастица-фотосенсибилизатор при лазерном воздействии».

### **Научная новизна работы**

Проведено численное моделирование спектров обратного светорассеяния систем рассеивающих частиц, содержащих сильнопоглощающие включения, позволившее получить принципиально новые закономерности изменения спектров, в зависимости от соотношения концентраций поглощающих и рассеивающих частиц. Экспериментально доказана возможность использования спектров обратного диффузного светорассеяния в качестве предварительной оценки эффективности нагрева биологических объектов с термофотосенсибилизаторами.

### **Научно-практическая значимость работы:**

Материалы диссертации использованы при проведении научных исследований на кафедре оптики и биофотоники физического факультета, в НИИ естественных наук ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского». А также в учебном процессе при чтении спецкурсов по дисциплинам «биофизика», «лазерные методы в медицине» и «электроника и наноэлектроника» студентам физического факультета и факультета нано- и биомедицинских технологий ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского».

**Апробация работы.** Результаты диссертационного исследования доложены на SPIE Photonics-West-2008 (San Jose, California USA), Saratov Fall Meeting (Russia 2007, 2008, 2010, 2011), ежегодной Всероссийской научной школе-семинаре «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине» (Саратов 2010, 2011), Международной конференции "Photonics4 life" 2011 (Russia), VII Международной научно-практической конференции «Альянс наук: ученый – ученому» (Украина, 2012)

**Достоверность научных результатов** подтверждается использованием надежных математических методов, согласием с расчетами других групп (в

области совпадения моделей), а также качественным и количественным согласием с результатами экспериментов.

**Личный вклад диссертанта и результаты, полученные совместно с другими исследователями:**

Все представленные в диссертации экспериментальные результаты получены автором лично. Результаты теоретических исследований получены лично автором, с использованием программы численного моделирования диффузии фотонов в исследуемых средах, разработанной Скапцовым А.А. Диссертант показал достаточный уровень самостоятельности в постановке и решении задач, обработке и обсуждении полученных результатов.

**Работа выполнена** на кафедре оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г.Чернышевского.

**Публикации.** Основные результаты исследования, выводы и положения диссертации опубликованы в 7 научных работах, из них 2 – в отечественных и иностранных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

#### **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из введения, основной части, содержащей 5 глав, заключения и списка цитируемой литературы, состоящего из 128 ссылок. Диссертация содержит 35 рисунков.

#### **Краткое содержание работы:**

Во **Введении** обоснована актуальность темы работы, рассмотрена новизна, практическая значимость, сформулирована цель работы, основные задачи исследований, приведены основные положения, выносимые автором на защиту.

В **Главе 1** проведен аналитический обзор литературы по теме диссертации. Основное внимание уделено особенностям спектроскопии диффузного светорассеяния при малом расстоянии между источником и приемником. Проанализированы особенности спектральных характеристик

нормальных и патологических биотканей, а также методики и результаты лазерного термического воздействия на биоткань с термофотосенсибилизаторами.

В Главе 2 проведено исследование спектров диффузного светорассеяния при малом расстоянии между освещающим и приемным волокнами с заданной числовой апертурой.

В основу анализа влияния геометрии эксперимента в широком диапазоне параметров в диссертационной работе положен метод имитационного компьютерного моделирования рассеяния света методом Монте-Карло.

Моделирование выполнено для различных расстояний между освещающим и приемными волокнами. Для эксперимента использовался датчик, диаметр волокон которого составляет 200 мкм, расстояние между центрами освещающего и приемного волокон около 220 мкм. При моделировании общее количество фотонов составляло 100000.

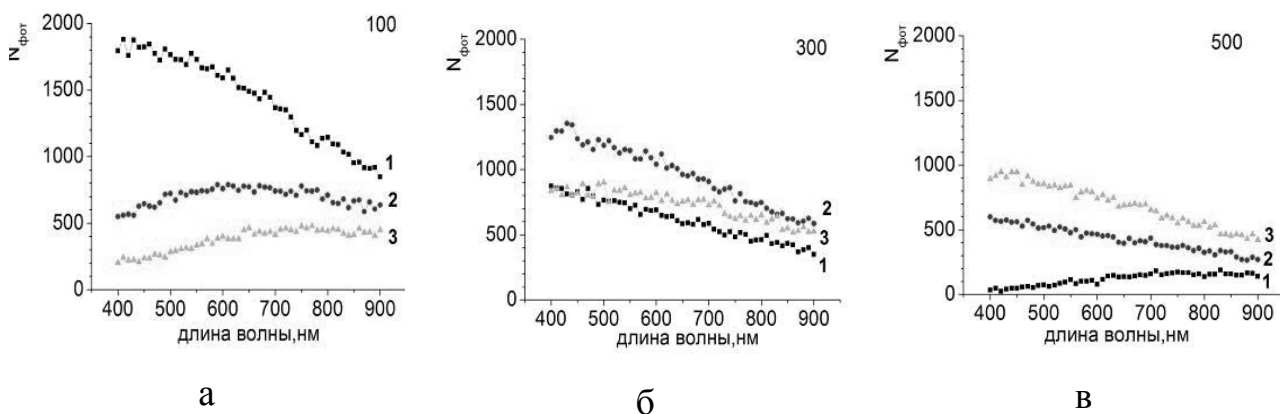


Рис. 1 Модельные спектры обратного рассеяния системы непоглощающих ( $n_1=1.4$ ) частиц диаметром 20 нм в воде. Расстояние от торца волокна до поверхности образца: а) 100 мкм, б) 300 мкм, в) 500 мкм. Расстояние между центрами освещающего и приемного волокон: 1) 200 мкм, 2) 300 мкм, 3) 400 мкм.

