

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук»

На правах рукописи



Зайцев Кирилл Игоревич

**ИМПУЛЬСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ И МИКРОСКОПИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ В ТЕРАГЕРЦОВОМ ДИАПАЗОНЕ**

Специальность 1.3.6 – Оптика

Диссертация на соискание ученой степени
доктора физико-математических наук

Научный консультант:
Тучин Валерий Викторович,
доктор физико-математических наук,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор, член-корреспондент РАН

Москва – 2023

СОДЕРЖАНИЕ	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. Биомедицинские приложения терагерцовой оптики.....	25
1.1 Генерация и детектирование терагерцового излучения.....	26
1.2 Особенности взаимодействия терагерцового излучения с веществом.....	31
1.3 Взаимодействие терагерцового излучения с биологическими тканями	36
1.3.1 Релаксационные модели эффективной комплексной диэлектрической проницаемости тканей	36
1.3.2 Резонансное взаимодействие терагерцового излучения с тканями	45
1.3.3 Рассеяние терагерцового излучения в тканях	47
1.3.4 Воздействие терагерцового излучения на биологические объекты.....	48
1.4 Терагерцовая спектроскопия и визуализация биологических тканей.....	56
1.4.1 Проблемы терагерцовых измерений тканей.....	56
1.4.2 Инструменты терагерцовых измерений тканей	59
1.4.3 Обработка и анализ данных в терагерцовой импульсной спектроскопии	63
1.5 Терагерцовая спектроскопия и визуализация в медицинской диагностике	67
1.5.1 Доброкачественные и злокачественные новообразования	67
1.5.2 Травматические повреждения и жизнеспособность тканей	80
1.5.3 Диабет, гликированные ткани и кровь.....	82
1.5.4 Гидратация роговицы и склеры глаза	86
1.6 Современные проблемы терагерцовой оптики и биофотоники.....	87
1.6.1 Терагерцовые оптические материалы	89
1.6.2 Дифракционный предел пространственного разрешения.....	101
1.6.3 Повышение глубины терагерцового зондирования тканей	107
1.7 Выводы по главе	109
1.8 Цель и задачи диссертации	110
ГЛАВА 2. Восстановление оптических характеристик объекта исследования в терагерцовой импульсной спектроскопии	112
2.1 Лабораторные терагерцовые импульсные спектрометры	113

2.1.1 Система на базе отечественных ФПА с вакуумным измерительным отсеком для изучения твердых тел и жидкостей	113
2.1.2 Система zOmega microZ на базе ФПА-источника и электрооптического детектора для изучения тканей <i>ex vivo</i> и <i>in vivo</i>	115
2.1.3 Система на базе ФПА Vator для изучения тканей <i>ex vivo</i>	117
2.2 Метод оценки оптических характеристик объекта в терагерцовой импульсной спектроскопии	120
2.2.1 Общий подход к решению обратной задачи импульсной спектроскопии	123
2.2.2 Физико-математическая модель взаимодействия импульсного излучения с объектом	124
2.2.3 Прохождение импульсного излучения через однослойный объект в свободном пространстве или диэлектрической кювете	127
2.2.4 Отражение импульсного излучения от объекта позади опорного окна	131
2.3 Экспериментальная апробация метода оценки оптических характеристик объекта в терагерцовой импульсной спектроскопии	134
2.3.1 Спектроскопия тестовых диэлектрических сред по проходящему излучению ..	135
2.3.2 Спектроскопия водных растворов агентов для иммерсионного оптического просветления тканей по проходящему излучению	137
2.3.3 Спектроскопия <i>in vivo</i> здоровой кожи человека по отраженному излучению ...	145
2.3.4 Спектроскопия <i>in vivo</i> обыкновенных и диспластических невусов кожи по отраженному излучению	147
2.4 Выводы по главе	152
ГЛАВА 3. Терагерцовая микроскопия, основанная на эффекте твердотельной иммерсии	154
3.1 Оптическая система, реализующая эффект твердотельной иммерсии	155
3.1.1 Моделирование синглета	157
3.1.2 Моделирование синглета с иммерсионной линзой	163
3.1.3 Моделирование зависимости разрешения от оптических характеристик объекта	164
3.2 Лабораторный терагерцовый микроскоп	167

3.2.1 Светоэнергетический расчет	170
3.2.1 Оптическая система, реализующая эффект твердотельной иммерсии	172
3.2.2 Экспериментальная оценка разрешения микроскопа	176
3.2.3 Зависимость разрешения от оптических характеристик объекта	179
3.2.4 Апробация микроскопа	183
3.3 Выводы по главе	188
ГЛАВА 4. Восстановление оптических характеристик объекта исследования в терагерцовой микроскопии, основанной на эффекте твердотельной иммерсии	189
4.1 Метод оценки локальных оптических характеристик объекта в терагерцовой микроскопии	190
4.1.1 Физико-математическая модель отражения излучения от объекта	191
4.1.2 Верификация аналитической модели численными методами	195
4.2 Апробация метода оценки локальных оптических характеристик	198
4.2.1 Слабо поглощающие среды	199
4.2.2 Сильно поглощающие среды	200
4.3 Визуализация децеллюляризованных клеточных матриц	204
4.3.1 Подготовка скаффолдов	205
4.3.2 Спектроскопия скаффолдов	207
4.3.3 Микроскопия скаффолдов	210
4.4 Перспективы нового метода терагерцовой микроскопии	212
4.5 Выводы по главе	213
ГЛАВА 5. Терагерцовая импульсная спектроскопия и микроскопия глиом головного мозга	215
5.1 Спектроскопия глиом головного мозга человека <i>ex vivo</i>	216
5.1.1 Эффективные оптические характеристики тканей	216
5.1.2 Модели эффективной комплексной диэлектрической проницаемости тканей ..	221
5.2 Спектроскопия и микроскопия модели глиомы 101.8 в мозгу крысы <i>ex vivo</i>	229
5.2.1 Модель глиомы 101.8	230
5.2.2 Эффективные оптические характеристики модели глиомы 101.8	231

5.2.3 Данные микроскопии модели глиомы 101.8	234
5.3 Молекулярные маркеры глиом.....	237
5.4 Выводы по главе	239
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	240
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	243
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	245

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Терагерцовый диапазон расположен между гигагерцовой и инфракрасной (ИК) областями электромагнитного спектра и охватывает частоты $\approx 0,1$ – $3,0$ ТГц или длины волн ≈ 3 мм– 100 мкм, соответственно. В последние десятилетия он активно осваивается: развивается элементная база, создаются спектроскопические и изображающие системы, изучаются эффекты взаимодействия терагерцовых волн с объектами различной природы, ищутся приложения терагерцовой техники [1]. Например, во второй половине XX в. в ИОФ РАН на основе ламп обратной волны разработаны уникальные методы терагерцовой спектроскопии [2]. Исследования Д. Аустоном эффекта фотопереключения в полупроводнике при возбуждении ультракороткими лазерными импульсами привели к созданию терагерцовых фотопроводящих антенн [3], методов импульсной спектроскопии и визуализации на их основе [4]. Терагерцовая техника находит приложения астрофизике [5], спектроскопии газов [6] и конденсированных сред [7], технологиях неразрушающей дефектоскопии [8], контроле качества фармацевтической продукции [9] и других приложениях. Портативные терагерцовые импульсные системы открыли возможности исследования биологических тканей и жидкостей [10] и позволили показать перспективность терагерцовых методов в диагностике новообразований [11], диабета [12], травматических повреждений [13] и жизнеспособности [14] тканей и других патологий.

Существуют проблемы, сдерживающие развитие биомедицинских приложений терагерцовой техники [15–17]. Терагерцовая биофотоника по-прежнему остается новым научным направлением, в котором накоплен весьма ограниченный объем знаний о взаимодействии излучения с тканями. Для объективной оценки перспективности биомедицинских приложений терагерцовой техники требуется дальнейшее развитие методов терагерцовой импульсной спектроскопии и микроскопии, а также их применение для изучения объектов различной природы, включая ткани.

С одной стороны, для терагерцовой импульсной спектроскопии актуальна разработка новых физико-математических моделей взаимодействия импульсного излучения с плоско-слоистыми средами и методов оценки оптических характеристик объектов спектроскопических исследований. Эти модели и методы должны учитывать специфику сигналов импульсной спектроскопии. В отличие от других методов оптической спектроскопии, в данном случае необходимо описывать преобразование комплексной амплитуды импульса при его распространении в измерительном тракте спектрометра и взаимодействии с объектом, интерференцию баллистического импульса с конечным

числом волн-спутников, возникающих вследствие резонансов в слоях и укладываемых в диапазон регистрируемых временных задержек. С другой стороны, важной проблемой современных терагерцовых оптических систем остается дифракционно ограниченное пространственное разрешение, делающее невозможным изучение оптически неоднородных сред (включая гетерогенные ткани), субволновых объектов, а также ограничивающее точность детектирования границ патологии. Преодоление предела Аббе позволит расширить возможности исследования эффектов взаимодействия терагерцовых волн с оптически неоднородными средами и обеспечить подходящее для задач медицинской диагностики разрешение.

Исследования, направленные на решение отмеченных проблем, ведутся рядом научных коллективов, среди которых отметим отечественные научные группы из МФТИ, МГУ им. М.В. Ломоносова, МГТУ им. Н.Э. Баумана, МИФИ, МПГУ (все – Москва), ИФТТ РАН (Черноголовка), ТГУ и ТПУ (Томск), Университета ИТМО (Санкт-Петербург) и др., а также зарубежные – из University of Cambridge, Aston University, University of Leeds (все – Великобритания), Rice University, Brown University (все – США), University of Shanghai for Science and Technology, Tianjin University, Sichuan University (все – Китай), University of Western Australia (Австралия), Tohoku University (Япония), Polytechnique Montréal (Канада), University of Jerusalem (Израиль) и др. Несмотря на приложенные усилия, терагерцовая техника по-прежнему далека от клинической практики. Именно поэтому настоящая диссертация направлена на развитие методов терагерцовой импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения для исследования оптически неоднородных объектов, включая биологические ткани, а также применение этих методов для получения новых знаний о взаимодействии терагерцового излучения с такими объектами.

Целью работы является разработка физико-математических моделей взаимодействия терагерцового электромагнитного излучения с пространственно неоднородными объектами спектроскопических и микроскопических исследований, включая биологические ткани, а также методов оценки эффективных терагерцовых оптических свойств и мезомасштабной гетерогенности таких объектов.

Для достижения сформулированной цели в диссертации решаются следующие экспериментальные и теоретические **задачи**:

- 1) Разработка физико-математической модели взаимодействия терагерцового импульсного излучения с плоско-слоистыми средами в импульсной спектроскопии для различных геометрий измерений.

- 2) Разработка и экспериментальная апробация метода оценки эффективных терагерцовых оптических свойств объектов различной природы, включая биологические ткани, с помощью импульсной спектроскопии.
- 3) Разработка метода терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, основанного на эффекте твердотельной иммерсии и адаптированного для визуализации оптически неоднородных объектов, включая биологические ткани. Теоретические и экспериментальные исследования пространственного разрешения нового метода микроскопии.
- 4) Разработка физико-математической модели взаимодействия непрерывного терагерцового излучения с оптически неоднородными объектами исследования, включая биологические ткани, в микроскопии субволнового разрешения.
- 5) Разработка и экспериментальная апробация метода оценки пространственного распределения (с субволновым разрешением) эффективных терагерцовых оптических свойств оптически неоднородных объектов, включая биологические ткани.
- 6) Изучение терагерцовых оптических свойств водных растворов распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей, включая глицерин, полиэтиленгликоль различной молекулярной массы, пропиленгликоль, диметилсульфоксид, сахароза, фруктоза, глюкоза, декстран различной молекулярной массы.
- 7) Измерение и анализ эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических свойств) свойств *in vivo* здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов, децеллюлированных клеточных матриц на основе бычьего перикарда, *ex vivo* свежееисеченных интактных тканей и глиом головного мозга человека различной степени злокачественности, а также модели глиомы 101.8 в мозгу крысы.
- 8) Регистрация и анализ терагерцовых микроскопических изображений оптически неоднородных биологических тканей различной природы, включая клеточные сфероиды, *ex vivo* ткани молочной железы и языка человека, децеллюляризованный бычий перикард, интактные ткани и модель глиомы 101.8 в мозгу крысы.

Научная новизна полученных в диссертации результатов:

- Предложена новая физико-математическая модель взаимодействия терагерцового импульсного излучения с плоско-слоистыми средами в импульсной спектроскопии. Она использует приближение плоской волны, предполагает трассировку комплексной амплитуды волны в измерительном тракте, учитывает деление амплитуды волны и фазовые набег на границах раздела, фазовые набег и

поглощение в объеме вещества, а также конечное число резонансов в слое образца. На ее основе разработан метод оценки терагерцовых оптических свойств объектов спектроскопических исследований, включая биологические ткани.

- Разработан новый метод терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, использующий эффект твердотельной иммерсии и иммерсионную полусферу из высокорезистивного кремния, адаптированный для визуализации биологических тканей и преодолевающий дифракционный предел Аббе. Теоретически и экспериментально показано, что пространственное разрешение нового метода зависит от оптических свойств объекта, однако остается субволновым ($0,15\lambda - 0,40\lambda$; λ – длина волны) в широком диапазоне его показателей преломления (1,0–5,0) и коэффициентов поглощения ($0-400 \text{ см}^{-1}$, по мощности).
- Предложена новая физико-математическая модель взаимодействия непрерывного терагерцового излучения с объектом исследования в микроскопии субволнового разрешения, использующей эффект твердотельной иммерсии. Она учитывает широкую апертуру и поляризацию пучка, возбуждение эванесцентных волн на границе раздела между иммерсионной линзой и образцом, а также стоячие волны в иммерсионной линзе. На ее основе разработан метод оценки пространственного распределения (с субволновым разрешением) терагерцовых оптических свойств оптически неоднородных объектов микроскопических исследований, включая биологические ткани.
- Впервые экспериментально изучены терагерцовые оптические свойства водных растворов агентов, применяемых в иммерсионном оптическом просветлении тканей, в диапазоне 0,3–2,5 ТГц. Рассмотрены глицерин, полиэтиленгликоль молекулярной массы 200, 300, 400 и 600, пропиленгликоль и диметилсульфоксид (для них рассмотрены объемные доли в растворах от 0 до 100%), сахароза, фруктоза и глюкоза (для них массовые доли в растворах – 0–50%), декстран молекулярной массы 40 и 70 (для них объемные доли в растворах – 0–50%).
- Впервые экспериментально изучены эффективные терагерцовые оптические (диэлектрические) свойства *in vivo* обыкновенных и диспластических невусов кожи человека в диапазоне 0,3–1,0 ТГц, здоровой кожи человека (в различных областях организма) в диапазоне 0,3–1,4 ТГц, *ex vivo* децеллюляризованного бычьего перикарда в диапазоне 0,4–2,0 ТГц, свежесеченных интактных тканей головного мозга человека и глиом различной степени злокачественности в диапазоне 0,2–1,5 ТГц, а также свежесеченной модели глиомы 101.8 в мозгу крысы в диапазоне

0,2–1,0 ТГц. Для интактных тканей и глиом человека построены модели эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости.

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

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанные физико-математические модели, методы и экспериментальные установки для терагерцовой импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения открывают новые возможности исследований объектов различной природы, включая биологические ткани. Они могут применяться как в фундаментальных исследованиях эффектов взаимодействия терагерцового излучения с такими объектами с целью изучения терагерцового диэлектрического отклика оптически однородных сред и эффектов рассеяния терагерцовых волн в оптически неоднородных средах, так и в прикладных исследованиях, направленных на решение актуальных проблем в различных сферах жизнедеятельности человека. Наряду с биомедицинскими применениями, разработанные методы способны найти свои применения в физике твердого тела, науках о материалах, химии и фармацевтике.

С помощью новых методов в диссертации получены важные научные результаты, расширяющие представления о взаимодействии терагерцового излучения с биологическими объектами. Впервые изучены терагерцовые оптические (диэлектрические) свойства распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей, здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов, децеллюляризованного бычьего перикарда, интактных тканей и глиом головного мозга человека различной степени злокачественности, а также модели глиомы 101.8. Разработаны физико-математические модели эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости интактных тканей и опухолей мозга. Терагерцовая микроскопия выявила мезомасштабные гетерогенности биологических тканей и связанную с ними необходимость изучения эффектов рассеяния и построения теории переноса терагерцового излучения.

Практическая значимость результатов показана при апробации новых методов терагерцовой импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения, включавшей исследования здоровых тканей и новообразований и выявившая статистически значимые различия их терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик. Проведенные исследования показали перспективность и сформировали фундаментальные основы применения терагерцовой спектроскопии и микроскопии в медицинской

диагностике социально значимых заболеваний, диспластических невусов кожи и глиом головного мозга.

Методы исследований. При выполнении диссертационного исследования применялись методы физической и прикладной оптики, терагерцовой оптики и биофотоники, фурье оптики, вычислительной электродинамики, решения прямых и обратных задач оптики, цифровой обработки оптических сигналов.

Достоверность результатов диссертации обеспечивается тщательной проработкой методик проведения вычислительных и натуральных экспериментов, воспроизводимостью наблюдаемых численных и экспериментальных данных, адекватным сравнением теоретических предсказаний с данными численного моделирования, эксперимента и литературными данными.

Основные положения и результаты, выносимые на защиту.

- 1) Разработанный метод решения обратной задачи терагерцовой импульсной спектроскопии позволяет оценивать оптические характеристики объекта исследования по наблюдаемым сигналам спектрометра для различных геометрий эксперимента с учетом специфики регистрируемых сигналов (напряженности электрического поля терагерцовой волны, заданной в конечном временном интервале), деления амплитуды и фазовых набегов волны на границах раздела, фазовых набегов и поглощения в объеме вещества, а также конечного числа резонансов в слоистых средах.
- 2) Разработанный метод терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, использующий эффект твердотельной иммерсии и иммерсионную полусферу из высокорезистивного кремния, позволяет визуализировать оптически неоднородные объекты с разрешением, зависящим от их оптических свойств, но остающимся субволновым ($0,15\lambda - 0,40\lambda$, где λ – длина волны) в широком диапазоне показателей преломления (1,0–5,0) и коэффициентов поглощения ($0-400\text{ см}^{-1}$, по мощности).
- 3) Разработанный метод решения обратной задачи терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, использующей эффект твердотельной иммерсии, позволяет оценивать пространственное распределение терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик объекта исследования с учетом широкой апертуры пучка, возбуждения эванесцентных волн на границе между иммерсионной линзой и объектом и стоячих волн в иммерсионной линзе.
- 4) Для различных биологических тканей, включая ткани молочной железы и языка человека, интактного мозга крысы и модели глиомы 101.8, наблюдаются

мезомасштабные и субволновые флуктуации (гетерогенность) терагерцовых оптических свойств.

- 5) Полученные физико-математические модели комплексной диэлектрической проницаемости релаксационного и осцилляторного типа позволяют описывать взаимодействие излучения со свежесеченными интактными тканями мозга человека и глиомами различной степени злокачественности *ex vivo* в диапазоне 0,2–1,5 ТГц.
- 6) Получены оптические характеристики в диапазоне 0,3–2,5 ТГц водных растворов агентов, применяемых в иммерсионном оптическом просветлении тканей, включая глицерин, полиэтиленгликоль молекулярной массы 200, 300, 400 и 600, пропиленгликоль и диметилсульфоксид (для них рассмотрены объемные доли в растворах от 0 до 100%), сахарозу, фруктозу и глюкозу (для них массовые доли в растворах – 0–50%), декстран молекулярной массы 40 и 70 (для них объемные доли в растворах – 0–50%).
- 7) Выявлены флуктуации эффективных оптических характеристик здоровой кожи в различных областях тела человека *in vivo* в диапазоне 0,3–1,4 ТГц.
- 8) Обнаружены статистические различия эффективных диэлектрических характеристик обыкновенных и диспластических невусов кожи человека *in vivo* в диапазоне 0,3–1,0 ТГц.
- 9) Зарегистрированы эффективные диэлектрические характеристики в диапазоне 0,4–2,0 ТГц и микроскопические изображения на частоте 0,6 ТГц децеллюляризованного бычьего перикарда.
- 10) Обнаружены статистические различия между эффективными оптическими характеристиками свежесеченных интактных тканей головного мозга человека и глиом различной степени злокачественности *ex vivo* в диапазоне 0,2–1,5 ТГц, а также интактных тканей мозга крысы и модели глиомы 101.8 *ex vivo*.

Апробация результатов. Результаты диссертации получены в рамках работ по грантам Российского научного фонда № 22-79-10099, 17-79-20346, 18-12-00328, 14-29-00277, 14-15-00758 и Российского фонда фундаментальных исследований № 18-29-02060-мк, 17-08-00803-а, 18-38-00504-мол_а, 14-02-00781-а, 14-08-31102-мол_а.

Результаты работ используются в научно-исследовательской деятельности МГТУ им. Н.Э. Баумана, ИФТТ РАН, Сеченовского университета и Института внеземной физики Макса Планка. Результаты диссертации нашли свое отражение в авторских курсах лекций «Терагерцовая оптотехника», «Математическое моделирование в оптике» и «Широкополосная диэлектрическая спектроскопия», преподаваемых соискателем

студентам кафедры лазерных и оптико-электронных систем МГТУ им. Н.Э. Баумана. Соискатель является научным руководителем или консультантом студентов специалитета, бакалавриата и магистратуры МГТУ им. Н.Э. Баумана.

Зайцев К.И. являлся научным руководителем по диссертации Н.В. Черномырдина на соискание ученой степени к.ф.-м.н. (защищена в 2021 г.), а также научным консультантом по диссертациям к.ф.-м.н. Г.М. Катывы (2020 г.) и А.А. Гавдуша (2021 г.).

Результаты работ используются в научно-исследовательской деятельности МГТУ им. Н.Э. Баумана, ИФТТ РАН, Сеченовского университета и Института внеземной физики Макса Планка. Результаты диссертации нашли свое отражение в авторских курсах лекций «Терагерцовая оплотехника», «Математическое моделирование в оптике» и «Широкополосная диэлектрическая спектроскопия», преподаваемых соискателем студентам кафедры лазерных и оптико-электронных систем МГТУ им. Н.Э. Баумана. Соискатель является научным руководителем или консультантом студентов специалитета, бакалавриата и магистратуры МГТУ им. Н.Э. Баумана.

Результаты диссертационной работы были представлены на отечественных и международных научных конференциях, симпозиумах и семинарах, среди которых особо отметим: *Saratov Fall Meeting 2017–2022* (Саратов, Россия); *Advanced Laser Technologies 2015* (Фаро, Португалия), 2018 (Таррагона, Испания), 2019 (Прага, Чехия), 2021 и 2022 (Москва, Россия); *International Conference on Laser Optics 2016, 2018 и 2020* (Санкт Петербург, Россия); *International Conference Terahertz and Microwave Radiation: Generation, Detection and Applications 2012* (Москва, Россия), 2018 (Нижний Новгород, Россия), 2020 (Томск, Россия); *Russia-Japan-USA Symposium on the Fundamental & Applied Problems of Terahertz Devices and Technologies 2012* (Айзу, Серндаи, Япония), 2013 (Москва, Россия), 2014 (Баффало, США), 2015 (Черноголовка, Россия), 2016 (Сендаи, Япония), 2018 (Варшава, Польша) и 2019 (Нижний Новгород, Россия); *International Conference on Photonics and Imaging in Biology and Medicine 2021 и 2022* (Haikou, China); *European Conference on Photonic Optoelectronic & Electronic Materials 2019* (Лондон, Великобритания); *Лекторий РНФ в рамках Международного научного форума «Ломоносов» 2021* (Москва, Россия).

Личный вклад автора. Большая часть теоретических, вычислительных и экспериментальных результатов получена соискателем лично, либо научной группой, аспирантами и студентами, работающими под научным руководством соискателя. Часть результатов диссертации получены совместно с научными группами из сторонних организаций при выполнении совместных грантов РНФ и РФФИ. Соискатель является автором постановок задач и принимал непосредственное участие в получении

теоретических, вычислительных и экспериментальных результатов, обработке и анализе численных и экспериментальных данных, подготовке публикаций по результатам исследований, а также представлении результатов на научных конференциях, симпозиумах и семинарах. Теоретические и экспериментальные исследования по диссертации проводились на базе Лаборатории широкополосной диэлектрической спектроскопии Отдела субмиллиметровой спектроскопии ИОФ РАН в сотрудничестве с Лабораторией профилированных кристаллов ИФТТ РАН, научно-образовательным центром «Фотоника и ИК техника» МГТУ им. Н.Э. Баумана. Исследования образцов биологических тканей проводились на клинических и биофизических базах Сеченовского университета, МНИОИ им. П.А. Герцена, НМИЦ Нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко и НИИ Морфологии человека.

Публикации. По результатам диссертации опубликованы 59 научных работ [11,15–72] в журналах, включенных в перечень рекомендованных ВАК и входящих в международные реферативные базы данных Web of Science и Scopus, 3 главы в монографиях [73–75] и 6 свидетельств о результатах интеллектуальной деятельности. Косвенно определяющий вклад соискателя в работы по диссертации подтверждается тем, что в 11 научных статьях и главах монографий он выступает первым автором, а в 23 – последним. По данным базы Scopus на 11.05.2023 г. совокупная цитируемость работ соискателя по теме диссертации составляет более 1600, а его h-индекс достиг 29.

Структура диссертации. Диссертационная работа включает введение, пять глав, заключение, список сокращений и список использованных источников (892 наименования). Общий объем диссертационной работы составляет 302 страниц, включая 242 страниц основного текста, список сокращений на 2 страницах, список использованных источников на 59 страницах, 96 рисунков и 11 таблиц.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

Научные статьи в ведущих рецензируемых журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования WoS и Scopus:

- 1) **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Chernomyrdin N.V., Katyba G.M., Gavgdush A.A., Cherkasova O.P., Komandin G.A., Shchedrina M.A., Khodan A.N., Ponomarev D.S., Reshetov I.V., Karasik V.E., Skorobogatiy M., Kurlov V.N., Tuchin V.V. The progress and perspectives of terahertz technology for diagnosis of neoplasms: A review // *Journal of Optics*. 2020. Vol. 22, № 1. P. 013001.
- 2) Smolyanskaya O.A., Chernomyrdin N.V., Konovko A.A., **Zaytsev K.I.**, Ozheredov I.A., Cherkasova O.P., Nazarov M.M., Guillet J.–P., Kozlov S.A., Kistenev Yu.V., Coutaz J.–L., Mounaix P., Vaks V.L., Son J.–H., Cheon H., Wallace V.P., Feldman Yu., Popov I.,

- Yaroslavsky A.N., Shkurinov A.P., Tuchin V.V. Terahertz biophotonics as a tool for studies of dielectric and spectral properties of biological tissues and liquids // *Progress in Quantum Electronics*. 2018. Vol. 62. P. 1–77.
- 3) Cherkasova O.P., Serdyukov D.S., Nemova E.F., Ratushnyak A.S., Kucheryavenko A.S., Dolganova I.N., Xu G., Skorobogatiy M., Reshetov I.V., Timashev P.S., Spektor I.E., **Zaytsev K.I.**, Tuchin V.V. Cellular effects of terahertz waves // *Journal of Biomedical Optics*. 2021. Vol. 26, № 9. P. 090902.
 - 4) Cherkasova O.P., Serdyukov D.S., Ratushnyak A.S., Nemova E.F., Kozlov E.N., Shidlovskii Yu.V., **Zaytsev K.I.**, Tuchin V.V. Effects of terahertz radiation on living cells: a review // *Optics and Spectroscopy*. 2020. Vol. 128, № 6. P. 855–866;
русскаяязычная версия: Черкасова О.П., Сердюков Д.С., Ратушняк А.С., Немова Е.Ф., Козлов Е.Н., Шидловский Ю.В., **Зайцев К.И.**, Тучин В.В. Механизмы влияния терагерцового излучения на клетки (обзор) // *Оптика и спектроскопия*. 2020. Том 128, Вып. 6. Стр. 852–864.
 - 5) Chernomyrdin N.V. Musina G.R., Nikitin P.V., Dolganova I.N., Kucheryavenko A.S., Alekseeva A.I., Wang Y., Xu D., Shi Q., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Terahertz technology in intraoperative neurodiagnostics: A review // *Opto-Electronics Advances*. 2023. Vol. 6. P. 220071.
 - 6) Musina G.R., Nikitin P.V., Chernomyrdin N.V., Dolganova I.N., Gavidush A.A., Komandin G.A., Ponomarev D.S., Potapov A.A., Reshetov I.V., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Prospects of terahertz technology in diagnosis of human brain tumors – A review // *Journal of Biomedical Photonics and Engineering*. 2020. Vol. 6, № 2. P. 3375.
 - 7) Smolyanskaya O.A., Lazareva E.N., Nalegaev S.S., Petrov N.V., **Zaytsev K.I.**, Timoshina P.A., Tuchina D.K., Toropova Ya.G., Korniyushin O.V., Babenko A.Yu., Guillet J.–P., Tuchin V.V. Multimodal optical diagnostics of glycated biological tissues // *Biochemistry (Moscow)*. 2019. Vol. 84. P. 124–143;
русскаяязычная версия: Смолянская О.А., Лазарева Е.Н., Налегает С.С., Петров Н.В., **Зайцев К.И.**, Тимошина П.А., Тучина Д.К., Торопова Я.Г., Корнюшин О.В., Бабенко А.Ю., Гийе Ж.–П., Тучин В.В. Мультимодальная оптическая диагностика гликированных биологических тканей // *Успехи биологической химии*. 2019. Том. 59. Стр. 253–294.
 - 8) Katyba G.M., **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Shikunova I.A., Chernomyrdin N.V., Yurchenko S.O., Komandin G.A., Reshetov I.V., Nesvizhevsky V.V., Kurlov V.N. Sapphire shaped crystals for waveguiding, sensing and exposure applications // *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*. 2018. Vol. 64, № 4. P. 133–151.

- 9) Katyba G.M., **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Chernomyrdin N.V., Ulitko V.E., Rossolenko S.N., Shikunova I.A., Kurlov V.N. Sapphire waveguides and fibers for terahertz applications // *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*. 2021. Vol. 67, № 3. P. 100523.
- 10) **Zaytsev K.I.**, Kurlov V.N., Skorobogatiy M., Reshetov I.V., Tuchin V.V. Special section guest editorial: Advances in terahertz biomedical science and applications // *Journal of Biomedical Optics*. 2021. Vol. 26, № 4. P. 043001.
- 11) Chernomyrdin N.V., Skorobogatiy M., Ponomarev D.S., Bukin V.V., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Terahertz solid immersion microscopy: Recent achievements and challenges // *Applied Physics Letters (APL Prospective)*. 2022. Vol. 120, № 11. P. 110501.
- 12) Martins I.S., Silva H.F., Lazareva E.N., Chernomyrdin N.V., **Zaytsev K.I.**, Oliveira L.M., Tuchin V.V. Measurement of tissue optical properties in a wide spectral range: a review // *Biomedical Optics Express*. 2023. Vol. 14, № 1, P.249–298.
- 13) **Zaytsev K.I.**, Gavdush A.A., Karasik V.E., Alekhnovich V.I., Nosov P.A., Lazarev V.A., Reshetov I.V., Yurchenko S.O. Accuracy of sample material parameters reconstruction using terahertz pulsed spectroscopy // *Journal of Applied Physics*. 2014. Vol. 115, № 19. P. 193105.
- 14) **Zaytsev K.I.**, Gavdush A.A., Lebedev S.P., Karasik V.E., Yurchenko S.O. A method of studying spectral optical characteristics of a homogeneous medium by means of terahertz time-domain spectroscopy // *Optics and Spectroscopy*. 2015. Vol. 118, № 4. P. 552–562; русскоязычная версия: **Зайцев К.И.**, Гавдуш А.А., Лебедев С.П., Карасик В.Е., Юрченко С.О. Метод исследования спектральных оптических характеристик однородной среды с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии // *Оптика и спектроскопия*. 2015. Том. 118, Вып. 4. Стр. 582–593.
- 15) Yurchenko S.O., **Zaytsev K.I.** Spectroscopy of Nafion in terahertz frequency range // *Journal of Applied Physics*. 2014. Vol. 116, № 11. P. 113508.
- 16) Yakovlev E.V., **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Yurchenko S.O. Non-destructive evaluation of polymer composite materials at the manufacturing stage using terahertz pulsed spectroscopy // *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*. 2015. Vol. 5, № 5. P. 810–816.
- 17) Ulitko V.E., Zotov A.K., Gavdush A.A., Katyba G.M., Komandin G.A., Spektor I.E., Shmytko I.M., Emelchenko G.A., Dolganova I.N., Skorobogatiy M., Kurlov V.N., Masalov V.M., **Zaytsev K.I.** Nanoporous SiO₂ based on annealed artificial opals as a favorable material platform of terahertz optics // *Optical Materials Express*. 2020. Vol. 10, № 9. P. 2100–2113.

- 18) Ulitko V.E., Katyba G.M., Zhelnov V.A., Shmytko I.M., Emelchenko G.A., Spector I.E., Masalov V.M., Kurlov V.N., **Zaytsev K.I.**, Skorobogatiy M. Opal-based terahertz optical elements fabricated by self-assembly of porous SiO₂ nanoparticles // *Optics Express*. 2021. Vol. 29, № 9. P. 13764–13777.
- 19) Giuliano B.M., Gavdush A.A., Müller B., **Zaytsev K.I.**, Grassi T., Ivlev A.V., Palumbo M.E., Baratta G.A., Scirè C., Komandin G.A., Yurchenko S.O., Caselli P. Broadband spectroscopy of astrophysical ice analogues. I. Direct measurement of the complex refractive index of CO ice using terahertz time-domain spectroscopy // *Astronomy and Astrophysics*. 2019. Vol. 629. P. A112.
- 20) Gavdush A.A., Kruczkiewicz F., Giuliano B.M., Müller B., Komandin G.A., Grassi T., Theulé P., **Zaytsev K.I.**, Ivlev A.V., Caselli P. Broadband spectroscopy of astrophysical ice analogues II. Optical constants of CO and CO₂ ices in the terahertz and infrared ranges // *Astronomy and Astrophysics*. 2022. Vol. 667. P. A49.
- 21) Komandin G.A., **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Nozdrin V.S., Chuchupal S.V., Anzin V.B., Spector I.E. Quantification of solid-phase chemical reactions using the temperature-dependent terahertz pulsed spectroscopy, sum rule, and Arrhenius theory: Thermal decomposition of α -lactose monohydrate // *Optics Express*. 2022. Vol. 30, № 6. P. 9208–9221.
- 22) Komandin G.A., Porodinkov O.E., Nozdrin V.S., Musina G.R., Chernomyrdin N.V., **Zaytsev K.I.**, Spector I.E. Temperature Evolution of the Dielectric Response of α -Lactose Monohydrate in the THz Frequency Range // *Optics and Spectroscopy*. 2020. Vol. 128, № 6. P. 752–758;
 русскоязычная версия: Командин Г.А., Породинков О.Е., Ноздрин В.С., Мусина Г.Р., Черномырдин Н.В., **Зайцев К.И.**, Спектор И.Е. Температурная эволюция диэлектрического отклика α -лактозы моногидрата в терагерцовом диапазоне частот // *Оптика и спектроскопия*. 2020. Том 128, вып. 6. Стр. 746–752.
- 23) **Zaytsev K.I.**, Karasik V.E., Fokina I.N., Alekhovich V.I. Invariant embedding technique for medium permittivity profile reconstruction using terahertz time-domain spectroscopy // *Optical Engineering*. 2013. Vol. 52, № 6. P. 068203.
- 24) Musina G.R., Dolganova I.N., Chernomyrdin N.V., Gavdush A.A., Ulitko V.E., Cherkasova O.P., Tuchina D.K., Nikitin P.V., Alekseeva A.I., Bal N.V., Komandin G.A., Kurlov V.N., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Optimal hyperosmotic agents for tissue immersion optical clearing in terahertz biophotonics // *Journal of Biophotonics*. 2020. Vol. 13, № 12. P. e202000297.

