

МИНОБРАЗОВАНИЯ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

**Исследование изменений оптических свойств биоткани под
действием температуры *ex vivo***

название темы выпускной квалификационной работы полужирным шрифтом

**АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ (МАГИСТЕРСКОЙ, ДИПЛОМНОЙ)
РАБОТЫ**

Студента(ки) 4 курса 4023 группы
направления
(специальности) 03.03.02

код и наименование направления (специальности)

Институт Физики

наименование факультета, института, колледжа

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель

проф. д.ф.-м.н. докт.
должность, уч. степень, уч. звание



дата, подпись

Г.А. Гелесина
инициалы, фамилия

Заведующий кафедрой

проф. д.ф.-м.н. д.т.н. докт. РАН
должность, уч. степень, уч. звание



дата, подпись

В.В. Тугин
инициалы, фамилия

Саратов 2025 год

Введение. В биомедицинской оптике ключевое значение имеет изучение того, как свет взаимодействует с живыми тканями. Эти особенности критически важны для диагностических методик, процедур фототерапии и лазерных хирургических вмешательств. Такие параметры, как коэффициенты рассеяния, поглощения и анизотропия рассеяния, определяют специфику взаимодействия света с тканями, включая его распространение, абсорбцию и диссипацию внутри биологических структур.

Температура – один из важнейших факторов, влияющих на оптические параметры тканей. Изменения температуры способны вызывать трансформации в структуре и молекулярной организации тканей, в том числе денатурацию протеинов, потерю жидкости, коагуляцию, а также изменение коэффициента рефракции внеклеточной среды. Данные процессы напрямую влияют на поведение света внутри ткани. Изучение температурного воздействия особенно значимо для задач термотерапии, фотокоагуляции и разработки методов термоконтроля при лазерном воздействии.

В настоящей работе исследуются изменения оптических характеристик биологической ткани при температурном воздействии в условиях *ex vivo*. Такой подход обеспечивает контроль над внешними переменными эксперимента, гарантируя повторяемость результатов и одновременно приближен к реальным биомедицинским сценариям. В качестве объектов исследования используются биологические ткани, имитирующие живые системы, подвергаемые нагреву в заданном температурном диапазоне.

Можно сделать вывод, что исследование изменения оптических свойств биоткани под действием температуры остается **актуальной** сегодня и будет оставаться в дальнейшем. Связано это, в первую очередь, с безопасностью пациентов и эффективностью дальнейшей диагностики и непосредственно лечения рака.

Целью данной работы является изучение изменений оптических свойств биоткани под действием температуры, таких как оптическая плотность и индекс гидратации сначала на моделях (фантамах), а затем дальнейшее сравнение с живой тканью.

Поставленная цель определила следующие *задачи*:

1. Провести анализ литературы, посвященной самой методике ФТТ, индексу гидратации и его подсчету, а также фантомам, их видам и методикам изготовления
2. Изготовление фантомов и проведение соответствующих экспериментов с ними
3. Анализ полученных данных с фантомов
4. Подсчет и анализ данных с крыс, подвергшихся температурному воздействию (ФТТ)
5. Выявить примерного содержания воды в биоткани с неизвестным содержанием воды в ней с помощью сравнительного анализа фантомов и биоткани
6. Сделать выводы

Структура работы определена задачами исследования, логикой раскрытия темы. Работа состоит из введения, двух глав, заключения и списка литературы.

Во введение по выбранной теме приведены обоснование актуальности, цели и задачи выбранной темы.

В первой главе рассматривается методика ФТТ и методы для улучшения диагностики, включающие в себя изготовление фантомов и подсчет индекса гидратации для выявления примерного количества воды в биоткани.

Во второй главе описываются все методы и материалы работы (изготовление фантомов, экспериментов, расчета индекса гидратации)

В третьей главе с помощью экспериментальных данных делается подсчет всех необходимых величин и на основе полученных графиков делается вывод о состоянии биоткани.

В заключении приведены основные результаты данной работы.

Основная часть.

Глава 1. Современные методы фототерапии рака

1.1. Определение понятия «ФТТ»

Фототермическая терапия (ФТТ) — это метод лечения раковых заболеваний, основанный на способности некоторых веществ нагреваться при облучении светом определённой длины волны. Данный метод получает всё большее распространение благодаря возможности локального воздействия на раковые клетки в сочетании с доступностью биосовместимых препаратов. Принцип действия ФТТ заключается в доставке фототермического препарата к клеткам опухоли по кровеносным сосудам с последующим облучением лазером, что приводит к нагреванию препарата и гибели опухолевых клеток. ФТТ выделяется среди других методов лечения рака минимальной инвазивностью и способностью прицельно воздействовать на злокачественные клетки, минимизируя повреждение здоровых тканей. Важными факторами, определяющими эффективность метода, являются концентрация наночастиц в опухоли, эффективность преобразования световой энергии в тепло и применяемая доза облучения.

1.1.1. Механизм действия ФТТ на ткани

Механизм ФТТ основан на поглощении световой энергии и её трансформации в тепло. Наночастицы, используемые как фототермические

агенты (ФТА), преобразуют поглощённый свет в тепло посредством электронного резонанса. ФТА делятся на неорганические (наночастицы благородных металлов, углеродные наноматериалы) и органические (красители, полимерные наночастицы). Различные типы золотых наночастиц (наносферы, нанооболочки, наностержни, наноклетки) применяются для термосенсибилизации тканей злокачественных новообразований. После накопления золотых наночастиц в опухоли на неё воздействуют лазерным излучением с длиной волны, соответствующей плазмонному резонансу наночастиц, что приводит к интенсивному нагреву и термолизу раковых клеток. В ФТТ применяется ближний инфракрасный (NIR) свет в диапазонах NIR-I (750–1000 нм) и NIR-II (1000–1700 нм), обеспечивающий глубокое проникновение в ткани.

1.1.2. Клинический потенциал ФТТ

Показания к применению ФТТ включают:

- Местно-распространенные опухоли на поверхности тела, когда хирургическое удаление невозможно
- Рецидивы или метастазы, если их размер и расположение позволяют провести лазерную гипертермию
- Перифокальное воспаление вокруг кожных новообразований
- Восстановление проходимости пищевода и трахеобронхиального дерева

Противопоказания:

- Тяжелое общее состояние пациента (индекс Карновского менее 40)
- Невозможность обеспечить адекватный нагрев всей массы опухолевой ткани
- Риск эрозивного кровотечения

1.1.3. Биологические эффекты ФТТ

Гипертермия оказывает деструктивное воздействие на клетки на различных уровнях. Тепловое воздействие ослабляет водородные и ионные связи в

составе белков, деформируя их трехмерную структуру. Раковые ткани отличаются от здоровых повышенной кислотностью из-за недостаточного кровоснабжения и активного анаэробного гликолиза, что делает их более чувствительными к тепловому воздействию. Гипертермия нарушает работу мембранных белков, подавляет синтез биополимеров (белков, ДНК и РНК) и приводит к дисфункции цитоскелета. В зависимости от интенсивности нагрева, эти повреждения могут быть восстановлены или привести к некрозу или апоптозу клеток.

1.1.4. Денатурация, коагуляция, карбонизация

Денатурация — нарушение нативной конформации белка с сохранением его первичной структуры. Полипептидная структура разворачивается и преобразуется в неупорядоченную конфигурацию, что приводит к утрате исходных физико-химических характеристик и биологической активности белка.

Коагуляция — физико-химический процесс слипания мелких частиц дисперсных систем в более крупные агрегаты, который может быть спровоцирован изменением температурного режима.

Карбонизация — процесс изменения органических остатков, при котором уменьшается содержание водорода и кислорода и увеличивается количество углерода, инициируемый тепловым воздействием.

1.2. Индекс гидратации

Индекс гидратации является важным показателем состояния биоткани, изменяющимся под воздействием температуры. Термическое воздействие может вызвать повреждение здоровых клеток, сопровождающееся отёчностью, покраснением, ожогами и даже некрозом тканей. Для предотвращения таких последствий важно уметь оценивать индекс гидратации тканей.

Существуют различные оптические методы определения индекса гидратации:

- Диффузионная отражательная спектроскопия (DRS) — анализ отражённого рассеянного света в ближнем ИК диапазоне (1400-1530 нм и >1600 нм)
- Оптоакустическая спектроскопия и томография — количественная оценка содержания воды на большей глубине тканей
- Гиперспектральная визуализация — получение карт распределения воды на поверхности кожи
- Раман-спектроскопия — высокоспецифичное определение индекса гидратации по характерным пикам

1.2.1. Связанная и свободная вода в тканях

В биологических тканях вода присутствует в нескольких состояниях с различной подвижностью: жёсткосвязанная, сильносвязанная, слабосвязанная и несвязанная вода.

Связанная вода играет важную роль в поддержании структуры, обеспечивая стабильность коллоидных систем и оптимальную активность ферментов, органелл и клеток. Эта форма воды характеризуется ограниченной подвижностью, не участвует активно в процессах растворения и транспортировки веществ, имеет более низкую температуру замерзания и повышенную температуру кипения по сравнению со свободной водой.

1.3. Влияние температуры на оптические параметры

Температурное воздействие вызывает изменения оптических параметров биотканей, включая коэффициенты поглощения и рассеяния, показатель преломления и анизотропию рассеяния. Эти изменения связаны с денатурацией белков, испарением воды и структурными трансформациями в ткани.

1.4. Определение понятия фантомы

Фантомы — искусственно созданные объекты, имитирующие оптические свойства биотканей. Они позволяют проводить стандартизированные исследования без использования живых тканей.