Из рисунка 1 видно, что в зависимости от расстояния между волокнами и расстояния от торца волокна до поверхности объекта изменяется не только интенсивность регистрируемого сигнала, но и вид регистрируемой спектральной зависимости. Интенсивность рассеяния монотонно уменьшается с



ростом длины волны, однако это уменьшение не такое резкое, как в спектральных характеристиках изолированной частицы, что связано с многократностью рассеяния. Можно сделать вывод, что по мере удаления торца волокна от поверхности объекта должно увеличиваться расстояние между освещающим и приемным волокном для регистрации наиболее интенсивного сигнала. В зависимости от расстояния между освещающим и приемным волокнами, а также от расстояния между торцом и поверхностью объекта регистрируемые спектральные зависимости могут иметь качественно различный характер. В частности, для рассматриваемого случая системы малых по сравнению с длиной волны рассеивателей, регистрируемые спектры с ростом длины волны могут иметь вид как монотонно повышающейся, так и монотонно понижающейся кривой.

В работе также проведено численное исследование закономерностей изменения спектров диффузного отражения в зависимости от концентрации рассеивающих частиц и от расстояния между освещающим и приемным волокном.

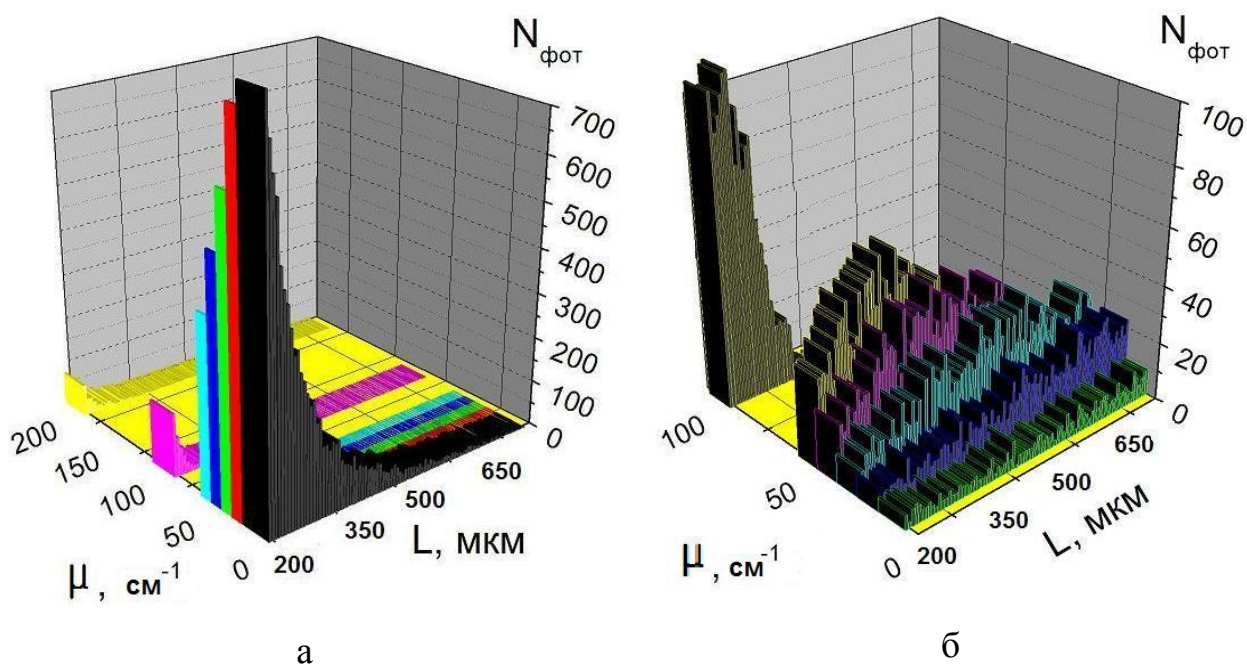


Рис. 2 Зависимость числа зарегистрированных фотонов  $N$  от расстояния  $L$  между освещающим и приемным волокнами, для систем с различным коэффициентом рассеяния  $\mu$ .  
 а) радиус рассеивателей 10нм, б) радиус рассеивателей 100нм.

Для рассеивающих частиц с радиусом 10 нм максимальное число зарегистрированных фотонов при увеличении концентрации остается на неизменном расстоянии между освещающим и приемным волокнами, и составляет 200 мкм. Для крупных же рассеивателей, по мере увеличения их концентрации и роста коэффициента рассеяния от  $\mu=10$  до  $\mu=200 \text{ см}^{-1}$ , расстояние между центрами волокон, соответствующее максимальному числу зарегистрированных фотонов, изменяется от  $L=800$  до  $L=200$  мкм.

На основе численного моделирования в работе были исследованы закономерности изменения спектров диффузного отражения в зависимости от радиуса рассеивателей. Моделирование проведено при различных расстояниях между освещающим и приемным волокнами.

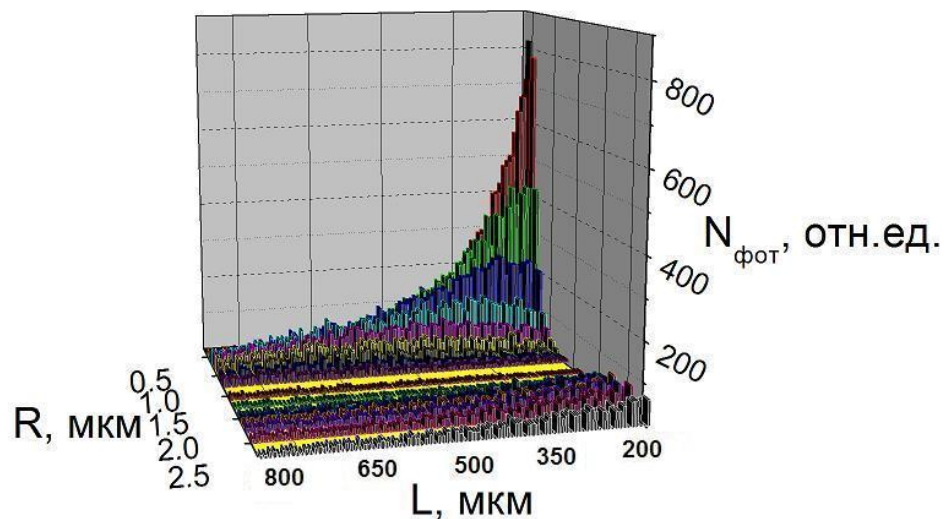


Рис. 3 Зависимость числа зарегистрированных фотонов  $N$  от расстояния  $L$  между освещающим и приемным волокнами и радиуса  $R$  рассеивающих частиц

Для системы непоглощающих частиц сильное влияние на количество зарегистрированных фотонов оказывает размер рассеивателей. Максимальное число фотонов регистрируется на небольших расстояниях между освещающим и приемным волокном ( 200 мкм) при радиусе рассеивателей, превышающем 0.5 мкм.