- 25) Musina G.R., Gavdush A.A., Chernomyrdin N.V., Dolganova I.N., Ulitko V.E., Cherkasova O.P., Kurlov V.N., Komandin G.A., Zhivotovskii I.V., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Optical properties of hyperosmotic agents for immersion clearing of tissues in terahertz spectroscopy // *Optics and Spectroscopy*. 2020. Vol. 128, № 7. P. 1026–1035; русскоязычная версия: Мусина Г.Р., Гавдуш А.А., Черномырдин Н.В., Долганова И.Н., Улитко В.Э., Черкасова О.П., Курлов В.Н., Командин Г.А., Животовский И.В., Тучин В.В., **Зайцев К.И.** Оптические свойства гиперосмотических агентов для иммерсионного просветления тканей в терагерцовом диапазоне // *Оптика и спектроскопия*. 2020. Том 128, вып. 7. Стр. 1020–1029.
- 26) Musina G.R., Chernomyrdin N.V., Gafarova E.R., Gavdush A.A., Shpichka A.J., Komandin G.A., Anzin V.B., Grebenik E.A., Kravchik M.V., Istranova E.V., Dolganova I.N., **Zaytsev K.I.**, Timashev P.S. Moisture adsorption by decellularized bovine pericardium collagen matrices studied by terahertz pulsed spectroscopy and solid immersion microscopy // *Biomedical Optics Express*. 2021. Vol. 12, № 9. P. 5368–5386.
- 27) **Zaytsev K.I.**, Gavdush A.A., Chernomyrdin N.V., Yurchenko S.O. Highly accurate in vivo terahertz spectroscopy of healthy skin: variation of refractive index and absorption coefficient along the human body // *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*. 2015. Vol. 5, № 5. P. 817–827.
- 28) **Zaytsev K.I.**, Kudrin K.G., Karasik V.E., Reshetov I.V., Yurchenko S.O. In vivo terahertz spectroscopy of pigmentary skin nevi: Pilot study of non-invasive early diagnosis of dysplasia // *Applied Physics Letters*. 2015. Vol. 106, № 5. P. 053702.
- 29) **Zaitsev K.I.**, Chernomyrdin N.V., Kudrin K.G., Reshetov I.V., Yurchenko S.O. Terahertz spectroscopy of pigmentary skin nevi in vivo // *Optics and Spectroscopy*. 2015. Vol. 119, № 3. P. 404–410; русскоязычная версия: **Зайцев К.И.**, Черномырдин Н.В., Кудрин К.Г., Решетов И.В., Юрченко С.О. Терагерцовая спектроскопия пигментных невусов кожи in vivo // *Оптика и спектроскопия*. 2015. Том 119, Вып. 3. Стр. 430–437.
- 30) Reshetov I.V., **Zaytsev K.**, Kudrin K., Karasik V., Yurchenko S., Shcherbina V. Terahertz spectroscopy: Pilot study of non-invasive early diagnosis of dysplasia and melanoma // *European Journal of Cancer*. 2015. Vol. 51. P. S167.
- 31) Chernomyrdin N.V., Frolov M.E., Lebedev S.P., Reshetov I.V., Spektor I.E., Tolstoguzov V.L., Karasik V.E., Khorokhorov A.M., Koshelev K.I., Schadko A.O., Yurchenko S.O., **Zaytsev K.I.** Wide-aperture aspherical lens for high-resolution terahertz imaging // *Review of Scientific Instruments*. 2017. Vol. 88, № 1. P. 014703.

- 32) Chernomyrdin N.V., Shchadko A.O., Lebedev S.P., Spektor I.E., Tolstoguzov V.L., Kucheryavenko A.S., Malakhov K.M., Komandin G.A., Gorelik V.S., **Zaytsev K.I.** Wide-aperture aspheric optics for formation of subwavelength caustics of a terahertz electromagnetic-radiation beam // *Optics and Spectroscopy*. 2018. Vol. 124, № 3. P. 428–436;
 русскоязычная версия: Черномырдин Н.В., Щадько А.О., Лебедев С.П., Спектор И.Е., Толстогузов В.Л., Кучерявенко А.С., Малахов К.М., Командин Г.А., Горелик В.С., **Зайцев К.И.** Широкоапертурная асферическая оптика для формирования субволновой каустики пучка терагерцового электромагнитного излучения // *Оптика и спектроскопия*. 2018. Том 124, Вып. 3. Стр. 420–428.
- 33) Chernomyrdin N.V., Kucheryavenko A.S., Kolontaeva G.S., Katyba G.M., Dolganova I.N., Karalkin P.A., Ponomarev D.S., Kurlov V.N., Reshetov I.V., Skorobogatiy M., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Reflection-mode continuous-wave 0.15λ -resolution terahertz solid immersion microscopy of soft biological tissues // *Applied Physics Letters*. 2018. Vol. 113, № 11. P. 111102.
- 34) Chernomyrdin N.V., Kucheryavenko A.S., Rimskaya E.N., Dolganova I.N., Zhelnov V.A., Karalkin P.A., Gryadunova A.A., Reshetov I.V., Lavrukhin D.V., Ponomarev D.S., Karasik V.E., **Zaytsev K.I.** Terahertz microscope based on solid immersion effect for imaging of biological tissues // *Optics and Spectroscopy*. 2019. Vol. 126, № 5. P. 560–567;
 русскоязычная версия: Черномырдин Н.В., Кучерявенко А.С., Римская Е.Н., Долганова И.Н., Желнов В.А., Каралкин П.А., Грядунова А.А., Решетов И.В., Лаврухин Д.В., Пономарев Д.С., Карасик В.Е., **Зайцев К.И.** Терагерцовый микроскоп на основе эффекта твердотельной иммерсии для визуализации биологических тканей // *Оптика и спектроскопия*. 2019. Том 126, вып. 5. Стр. 642–649.
- 35) Chernomyrdin N.V., Schadko A.O., Lebedev S.P., Tolstoguzov V.L., Kurlov V.N., Reshetov I.V., Spektor I.E., Skorobogatiy M., Yurchenko S.O., **Zaytsev K.I.** Solid immersion terahertz imaging with sub-wavelength resolution // *Applied Physics Letters*. 2017. Vol. 110, № 22. P. 221109.
- 36) Chernomyrdin N.V., Zhelnov V.A., Kucheryavenko A.S., Dolganova I.N., Katyba G.M., Karasik V.E., Reshetov I.V., **Zaytsev K.I.** Numerical analysis and experimental study of terahertz solid immersion microscopy // *Optical Engineering*. 2019. Vol. 59, № 6. P. 061605.

- 37) Zhelnov V.A., **Zaytsev K.I.**, Kucheryavenko A.S., Katyba G.M., Dolganova I.N., Ponomarev D.S., Kurlov V.N., Skorobogatiy M., Chernomyrdin N.V. Object-dependent spatial resolution of the reflection-mode terahertz solid immersion microscopy // *Optics Express*. 2021. Vol. 29, № 3. P. 3553–3566.
- 38) Chernomyrdin N.V., Skorobogatiy M., Gavdush A.A., Musina G.R., Katyba G.M., Komandin G.A., Khorokhorov A.M., Spektor I.E., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Quantitative super-resolution solid immersion microscopy via refractive index profile reconstruction // *Optica*. 2021. Vol. 8, № 11. P. 1471–1480.
- 39) Chapdelaine Q., Nallappan K., Cao Y., Guerboukha H., Chernomyrdin N., **Zaytsev K.**, Skorobogatiy M. Fabrication and characterization of a composite TiO₂-polypropylene high-refractive-index solid immersion lens for super-resolution THz imaging // *Optical Materials Express*. 2022. Vol. 12, № 8. P. 3015–3031.
- 40) Gavdush A.A., Chernomyrdin N.V., Lavrukhin D.V., Cao Y., Komandin G.A., Spektor I.E., Perov A.N., Dolganova I.N., Katyba G.M., Kurlov V.N., Ponomarev D.S., Skorobogatiy M., Reshetov I.V., **Zaytsev K.I.** Proof of concept for continuously-tunable terahertz bandpass filter based on a gradient metal-hole array // *Optics Express*. 2020. Vol. 28, № 18. P. 26228–26238.
- 41) Chernomyrdin N.V., Lavrukhin D.V., Ulitko V.E., Galiev R.R., Gavdush A.A., Anzin V.B., Perov A.N., Katyba G.M., Tuchin V.V., Skorobogatiy M., Reshetov I.V., Ponomarev D.S., **Zaytsev K.I.** Continuously-tunable middle-IR bandpass filters based on gradient metal-hole arrays for multispectral sensing and thermography // *Journal of Applied Physics*. 2022. Vol. 131, № 12. P. 123103.
- 42) Dolganova I.N., **Zaytsev K.I.**, Metelkina A.A., Karasik V.E., Yurchenko S.O. A hybrid continuous-wave terahertz imaging system // *Review of Scientific Instruments*. 2015. Vol. 86, № 11. P. 113704.
- 43) Dolganova I.N., **Zaytsev K.I.**, Metelkina A.A., Yakovlev E.V., Karasik V.E., Yurchenko S.O. Combined terahertz imaging system for enhanced imaging quality // *Optical and Quantum Electronics*. 2016. Vol. 48, № 6. P. 325.
- 44) Dolganova I.N., **Zaytsev K.I.**, Yurchenko S.O., Karasik V.E., Tuchin V.V. The role of scattering in quasi-ordered structures for terahertz imaging: Local order can increase an image quality // *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*. 2018. Vol. 8, № 4. P. 403–409.
- 45) Gavdush A.A., Chernomyrdin N.V., Malakhov K.M., Beshplav S.–I.T., Dolganova I.N., Kosyrkova A.V., Nikitin P.V., Musina G.R., Katyba G.M., Reshetov I.V., Cherkasova O.P., Komandin G.A., Karasik V.E., Potapov A.A., Tuchin V.V.,

- Zaytsev K.I.** Terahertz spectroscopy of gelatin-embedded human brain gliomas of different grades: a road toward intraoperative THz diagnosis // *Journal of Biomedical Optics*. 2019. Vol. 24, № 2. P. 027001.
- 46) Gavdush A.A., Chernomyrdin N.V., Komandin G.A., Dolganova I.N., Nikitin P.V., Musina G.R., Katyba G.M., Kucheryavenko A.S., Reshetov I.V., Potapov A.A., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Terahertz dielectric spectroscopy of human brain gliomas and intact tissues ex vivo: double-Debye and double-overdamped-oscillator models of dielectric response // *Biomedical Optics Express*. 2021. Vol. 12, № 1. P. 69–83.
- 47) Dolganova I.N., Aleksandrova P.V., Nikitin P.V., Alekseeva A.I., Chernomyrdin N.V., Musina G.R., Beshplav S.T., Reshetov I.V., Potapov A.A., Kurlov V.N., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Capability of physically reasonable OCT-based differentiation between intact brain tissues, human brain gliomas of different WHO grades, and glioma model 101.8 from rats // *Biomedical Optics Express*. 2020. Vol. 11, № 11. P. 6780–6798.
- 48) Kucheryavenko A.S., Chernomyrdin N.V., Gavdush A.A., Alekseeva A.I., Nikitin P.V., Dolganova I.N., Karalkin P.A., Khalansky A.S., Spektor I.E., Skorobogatiy M., Tuchin V.V., **Zaytsev K.I.** Terahertz dielectric spectroscopy and solid immersion microscopy of ex vivo glioma model 101.8: brain tissue heterogeneity // *Biomedical Optics Express*. 2021. Vol. 12, № 8. P. 5272–5289.
- 49) **Zaytsev K.I.**, Katyba G.M., Kurlov V.N., Shikunova I.A., Karasik V.E., Yurchenko S.O. Terahertz photonic crystal waveguides based on sapphire shaped crystals // *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*. 2016. Vol. 6, № 4. P. 576–582.
- 50) Katyba G.M., **Zaytsev K.I.**, Chernomyrdin N.V., Shikunova I.A., Komandin G.A., Anzin V.B., Lebedev S.P., Spektor I.E., Karasik V.E., Yurchenko S.O., Reshetov I.V., Kurlov V.N., Skorobogatiy M. Sapphire photonic crystal waveguides for terahertz sensing in aggressive environments // *Advanced Optical Materials*. 2018. Vol. 6, № 22. P. 1800573.
- 51) Katyba G.M., Chizhov P.A., Kurlov V.N., Dolganova I.N., Garnov S.V., **Zaytsev K.I.**, Bukin V.V. THz generation by two-color laser air plasma coupled to antiresonance hollow-core sapphire waveguides: THz-wave delivery and angular distribution management // *Optics Express*. 2022. Vol. 30, № 3. P. 4215–4230.
- 52) Katyba G.M., Melikyants D.G., Chernomyrdin N.V., Kurlov V.N., **Zaytsev K.I.** Terahertz transmission-mode scanning-probe near-field optical microscopy based on a flexible step-index sapphire fiber // *Optical Engineering*. 2021. Vol. 60, № 8. P. 082010.

- 53) Minin I.V., Minin O.V., Katyba G.M., Chernomyrdin N.V., Kurlov V.N., **Zaytsev K.I.**, Yue L., Wang Z., Christodoulides D.N. Experimental observation of a photonic hook // *Applied Physics Letters* 2019. Vol. 114, № 3. P. 031105.
- 54) **Zaytsev K.I.**, Katyba G.M., Chernomyrdin N.V., Dolganova I.N., Kucheryavenko A.S., Rossolenko A.N., Tuchin V.V., Kurlov V.N., Skorobogatiy M. Overcoming the Abbe diffraction limit using a bundle of metal-coated high-refractive-index sapphire optical fibers // *Advanced Optical Materials*. 2020. Vol. 8, № 18. P. 2000307.
- 55) Katyba G.M., Skorobogatiy M., Melikyants D.G., Chernomyrdin N.V., Perov A.N., Yakovlev E.V., Dolganova I.N., Spektor I.E., Tuchin V.V., Kurlov V.N., **Zaytsev K.I.** Superresolution imaging using a tapered bundle of high-refractive-index optical fibers // *Physical Review Applied*. 2022. Vol. 18, № 3. P. 034069.
- 56) Katyba G.M., Dolganova I.N., **Zaytsev K.I.**, Kurlov V.N. Sapphire single-crystal waveguides and fibers for THz frequency range // *Journal of Surface Investigation: X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques*. 2020. Vol. 14, № 3. P. 437–439.
- 57) Bakulina A.A., Musina G.R., Gavdush A.A., Efremov Yu.M., Komandin G.A., Vosough M., Shpichka A.I., **Zaytsev K.I.**, Timashev P.S. PEG-Fibrin conjugates: PEG impact on polymerization dynamics // *Soft Mater*. 2023. Vol. 19. P. 2430–2437.
- 58) Kucheryavenko A.S., Zhelnov V.A., Melikyants D.G., Chernomyrdin N.V., Lebedev S.P., Bukin V.V., Garnov S.V., Kurlov V.N., **Zaytsev K.I.**, Katyba G.M. Super-resolution THz endoscope based on a hollow-core sapphire waveguide and a solid immersion lens // *Optics Express*. 2023. Vol. 31, № 8. P. 13366–13373.
- 59) Ulitko V.E., Musina G.R., Masalov V.M., Gavdush A.A., Emelchenko G.A., Bukin V.V., Kurlov V.N., Skorobogatiy M., Katyba G.M., **Zaytsev K.I.** Moisture adsorption by porous terahertz optical materials: A case study of artificial SiO₂ opals // *Optical Materials Express*. 2023. Vol. 13, Issue 4, pp. 1163-1176.

Главы в монографиях:

- 1) **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Karasik V.E., Kurlov V.N., Reshetov I.V., Tuchin V.V., Beshplav S.–I.T., Potapov A.A., Terahertz spectroscopy and imaging of brain tumors // *Multimodal optical diagnostics of cancer*. 1st Ed. / Ed. Tuchin V.V., Popp J., Zakharov V.P. Springer, Cham, 2020. P. 551–574.
- 2) Lazareva E.N., Oliveira L., Yanina I.Yu., Chernomyrdin N.V., Musina G.R., Tuchina D.K., Bashkatov A.N., **Zaytsev K.I.**, Tuchin V.V. Refractive index measurements of tissue and blood components and OCAs in a wide spectral range // *Handbook of Tissue Optical Clearing. New Prospects in Optical Imaging*. 1st Ed. / Ed. Tuchin V.V., Zhu D. Genina E.A. CRC Press, 2022. P. 141–166.

- 3) Smolyanskaya O.A., **Zaytsev K.I.**, Dolganova I.N., Musina G.R., Tuchina D.K., Nazarov M., Shkurinov A.P., Tuchin V.V. Tissue optical clearing in the terahertz range // Handbook of Tissue Optical Clearing. New Prospects in Optical Imaging. 1st Ed. / Ed. Tuchin V.V., Zhu D. Genina E.A. CRC Press, 2022. P. 445–458.

Свидетельства РИД:

- 1) Катывба Г.М., Шикунова И.А., Долганова И.Н., Курлов В.Н., **Зайцев К.И.** Сапфировая ячейка для внутриволноводной терагерцовой спектроскопии. Патент РФ на полезную модель № 186068 получен 29.12.2018.
- 2) Катывба Г.М., Шикунова И.А., Долганова И.Н., Курлов В.Н., **Зайцев К.И.** Способ внутриволноводной терагерцовой интерферометрии и сапфировая ячейка для его реализации. Патент РФ на изобретение № 2690319 получен 31.05.2019.
- 3) Улитко В.Э., Масалов В.М., Шикунова И.А., Гавдуш А.А., **Зайцев К.И.**, Курлов В.Н. Способ получения плоско-выпуклых оптических элементов терагерцового диапазона из опала на основе кремнезема. Патент РФ на изобретение № 2756386 получен 29.09 2021.
- 4) Улитко В.Э., Масалов В.М., Зотов А.К., Шикунова И.А., Командин Г.А., **Зайцев К.И.**, Курлов В.Н. Линза для терагерцового излучения и способ ее изготовления. Патент РФ на изобретение № 2763383 получен 28.12.2021.
- 5) Кучерявенко А.С., Катывба Г.М., Шикунова И.А., **Зайцев К.И.**, Курлов В.Н. Волновод с субволновой фокусировкой для терагерцовой эндоскопии. Положительное решение по заявке на Патент РФ на изобретение № 2021107836 получено 29.11.2021.
- 6) Кучерявенко А.С., Долганова И.Н., Катывба Г.М., Шикунова И.А., Курлов В.Н., **Зайцев К.И.**, Черномырдин Н.В. Волновод с субволновой фокусировкой для терагерцовой эндоскопии. Патент РФ на изобретение № 2790924 получен 28.02.2023.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность коллегам: научному консультанту, член.-корр. РАН, д.ф.-м.н., В.В. Тучину; сотрудникам отдела субмиллиметровой спектроскопии ИОФ НАН, в особенности, к.т.н. И.Е. Спектору, к.ф.-м.н. Н.В. Черномырдину и к.ф.-м.н. А.А. Гавдушу; лаборатории профилированных кристаллов ИФТТ РАН, в особенности, д.т.н. В.Н. Курлову, к.ф.-м.н. Г.М. Катыбе и к.т.н. И.Н. Долгановой; сотрудникам Сеченовского университета, в особенности: акад. РАН, д.м.н. И.В. Решетову, к.м.н. П.В. Никитину и к.м.н. П.А. Каралкину; МГТУ им. Н.Э. Баумана, в особенности д.ф.-м.н. С.О. Юрченко, д.т.н. В.Е. Карасику, к.т.н. Е.Е. Мухиной и к.т.н. М.С. Ковалеву; НМИЦ Нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, в особенности, ушедшему акад. РАН, д.м.н. А.А. Потапову; коллективу ИСВЧПЭ РАН, в особенности к.ф.-м.н. Д.С. Пономареву; Prof. M. Skorobogatiy (Polytechnique Montréal, Канада); Prof. A. Ivlev (Max-Planck-Institut für extraterrestrische Physik, Германия); д.б.н. О.П. Черкасовой (ИЛФ СО РАН).

Неоценима поддержка и терпение семьи.

ГЛАВА 1. Биомедицинские приложения терагерцовой оптики

В последние десятилетия терагерцовое электромагнитное излучение находит все больше применений в биологии и медицине [10,11,20,48,76–81]. Это связано с активным освоением терагерцового диапазона, с появлением эффективной элементной базы и инструментов терагерцовой оптики [1,4,82–86], а также с созданием портативных и эргономичных терагерцовых спектроскопических и изображающих систем [87,88]. Показана возможность применения терагерцовой техники в ранней неинвазивной, минимально-инвазивной и интраоперационной диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований различной нозологии и локализации [11,69], исследованиях гликированных тканей и неинвазивной диагностике диабета [12,16,59,89], оценке степени травматических повреждений [13,90–92] и уровня гидратации тканей [93–96], а также жизнеспособности трансплантированных тканей [14]. Наряду с диагностическими приложениями, терагерцовое излучение может использоваться в терапии [15,38,97,98]. В работе [99] показана возможность регуляции экспрессии генов, связанных с злокачественными новообразованиями и воспалительными процессами, с помощью терагерцового импульсного излучения высокой пиковой мощности. Несмотря на отмеченный интерес, терагерцовые технологии по-прежнему далеки от клинической практики. С одной стороны, это связано с редкостью, дороговизной и громоздкостью терагерцового оборудования, с другой, – с недостаточным пониманием механизмов взаимодействия терагерцового излучения с тканями, а также фундаментальными физическими пределами пространственного разрешения терагерцовых оптических систем и глубины зондирования тканей терагерцовыми волнами. В настоящей главе диссертации проводится критический обзор современного состояния исследований в области терагерцовой оптики и биофотоники, взаимодействия терагерцовых волн с тканями, а также терагерцовой диагностики. Отмечаются современные проблемы, сдерживающие развитие терагерцовой биофотоники и ее трансляцию в клиническую практику. Формулируются цель и задачи диссертации.

1.1 Генерация и детектирование терагерцового излучения

Терагерцовый диапазон охватывает частоты 0,1–3,0 ТГц или длины волн 3 мм–100 мкм (в свободном пространстве) [11,15]; см. Рис. 1.1. Первое экспериментальное наблюдение терагерцовых волн датируется концом XIX в. и было выполнено Х. Рубенсом, Э. Николсом и Ф. Курлбаумом [100–103]. Они наблюдали тепловое терагерцовое излучение различных материалов (NaCl, KCl, CaF₂ и др.), причем результаты этих исследований сформировали экспериментальную базу для вывода закона теплового излучения М. Планка для абсолютно черного тела и, таким образом, стали отправной точкой развития квантовой теории поля [103,104]. С исследований Г. Рубенса и соавторов началось освоение терагерцового диапазона, разработка терагерцовой элементной базы, а также фундаментальные и прикладные исследования с применением терагерцовой техники. В начале XX в. было обнаружено терагерцовое–ИК излучение ртутной дуговой лампы с эквивалентной температурой абсолютно черного тела 4000 К [105], причем она до сих пор остается распространенным источником длинноволнового излучения в ИК фурье-спектроскопии [106,107]. Г. Рубенс изучил отражение металлов на частотах < 30 ТГц [108]. В работе [109] предложены отражательные дифракционные решетки типа «эшелет» для терагерцовых–ИК частот.

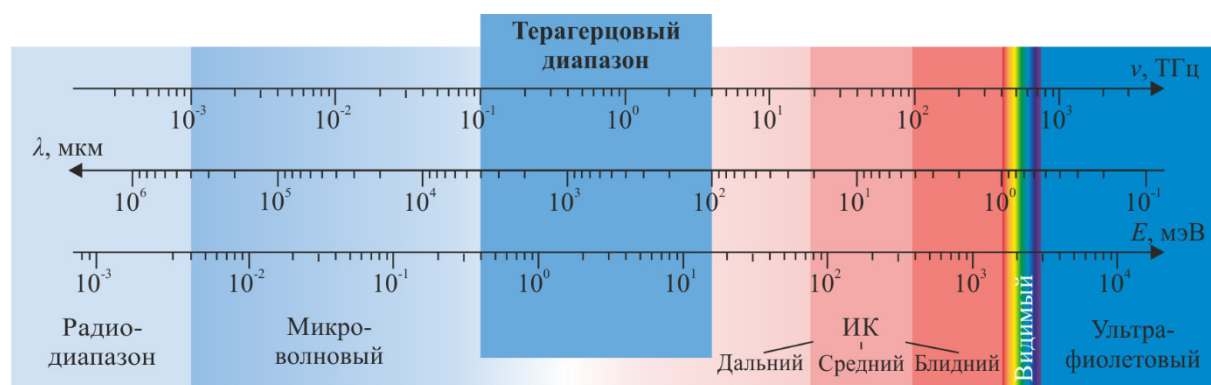


Рис. 1.1. Терагерцовый диапазон шкалы электромагнитных волн [15].

С конца XXI в. методы генерации терагерцового излучения активно развиваются. Примечательны исследования О. Лоджа, который в 1890 г. изучал генерацию высокочастотного электромагнитного излучения заряженными металлическими сферами [110]. В 1895 г. его исследования продолжил П.Н. Лебедев, получивший генерацию миллиметровых волн [111]; в 1923 г. Е.Ф. Николс и Дж.Д. Тир получили электромагнитное излучение с частотами до 1,4 ТГц [112]; в 1924 г. на базе отмеченных работ

А.А. Глагольева–Аркадьева предложила принцип «массового излучателя» с частотами до 3,7 ТГц [113].

Долгое время болометр Лэнгли [114] оставался наиболее распространенным детектором терагерцовых и ИК волн, использовавшимся в сочетании с широкополосными источниками на основе ртутных дуговых ламп. С их помощью в 1920–1930 гг. появились первые работы по терагерцовой спектроскопии паров воды [115,116]. В середине XX в. М. Голей предложил свой пневматический (опто-акустический) детектор электромагнитных волн – ячейку Голея [117]. В это же время появились пироэлектрические приемники [118,119] и охлаждаемые болометры [120], значительно расширившие возможности терагерцовых исследований. Во второй половине XX – начале XXI вв. появилось множество новых принципов генерации непрерывного и импульсного терагерцового излучения, а также методы квадратичного и когерентного детектирования терагерцовых волн. Отметим основные из них.

ЛОВ – распространенный источник гигагерцового и терагерцового излучения, способный работать в непрерывном или импульсном режимах [2,121]. Принцип действия таких ламп основан на взаимодействии пучка ускоренных электронов с распространяющейся в противоположном направлении электромагнитной волной. Электронный пучок испускается нагретым катодом, движется в сторону анода, коллимируется магнитным полем и взаимодействует с периодическим модулирующим устройством – металлической решеткой или волноводом с перфорированными стенками. В результате генерируется поверхностная электромагнитная волна гигагерцовых или терагерцовых частот. Частота излучения может перестраиваться путем изменения приложенного между анодом и катодом напряжения и, соответственно, скорости пучка электронов [4]. Непрерывные лампы позволяют генерировать монохроматическое излучение с перестройкой частоты в диапазоне $\sim 0,03\text{--}1,5$ ТГц при ширине линии $\Delta\nu \sim 10^{-5}\nu$ [2]. Столь широкий спектральный диапазон обеспечивается набором ламп, причем каждая перестраивается в узком диапазоне шириной $\sim 0,05\text{--}0,10$ ТГц. Выходная мощность непрерывной ЛОВ падает с ростом частоты и обычно составляет $\sim 10^{-1}\text{--}10^{-4}$ Вт. Такие лампы в сочетании с неохлаждаемыми ячейками Голея, пироэлектрическими приемниками или охлаждаемыми до гелиевых температур болометрами нашли свои применения в широкополосной диэлектрической спектроскопии конденсированных сред различной природы [122,123]. Стоит отметить значительный вклад ИОФ РАН в разработку спектроскопического оборудования на базе ЛОВ и проведение с его помощью широкого спектра фундаментальных и прикладных исследований [124,125]. При работе в режиме наносекундных импульсов в области суб-терагерцовых частот ЛОВ может обеспечивать

пиковую мощность на уровне нескольких кВт [126]. Исследования и разработки в области терагерцовых ЛОВ продолжают по сей день. В работе [127] создана ЛОВ с центральной частотой 1,0 ТГц, полосой перестройки 20% и средней выходной мощностью ~100 мВт. В работе [128] получена широкополосная ЛОВ, использующая псевдоискровой источник пучка электронов и работающая в диапазоне частот 0,186–0,202 ТГц с максимальной средней выходной мощностью до 20 Вт. В работе [129] изучались негабаритные лампы, работающие в диапазонах 0,26–0,34 ТГц и 0,31–0,39 ТГц со средней выходной мощностью до нескольких сот мВт.

С развитием лазерной техники и нелинейной оптики в конце XX в. для получения терагерцового излучения все чаще стали применяться принципы генерации разностной частоты и параметрической генерации [4,130]. Для генерации разностной частоты два оптических пучка с малой шириной спектральной линии и немного различающимися центральными частотами распространяются коллинеарно в нелинейном кристалле, при этом терагерцовое излучение генерируется на разностной частоте за счет наведенной лазерным излучением нелинейной поляризации второго порядка [131]. В этом случае часто применяются кристаллы GaSe [132], GaP [133], DAST (4'-DimethylAmino-N-methyl-4-Stilbazolium Tosylate / 4'-диметиламино-N-метил-4-стильбазолий тозилат) [134] и др., причем генерируемая частота может достигать 5,0 ТГц, а мощность варьируется от ~1 мВт до ~1 кВт.

Терагерцовая параметрическая генерация предполагает использование только одного оптического лазерного пучка накачки нелинейного кристалла, при этом каждый фотон пучка накачки в кристалле распадается на два, один из которых называется «холостым» и является оптическим, а другой – терагерцовым [135,136]. Параметрический распад обычно наблюдается в неколлинеарной геометрии, при этом терагерцовая волна получает резкое усиление при выполнении условия фазового синхронизма. В подобных параметрических источниках регулировка генерируемой частоты осуществляется изменением угла «холостого» луча относительно луча накачки, при этом получаемое терагерцовое излучение является полихроматическим и обладает сложным частотно-угловым спектром [135–137]. За последнее время эффективность терагерцовых параметрических генераторов была значительно повышена за счет использования решетчатых призмных коллиматоров для вывода терагерцового излучения из кристалла LiNbO₃ или MgO:LiNbO₃ [138,139], принципов инжекционной затравки [140–142] или оптического параметрического осциллятора [143]. Это позволило улучшить диаграмму направленности терагерцового излучения, сузить ширину линии и значительно расширить диапазон перестройки частоты – до 5,0 ТГц. Пиковая мощность терагерцовых

параметрических генераторов лежит в диапазоне ~ 1 мВт–1 кВт [144,145]. Параметрический нелинейный оптический эффект может применяться и для когерентного детектирования терагерцового излучения [146]. В последнее время появились портативные терагерцовые параметрические генераторы [147–150] и спектроскопические системы на их основе [151].

Оптическое выпрямление – еще один метод генерации терагерцового излучения, основанный на нелинейном оптическом эффекте второго порядка [4,152–154]. В процессе оптического выпрямления ультракороткие лазерные импульсы ближнего ИК диапазона используются для возбуждения кристалла с отличной от нуля нелинейной оптической восприимчивостью второго порядка, при этом терагерцовое импульсное излучение генерируется изменяющейся во времени нелинейной поляризацией среды [155]. Длительность терагерцового импульса прямо пропорциональна (а ширина его спектра обратно пропорциональна) длительности ультракороткого лазерного импульса накачки, а также существенно зависит от материальной дисперсии среды и условий синхронизма. В качестве нелинейных сред для оптического выпрямления зачастую применяются органические кристаллы [156–158] и LiNbO_3 [159]. Оптическое выпрямление ультракоротких лазерных импульсов Cr:форстеритового лазера в кристаллах DAST позволяет получать терагерцовые импульсы длительностью всего 0,5–0,7 пс и пиковой мощностью до 1–30 ГВт [160–165]. Один из наиболее мощных терагерцовых источников данного типа разработан в ОИВТ РАН в сотрудничестве с ООО «Авеста-Проект». Терагерцовые источники на базе оптического выпрямления в сочетании с когерентными электрооптическими детекторами терагерцового поля [166–169] зачастую применяются в импульсной спектроскопии [170,171].

Эффект фотопереключения (фотопроводимости) в полупроводнике, возбуждаемом ультракороткими лазерными импульсами видимого или ближнего ИК диапазонов, изучался Д. Аустоном с 1975 г. [3]. Результаты этих исследований позволили создать целый класс новых источников и детекторов терагерцового излучения – ФПА различного типа [82,84,172–177]. Терагерцовая импульсная генерация в ФПА предполагает возбуждение носителей свободных зарядов в фотопроводнике – электронов и дырок – под действием ультракоротких лазерных импульсов [176]. ИК излучение фокусируется в зазоре между двумя электродами, к которым приложено постоянное или переменное низкочастотное (~ 10 –100 кГц) напряжение питания. Свободные носители заряда ускоряются электрическим полем, а их плотность со временем спадает за счет рекомбинации. Генерация, ускоренное движение и рекомбинация носителей заряда вызывают переходной ток, являющийся источником терагерцового поля. Длительность переходного процесса

прямо пропорциональна длительности генерируемого терагерцового импульса и обратно пропорциональна ширине его спектра. Длительность лазерных импульсов, время жизни носителей свободных зарядов в полупроводнике, геометрия электродов, а также размер и положение относительно них каустики лазерного пучка оптимизируются для обеспечения максимально широкополосной и эффективной терагерцовой генерации [176,178,179].

В настоящее время ведутся исследования, направленные на повышение эффективности ФПА. Антенны с плазменными электродами различной конфигурации позволяют значительно повысить эффективность оптико-терагерцовой конверсии [180]. В работе [181] продемонстрирован плазмонный фотопроводящий источник терагерцового излучения с повышенной в 20 раз (по сравнению с антенной на основе классических электродов) средней выходной мощностью. В работе [182] ФПА с трехмерными плазмонными электродами показала рекордно высокий коэффициент конверсии – 7,5%. В работе [183] плазмонные решетки с высоким аспектным соотношением элементов (толщины к высоте) позволили в ≈ 2000 раз повысить эффективность ФПА, обеспечивая возможность работы антенны с лазерной накачкой малой мощности. ФПА может использоваться и для когерентной регистрации терагерцового поля [184]. В последнее время значительное внимание уделяется одно- и двумерным массивам ФПА для терагерцовой визуализации [185]. ФПА являются наиболее распространенными источниками и детекторами в терагерцовой импульсной спектроскопии.

ФПА способны работать и в непрерывном режиме с перестройкой частоты генерации в широком диапазоне, для чего применяется принцип фотосмещения [186]. Electroды и материалы подобных ФПА отличаются от антенн импульсного типа. Для генерации непрерывного излучения ФПА возбуждается сигналом биения двух непрерывных лазерных источников видимого или ближнего ИК диапазонов с разнесенными центральными частотами. Сигнал биения модулирует фототок в антенне, причем частота модуляции определяется разностью оптических частот и лежит в терагерцовом диапазоне [186]. Фотомиксеры (фотосмесители) обладают низкой выходной мощностью и позволяют получать терагерцовое излучение с частотами до 3,0 ТГц [187]. Эффективность преобразования оптического излучения в терагерцовое (по мощности) составляет $\sim 10^{-5}$ – 10^{-6} [188]. Несмотря на огромные усилия, приложенные для улучшения характеристик фотомиксеров, их выходная мощность ограничена несколькими мВт даже для самых современных устройств [189]. Принцип фотосмещения может применяться и для когерентного детектирования амплитуды и фазы терагерцовой волны, что позволяет строить спектроскопические системы на базе подобных генераторов и детекторов [186].

В области гигагерцовых и суб-терагерцовых частот для генерации и детектирования излучения используются сверхвысококачественные диодные элементы. Такие источники обычно используют умножение частот микроволновых IMPATT диодов (IMPact ionization Avalanche Transit-Time), диодов Ганна или туннельных диодов, причем в качестве нелинейного элемента для умножения частоты используются диоды Шоттки [4]. Терагерцовые диоды компактны, способны работать при комнатных температурах, имеют выходную мощность $\sim 1\text{--}200$ мВт и рабочую частоту $< 2,5$ ТГц [190–194], при этом мощность может быть повышена за счет охлаждения.