1.4.1. Виды фантомов

Существуют различные виды фантомов:

- Жидкостные — основаны на водных растворах с добавлением рассеивающих и поглощающих агентов
- Гелевые — изготавливаются на основе агарозы, желатина или силикона
- Твёрдые — изготавливаются из полимерных материалов с добавлением оптических модификаторов

1.4.2. Плюсы и минусы использования фантомов

Преимущества фантомов:

- Воспроизводимость результатов
- Безопасность и отсутствие этических ограничений
- Возможность моделирования различных условий

Недостатки:

- Невозможность полностью воспроизвести сложную структуру живой ткани
- Ограниченный срок хранения некоторых типов фантомов
- Сложность имитации динамических процессов, происходящих в живых тканях

Глава 2. Методы и материалы

2.1. Изготовление оптических фантомов

Для моделирования биотканей были изготовлены гелевые фантомы с различным содержанием воды и оптических добавок. В качестве основы использовался агарозный гель, в который добавлялись рассеивающие и поглощающие компоненты для имитации оптических свойств биологических тканей. Концентрация компонентов варьировалась для создания фантомов с различными оптическими характеристиками.

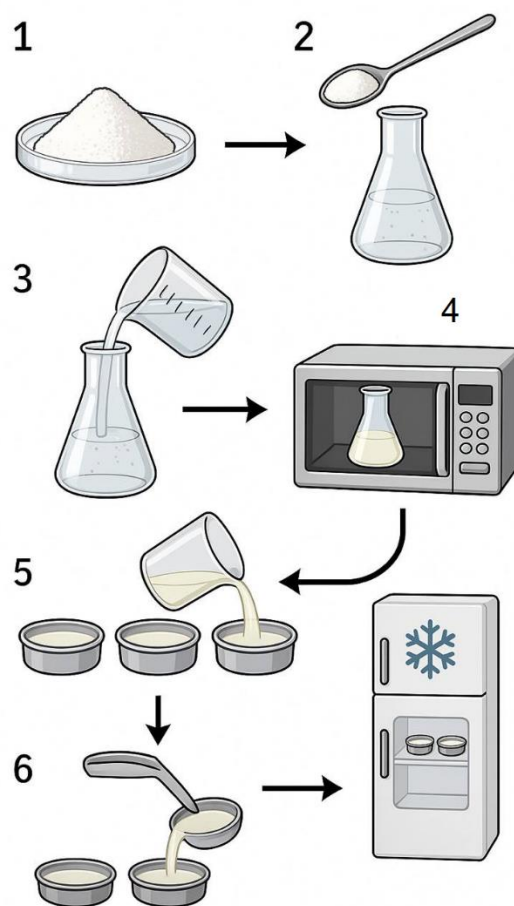


Рисунок 4- Схема изготовления фантомов: 1-взвешивание сухих компонентов, 2-добавление сухих компонентов в пробирку, 3-добавление воды и глицерина в пробирку, 4-нагревание, 5-заливание получившегося раствора в формы, 6-помещение форм в холодильную камеру

2.2. Измерение спектров тратнения

Спектры отражения регистрировались с помощью спектрометрической системы в ближнем ИК-диапазоне. Измерения проводились до и после нагрева фантомов для фиксации изменений оптических характеристик. Использовалась стандартизированная методика с контролем расстояния между образцом и детектором, а также угла падения света.

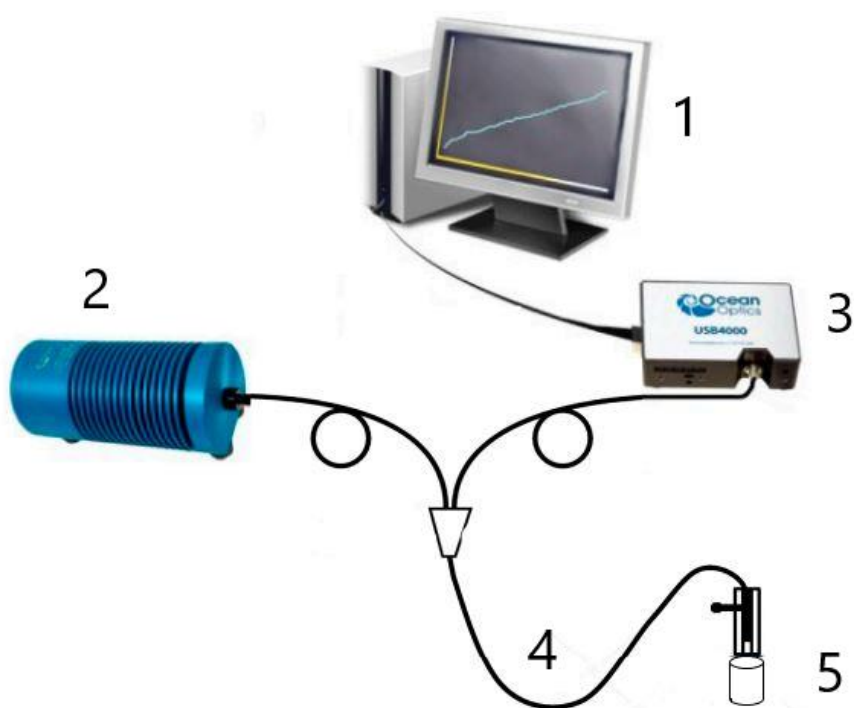


Рисунок 5 - Схема установки: 1 – компьютер, 2 - галогенная лампа, 3 - спектрометр, 4 -волоконно-оптический зонд, 5 - фантом[2]

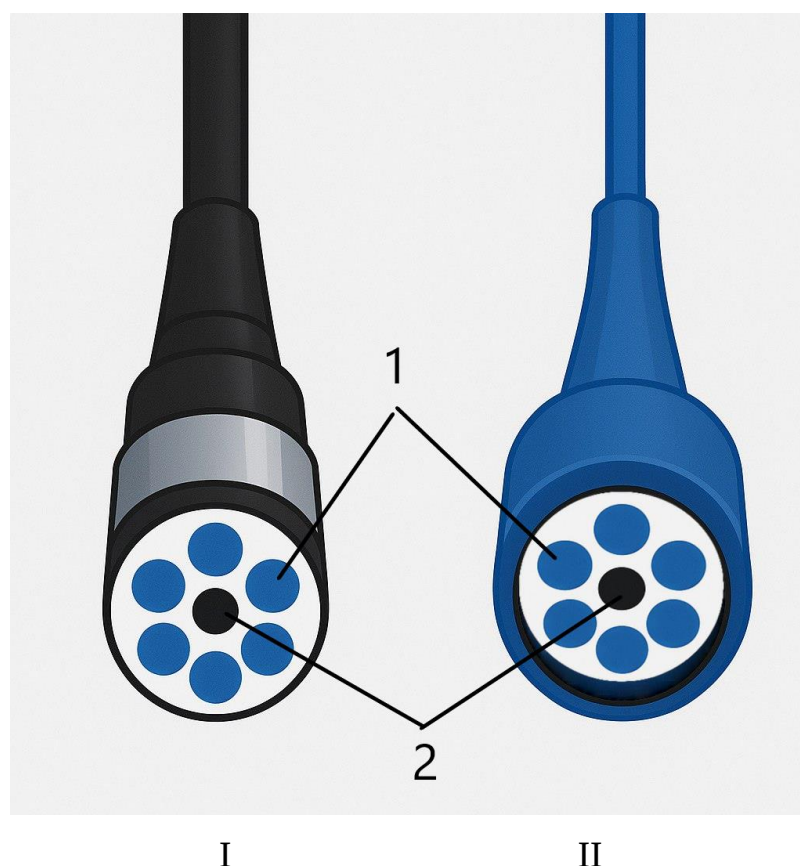


Рисунок 3 - Волоконно -оптические зонды (I и II): 1 – источники, 2 – детектор

2.3. Расчёт индекса гидратации

Индекс гидратации рассчитывался на основе анализа спектров отражения в диапазонах, характерных для поглощения воды. Применялись стандартные формулы, учитывающие интенсивность отражённого света на определённых длинах волн, соответствующих пикам поглощения воды и референсным областям спектра.

Эффективная оптическая плотность (OD) рассчитывалась по формуле:

$$OD = -\lg(R) \quad (1)$$

$$H = \frac{OD(\lambda)}{OD_{1100\text{нм}}} \quad (2)$$

где $OD(\lambda)$ — оптическая плотность на длине волны λ , $OD_{1100\text{нм}}$ — оптическая плотность на длине волны 1100 нм

2.4. Тестирование методики на биологических объектах

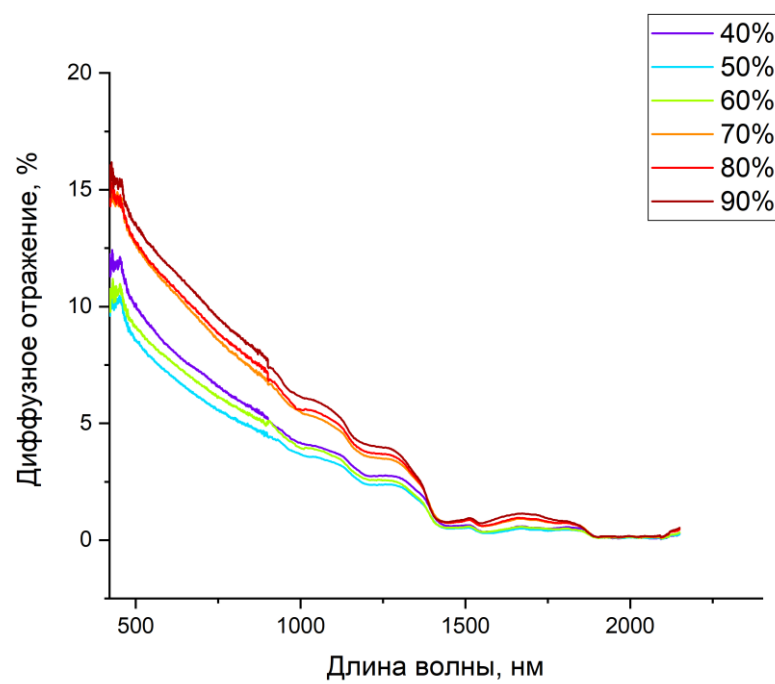
Разработанная методика была апробирована на образцах кожи лабораторных крыс, подвергавшихся контролируемому нагреву. Измерения проводились аналогично экспериментам с фантомами, что позволило сравнить изменения оптических параметров у моделей и реальных тканей и оценить применимость разработанного подхода для анализа биологических объектов.