**Глава 3** посвящена методике измерения спектров обратного светорассеяния. Приведено описание разработанного специализированного волоконнооптического устройства для измерения спектров диффузного рассеяния на живых объектах с микропозиционированием торца волокна.

Установка обеспечивает точное позиционирование области излучения относительно облучаемой поверхности и стабильность условий облучения в серии многократных экспериментов, позволяет изменять угол падения излучения, падающего на поверхность биообъекта.

В работе проведено тестирование нескольких физических моделей многослойной биологической ткани на основе желеобразующих систем (с использованием агара и желатина и добавлением рассеивающих частиц), а также твердых пористых объектов. Оптимальным для решения поставленных в работе задач оказались твердые пористые образцы на основе различных сортов бумаги. Такой выбор модельной системы позволяет получать слоистые системы с точно задаваемой толщиной слоев, стабильной на площади, значительно превышающей площадь поперечного сечения лазерного пучка и достаточной для проведения измерений на стандартном спектральном приборе. Детально исследованы объекты на основе белой бумаги плотностью  $80 \text{ г/м}^2$  ТУ 5438-016-00253497-2001 и фильтровальной лабораторная бумаги «Ф» ГОСТ 12026-76 плотностью 72-78  $\text{г/м}^2$ .

Проведено сопоставление спектров диффузного отражения окрашенных мелкопористых объектов, измеренных на различных спектрометрах с волоконно-оптическими зондами (лазерный электронно-спектральный анализатор ЛЭСА-01-БИОСПЕК, волоконно-оптический спектроанализатор Ocean Optics USB 4000 и спектрофотометр Perkin Elmer Lambda 950).

Регистрируемый спектр определяется не только оптическими характеристиками исследуемого объекта, но и геометрией эксперимента – использованием интегрирующей сферы или волоконно-оптического датчика, числовой апертурой освещающего волокна (или волокон), апертурным углом приемных волокон, расстоянием от торца волокна до поверхности биоткани,

спектром отражения эталона, углом наклона оси волокна относительно нормали к поверхности, расстоянием между освещающими и приемными волокнами и т.п. Проведено сопоставление спектральных зависимостей обратного рассеяния, полученных на различных приборах для ряда тестовых объектов. Показано, что положение максимумов и общий вид регистрируемых спектров определяется оптическими характеристиками исследуемых объектов и качественно совпадает для всех использованных в работе спектрометров. Закономерности наблюдаемых количественных различий регистрируемых спектров диффузного светорассеяния, обусловленных различиями оптико-геометрических параметров спектральных приборов, хорошо согласуются с результатами компьютерного моделирования, проведенного в работе.

Было исследовано изменение формы и интенсивности спектров обратного диффузного светорассеяния при изменении отклонения оси волоконного световода от нормали к поверхности используемых образцов. Для рассматриваемых в данной работе объектов изменение угла наклона оси волокна в диапазоне от 0 до 10 градусов не приводит к качественному изменению регистрируемых спектров отражения.

В **Главе 4** проведен анализ спектров обратного диффузного светорассеяния дисперсных систем, содержащих локальные поглощающие включения.

Наличие сильно поглощающих металлических включений радикально меняет закономерности распространения излучения. Система из большого количества сильно рассеивающих слабопоглощающих частиц, в которой находится также некоторое количество сильнопоглощающих частиц, обладает уникальными свойствами.

На первом этапе проведено численное моделирование спектральных зависимостей диффузного отражения для системы золотых наноболочек в воде без рассеивающих частиц, моделирующих биоткань. Полученные результаты свидетельствуют, что для такой системы спектр обратного

диффузного рассеяния, регистрируемый волоконным спектрометром, качественно совпадает со спектральной зависимостью сечения рассеяния одной золотой частицы. При увеличении концентрации частиц увеличивается интегральная величина регистрируемого сигнала примерно в равной степени для всех длин волн, то есть качественных изменений регистрируемой спектральной зависимости при изменении концентрации поглощающих частиц не происходит. Для количественной оценки влияния кратности рассеяния на вид спектральной зависимости в работе предложено использовать коэффициент  $K$ , получаемый из значений сигнала, регистрируемого в области максимума спектральной зависимости сечения экстинкции при  $\lambda=810\text{нм}$  и на границе полосы поглощения при  $\lambda=600\text{нм}$

