

## Применение люминесценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ для исследования динамики коагуляции белков

© А.А. Скапцов<sup>1</sup>, С.О. Усталков<sup>1</sup>, А.Х.М. Мохаммед<sup>1</sup>, А.М. Захаревич<sup>1</sup>,  
А.А. Козырев<sup>2</sup>, Е.А. Сагайдачная<sup>1</sup>, В.И. Кочубей<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, 410012 Саратов, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский ядерный университет „МИФИ“, 115409 Москва, Россия

<sup>3</sup> Томский государственный национальный исследовательский университет, 634050 Томск, Россия

e-mail: skaptsov@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.12.2019 г.

В окончательной редакции 07.02.2020 г.

Принята к публикации 28.02.2020 г.

Представлен метод измерения динамики внутренней температуры биологических тканей и толщины денатурированного слоя в процессе лазерного термоллиза. Данный метод основан на измерении интенсивностей трех полос люминесценции апконверсионных наночастиц  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  в зеленой и красной частях видимого спектра. В качестве модельной биологической ткани использовался яичный альбумин, общие закономерности денатурации которого были также исследованы методом плазмонно-резонансной фототермотерапии.

**Ключевые слова:** яичный альбумин, аномальный рост температуры, золото, нанотермометрия, плазмонно-резонансная фототермотерапия, люминесценция.

DOI: 10.21883/OS.2020.07.49566.62-20

### 1. Введение

Денатурация биологических тканей является ключевой задачей многих отраслей медицины, таких как нанохirurgия [1], онкология [2], косметология [3]. Современные нанотехнологии, разрабатывающие новые подходы и методы применения наноразмерных структур, дают возможность проводить операции на микромасштабном уровне. Для этого было разработано множество подходов, таких как применение золотых наноструктур для нагрева их внутри биологических тканей — плазмонно-резонансная фототермотерапия (ПФТТ) [4], применение нанокапсул для доставки лекарственных препаратов [5], вызывающих некроз тканей, применение окислов железа, разогреваемых переменным магнитным полем внутри биологической ткани [6,7], применение углеродных нанотрубок [8]. Все эти подходы основаны на доставке заданного количества тепла в определенную область биологической ткани с целью термического разрушения клеток [9]. Однако методы контроля и управления процессом доставки тепла недостаточно развиты для их применения в клинической практике. Развитие методов контроля и управления является ключевой задачей для дальнейшего развития методов термического разрушения биологических тканей, поскольку, как показали недавние исследования, наличие нескольких выживших онкологических клеток под коркой денатурированной ткани приводит к дальнейшему интенсивному развитию опухоли [10].

На данный момент существуют различные методы определения температуры внутри биологической ткани, такие как магнитно-резонансная томография (МРТ) [11], акустическая визуализация [12], нанотермометрия [13]. Определение температуры непосредственно самих наночастиц, а не окружающей среды, является трудной задачей [14] и возможно методами комбинационного рассеяния [15] и нанотермометрией. Нанотермометрия — это один из перспективных подходов определения температуры внутри биологических тканей, основанный на применении зависимости спектров люминесценции полупроводниковых наночастиц от температуры окружающей среды. За счет смещения длины волны максимума полосы люминесценции, например для наночастиц  $\text{CdSe}$  [16],  $\text{ZnCdS}$  [17],  $\text{InCuS}_2$  [18], углеродных нанотрубок [15], или за счет изменения отношения интенсивностей двух полос люминесценции, например для апконверсионных наночастиц  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  [19], можно определить температуру с достаточной точностью. Однако, изменение оптических свойств биологической ткани вследствие ее денатурации является серьезной проблемой для нанотермометрии. Данная ситуация вызывает множество технических трудностей для определения истинной температуры по спектрам люминесценции [20].

Целью данной работы является разработка и апробация метода измерения объема денатурированной ткани и внутренней температуры яичного альбумина при его модельной лазерной гипертермии. В качестве люминесцентных зондов выбраны наночастицы  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ ,

обладающие несколькими полосами люминесценции в видимой области спектра. Данный метод основан на измерении интенсивности трех полос люминесценции с длинами волн 531, 546 и 660 nm. За счет денатурации ткани отношение интенсивностей полос для длин волн 531 и 546 nm искажается слабее, чем отношение интенсивностей полос для длин волн 531 и 660 nm, поэтому первое отношение можно использовать для восстановления истинной температуры, а второе — для определения толщины денатурированной ткани.

Для достижения поставленной цели был решен ряд задач. Во-первых, были исследованы температурные зависимости спектров люминесценции наночастиц  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  и построены калибровочные кривые температур. Во-вторых, были установлены оптические свойства денатурированного и неденатурированного яичного альбумина, а также основные закономерности денатурации яичного альбумина методом ПФТТ. Полученные результаты были сравнены с результатами работ по ПФТТ тканей крыс [21], и установлен факт аномально быстрого роста температуры. В-третьих, был изготовлен сильно поглощающий свет фантом биологической ткани, моделирующий опухолевую ткань с плазмонно-резонансными наночастицами. На поверхность фантома были нанесены наночастицы  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ . Возбуждение люминесценции наночастиц и разогрев фантома осуществлялись одним и тем же лазерным излучением.