Среди менее распространенных терагерцовых источников отметим газовые лазеры [195], квантово-каскадные лазеры [196–204], гиротроны (включая разработки ИПФ РАН) [205–213] и лазеры на свободных электронах (включая уникальную отечественную установку в Новосибирске) [4,214–221]. Все больше элементов терагерцовой оптоэлектроники разрабатывается на базе инновационных материалов – графена, других аллотропных модификаций углерода, двумерных полупроводников и гетероструктур на их основе [222–233]. Тем не менее эти элементы до сих пор остаются объектами научных исследований.

Таким образом, к началу XXI в. появилось большое разнообразие принципов генерации и детектирования терагерцового излучения, эффективные компоненты для построения терагерцовых спектроскопических и изображающих систем. Получен значительный объем знаний об эффектах взаимодействия терагерцовых волн с газами и конденсированными средами различной природы.

1.2 Особенности взаимодействия терагерцового излучения с веществом

Эффекты взаимодействия электромагнитного излучения с материальными средами различаются в различных диапазонах шкалы электромагнитных волн, что связано с разной энергией кванта (Рис. 1.2) [234,235]. Рентгеновское и ультрафиолетовое излучение ионизирует вещество или претерпевает комптоновское рассеяние. Излучение видимого и ближнего ИК диапазонов поглощается за счет внутриатомных энергетических переходов электронов вещества. В свою очередь, частотная зависимость терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик вещества несет информацию о его низкочастотных молекулярных колебаниях, коллективных возбуждениях, носителях свободных зарядов и структурных свойствах. Именно поэтому методы терагерцовой спектроскопии и визуализации позволяют получать отличную от других спектральных диапазонов полезную информацию о различных биологических средах, включая дезоксирибонуклеиновые

кислоты (ДНК) [236,237], белки [238–242], липиды [243,244], аминокислоты [245–247], сахара [248,249] и другие биомолекулы [237,250,251], а также воду [252–255], водные растворы электролитов и биомолекул [256–263].

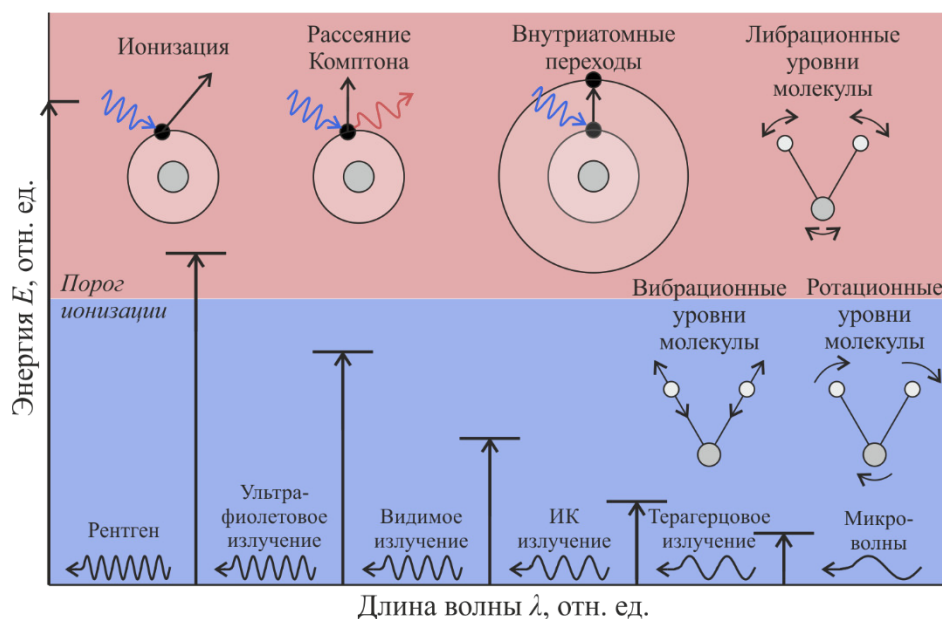


Рис. 1.2. Эффекты взаимодействия электромагнитного излучения с материальной средой в различных спектральных диапазонах [234,235].

Терагерцовое излучение сильно поглощается полярными молекулами воды [252,264]. На Рис. 1.3 (а) показан спектр поглощения α (по амплитуде) паров воды в терагерцовом диапазоне [264]; на Рис. 1.3 (б) – широкополосные спектры показателя преломления n и коэффициента поглощения α жидкой воды [252]. Пары воды имеют множеством резонансных линий поглощения в терагерцовом диапазоне, которые затрудняют терагерцовые измерения во влажной атмосфере на частотах выше 1,1–1,6 ТГц. Поэтому терагерцовые измерения зачастую проводятся в атмосфере инертного газа (это позволяет повысить рабочие частоты до 2,2–2,5 ТГц) или в вакууме (это позволяет выполнять панорамные терагерцовые–ИК измерения). Сильное поглощение терагерцового излучения парами воды ограничивает дальность терагерцовых измерений, причем даже в суб-терагерцовом диапазоне расстояние от объекта исследования до детектора обычно не превышает нескольких метров [32–34].

Высокое содержание воды является общим свойством для всех живых организмов [265]. Вода может составлять до $\approx 60\%$ (по весу) взрослого человеческого тела, при этом ее содержание в тканях мозга и сердца достигает $\approx 73\%$, легких – $\approx 83\%$, кожи – $\approx 64\%$, мышц и почек – $\approx 79\%$, костей – $\approx 31\%$. Кровь составляет $\approx 7\text{–}8\%$ человеческого тела, а

во взрослом организме ее объем варьируется в диапазоне 4,5–6,0 л. Вода играет важную роль при взаимодействии терагерцового излучения с биологическими тканями и жидкостями [16]. С одной стороны, сильное поглощение терагерцового излучения жидкой водой значительно снижает глубину его проникновения в водосодержащие среды, включая гидратированные биологические ткани. В зависимости от частоты излучения и типа тканей глубина проникновения составляет всего несколько сот или даже десятков микрометров [11,266]. С другой стороны, сильное поглощение терагерцовых волн водой делает терагерцовые методы крайне чувствительными к содержанию и состоянию (свободная или связанная) воды в объекте [16]. Именно чувствительность терагерцового излучения к тканевой воде позволяет использовать его в биофотонике, биологии и медицине [16].

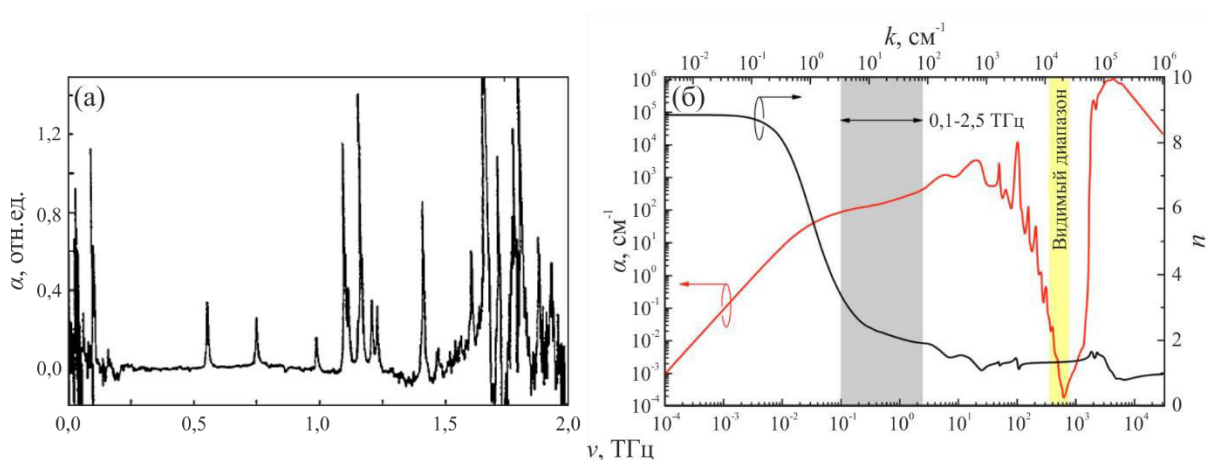


Рис. 1.3. Терагерцовая спектроскопия воды в жидком и газообразном состояниях: (а) – коэффициент поглощения α паров воды [264]; (б) – показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по мощности) жидкой воды [252]; ν – частота, а k – волновое число.

Терагерцовые волны способны проникать сквозь диэлектрические среды, включая одежду, упаковочные материалы, керамики, полимеры, композиционные материалы и др., в особенности на суб-терагерцовых частотах. Структурные неоднородности многих объектов (в том числе биологических) пренебрежимо малы по сравнению с длинами волны терагерцового излучения в отличие от видимого или ИК излучения [11,15,16,69,70]. В подобных объектах не наблюдаются эффекты рассеяния Ми, характерные для мезомасштабных ($\sim\lambda$) рассеивателей, что позволяет повысить глубину зондирования таких объектов терагерцовыми волнами, а также использовать подходы теории эффективной среды и классические модели эффективной комплексной диэлектрической проницаемости для описания взаимодействия терагерцовых волн с такими объектами.

Энергия терагерцового кванта не велика – она на три-четыре порядка ниже, чем у излучения ультрафиолетового или видимого диапазонов; по этой причине терагерцовое излучение является неионизирующим. Терагерцовые пучки малой мощности, используемые в современных коммерческих спектроскопических и изображающих системах, считаются безвредными для человека [267]. В то же время более мощное непрерывное и импульсное терагерцовое излучение способно оказывать термические и нетермические эффекты воздействия на живые системы, отрицательные или положительные [15,38].

Отмеченные основные свойства терагерцового излучения открывают перспективы его применения в решении фундаментальных и прикладных проблем в самых разных областях науки и техники [1,4,268,269]. С развитием экспериментальных методов терагерцовой оптики во второй половине XX в. начались первые исследования в области терагерцовой астрофизики. До 1960-х гг. наблюдение естественных космических источников терагерцового излучения было невозможно из-за подавления полезного сигнала атмосферой Земли [270,271]. Именно поэтому астрономические наблюдения начали проводить в условиях высокогорья, с аэропланов, аэростатов, ракет и спутников. В 1969 г. с помощью аэростата впервые получены оценка прозрачности атмосферы в терагерцовом диапазоне [272]. К 1970 г. проведены первые наблюдения терагерцового излучения космических объектов [270,273–275]. В работе [273] с борта аэростата в стратосфере изучена фотосфера Солнца; зарегистрирован спектр ее излучения в области длин волны 50–200 мкм (или частот $\approx 1,5$ –6,0 ТГц) и уточнена ее температура. Изучен центр галактики на длине волны 100 мкм ($\approx 3,0$ ТГц) [274], причем наблюдавшееся терагерцовое излучение было связано с тепловым излучением межзвездной пыли [276,277].

В настоящее время терагерцовые астрофизические исследований направлены на решение широкого спектра проблем [5,278], включая изучение объектов Солнечной Системы, межзвездных молекулярных и пылевых облаков, молодых звездных систем и черных дыр. Важной задачей современных астрофизики и астрохимии является исследование широкополосного (гигагерцового, терагерцового и ИК) диэлектрического отклика лабораторных аналогов межзвездных и околозвездных льдов различного молекулярного состава [29,30,279]. Данные об их широкополосном диэлектрическом отклике необходимы для интерпретации современных наблюдений за пылевыми облаками и понимания процессов образования и эволюции звездных систем. Реликтовое излучение космоса имеет спектр абсолютно черного тела с температурой $\approx 2,725$ К и, соответственно, спектральным максимумом в миллиметровом диапазоне [280,281]. Наблюдение реликтового излучения в области суб-терагерцовых частот минимизирует радиационный

космический фон, до некоторой степени снижает шумы в регистрируемых данных и позволяет изучать состояние Вселенной на самых ранних этапах ее существования – вплоть до $\sim 10^{-30}$ с момента Большого Взрыва [282].

Терагерцовая техника используется для изучения газов [6,283–287] и конденсированных сред [7,124,125,288–301], контроля качества химической и фармацевтической продукции [9,302–305], продуктов питания [306,307], исследования объектов искусства [308,309], неразрушающего технологического и эксплуатационного контроля конструкционных материалов [8,19,310–313], дефектоскопии печатных плат, элементов и устройств полупроводниковой электроники [314–317]. С появлением портативных терагерцовых спектроскопических и изображающих систем в конце XX–начале XXI вв. началось развитие терагерцовой биофотоники, включая исследования эффектов взаимодействия терагерцового излучения с биологическими тканями и воздействия терагерцовых волн на живые системы различного уровня организации, а также поиск приложений терагерцовой техники в различных областях биологии и медицины [10,11,20,48,76–81]. Например, Рис. 1.4 иллюстрирует рост числа научных публикаций в XXI в. в областях терагерцовой онкодиагностики и терапии по данным Scopus и Web of Science.

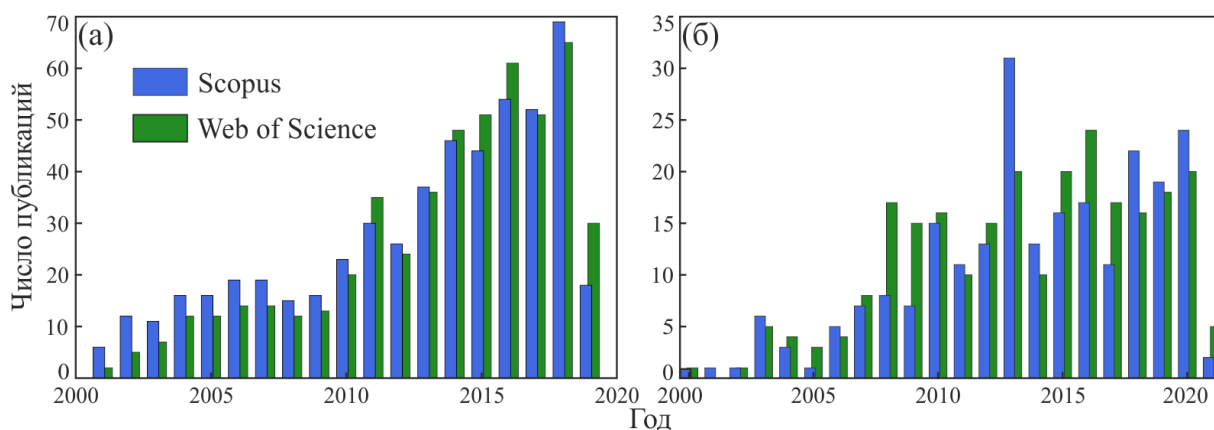


Рис. 1.4. Рост числа научных публикаций в области терагерцовой биофотоники в XXI в. по данным Scopus и Web of Science: (а) – ежегодное число публикаций по терагерцовой онкодиагностике; поисковой запрос “(‘THz’ OR ‘Terahertz’) AND (‘Malignancy’ OR ‘Cancer’ OR ‘Tumor’)” от 06.05.2019 г. [11]; (б) – аналогичные данные по терагерцовому воздействию на живые системы; поисковой запрос “(‘THz’ OR ‘Terahertz’) AND (‘Exposure’ OR ‘Therapy’)” от 02.02.2021 г. [15]

1.3 Взаимодействие терагерцового излучения с биологическими тканями

Рассмотрим распространенные физико-математические подходы к описанию взаимодействия терагерцового излучения с биологическими тканями, а также современные представления об эффектах воздействия терагерцовых волн на живые системы. Начнем с допущения об однородном и изотропном характере тканей в масштабе терагерцовой длины волны, теории эффективной среды и моделей эффективной комплексной диэлектрической проницаемости (эффективных оптических свойств) тканей, которые используются в большинстве работ в области терагерцовой биофотоники. Перейдем к проблемам совершенствования теории эффективной среды и разработки теории переноса терагерцового излучения для ряда тканей и приложений, в которых наблюдаются мезомасштабные неоднородности тканей и проявляются эффекты рассеяния Ми. Обсудим также эффекты терагерцового воздействия на живые системы и проблему установления безопасных параметров этого воздействия.

1.3.1 Релаксационные модели эффективной комплексной диэлектрической проницаемости тканей

На Рис. 1.5 проводится сравнение типичных размеров структурных элементов биологических тканей (микрофибриллы, отдельные клетки и клеточные органеллы) [265] с длиной волны $\lambda_0 = 300$ мкм (в свободном пространстве), соответствующей частоте $\nu_0 \approx 1,0$ ТГц. Вертикальной красной линией показан дифракционный предел пространственного разрешения Аббе для фокусировки электромагнитного излучения в свободном пространстве. Очевидно, что большинство структурных элементов тканей значительно меньше рассмотренной длины волны. Подобное соотношение между длиной волны и размером неоднородностей ($d/\lambda_0 \ll 1$) ведет к рэлеевскому характеру рассеяния [265,318]. Это позволяет использовать приближение однородной изотропной среды и теорию эффективной среды (the effective medium theory) для описания взаимодействия терагерцовых волн с такими объектами [11,15,16].

В данном случае биологические ткани могут рассматриваться как однородная изотропная среда с эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемостью

$$\tilde{\epsilon} = \epsilon' - i\epsilon'', \quad (1.1)$$

где ϵ' и ϵ'' – действительная и мнимая составляющие, либо эффективным комплексным показателем преломления

$$\tilde{n} = n' - in'' \equiv n - i \frac{c_0}{2\pi\nu} \alpha \equiv \sqrt{\tilde{\epsilon}}, \quad (1.2)$$

где $n' \equiv n$ и n'' – его действительная и мнимая части, $c_0 \approx 3 \times 10^8$ м/с – скорость света в свободном пространстве, α – амплитудный коэффициент поглощения в $[\text{см}^{-1}]$. Важно отметить, что в выражениях (1.1) и (1.2) подразумеваются эффективные диэлектрические или оптические характеристики, усредненные в пределах функции рассеяния оптической системы площадью $\geq \lambda^2$. Эти эффективные характеристики зависят от частоты излучения ν и позволяют полностью описать взаимодействие терагерцовых волн с тканями в рамках классической электродинамики [318].

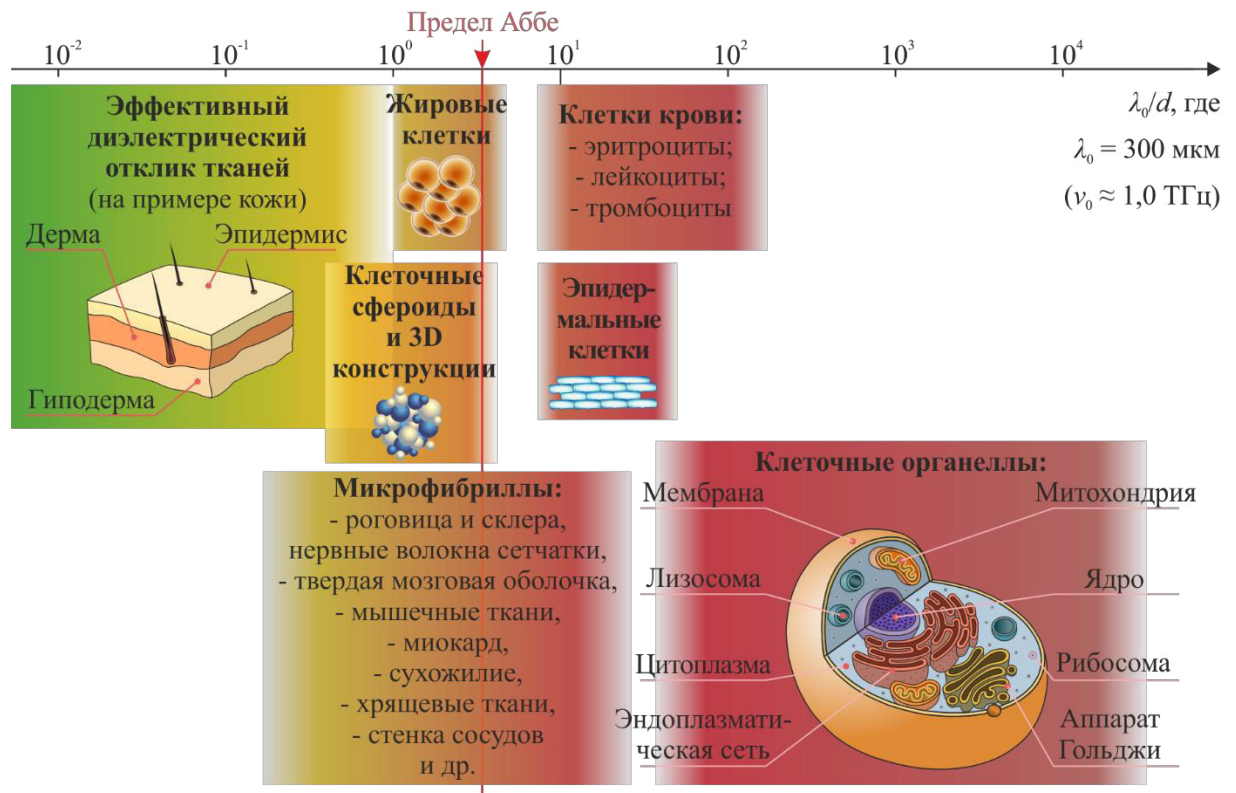


Рис. 1.5. Масштаб структурных элементов биологических тканей d в сравнении с длиной волны $\lambda_0 = 300$ μm (в свободном пространстве), соответствующей $\nu_0 \approx 1,0$ ТГц; вертикальная красная прямая – дифракционный предел пространственного разрешения Аббе ($\approx \lambda/2$) [11,15,16].

Как отмечено выше, терагерцовое излучение взаимодействует с полярными молекулами воды и, следовательно, сильно поглощается водосодержащими средами и тканевой водой (Рис. 1.3) [11,15,16,252]. Например, для свежееисеченной фиброзной соединительной ткани молочной железы *ex vivo* показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) на терагерцовых частотах ($n \approx 1,95$ и $\alpha \approx 200$ см^{-1} на $\nu = 1,0$ ТГц) значительно выше по сравнению с аналогичными характеристиками для жировой

ткани молочной железы (1,57 и 60 см⁻¹ на 1,0 ТГц) [319]. Подобные различия объясняются значительно меньшим содержанием воды в жировой ткани ($\approx 10\%$) по сравнению с фиброзной соединительной ($\approx 60\text{--}75\%$) [320]. Еще одним доказательством существенного вклада тканевой воды в терагерцовый диэлектрический отклик тканей является тот факт, что ткани *in vivo* или свежесеченные ткани *ex vivo* имеют значительно более высокие значения терагерцовых оптических характеристик n , α в сравнении с дегидратированными (парафинизированными или лиофилизированными) тканями [321–323].

Терагерцовый диэлектрический отклик биологических тканей схож с откликом воды, водных растворов электролитов и биологических молекул [11,15,16], не имеет резонансных особенностей и зачастую описывается релаксационными моделями комплексной диэлектрической проницаемости. Среди них наиболее распространенной является двойная модель Дебая – сумма двух дебаевских релаксаторов [324–330]

$$\tilde{\epsilon} = \epsilon_{\infty} + \frac{\Delta\epsilon_1}{1 + i\omega\tau_1} + \frac{\Delta\epsilon_2}{1 + i\omega\tau_2}, \quad (1.3)$$

где $\omega = 2\pi\nu$ – круговая частота, ϵ_{∞} – высокочастотная диэлектрическая проницаемость (наблюдаемая на значительно более высоких частотах по сравнению со спектральным положением полос поглощения Дебая), τ_1 , τ_2 и $\Delta\epsilon_1$, $\Delta\epsilon_2$ – времена и амплитуды «медленной» и «быстрой» релаксаций.

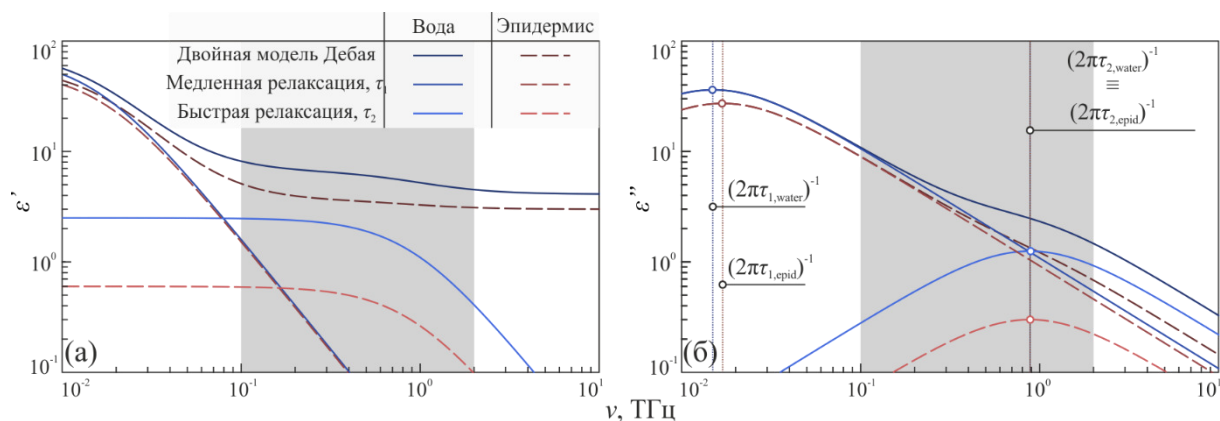


Рис. 1.6. Двойная модель Дебая (выражение (1.3)), описывающая терагерцовый диэлектрический отклик жидкой воды и эпидермиса кожи человека *in vivo* и построенная на основе параметров из работы [324]: (а) – действительная часть ϵ' ; (б) – мнимая часть ϵ'' ; серая область – рабочий спектральный диапазон типичного терагерцового импульсного спектрометра.

На Рис. 1.6 показаны (а) действительная ϵ' и (б) мнимая ϵ'' части терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости $\tilde{\epsilon}$ для воды и эпидермиса кожи *in vivo*,

построенные на основе двойной модели Дебая (выражение (1.3)) и параметров из статьи [324], а именно: для воды – $\varepsilon_\infty = 4,1$, $\Delta\varepsilon_1 = 72,2$, $\Delta\varepsilon_2 = 2,5$, $\tau_1 = 10,6$ пс, $\tau_2 = 0,18$ пс; для кожи – $\varepsilon_\infty = 3,0$, $\Delta\varepsilon_1 = 56,4$, $\Delta\varepsilon_2 = 0,6$, $\tau_1 = 10,0$ пс, $\tau_2 = 0,2$ пс. Мнимая диэлектрическая проницаемость ε'' , ответственная за поглощение излучения в среде, формируется двумя широкими пиками поглощения. Один соответствует «медленной» дебаевской релаксации и имеет максимум в области низких частот, за пределами терагерцового диапазона ($\nu \approx (2\pi\tau_1)^{-1}$); второй – «быстрой» релаксации с максимумом вблизи высокочастотной границы терагерцового диапазона ($\nu \approx (2\pi\tau_2)^{-1}$). Действительная диэлектрическая проницаемость ε' монотонно убывает с ростом частоты, претерпевая наиболее заметные изменения вблизи обратных релаксационных времен ($\nu \approx (2\pi\tau_1)^{-1}$ и $(2\pi\tau_2)^{-1}$).

Влияние воды на терагерцовый диэлектрический отклик тканей настолько велико, что эффективная комплексная диэлектрическая проницаемость тканей в терагерцовом диапазоне зачастую моделируется как суперпозиция отклика воды и остальных значительно менее полярных компонент [16]. Для этого используются различные модели диэлектрической проницаемости многокомпонентных сред [331,332], например, модель Бруггемана [16,23]

$$\frac{\tilde{\varepsilon}_{\text{water}} - \tilde{\varepsilon}_{\text{tissue}}}{\tilde{\varepsilon}_{\text{water}} + 2\tilde{\varepsilon}_{\text{tissue}}} V_{\text{water}} + \frac{\tilde{\varepsilon}_{\text{other}} - \tilde{\varepsilon}_{\text{tissue}}}{\tilde{\varepsilon}_{\text{other}} + 2\tilde{\varepsilon}_{\text{tissue}}} (1 - V_{\text{water}}) = 0, \quad (1.4)$$

где $\tilde{\varepsilon}_{\text{tissue}}$, $\tilde{\varepsilon}_{\text{water}}$ и $\tilde{\varepsilon}_{\text{other}}$ – комплексная диэлектрическая проницаемость тканей, тканевой воды и остальных компонент (дегидратированных тканей), соответственно, V_{water} – объемная доля тканевой воды; $\tilde{\varepsilon}_{\text{other}}$ соответствуют лиофилизированным или парафинизированным тканям. Иногда применяется упрощенный подход, основанный на линейной декомпозиции спектров, в соответствии с которым эффективный терагерцовый диэлектрический отклик тканей представляется в виде [16,333]

$$\tilde{\varepsilon}_{\text{tissue}} = \tilde{\varepsilon}_{\text{water}} V_{\text{water}} + \tilde{\varepsilon}_{\text{other}} (1 - V_{\text{water}}). \quad (1.5)$$

Выражение (1.5) может быть записано для комплексного показателя преломления \tilde{n} , либо действительных и мнимых составляющих комплексных величин (ε' , ε'' , n и n''), либо спектра поглощения α [16]. Несмотря на то, что модель (1.4) является физически более строгой, ее предсказания зачастую совпадают с данными модели (1.5), что будет наглядно продемонстрировано в главе 4. Оба подхода применяются в терагерцовой биофотонике для установления взаимосвязи между диэлектрическим откликом тканей и содержанием в них тканевой воды.

И модель Дебая (1.3), и модели (1.4) и (1.5), рассматривающие ткани в качестве смеси невзаимодействующих компонент, являются во многом упрощенными. Они не учитывают эффекты гидратации биологических молекул и тканей. Действительно, в

двойной модели Дебая для воды (1.3) «медленная» релаксация ($\tau_1 \sim 10$ пс) описывает взаимную реорганизацию молекул, связанных сеткой водородных связей, а «быстрая» ($\tau_1 \sim 10^{-1}$ пс) – отклик молекул свободной воды [244]. Гидратация биологических молекул в водных растворах и тканях может приводить к более сложной релаксационной динамике диэлектрического отклика [334,335]. Электрические заряды биологической молекулы создают локальное электрическое поле, которое ориентирует диполи молекул воды и формирует гидратные оболочки; биологические молекулы «связывают» часть воды, изменяя ее релаксационную динамику (Рис. 1.7).

В 1906 г. А.Н. Морозов высказал предположение о существовании гидратных оболочек в подобных системах наряду со свободной водой [336], причем для удобства описания может быть введено несколько таких оболочек, каждая из которых имеет свою уникальную релаксационную динамику. К примеру, А.Н. Морозов ввел три гидратные оболочки: первая содержит монослой молекул воды, жестко закрепленных на гидрофильных частях биомолекулы водородными связями и имеющих характерное релаксационное время $\tau \sim 10^{-7}$ с; вторая (промежуточная) гидратная оболочка (или «зона плавления») включает молекулы воды, подверженные влиянию гидрофильных частей биомолекулы и монослоя ориентированных молекул воды из первой гидратной оболочки ($\tau \sim 10^{-9} - 10^{-10}$ с); третья сохраняет тетраэдрическую структуру свободной воды с постоянным формированием и разрушением водородных связей ($\tau \sim 10^{-12}$ с) [337]. Вода за пределами третьей гидратной оболочки соответствует свободной воде, практически не подверженной влиянию поля биологической молекулы. Наряду с описанными эффектами гидратации биологической молекулы, в моделях (1.3)–(1.5) неучтенными остаются эффекты сегрегации воды в биологических тканях [72], которые также способны перестроить спектр ее релаксационных времен.

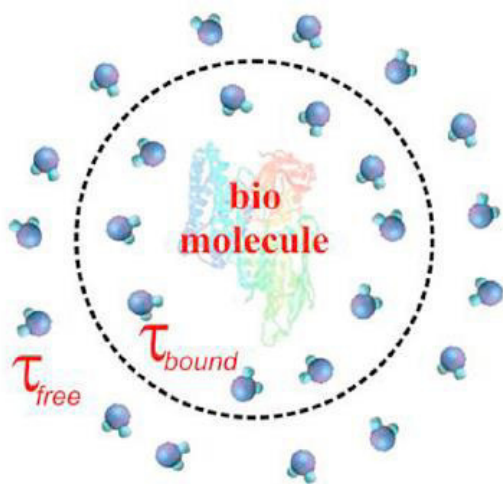


Рис. 1.7. Иллюстрация формирования одной гидратной оболочки вокруг биологической молекулы, где τ_{free} и τ_{bound} – характерные времена релаксации свободной и связанной воды [16].

Для описания диэлектрического отклика воды в гидратных оболочках и сегрегированной воды зачастую вводятся свои релаксационные времена и дополнительные релаксаторы Дебая, либо корректируются характерные времена и амплитуды базовых «медленного» и «быстрого» релаксаторов Дебая [257]. При этом модель комплексной диэлектрической проницаемости принимает вид

$$\tilde{\varepsilon} = \varepsilon_{\infty} + \sum_i \frac{\Delta\varepsilon_i}{1 + i\omega\tau_i}. \quad (1.6)$$

Более общий подход к описанию диэлектрического отклика подобных систем развит Г. Фрэйлихом в 1950-х [338]. Очевидно, что спектр релаксационных времен в подобных системах может быть описан в виде непрерывной функции плотности $f(\tau)$ вместо дискретного набора релаксационных времен. Именно поэтому Г. Фрэйлих предложил свою обобщенную модель Дебая

$$\tilde{\varepsilon} = \varepsilon_{\infty} + \int_0^{\infty} \frac{f(\tau)d\tau}{1 + i\omega\tau}, \quad (1.7)$$

вырождающуюся в (1.6) при использовании дискретного распределения релаксационных времен в виде суммы дельта функций Дирака δ

$$f(\tau) = \sum_i \Delta\varepsilon_i \delta(\tau - \tau_i). \quad (1.8)$$

Ионная проводимость и гидратация ионов также могут вносить заметный вклад в терагерцовую диэлектрическую проницаемость биологических объектов [262,339,340], причем ионная проводимость может быть введена в модель комплексной диэлектрической проницаемости как аддитивное слагаемое $-i\sigma/(\omega\varepsilon_0)$, где ε_0 – диэлектрическая постоянная, а σ – динамическая проводимость [341]. Рассмотренные модели комплексной диэлектрической проницаемости тканей являются во многом эмпирическими и имеют описательный характер. Еще предстоит установить их взаимосвязь со сложной динамикой воды и водных растворов, наблюдаемой в численных моделированиях на основе первых принципов и спектроскопических экспериментах. Детальное рассмотрение этой проблемы выходит за рамки диссертации.

Сложность и неоднозначность параметризации экспериментальных данных с помощью набора релаксаторов Дебая (1.6) и тем более с помощью интегральной модели Дебая / Фрэйлиха (1.7) связана со значительной шириной спектральных особенностей (пиков поглощения), описываемых каждым дебаевским слагаемым; их ширина соизмерима с шириной всего ТГц диапазона (Рис. 1.6) [11,15]. Поэтому при параметризации данных

терагерцовой спектроскопии обычно используют два–три слагаемых Дебая. В Таблице 1 показаны параметры двойной модели Дебая для воды и биологических тканей различного типа. Из этих данных можно заметить вариабельность параметров модели Дебая, полученных независимо разными научными группами для одного и того же объекта, что подтверждает отмеченную проблему моделирования терагерцовых диэлектрических спектров.

Таблица 1.1. Параметры модели терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости на основе двух релаксаторов Дебая (выражение (1.3)) для жидкой воды и биологических тканей различного типа.

№	Объект	ϵ_{∞}	$\Delta\epsilon_1$	$\Delta\epsilon_2$	τ_1 , пс	τ_2 , пс	Источник
1	Вода	3,30	75,00	1,90	8,50	0,17	[342]
2		3,50	73,50	1,40	8,20	0,18	[343]
3		4,10	72,20	2,50	10,60	0,18	[324]
4		3,20	73,60	1,60	8,00	0,18	[329]
5		3,42	74,16	1,38	7,87	0,18	[262]
6	Сегрегированная вода	2,20	1,17	0,44	7,20	0,12	[72]
7	Здоровая кожа <i>in vivo</i> (эпидермис)	2,89	20,34	1,74	3,82	0,11	[330]
8		3,00	56,40	0,60	10,00	0,20	[324]
9		2,58	10,54	1,58	1,45	0,06	[325]
10		2,86	25,70	1,76	4,80	0,10	[344]
11		3,00	54,40	0,60	9,40	0,18	[327]
12	Базальноклеточный рак кожи <i>ex vivo</i>	2,90	28,53	1,90	4,35	0,11	[330]
13		2,58	13,37	1,58	1,55	0,06	[325]
14		3,02	72,25	1,95	11,02	0,13	[344]
15	Фиброзная соединительная ткань молочной железы <i>ex vivo</i>	2,10	72,60	1,80	10,30	0,07	[329]
16	Опухоль молочной железы <i>ex vivo</i>	2,50	73,60	2,80	9,10	0,08	[329]

Несмотря на широкое использование двойной модели Дебая в терагерцовой биофотонике, для нее характерны ряд недостатков.