$$K=(R_{800}-R_{600})/(R_{800}+R_{600})$$

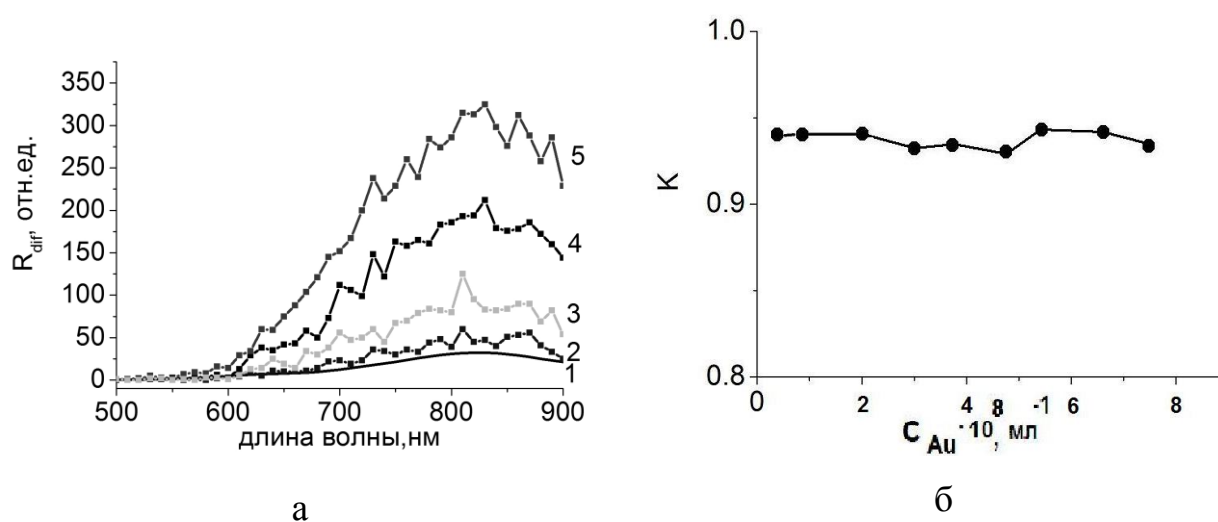


Рис. 4. а) - Модельные спектры обратного рассеяния системы золотых наноболочек с максимумом поглощения на 810 нм различной концентрации  $C_{Au}$ . 1 – спектр сечения экстинкции изолированной частицы, 2 –  $C_{Au}=1 \cdot 10^9 \text{ мл}^{-1}$ , 3-  $C_{Au}=2 \cdot 10^9 \text{ мл}^{-1}$ , 4-  $C_{Au}=4 \cdot 10^9 \text{ мл}^{-1}$ , 5 -  $C_{Au}=8 \cdot 10^9 \text{ мл}^{-1}$ ; б) Зависимость коэффициента  $K$  от оптической плотности для той же системы частиц.

С точки зрения выбора оптимальных условий спектрального эксперимента для обнаружения поглощающих частиц в системе модельных рассеивателей актуальным является исследование зависимости интенсивности регистрируемого сигнала, формируемого поглощающими частицами от

расстояния между волокнами и других параметров спектрометра. На основе численного моделирования в работе проведен анализ соотношения вкладов поглощающих и непоглощающих частиц в регистрируемый спектр диффузного отражения.

Рассмотрены закономерности изменений спектров диффузного отражения в зависимости от концентрации поглощающих частиц и от расстояния между освещающим и приемным волокном.

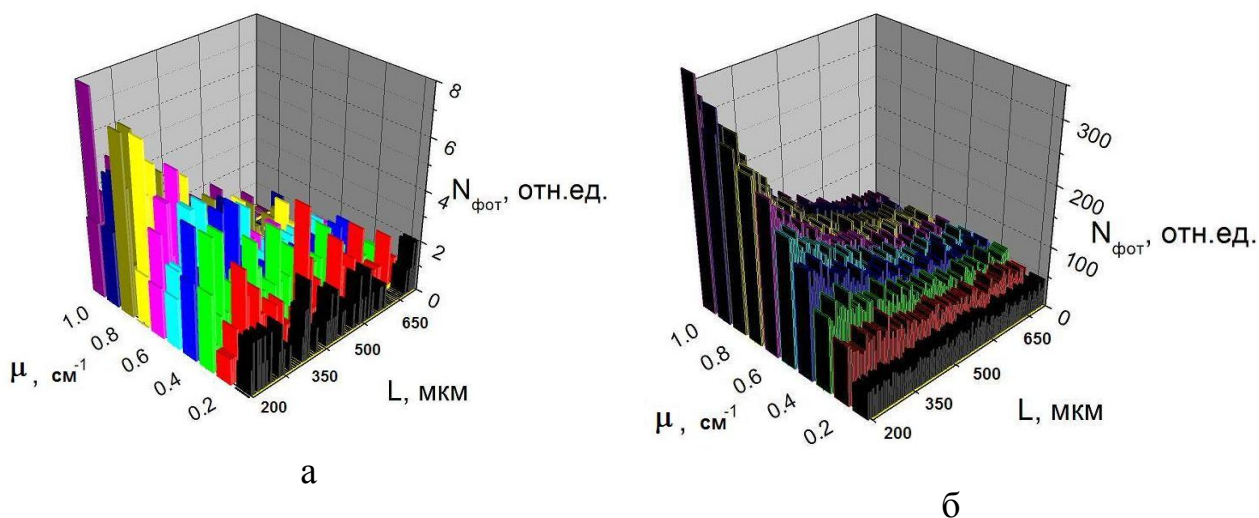


Рис. 5 Зависимость числа зарегистрированных фотонов  $N$  от расстояния  $L$  между освещающим и приемным волокном для системы золотых наночастиц с различной оптической плотностью (коэффициент экстинкции в диапазоне от  $\mu=0.1$  до  $\mu=1 \text{ см}^{-1}$ ).

а) радиус золотых частиц 10 нм, б) радиус золотых частиц 100 нм.

Для рассматриваемых в работе поглощающих золотых частиц с размерами от 10 нм до 100 нм расстояние между центрами освещающего и приемного волокон, соответствующее максимальной величине регистрируемого сигнала, практически постоянно и составляет 200 мкм. Для рассматриваемых систем поглощающих частиц при увеличении расстояния между освещающим и приемным волокном от 200 до 1000 мкм число зарегистрированных фотонов уменьшается лишь на 1-2 порядка, в то время как для систем непоглощающих частиц это изменение может составлять 4 порядка.

В том случае, когда поглощающие частицы находятся в системе непоглощающих или слабопоглощающих частиц, изменение кратности

рассеяния приводит к существенным качественным изменениям спектральных характеристик, регистрируемых волоконно-оптическим спектрометром.