В результате проведенных экспериментов установлены основные закономерности денатурации яичного альбумина и показана возможность применения разработанного метода для установления истинной внутренней температуры и толщины слоя денатурированной ткани при проведении лазерного термолиза.

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Синтез и характеристика апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$

Используемые реактивы: цитрат натрия двухводный  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (ОСЧ, Реахим, Россия), хлорид иттрия шестиводный  $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Завод редкоземельных металлов, Россия), хлорид иттербия шестиводный  $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Завод редкоземельных металлов, Россия), хлорид эрбия шестиводный  $\text{ErCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Завод редкоземельных металлов, Россия), фторид натрия NaF (Реахим, Россия).

5.25 g цитрата натрия  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  растворяли в 7.5 ml дистиллированной воды при перемешивании.

Через 30 min добавили раствор солей редкоземельных металлов: 0.996 ml  $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.5 mol), 0.212 ml  $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.5 mol) и 0.0186 ml  $\text{ErCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (1 mol) (молярное отношение  $\text{Y/Yb/Er} = 26.6/5.6/1$ ) и перемешивали в течение 30 min до образования нерастворимого комплекса металл-цитрат.

Затем добавили 9 ml водного раствора NaF (1 mol). Молярное соотношение  $\text{NaF/Cit/RE} = 14.5/28.6/1$ .

После перемешивания в течение 30 min полученную смесь перелили в герметичную тefлоновую емкость для гидротермального синтеза, которую поместили в автоклав и выдержали в течение 2.5 h при температуре 180°C.

После того как автоклав остыл до комнатной температуры, полученный белый осадок отделили центрифугированием и три раза отмыли в воде с промежуточным центрифугированием, просушили частицы при температуре 70°C в течение 20 h.

Геометрические параметры наночастиц определялись методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на электронном микроскопе Miра II LMU (Tescan, Чехия).

### 2.2. Плазмонно-резонансная фототермотерапия яичного альбумина

Для проведения ПФТТ в чашку Петри помещался яичный альбумин, предварительно смешанный с золотыми наностержнями. Золотые наночастицы с длиной волны максимума плазмонного резонанса, равной 780 nm, были синтезированы в соответствии с протоколом, описанным в работе [22]. Толщина слоя образца составляла 3 mm. Во всех экспериментах образцы имели начальную температуру в интервале 24–27°C. Каждый образец подвергался облучению диодным лазером (LS-1-N-808-2000S) с длиной волны 808 nm, с диаметром плоскопараллельного пучка 5.1 mm и мощностью излучения в интервале от 0.5 до 2 W. В процессе облучения измерялась мощность прошедшего пучка через образец посредством измерителя мощности L30C-LP2-26-SH Ophir Optronics Solutions Ltd (Китай). Поверхностная температура образца измерялась бесконтактным методом — ИК тепловизором IRISYS 4010 (InfraRedIntegrated System Ltd, Великобритания), расположенным на расстоянии 40 cm от поверхности образца. Процесс денатурации фиксировался при помощи цифровой камеры (Canon IXUS 285HS, Китай), защищенной фильтром СЗС27 (ГОСТ 9411-91) толщиной 5 mm. Видеоматериалы и описание метода измерения области денатурации приведены в разделе „supplementary materials“.

### 2.3. Установление температурной зависимости спектров люминесценции наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$

Наночастицы  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  помещались на нагревательный элемент, с помощью которого задавалась и поддерживалась температура образцов. Для контроля температуры использовался ИК тепловизор, удаленный на расстояние 40 cm. Люминесценция возбуждалась лазерным излучением с длиной 980 nm и плотностью мощностью 1 W/cm<sup>2</sup>. Люминесценция собиралась коллиматором и передавалась при помощи оптического волокна в полихроматор QE PRO (Ocean Optics, США).

Для подавления возбуждающего излучения перед коллиматором помещался фильтр СЗС27 толщиной 5 mm. В результате была получена температурная зависимость интенсивностей полос люминесценции с длинами волн 531, 546 и 666 nm.