- Во-первых, она предполагает параметризацию экспериментальных диэлектрических спектров двумя широкими пиками поглощения, центрированными за пределами или на границе терагерцового диапазона и имеющими ширину, превышающую рабочий спектральный диапазон типичных методов терагерцовой спектроскопии (включая импульсную спектроскопию); см Рис. 1.6. Таким образом, использование модели Дебая подразумевает экстраполяцию экспериментальных данных.
- Во-вторых, два широких релаксационных пика поглощения Дебая до настоящего момента наблюдались методами широкополосной диэлектрической спектроскопии только для воды и водных растворов [252]. Из-за сложности экспериментальных исследований биологических тканей методами широкополосной диэлектрической спектроскопии, а также эффектов рассеяния высокочастотного ИК излучения прямые наблюдения релаксационных пиков поглощения в тканях крайне затруднительны. Поэтому модель Дебая используется для описания терагерцового диэлектрического отклика тканей весьма интуитивно.
- В-третьих, ядро Дебая в выражениях (1.6)–(1.8) не удовлетворяет правилу сумм, которому должны подчиняться функции диэлектрического отклика физических систем [345]. Другими словами: вычисляемый на основе модели Дебая интеграл от динамической проводимости системы σ расходится, тем самым предсказывая бесконечно число заряженных частиц / диполей N , участвующих в формировании диэлектрического

$$N \propto \int_0^{\infty} \sigma d\omega = \int_0^{\infty} \omega \varepsilon'' d\omega = \infty. \quad (1.9)$$

Отмеченные факторы делают модель Дебая не в полной мере физической.

В то же время двойная модель Дебая позволяет эффективно параметризовать одновременно действительную ε' и мнимую ε'' составляющие комплексной функции $\tilde{\varepsilon}$ в широком спектральном диапазоне с помощью всего пяти независимых параметров: ε_{∞} , $\Delta\varepsilon_1$, $\Delta\varepsilon_2$, τ_1 и τ_2 . Это и определяет ее повсеместное использование в терагерцовой биофотонике. Наряду с моделью Дебая существуют и другие производные от нее полуэмпирические модели релаксационного диэлектрического отклика: модели Коула-Коула [346–348], Дависона-Коула [349], Гаврилиака-Негами [350] и др. Они позволяют описать несимметричные пики поглощения, а также до некоторой степени решают проблему с интегрируемостью динамической проводимости (выражение (1.9)).

Экспериментальные данные о терагерцовом диэлектрическом отклике тканей (выражение (1.1) и (1.2)) и построенные на их основе модели комплексной диэлектрической проницаемости (выражения (1.3)–(1.4)) в настоящее время применяются для решения следующих проблем терагерцовой биофотоники:

- анализ содержания воды в биологических жидкостях и тканях, а также исследование эффектов гидратации биологических молекул и тканей на основе терагерцовых данных [16,257];
- аналитическое моделирование взаимодействия терагерцового излучения со слоистыми средами с использованием приближения плоской волны, формул Френеля и закона Бугера-Ламберта-Бера при обработке результатов терагерцовой спектроскопии и визуализации тканей [324];
- численное моделирование взаимодействия терагерцового излучения с гетерогенными тканями и биологическими объектами сложной формы с помощью вычислительных методов электродинамики и статистических методов Монте-Карло [34,265,351];
- дифференциация различных типов тканей (включая здоровые ткани и патологию) с применением физически обоснованных признаков [330];
- оценка глубины проникновения терагерцовых волн в ткани $\delta = \alpha^{-1}$ и объема тканей $V \approx \pi D^2 \delta / 4$ (D – диаметр пучка), зондируемых или облучаемых терагерцовым излучением, в диагностических и терапевтических приложениях.

На Рис. 1.8 на основе двойной модели Дебая из работы [324] рассчитана глубина проникновения терагерцового излучения (по уровню $1/e$ от амплитуды падающей волны) в ткани кожи человека *in vivo*. Очевидно, что глубина терагерцового зондирования кожи невелика; она варьируется от нескольких сот до десятков микрометров в зависимости от частоты излучения и типа тканей. При исследовании кожи терагерцовое излучение позволяет зондировать преимущественно эпидермис, и лишь в некоторых случаях оно достигает базальноклеточной мембраны и дермы [352].

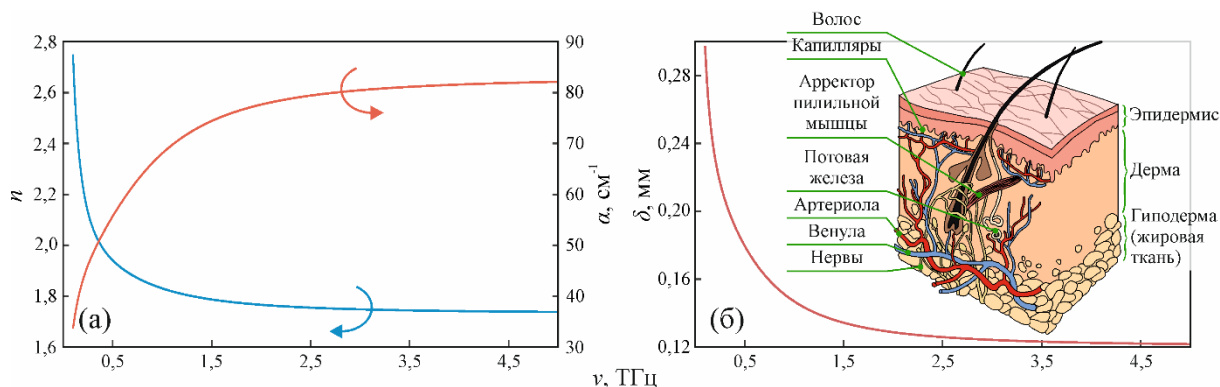


Рис. 1.8. Эффективные терагерцовые оптические свойства кожи (эпидермиса) человека *in vivo*: (а) – показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) кожи на основе двойной модели Дебая из работы [324]; (б) – оценка глубины проникновения терагерцового излучения в кожу $\delta = \alpha^{-1}$ (по амплитуде). На вставке панели (б) показана структура кожи; терагерцовые волны способны проникать преимущественно в эпидермис.

Таким образом, общепринятые подходы к описанию взаимодействия терагерцовых волн с биологическими объектами, а также основанные на них методы исследования биологических сред в терагерцовом диапазоне позволяют изучать эффективные терагерцовые оптические (диэлектрические) характеристики таких сред с дифракционно-ограниченным пространственным разрешением (от нескольких сот микрометров до миллиметров) и анализировать лежащие в основе терагерцового отклика элементарные электродинамические возбуждения среды, преимущественно релаксационного типа [1,2]. Это позволяет оценивать содержание и состояние тканевой воды, изучать эффекты гидратации биологических молекул [353]. Такая информация полезна в диагностических приложениях, так как тканевая вода – важнейший эндогенный (естественный) маркер патологических процессов в тканях.

1.3.2 Резонансное взаимодействие терагерцового излучения с тканями

Необходимо отметить работы Т. Глобус и соавторов, где предсказывалось теоретически и наблюдалось экспериментально резонансное или квази-резонансное взаимодействия терагерцового излучения с растворами биологических молекул [354–364] и тканями [365–368]. Например, в работах [367,368] сообщалось о наблюдении узких линий поглощения терагерцового излучения клетками, для чего использовались подходы резонансной терагерцовой спектроскопии тканей с высоким пространственным и

спектральным разрешением в сочетании с анализом экспериментальных данных с использованием численных методов молекулярной динамики. Изучены несколько образцов эпителиального рака яичников, где наблюдались характерные резонансные особенности терагерцовых спектров, которые могут применяться в диагностических целях. Несмотря на перспективность этих результатов, они до сих пор не были воспроизведены другими научными группами и лежат вне общепринятых представлений о взаимодействии терагерцовых волн с тканями.

В работах Джу-Хик Сон и соавторов [369,370] показано, что терагерцовое излучение вызывает резонансное деметилирование ДНК. Авторы установили, что молекулы 5-метилцитидина имеют три основных резонансных пика на 1,29, 1,74 и 2,14 ТГц при комнатной температуре, в то время как молекулы 2'-дезоксцитидина не проявляют отчетливых резонансов в диапазоне 0,4–2,5 ТГц [365]. Предполагается, что терагерцовые молекулярные резонансы 5-метилцитидина – проявление метилирования, наблюдающееся на уровне нуклеозидов и способное проявиться на уровне ДНК [365]. Затем замороженные водные растворы нормальной клеточной ДНК (293 Т-клетки), метилированной ДНК (метилированные 293 Т-клетки) и раковой ДНК из пяти типов линий раковых клеток человека изучены с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии при температуре 253 К. Обработка терагерцовых данных выявила квази-резонансный пик поглощения на 1,7 ТГц, схожий с наблюдавшимся в 5-метилцитидине пиком на 1,74 ТГц и имеющий слегка смещенную центральную частоту из-за воздействия молекул воды [365,371]. Авторы предположили, что терагерцовые волны могут оказывать резонансное воздействие на глобальное деметилирование и затем экспериментально подтвердили эту гипотезу [369,370]. В то же время в независимых исследованиях Хэнк Тао и соавторы не наблюдали резонансного терагерцового пика поглощения метилированным нуклеозидом 5-метилцитидином в замороженных водных растворах на 1,7 ТГц [372], ставя под сомнение результаты Джу-Хик Сон и указывая на нерезонансный характер терагерцового деметилирования ДНК.

Таким образом, экспериментально подтвержденных сразу несколькими независимыми научными группами эффектов резонансного взаимодействия терагерцового излучения с биологическими тканями на настоящий момент не существует, что свидетельствует в пользу релаксационного характера таких взаимодействий.

1.3.3 Рассеяние терагерцового излучения в тканях

Рассмотренные приближения об однородном и изотропном характере биологических тканей в масштабе терагерцовых длин волн, подходы теории эффективной среды и модели комплексной диэлектрической проницаемости тканей формируют простой и эффективный подход к физико-математическому моделированию взаимодействия терагерцовых волн с тканями, позволяющий интерпретировать результаты их терагерцовой спектроскопии и визуализации, а также анализировать эффективный терагерцовый диэлектрический отклик тканей. Тем не менее отметим, что перечисленные приближения и модели правомерны далеко не для всех типов тканей (Рис. 1.5). Существуют такие ткани и тканевые конструкции с мезомасштабными ($\sim\lambda$) рассеивателями, для которых в области терагерцовых частот могут наблюдаться эффекты рассеяния Ми.

Недавние результаты сверхразрешающей терагерцовой микроскопии различных биологических тканей [37,39,44,62,373–375] выявили их существенную гетерогенность в терагерцовом диапазоне, причем несколько из отмеченных работ являются оригинальными и будут обсуждаться в дальнейшем. Более того, сравнительно новые работы по терагерцовой поляризационно чувствительной визуализации тканей [376–378] выявили преобразование поляризации терагерцового излучения при отражении от тканей, что также свидетельствует о рассеянии терагерцовых волн в тканях. До сих пор остается не ясно, с какими именно неоднородностями и структурными элементами тканей связано это рассеяние. Еще предстоит оценить параметры рассеяния терагерцового излучения на этих неоднородностях, а также установить относительный вклад процессов рассеяния и поглощения в экстинкцию терагерцового излучения тканями. Терагерцовые волны могут одновременно сильно поглощаться и рассеиваться тканями; ни одним из этих эффектов нельзя пренебречь.

Перспективным путем к физико-математическому моделированию взаимодействия терагерцового излучения с подобными рассеивающими средами является теория переноса излучения, основу которой формирует уравнение переноса, задающее энергетическую светимость $I(\mathbf{r}, \hat{s})$ для точки пространства \mathbf{r} в направлении \hat{s} [265,318]

$$\frac{\partial I(\mathbf{r}, \hat{s})}{\partial \hat{s}} = -\mu_t I(\mathbf{r}, \hat{s}) + \mu_s \int_{4\pi} I(\mathbf{r}, \hat{s}') p(\hat{s}, \hat{s}') d\Omega' + I_0(\mathbf{r}, \hat{s}), \quad (1.10)$$

где $d\Omega'$ – элементарный телесный угол в окрестности угла \hat{s}' , μ_s и $\mu_t = \mu_s + \mu_a$ – коэффициент рассеяния и совокупный коэффициент рассеяния и поглощения ($\mu_a \equiv \alpha$), соответственно, $p(\hat{s}, \hat{s}')$ – фазовая функция рассеяния и $I_0(\mathbf{r}, \hat{s})$ – интенсивность внутренних

источников. Функция $p(\hat{s}, \hat{s}')$ учитывает анизотропию и нескالарный характер рассеяния излучения на различных мезомасштабных объектах с учетом гетерогенности и локальных оптических свойств тканей. Обычно она рассчитывается на основе параметров рассеяния (дифференциального и интегрального сечения рассеяния, фактора анизотропии рассеяния) с помощью аналитических методов теории Ми, вычислительных методов электродинамики, либо статистических методов Монте-Карло [34,351].

1.3.4 Воздействие терагерцового излучения на биологические объекты

Появление современных мощных источников и эффективных детекторов терагерцового излучения в последние десятилетия стимулировало применения терагерцовой техники в различных областях жизнедеятельности человека. Это ведет к растущему воздействию терагерцовых волн на организм человека и вызывает беспокойства по поводу возможных рисков подобного воздействия. Биологические эффекты терагерцового излучения остаются недостаточно изученными. Возникает вопрос о реакции биологических систем на воздействие терагерцового излучения с различными физическими параметрами, а также об оценке безопасных порогов и доз такого воздействия [15,38].

Международная комиссия по защите от неионизирующего излучения (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection – ICNIRP) устанавливает безопасные пределы энергетической освещенности в 2 мВт/см^2 для облучения населения электромагнитными волнами в диапазоне 2–300 ГГц в течение 6 мин [379]. При воздействии в течение 30 мин предельная энергетическая освещенность составляет уже 1 мВт/см^2 . Отмеченные пределы гигагерцового воздействия основаны на допустимых изменениях температуры тела во время облучения. Они опираются на тепловые механизмы взаимодействия низкочастотной электромагнитной волн с биологическим объектом. В то же время пределы воздействия на человека высокочастотного излучения ($> 300 \text{ ГГц}$) не установлены, а экстраполяция данных из соседних спектральных диапазонов не может использоваться для установления научно обоснованных порогов воздействия [380].

Определение порога неблагоприятного воздействия на здоровье невозможно без знания механизмов взаимодействия терагерцового излучения с биологическими объектами. В настоящее время рассматриваются два типа эффектов терагерцового воздействия.

- *Термические эффекты* связаны с нагревом объекта вследствие сильного поглощения терагерцового излучения тканевой водой и преимущественно наблюдаются при работе с непрерывными или квази-непрерывными терагерцовыми источниками [267,381–383].

- *Нетермические эффекты* могут иметь самую разную природу и наблюдаются преимущественно при воздействии импульсного терагерцового излучения с высокой пиковой мощностью [216,384–387]. В работах Г. Фрейлиха теоретически предсказана возможность «конденсации Фрейлиха», при которой все молекулы в биологической системе оказываются в основном низкочастотном колебательном состоянии при высокой скорости подачи энергии, что может привести к когерентности всех колебаний в системе (все части макроскопического объекта будут вести себя как одно целое). Это нелинейное явление происходит в биомолекулярных системах, которые, как известно, проявляют сложные колебательные спектры в терагерцовом диапазоне, и может являться основой нетермических эффектов терагерцового воздействия [388]. Более того, все чаще обсуждается возможность линейных и нелинейных резонансных эффектов терагерцового воздействия на биологические молекулы, такие как ДНК; это может вести к разрыву водородных связей в двуцепочечной структуре ДНК или изменению экспрессии генов [389,390].

В ряде работ предполагалось, что спиральная часть потового протока в верхнем слое кожи может играть роль спиральной антенны в суб-терагерцовом диапазоне [391–395]. Экспериментально показано, что коэффициент отражения кожи человека в области суб-терагерцовых диапазоне зависит от интенсивности потоотделения. Безусловно, перед использованием терагерцовых технологий для беспроводной связи нового поколения (6G) необходимо изучить возможные последствия для здоровья человека [396].

Показано влияние терагерцового излучения на конформацию биополимеров (белков и ДНК) [15,38,76,97,381,397], гены и клетки [15,38,381,398], а также организм в целом [97,381,399]. Например, облучение мышей непрерывным терагерцовым излучением (частота – 3,68 ТГц, энергетическая освещенность – 40 мВт/см², продолжительность – 30 мин) оказало неблагоприятное влияние на поведение животных: вызвало реакцию бегства, изменение двигательной активности, состояние тревоги, которое не исчезло в течение 24 ч после воздействия [400]. Воздействие на дрозофилы терагерцового импульсного излучения (длительность импульса – 1 пс, ширина спектра – 0,1–2,2 ТГц, частотой повторения импульсов – 76 МГц, пиковая мощность – 8,5 мВт, продолжительность – 30 мин) оказало влияние на продолжительность жизни как взрослых особей, так и потомков первого поколения, продолжительность полового созревания особей первого поколения и соотношение количества особей мужского и женского пола [401]. Эти результаты свидетельствуют об изменении системных признаков, в основе

которых могут лежать эпигенетическая регуляция генов и различных межклеточных сигнальных путей [401].

Облучение крыс с пересаженной карциномой Герена (быстрорастущая злокачественная опухоль) терагерцовым излучением (частота – 0,89 ТГц, энергетическая освещенность – 1,6 мВт/см², 2 воздействия за 3 дня, доза – 1,44 Дж/см²) привело к уменьшению размера опухоли в той же степени, что и рентгеновское излучение; для терагерцового и рентгеновского излучения через 20 дней после второго воздействия наблюдалось уменьшению опухоли на 26,5% и 36,2%, соответственно [402]. При этом существует значительная разница механизмов терагерцового и рентгеновского воздействия. Рентгеновские лучи разрушают как опухолевые, так и нормальные клетки, попадающие в зону облучения, тогда как терагерцовое излучение стимулирует иммунную систему и вызывает избирательное повреждение только опухолевых клеток. В то же время ежедневное воздействие на опухоль в течение семи дней непрерывным терагерцовым излучением (0,89 ТГц, 400 мкВт/см²) ускоряет ее рост [402], подчеркивая важность выбора режимов терагерцового воздействия для задач онкотерапии.

Некоторые исследования не выявили каких-либо эффектов терагерцового воздействия. Обзор [403] охватил 37 независимых исследовательских научных работ, проведенных с 1970-х годов. Он показал, что в 43% работ не обнаружены эффекты терагерцового воздействия, 29% выявили отрицательные эффекты, 14% – положительные, 14% – разнонаправленные. Во всех рассмотренных научных работах изучался один и тот же биологический объект. С одной стороны, разнообразие и разнонаправленность экспериментальных данных объясняется различными режимами терагерцового воздействия: импульсное или непрерывное излучение, продолжительность и интенсивность воздействия, уровень организации биологического объекта, его исходное функциональное состояние. Тщательная оценка специфики биологического эффекта терагерцового воздействия требует учета всех перечисленных факторов. С другой стороны, исследования эффектов терагерцового воздействия нуждаются в адекватной дозиметрии, контроле температуры объекта, использовании различных контролей для обеспечения воспроизводимости экспериментальных результатов [98]. Далеко не во всех исследованиях обеспечивается должная культура проведения эксперимента, что объясняет плохую воспроизводимость и недостоверность наблюдаемых данных [98].

Изучение эффектов воздействия терагерцового излучения на живые системы включает следующие основные аспекты [15]:

- установление порогов безопасности терагерцового воздействия при диагностике заболеваний организма человека с использованием источников разного типа;

- исследование влияния терагерцового излучения на программирование роста и развития клеток, функциональное состояние, пролиферацию и межклеточные взаимодействия; это актуально для технологий терапии, тканевой инженерии и регенеративной медицины;
- изучение отдаленных последствий терагерцового воздействия на функции сложных многоклеточных организмов, определение пороговых значений энергетических параметров терагерцового облучения, в пределах которых действие оказывается обратимым и безопасным для дальнейшей жизнедеятельности объекта.

При изучении реакции биологических объектов на терагерцовое воздействие стоит правильно выбирать методы анализа и их комбинации. Каждый метод выявляет ограниченный спектр специфических структурных или функциональных изменений на том или ином уровне организации биологического объекта. Неправильный выбор методов анализа затрудняет корректное сопоставление результатов различных исследований [98,403]. Особо перспективными представляются исследования эффектов терагерцового воздействия с использованием современных генетических технологий, включая определение повреждений ДНК, анализ экспрессии генов и синтеза белков клеткой [398,404]. Простой и быстрый метод выявления повреждений и изменений структуры ДНК – метод ДНК комет или электрофорез в агарозном геле, успешно использовавшийся в работах [97,381,382,398,399,403]. Например, в статье [405] с помощью метода ДНК комет показано, что воздействие на лейкоциты крови широкополосным терагерцовым импульсным излучением (спектральный диапазон – 0,1–6,5 ТГц, энергетическая освещенность – 200 мкВт/см², продолжительность – 20 мин) не вызывает повреждений ДНК. В работе [406] демонстрируется, что воздействие на образцы крови здоровых доноров широкополосным импульсным излучением (спектральный диапазон – 0,12–0,13 ТГц) не вызывает генетических изменений в лейкоцитах крови и не влияет на цикл жизни клетки при энергетической освещенности 30–250 мкВт/см² и длительности воздействия < 20 мин, в то время как увеличение энергетической освещенности до 2 мВт/см² способно вызвать повреждение ДНК [407]. Воздействие непрерывным терагерцовым излучением (частота – 3,68 ТГц, энергетическая освещенность – 40 мВт/см) снижает количество жизнеспособных клеток, а длительное облучение (90 мин) приводит к дальнейшему уменьшению количества живых клеток в 2 раза [408].

Облучение лейкоцитов крови человека непрерывным терагерцовым излучением (частота – 0,1 ТГц, энергетическая освещенность – 31 мкВт/см², продолжительность – 2 и 24 ч) вызвало увеличение анеуплоидии хромосом 11 и 17 при делении клеток, что может

вызвать нестабильность генома и даже развитие рака [409]. Облучение культуры Т-лимфоцитов человека непрерывным терагерцовым излучением (частота – 2,52 ТГц, энергетическая освещенность – 636 мВт/см², продолжительность – 30–50 мин) сопровождалось нагревом образца на 3°C [410]. Сравнение эффектов терагерцового воздействия с нагревом до эквивалентной температуры показало, что терагерцовое излучение активирует 75% генов, кодирующих (среди прочего) белки плазматической мембраны и белки внутриклеточных сигнальных путей, в то время как нагрев активизирует только 55% генов. Спустя 4 ч после терагерцового облучения наблюдается повышенная экспрессия генов белков теплового шока, которые регулируют транскрипцию, факторы роста клеток и противовоспалительных цитокинов [411]. Таким образом, терагерцовое излучение влияет на экспрессию генов, причем этот эффект связан не только с повышением температуры биологического объекта [412].

Эффекты облучения эпидермальных кератиноцитов и дермальных фибробластов человека (в составе искусственной многослойной ткани кожи человека) широкополосным терагерцовым импульсным излучением (спектральный диапазон – 0,1–2,5 ТГц, энергетическая освещенность – 5,7 и 57,0 мВт/см², продолжительность – 10 мин) и видимым (синим) импульсным излучением (длина волны – 400 нм, продолжительность – 2 мин) изучались в работах [99,413]. Показано, что терагерцовое излучение избирательно снижает экспрессию генов, ассоциированных с развитием кожных заболеваний (псориаза, атопического дерматита и др. воспалительных заболеваний), и генов, принимающих участие в апоптозе [99]. Также показано, что терагерцовое излучение влияет на гены канцерогенеза, а именно: оно подавляет синтеза белков, отвечающих за усиление пролиферации опухолевых клеток, рост и метастазирование опухоли, и стимулирует синтез белков, ответственных за подавление роста опухоли [99,413]. Описанные результаты открывают новые применения терагерцового излучения, связанные с терапией кожных заболеваний на генетическом уровне.

Эффекты воздействия широкополосного терагерцового импульсного излучения (спектральный диапазон – 0,1–2,6 ТГц, энергетическая освещенность – 0,32 мВт/см², продолжительность – 1 ч) на кератиноциты дорсальной кожи мыши *in vivo* изучались в работе [414]. В результате выявлена активация 149 генов спустя 24 ч после воздействия. Эти гены отвечают за регенерацию, рост тканей, органогенез и миграцию клеток. Экспрессия генов после терагерцового воздействия отличалась от экспрессии после облучения образца ультрафиолетовым или нейтронным излучением [414]. Подобное терагерцовое воздействие снижает гидратацию кожи, следствием чего является изменение активности внутриклеточных сигнальных путей.

В работе [415] культуры кератиноцитов человека подвергались воздействию непрерывного терагерцового излучения (частоты – 1,4, 2,52 и 3,11 ТГц, энергетическая освещенность – 44,2 мВт/см², продолжительность – 20 мин). Анализ матричных рибонуклеиновых кислот (мРНК) спустя 4 ч после воздействия выявил уникальность экспрессированных генов после облучения той или иной частотой. Облучение культур клеток терагерцовым излучением различной частоты ведет к уникальным биохимическим и клеточным реакциям. Следовательно, необходимо тщательно выбирать частоту при использовании терагерцового излучения для стимуляции или подавления определенных свойств клеток [415].

Некоторые результаты терагерцового воздействия на клетки представлены в Таблице 1.2. При энергетической освещенности клеток ниже установленных безопасных пределов (~1–2 мВт/см²) в них не происходит морфологических или генотоксических нарушений. Геномная нестабильность, способная привести к развитию рака, наблюдается при низкой интенсивности излучения, но при значительной продолжительности терагерцового воздействия [409,416]. Некоторые типы клеток (такие, как фибробласты) не претерпевают изменений на генетическом уровне, даже при интенсивности терагерцового облучения выше пороговой. Возможно, для ТГц излучения характерна определенная клеточная и тканевая селективность, при этом эффекты терагерцового воздействия на здоровые и патологические клетки / ткани могут отличаться. Остается много проблем воздействия терагерцового излучения на биологические объекты, требующие решения перед применением терагерцовых технологий в клинической практике для диагностики и терапии.

Таблица 1.2. Эффекты воздействия терагерцового излучения на клетки; CW и P – непрерывное и импульсное излучение.

№	Тип источника	Частота, ТГц	Энергетическая освещенность, мВт/см ²	Длительность воздействия, мин	Облучаемые клетки	Эффект воздействия	Источник
1	CW	0,12–0,18	3,2	1–5	Клетки глиомы крысы (линия C6)	Цитотоксический эффект, зависящий от дозы	[417]
2	CW	2,52	636	30–50	Клетки Jurkat	Повышение экспрессии генов шаперонов, активаторов транскрипции, регуляторов роста клеток и воспалительных цитокинов	[411,412]
3	CW	2,52	227	5–40	Клетки Jurkat	Снижение жизнеспособности клеток	[399]
4	CW	3,68	40	30, 90	Лимфоциты крови человека	Снижение жизнеспособности клеток	[408]
5	CW	0,1	0,031	120, 1440	Лимфоциты крови человека	Геномная нестабильность (увеличение асинхронной репликации)	[409]
6	P	0,1–0,15	2, 5	20	Лимфоциты крови человека	Повреждение ДНК	[407]
7	P	0,002–0,3	2	6	Лимфоциты крови человека	Нет	[379]
8	P	0,002–0,3	1	30	Лимфоциты крови человека	Нет	[379]

№	Тип источника	Частота, ТГц	Энергетическая освещенность, мВт/см ²	Длительность воздействия, мин	Облучаемые клетки	Эффект воздействия	Источник
9	P	0,5–6,5	0,008	20	Лейкоциты крови человека	Нет	[405]
10	P	0,1–2,0	0,125	20	Лейкоциты крови человека	Нет	[405]
11	P	0,1–1,0	0,2	20	Лейкоциты крови человека	Нет	[405]
12	P	0,1–0,15	0,03–0,25	20	Лимфоциты крови человека	Нет	[406]
13	CW	0,1	0,031	60	Лимфоциты крови человека	Нет	[409]
14	P	0,2–3,0	0,001	10–30	Первичные кератиноциты человека	Нет	[399]
15	CW	0,106	0,04–2,0	120, 480	Фибробласты кожи человека	Нет	[418]
16	CW	0,07–0,3	<0,001	180, 4200, 5760	Фибробласты кожи человека	Нет	[419]

1.4 Терагерцовая спектроскопия и визуализация биологических тканей

Развитие терагерцовых технологий в конце XX в. повлекло за собой создание разнообразных методов терагерцовой спектроскопии и визуализации [1]. Они могут быть построены на описанных выше непрерывных или импульсных терагерцовых источниках и иметь различные технические характеристики. Эти методы все чаще применяются для решения современных проблем биологии и медицины, изучения свойств биологических тканей и процессов, разработки новых диагностических инструментов. Опишем распространенные инструменты терагерцовой биофотоники, а также существующие проблемы терагерцовой спектроскопии и визуализации тканей.

1.4.1 Проблемы терагерцовых измерений тканей

Существует большое разнообразие схем и инструментов измерения физических характеристик биологических тканей в терагерцовом диапазоне [11,16], включая измерения коэффициентов пропускания и отражения излучения, эффективных оптических или диэлектрических свойств, а также построение терагерцовых изображений. На Рис. 1.10 показаны несколько распространенных схем терагерцовых измерений; эти или схожие схемы измерений используются в значительной части работ в области терагерцовой биофотоники, которые будут обсуждаться в следующих разделах [11]. Из-за отсутствия коммерчески доступных эффективных многоэлементных терагерцовых детекторов, подавляющее большинство терагерцовых измерений биологических тканей выполняется с помощью одноплощадочных детекторов амплитуды или интенсивности терагерцового поля. При этом используются различные схемы растрового сканирования объекта сфокусированным терагерцовым пучком.

При терагерцовых измерениях биологических тканей необходимо учитывать малую глубину проникновения в них терагерцового излучения, связанную с его сильным поглощением тканевой водой [254]; это особо важно при работе с тканями *in vivo* или свежееисеченными препаратами *ex vivo*. При измерениях тканей по проходящему терагерцовому излучению обычно изучаются срезы малой толщины (~100 мкм), помещенные между двумя диэлектрическими окнами для сохранения их плоскопараллельности и контроля толщины [420]. Толщина подобного образца должна быть априорно известна с высокой точностью для оценки его эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических) свойств. Подготовка таких образцов достаточно трудоемка и включает процедуры фиксации (например, заморозки), способные изменить

терагерцовый отклик тканей по сравнению со свежееисеченными. Поэтому терагерцовые измерения тканей чаще проводятся на основе анализа отраженного от их поверхности сигнала. Изменения в геометрии «на отражение» требуют более точных юстировок оптических элементов и положения образца относительно терагерцового пучка, а также жесткой фиксации образца во время эксперимента (особенно для подвижных образцов *in vivo*) [25,421–423]. При терагерцовых измерениях мягких тканей их форма должна быть априорно известна и контролируема во время эксперимента. Для этого образец помещается в сфокусированном пучке позади опорного окна (при измерениях в геометрии «на отражение»), либо в кювете между двумя диэлектрическими окнами (при измерении тонких образцов в геометрии «на пропускание»).

Длительность каждого терагерцового измерения достаточно высока, так как в настоящий момент не существует терагерцовой элементной базы и экспериментальных систем на ее основе, обеспечивающих одновременно возможность регистрации спектров (или визуализации) в реальном масштабе времени, высокую энергетическую эффективность и приемлемое пространственное разрешение [1]. Спектроскопия и визуализация каждого образца занимает от нескольких до десятков минут. Поэтому при исследовании свежееисеченных тканей *ex vivo* необходимо применять тот или иной подход к фиксации тканей, предотвращающий их дегидратацию или гидратацию при взаимодействии с окружающей средой и, соответственно, сохраняющий терагерцовый отклик тканей неизменным в ходе достаточно длительных измерений. Классические подходы к фиксации тканей (например, заморозка [424,425], парафинизация [322,426] и лиофилизирование [323,427–429]) влияют на гидратацию тканей и отклик в области терагерцовых частот. Поэтому в терагерцовой биофотонике зачастую применяется фиксация желатиновыми или полимерными пленками, минимизирующая контакт тканей с окружающей средой и сохраняющая терагерцовый отклик тканей неизменным до нескольких часов после иссечения [430].

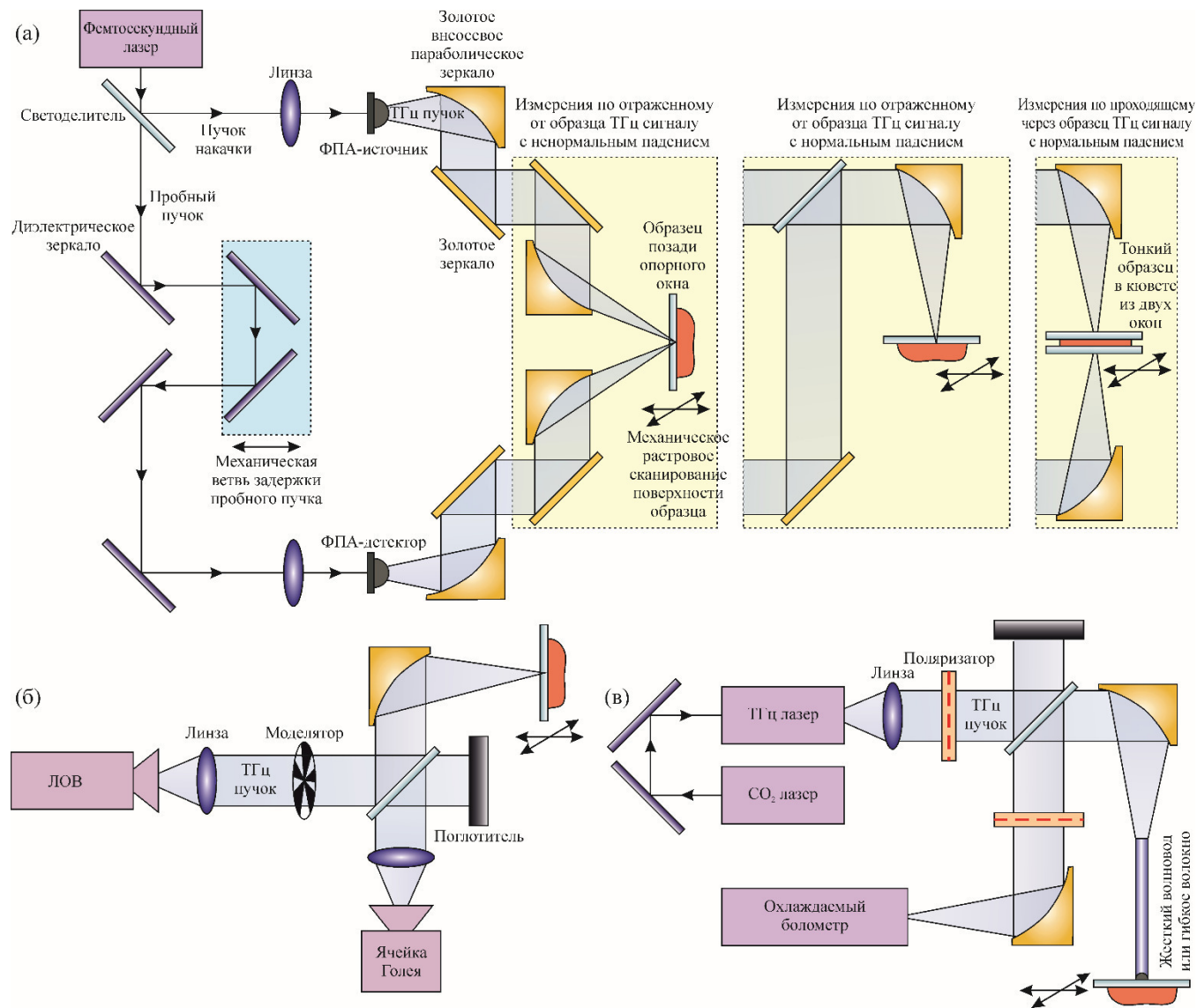


Рис. 1.9. Распространенные схемы измерения биологических тканей в терагерцовом диапазоне [11]: (а) – импульсная спектроскопия и визуализация тканей в геометрии «на отражение» (нормальное и ненормальное падение) или «на пропускание»; (б) – визуализация с использованием непрерывного излучения ЛОВ и ячейки Голя; (в) – визуализации с применением терагерцового волновода, газового лазера и охлаждаемого болометра.