В работе проведено численное моделирование спектральных зависимостей диффузного отражения в системе поглощающих наночастиц в зависимости от кратности рассеяния. Исследованы изменения спектров обратного рассеяния в зависимости от концентрации наночастиц. Показано, что при увеличении концентрации рассеивающих частиц и соответствующем увеличении кратности рассеяния вид спектра обратного диффузного рассеяния меняется от спектральной кривой, имеющей максимум в области полосы плазмонного резонанса частиц на 810 нм до спектральной кривой с минимумом в области 810 нм. Это объясняется тем, что при измерениях для систем золотых частиц в воде без рассеивающих частиц или при небольшой концентрации рассеивающих частиц основной вклад в регистрируемый сигнал вносит излучение, рассеянное частицами в обратном направлении. Для указанных золотых наноболочек положение как максимума в спектральной зависимости сечения рассеяния, так и максимума сечения поглощения находится в области 810 нм. При увеличении концентрации непоглощающих частиц в рассматриваемой системе увеличивается их вклад в регистрируемое обратное рассеянное излучение. В представляющих реальный интерес практических ситуациях концентрация рассеивающих частиц значительно превышает концентрацию поглощающих металлических частиц. Поэтому вклад в регистрируемый сигнал обратного рассеяния от золотых частиц оказывается пренебрежимо мал на фоне вклада от модельных рассеивателей биоткани. Однако, если в данной системе реализуется режим многократного рассеяния, после многократных актов взаимодействия фотонов с частицами оказывается существенным поглощение фотонов с длинами волн, соответствующими плазмонному резонансу. И таким образом на монотонной спектральной кривой обратного светорассеяния модельных рассеивателей биоткани появляется провал, обусловленный поглощением света с данными длинами волн в наночастицах. Существование данного эффекта в работе показано как

теоретически с помощью численного моделирования методом Монте-Карло, так и экспериментально с использованием волоконно-оптического спектрометра и водной суспензии монодисперсного полистирольного латекса (№ ЭМ ВНИИМ 07.08.002, средний диаметр частиц 0.25-0.35 мкм) различной концентрации.

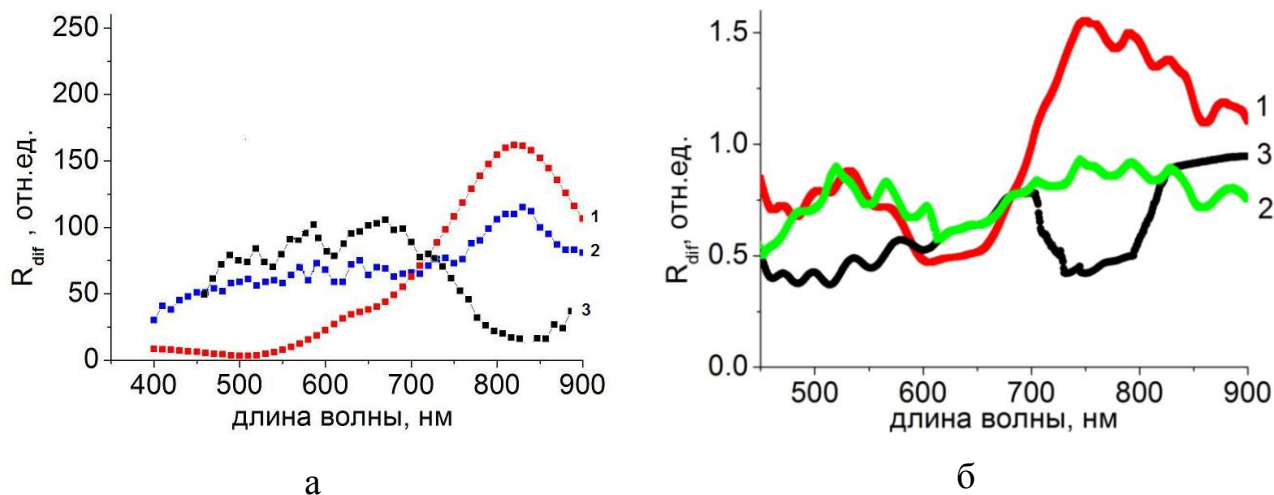


Рис. 6 Теоретические (а) и экспериментальные (б) спектры обратного рассеяния  
 1 – золотые наночастицы в воде, 2 – золотые наночастицы в рассеивающей среде с низкой концентрацией рассеивающих частиц в воде, 3 – золотые наночастицы в рассеивающей среде с высокой концентрацией рассеивающих частиц в воде.

Проведены как моделирование транспорта лазерного излучения, так и экспериментальные исследования, которые позволяют оценить предельную глубину расположения частиц в биоткани, на которой еще достижимо эффективное взаимодействие лазерного излучения с наночастицами для решения диагностических и терапевтических задач.

Моделирование выполнено методом Монте-Карло. В качестве физической модели биологической среды взята слоистая система: подстилающий рассеивающий слой толщиной 1 см, то есть такую систему можно рассматривать как полубесконечную, над подстилающим слоем располагался слой с золотыми частицами толщиной 100 мкм, и внешний покрывающий рассеивающий слой различной толщины. При расчетах использовались следующие параметры модельной рассеивающей среды:



коэффициент преломления частиц  $1.44+i 0.00001$ , диаметр частиц 300 нм, концентрация  $1 \cdot 10^8$  мл<sup>-1</sup>, коэффициент рассеяния  $\mu=10$  см<sup>-1</sup>.

Проводились экспериментальные исследования для оценки изменения спектральных характеристик биоткани с золотыми наночастицами в зависимости от глубины расположения частиц в биоткани. Экспериментальные спектры получены с помощью спектральной установки ЛЭСА-01-БИОСПЕК. Измерения проводились для золотых нанооболочек (концентрация коллоидного раствора  $1-5 \cdot 10^9$  шт./мл, максимум поглощения 810 нм).