Известно [23], что интенсивность полос люминесценции зависит от температуры следующим образом:

$$I_{\lambda} = A_{\lambda} e^{-\frac{\Delta E_{\lambda}}{kT}},$$

где  $A_{\lambda}$  — константа,  $\Delta E_{\lambda}$  — разность энергетических уровней перехода электрона,  $k$  — постоянная Больцмана, равная  $8.6 \cdot 10^{-5}$  eV/K,  $T$  — термодинамическая температура. Для аппроксимации температурной зависимости отношений интенсивностей полос люминесценции наночастиц использовалось следующее выражение:

$$\frac{I_{\lambda_1}}{I_{\lambda_2}} = \exp \left[ C_{\lambda_1, \lambda_2} - \frac{\varepsilon_{\lambda_1, \lambda_2}}{kT} \right], \quad (1)$$

$$C_{\lambda_1, \lambda_2} = \ln \left[ \frac{A_{\lambda_1}}{A_{\lambda_2}} \right],$$

$$\varepsilon_{\lambda_1, \lambda_2} = \Delta E_{\lambda_2} - \Delta E_{\lambda_1},$$

где  $C_{\lambda_1, \lambda_2}$  — коэффициент подгонки,  $\varepsilon_{\lambda_1, \lambda_2}$  — разность величин  $\Delta E$  для второй и первой длин волн соответственно.

В результате аппроксимации экспериментальных зависимостей отношений интенсивностей полос люминесценции наночастиц от температуры получены следующие величины:  $C_{546,531} = -2.331$ ,  $\Delta \varepsilon_{546,531} = -0.07846$  eV,  $C_{666,531} = 8.912$ ,  $\Delta \varepsilon_{666,531} = -0.1896$  eV.

## 2.4. Регистрация спектров люминесценции наночастиц NaYF<sub>4</sub> внутри яичного альбумина

В качестве образца с сильным поглощением излучения был изготовлен фантом биологической ткани, содержащий микрочастицы углерода, по протоколу, описанному в работе [24]. Фантом имел толщину 2 mm и оптическую плотность на длине волны 980 nm более 2. Поверх фантома помещались апконверсионные наночастицы NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er. Фантом помещался в чашку Петри и заливался яичным альбумином так, чтобы толщина слоя яичного альбумина над фантомом составляла 3 mm. Для нагрева фантома и возбуждения люминесценции апконверсионных наночастиц использовался лазерный модуль LS-1-N-980S (Китай) с длиной волны 980 nm и плотностью мощности 5 W/cm<sup>2</sup>. ИК тепловизором фиксировалась поверхностная температура альбумина. Спектры люминесценции регистрировались полихроматором QE PRO. В экспериментах образцы имели начальную температуру в интервале 24–27°C.

Для подавления возбуждающего излучения в измерительном канале методом электронно-лучевого испарения в вакууме были изготовлены интерференционные фильтры с высоким коэффициентом отражения на

длине волны  $\lambda = 978$  nm. Покртия представляли собой четвертьволновую пластину, состоящую из 18 чередующихся слоев оксида титана TiO<sub>2</sub>, используемого в качестве материала с высоким показателем преломления ( $n = 2.35$  при  $\lambda = 978$  nm), и оксида кремния SiO<sub>2</sub>, используемого в качестве материала с низким показателем преломления ( $n = 1.51$  при  $\lambda = 978$  nm).

Процесс денатурации фиксировался на цифровую камеру, защищенную фильтром СЗС27 толщиной 5 mm. Подсветкой для камеры служил диод с длиной волны максимума полосы излучения 477 nm.

## 2.5. Математическая модель расчета температуры и объема денатурированного яичного альбумина по спектрам люминесценции NaYF<sub>4</sub>

Люминесценция, проходя через слой денатурированного альбумина, поглощается, и ее интенсивность на выходе из слоя равна

$$I_{\lambda} = I_{\lambda}^0 \exp[-\alpha_{\lambda} l], \quad (2)$$

где  $\alpha_{\lambda}$  — коэффициент ослабления света слоем денатурированного альбумина на длине волны  $\lambda$ ,  $l$  — толщина слоя,  $I_{\lambda}^0$  — интенсивность люминесценции.

Тогда, подставляя выражение (2) в (1), получим:

$$\frac{I_{\lambda_1}}{I_{\lambda_2}} = \frac{I_{\lambda_1}^0}{I_{\lambda_2}^0} \exp[(\alpha_{\lambda_2} - \alpha_{\lambda_1})l] = \exp \left[ C_{\lambda_1, \lambda_2} - \frac{\varepsilon_{\lambda_1, \lambda_2}}{kT} + \beta_{\lambda_1, \lambda_2} l \right],$$

$$\beta_{\lambda_1, \lambda_2} = \alpha_{\lambda_2} - \alpha_{\lambda_1}.$$

Используя три длины волны, получим систему

$$\begin{cases} \ln \left[ \frac{I_{546}}{I_{531}} \right] = C_{546,531} - \frac{\varepsilon_{546,531}}{kT} + \beta_{546,531} l \\ \ln \left[ \frac{I_{666}}{I_{531}} \right] = C_{666,531} - \frac{\varepsilon_{666,531}}{kT} + \beta_{666,531} l. \end{cases}$$