Глава 3. Результаты и обсуждение

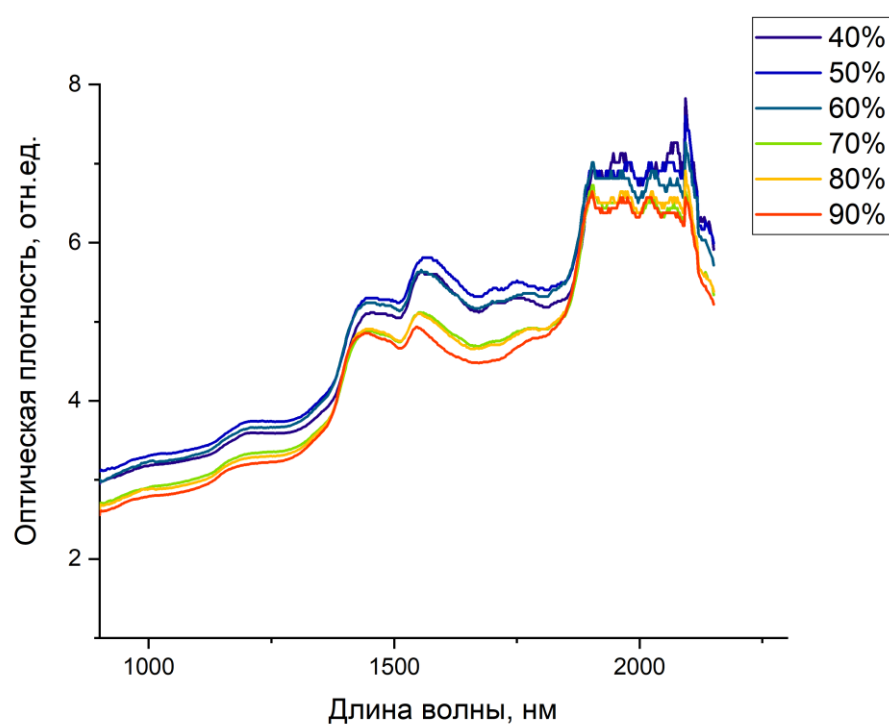
3.1. Индекс гидратации фантомов

В ходе экспериментов с фантомами было выявлено, что при нагреве происходит снижение оптической плотности и индекса гидратации, что связано с испарением воды и изменением структуры геля. Полученные зависимости использовались для калибровки методики и последующего применения к биотканям.

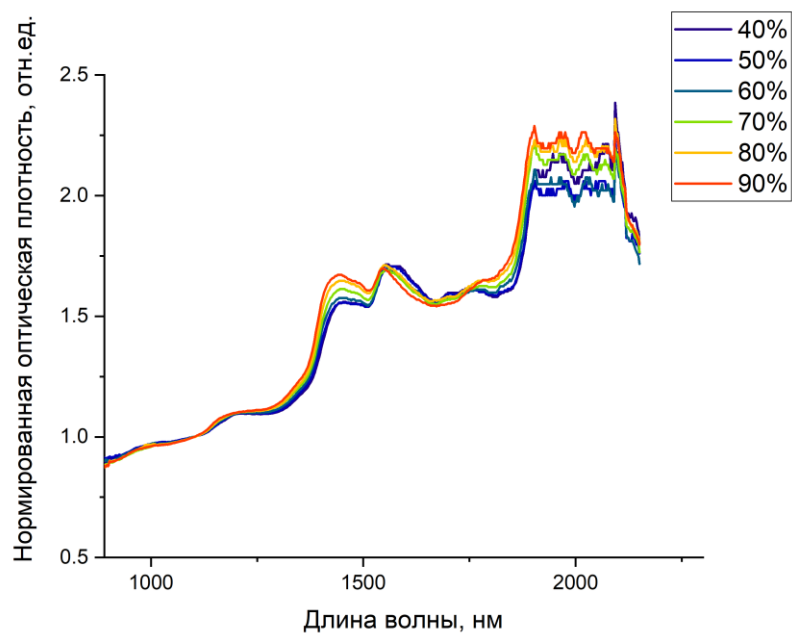
На рисунках 8(а,б,в) представлены результаты обработки, полученные с I датчика –



a

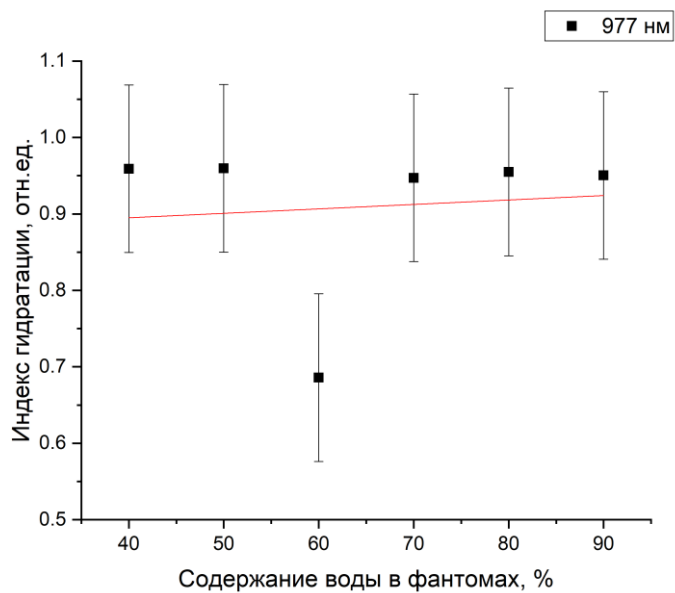


б

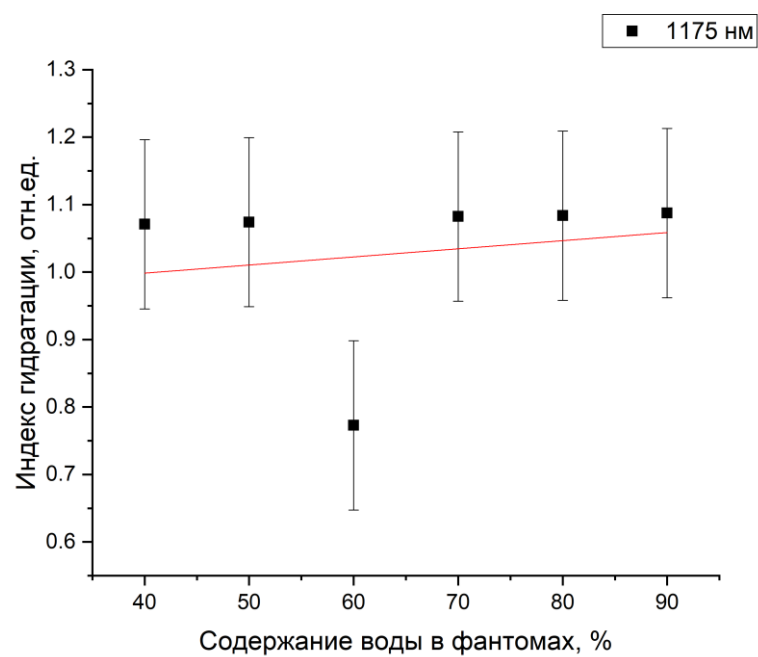


б

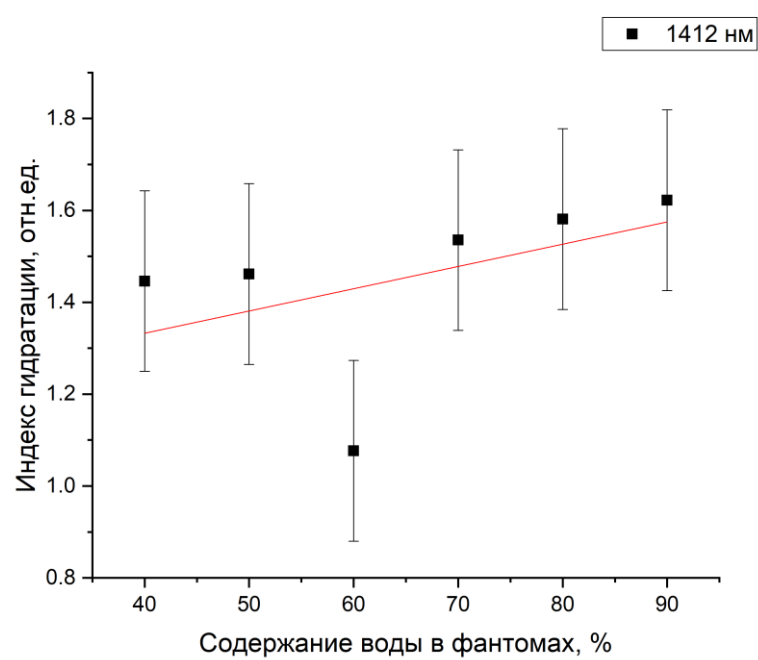
Рисунок 8 - Результаты обработки спектров диффузного отражения, а - исходный спектр диффузного отражения, б – оптическая плотность, в – нормированная оптическая плотность