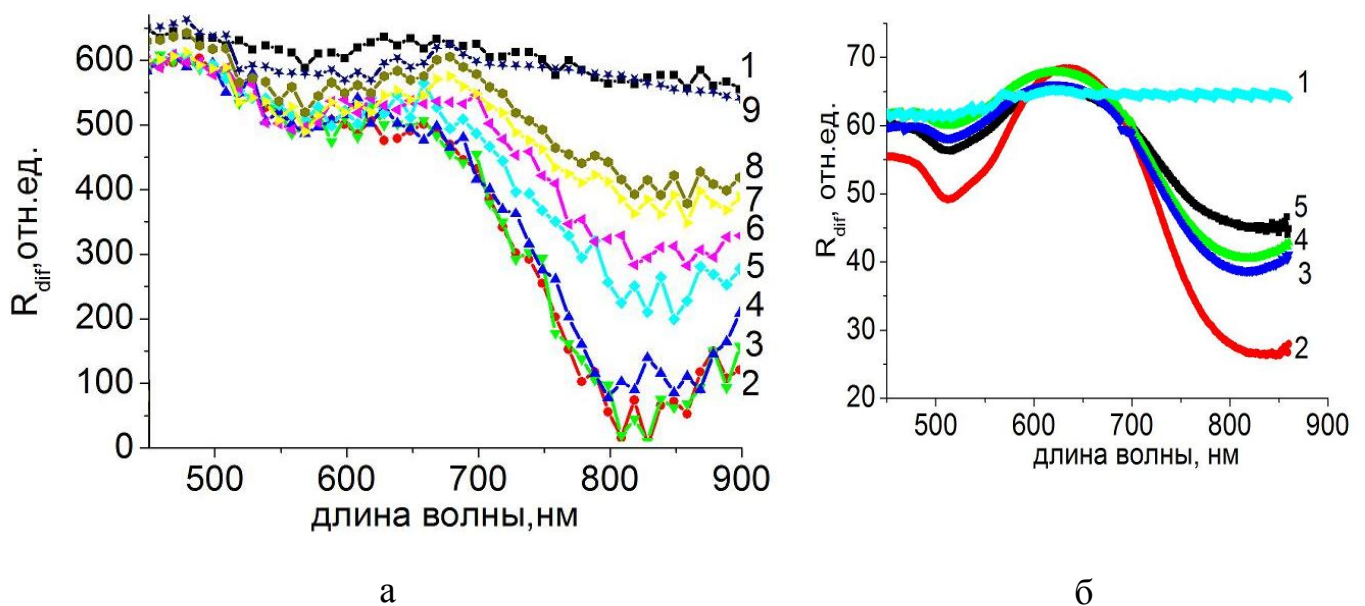


Рис.7. Теоретические (а) и экспериментальные (б) спектры диффузного рассеяния.

а: 1 - Золота в системе нет, 2 - толщина покрывающего слоя 1 мкм, 3 – 20 мкм, 4 – 100 мкм, 5 – 200 мкм, 6 – 400 мкм, 7 – 600 мкм, 8 – 800 мкм, 9 – 1000 мкм. б: 1 – золота в системе нет, 5 – толщина покрывающего слоя – 400 мкм, 4 - 300 мкм, 3 – 200 мкм, 2 – 100 мкм.

Как показано в работе, при наличии золотых наночастиц в модельной системе рассеивающих частиц достаточно высокой концентрации, соответствующей типичным концентрациям рассеивателей биоткани, регистрируемая спектральная зависимость диффузного светорассеяния имеет провал в области длин волн плазмонного резонанса. Глубина данного провала может быть использована в качестве критерия наличия наночастиц в биоткани и оценки их концентрации. Как показано в работе ранее, абсолютные значения коэффициента обратного диффузного отражения существенно зависят от

условий эксперимента. Поэтому для количественных оценок содержания золотых наночастиц в биоткани в работе предложено использовать критерий  $K_1$ , определяемый из измеренных значений следующим образом

$$K_1 = (R_{600} - R_{800}) / (R_{800} + R_{600})$$

По мере увеличения глубины залегания слоя с наночастицами его влияние на регистрируемые спектральные характеристики уменьшается. Если слой, содержащий золотые наночастицы, расположен на поверхности исследуемой системы, то значение коэффициента  $K_1$  максимально. Для случаев, представленных на рисунке 7, в случае компьютерного моделирования  $K_{1max} = 0.9$ , а для эксперимента  $K_{1max} = 0.6$ . В качестве критерия визуализации наночастиц по спектрам обратного рассеяния использовались значения  $K_1$ , превышающие 0.1. Как показали проведенные в работе численные и экспериментальные исследования, глубина возможной визуализации наночастиц в биоткани по спектрам диффузного рассеяния зависит от концентрации золотых наночастиц и меняется в пределах от 200 мкм при  $C_{Au} = 1 \cdot 10^8 \text{ мл}^{-1}$  до 2 мм при  $C_{Au} = 1.7 \cdot 10^9 \text{ мл}^{-1}$ . Данный результат получен при условии, что коэффициент рассеяния покрывающего слоя биоткани составляет  $10 \text{ см}^{-1}$ .

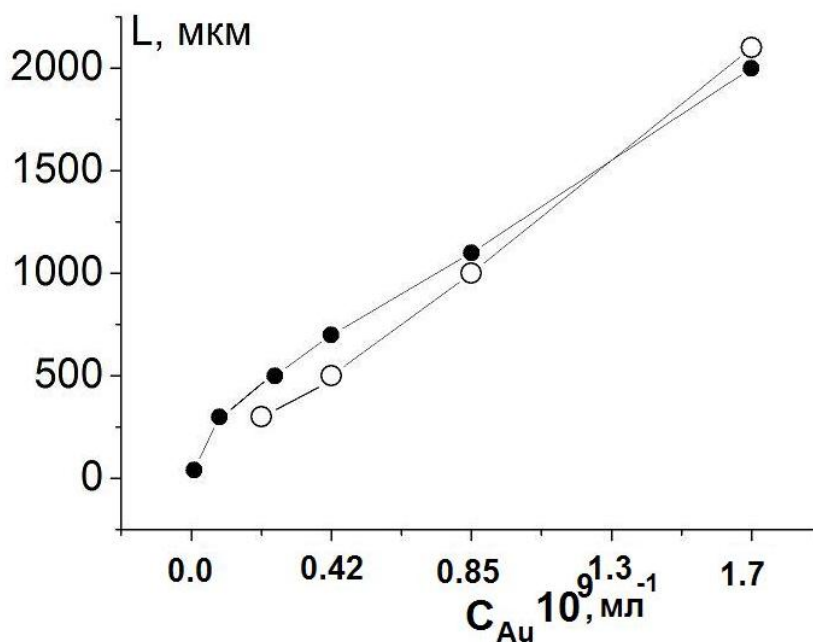


Рис.8. Зависимость предельной глубины визуализации золотых наночастиц от их концентрации в биоткани. ● – компьютерное моделирование, ○ – эксперимент.

Для оптически менее плотных тканей или при уменьшении оптической плотности с помощью методов просветления биотканей глубина визуализации наночастиц может быть повышена.

**Глава 5** посвящена анализу взаимосвязи спектральных характеристик объекта с динамикой температуры при лазерном нагреве.