Решением полученной системы является

$$\begin{cases} l = \frac{1}{\beta_{546,531}} \frac{\frac{\varepsilon_{546,531}}{\varepsilon_{666,531}} \left( C_{666,531} - \ln \left[ \frac{I_{666}}{I_{531}} \right] \right) - \left( C_{546,531} - \ln \left[ \frac{I_{546}}{I_{531}} \right] \right)}{\left( 1 - \frac{\varepsilon_{546,531} \beta_{666,531}}{\varepsilon_{666,531} \beta_{546,531}} \right)} \\ T = \frac{\varepsilon_{666,531}}{k} \left( \frac{\left( C_{666,531} - \ln \left[ \frac{I_{666}}{I_{531}} \right] \right) - \frac{\beta_{666,531}}{\beta_{546,531}} \left( C_{546,531} - \ln \left[ \frac{I_{546}}{I_{531}} \right] \right)}{\left( 1 - \frac{\varepsilon_{546,531} \beta_{666,531}}{\varepsilon_{666,531} \beta_{546,531}} \right)} \right)^{-1}. \end{cases} \quad (3)$$

Таким образом, измеряя интенсивность трех полос люминесценции, возможно рассчитать температуру внутри биологического образца и толщину слоя денатурированной ткани. Однако для этого следует знать коэффициенты ослабления денатурированного альбумина  $\beta_{546,531}$  и  $\beta_{666,531}$ .

## 2.6. Определение коэффициента ослабления денатурированного яичного альбумина

Эксперименты показали, что коэффициент ослабления денатурированного яичного альбумина зависит от массовой доли воды, входящей в его состав. Поэтому во всех экспериментах использовался яичный альбумин со средним значением массовой доли воды 87%. Масса воды была определена термогравиметрическим методом с помощью термогравиметрического анализатора TGAQ500 (TA Instruments, США).

Экспериментальные работы были выполнены следующим образом. Между двух предметных стекол были зажаты силиконовая прокладка, задающая необходимую толщину образца, яичный альбумин. Образец, помещенный в защитную пленку, погружался в воду с температурой 95°C на 10 min. Толщина образца измерялась с помощью оптического микроскопа O-5ER-2 (Olympus, Япония). Спектры пропускания образцов регистрировались с помощью установки, включающей в себя вольфрамовый галогенный источник излучения LSH-4 (Биоспек, Россия) и полихроматор QE-PRO.

В результате аппроксимации экспериментальных данных выражением (2) были получены следующие результаты:  $\alpha_{531} = 162 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\alpha_{546} = 157 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\alpha_{666} = 118 \text{ cm}^{-1}$  и, следовательно,  $\beta_{546,531} = 5 \text{ cm}^{-1}$  и  $\beta_{666,531} = 44 \text{ cm}^{-1}$ .

## 3. Результаты и обсуждение

### 3.1. Плазмонно-резонансный термолиз яичного альбумина

В ходе экспериментов были получены временные зависимости изменения следующих величин: температуры поверхности образцов (рис. 1), мощности прошедшего излучения, объема денатурированной ткани. По полученным данным были рассчитаны температурные и временные зависимости коэффициентов пропускания (рис. 2) и объемов денатурированной ткани для различных режимов облучения (рис. 3).

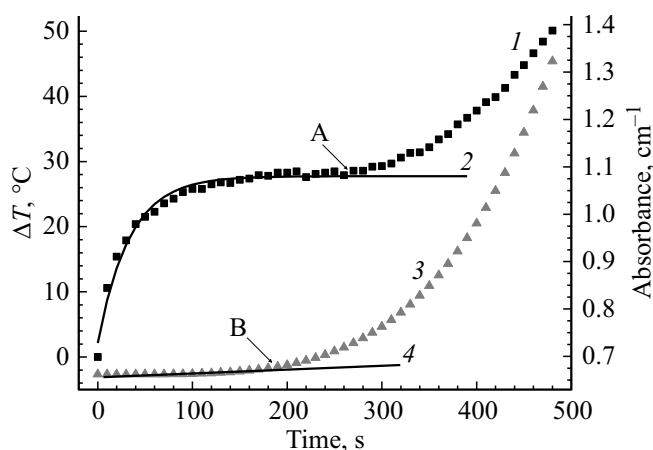
Известно [21], что временная зависимость относительного изменения поверхностной температуры  $\Delta T$  биологической ткани в процессе ПФТТ хорошо описывается следующим уравнением:

$$\Delta T[t] = \Delta T_m(1 - e^{-t/\tau}), \quad (4)$$

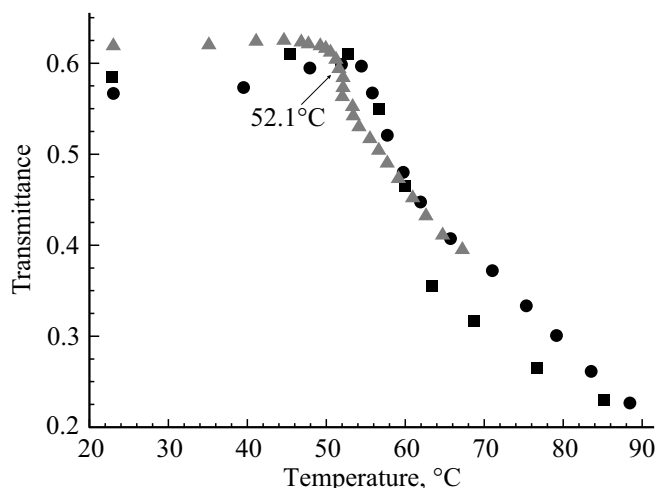
где  $\Delta T_m$  — максимально возможное относительное изменение температуры,  $\tau$  — коэффициент подгонки.