a



б

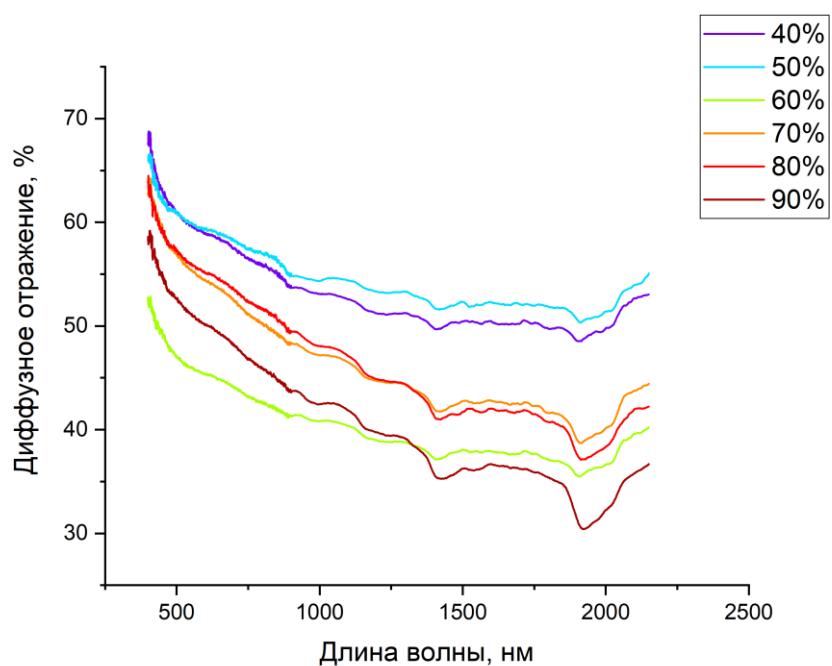


в

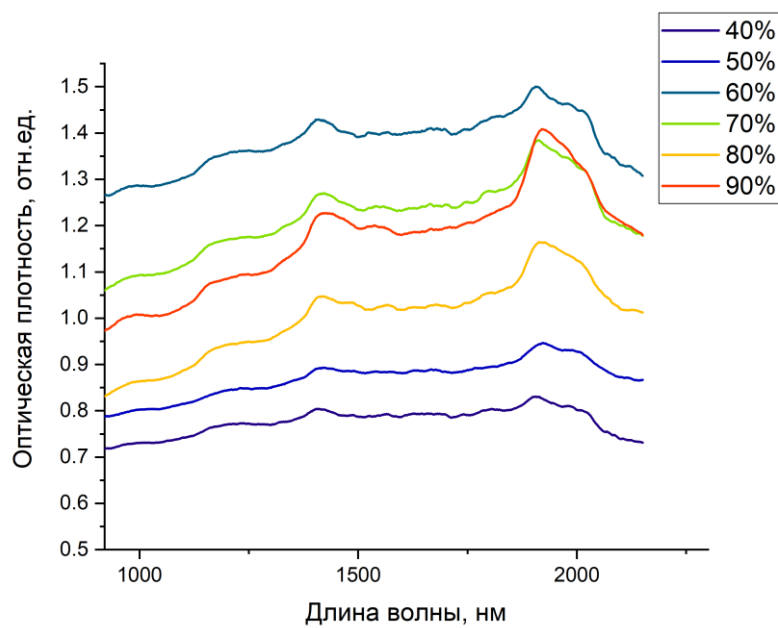
Рисунок 9 - Индексы гидратации: а – 977 нм, б – 1175 нм, в – 1412 нм

На рисунке 10 показаны результаты обработки, полученные с помощью

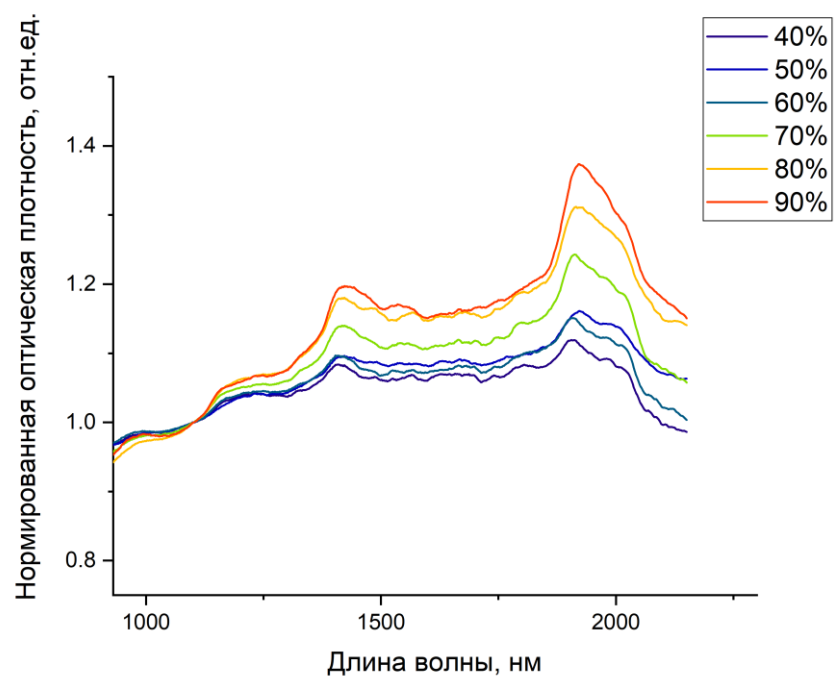
II датчика



a

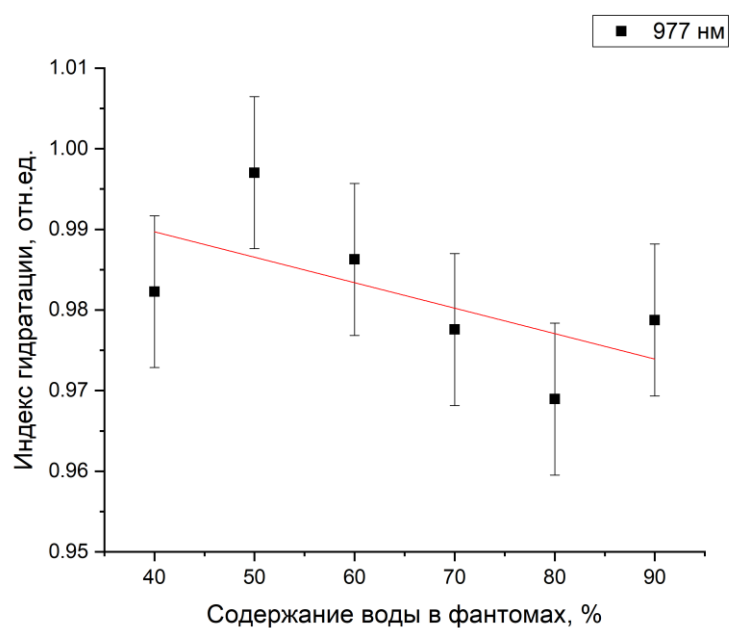


б

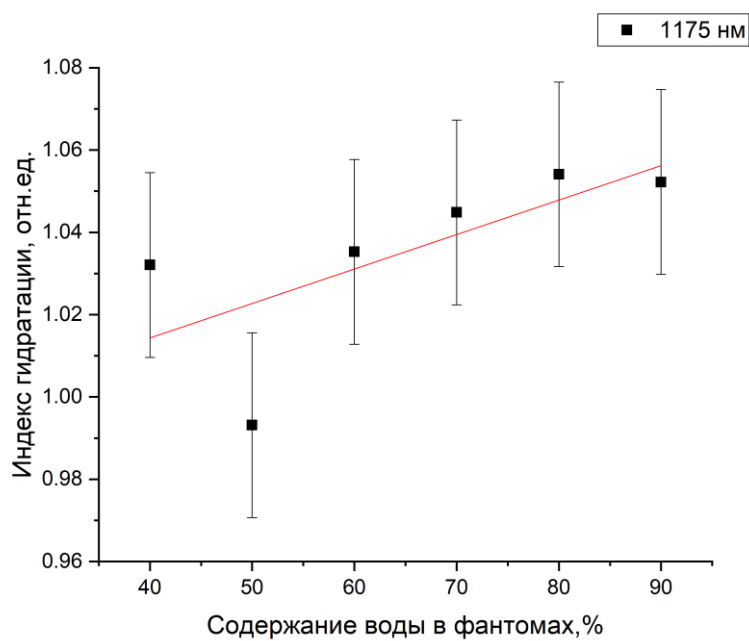


в

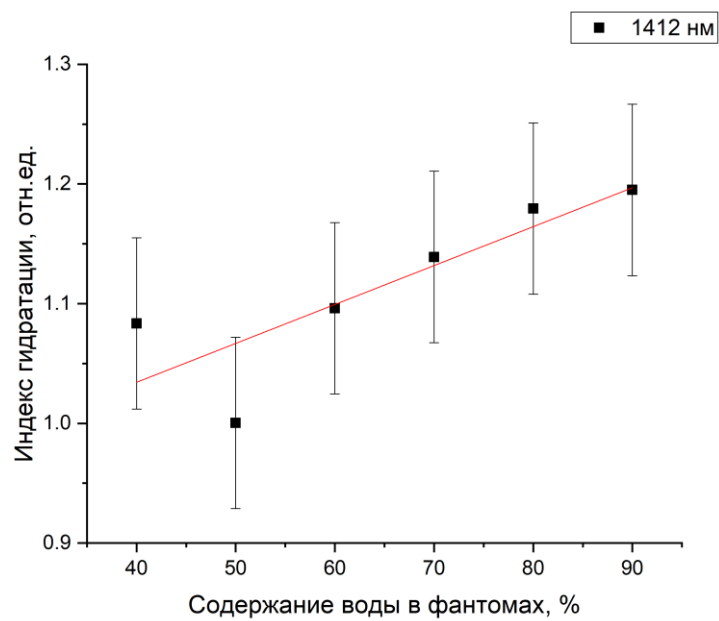
Рисунок 10 - Результаты обработки спектров диффузного отражения: а – исходный спектр диффузного отражения, б – оптическая плотность, в – нормированная оптическая плотность