Для измерения тканей в терагерцовом диапазоне чаще всего используются зеркальные и линзовые оптические системы, пространственное разрешение которых ограничено дифракционным пределом Аббе [11,16]. Это ограничивает пространственное разрешение терагерцовых измерений несколькими сотнями микрометров или даже миллиметрами. Малое разрешение затрудняет применение терагерцовых спектроскопических и изображающих систем в решении фундаментальных и прикладных проблем биофотоники. Для терагерцовых измерений *in vivo* важнейшей проблемой является доставка излучения к труднодоступным тканям и органам. В отличие от видимого и ближнего ИК диапазонов, не существует коммерческих терагерцовых волокон и волноводов, жгутов волокон и эндоскопических систем [51,85]. В последнее время этим проблемам уделяется все большее внимание отечественных и зарубежных научных групп. Детально эти проблемы будут обсуждаться ниже.

1.4.2 Инструменты терагерцовых измерений тканей

Рассмотрим распространенные инструменты терагерцовой биофотоники [1,4,11,16]. Методы фурье спектроскопии широко используются не только в ИК, но и в терагерцовом диапазоне (обычно выше 0,5–1,0 ТГц) [431]. ИК фурье спектроскопия основана на принципах интерферометрии, при этом преобразование Фурье связывает спектр мощности широкополосного источника излучения с регистрируемой интерферограммой. В качестве источника излучения в ИК фурье спектрометре обычно используют глобар или ртутную лампу (для максимальной чувствительности измерений в терагерцовом диапазоне), а в качестве детектора – пироэлектрический приемник (например, на основе дейтерированного триглицинсульфата или танталата лития), либо охлаждаемый до гелиевых температур болометр [432–434].

Для широкополосных спектроскопических измерений, методы ИК фурье спектроскопии (в ближнем, среднем и дальнем ИК диапазонах) сочетаются с терагерцовой импульсной спектроскопией [435–437]. Однако терагерцовая импульсная спектроскопия чаще применяется независимо, позволяя получать большой объем информации об объекте исследования в широком диапазоне частот (0,1–4,5 ТГц). Этот метод использует терагерцовые импульсы субпикосекундной длительности для зондирования объекта исследования. При этом регистрируется временная зависимость напряженности электрического поля $E(t)$ для терагерцового импульса, прошедшего через объект или отраженного от его поверхности. Для генерации и когерентной регистрации терагерцовых импульсов используются ультракороткие лазерные импульсы ближнего ИК диапазона. В

подавляющем большинстве терагерцовых импульсных спектрометров преобразование фемтосекундных лазерных импульсов в терагерцовые и их последующее когерентное детектирование осуществляется в ФПА [82,84,176,179,180,183] или (реже) в нелинейных оптических кристаллах за счет оптического выпрямления и электрооптического эффекта, соответственно [4,170].

В терагерцовом импульсном спектрометре пучок излучения фемтосекундного лазера разделяется на две составляющие – пучок накачки и пробный пучок; см. Рис. 1.9 (а). Пучок накачки зондирует источник терагерцовых волн (ФПА или кристалл с нелинейной оптической восприимчивостью второго рода), а пробный пучок – детектор терагерцового поля (ФПА или электрооптический приемник). Временная задержка между пучками регулируется с помощью системы зеркал, установленных на механическом линейном трансляторе. Каждый фемтосекундный лазерный импульс генерирует импульс терагерцового излучения в ФПА-источнике (за счет фотопереключения) или кристалле (за счет оптического выпрямления). Терагерцовые импульсы проходят оптический тракт спектрометра и зондируют объект исследования в геометрии «на пропускание» или «на отражение». После этого они попадают в когерентный детектор терагерцового поля на базе ФПА или электрооптического кристалла. Сигнал подобного детектора пропорционален амплитуде терагерцового поля $E(t)$, причем развертка оси времени осуществляется за счет механической задержки пробного лазерного пучка относительно пучка накачки.

Сигнал импульсного спектрометра имеет вид одного терагерцового импульса или гребенки импульсов, вызванных резонансами Фабри-Перо в образце и др. элементах оптического тракта. Вычисление спектра Фурье этого сигнала позволяет получить комплексную амплитуду электромагнитной волны в широком спектральном диапазоне. Для оценки импульсного отклика образца во временной области, комплексных коэффициентов пропускания и отражения, либо спектральных оптических (диэлектрических) характеристик образца применяются специальные методы обработки сигналов и решения обратных задач терагерцовой импульсной спектроскопии [29].

Терагерцовая импульсная спектроскопия перестала быть инструментом исключительно фундаментальных лабораторных исследований и все чаще применяется для решения прикладных проблем, в том числе биофотоники, биологии и медицины. Широкое использование импульсной спектроскопии связано со следующими факторами.

- Этот метод позволяет регистрировать одновременно спектральную амплитуду и фазу терагерцовой волны в широком диапазоне частот в результате единственного измерения. Столь полная информация о терагерцовой волне позволяет оценить

комплексную диэлектрическую проницаемость объекта баз применения соотношений Крамерса-Кронига [438–442].

- Он позволяет анализировать терагерцовый отклик объекта во временном или частотном пространствах, открывая богатые возможности обработки и анализа сигналов, а также решения обратных задач спектроскопии. Это позволяет использовать импульсную спектроскопию для изучения широкого спектра физических и химических характеристик объекта [421,422,443–448].
- Современная элементная база импульсной спектроскопии позволяет производить портативные, эргономичные системы для исследований в условиях биофизической лаборатории и даже клиники [449,450].

Терагерцовая импульсная спектроскопия может быть адаптирована для построения изображений образца за счет его растрового сканирования сфокусированным терагерцовым пучком. Подобные методы называются терагерцовой импульсной визуализацией (terahertz pulsed imaging – TPI). Для построения изображения в таких системах чаще сам объект перемещается с помощью механических подвижек относительно неподвижного терагерцового пучка, в то время как развертка терагерцового пучка относительно неподвижного объекта применяется редко. Обработка трехмерных данных терагерцовой импульсной визуализации во временной $E(\mathbf{r}, t)$ или частотной $E(\mathbf{r}, \nu)$ областях (\mathbf{r} – радиус-вектор в плоскости изображения) позволяет выявлять признаки для дифференциации тканей и строить различные редуцированные (двухмерные) параметрические изображения тканей $I(\mathbf{r})$.

Высокую чувствительность исследования биологических образцов обеспечивают методы терагерцовой импульсной спектроскопии на основе эффекта полного внутреннего отражения (ПВО / TIR – total internal reflection) [451]. В данном методе образец расположен позади призмы, изготовленной из терагерцового оптического материала с высоким показателем преломления (например, высокорезистивного кремния / high-resistivity float-zone silicon – HRFZ-Si). Спектрометр регистрирует терагерцовое излучение после ПВО на границе «HRFZ-Si призма – образец». Данный метод позволяет изучать как объемные биологические образцы, так и слои тканей толщиной всего в несколько клеток [452–454]. В то же время подобный метод очень чувствителен к разюстировкам оптической системы, требует предварительной калибровки и слабо подходит для измерений *in vivo*.

Скорость сбора данных в терагерцовой импульсной спектроскопии и визуализации ограничена мощностью излучателя, чувствительностью детектора, инерционностью механической ветви задержки пробного пучка относительно пучка накачки, а также инертностью механической системы растрового сканирования объекта терагерцовым

пучком; см. Рис. 1.9 (а). Обычно импульсному спектрометру требуется от десятков секунд до десятков минут для регистрации одного сигнала $E(t)$. Для построения терагерцового изображения требуется значительно больше времени – от десятков минут до нескольких часов, ибо для каждой точки растрового сканирования образца регистрируется свой терагерцовый сигнал. Низкое быстродействие ограничивает возможности терагерцовых импульсных систем в клинических применениях, требующий возможность работы системы в реальном масштабе времени.

Для решения отмеченной проблемы были разработаны несколько новых подходов, среди которых отметим следующие.

- Использование быстродействующей оптической развертки пробного пучка относительно пучка накачки. Ветви задержки на основе вращающегося эвольвентного отражателя обеспечивают линейный режим работы (задержка связана линейно с поворотом отражателя), диапазон сканирования $\sim 1\text{--}10$ см, точность позиционирования ~ 1 мкм и частоту развертки до 300–400 Гц [455]. В работах [456,457] вращающийся эвольвентный отражатель совмещен с терагерцовым импульсным спектрометром с частотой регистрации сигналов до 192 Гц.
- Использование оптической развертки пробного пучка относительно пучка накачки. В этом случае для накачки ФПА используются два пучка с незначительно смещенной (иногда варьируемой) частотой следования импульсов [458]. Подобные пучки могут генерироваться одним лазерным источником при использовании специальных резонаторов [459,460], либо двумя источниками со связанными частотами повторения импульсов [461].
- Все популярнее становится мультиплексирование нескольких ФПА на одной подложке с независимым сбором данных с каждого элемента [1]. Массивы ФПА с электрическим или оптическим считыванием могут значительно повысить кадровую частоту терагерцовой импульсной визуализации, однако они до сих пор остаются объектами лабораторных исследований [185].
- Современные голографические методы визуализации на основе одноплощадочного стационарного детектора и высокоскоростных кодирующих апертурных масок (compressed sensing) повышают скорость регистрации терагерцовых изображений и могут использоваться совместно с импульсной спектроскопией [1,462–464]. Однако они требуют решения обратных задач голографии – восстановления терагерцового изображения по наблюдаемым сигналам.

Наряду с терагерцовой импульсной спектроскопией для исследования тканей применяются методы спектроскопии и визуализации на базе непрерывных источников.

Например, в таких системах в качестве источника может применяться ЛОВ [2,125,465–467], а в качестве детектора – пироэлектрический приемник, ячейка Голя или охлаждаемый болометр. Та или иная конфигурация выбирается в зависимости от требований к чувствительности и быстродействию системы. При необходимости построения изображения образца выполняется растровое сканирование его поверхности сфокусированным пучком излучения ЛОВ с помощью механической системы развертки. Помимо ЛОВ в системах для спектроскопии и визуализации тканей с помощью непрерывного терагерцового излучения могут использоваться полупроводниковые диоды в сочетании с теми же квадратичными детекторами [468], генераторы и когерентные детекторы на основе фотосмещения или параметрической конверсии [4,135,143,186,469]. В последние годы терагерцовые квантово-каскадные лазеры [203,204] все чаще применяются в задачах визуализации [470–473]. Однако отмеченные сочетания источников и детекторов непрерывного излучения применяются реже распространенных импульсных систем.

1.4.3 Обработка и анализ данных в терагерцовой импульсной спектроскопии

Рассмотрим основные методы обработки и анализа сигналов терагерцовой импульсной спектроскопии и визуализации, как наиболее распространенные инструменты терагерцовой биофотоники. Обработка и анализ данных терагерцовых импульсных систем включает предварительную обработку (например, подавление шумов), деконволюцию сигналов (восстановление импульсного отклика образца во временной области) или инверсную фильтрацию (восстановление комплексного коэффициента пропускания или отражения в частотной области), оценку эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик образца, анализ наблюдаемого терагерцового отклика и лежащих в его основе элементарных электродипольных возбуждений с помощью различных физико-математических моделей.

Основным методом предобработки терагерцовых импульсных данных является аподизация сигналов (оконная фильтрация) во временной области с целью выделения полезной информации на фоне шумов и подавления краевых эффектов Фурье преобразования в частотной области (шумов Гиббса) [474–476]. Методы аподизации в терагерцовой импульсной спектроскопии схожи с аналогичными в ИК фурье спектроскопии [477]. Аподизация описывается выражением

$$E_{\text{filt}}(t) = E_{\text{raw}}(t)H(t - t'), \quad (1.11)$$

где E_{raw} и E_{filt} – сигналы импульсного спектрометра до и после фильтрации, соответственно, H – аподизационный (оконный) фильтр, центрированный на временном

отсчете t' . Аподизация позволяет подавить шум во временных сигналах, локализованный вне временного окна H , уменьшить краевые эффекты Гиббса и исключить из временных сигналов составляющие (волновые пакеты или импульсы-спутники), которые по тем или иным причинам не могут быть учтены при физико-математическом анализе сигналов. Для этого выбирается оптимальный тип и размер аподизационного окна с учетом геометрии эксперимента и свойств объекта [478–480]. Распространены аподизационные окна Нортон–Бира [481], Хамминга, Блэкмана–Харриса [477] и Тьюки [29].

Другой метод предобработки сигналов терагерцовых импульсных систем – вейвлетная фильтрация шумов. Он основан на разложении временных сигналов $E(t)$ в базис вейвлетных функций (локальных по времени и частоте) с последующим подавлением отсчетов вейвлетного спектра с амплитудой ниже пороговой [352,482–486]. Выбор оптимального вейвлетного базиса (для разложения ТГц сигналов) и порога (для фильтрации вейвлетного спектра) – нетривиальная задача, для решения которой могут использоваться различные критерии [482,484]. Альтернативные подходы к подавлению шумов во временных сигналах импульсных систем могут базироваться на других видах математических преобразований, не требующих выбора оптимального базиса [487,488]. Вейвлетное подавление шумов зачастую применяется при анализе данных терагерцовой импульсной спектроскопии и визуализации биологических тканей [489].

Деконволюция сигналов во временной области или инверсная фильтрация в частотной области направлены на исключение влияния аппаратной функции прибора на регистрируемые терагерцовые данные. Эти методы являются неотъемлемым этапом при решении обратных задач импульсной спектроскопии, а также сами по себе могут давать полезную информацию для характеристики и дифференциации биологических тканей [327,490]. Для этого обычно используются два сигнала импульсного спектрометра – опорный сигнал $E_r(t)$, прошедший сквозь пустую измерительную кювету или отраженный от эталонной поверхности, и сигнал образца $E_s(t)$, прошедший сквозь образец или отраженный от него. На их основе рассчитываются частотный $\tilde{R}(v)$ и временной $R(t)$ отклики образца (по амплитуде) [214, 223]:

$$\tilde{R}(v) = \frac{F_t^{+1}[E_s(t)]}{F_t^{+1}[E_r(t)]}, \quad R(t) = F_v^{-1}[\tilde{R}(v)], \quad (1.12)$$

где F_t^{+1} и F_v^{-1} – операторы прямого и обратного преобразования Фурье, соответственно. Деконволюция и инверсная фильтрация зачастую сопровождаются операциями подавления шумов – фильтрацией в частотной области с применением функции Гаусса [352] или фильтра Винера [31], либо во временной области с применением аподизации и вейвлетного разложения [352]. Деконволюция и инверсная фильтрация обеспечивают высокую скорость

обработки терагерцовых данных и позволяют повысить контраст между тканями в норме и при патологии [268,352,489,491,492]. Характеристики $R(t)$ и $\tilde{R}(\nu)$ почти не зависят от аппаратной функции прибора, однако есть некоторая зависимость от широкополосности терагерцовых спектров и параметров аподизации. Поэтому эти характеристики являются менее предпочтительными при сопоставлении результатов измерения тканей различными терагерцовыми импульсными системами и не являются оптимальными для описания их отклика в терагерцовом диапазоне.

Отмеченная проблема может быть решена путем восстановления частотной зависимости терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик тканей – их комплексного показателя преломления \tilde{n} (выражение (1.2)) или комплексной диэлектрической проницаемости $\tilde{\epsilon}$ (выражение (1.1)), являющихся фундаментальными физическими характеристиками материальной среды, полностью описывающими взаимодействие с ней терагерцового излучения в рамках классической электродинамики и теории эффективной среды [319,337,445,493]. Оценка функций $\tilde{\epsilon}$ и \tilde{n} на основе сигналов импульсного спектрометра предполагает решение некорректной обратной задачи. Обычно для этого строится физико-математическая модель взаимодействия терагерцового излучения с объектом исследования (однослойной или многослойной средой), после чего минимизируется функционал ошибки (невязка) между этой моделью и наблюдаемыми экспериментальными сигналами. Существуют различные подходы к решению обратных задач терагерцовой импульсной спектроскопии, позволяющие работать с проходящим через образец излучением [71,494] или отраженным от него [25,26,58,60], работающие при нормальном или ненормальном падении излучения на поверхность образца, либо реализующие геометрию ПВО [452–454].

В отличие от функций отклика во временной $R(t)$ или частотной $\tilde{R}(\nu)$ областях терагерцовые оптические (диэлектрические) характеристики объекта почти не зависят от аппаратной функции терагерцовой импульсной системы и параметров обработки данных. Только ширина временного окна регистрации сигнала $E(t)$ и параметры окна аподизации сигнала могут привести к сглаживанию спектральных данных и ограничить спектральное разрешение величиной $\Delta\nu \approx T^{-1}$, где T – ширина анализируемого временного окна. Таким образом, характеристики $\tilde{\epsilon}$ и \tilde{n} , полученные с помощью различных экспериментальных терагерцовых импульсных систем, геометрий эксперимента или даже других методов терагерцовой спектроскопии должны совпадать с точностью до ошибок измерений. Именно поэтому представление данных с помощью эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик наиболее физически-обоснованно при терагерцовой спектроскопии биологических тканей.

На Рис. 1.10 показана возможность дифференциации *ex vivo* интактных тканей кожи и базалиомы (базальноклеточного рака / basal cell carcinoma – BCC) с использованием (а),(б) эффективных терагерцовых оптических характеристик n , α (в частотной области) или (в) импульсного отклика $R(t)$ (во временной области) [325]. Показаны статистические различия между интактными тканями и новообразованием как в частотной, так и во временной областях, однако во временной области контраст выше. Тем не менее стоит еще раз отметить, что достоинством подхода к описанию терагерцового отклика тканей с помощью эффективных оптических (диэлектрических) характеристик является возможность их прямого сравнения с данными других авторов, полученных с помощью других спектроскопических систем и методов, и, следовательно, построения унифицированной базы данных терагерцовых характеристик тканей. Терагерцовые оптические характеристики тканей позволяют моделировать (аналитически или численно) взаимодействие с ними терагерцовых волн, а также прогнозировать возможность их дифференциации различными инструментами спектроскопии и визуализации.

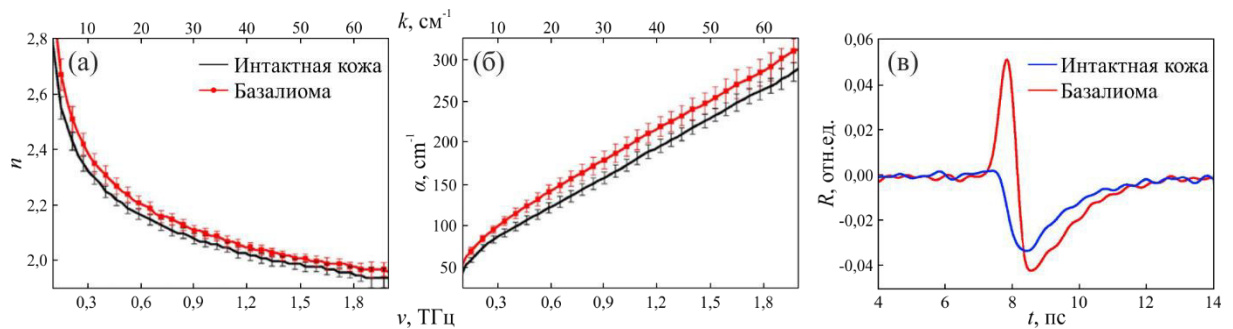


Рис. 1.10. Терагерцовая импульсная спектроскопия *ex vivo* интактных тканей кожи и BCC [325]: (а), (б) – эффективный показатель преломления n и коэффициент поглощения α , соответственно; (в) – импульсный отклик $R(t)$.

Большинство методов оценки терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик образца в импульсной спектроскопии основаны на весьма упрощенных моделях взаимодействия излучения с объектом исследования [16]. Эти модели и методы учитывают либо исключительно баллистические импульсы в сигналах спектрометра, пренебрегая импульсами спутниками, обусловленными резонансами излучения в слоях образца и кюветы, либо (наоборот) – бесконечное число волн спутников (аналогично спектроскопии на базе ЛОВ с бесконечной длиной когерентности источника). Такие упрощенные методы облегчают решение обратной задачи и позволяют перейти от минимизации функционала невязки к прямому пересчету наблюдаемых комплексных

коэффициентов пропускания в оптические (диэлектрические) характеристики [16]. Тем не менее они также ограничивают точность и спектральное разрешение оценки спектральных характеристик образца. Для терагерцовой импульсной спектроскопии представляется актуальной разработка новых методов решения обратных задач, учитывающих все особенности взаимодействия импульсов с объектом и элементами измерительного тракта и принимающих в расчет конечный размер временного окна спектрометра, в котором регистрируется сигнал $E(t)$, и, соответственно, конечное число волн спутников для различных геометрий эксперимента и объектов исследования, включая биологические ткани. Решению этой проблемы будет посвящена глава 2.

Наконец, обработка данных терагерцовой импульсной спектроскопии и визуализации зачастую включает статистический анализ импульсных откликов (во временной области), либо оптических (диэлектрических) характеристик (в частотной области), направленный на уменьшение размерности экспериментальных данных, их удобное визуальное представление и дифференциацию тканей в норме и при патологии [16,454,495]. Информативность сигналов терагерцевых импульсных систем, возможность их обработки и анализа во временной или частотной областях, современные и разрабатываемые методы решения обратных задач открывает богатые возможности применения таких систем в медицинской визуализации [11].

1.5 Терагерцовая спектроскопия и визуализация в медицинской диагностике

Развитие терагерцовой техники в последние десятилетия, появление коммерческих импульсных систем для исследований в условиях биофизической лаборатории и клиники, сделали возможными прикладные исследования, направленные на поиск применений терагерцовой спектроскопии и визуализации в медицинской диагностике социально-значимых заболеваний: новообразований, травматических повреждений, диабета и др. Рассмотрим современное состояние этих исследований.

1.5.1 Доброкачественные и злокачественные новообразования

С начала XXI в. терагерцовые технологии все чаще применяются для диагностики новообразований, доброкачественных и злокачественных [11,16,496]. Статистически значимые различия наблюдались *in vivo* и *ex vivo* между эффективными терагерцовыми оптическими (диэлектрическими) характеристиками интактных тканей и новообразований

различной нозологии и локализации. Эти результаты открывают перспективы неинвазивной, малоинвазивной и интраоперационной терагерцовой онкодиагностики.

Контраст между тканями в норме и при патологии в терагерцовом диапазоне возникает из-за различий в содержании и состоянии (свободная или связанная) тканевой воды, а также из-за структурных изменений тканей при развитии патологии [11,16]. Аномальная микроваскуляризация и отек опухоли ведут к повышенному содержанию в ней тканевой воды, поэтому для опухоли характерны более высокие значения терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик, чем для интактных тканей [333,497]. Микроскопические и крупномасштабные изменения структуры и оптических свойств тканей, вызванные изменением клеточной морфологии, плотности тканей, присутствием мутационных биологических молекул (атипичных для нормальных тканей), изменениями концентрации белков или ионов, наличием областей некроза и кровоизлияний (гематом) [322,498–503], также вносят вклад в контраст между интактными тканями и новообразованием. Однако влияние этих эндогенных факторов заметно меньше по сравнению с тканевой водой [322]. Перечисленные факторы могут вести к гетерогенности тканей, снижать качество и воспроизводимость терагерцовых данных, особенно при работе на высоких частотах ($> 1,0$ ТГц) [26], где становятся заметными эффекты рассеяния Ми (см. раздел 1.3.3) [265,318,376–378,504].

Большинство терагерцовых экспериментальных систем для биомедицинских исследований основаны на принципах импульсной спектроскопии и визуализации (разделы 1.4.2 и 1.4.3) [450]. Подобные системы используют дифракционно ограниченные оптические системы, не позволяющие разрешать мезомасштабные ($\sim \lambda$) и субволновые ($< \lambda$) структурные элементы тканей и использующие преимущественно для изучения эффективных оптических (диэлектрических) характеристик тканей в области терагерцовых частот, усредненных в пределах функции рассеяния оптической системы ($> \lambda^2$) [11,16].

Рассмотрим результаты исследования тканей с помощью дифракционно ограниченных терагерцовых спектроскопических и изображающих систем. Начнем с современного состояния исследований в области терагерцовой спектроскопии и визуализации новообразований, причем разделим исследования на четыре группы в зависимости от характера диагностики:

- неинвазивная,
- минимально инвазивная,
- интраоперационная,
- дополняющая патоморфологические исследования.

1.5.1.1 Неинвазивные исследования

Диагностика считается неинвазивной, если она не предполагает рассечение тканей, выстилающих поверхности и полости тела (таких, как кожа и слизистая оболочка), или использование искусственных полостей тела. Новообразования кожи являются перспективными объектами терагерцовой диагностики, так как могут быть изучены неинвазивно с помощью терагерцовой спектроскопии и визуализации в геометрии «на отражение». В большинстве исследований в области неинвазивной терагерцовой диагностики, кожа рассматривается как однородный (в масштабах длины волны) и изотропный объект, что позволяет моделировать и экспериментально изучать взаимодействия с ней терагерцового излучения, представляя ее в виде многослойного объекта (вставка на Рис. 1.8 (б)), состоящего из рогового слоя (внешнего слоя эпидермиса из мертвых клеток), эпидермиса, дермы, гиподермиса (жировой подложки).

Эффективные терагерцовые оптические (диэлектрические) характеристики кожи могут варьироваться от человека к человеку, а также в различных областях организма одного человека за счет флуктуаций содержания и состояния тканевой воды, пигментации тканей, изменения толщины слоев кожи и наличия мезомасштабных рассеивателей терагерцовых волн, например, волосяных фолликул и потовых желез [25,77,88,352,505–509]. Подобная вариабельность терагерцового отклика здоровой кожи изучается в главе 2.

В течение последних десятилетий показаны экспериментально статистические различия в терагерцовых спектрах и изображениях между интактными (здоровыми) тканями и немеланомными (слабопигментированными) видами злокачественных новообразований кожи, включая отмеченный выше ВСС (Рис. 1.10) и плоскоклеточный рак (SCC – squamous cell carcinoma) [376–378,490,510–513]. По сравнению с интактными тканями эти виды рака кожи характеризуется более высокими значениями терагерцовых оптических характеристик n и α в широком диапазоне частот [325,490,511], что приводит к различной амплитуде сигналов, прошедших сквозь срезы интактных тканей и опухоли *ex vivo*, либо отраженных от образцов тканей *ex vivo* или *in vivo*. Например, на Рис. 1.10 выше сравниваются терагерцовые оптические характеристики n , α и импульсный отклик $R(t)$ здоровой кожи и ВСС *ex vivo*, зарегистрированные с помощью терагерцового импульсного спектрометра в геометрии «на отражение» [325].

На Рис. 1.11 показаны результаты ТГц импульсной визуализации базалиомы *in vivo* [490], где рассмотрены два подхода к обработке трехмерных данных импульсной визуализации, выявляющие либо поверхностные, либо глубинные особенности тканей. В первом случае параметрическое изображение строится на основе минимальной амплитуды

импульса $\sim \min_t[E(t)]$; во втором – на основе амплитуды импульса при временной задержке $t = 2,8$ пс.

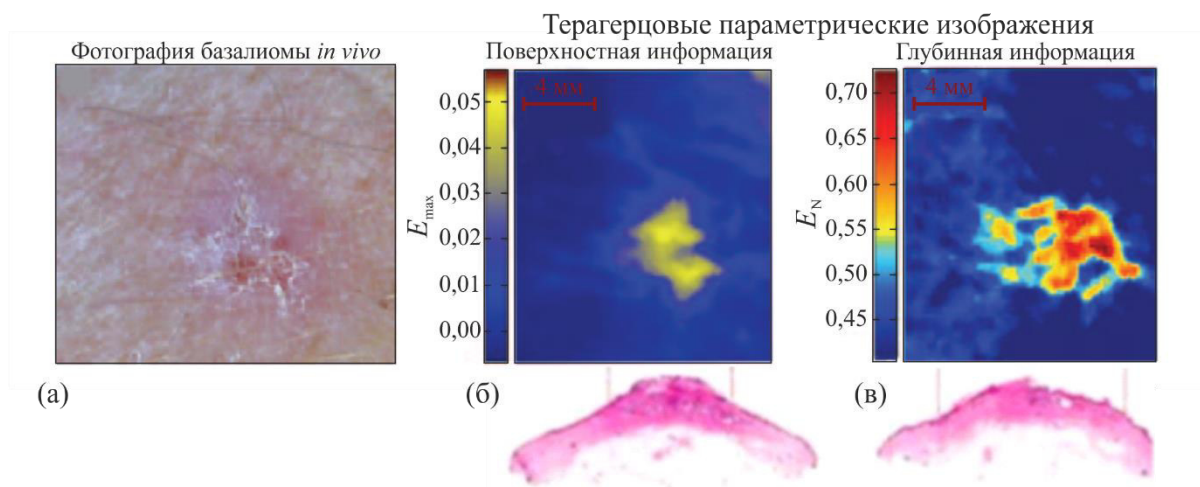


Рис. 1.11. Терагерцовая импульсная визуализация базалиомы *in vivo* в геометрии «на отражение»: (а) – фотография образца [490]; (б) – терагерцовое параметрическое изображение, иллюстрирующее минимальную амплитуду импульса $\min_t[E(t)]$ и отражающее поверхностные особенности тканей; (в) – терагерцовое параметрическое изображение, иллюстрирующее нормированную амплитуду импульса на временной задержке $t = 2,8$ пс (относительно максимума) и отражающее глубинные свойства тканей. Терагерцовые изображения сравниваются с гистологией с окраской гематоксилином и эозином (Hematoxylin and Eosin – H&E).

На Рис. 1.12 показаны результаты поляризационно чувствительной терагерцовой визуализации ВСС *ex vivo* [376]. Этот метод изучает преобразование поляризации непрерывного излучения при его взаимодействии с тканями. Наблюдаемый на поляризационных терагерцовых изображениях контраст между тканями кожи в норме и при патологии связан с различными рассеивающими свойствами тканей.

Из Рис. 1.10–1.12 очевидно, что терагерцовая импульсная спектроскопия и визуализация (эти методы изучают эффективные оптические характеристики тканей в рамках теории эффективной среды), а также поляризационно чувствительная терагерцовая визуализация (этот метод изучает преобразование поляризации терагерцового излучения при его рассеянии) могут использоваться *in vivo* для дифференциации интактных тканей и немеланомных видов рака кожи с целью детектирования границ опухоли. Подобные терагерцовые методы могут использоваться до операции (при ее планировании) или

интраоперационно (например, при хирургии Моха, обеспечивающей полное удаление новообразования с сохранением интактных тканей [514,515]).

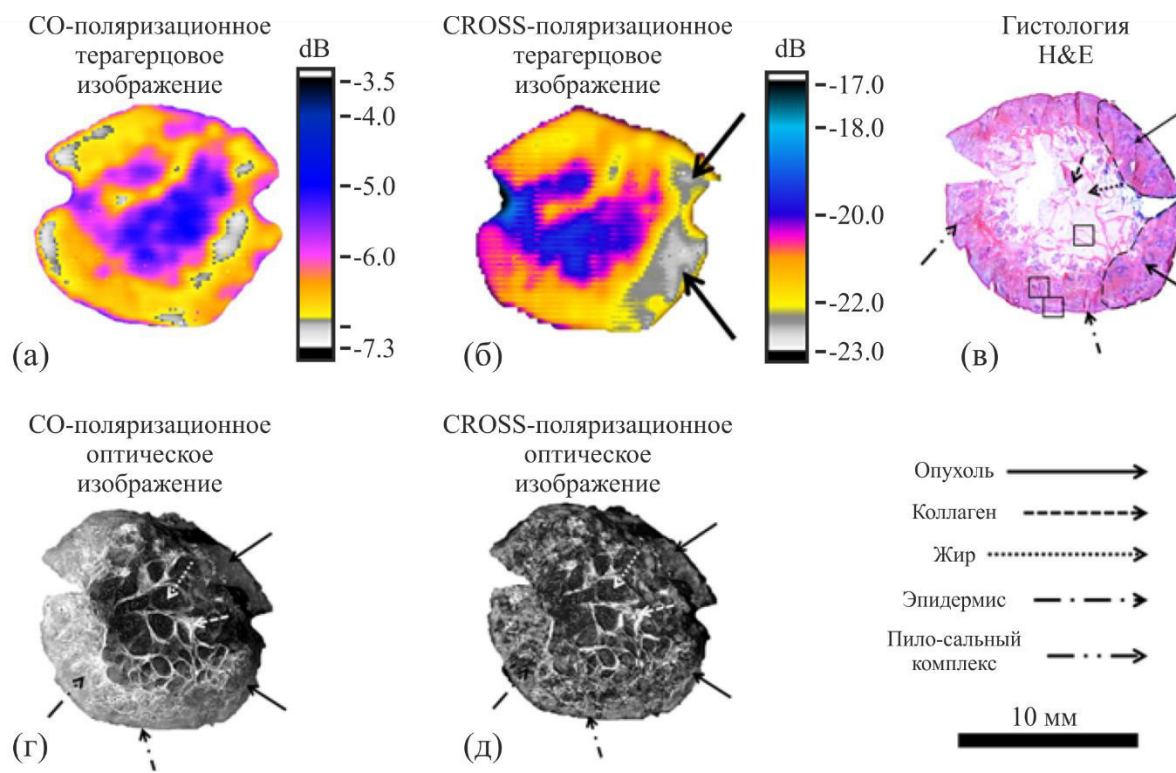


Рис. 1.12. Поляризационная чувствительная терагерцовая и оптическая визуализации ВСС *ex vivo* (срез замороженной ткани толщиной 5 мм) по отраженному от образца излучению [376]: (а), (б) – терагерцовые изображения на исходной (СО) и поперечной (CROSS) поляризациях, соответственно; (в) – гистология Н&Е; (г), (д) – оптические изображения на исходной (СО) и поперечной (CROSS) поляризациях, соответственно.

Терагерцовая техника может найти применения в диагностике злокачественных новообразований слизистой оболочки. В работе [516] показаны различия между терагерцовыми оптическими свойствами n , α свежесеченных интактных тканей и злокачественных новообразований слизистой оболочки *ex vivo* (рассмотрены различные опухоли), причем измерения проводились как при комнатной ($\approx 20^\circ\text{C}$), так при отрицательной (-20°C , заморозка тканей) температурах (Рис. 1.13). Показано, что заморозка тканей позволяет до некоторой степени повысить контраст между здоровой слизистой и опухолью в терагерцовом диапазоне. Тем не менее данная локализация до сих пор слабо изучена.