В проведенных экспериментах было обнаружено несколько эффектов.

Оптическая плотность образцов линейно растет с ростом температуры, что связано с увеличением показателя преломления альбумина за счет дегидратации облучаемой области. По достижении определенной температуры наблюдается нелинейный рост оптической плотности, что связано с началом процесса денатурации альбумина. В то же время поверхностная температура



**Рис. 1.** Временная зависимость относительного изменения температуры  $\Delta T$  (1), аналитическая аппроксимация температуры (2), оптическая плотность (3), линейная аппроксимация оптической плотности (4). А — точка начала аномального роста температуры, В — точка начала нелинейного роста оптической плотности. Плотность мощности излучения  $3.75 \text{ W/cm}^2$ .



**Рис. 2.** Температурная зависимость коэффициента пропускания образцов для различных плотностей мощности лазерного облучения: ■ —  $9.8 \text{ W/cm}^2$ , ● —  $7.3 \text{ W/cm}^2$ , ▲ —  $4.9 \text{ W/cm}^2$ .

продолжает описываться выражением (4) до определенного момента времени, после которого начинается ее стремительный рост. Таким образом, между началом процесса денатурации и резким увеличением температуры наблюдается временная задержка. Данный факт требует дальнейшего изучения, поскольку его невозможно объяснить в рамках только оптических явлений. Авторы предполагают, что стремительный рост температуры связан с изменением теплопроводности и теплоемкости области денатурации альбумина за счет ее дегидратации.

Температура денатурации альбумина находилась нами из температурной зависимости коэффициента пропускания образцов (рис. 2) для разных режимов облу-

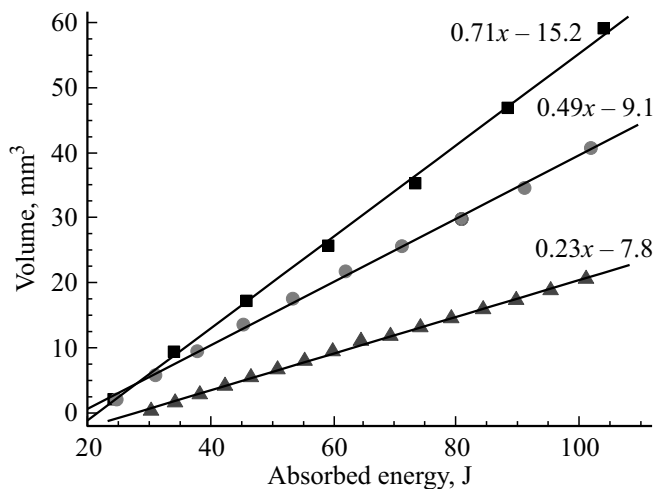
чения. Коэффициент пропускания рассчитывался как отношение мощности прошедшего лазерного излучения к мощности падающего на образец. Показано, что резкое уменьшение коэффициента пропускания альбумина лежит в интервале температур  $52\text{--}53^\circ\text{C}$  и слабо зависит от плотности мощности лазерного излучения.

На рис. 3 представлены результаты зависимостей объема денатурированной ткани от дозы поглощенной энергии для различных режимов ПФТТ. Зависимости хорошо аппроксимируются линейной функцией. Показано, что для равных поглощенных доз энергии объем денатурированной ткани зависит от плотности мощности лазерного излучения.

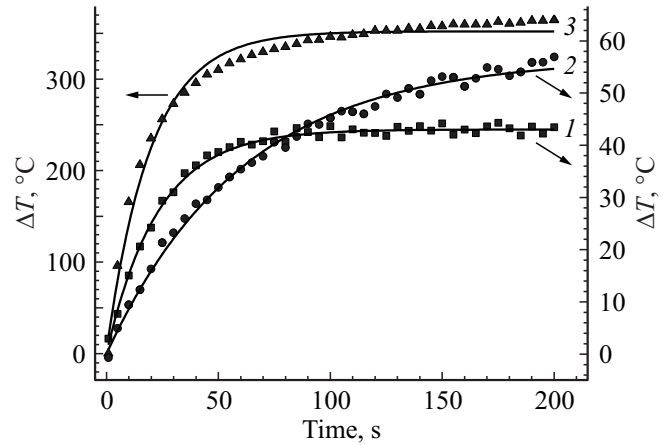
Это объясняется тем, что объем области денатурации должен обладать температурой выше или равной температуре денатурации яичного альбумина. Температура, в свою очередь, зависит от плотности теплового потока, проходящего через заданную область. Следовательно, объем области денатурации должен соответствовать объему ткани, содержащему величину плотности теплового потока, достаточную для поддержания в ней температуры денатурации. В свою очередь, плотность теплового потока зависит от скорости подачи тепла, т. е. от плотности мощности лазерного излучения.