Тепловое воздействие лазерного излучения на биоткани основывается на поглощении излучения и преобразовании его энергии в тепло. Для оценки эффективности поглощения лазерного излучения в биоткани и возможности оценки эффективности накопления термофотосенсибилизаторов в биоткани по спектрам диффузного отражения, выполнены экспериментальные исследования, которые включали в себя измерение пространственного распределения температуры различных модельных объектов, включающих золотые частицы различной концентрации и формы.

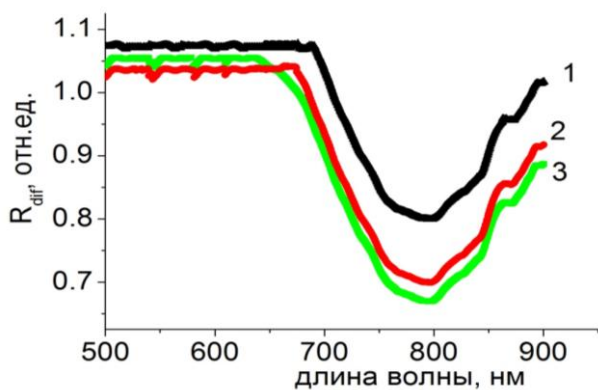
Для бесконтактного измерения и регистрации пространственного распределения температуры исследуемых объектов в работе использовался ИК тепловизор IRISYS 4010 (InfraRed Integrated System Ltd, Великобритания).

Образцы облучались непрерывным полупроводниковым лазером PhotoThera с длиной волны 810 нм и выходной мощностью 1 Вт. Лазерное излучение подводилось к поверхности объекта волоконно-оптическим световодом. Излучение лазера падало по нормали к поверхности объекта, диаметр пучка на поверхности объекта 6 мм. Расстояние от поверхности объекта до торца световода составляло 300 мкм. Термограммы регистрировались тепловизором, расположенным над объектом под углом 30 градусов от вертикали. Торец волоконного световода закреплялся в специальном держателе с микрометрической подачей.

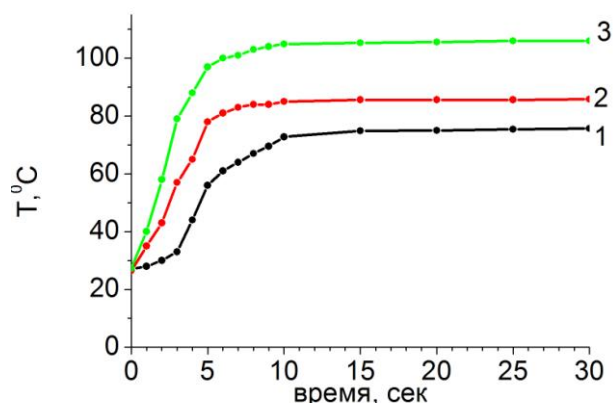
Эксперименты проводились как на модельных объектах, так и на здоровых белых лабораторных крысах. Модельный объект представлял собой слоистую систему на основе фильтровальной бумаги, на один из слоев которой

наносились водная суспензия золотых наночастиц различной концентрации. Модельный объект в данных исследованиях должен удовлетворять не только требованиям максимального соответствия его оптических характеристик оптическим характеристикам биоткани, но и должно наблюдаться соответствие теплофизических свойств, в частности теплопроводности. При экспериментах на животных глубина локализации и концентрация вводимых наночастиц варьировалась путем использования различных способов введения частиц и обработки поверхности кожи: золотые наночастицы вводились внутрикожно, подкожно, после предварительной микроперфорации кожи и с использованием ультрафонофореза.

Размер нагретой области и площадь под кривой нагрева однозначно связаны с температурой в максимуме. Поэтому количественные оценки динамики нагрева проводились именно по температуре в центре облучаемого пятна.



а



б

Рис.9 а) Спектры обратного рассеяния модельного объекта, б) Динамика температуры при лазерной гипертермии для трех модельных образцов с различной концентрацией золотых наночастиц. 1 -  $1 \cdot 10^9$  мл<sup>-1</sup>, 2 -  $2.5 \cdot 10^9$  мл<sup>-1</sup>, 3 -  $5 \cdot 10^9$  мл<sup>-1</sup>

Показано, что существует зависимость между регистрируемым волоконно-оптическим спектрометром диффузным отражением исследуемого объекта, содержащего наночастицы, и величиной нагрева при лазерном облучении данного объекта в области плазмонного резонанса. Для

количественной оценки диффузного отражения объекта использовался критерий  $K_1$ .

Как для модельных объектов, так и в экспериментах на животных получено, что форма линии тренда является квадратичной. Гипотеза о наличии линии тренда принимается при уровне значимости  $\alpha=0.05$

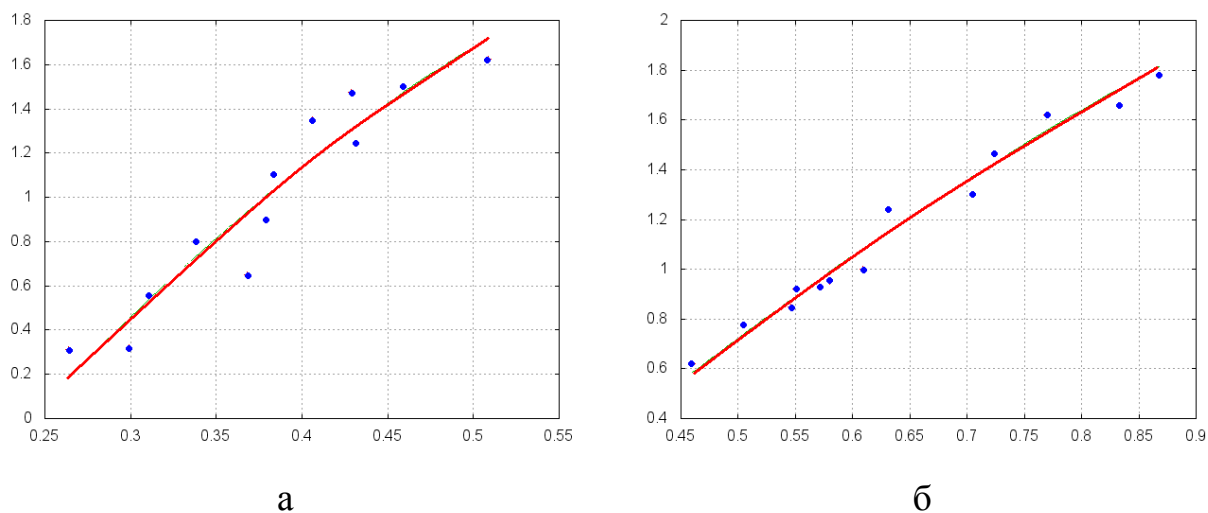


Рис. 10 Взаимосвязь скорости роста температуры и эффективной оптической плотности среды.