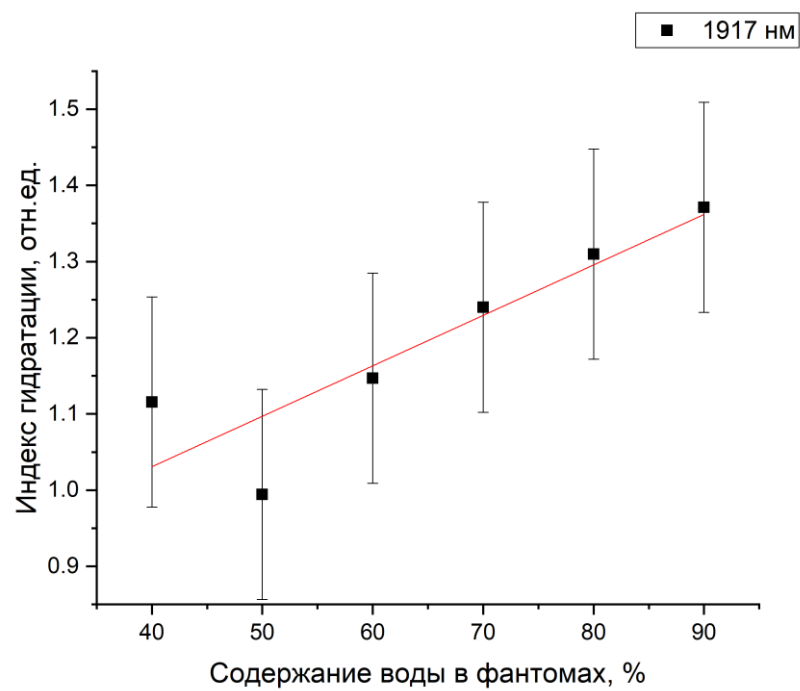
a



б



б

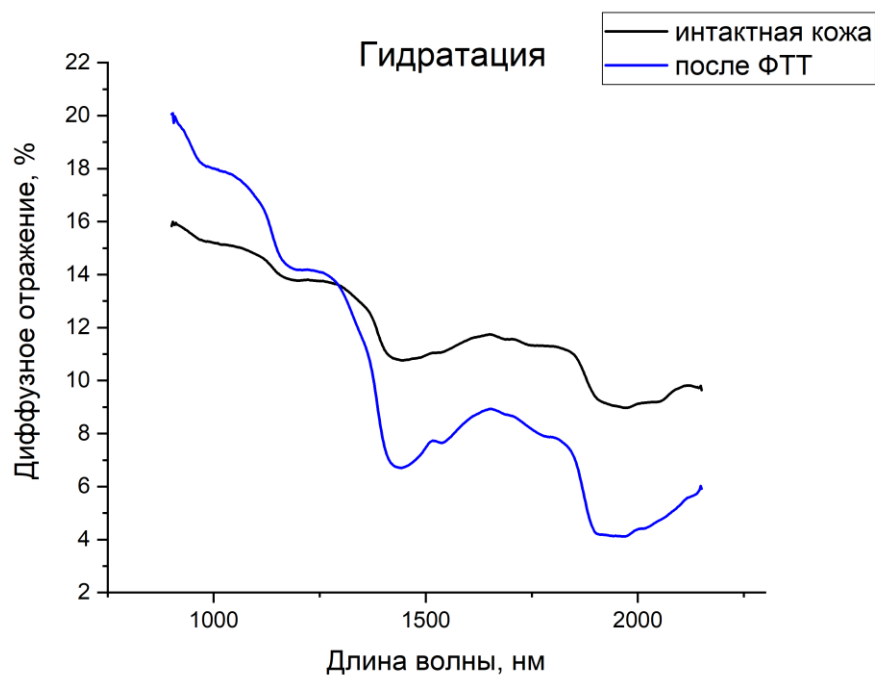


г

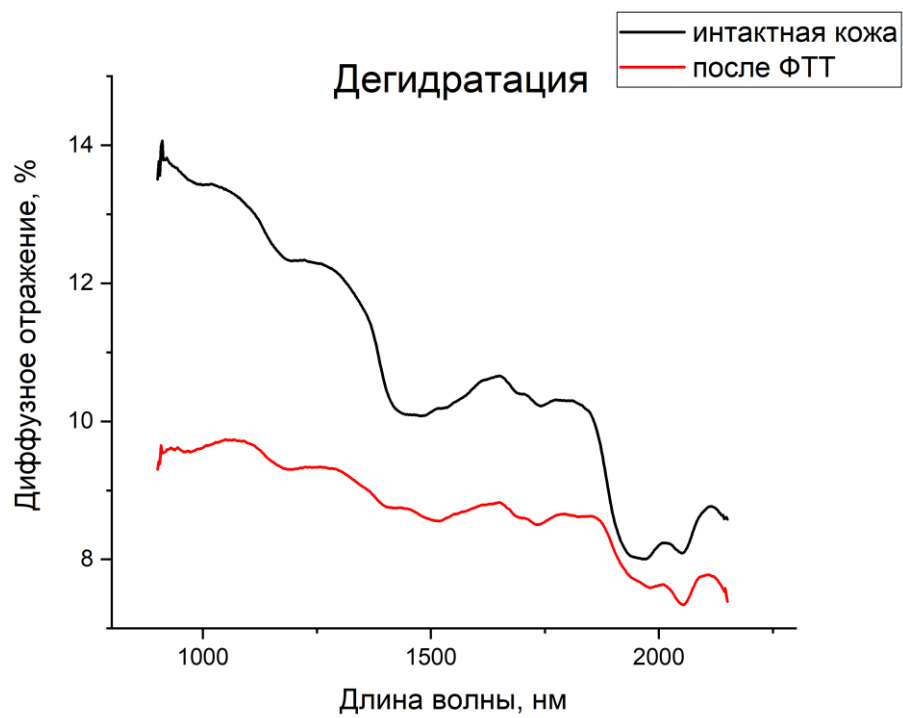
Рисунок 11 - Индексы гидратации: а – 977 нм, б – 1175 нм, в – 1412 нм, г – 1920 нм

3.2. Индекс гидратации кожи

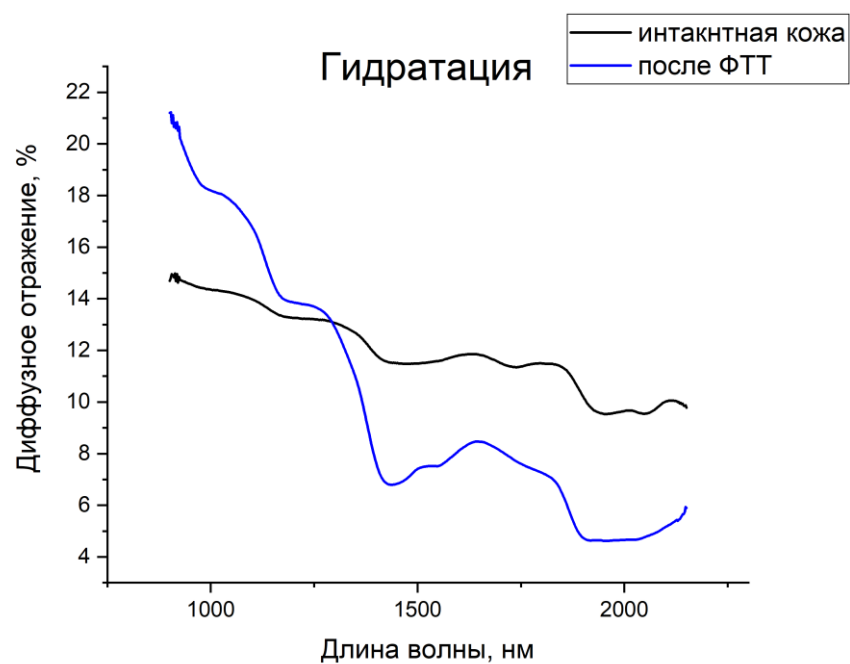
Эксперименты на коже крыс показали аналогичное снижение индекса гидратации с ростом температуры. Это свидетельствует о потере воды и структурных изменениях ткани под действием нагрева. Сравнение с фантомами позволило количественно оценить содержание воды в биоткани с неизвестной гидратацией