### 3.2. Применение наночастиц $\text{NaYF}_4$ для контроля процесса денатурации яичного альбумина

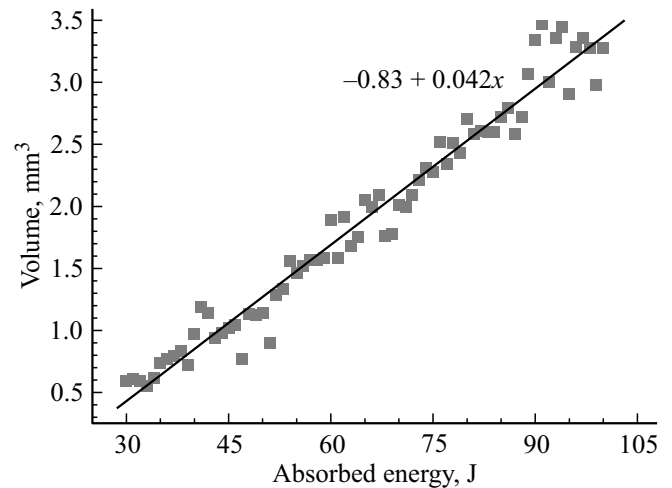
В экспериментах ПФТТ яичного альбумина область денатурации представляет собой растущую сферу в отличие от описываемых экспериментов с фантомом, где область денатурации — диск, образующийся на поверхности фантома и растущий с разными скоростями в разных направлениях. Временная зависимость ширины области денатурации получена при помощи цифровой



**Рис. 3.** Зависимость объема денатурированной ткани от поглощенной энергии для различных плотностей мощности лазерного облучения:  $\blacksquare$  —  $9.8\text{ W/cm}^2$ ,  $\bullet$  —  $7.3\text{ W/cm}^2$ ,  $\blacktriangle$  —  $4.9\text{ W/cm}^2$ .



**Рис. 4.** Временная зависимость относительного изменения температуры  $\Delta T$ :  $\blacksquare$  — рассчитанная по выражению (3) (правая ось),  $\bullet$  — рассчитанная по выражению (1) для длин волн 531 и 546 нм (правая ось),  $\blacktriangle$  — рассчитанная по выражению (1) для длин волн 531 и 666 нм (левая ось).



**Рис. 5.** Зависимость объема денатурированной ткани от поглощенной энергии и ее линейная аппроксимация.

камеры, а динамика температуры (рис. 4) и толщина денатурации вычислялись по выражению (3).

На рис. 4 представлены временные зависимости относительного изменения температуры на поверхности фантома, рассчитанные разработанным методом по выражению (3) — кривая 1 и стандартным методом по выражению (1) для длин волн 531 и 546 нм — кривая 2, а также для длин волн 531 и 666 нм — кривая 3. С помощью выражения (4) были выполнены аппроксимации рассчитанных временных зависимостей температур по выражениям (3) и (1) для соответствующих длин волн. Результаты аппроксимаций приведены в таблице.

Температурные зависимости без учета искажения рассеяния люминесценции имеют завышенное значение максимально достигаемого относительного изменения температуры. Для результатов, полученных из интен-

Результаты аппроксимации временных зависимостей относительного изменения температуры на поверхности фантома с помощью выражения (4)

Описание аппроксимируемых данных	$\Delta T_m, ^\circ\text{C}$	$\tau, \text{s}$
Температура, рассчитанная разработанным методом по выражению (3)	43.1	22.9
Температура, рассчитанная стандартным методом по выражению (1) для длин волн 531 и 546 nm	56.5	60.3
Температура, рассчитанная стандартным методом по выражению (1) для длин волн 531 и 666 nm	352	19.7

сивностей люминесценции близко располагаемых полос люминесценции в зеленой области спектра, для которых искажение спектров люминесценции должно быть одинаково, наблюдается сильное падение скорости нагрева и слабое завышение максимально достигаемой температуры. В случае полос люминесценции с длинами волн 666 и 531 nm наблюдается сильное завышение максимально достигаемой температуры. Это связано с сильным искажением соотношения интенсивности данных полос за счет более сильного рассеяния полосы с длиной волны 531 nm. Для всех временных зависимостей доверительный интервал 0.99 лежит в пределах 5%.

На рис. 5 представлена зависимость объема денатурированного яичного альбумина от поглощенной энергии и аппроксимация данной зависимости.

Различие в объемах денатурированной ткани при проведении ПФТТ и экспериментов с фантомом для равных плотностей мощности объясняется тем, что при проведении ПФТТ вся поглощенная энергия шла на процесс денатурации, а при проведении экспериментов с фантомом яичному альбумину передавалась часть поглощенной фантомом энергии.