Наличие этой корреляции позволяет оптическими методами оценивать ожидаемую динамику нагрева образца, без непосредственного измерения температуры образца в ходе проведения лазерного воздействия.

### Основные результаты и выводы:

1. На основе компьютерного моделирования проанализированы закономерности изменения спектральных характеристик, регистрируемых волоконно-оптическим спектрометром, в зависимости от расстояния между волокнами и расстояния от торца волокна до поверхности объекта, а также от параметров исследуемого объекта.

2. Показано, что при изменении расстояния от торца волокна до поверхности объекта меняется соотношение между интенсивностью регистрируемого излучения в длинноволновой и коротковолновой частях спектра. Положение пиков спектральных кривых при этом не изменяется.

3. Выявлены параметры геометрии эксперимента с волоконно-оптическим спектрометром для решения задачи количественной оценки концентрации поглощающих типов наночастиц в биоткани (расстояние между центрами освещающего и приемного волокон 200 мкм, расстояние от торца волокна до поверхности объекта 100 мкм, отклонение оси волокна от нормали в пределах телесного угла 10 градусов не влияет на точность получаемых результатов).

4. Определена предельная глубина обнаружения наночастиц в биоткани в зависимости от их концентрации и оптических свойств биоткани.

5. Показано, что существует однозначная зависимость между регистрируемыми спектральными характеристиками объекта и эффективностью лазерного нагрева.

6. Предложена методика экспериментальной оценки предполагаемой эффективности нагрева на основе измерения спектров обратного светорассеяния.

#### **Список цитированных работ:**

1. Оптическая биомедицинская диагностика, под ред. В.В.Тучина, Москва, Физматлит, 1, 2, 2007
2. Синичкин Ю.П., Утц С.Р. In vivo отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека. Саратов, изд-во Сарат. ун-та, 2001.
3. Lilledahl M.B., Naugen O.A., Barkost M., Svaasand L.O. Reflection spectroscopy of atherosclerotic plaque // J. Biomed. Opt., Vol. 11, N. 2, 021005, 2006.

#### **Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

##### Статьи в изданиях перечня ВАК РФ

1. Максимова И.Л., Акчурин Г.Г., Скапцов А.А., **Ревзина Е.М.**, Рябухо В.П., Терентюк Г.С., Тучин В.В., Хлебцов Б.Н., Хлебцов Н.Г. Использование наночастиц для контрастирования злокачественных новообразований при оптических методах диагностики

(низкокогерентная томография, спектроскопия диффузного отражения) \\  
Российский биотерапевтический журнал. – 2008. - Т.7,№1. - С.30-42

2. Максимова И.Л., Акчурин Г.Г., Скапцов А.А., Терентюк Г.С., Хлебцов Б.Н., Акчурин Г.Г.мл., Ермолаев И.А., **Ревзина Е.М.**, Тучин В.В., Хлебцов Н.Г. Лазерный фототермолиз биотканей с использованием плазмонно- резонансных наночастиц \\  
Квантовая электроника. - 2008. - Т.38.,№6. - С. 536–542

#### Статьи и тезисы докладов

3. Garif G. Akchurin, Georgy G. Akchurin, Vladimir A. Bogatyrev, Lev A. Dykman, Igor A. Ermolaev, Irina L. Maksimova, **Elena M. Revzina**, Alexander A. Scaptsov, Georgy S. Terentyuk, Boris N. Khelbtsov. Application of plasmon resonant nanoshells and nanorods of gold for IR laser photothermal therapy of cancer in small animal. SPIE International Symposium “Photonics West 2008”, Technical program, San Jose, USA, 2008, p. 6845-44.
4. , Georgy S. Terentyuk, Vladimir A. Bogatyrev, Lev A. Dykman, Boris N. Khlebtsov, Nikolaj G. Khlebtsov,; Irina L. Maksimova, **Elena M. Revzina**, Nikita M. Ryskin, Ekaterina P. Soboleva, Leyla V. Suleymanova. Modeling the nonlinear dynamics of immunity at cancer treatment by interleukin-2 conjugate with gold nanoparticles. SPIE International Symposium “Photonics West 2008”, Technical program, San Jose, USA, 2008, p. 6855-20.
5. Максимова И.Л., Богатырев В.А., Тучин В.В., Дыкман Л.А., Хлебцов Н.Г., Хлебцов Б.Н., Акчурин Г.Г., Скапцов А.А., Терентюк Г.С., Ермолаев И.А., Акчурин Г.Г.мл, **Ревзина Е.М.** Разработка нанотехнологии лазерного селективного фототермолиза и контрастирования злокачественных новообразований на основе использования плазмонно-резонансных наночастиц \\  
Отчет по НИР рег. номер темы 0120.0 801037, инвентарный № 0220.0 800223 в ЦИТиС, 178с.
6. **Ревзина Е.М.**, Максимова И.Л. Разработка нового способа динамического моделирования опухолевого роста при лазерной

гипертермии\\ Отчет по НИР государственный контракт № 8758 р /13975 от 14 января 2011 года инвентарный № 02201163715 в ЦИТиС

7. **Ревзина Е.М., Скапцов А.А.** Влияние геометрии эксперимента на спектры обратного светорассеяния, измеряемые с помощью волоконно-оптических спектрометров\\ Альянс наук: вчений – вченому : матеріали VII Міжнар. наук.-практ. конф., Т. 5 : Наукові праці у галузях: біології, медицини, фізичної культури, техніки. – 2012. - С. 103–107.