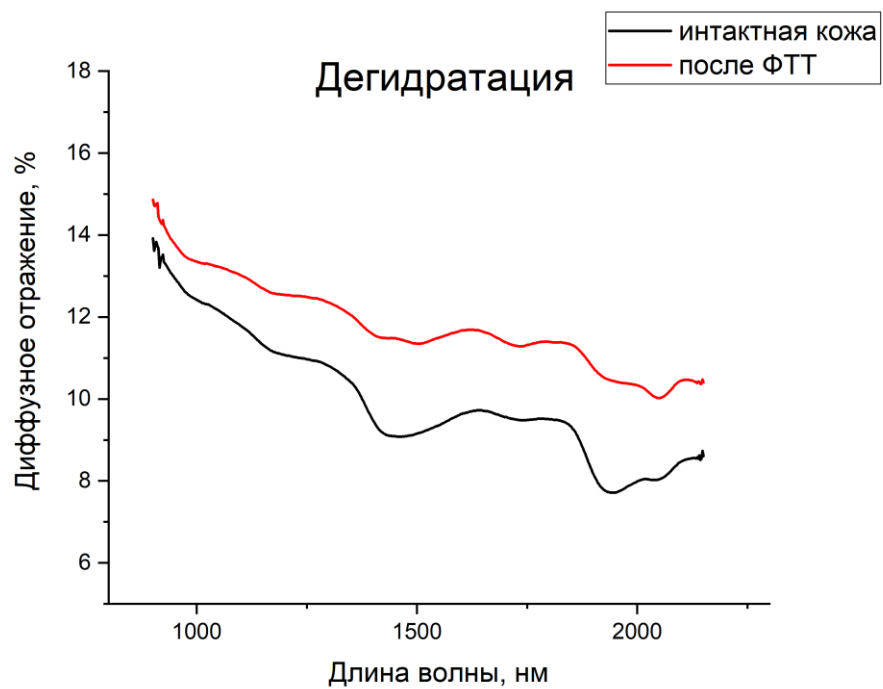
a



б

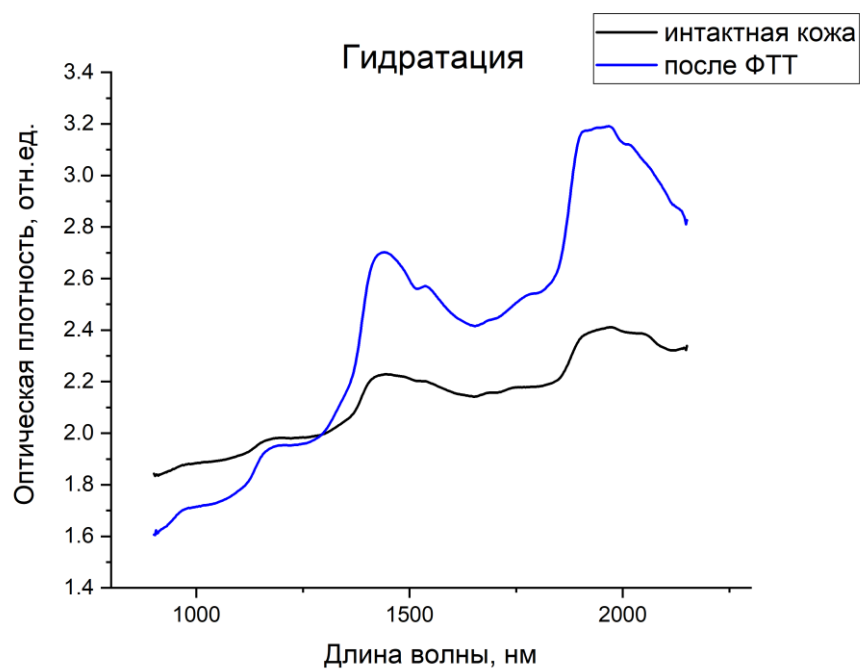


в

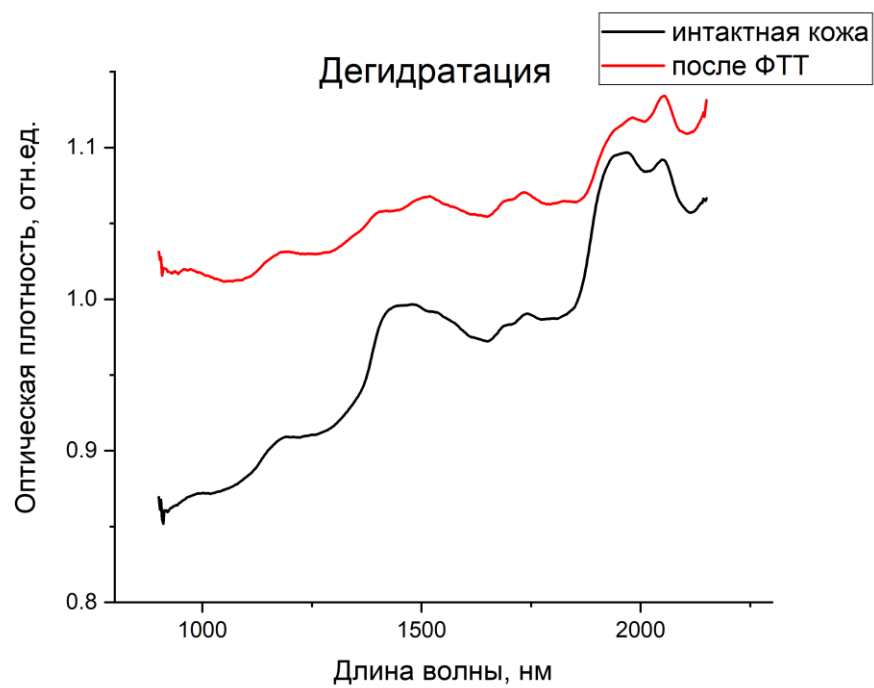


с

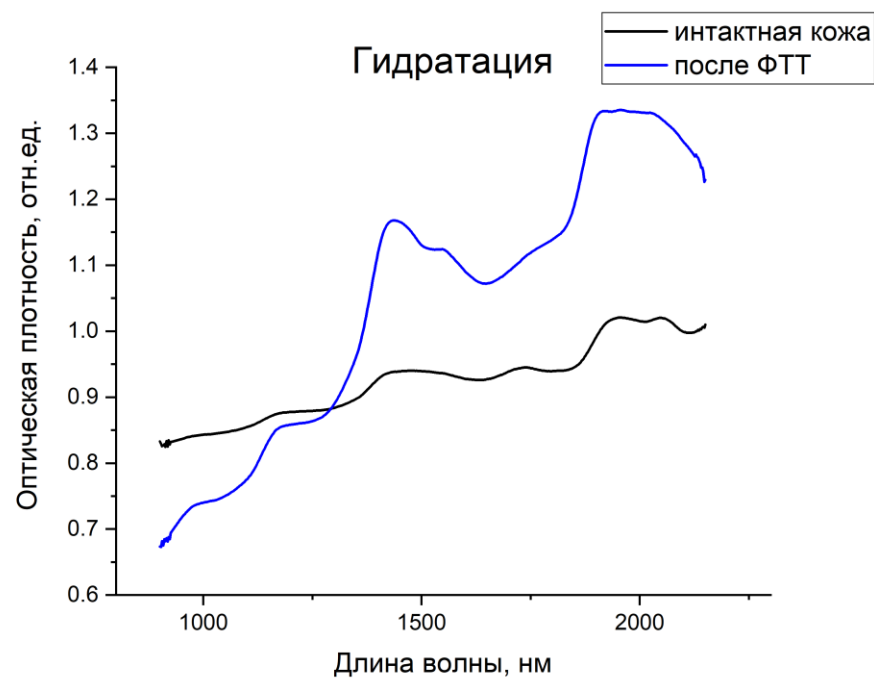
Рисунок 12 - Спектры диффузного отражения кожи опухоли: а – крыса 1, б – крыса 2, в,г – крыса 3