Характерной особенностью явилось то, что не был обнаружен аномальный рост температуры. Возможны следующие объяснения данного факта.

С одной стороны, аномальный рост поверхностной температуры при ПФТТ возникает за счет снижения теплопроводности и теплоемкости яичного альбумина, что вызвано процессом дегидратации. При проведении термоллиза в глубине яичного альбумина аномальный рост температуры не возникает, поскольку для процесса дегидратации нужно достигнуть температур кипения воды.

С другой стороны, поглотители света — золотые наночастицы — находятся внутри сильно рассеивающей среды — денатурированного альбумина, где плотность мощности выше падающей, что приводит к дополнительному разогреву наночастиц. В случае с фантомом рассеивающая среда находится перед поглощающим фантомом, и дошедшая плотность мощности меньше

падающей, следовательно, наблюдается более слабый разогрев фантома.

В ходе экспериментов было установлено, что для толщины денатурированного альбумина около 1 mm соотношение интенсивностей линий люминесценции падает до значения 0.01, что является критическим значением, после которого метод перестает работать. Таким образом, в случае равных интенсивностей люминесценции на длинах волн 666 и 531 nm произведение  $\beta_{666,531}l$  не должно превышать 4.4.

Из работы [25] известно, что кожа европеоидов состоит из трех основных слоев: эпидермис (толщиной 0.1–0.15 mm), дерма (толщиной 1–4 mm), подкожный жир (толщиной 16 mm), для которой среднее значение коэффициента пропускания составляет 0.069. Следовательно, разработанный метод позволяет определять температуру под кожей человека со средней толщиной 5 mm и зондировать подкожные мышечные ткани толщиной не более 9 mm. В случае применения оптически просветляющих агентов [26] глубину зондирования возможно увеличить до 20 mm.

#### 4. Заключение

В результате исследования было показано, что рассеяние, вызванное денатурацией, вносит искажения в результаты определения температуры люминесцентным методом. При использовании стандартного метода расчета температуры для близлежащих полос люминесценции в зеленой области спектра скорость нагрева уменьшается по мере увеличения рассеивающего слоя, а максимально возможная относительная температура растет. Для полос люминесценции с длинами волн 531 и 666 nm максимально возможная относительная температура сильно завышается за счет большой разности коэффициентов ослабления для данных длин волн денатурированного альбумина.

Разработанный метод по применению трех полос люминесценции прошел успешную апробацию и показал возможность одновременного определения температуры внутри биологического образца и толщины денатурированной ткани. Объем денатурированной ткани линейно зависит от дозы поглощенной энергии.

В случае равных интенсивностей люминесценции на длинах волн 666 и 531 nm, при условии наличия оптической системы, способной зарегистрировать отношение этих сигналов как 100:1, с помощью разработанного метода возможно определять температуру в подкожных мышечных тканях человека на глубине 14 mm. В случае применения просветляющих агентов глубину зондирования возможно увеличить до 20 mm.

Аномальный рост температуры, который наблюдается на поверхности образцов при ПФТТ, отсутствует для температур в глубине образцов, что требует дальнейших исследований.