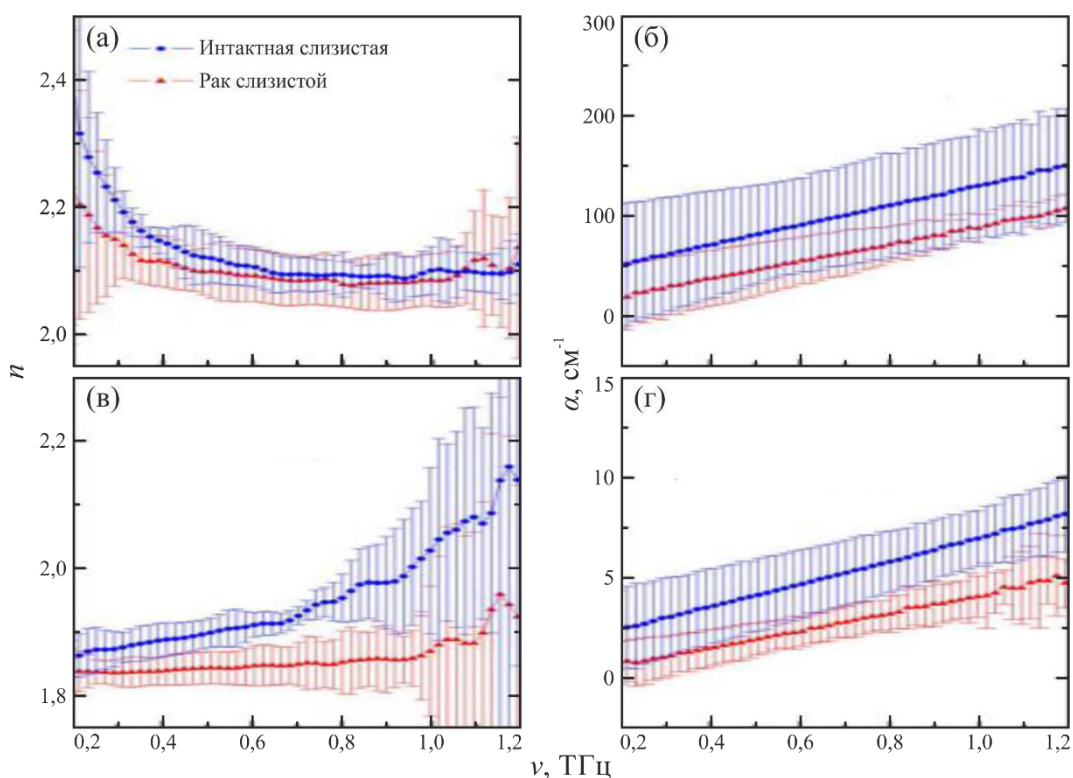


Рис. 1.13. Терагерцовый показатель преломления n (слева) и коэффициент поглощения α (справа) свежесеченной интактной слизистой оболочки и злокачественных новообразований (несколько образцов мукоэпидермоидная карцинома и SCC) ротовой полости *ex vivo* [516]: (а), (б) – измерения при комнатной температуре ($\approx 20^\circ\text{C}$); (в), (г) – измерения замороженных тканей (-20°C).

1.5.1.2 Минимально инвазивные исследования

Несмотря на малую глубину проникновения терагерцовых волн в гидратированные биологические ткани, терагерцовые технологии могут найти применения и в минимально инвазивной диагностике злокачественных новообразований внутренних органов и тканей. Под минимально инвазивными подразумеваются медицинские процедуры, которые для доступа к внутренним органам и тканям организма используют минимально инвазивные хирургические методы («хирургию замочной скважины»), включая эндоскопию и лапароскопию. Эти методы используют естественные полости тела или искусственные отверстия (разрезы) малых размеров, для которых характерны малые время заживления, боль и риск инфекции [517].

Продемонстрированы различия между эффективными терагерцовыми оптическими характеристиками *ex vivo* интактных тканей и рака толстой кишки [504,518–520], желудка

[521,522], печени [523–525], щитовидной железы [526] и др. органов. Например, на Рис. 1.14 показаны результаты терагерцовой импульсной спектроскопии и визуализации свежееисеченных фрагментов толстой кишки *ex vivo*, содержащих интактные ткани и злокачественные новообразования [319], а на Рис. 1.15 – результаты поляризационно чувствительной терагерцовой визуализации (с использованием непрерывного излучения) рака толстой кишки *ex vivo* [504]. Показано, что как терагерцовые импульсные методы, так и поляризационно чувствительная терагерцовая визуализация могут использоваться для дифференциации интактных тканей и опухоли и, следовательно, способны найти свои приложения в онкохирургии внутренних органов.

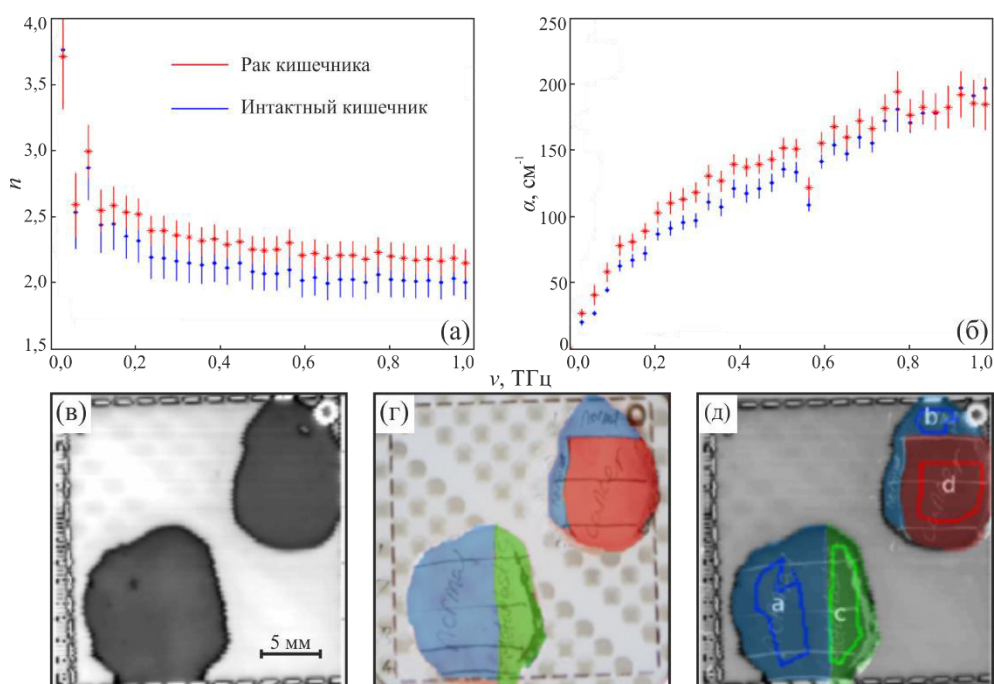


Рис. 1.14. Терагерцовая импульсная спектроскопия и визуализация интактных тканей и рака толстой кишки *ex vivo* [319]: (а) и (б) – показатель преломления n и коэффициент поглощения α тканей; (в) – терагерцовое параметрическое изображение, построенное на основе минимальной амплитуды импульса $\min_t[E(t)]$; (г), (д) – результаты гистологии, нанесенные на видимое и терагерцовое изображения тканей, соответственно. На (д) области а и б соответствуют интактным тканям; с и d — диспластическим и новообразованием.

Несмотря на перспективность терагерцовых методов в минимально инвазивной диагностике, описанные результаты преимущественно получены при исследовании образцов тканей *ex vivo*. В то же время терагерцовые измерения труднодоступных тканей и внутренних органов *in vivo* до сих пор остаются невозможными из-за отсутствия жестких

терагерцовых волноводов, одиночных гибких волокон, волоконных жгутов и эндоскопических систем [527,528]. На данном этапе развития терагерцовой техники развитие инструментов минимально инвазивной терагерцовой диагностики и их сравнение с существующими аналогами представляется затруднительным. Проблема создания терагерцовых волноводов и волокон наряду с перспективными подходами к ее решению будет рассмотрена ниже в главе 1.

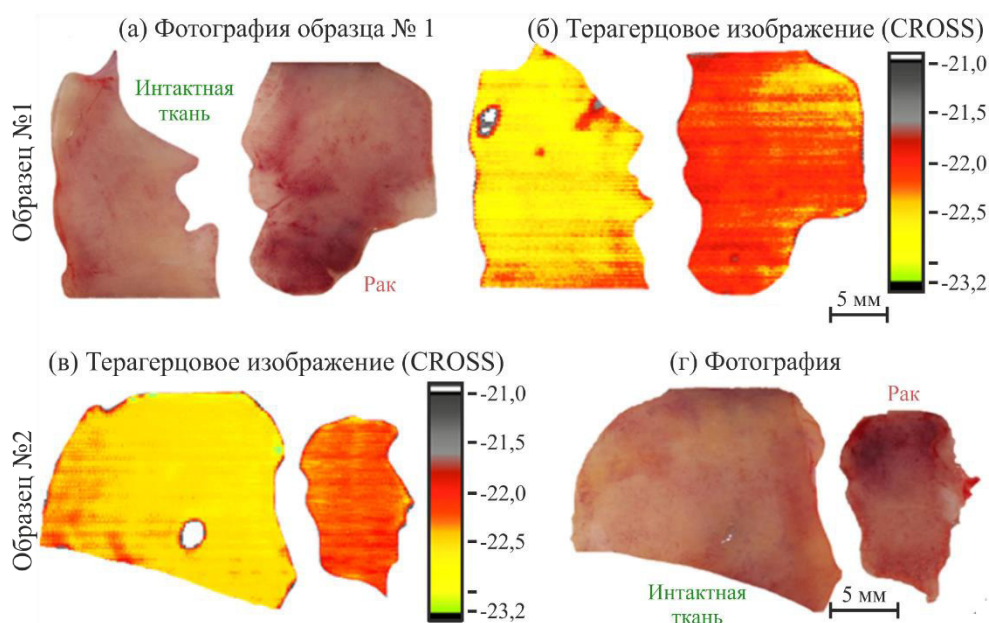


Рис. 1.15. Поляризационно чувствительная терагерцовая визуализация рака кишечника *ex vivo* [504]: (а), (б) – оптическое и терагерцовое (CROSS поляризация) изображения образца № 1; (в), (г) – схожие данные для образца № 2.

1.5.1.3 Интраоперационные исследования

Терагерцовые измерения труднодоступных тканей и органов могут выполняться интраоперационно – во время проведения операции по иссечению опухоли с открытым доступом к тканям. В работах [319,449,529–532] изучалась возможность применения терагерцового излучения в диагностике опухолей молочной железы. На Рис. 1.16 (а) и (б) показаны терагерцовые оптические характеристики *ex vivo* свежееиссеченных интактных фиброзной и жировой тканей молочной железы, а также опухоли протоковых каналов, из которых очевидны различия между здоровыми тканями и опухолью [319]. На Рис. 1.16 (в)–(д) показаны результаты терагерцовой импульсной визуализации свежееиссеченной опухоли молочной железы в форме параметрических изображений и гистологии Н&Е [319].

Наблюдаемый на терагерцовых спектрах и изображениях контраст обусловлен повышенным содержанием воды в опухоли [531]. Корреляция данных терагерцовой визуализации и гистологии свидетельствует о перспективности терагерцовой техники в интраоперационном детектировании границ опухоли молочной железы с целью обеспечения ее полной резекции.

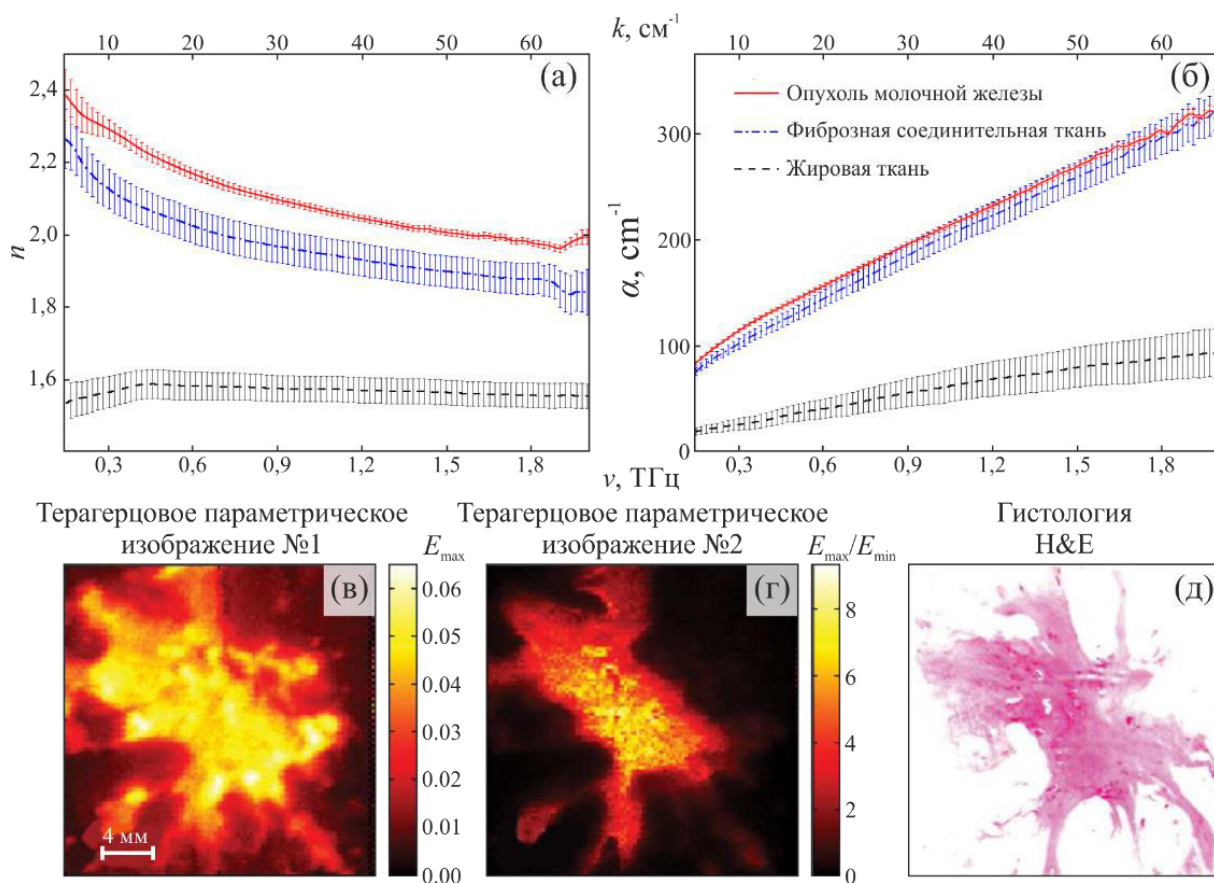


Рис. 1.16. Терагерцовая импульсная спектроскопия и визуализация свежесеченных опухолей молочной железы *ex vivo* [319]: (а), (б) – показатель преломления n и коэффициент поглощения излучения α для с опухоли, фиброзной соединительной ткани и жировой ткани молочной железы; (в), (г) – терагерцовые параметрические изображения, отражающие максимальную $\max_t[E(t)]$ и нормированную $\max_t[E(t)]/\min_t[E(t)]$ амплитуды импульса; (д) – гистология Н&Е.

Изучалась возможность применения терагерцовой техники в интраоперационной нейрорадиологии [69,70,533], включая диагностику опухолей головного мозга [322,534–537]. В работе [322] с помощью терагерцовой импульсной визуализации изучена модель ортотопической глиомы (клеточная линия 9L/lacZ) в мозгу крысы *ex vivo* как в свежесеченом виде, так и в парафиновых блоках. На Рис. 1.17 результаты терагерцовой

визуализации свежесеченных тканей сравниваются с фотографиями образцов и данными магнитно резонансной томографии (МРТ). Терагерцовые изображения демонстрируют контраст между интактными тканями и опухолью, в полной мере коррелируя с оптическими изображениями и МРТ.

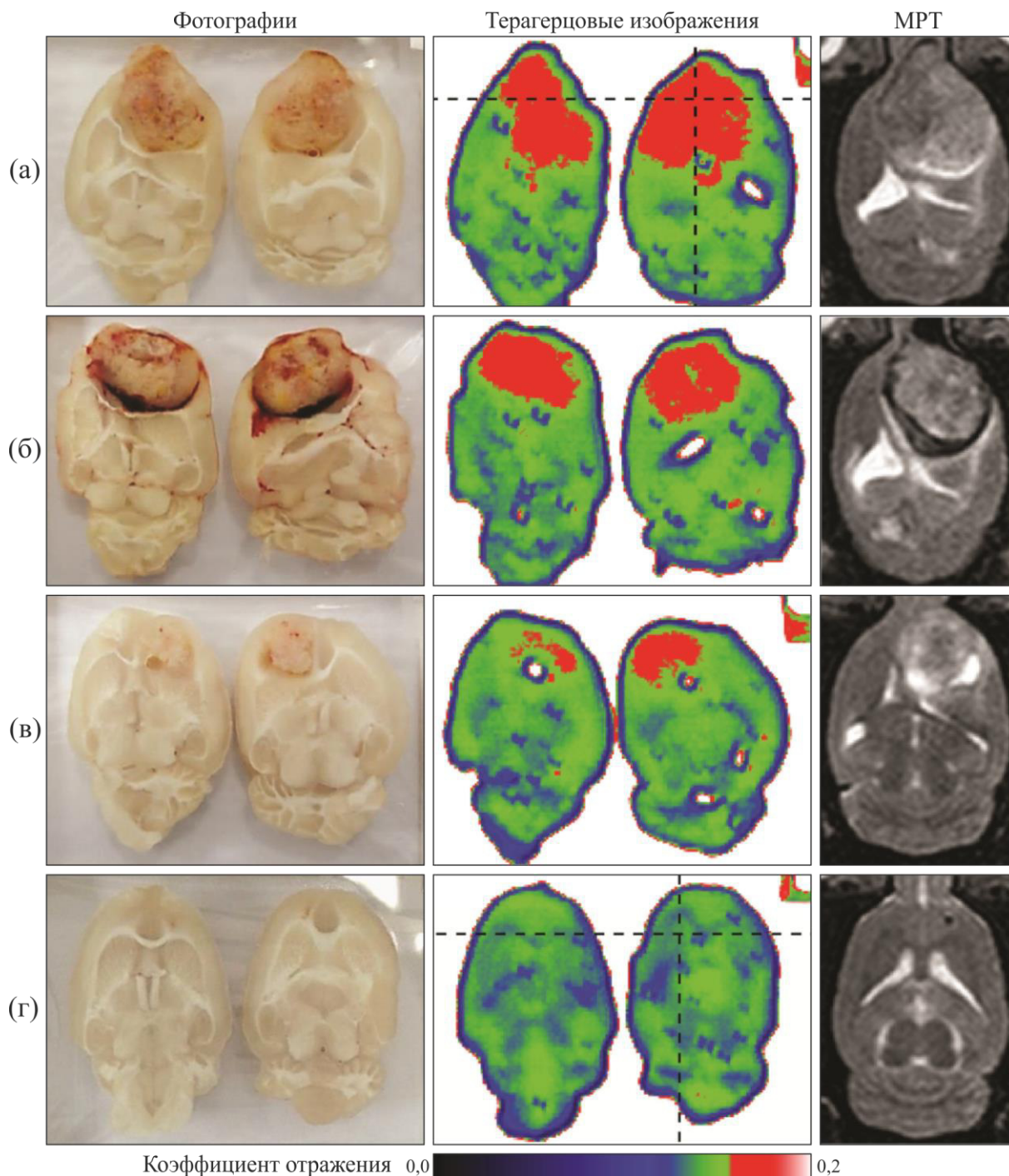


Рис. 1.17. Сравнение видимых, терагерцовых и МРТ изображений свежесеченного головного мозга крысы *ex vivo* (а)–(в) с модельной ортотопической глиомой и (г) без опухоли [322]. Размер ТГц изображений – $4 \times 3 \text{ см}^2$; разрешение – 250 мкм.

Сравнение результатов терагерцовой визуализации свежееисеченных (гидратированных) и парафинизированных (дегидратированных) тканей показало, что наблюдаемый контраст обусловлен повышенным содержанием воды в опухоли из-за ее аномальной микроваскуляризации, отека и наличия областей некроза [538]. Контраст между тканями в значительной степени пропадает после их парафинизации, при этом остаточный контраст связан с различной плотностью тканей. В работе [322] также наблюдался различный терагерцового отклик белого и серого вещества головного мозга, что обусловлено большим содержанием в белом веществе воды (в форме раствора электролита в аксонах) и миелина (он формирует оболочки аксонов). Важно отметить, что различный отклик белого и серого вещества не мешает терагерцовой дифференциации интактных тканей и опухоли.

В работе [534] с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии изучены эффективные оптические характеристик интактных тканей и модели глиомы (клеточная линия GL261) головного мозга мыши *ex vivo* в парафиновых блоках, что позволило выявить оптимальные частоты для дифференциации тканей. В дальнейшем в работах [535–537] был еще раз продемонстрирован потенциал методов терагерцовой спектроскопии, визуализации и рефлектометрии в интраоперационной нейрорадиодиагностике с использованием как моделей глиомы в мозгу мышей и крыс *ex vivo* и *in vivo* (клеточные линии eGFP+GSC, C6 и U87 MG), так и нескольких образцов глиом головного мозга человека *ex vivo*.

В перечисленных работах впервые показана перспективность терагерцовых методов для интраоперационной нейрорадиодиагностики; они способны детектировать границы опухоли на основе эндогенных признаков для обеспечения ее полной резекции [539], являющейся важнейшим прогностическим фактором лечения опухоли [540]. Интраоперационная диагностика опухолей мозга может стать важным социально-значимым приложением терагерцовой техники, поскольку в настоящее время трудно четко очертить границы опухоли во время операции с помощью традиционных инструментов интраоперационной диагностики [541], таких как пред- и интраоперационная МРТ [542,543], экзогенная флуоресцентная спектроскопия и визуализация [544–547], оптическая когерентная томография [61,548,549], спектроскопия и микроскопия комбинационного рассеяния света [550,551], оптическая спектроскопия и визуализация [552–554], оптико-акустические методы [555] и др. В рассмотренных исследованиях изучены только ксенотрансплантатные модели глиом в мозгу животных, в то время как исследования гомографтных моделей и глиом человека до сих пор не проводились. Объективная оценка возможностей терагерцовой техники в диагностике опухолей мозга предполагает изучение глиом

человека, свойства которых могут сильно отличаться от моделей глиом. Этой проблеме посвящена глава 5.

Несмотря на перспективность терагерцовой техники в интраоперационной диагностике новообразований, она еще далека от клинической практики из-за дороговизны, громоздкости и низкой эргономичности терагерцовых спектроскопических и изображающих систем. Например, интеграция терагерцовых методов в современный мультимодальные нейрохирургические инструменты [556] затруднительна отсутствием эндоскопических систем для доставки излучения к труднодоступным тканям. В настоящий момент наиболее реалистичными представляется экспресс исследования иссеченных препаратов в ходе проведения с помощью методов терагерцовой визуализации. Подобные исследования позволят сократить продолжительность хирургического вмешательства и исключить необходимость проведения экспресс гистологии. Они вполне могут быть реализованы при текущем развитии терагерцовой оптоэлектроники.

1.5.1.4 Дополнение патоморфологических исследований

Помимо отмеченных перспективных приложений в неинвазивной, минимально инвазивной и интраоперационной диагностике терагерцовые методы могут помочь в патоморфологических исследованиях иссеченных тканей *ex vivo* [523,557] с целью:

- оконтуривания границ злокачественных новообразований кожи [490], молочной железы [319], головного мозга [69] и др. локализаций при интраоперационной экспресс-гистологии;
- быстрой автоматической дифференциация различных типов тканей (и даже групп клеток) с целью минимизации объема тканей, которые врач-патоморфолог должен исследовать вручную с помощью классических методов патоморфологии [523].

Развитие терагерцовых методов для помощи патоморфологическим исследованиям тканей требует оптимизации процедур фиксации тканей. На Рис. 1.18 показано, что ТГц импульсная визуализация гепатоцеллюлярной карциномы печени *ex vivo* в геометрии «на отражение» позволяет дифференцировать интактные и патологические ткани, при этом контраст существенно зависит от выбранного метода фиксации тканей: парафинизация, погружение в воду или водную эмульсию парафина [523]. Наибольший контраст обеспечивается при фиксации тканей в водной эмульсии парафина.

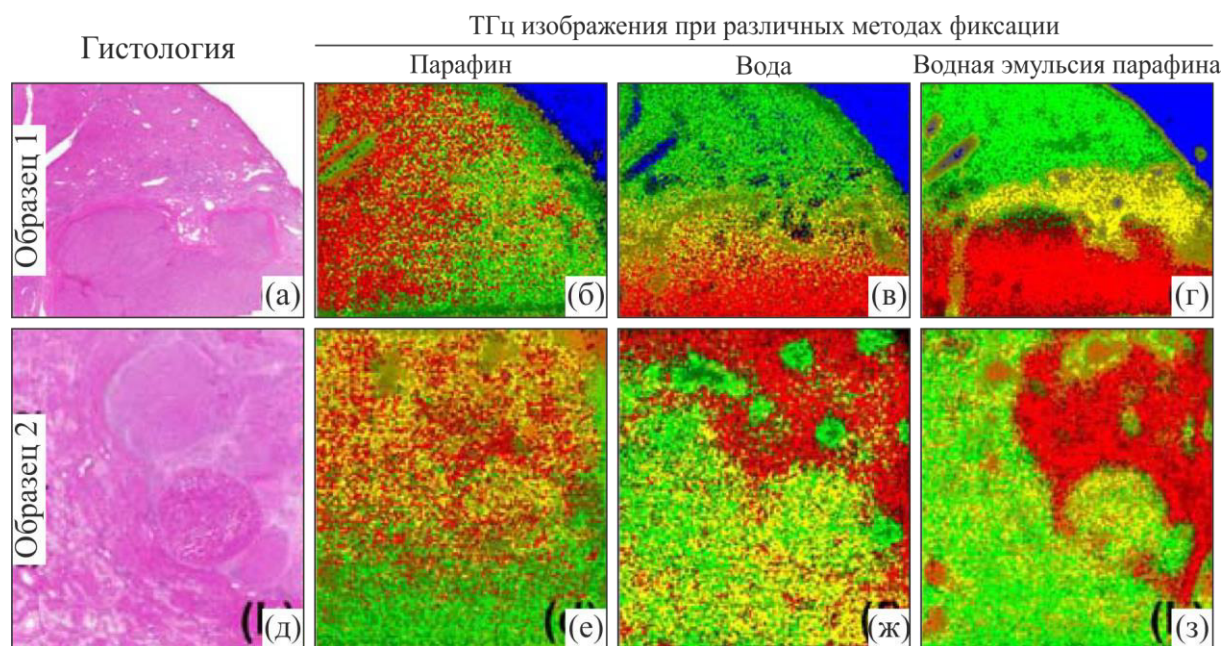


Рис. 1.18. Терагерцовая импульсная визуализация гепатоцеллюлярной карциномы печени *ex vivo* в геометрии «на отражение» [523]: (а)–(г) – гистология Н&Е и терагерцовые изображения образца № 1 при фиксации тканей парафином, водой и водной эмульсией парафина, соответственно; (д)–(з) – схожие данные для образца № 2.

В последнее время рассматривались многочисленные подходы к фиксации тканей для их измерения в терагерцовом диапазоне:

- классическая фиксация формалином или физраствором [558];
- фиксация желатиновыми пленками для предотвращения гидратации / дегидратации тканей и сохранения неизменным содержание в них тканевой воды и, соответственно, их эффективного терагерцового диэлектрического отклика (по сравнению со свежесеченными) [430];
- дегидратация тканей с использованием различных иммерсионных агентов для увеличения глубины проникновения в них терагерцовых волн и выделения не связанных с водой эндогенных маркеров патологии [96,559–561];
- парафинизация для выделения не связанных с водой различий между тканями в норме и при патологии [523,534];
- заморозка для увеличения глубины зондирования тканей терагерцовыми волнами и выявления не связанных с водой маркеров патологии [365,516,562].

Таким образом, методы терагерцовой спектроскопии и визуализации имеют многочисленные перспективные применения в диагностике новообразований, включая

неинвазивную, минимально инвазивную и интраоперационную диагностику, а также дополнение патоморфологических тканей.

1.5.2 Травматические повреждения и жизнеспособность тканей

Изучались перспективы терагерцовой техники в диагностике травматических повреждений головного мозга [13,90,91], сопровождающихся отеком и некрозом тканей [563]. Недавние исследования моделей травматических повреждений различной степени тяжести в мозгу крыс показали возможность детектирования границ повреждения и оценки степени его тяжести с помощью терагерцовой спектроскопии и визуализации [13]. Изучены *ex vivo* свежееисеченные и парафинизированные образцы интактных тканей и травматических повреждений легкой, средней и тяжелой степеней. На Рис. 1.19 (а)–(м) терагерцовые изображения на частоте 2,52 ТГц свежееисеченных интактных тканей мозга крысы и травматических повреждений различной степени сравниваются с данными оптической визуализации и МРТ. На терагерцовых изображениях заметны различия между интактными и травмированными тканями [13]. Наблюдаемый контраст связан с отеком травмированных тканей и, следовательно, повышенным содержанием в них тканевой воды. Таким образом, за наблюдаемый контраст между интактными и травмированными тканями отвечает тот же эндогенный маркер, что и в терагерцовых измерениях опухолей, – тканевая вода.

На Рис. 1.19 (н) показаны результаты терагерцовой спектроскопии *ex vivo* парафинизированных интактных тканей мозга крысы и моделей травматических повреждений. Из терагерцовых спектров поглощения α заметим, что контраст между интактными тканями и травматическими повреждениями сохраняется даже после дегидратации мозга. С увеличением тяжести травматического повреждения терагерцовый коэффициент поглощения α растет в широком спектральном диапазоне. Авторы работы [13] связывают этот эффект со структурными изменениями тканей и повышением их плотности вследствие отека. Для повышения эффективности детектирования границ и оценки степени травматического повреждения мозга на основе терагерцовых применялись методы машинного обучения [90].

Рассматривались применения терагерцовой техники для диагностики других типов повреждения тканей. В работах [564–566] показана возможность применения терагерцовых методов для диагностики ожогов кожи, включая оценку глубину повреждения тканей. В работе [567] показана возможность применения терагерцовой визуализации для исследования кожных шрамов (рубцов), причем терагерцовые методы позволяют

обнаружить невидимые для невооруженного глаза участки рубцовых тканей *in vivo*. Изучена эволюция терагерцовых оптических характеристик *in vivo* тканей рубца (в процессе заживления) и кожи (в течение длительного времени после повреждения).

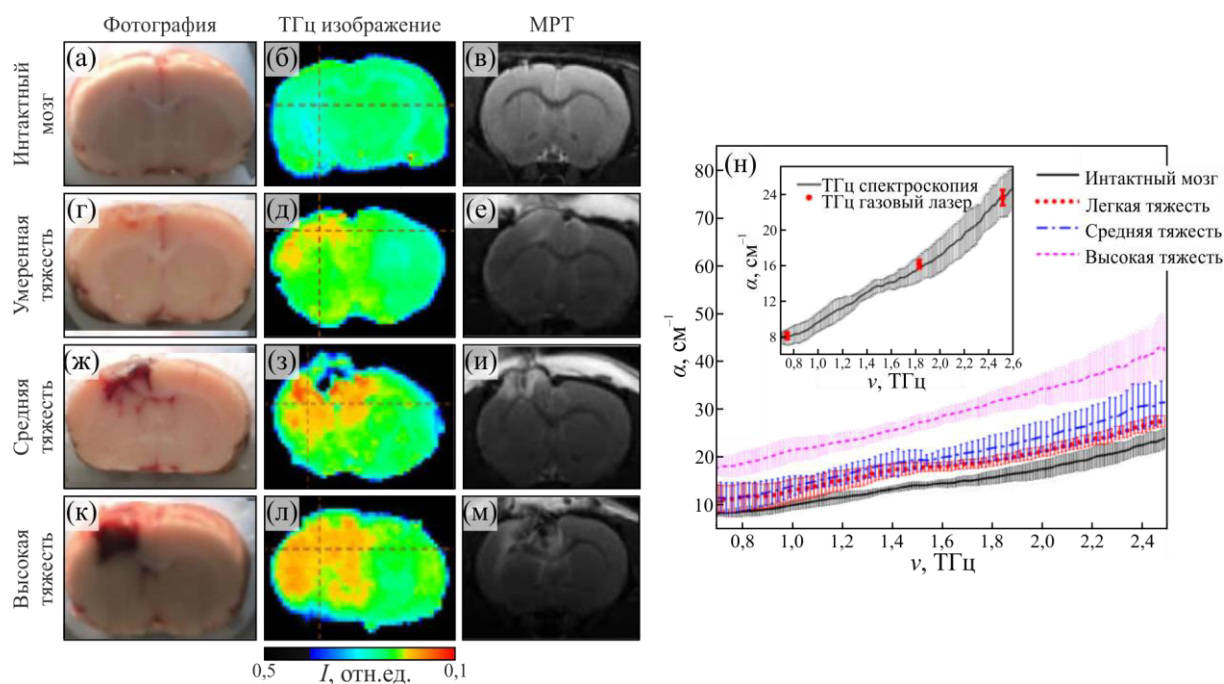


Рис. 1.19. Терагерцовая визуализация и спектроскопия моделей травматических повреждений различной степени тяжести в мозгу крысы *ex vivo* [13]: (а)–(м) – оптическое, терагерцовое (2,52 ТГц) и МРТ изображения, соответственно, интактного мозга крысы и моделей травматических повреждений легкой, средней и тяжелой степеней; (н) – коэффициент поглощения α парафинизированных (дегидратированных) интактных тканей и травматических повреждений.

В работе [14] показана возможность применения терагерцовой спектроскопии и визуализации для диагностики жизнеспособности трансплантированного тканевого лоскута, что является актуальной проблемой реконструктивной пластической хирургии. Наблюдаемые изменения терагерцового отклика трансплантированных тканей во времени и однородности этого отклика по поверхности образца также связаны с изменением содержания и состояния тканевой воды. Нарушение содержания тканевой воды является важнейшим аспектом тканевого ответа на подобные хирургические операции и, следовательно, может быть важным диагностическим признаком для терагерцовой диагностики жизнеспособности трансплантированного лоскута *in vivo*.

1.5.3 Диабет, гликированные ткани и кровь

Благодаря чувствительности терагерцового излучения к состоянию воды, гликированию тканей и крови терагерцовая техника находит свои применения в диагностике диабета [59]. В работе [568] терагерцовая спектроскопия применялась для исследования водных растворов сахаров с последующим анализом степени гидратации молекул сахара. Состояние гидратации тесно связано с количеством и стерической конфигурацией гидроксильных групп в молекулах сахара. Терагерцовый комплексный показатель преломления \tilde{n} несет информацию о наличии в среде неассоциированных молекул воды с пикосекундными временами релаксации, а также о количестве воды, входящей в гидратную оболочку и имеющую более медленные релаксационные процессы (большие релаксационные времена). Степень гидратации растворенных соединений можно оценить на основе анализа параметров моделей комплексной диэлектрической проницаемости растворов при различных концентрациях. Оцененное с помощью терагерцовой спектроскопии число гидратации N_{hyd} (число молекул воды, ассоциированных с одной молекулой сахара) коррелирует с числом гидроксильных групп молекулы сахара, при этом оно обратно пропорционально концентрации раствора. В работе [569] показано, что амплитуда медленной Дебаевской релаксации $\Delta\epsilon_1$ (выражение (1.3)) насыщенного водного раствора глюкозы снижается на $\approx 50\%$ по сравнению с чистой водой. В работах [570,571] показано, что ≈ 50 молекул воды участвуют в гидратации одной молекулы глюкозы, причем ≈ 10 из них входят в первую гидратную оболочку, а оставшиеся ≈ 40 формируют слой слабо связанной воды.

В работе [334] концентрацию глюкозы в модельных растворах измеряли на частотах $> 0,1$ ТГц методами ИК фурье спектроскопии и терагерцовой импульсной спектроскопии. Зачастую для приготовления модельных растворов используются деионизированную воду, D-глюкозу и бычий сывороточный альбумин. D-глюкоза является основным сахаром в организме человека, а альбумин – наиболее распространенный белок в плазме крови, контролирующий осмотическое давление и переносящий питательные вещества. Рефлектометрия на суб-терагерцовых частотах (0,06 ТГц) использовалась для измерения спектров отражения водных растворов глюкозы и альбумина, а также оценки влияния альбумина на изменения концентрации глюкозы в смеси. В качестве источников ТГц излучения авторы использовали диод Ганна и туннельный диод; в качестве приемника – диод Шоттки. Показано, что коэффициент отражения снижается пропорционально

концентрации глюкозы, причем изменение концентрации глюкозы всего в 0,05 % (по массе) можно без труда определять даже в присутствии альбумина.