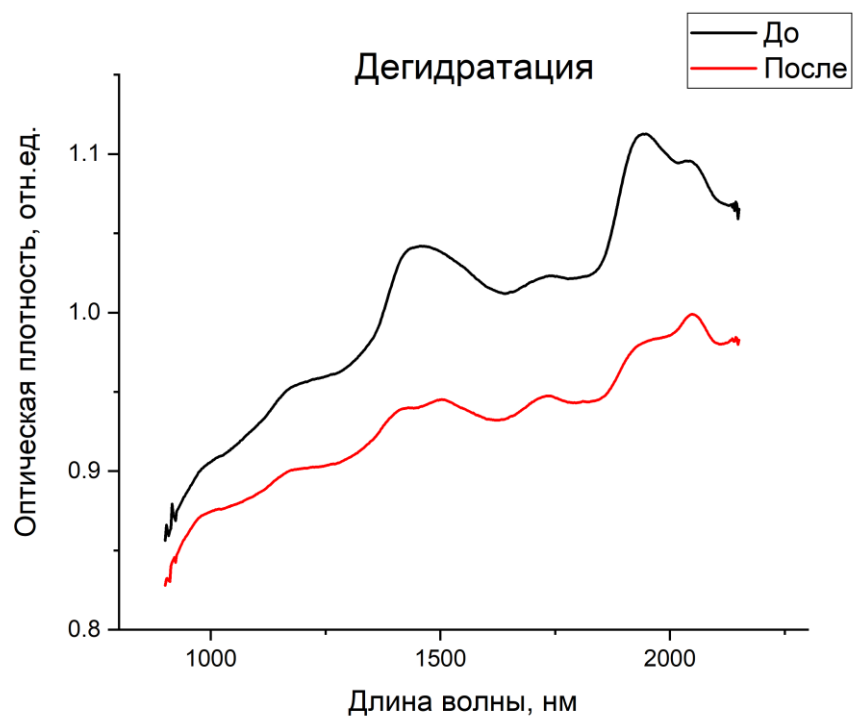
a



б

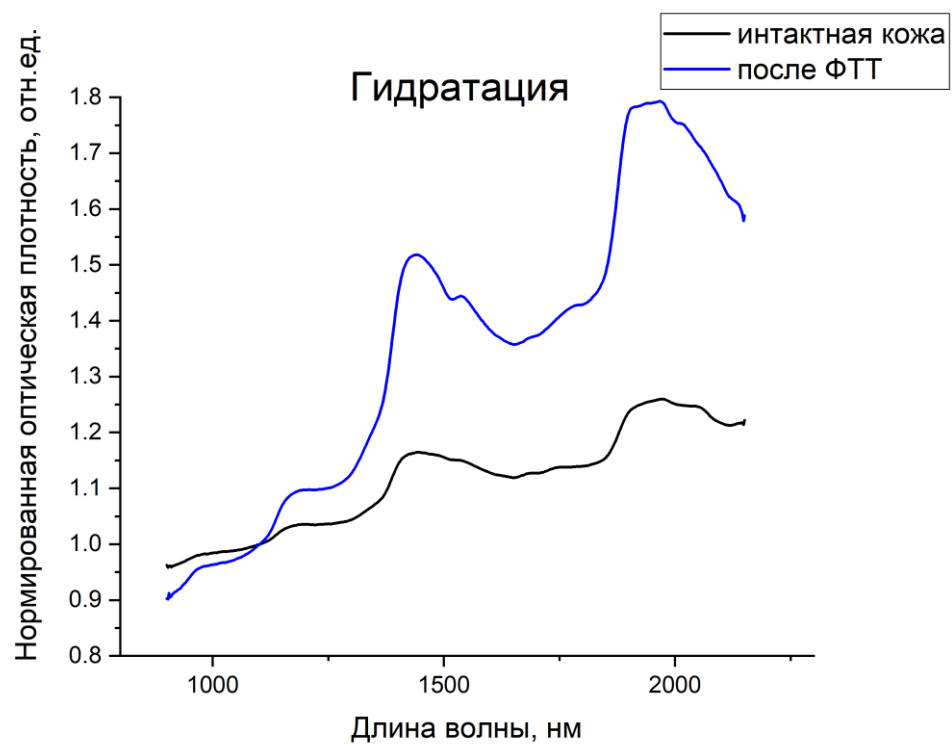


в

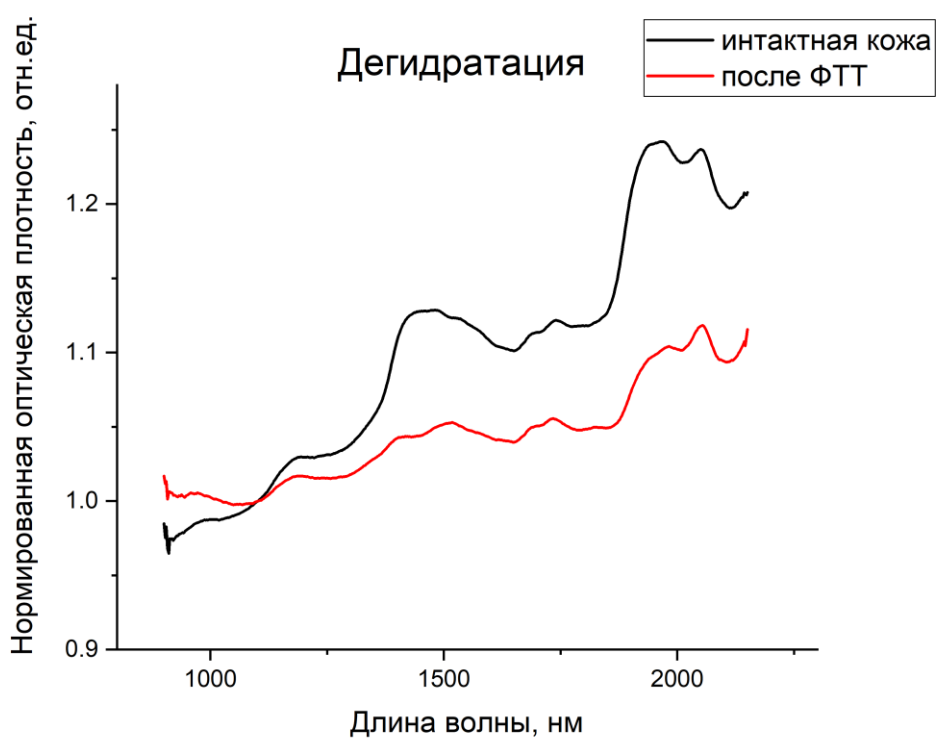


2

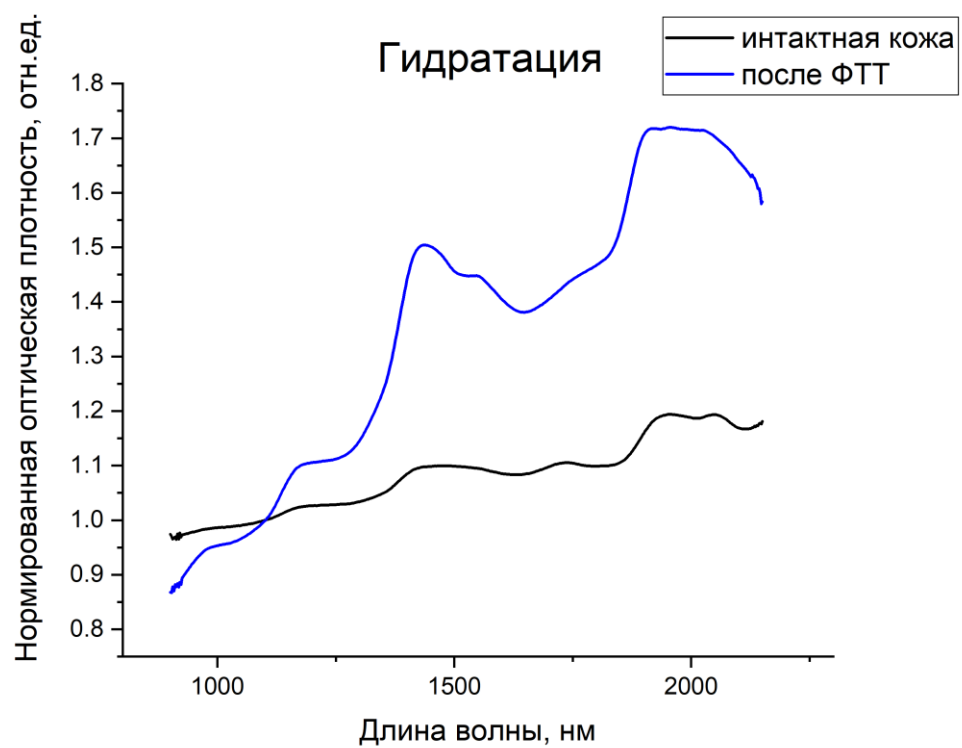
Рисунок 13 - Оптическая плотность: а – крыса 1, б – крыса 2, в,г – крыса 3



a



б



в

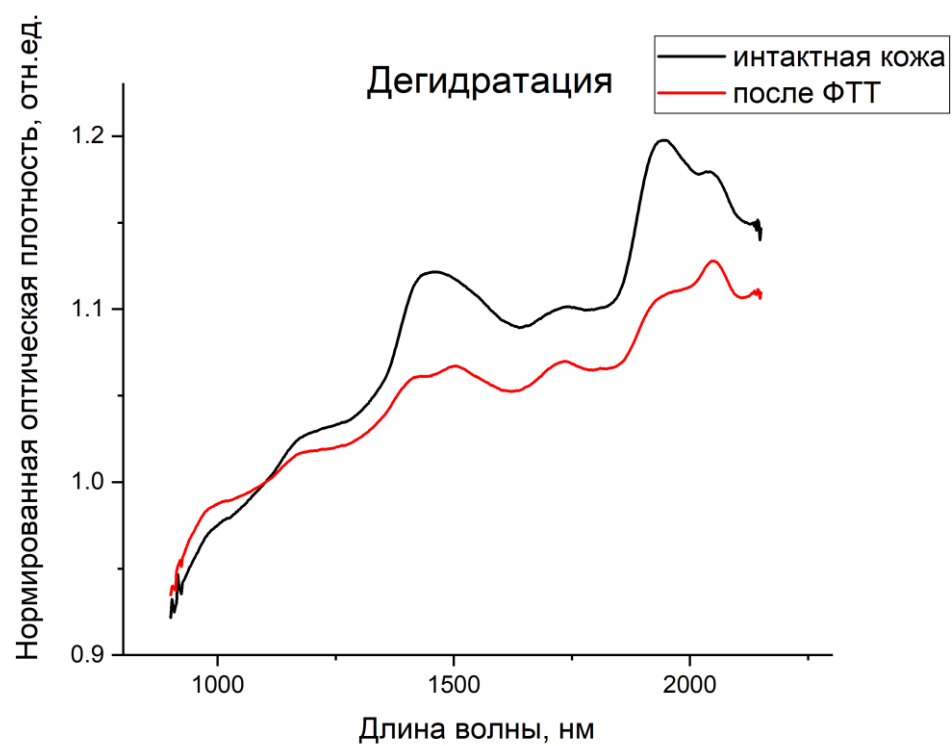
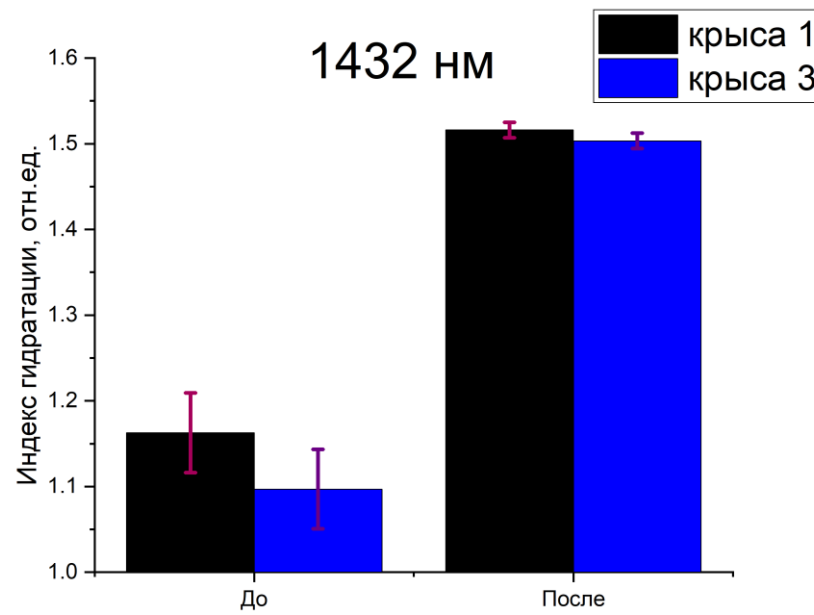
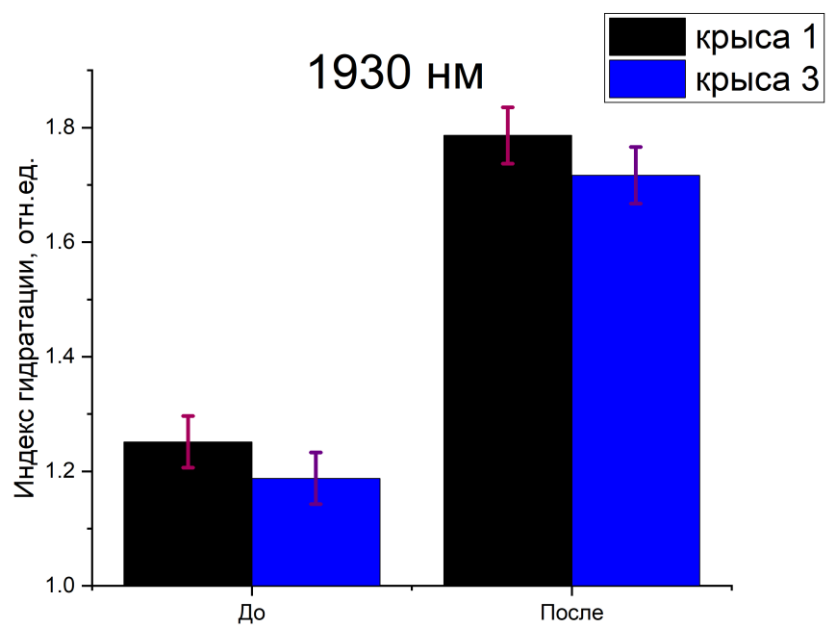


Рисунок 14 - Нормированная оптическая плотность: а – крыса 1, б – крыса 2, в,г – крыса 3