## Финансирование работы

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 19-12-00118).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] Maier C.M., Huergo M.A., Milosevic S., Pernpeintner C., Li M., Singh D.P., Walker D., Fischer P., Feldmann J., Lohmuller T. // *Nano Lett.* 2018. V. 18. N 12. P. 7935–7941. doi 10.1021/acs.nanolett.8b03885
- [2] Schena E., Saccomandi P., Fong Y. // *J. Functional Biomaterials.* 2017. V. 8. N 19. #UNSP19. doi 10.3390/jfb8020019
- [3] Соболев Э.Н., Баум О.И., Омельченко А.И., Сошников Ю.М., Южаков А.В., Касьяненко Е.М., Токарева А.В., Басков А.В., Свистушкин В.М., Селезнева Л.В., Шехтер А.Б. // *Квант. электрон.* 2017. Т. 47. N 10. С. 935–941.
- [4] Huang X., Jain P.K., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A. // *Lasers Med. Sci.* 2008. V. 23. P. 217–228. doi 10.1007/s10103-007-0470-x
- [5] Svenskaya Y.I., Pavlov A.M., Gorin D.A., Gould D.J., Parakhonskiy B.V., Sukhorukov G.B. // *Colloids and Surfaces B-biointerfaces.* 2016. V. 146. P. 171–179. doi 10.1016/j.colsurfb.2016.05.090
- [6] Kumar C.S.S.R., Mohammad F. // *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2011. V. 63. N 9. P. 789–808. doi 10.1016/j.addr.2011.03.008
- [7] Espinosa A., Kolosnjaj-Tabi J., Abou-Hassan A., Sangnier A.P., Curcio A., Silva A.K.A., Di Corato R., Neveu S., Pellegrino T., Liz-Marzan L.M., Wilhelm C. // *Advanced Functional Materials.* 2018. V. 28. N 37. #1803660. doi 10.1002/adfm.201803660
- [8] Zuo X.D., Wu C.W., Zhang W., Gao W. // *RSC Advances.* 2018. V. 8. N 22. P. 11997–12003. doi 10.1039/C7RA13256E
- [9] Sapareto S.A., Dewey W.C. // *International J. Radiation Oncology Biology Physics.* 1984. V. 10. N 6. P. 787–800. doi 10.1016/0360-3016(84)90379-1
- [10] Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Chekhonatskaya M.L., Terentyuk G.S., Navolokin N.A., Khlebtsov B.N., Khlebtsov N.G., Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. // *Lasers in Surgery and Medicine.* 2018. V. 50. N 10. P. 1025–1033. doi 10.1002/lsm.23001
- [11] Carter D., Mc Fall J., Clegg S.T., Wan X., Prescott D., Charles H., Samulski T. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998. V. 40. N 4. P. 815–822. doi 10.1016/S0360-3016(97)00855-9
- [12] Abd Manaf N., Aziz M.N.C., Ridzuan D.S., Salim M.I.M., Abd Wahab A., Lai K.W., Hum Y.C. // *Medical & Biological Engineering & Computing.* 2016. V. 54. N 6. P. 967–981. doi 10.1007/s11517-016-1480-2
- [13] Jaque D., Vetrone F. // *Nanoscale.* 2012. V. 4. P. 4301–4326. doi 10.1039/C2NR30764B
- [14] Parakhonskiy B.V., Gorin D.A., Baumler H., Skirtach A.G. // *J. Thermal Analysis and Calorimetry.* 2017. V. 127. N 1. P. 895–904. doi 10.1007/s10973-016-5798-7
- [15] Yashchenok A., Masic A., Gorin D., Inozemtseva O., Shim B.S., Kotov N., Skirtach A., Möhwald H. // *Small.* 2015. V. 11. N 11. P. 1320–1327. doi 10.1002/smll.201401697
- [16] Haro-González P., Ramsay W.T., Maestro L.M., del Rosal B., Santacruz-Gomez K., del Carmen Iglesias-de la Cruz M., Sanz-Rodríguez F., Chooi J.Y., Sevilla P.R., Bettinelli M., Choudhury D., Kar A.K., Sol J.G., Jaque D., Paterson L. // *Small.* 2013. V. 9. P. 2162–2170. doi 10.1002/smll.201201740
- [17] Volkova E., Skaptsov A., Konyukhova J., Kochubey V., Kozintseva M. // *Proc. SPIE.* 2015. V. 94480. N 94480. doi 10.1117/12.2180024
- [18] Skaptsov A.A., Gofman V.V., Galushka V.V., Markin A.V., Kochubeya V.I., Goryacheva I.Yu. // *Proc. of SPIE.* 2016. V. 991712. N 991712. doi 10.1117/12.2229842
- [19] Zhou Sh., Deng K., Wei X., Jiang G., Duan Ch., Chen Y., Yin M. // *Optics Commun.* 2013. V. 291. P. 138–142. doi 10.1016/j.optcom.2012.11.005
- [20] Konyukhova J., Skaptsov A., Volkova E., Galushka V., Kochubey V. // *Proc. SPIE.* 2014. V. 9031. N 90310L. doi 10.1117/12.2052727
- [21] Максимова И.Л., Акчурин Г.Г., Терентюк Г.С., Хлебцова Б.Н., Акчурин Г.Г. (мл.), Ермолаев И.А., Скапцов А.А., Ревзина Е.М., Тучин В.В., Хлебцов Н.Г. // *Квант. электрон.* 2008. Т. 38. № 6. С. 536–542.
- [22] Терентюк Г.С., Иванов А.В., Полянская Н.И., Максимова И.Л., Скапцов А.А., Чумаков Д.С., Хлебцов Б.Н., Хлебцов Н.Г. // *Квант. электрон.* 2012. Т. 42. № 5. С. 380–389.
- [23] Vetrone F., Naccache R., Zamarron A., de la Fuente A.J., Sanz-Rodríguez F., Maestro L.M., Rodríguez E.M., Jaque D., Sole J.G., Capobianco J.A. // *ACS Nano.* 2010. V. 4. N 6. P. 3254–3258. doi 10.1021/nn100244a
- [24] Skaptsov A.A., Ustalkov S.O., Savenko O.A., Novikova A.S., Kozlova E.A., Kochubey V.I. // *Proc. SPIE.* 2017. V. 10336. #1033616. doi 10.1117/12.2269380
- [25] Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. // *J. Innovative Optical Health Sciences.* 2011. V. 4. N 1. P. 9–38. doi 10.1142/S1793545811001319
- [26] Тучина Д.К., Генин В.Д., Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. // *Опт. и спектр.* 2016. Т. 120. № 1. С. 36–45.