В работе [572] показано, что амплитуда первого члена Дебая $\Delta\varepsilon_1$ (выражение (1.3)) для водного раствора бычьего сывороточного альбумина и фруктозы, на ранних стадиях инкубации составляла 88% от его амплитуды в чистой воде. Это свидетельствует о том, что 12% воды было связано либо с фруктозой, либо с альбумином. В то же время $\Delta\varepsilon_1$ выросла до 92% после 96 ч инкубации. Инкубация бычьего сывороточного альбумина с фруктозой сопровождается образованием ковалентных связей между карбонильными группами сахара и аминок группами белка [573], уменьшая долю молекул фруктозы с ассоциированными молекулами воды. Другими словами, количество свободных молекул воды увеличивается после инкубации бычьего сывороточного альбумина с фруктозой. В результате увеличивается мнимая диэлектрическая проницаемость ε'' $\tilde{\varepsilon}$, что приводит к снижению пропускания терагерцового излучения кюветой с раствором спустя 96 ч инкубации [572].

В работе [574] терагерцовая спектроскопия применялась для изучения гликирования человеческого сывороточного альбумина в течение 5, 7 и 11 недель. Разные сахара проявляют разную реакционную способность, поэтому авторы работы провели гликирование человеческого сывороточного альбумина *in vitro*, инкубируя его с глюкозой или фруктозой. Так как протонирование влияет на восприимчивость белков к гликированию, автор инкубировал человеческий сывороточный альбумин с сахарами при значениях pH 7 и 8. Поглощение терагерцового излучения уменьшалось со временем инкубации человеческого сывороточного альбумина сахарами, причем наиболее выраженные изменения наблюдались для фруктозы. Гликирование в присутствии глюкозы происходило с меньшей скоростью при pH 7, чем при pH 8. Наоборот, гликирование фруктозой происходило несколько быстрее при pH 7, чем при pH 8. Таким образом, терагерцовая спектроскопия может применяться для контроля процессов гликирования, будучи чувствительной к типу сахара и уровню pH.

В работе [575] проводилась терагерцовая импульсная спектроскопия плазмы крови крыс. Установлено, что терагерцовый коэффициент поглощения α плазмы крови с экспериментальным диабетом и водных растворов глюкозы ниже коэффициентов поглощения плазмы крови контрольных животных и чистой воды. Коэффициент поглощения водного раствора глюкозы ниже, чем у плазмы крови диабетических крыс. В растворах глюкозы и плазме крови молекулы воды (с высоким терагерцовым поглощением) замещаются глюкозой (с меньшим терагерцовым поглощением). В то же время известно, что в крови больных сахарным диабетом и диабетической нефропатией содержится

значительно большее количество гликированного гемоглобина, пептидов, молекул адгезии и хемокинов.

В работе [576] терагерцовая импульсная спектроскопия применялась для трехлетних исследование крови 70 пациентов с диабетом. Многие компоненты крови, такие как триглицериды, эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, белки (включая альбумин и глобулин), ионы (включая Na^+ , Ca^{2+} и K^+), липиды и др., влияют на ее коэффициент поглощения α в терагерцовом диапазоне [236]. Применяв корреляционный анализ Пирсона, авторы продемонстрировали, что терагерцовый коэффициент поглощения крови сильно коррелирует с уровнем глюкозы. Наблюдаемая линейная зависимость между концентрацией глюкозы в крови C и коэффициентом поглощения α имеет вид $C = 0,55 + 0,99\alpha$.

В работе [321] рассматривалась проблема подготовки образцов плазмы венозной крови больных сахарным диабетом второго типа и недиабетиков в лиофилизированной форме (в форме дегидратированных таблеток) для их хранения и последующих спектроскопических исследований в терагерцовом диапазоне. Подобный подход позволяет не только сохранить образцы в течение длительного времени, но и минимизировать влияние воды на результаты терагерцовых измерений. Анализ терагерцовых спектров лиофилизированных образцов (в форме таблеток) показал возможность дифференциации диабетической и интактной плазмы крови. В диапазоне 0,2–1,4 ТГц нормированный показатель преломления n диабетических образцов на 9–12% превышает аналогичный показатель для недиабетических. Недиабетическая и диабетическая группы разделяются в пространстве главных компонент, построенном на базе терагерцовых данных. Рассмотренные работы показывают, что методы терагерцовой спектроскопии могут найти свои приложения в инвазивной диагностике *ex vivo* плазмы крови с целью выявления диабета второго типа и анализа степени гликирования крови.

В то же время терагерцовые методы применялись для неинвазивной диагностики диабета *in vivo* без забора крови. В работах [89,577] с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии в диапазоне 0,1–2,0 ТГц изучены *in vivo* спектры отражения кожи крысы (после внутривенного введения 1 мл 40% раствора глюкозы) и человека (после перорального введения 200 мл раствора глюкозы). Амплитуда и фаза ТГц сигнала, отраженного от кожи ладони после введения глюкозы изменялись, причем фазовые изменения были более выраженными. Изменения эффективных терагерцовых оптических характеристик кожи коррелировали с изменениями уровня глюкозы в крови. Наибольшие изменения оптических характеристик наблюдались в диапазоне 0,1–0,5 ТГц. Результаты этой работы свидетельствуют о возможности неинвазивной диагностики диабета путем

анализа эволюции эффективных терагерцовых оптических характеристик кожи в динамике после введения в организм глюкозы.

Изучалась возможность терагерцовой диагностики диабетической стопы [12,578]. Чувствительность терагерцового излучение к тканевой воде делает терагерцовые методы эффективными для диагностики обезвоживания кожи стоп в результате патологии периферических сосудов у больных сахарным диабетом. Большинство язв стопы у больных сахарным диабетом возникают на подошве, большом пальце, пятке, а также в плюсневой области, поэтому требуется терагерцовая визуализация всей подошвы стопы в диагностических целях.

В работе [12] предложен новый подход к оценке состояния стоп у больных сахарным диабетом с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии и визуализации. На Рис. 1.20 (а) показана платформа для терагерцовой визуализации стопы с двумя встроенными полиэтиленовыми окнами для ног пациента. Терагерцовая импульсная изображающая система установлена под платформой для растрового сканирования поверхности стопы сфокусированным терагерцовым пучком и регистрации отраженного излучения с последующим построением параметрического изображения. На Рис. 1.20 (б) наблюдаются значительные различия в терагерцовых изображениях здоровой и диабетической стоп, отражающих содержание тканевой воды. Таким образом, терагерцовые методы могут применяться для неинвазивного выявления *in vivo* ранних стадий патологии стопы у пациентов с диабетом.

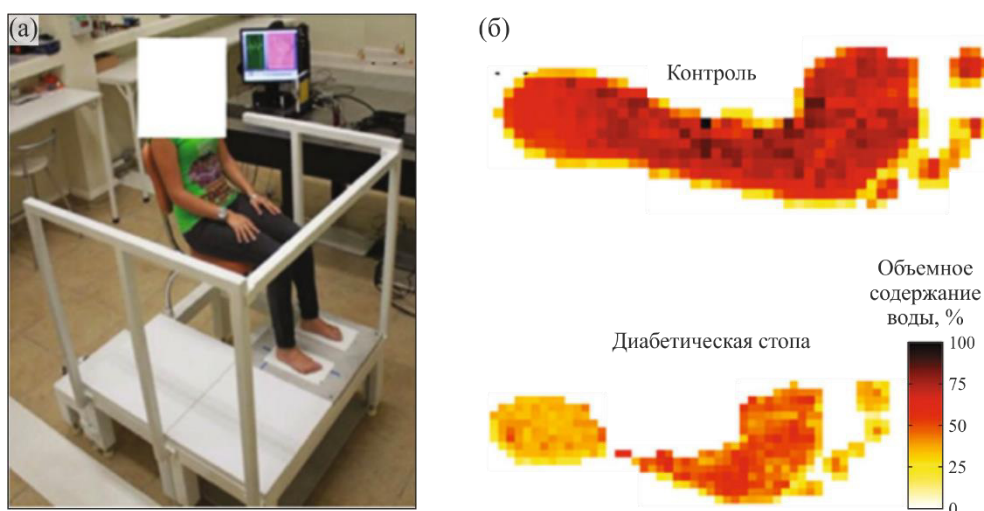


Рис. 1.20. Диагностика диабетической стопы с помощью терагерцовой импульсной визуализации [12]: (а) – экспериментальная установка; (б) – терагерцовые параметрические изображения, иллюстрирующее распределение содержания тканевой воды в здоровой (сверху) и диабетической (снизу) стопах.

1.5.4 Гидратация роговицы и склеры глаза

Терагерцовые методы находят приложения в офтальмологии благодаря возможности неинвазивных исследований гидратации роговицы и склеры глаза [16,94,579–583]. Это позволяет решать широкий спектр проблем диагностики болезней глаза, являющихся одной из важных проблем здравоохранения.

Например, синдром сухого глаза (ксероз роговицы и конъюнктивы) является комплексным заболеванием, широко распространенным во всем мире и ставшим одной из основных проблем современной офтальмологической патологии [16]. В основе прогрессирования синдрома сухого глаза лежит дисфункция прекорнеальной слезной пленки, оценка которой является важнейшей задачей в диагностике этого заболевания. В клинической практике наиболее распространенным методом определения стабильности слезной пленки является тест Норна [584]. Болезнь конъюнктивы, развивающаяся в результате гиполакрии, обычно проявляется разрывом слезной пленки при эпителиопатии роговицы. К неинвазивным методам исследования стабильности слезной пленки относится тиоскопия [585]. Метод позволяет оценить несколько параметров: стабильность слезной пленки, толщину липидного слоя слезной пленки, качество исходного слоя при ношении контактных линз. Конфокальная микроскопия расширяет возможности изучения анатомии роговицы на уровне ее микроструктуры [586]. Метод позволяет в режиме реального времени изучать каждый слой роговицы и выявлять изменения ее структуры. При синдроме сухого глаза основные изменения затрагивают эпителиальный слой роговицы в виде отека и полиморфизма клеток.

Впервые перспективы применения терагерцовой техники в диагностике гидратации роговицы изучались в работе [579]. Терагерцовая импульсная спектроскопия и визуализация в геометрии «на отражение» применялись *ex vivo* для исследования роговицы свиньи, в которой обеспечивалась однородная концентрация воды за счет выдерживания роговицы в водном растворе полиэтиленгликоля. Результаты исследований показали, что при изменении концентрации воды в диапазоне 79,1–91,5% (по массе) коэффициент отражения терагерцового излучения тканями растет монотонно и почти линейно. Подобная зависимость отражения излучения тканью в полной мере описывается моделью Бруггемана. Авторы работы также отметили, что наряду с диагностикой синдрома сухого глаза терагерцовые измерения содержания воды в роговице могут быть полезны для диагностики отторжения трансплантата в рефракционной хирургии [16].

Терагерцовая импульсная спектроскопия и визуализация применялись для изучения гидратации ткани роговицы *in vivo* [587]. С помощью терагерцовой импульсной спектроскопии и рефлектометрии в миллиметровом диапазоне изучалась роговица кролика, легкая дегидратация которой обеспечивалась с помощью слабого потока воздуха. Во время терагерцовых измерений образец фиксировался позади опорного окна из майлара. Показано, что коэффициент отражения миллиметрового и терагерцового излучения роговицей коррелирует с ее толщиной и уровнем гидратации. В работе [588] предложен метод измерения роговицы, исключаящий из оптической схемы опорное окно и позволяющий получить распределение коэффициента отражения роговицы за счет ее растрового сканирования сфокусированным терагерцовым пучком при нормальном падении; в этой схеме источник, детектор и объект остаются неподвижными. Такая схема может использоваться для бесконтактной терагерцовой спектроскопии и визуализации роговицы животных и человека *in vivo*, приближая терагерцовые методы к клинической офтальмологии. В то же время подобная терагерцовая визуализация роговицы до сих пор занимает очень продолжительное время – десятки минут. За это время гидратация, геометрия и положение роговицы могут колебаться в значительных пределах [589].

Наконец, в работе [581] показана возможность терагерцовой диагностики повреждения эндотелиального слоя роговицы, вызванного повышенным внутриглазным давлением и приводящего к нарушения гидратации роговицы. Предложен подход к оценке внутриглазного давления за счет картирования содержания воды в роговице кролика и свиньи *ex vivo* с помощью импульсной спектроскопии и визуализации. Показано значительное повышение коэффициента отражения роговицы в диапазоне 0,4–0,6 ТГц при повышении внутриглазного давления. Очевидно, что терагерцовые методы способны решить широкий спектр диагностических проблем офтальмологии.

1.6 Современные проблемы терагерцовой оптики и биофотоники

Несмотря на привлекательность терагерцовой техники для разных областей биофотоники и медицинской диагностики, масса проблем ограничивает ее применение в клинической практике. Среди них отметим следующие [11].

- В видимом и ИК диапазонах исследования и анализ оптических свойств тканей ведутся с середины XX в. [265,590]. По сравнению с ними терагерцовая биофотоника остается новым направлением научных исследований, в котором с конца XX в. накоплено значительно меньше данных о взаимодействии терагерцового излучения с тканями [11,15,16,66]. Дальнейшее изучение эффективных терагерцовых

оптических свойств тканей (в норме и при патологии), анализ физических эффектов, лежащих в основе этих оптических свойств, изучение эффектов рассеяния Ми при взаимодействии терагерцовых волн с гетерогенными тканями и построение теории переноса терагерцового излучения (п. 1.3.3) необходимы для развития терагерцовой биофотоники и объективного анализа применимости терагерцовой техники в медицинской диагностике и терапии. Сюда же отнесем проблему установления безопасных диагностических порогов терагерцового воздействия (п. 1.3.4) [15].

- Дифракционно-ограниченное пространственное разрешение большинства терагерцовых спектроскопических и изображающих систем, построенных на базе классической линзовой и/или зеркальной оптики, ограничивает возможности терагерцовой техники в биологии и медицине [1,11,15–17]. Низкое разрешение затрудняет измерение мезомасштабных и субволновых неоднородностей тканей (Рис. 1.5), снижает точность детектирования границ патологии (например, границ рака кожи (Рис. 1.10–1.12), слизистой (Рис. 1.13) и кишечника (Рис. 1.14 и 1.15), опухолей молочной железы (Рис. 1.16) или головного мозга (Рис. 1.17), а также делает невозможным измерение патологий малых размеров, к которым можно отнести меланомы и диспластические невусы. Преодоление дифракционного предела пространственного разрешения представляется крайне актуальной проблемой современной терагерцовой оптики и биофотоники.
- Терагерцовая элементная база и инструменты остаются редкими, громоздкими и дорогостоящими [1,82,84]. Требуется дальнейшее развитие терагерцовой техники, усилие исследователей и инженеров для создания недорогих, портативных, эргономичных и эффективных терагерцовых комплектов и систем. Особо отметим потребность в создании новых терагерцовых оптических материалов и технологий получения элементов открытой оптики [23,24,591], волноводов, одиночных волокон, волоконных жгутов и эндоскопических систем [47,49,85,86]. Отсутствие коммерчески доступных терагерцовых волноводов и волокон затрудняет измерения труднодоступных тканей и внутренних органов. Подавляющее большинство терагерцовых изображающих систем основаны на растровом (поточечном) сканировании поверхности образца сфокусированным пучком излучения, причем зачастую именно образец перемещается относительно изображающей системы. Подобное механическое сканирование в сочетании с инерционностью терагерцовых детекторов приводит к низкому быстродействию терагерцового оборудования. Многоэлементных терагерцовых детекторов (линеек и

матриц) практически не существует, а их разработка – важнейшая проблема терагерцовой техники [185].

- Глубина проникновения терагерцового излучения в гидратированные ткани *in vivo* или свежесеченные ткани *ex vivo* варьируется от десятков до сотен микрометров в зависимости от частоты излучения и типа ткани (Рис. 1.8). Повышение глубины проникновения значительно расширило бы возможности терагерцовых методов в диагностике приповерхностных слоев и многослойных структур, например, кожи и роговицы (Рис. 1.21). Для этого могут применяться *ex vivo* и *in vivo* методы иммерсионного и компрессионного оптического просветления тканей [592], широко используемые в видимом и ближнем ИК диапазонах [590]. Тем не менее возможности этих методов в решении современных проблем терагерцовой биофотоники остаются слабоизученными [11,15,16].
- Наконец, как и для других методов спектроскопии и визуализации на основе эндогенных маркеров, для терагерцовых методов характерна существенная вариабельность измеряемых характеристик, связанная с естественными флуктуациями структуры и свойств тканей в норме и при патологии [11,16]. Для дальнейшего повышения эффективности неинвазивной диагностики на основе эндогенных маркеров представляется актуальной комбинация терагерцовых методов с другими существующими или только появляющимися подходами [376]. Хотя неинвазивность и естественная природа наблюдаемых контрастов являются основными преимуществами методов терагерцовой спектроскопии и визуализации тканей, альтернативным подходом к повышению их эффективности может стать применение экзогенных маркеров, включая наночастицы [593,594].

1.6.1 Терагерцовые оптические материалы

Существенной проблемой терагерцовой техники является ограниченная номенклатура оптических материалов открытой, волноводной и волоконной оптики [23,24,49]. Для традиционных оптических материалов видимого и ИК диапазонов (стекла, большинство полимеров и кристаллов) характерны высокие потери и дисперсия в области терагерцовых частот. Это не позволяет изготавливать из них элементы открытой, волноводной и волоконной оптики. Например, плавленый кварц имеет коэффициент поглощения $2,0 \text{ см}^{-1}$ (по мощности) на частоте 1,0 ТГц, что значительно выше по сравнению с кристаллическим кварцем [595]. Ограниченный спектр терагерцовых

оптических материалов сужает возможности синтеза и оптимизации оптических систем. Существующие терагерцовые оптические материалы можно разделить на три класса [23]:

- полимеры,
- кристаллические материалы,
- композиционные среды.

Полимерные материалы [596,597], например: полиэтилен высокой плотности (high-density polyethylene – HDPE), полиэтилен низкой плотности (low-density polyethylene – LDPE), полиметилметакрилат (polymethyl-methacrylate – PMMA), политетрафторэтилен, полиметилпентен (polymethylpentene – PMP или TPX), политетрафторэтилен (ПТФЭ, polytetrafluoroethylene – PTFE или Teflon), майлар, циклоолефиновый сополимер (cyclic olefin copolymer – СОС или Zeonex), легко обрабатывать механически, формовать с применением методов вакуумного молдинга или трехмерной печати. Эти материалы являются весьма технологичными и позволяют получать элементы открытой оптики и волноводы сложной геометрии, включая микроструктурированные [598]. Тем не менее для большинства полимеров характерен низкий показатель преломления ($n \leq 2$), а их дисперсия и поглощение в терагерцовом диапазоне остаются весьма высокими, ограничивая толщину полимерных терагерцовых оптических элементов несколькими сантиметрами. Полимерные терагерцовые оптические материалы характеризуются малой механической прочностью, умеренной химической инертностью, низкой термической и радиационной стойкостью.

Кристаллические материалы [599], например: высокорезистивный кремний (high-resistivity float-zone silicon – HRFZ-Si), кристаллический кварц [595], сапфир ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) [595] и поликристаллический алмаз [600,601], применяются для изготовления преимущественно объемных терагерцовых оптических элементов простой формы. Эти материалы обладают высоким показателем преломления, малыми потерями и дисперсией в терагерцовом диапазоне. HRFZ-Si и алмаз прозрачны в широком спектральном диапазоне, охватывающем гигагерцовую, терагерцовую и ИК области, что позволяет использовать их в мультиспектральных приложениях [29]. В то же время кристаллические среды сложно обрабатывать механически из-за высокой твердости и (в некоторых случаях) анизотропии механических и оптических свойств. Затруднительно также изготовить из них элементы волноводной и волоконной оптики.

В настоящее время все большее внимание уделяется терагерцовым оптическим материалам на базе различных композиционных сред, оптические свойства которых можно регулировать в широких пределах (получать наперед заданные свойства) за счет изменения

химического состава, структуры и пористости материала в субволновом масштабе на стадии его синтеза. Рассмотрим несколько примеров.

- Многокомпонентные системы (полимерно-керамические [602] и полимерно-деревянные [603] композиты, наполненные кристаллическими частицами полимеры [604], смеси различных полимеров [605], системы полимер-МХене [606] и др.) позволяют управлять (на стадии синтеза) терагерцовыми оптическими свойствами результирующего композиционного материала. Гетерогенность таких материалов ведет к дополнительной экстинкции терагерцового излучения вследствие рассеяния.
- Пористые материалы с характерным размером пор значительно меньше длины волны, контролируемой объемной долей пор и наперед заданными (на стадии синтеза) терагерцовыми оптическими свойствами [23,24,607–609], для которых также характерны дополнительные потери из-за рассеяния терагерцовых волн.
- Метаматериалы / метаповерхности на основе металлических микроструктур (массивов субволновых металлических элементов сложной геометрии), которые могут быть расположены в свободном пространстве или сформированы на диэлектрической подложке [45,46,609].
- Оптические и оптико-электронные элементы, построенные на базе аллотропных модификаций углерода (алмазных и графитовых пленок, разупорядоченных и упорядоченных нанотрубок, графена и его модификации) и других одно- и двумерных полупроводников, зачастую имеющие планарную геометрию [290,294,610–614].

Перечисленные материалы характеризуются наперед заданным (на стадии синтеза) или управляемым (в процессе эксплуатации) терагерцовым электродинамическим откликом. Такие материалы остаются достаточно дорогими в разработке и изготовлении и характеризуются высокими потерями мощности терагерцового пучка, оставаясь объектами лабораторных исследований. Терагерцовые оптические элементы на основе некоторых из перечисленных материалов показаны на Рис. 1.21.

В последние десятилетия особое внимание уделяется созданию жестких волноводов и гибких волокон для терагерцового диапазона на основе различных материалов и физических принципов функционирования (принципов локализации и передачи волноводной моды); см. таблицу 1.3 [49,85,86]. Среди всех разработок выделим следующие.

- Волноводы на основе полых металлических трубок [615,616] и планарные металлические волноводы (таблица 1.3, № 1) [617], в которых терагерцовое излучение передается за счет отражения от металлических стенок.
- Диэлектрические волокна, характеризующиеся ступенчатым профилем показателя преломления в сечении, сплошной или пористой сердцевиной (таблица 1.3, №№ 2,

3), более высоким показателем преломления сердцевины (по сравнению с диэлектрической оболочкой / воздухом) и работающие на основе эффекта ПВО на границе «сердцевина – оболочка» [618,619].

- Полые антирезонансные (anti-resonant reflecting optical waveguide – ARROW) волноводы на базе однослойных и многослойных диэлектрических трубок (таблица 1.3, №№ 4, 5, 11) [53,620,621] или трубок с микроструктурированной оболочкой (таблица 1.3, № 6, 10) [51,598,622,623].
- Полые фотонно-кристаллические (ФК) волноводы с микроструктурированной периодической оболочкой, слоистой изотропной (таблица 1.3, № 7) или микроструктурированной (таблица 1.3, № 12) [52,624,625].
- Плазмонные волноводы на основе одиночных металлических проволок / лент или их массивов (таблица 1.3, № 8) [626,627], включая проволочные среды для терагерцовой визуализации субволнового разрешения [609,628,629].

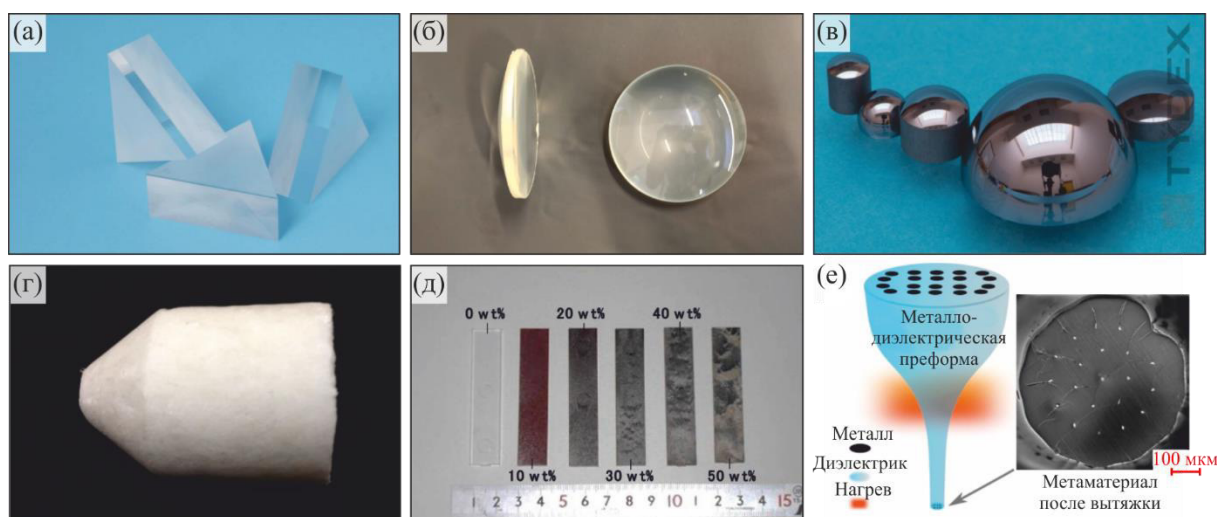
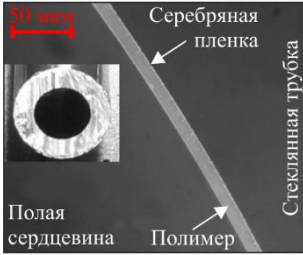
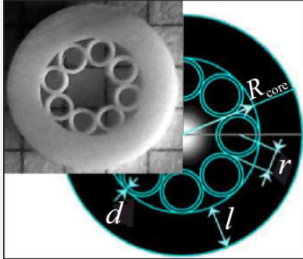
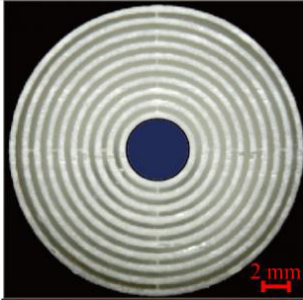

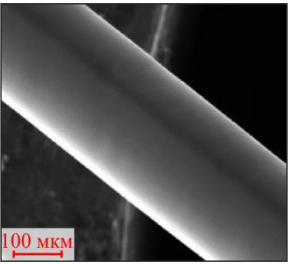

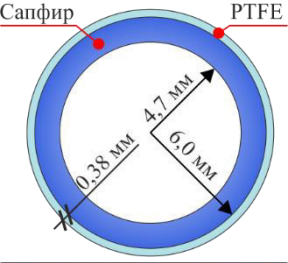



Рис. 1.21. Примеры современных терагерцовых оптических материалов: (а) – призмы из Zeonex; (б) – линзы из TPX; (в)– линзы из HRFZ-Si; (г) – пористая шелковая пена [607]; (д) – композитные среды на базе дерева и пластика [603]; (е) – схема получения и микроскопия торца проволочной среды в полимерной матрице [609].

Таблица 1.3. Терагерцовые волноводы на базе различных материалов и физических принципов функционирования.

№	Тип	Структура	Частоты ν , ТГц	Потери α , см ⁻¹	Материал	Размеры	Комментарий	Ист.
1	Планарный металлический волновод		0,1–4,0	$< 0,1$ вблизи 0,4, 1,4 и 2,8 ТГц; $> 0,2$ вблизи 4,0 ТГц	Медь	Зазор между пластинами – 108 мкм; длина – 24,4 мм	Волноводный механизм – отражение от поверхности металла	[630]
2	Волокно со ступенчатым профилем сечения и пористой градиентной сердцевиной		0,2–1,5	Растет с частотой от 0,025 до 0,150	LDPE	Внешний диаметр – $D = 1,35$ мм; длина – $L = 20$ см; пористая сердцевина	Волноводный механизм – ПВО от внешней границы; одномодовый режим ниже $< 0,35$ ТГц; дисперсия $< 1,0$ пс/ТГц/см	[631]
3	Волновод со ступенчатым профилем сечения и пористой сердцевиной		0,2–0,4	$0,035 + 3,1\nu^2$ [ТГц ²]	Шелковая пена	Внешний диаметр – $D = 5$ мм; длина – $L = 20$ см	Волноводный механизм – ПВО от внешней границы; пористость – 94%; дисперсия – 10 пс/ТГц/см	[607]
4	Полая полимерная трубка		0,3–1,0	0,05–0,50	PMMA	Внешний диаметр – $D_{OUT} = 4$ мм; внутренний диаметр – $D_{INN} = 2,95$ мм	Волноводный механизм – ARROW; дисперсия – < 10 пс/ТГц/см; сильно поглощающая оболочка	[632]

№	Тип	Структура	Частоты ν , ТГц	Потери α , см ⁻¹	Материал	Размеры	Комментарий	Ист.
5	Полая стеклянная трубка с внутренними металлическим и диэлектрическим покрытиями		2,5	0,0011	Полая трубка из кварцевого стекла; покрытие из серебра и полимера	Внутренний диаметр трубки – $D = 2,2$ мм; толщина полимера – 8,2 мкм; толщина металла – 1 мкм	Волноводный механизм – ARROW	[633]
6	Револьверный полимерные волновод		0,5–2,5	0,017 на частоте 2,1 ТГц	Полипропилен (PP – polypropylene)	$d = 0,06$ мм, $r = 0,4$ мм, $l = 0,79$ мм, $D_{OUT} = 1,3$ мм, $D_{CORE} = 4,45$ мм	Волноводный механизм – ARROW; дисперсия – < 1 пс/ТГц/см; 3 окна прозрачности около: 0,7, 1,4 и 2,1 ТГц	[622]
7	Полый фотонно кристаллический (брэгговский) полимерный слоистый волновод		0,1–0,3	0,12 на частоте 0,18 ТГц	Полимер для трехмерной печати (Plas Clear, Asiga)	Диаметр сердцевин – $D=4,5$ мм; слой полимера – 512 мкм; слой воздуха – 512 мкм; 10 слоев полимера	Волноводный механизм – ФК / дифракция Брэгга	[625]
8	Плазмонный волновод на основе двух проводов		0,03–0,50	$< 0,03$	Коммерческий коаксиальный телевизионный кабель	Диаметр жил – $D = 0,3$ мм; зазор – 5 мм; длина волновода – $L = 24$ см	Волноводный механизм – плазмонный	[627]

№	Тип	Структура	Частоты ν , ТГц	Потери α , см ⁻¹	Материал	Размеры	Комментарий	Ист.
9	Сапфировое волокно		0,25–2,5	> 0,1 (растут с частотой)	Сапфир (α -Al ₂ O ₃)	Диаметр – 300 мкм	Волноводный механизм – ПВО; высокий показатель сильная локализация волноводной моды в сердцевине	[54]
10	Сапфировый волновод револьверного типа		1,0–1,55	0,002 на 1,45 ТГц	Сапфир (α -Al ₂ O ₃)	Внешний диаметр – 12,0 мм; диаметр сердцевины – 2,5 мм	Волноводный механизм – ARROW	[51]
11	Сапфировый волновод на базе трубки с полимерным покрытием		0,4–1,5	> 0,01	Сапфир (α -Al ₂ O ₃) и PTFE	Внешний диаметр – 6,76 мм; диаметр сердцевины – 4,7 мм	Волноводный механизм – ARROW	[53]
12	Сапфировый волновод с многоканальной оболочкой		0,2–1,2	0,001 на 1,2 ТГц	Сапфир (α -Al ₂ O ₃)	Внешний диаметр – 24,0 мм; диаметр сердцевины – 7,15 мм	Волноводный механизм – ФК / дифракция Брэгга	[52]

Полые металлические волноводы легки в производстве и обладают малыми потерями. В то же время для них характерна высокая дисперсия. Они используются в таких специфических приложениях, как вывод излучения монохроматического терагерцового источника [2] и его доставка к объекту исследования или детектору (на небольшом расстоянии), включая возможность работы в криогенной камере [615,628].

Если требуются малые размеры поперечного сечения волновода, то можно применять диэлектрические терагерцовые волокна со ступенчатым профилем показателем преломления в сечении. Для них характерна малая площадь волноводных мод, локализованных преимущественно в сердцевине волокна, и, следовательно, малый диаметр волокна. В то же время локализация моды в сердцевине ведет к сильному взаимодействию терагерцового излучения с материалом сердцевины и, как следствие, к повышенной дисперсии и потерям терагерцового излучения.

Плазмонные волноводы обеспечивают наибольшую локализацию мод вблизи металлических проводов и лент. Для них характерны проблемы фиксации волновода в пространстве и его взаимодействия с окружающими объектами, так как любое внешнее воздействие может привести к декаплингу излучения из волновода в окружающее пространство. В работах [634,635] проблемы с фиксацией плазмонных волноводов решались за счет помещения плазмонных структур в оболочку из пористого диэлектрика, защищающего плазмонные моды от декаплинга. В то же время плазмонным волноводам с диэлектрической оболочкой присущи высокая дисперсия и потери терагерцового излучения, так как моды локализованы в диэлектрике с его конечными материальными дисперсией и поглощением.

Полые волноводы типа ARROW и ФК обычно изготавливаются из полимеров и демонстрируют высокие оптические характеристики – малую дисперсию и низкие потери (≥ 1 дБ/м) в широком спектральном диапазоне [11,636,637]. Подобные микроструктурированные волноводы могут быть изготовлены из полимеров различными методами, включая вытяжку из преформы (були) [637], трехмерной печати [638], экструзии [639] или последовательным нанесением различных полимерных слоев [640]. Тем не менее ARROW и ФК волноводы имеют большую площадь моды и толстую микроструктурированную оболочку. Это увеличивает диаметр волновода и затрудняет его эндоскопические применения.

Большинство перечисленных терагерцовых волноводов изготавливаются из полимеров, металлов или полимерно-металлических конструкций, для которых характерны ограниченные механическая прочность, химическая инертность, биосовместимость, термическая и радиационная стойкость. Это сдерживает применение подобных волноводов

в работах с агрессивными внешними средами, включая биологические ткани и жидкости. Отмеченные недостатки свидетельствуют о необходимости разработки новых материалов и технологий получения элементов терагерцовой волоконной и волноводной оптики.

Новый подход к созданию терагерцовых волокон и волноводов предложен и систематически изучен научной группой автора диссертации в сотрудничестве с коллективом Лаборатории профилированных кристаллов ИФТТ РАН (Черноголовка, Россия). Рассмотрена возможность создания элементов терагерцовой волоконной и волноводной оптики на базе профилированных кристаллов сапфира ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), полученных по методу edge-defined film-fed growth (EFG) или методу Степанова [47,49,641–646]. Он позволяет получать профилированные кристаллы сапфира большой длины (десятки сантиметров и даже метры) со сложной геометрией сечения (постоянной или варьируемой по длине), высоким (оптическим) качеством (в объеме и на поверхности) непосредственно из мениска, сформированного расплавом Al_2O_3 на поверхности молибденового формообразователя. Важно, что этот метод не требует сложной и дорогостоящей механической обработки кристалла (сверление, скругление, шлифование, полирование и др.). Он обеспечивает характерный размер структурного элемента сечения профилированного кристалла (толщина мембраны или размер отверстия / капилляра) до ≥ 100 мкм. Сочетание достоинств метода EFG с уникальными свойствами сапфира (высокий показатель преломления и низкое поглощение в терагерцовом диапазоне [56,595], прозрачность в ИК (частично), видимом и ультрафиолетовом (частично) диапазонах, высокая твердость и механическая прочность, химическая инертность, биосовместимость, радиационная стойкость, возможность работы с электромагнитными полями высокой интенсивности) делает профилированные кристаллы весьма привлекательной технологической платформой терагерцовой волоконной и волноводной оптики [47,49].

Метод EFG позволяет получать гибкие сапфировые волокна диаметром 100–300 мкм (таблица 1.3, № 9) [47,49]. Из-за локализации волноводной моды в сечении такого волокна при распространении излучение взаимодействует с сапфиром, что приводит к существенным потерям. Более того, сапфировые волокна характеризуются сильной материальной и волноводной дисперсией, что не позволяет использовать их при работе с импульсным излучением [618]. По этой причине сапфировые волокна не могут использоваться для передачи терагерцового излучения на большие расстояния, а их характерная рабочая длина (на которой наблюдаются приемлемые потери терагерцового излучения) составляет десятки сантиметров. Наконец, для сапфировых волокон остается нерешенной проблема формирования оболочки с несколько меньшим (по сравнению с сапфиром) показателем преломления [647]. Поэтому в терагерцовом диапазоне они могут

использоваться только без оболочки (окруженные свободным пространством) с высоким диэлектрическим контрастом границы раздела и проблемами декаплинга излучения при контакте с окружающей средой.