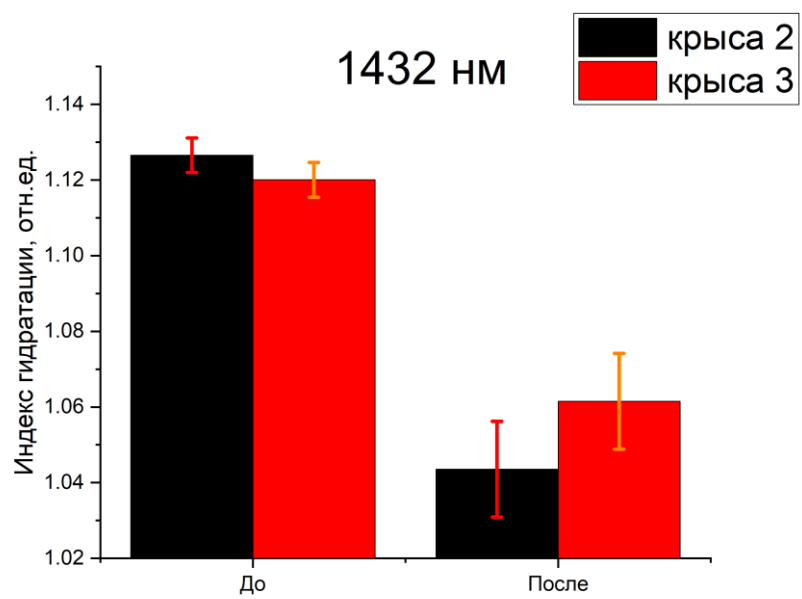


a

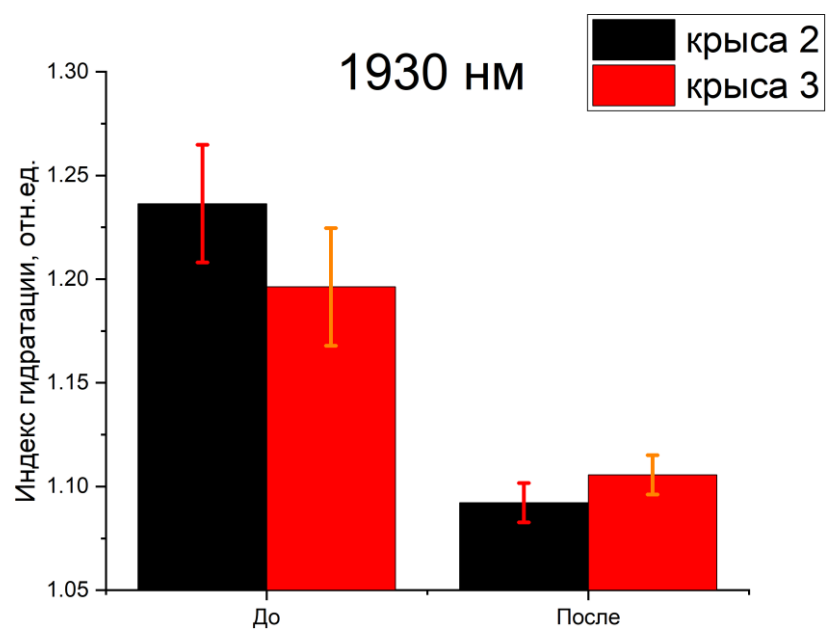


б

Рисунок 15 - Индексы гидратации крыс 1(черный), 3(красный) а – 1432 нм, б – 1930 нм



a



б

Рисунок 16 - Индексы гидратации крыс 2(черный), 3(красный) а – 1432 нм,
б – 1930 нм

Заключение. В ходе проведённой работы были исследованы изменения оптических свойств биологических тканей под воздействием температуры в условиях *ex vivo*. Экспериментальная часть включала изготовление оптических фантомов, моделирующих биоткани, и проведение серии измерений отражательных спектров в заданном температурном диапазоне. На основе полученных данных был рассчитан индекс гидратации как для фантомов, так и для образцов биоткани, что позволило проследить динамику изменения содержания воды в процессе термического воздействия. Анализ результатов показал, что повышение температуры приводит к существенным изменениям оптических параметров тканей, в первую очередь — к снижению индекса гидратации и изменению оптической плотности. Эти изменения обусловлены физико-химическими процессами, такими как денатурация белков, коагуляция и частичная дегидратация, что подтверждается литературными данными и экспериментальными наблюдениями. Сравнение экспериментальных данных, полученных на фантомах и биологических образцах, позволило выявить количественные закономерности изменения оптических свойств и подтвердить применимость выбранной методики для оценки состояния тканей. Полученные результаты имеют практическое значение для оптимизации параметров фототермической терапии и других методов термовоздействия в биомедицинской оптике. Разработанная методика может быть использована для неинвазивной оценки состояния тканей, прогнозирования их поведения при термическом воздействии, а также для повышения безопасности и эффективности клинических процедур. В заключение, проведённое исследование подтвердило актуальность и перспективность изучения температурных изменений оптических свойств биотканей. Полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований в области разработки новых диагностических и

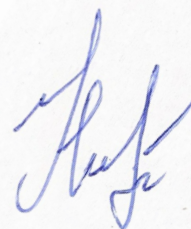
терапевтических подходов, а также для совершенствования методов контроля и мониторинга состояния биотканей в клинической практике

Список использованных источников.

1. Bucharskaya A.B., Khlebtsov N.G., Khlebtsov B.N., Maslyakova G.N., Navolokin N.A., Genin V.D., Genina E.A., Tuchin V.V. Photothermal and Photodynamic Therapy of Tumors with Plasmonic Nanoparticles: Challenges and Prospects // *Materials*. – 2022. – Vol. 15. – № 1606. – DOI: 10.3390/ma15041606.
2. Hou Y., Yang X., Liu R., Zhao D., Guo C., Zhu A., Wen M., Liu Z., Qu G., Meng H. Pathological Mechanism of Photodynamic Therapy and Photothermal Therapy Based on Nanoparticles // *Int J Nanomedicine*. – 2020. – Vol. 15. – P. 6827–6838. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S269321>.
3. Songca S.P. Combinations of Photodynamic Therapy with Other Minimally Invasive Therapeutic Technologies against Cancer and Microbial Infections // *Int J Mol Sci*. – 2023. – Jun 29. – Vol. 24. – № 13. – P. 10875. – DOI: 10.3390/ijms241310875.
4. Elbially N., Abdelhamid M., Youssef T. Low power argon laser-induced thermal therapy for subcutaneous Ehrlich carcinoma in mice using spherical gold nanoparticles // *J. Biomed Nanotechnol*. – 2010. – Vol. 6. – P. 687–693.
5. Hirsch L.R., Stafford R.J., Bankson J.A., Sershen S.R., Rivera B., Price R.E., Hazle J.D., Halas N.J., West J.L. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2003. – Vol. 100. – P. 13549–13554.
6. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Afanasyeva G.A., Terentyuk G.S., Navolokin N.A., Zlobina O.V., Chumakov D.S., Bashkatov A.N., Genina E.A., Khlebtsov N.G., Khlebtsov B.N., Tuchin V.V. The morpho-functional assessment of plasmonic photothermal therapy effects on transplanted liver tumor // *J. Innov. Opt. Health Sci*. – 2015. – Vol. 8. – № 1541004.

7. Xia Y., Li W., Cobley C.M., Chen J., Xia X., Zhang Q., Yang M., Cho E.C., Brown P.K. Gold nanocages: from synthesis to theranostic applications // *Acc. Chem. Res.* – 2011. – Vol. 44. – № 10. – P. 914–924.
8. Overchuk M., Weersink R.A., Wilson B.C., Zheng G. Photodynamic and Photothermal Therapies: Synergy Opportunities for Nanomedicine // *ACS Nano.* – 2023. – May 9. – Vol. 17. – № 9. – P. 7979–8003. – DOI: 10.1021/acsnano.3c00891.
9. Генфольд М.Л., Барчук А.С. Лазерная селективная гипертермия в лечении злокачественных новообразований. – СПб., 2002. – 13 с.
10. Leeper D.B. Molecular and cellular mechanisms of hyperthermia alone or combined with other modalities // *Hyperthermic oncology* / ed. by J. Overgaard. – London: Taylor and Francis, 1984. – P. 9–40.
11. Dickson J.A., Calderwood S.K. Thermosensitivity of neoplastic tissues in vivo // *Hyperthermia in cancer therapy* / ed. by F.K. Storm. – Boston: Hall medical publishers, 1983. – P. 63–140.
12. Fuhr J.E. Effect of hyperthermia on protein biosynthesis in L5178Y murine leukemic lymphoblasts // *J. Cell Physiol.* – 1974. – № 3. – P. 365–372.
13. Optical Based Methods for Water Monitoring in Biological Tissue.
14. Darvin M.E., Choe C.S., Schleusener J., Lademann J. In vivo non-invasive determination of the water concentration and water bonding properties in the human stratum corneum using confocal Raman microspectroscopy (mini-review) // *Quantum Electronics.* – 2021. – Vol. 51. – № 1. – P. 28–32.
15. Popp J., Tuchin V.V., Chiou A., Heinemann S.H. (Eds.) *Handbook of Biophotonics: Photonics for Health Care.* – Weinheim: Wiley-VCH, 2012.
16. Kennedy G.T. et al. Solid tissue simulating phantoms having absorption at 970 nm for diffuse optics // *Journal of Biomedical Optics.* – 2017. – Vol. 22. – № 7. – P. 076013; Ohmae E. et al. Stable tissue-simulating phantoms with various water and lipid contents for diffuse optical spectroscopy // *Biomedical Optics Express.* – 2018. – Vol. 9. – № 11. – P. 5792–5808; Rakotomanga P. et al. Source

separation approach for the analysis of spatially resolved multiply excited autofluorescence spectra during optical clearing of ex vivo skin // Biomedical Optics Express. – 2019. – Vol. 10. – № 7. – P. 3410–3424; Jonasson H., Anderson C.D., Saager R.B. Water and hemoglobin modulated gelatin-based phantoms to spectrally mimic inflamed tissue in the validation of biomedical techniques and the modeling of microdialysis data // Journal of Biomedical Optics. – 2022. – Vol. 27. – № 7. – P. 074712; Surkov Yu. et al. Laser Speckle Contrast Imaging with Principal Component and Entropy Analysis: A Novel Approach for Depth-Independent Blood Flow Assessment // Frontiers of Optoelectronics. – 2025. – Vol. 18. – № 1. – P. 1.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'H. Jonasson', is written on a light blue rectangular stamp. The stamp is tilted slightly to the right and is positioned in the lower right quadrant of the page.