В то же время высокий показатель преломления сапфира обеспечивает сильную локализацию моды в сечении волокна, делая возможным его применение в терагерцовой ближнепольной сканирующей зондовой микроскопии. В работах автора диссертации [54,55,648–650] сапфировое волокно диаметром 300 мкм использовалось в качестве кантилевера в ближнепольном сканирующем зондовом микроскопе с рабочей частотой $\nu = 0,25$ ТГц (или длиной волны $\lambda \approx 1,2$ мм). Этот микроскоп позволяет визуализировать трехмерное распределение интенсивности терагерцового поля позади объекта с латеральным разрешением до $0,25\lambda$ (оно определяется диаметром волокна). С его помощью впервые наблюдался эффект фотонного крюка (photonic hook) – разновидности фотонной струи (photonic jet), субволновой каустики электромагнитного поля, формируемой позади мезомасштабной ($\sim\lambda$) диэлектрической частицы [55,650,651]. В отличие от фотонной струи фотонный крюк формируется позади ассиметричной диэлектрической частицы, является изогнутым и имеет субволновые размеры и радиус кривизны.

Для снижения потерь на распространение и дисперсии при передаче терагерцового излучения, автором диссертации в сотрудничестве с коллегами из ИФТТ РАН предложены микроструктурированные сапфировые волноводы с полый сердцевинной и различными механизмами локализации в ней волноводной моды – ARROW (таблица 1.3, №№ 10, 11) [51,53,67] или ФК (таблица 1.3, №№ 12) [52]. Благодаря конфайнменту моды в полый сердцевине, такие сапфировые волноводы позволяют передавать терагерцовое излучение с малой дисперсией и низкими потерями в широком спектральном диапазоне на сравнительно большие расстояния (≥ 1 м). Поэтому они могут работать как с непрерывными, так и с импульсными терагерцовыми источниками. Хотя эти терагерцовые волноводы имеют высокие технические характеристики, для них характерен большой внешний диаметр (≈ 5 –25 мм), определяемый используемым волноводным эффектом (ARROW или ФК), что не позволяет использовать их в эндоскопии.

Отдельно отметим проблему создания регулярных жгутов оптических волокон для терагерцового диапазона. В настоящее время подобные жгуты играют важную роль в медицинской эндоскопической визуализации, неразрушающем контроле, встроенном оборудовании и технологиях оптического воздействия в различных спектральных диапазонах [652–661]. В оптическом жгуте каждое волокно работает независимо с возможными незначительными эффектами перекачки энергии между соседними пикселями за счет эффектов «cross-talk» («перешептывания» волокон). В этом случае

пространственное разрешение пучка определяется периодом упаковки волокон p , который может быть равен диаметру отдельного волокна d . Для обычных материалов с низким и средним показателем преломления пространственное разрешение жгута достигает длины волны излучения $\sim \lambda$ (в свободном пространстве). Дальнейшее повышение разрешения за счет уменьшения диаметра волокна d является затруднительным из-за растущих потерь на конфайнмент волноводной моды в сердцевине субволнового волокна [662]. Поэтому обычные волоконные жгуты не используются для сверхразрешающей визуализации.

В отличие от видимого и ИК диапазонов терагерцовые волоконные жгуты в принципе не существуют, что связано с отсутствием подходящих терагерцовых оптических материалов и технологий производства [49]. В качестве альтернативы жгутам диэлектрических волокон в терагерцовом диапазоне рассматривается проволоочная среда (wire medium или массивы плазмонных волноводов) [609,628,629], однако этот подход по-прежнему остается далеким от практики.

Для решения этой проблемы автором диссертации разработаны регулярные жгуты сапфировых волокон для сверхразрешающей терагерцовой визуализации (Рис. 1.22) [56]. За счет свбволновой локализации волноводной моды в каждом волокне, такой жгут может передавать терагерцовое поле от входного к выходному торцу с субволновым разрешением – до $0,3\lambda$. Несмотря на высокое разрешение для подобных жгутов характерна проблема считывания терагерцового поля с выходного тора и построения терагерцового изображения, для чего в работе [56] использовалась субволновая сканирующая аппаратура. Подобный способ считывания делает процесс построения терагерцового изображения долгим и энергетически неэффективным, ограничивая применимость подобных жгутов. В то же время расположить на выходном торце жгута матричный приемник и исключить процедуру механической развертки невозможно из-за отсутствия таких детекторов [185].

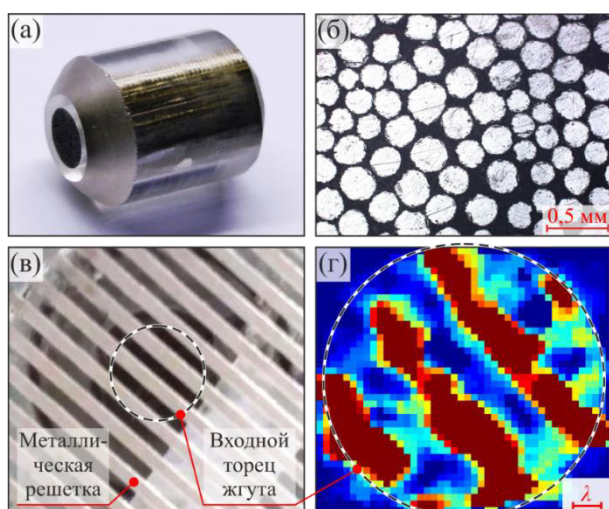


Рис. 1.22. Регулярный жгут сапфировых волокон для субволновой терагерцовой визуализации [56]: (а) – фотография жгута; (б) – микроскопия его торца; (в) – фотография металлического тестового объекта (решетки), установленного на входном торце жгута; (г) – результат терагерцовой визуализации тестового объекта.

Для повышения энергетической эффективности считывания терагерцового поля с выходного торца предложен, изготовлен, теоретически и экспериментально изучен конический жгут сапфировых волокон (Рис. 1.23) [57]. В ней волокна диаметром 300 мкм плотно упакованы в плоскости объекта, формируя близкую к квадратной решетку с периодом $p = 0,35$ мм.

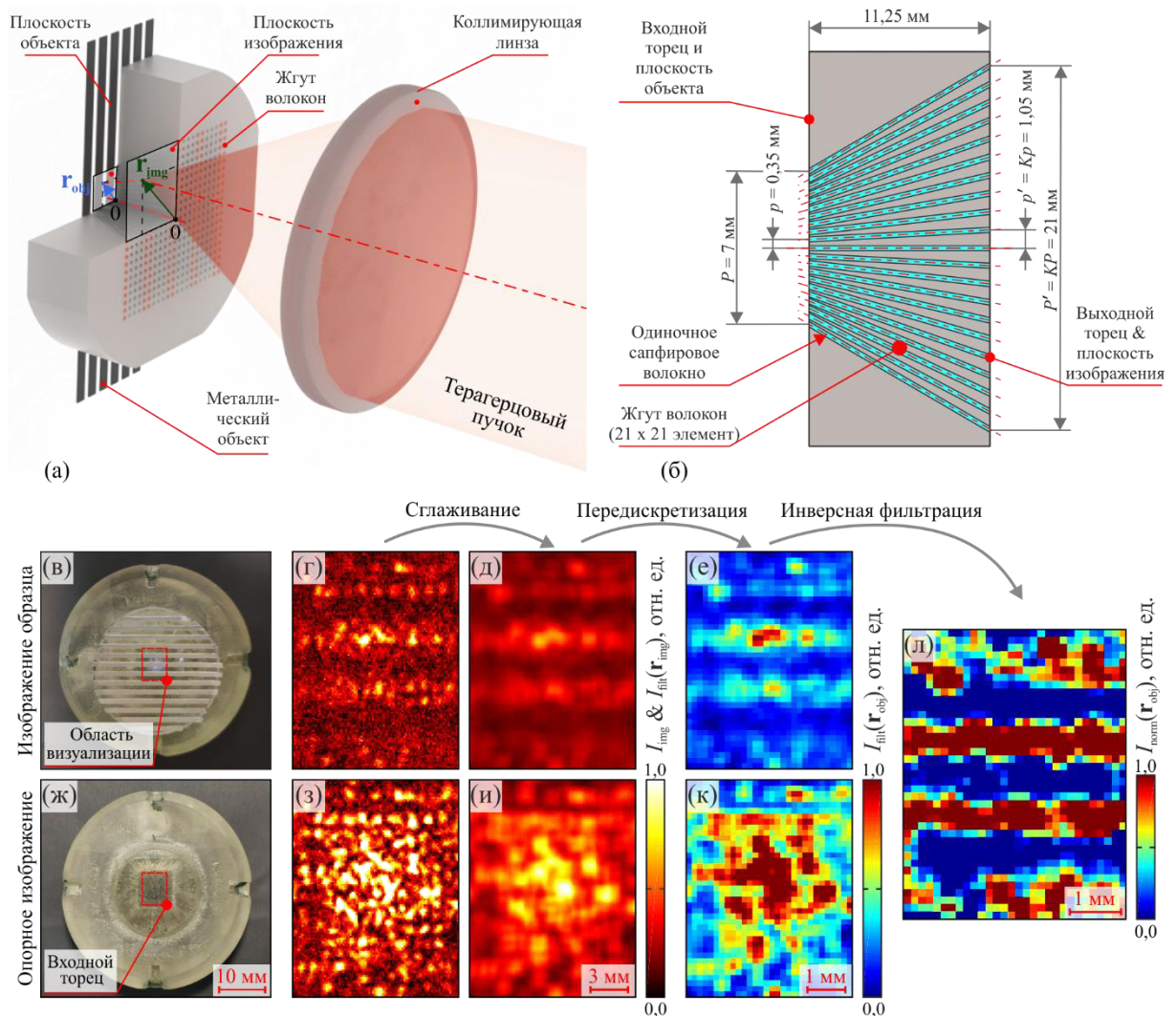


Рис. 1.23. Регулярный конический жгут сапфировых волокон, расходящихся от входного к выходному торцу для масштабирования терагерцового поля и его считывания с выходного торца дифракционно ограниченной линзой [57]: (а), (б) – трех- и двухмерная схемы жгутом; (в)–(л) – результаты визуализации тестового металлического объекта (решетки) с помощью жгута на $\nu = 0,33$ ТГц ($\lambda \approx 917$ мкм), где рассмотрена цифровая обработка ТГц изображения образца с целью нормировки яркости, подавления пикселизации, исключения «битых» пикселей и приведение изображения к координатам входного торца (плоскости объекта).

Волокна расходятся от плоскости объекта к плоскости изображения, сохраняя регулярность и квадратную решетку в сечении жгута. Толщина жгута составляет $\approx 11,25$ мм, а результирующий период укладки волокон в выходном торце жгута в 3 раза больше по сравнению с входным. Такая геометрия позволяет растянуть терагерцовое ближнее поле при его передаче от входного к выходному торцу с фактором увеличения $K \approx 3$. Это делает возможным считывание терагерцового поля с помощью дифракционно ограниченной широкоапертурной оптики, исключая из оптической схема субволновую сканирующую апертуру. Теоретически и экспериментально показано, что разрешение подобного жгута достигает $0,35\lambda$.

Рассмотренные разработки в области волноводной и волоконной оптики терагерцового диапазона демонстрируют растущий интерес к данной области. Тем не менее ни один из перечисленных принципов передачи терагерцового излучения (включая оригинальные сапфировые волокна, волноводы и жгуты) до настоящего времени не применялся для решения проблемы доставки терагерцового излучения к труднодоступным тканям и внутренним органам. Проблема разработки терагерцовых эндоскопических систем остается крайне актуальной и требует решения для дальнейшего развития терагерцовой биофотоники и медицинской визуализации.

1.6.2 Дифракционный предел пространственного разрешения

Биомедицинские приложения терагерцовой техники страдают от низкого пространственного разрешения современных линзовых, зеркальных или зеркально-линзовых терагерцовых оптических систем [1,11,16,17]. Их разрешение подчиняется дифракционному пределу разрешения Аббе (для свободного пространства)

$$r \geq \frac{\lambda}{2}. \quad (1.13)$$

Из-за больших длин волн терагерцового излучения λ , разрешение таких систем обычно варьируется от нескольких сот микрометров до миллиметров даже для самой высокоапертурной оптики [35,36]. Как показано на Рис. 1.5, это не позволяет визуализировать субволновые ($< \lambda$) и даже мезомасштабные ($\sim \lambda$) структурные элементы биологических тканей. Именно поэтому обычно ограничиваются изучением эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик тканей, усредненных в пределах функции рассеяния оптической системы площадью $\geq \lambda^2$. Низкое разрешение терагерцовых систем не позволяет детектировать новообразования малых размеров,

снижает точность определения границ опухоли, а также делает невозможным локальное воздействие терагерцового излучения на биологические объекты [10,11,15–17].

Для решения отмеченной проблемы в последнее время предложен ряд подходов к повышению пространственного разрешения терагерцовых спектроскопических и изображающих систем [1,11,16,17]. Во-первых, упомянем современные методы восстановления изображений, позволяющие повысить разрешение практически любой терагерцовой изображающей системы. Они основаны на моделировании функции рассеяния оптической системы с последующим восстановлением изображения путем деконволюции, инверсной фильтрации, фильтрации Винера или регуляризации Тихонова [315]. Инкремент разрешения может достигать десятков процентов, однако результирующее разрешение по-прежнему подчиняется пределу Аббе. Другой вариант основан на принципах терагерцовой цифровой голографии, синтеза апертуры и однопиксельной визуализации с использованием кодирующих масок [462,663–666], способных обеспечить разрешение чуть меньше длины волны ($\leq \lambda$), но не преодолевающих предел Аббе. Эти методы требуют сложных методов решения обратных задач, а также сопровождаются специфическими шумами и искажениями изображений.

Еще один перспективный метод терагерцовой визуализации основан на эффекте фотонной струи (photonic jet) – локализации поля позади мезомасштабной диэлектрической частицы [55,651,667,668]. Размер фотонной струи и, соответственно, разрешение терагерцовой визуализации с ее помощью достигает $\sim 10^{-1}\lambda$. Этот эффект позволяет повысить разрешающую способность практически любой фокусирующей системы за счет установки правильно подобранной диэлектрической частицы перед фокальной плоскостью [668]. В то же время проблемы удержания диэлектрической частицы вблизи фокальной плоскости и ее перемещения по поверхности объекта при построении изображения ограничивают практическую применимость данного принципа.

Отметим различные методы терагерцовой сканирующей зондовой ближнепольной оптической микроскопии (scanning-probe near-field optical microscopy – SNOM), которые можно разделить на кантилеверные и апертурные. SNOM на базе кантилевера регистрирует электромагнитное поле, рассеянное субволновым металлическим или диэлектрическим зондом (иглой), расположенным в непосредственной близости к объекту исследования (в ближней зоне); см. Рис. 1.24. Такие терагерцовые SNOM обеспечивают разрешение до $\sim 10^{-2}–10^{-4}\lambda$ [669,670], позволяя картировать динамическую проводимость полупроводниковых материалов и устройств с нанометровым [301,671]. К терагерцовым SNOM на базе кантилеверов относятся методы микроскопии на основе конической проволоки Зоммерфельда [672] и проволоочной среды [609,628,629] с разрешением до

$\sim 10^{-1}\lambda$ (за счет локализации плазмонных мод на металлических объектах). Апертурные терагерцевые системы SNOM используют субволновые диафрагмы либо для локального освещения объекта, либо для сбора рассеянного терагерцевого поля на его теневой стороне. Пример терагерцевой системы SNOM на базе конической металлической апертуры и результат визуализации листовой пластины растения с ее помощью приведены на Рис. 1.25. Разрешение таких апертурных систем SNOM определяется размером диафрагмы и может достигать $\sim 10^{-1}-10^{-2}\lambda$ [673–675]. К данному типу SNOM можно отнести упомянутый выше микроскоп на базе гибкого сапфирового волокна [54,55,648–650] и жгуты сапфировых волокон (Рис. 1.22 и 1.23) [56,57].

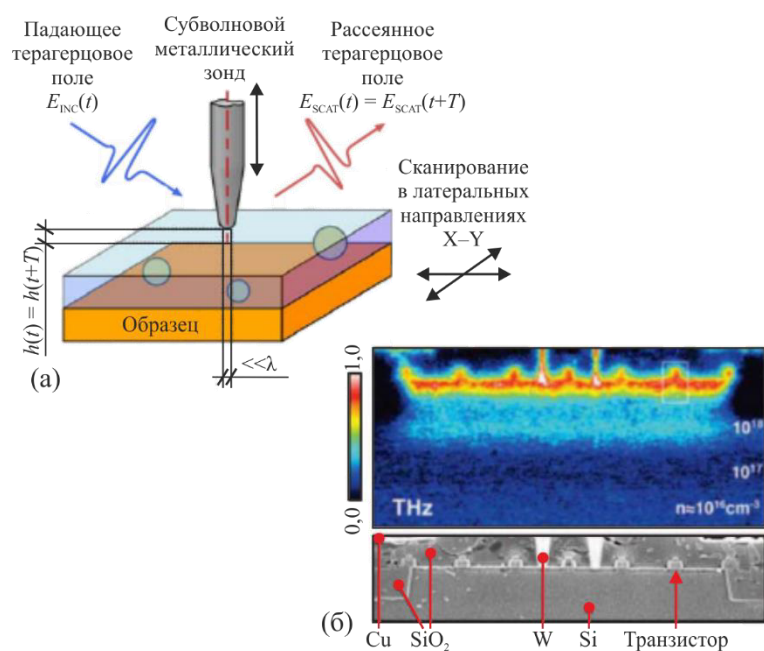
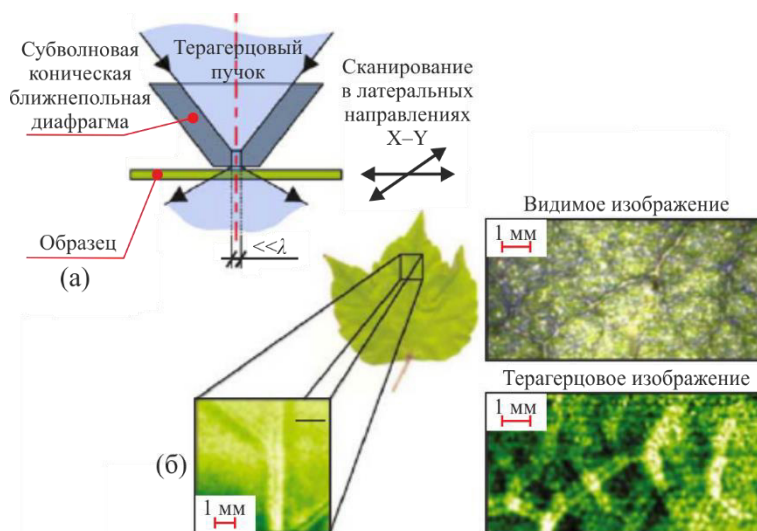


Рис. 1.24. Терагерцевая микроскопия SNOM на базе металлического кантилевера с разрешением $\sim 10^{-3}\lambda$: (а) – схема рассеяния терагерцевого поля на кантилевере вблизи объекта [11,16]; (б) – терагерцевое изображение полупроводникового транзистора в сравнении с данными электронной микроскопии [671].

Рис. 1.25. Терагерцевая микроскопия SNOM на базе субволновой апертуры: (а) – схема системы на основе конической металлической диафрагмы с разрешением $0,15\lambda$ [11,16]; (б) – терагерцевое изображение листовой пластины [673].



Несмотря на высокое разрешение, все системы SNOM страдают от низкой энергетической эффективности, так как при уменьшении размеров ближнепольного зонда (кантилевера или апертуры) быстро снижается интенсивность регистрируемого детектором рассеянного терагерцового поля. Для достижения надлежащего качества изображения в SNOM системах обычно используются мощные терагерцовые источники, чувствительные детекторы и длительное накопление сигнала. До некоторой степени энергетическая эффективность таких систем может быть повышена с использованием инновационных схем построения, таких как ближнепольная микроскопия с однопиксельным детектором и кодирующей апертурой [464], лазерная сканирующая ближнепольная микроскопия [676,677], волоконная ближнепольная микроскопия [678] или микроскопии на базе плазмонной диафрагмы [674]. Все методы SNOM требуют малого ($\ll \lambda$) рабочего расстояния между зондом и объектом. Зонд может взаимодействовать с объектом, нарушить его структуру или же повредиться сам. Системы SNOM имеют ограниченные возможности визуализации аморфных сред и биологических тканей, что снижает их применимость в биофотонике и медицинской визуализации. Поэтому терагерцовые системы до сих пор остаются лабораторным инструментом.

Среди перспективных методов субволновой терагерцовой визуализации, отметим микроскопию, основанную на эффекте твердотельной иммерсии (solid immersion microscopy), которая предложена в видимом и ИК диапазонах еще в 1990 г. [679], а в терагерцовый диапазон впервые транслирована лишь недавно научной группой соискателя [17]. Лежащий в основе данного метода микроскопии эффект подразумевает уменьшение размеров каустики пучка при его фокусировке в свободном пространстве, на небольшом (менее длины волны, $< \lambda$) расстоянии позади иммерсионной линзы – оптического элемента с высоким показателем преломления. В формировании каустики участвуют обычные распространяющиеся волны (проходящие сквозь границу раздела «иммерсионная линза – объект» или отражаемые от нее) и эванесцентные волны (возбуждаемые при ПВО) [680].

Обычно оптическая система, основанная на эффекте твердотельной иммерсии, включает два основных элемента:

- базовый широкоапертурный объектив, сам по себе обеспечивающий высокое разрешение, но тем не менее подчиняющийся пределу Аббе;
- иммерсионной линзы с высоким показателем преломления, установленной в сходящемся пучке перед фокальной плоскостью и позволяющей повысить разрешение и преодолеть предел Аббе.

На Рис. 1.26 показана традиционная полусферическая иммерсионная линза, работающая в геометрии «на отражение», где n_{SI} и n_{obj} – показатели преломления линзы и

объекта, соответственно. Линза освещается сверху сходящейся сферической электромагнитной волной, сформированной базовым широкоапертурным объективом [62]. Сферическая поверхность иммерсионной линзы концентрична сходящемуся волновому фронту (это позволяет избежать рефракции на этой поверхности и связанных с ней хроматических aberrаций), а ее плоская поверхность совпадает с плоскостью объекта. Сферическая волна входит в иммерсионную линзу, отражается на границе «линза – объект» или «линза – свободное пространство» и делится на две части. При углах падения меньше угла ПВО $\theta < \theta_{\text{TIR}} = \arcsin(n_{\text{obj}}/n_{\text{SI}})$ происходит обычное отражение (наблюдаются обычные отраженная и проходящая волны); при $\theta \geq \theta_{\text{TIR}}$ имеет место ПВО с возбуждением на границе эванесцентных волн. Обыкновенные и эванесцентные волны формируют субволновую каустику пучка на теневой стороне иммерсионной линзы.

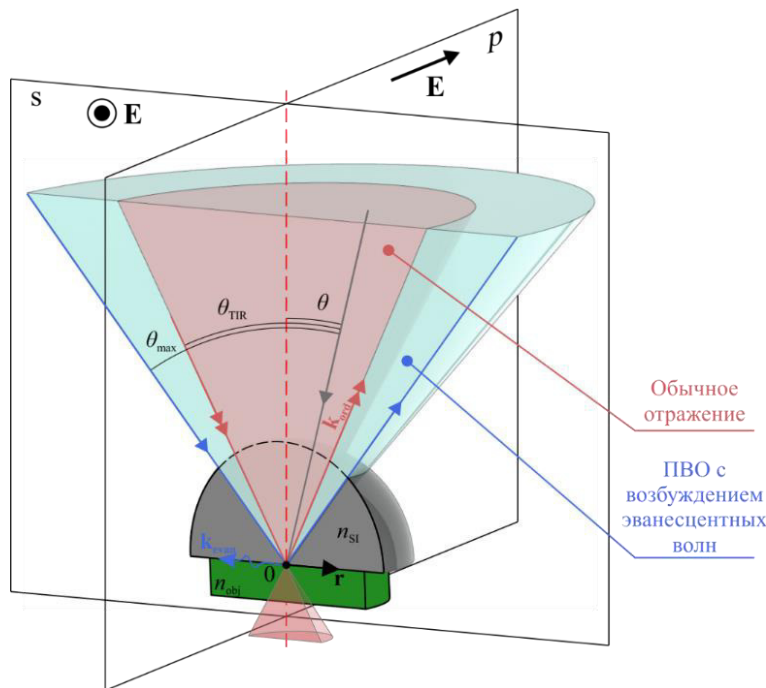


Рис. 1.26. Схема иммерсионной линзы, работающей в геометрии «на отражение», имеющей форму полусферы и изготовленной из материала с высоким показателем преломления. Для простоты не показан базовый широкоапертурный объектив, формирующий сходящийся волновой фронт [17].

Повышение разрешения за счет иммерсионной линзы можно объяснить уменьшением длины волны излучения вблизи границы раздела «иммерсионная линза – объект» (по сравнению с λ в свободном пространстве) как для обычной отраженной (распространяющейся), так и для эванесцентной волн. Обычная волна распространяется внутри иммерсионной линзы с высоким показателем преломления n_{SI} и, таким образом, имеет волновой вектор \mathbf{k}_{ord} и длину волны λ_{ord} [17]

$$\mathbf{k}_{\text{ord}} = \mathbf{k}n_{\text{SI}}, \quad \lambda_{\text{ord}} = \frac{\lambda}{n_{\text{SI}}}, \quad (1.14)$$

где \mathbf{k} – волновой вектор в свободном пространстве. В выражении (1.14) λ_{ord} в n_{SI} раз меньше λ . Эванесцентная волна распространяется по границе «иммерсионная линза – объект» [318] и имеет волновой вектор \mathbf{k}_{evan} и эффективную длину волны λ_{evan} [17]

$$\mathbf{k}_{\text{evan}} = \mathbf{k}n_{\text{SI}}\sin(\theta), \quad \lambda_{\text{evan}} = \frac{\lambda}{n_{\text{SI}}\sin(\theta)}, \quad (1.15)$$

где λ_{evan} также в $n_{\text{SI}}\sin(\theta)$ или $\approx n_{\text{SI}}$ (при больших θ) меньше λ . Такое уменьшение длины волны приводит к снижению размеров фокусного пятна в $\approx n_{\text{SI}}$ раз, характерное для большинства иммерсионных линз. Стандартные аналитические подходы геометрической оптики и скалярной теории дифракции [318,681] не в состоянии описать все особенности фокусировки пучка оптической системой, использующей эффект твердотельной иммерсии, включая геометрию каустики и фокального пятна, пространственное разрешение и глубину резкости. Это связано с широкой апертурой пучка и ближнепольным режимом работы таких систем. Для их детального анализа обычно используют методы вычислительной электродинамики, позволяющие учитывать такие эффекты, как интерференция обыкновенных и эванесцентных волн вблизи границы раздела, интерференция составляющих пучка, связанных с обычным отражением и ПВО, поляризация, аподизация и aberrации пучка [682–689].

С момента своего появления данный вид микроскопии активно развивался, адаптировался для работы в различных спектральных диапазонах и нашел приложения в разных областях науки и техники. Разработаны различные конструкции иммерсионных линз для субволновой визуализации и локального лазерного воздействия в видимом и ИК диапазонах (Рис. 1.27). Гиперполусферическая иммерсионная суперлинза с радиусом R и высотой $h \approx R(1 + 1/n_{\text{SI}})$ способна обеспечить инкремент разрешения до $\approx n_{\text{SI}}^2$ (благодаря дополнительному преломлению излучения на сферической поверхности), однако страдает от хроматической aberrации [690,691]. Иммерсионные линзы дифракционного типа [692] или с кольцевой апертурой (annular aperture) [682,693] направлены на уменьшение размеров оптической системы, повышение разрешения или поля зрения. В работе [694] кольцевая апертура позволила выделить углы падения выше ПВО θ_{TIR} , блокируя низкоапертурную часть пучка (претерпевающую обычное отражение), сохраняя только эванесцентные волны и обеспечивая максимальную локализацию каустики вдоль оси. Разработаны микроскопические иммерсионные линзы для видимого [695] и ИК [696] диапазонов, параболическое иммерсионное зеркало, сочетанное с планарным волноводом [697], иммерсионная линза на базе метаматериала, полученного по методу седиментации коллоидной суспензии и самосборки наночастиц TiO_2 [698], и др.

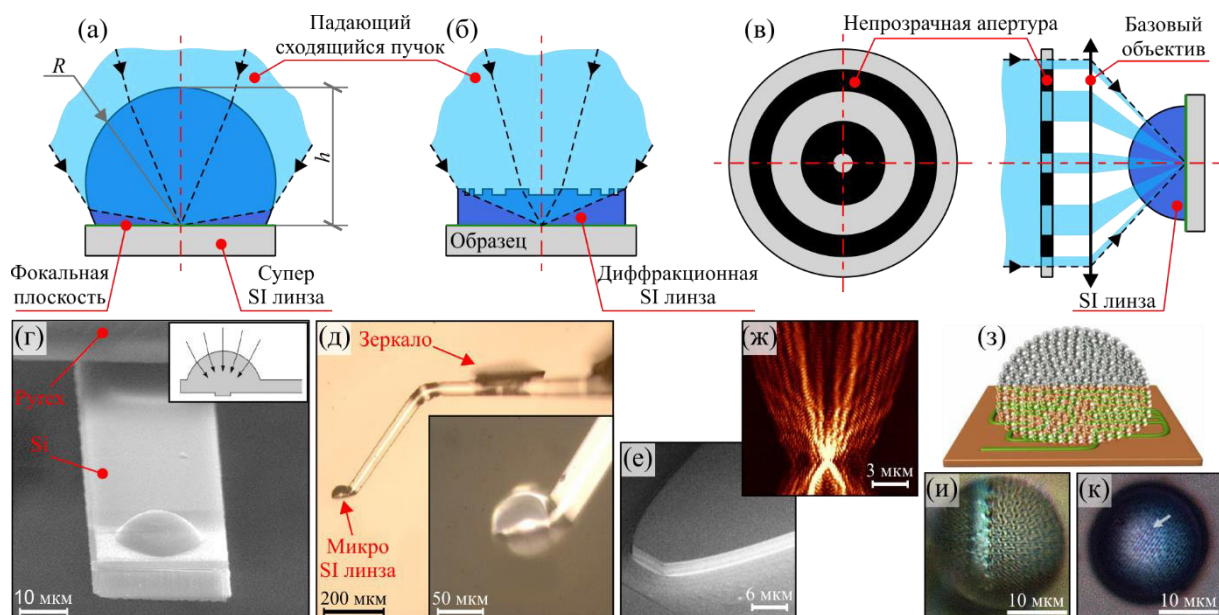


Рис. 1.27. Различные оптические системы, основанные на эффекте твердотельной иммерсии [17]: (а) – схема гиперполусферической иммерсионной суперлинзы (линзы Вейерштрассе) [690]; (б) – схема дифракционной иммерсионной линзы [692]; (в) – схема иммерсионной линзы с кольцевой апертурой (annular aperture) [682,693]; (г), (д) – микроскопические иммерсионные линзы для среднего ИК [696] и видимого [695] диапазонов, соответственно; (е), (ж) – микроскопия планарного параболического иммерсионного зеркала, совмещенного с волноводом, и распределение в нем интенсивности поля, соответственно [697]; (з)–(к) – схема иммерсионной линзы из коллоидных частиц TiO_2 и результаты визуализации с ее помощью микроструктурированной подложки и blue-ray диска [698].

Разнообразные оптические системы, использующие эффект твердотельной иммерсии, нашли применения в различных областях, включая фотолитографию [699,700], тепловидение [701,702], оптическое хранение данных [703–706], микроскопию комбинационного рассеяния [695,707,708], неразрушающий контроль полупроводниковых приборов и электрических цепей [694,709–713] и даже биофизику [691]. Трансляция данного метода в терагерцовый диапазон впервые выполнена научной группой соискателя и будет детально рассмотрена в главах 3 и 4 [17,40,467,714].

1.6.3 Повышение глубины терагерцового зондирования тканей

Проблема малой глубины проникновения терагерцового излучения в ткани может быть решена (в определенной степени) с применением методов иммерсионного

оптического просветления тканей – за счет обратимой или необратимой дегидратации тканей с применением различных гиперосмотических агентов [592,715–718]. Методы иммерсионного оптического просветления тканей нашли широкое применение в биофотонике ИК, видимого и ультрафиолетового диапазонов, где гиперосмотический агент позволяет снизить диэлектрический контраст между рассеивателями электромагнитных волн в тканях и окружающими их внеклеточным и внутриклеточным матриксами. Снижение диэлектрического контраста уменьшает экстинкцию ИК, видимого и ультрафиолетового излучения в тканях и увеличивает глубину оптического зондирования тканей [590,719–722].

В терагерцовом диапазоне иммерсионное оптическое просветление тканей направлено на снижение содержания в них тканевой воды, как основного поглотителя терагерцового излучения [11,16,718]. В свою очередь, эффекты рассеяния терагерцовых волн в тканях остаются слабо изученными, поэтому возможность подавления такого рассеяния с помощью иммерсионного оптического просветления также еще только предстоит оценить. За счет замещения тканевой воды гиперосмотическими агентами (с низким терагерцовым оптическими характеристиками) удастся снизить эффективный терагерцовый показатель преломления n и коэффициент поглощения α тканей [718]. Агенты для иммерсионного оптического просветления тканей в терагерцовом диапазоне должны характеризоваться одновременно гиперосмотическим статусом, низким поглощением терагерцового излучения, высоким коэффициентом диффузии и низкой токсичностью, причем последнее наиболее важно для приложений *in vivo*.

На Рис. 1.28 сравниваются результаты терагерцовой импульсной визуализации кожи *ex vivo* до и после применения глицерина – распространенного агента для иммерсионного оптического просветления тканей, значительно более прозрачного на терагерцовых частотах по сравнению с водой. После применения агента металлический объект, лежащий позади слоя кожи виден с более высоким контрастом. Это свидетельствует об увеличении глубины зондирования кожи терагерцовыми волнами.

Несмотря на перспективность иммерсионного оптического просветления тканей, в настоящий момент имеются достаточно скудные данные о терагерцовых оптических свойствах гиперосмотических агентов, скорости их диффузии в ткани различного типа и других характеристиках. Это затрудняет выбор оптимальных агентов и разработку протоколов их применения в терагерцовой биофотонике [96,559–561,718,723–725]. Решению этой проблемы отчасти посвящена глава 2.

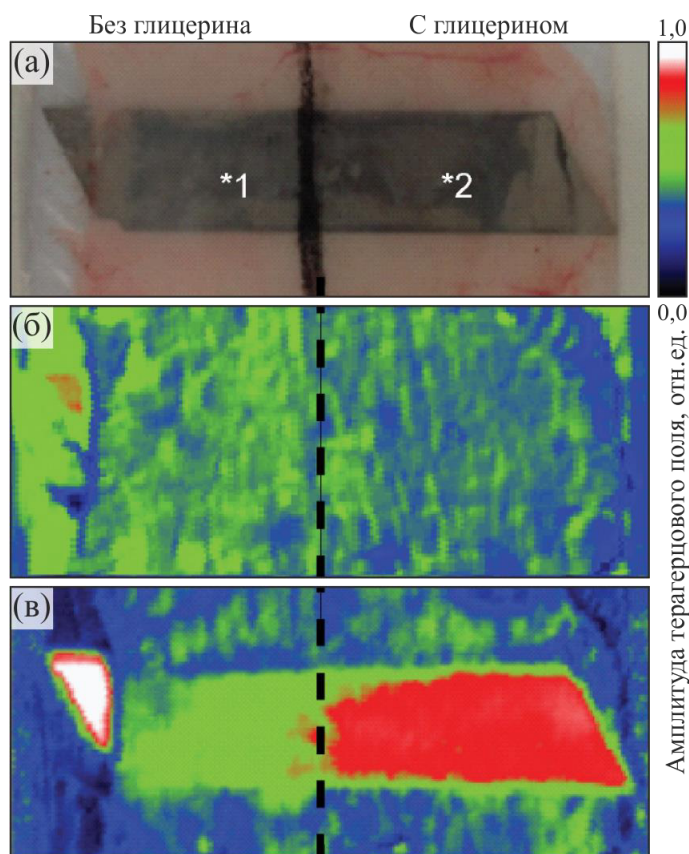


Рис. 1.28. Терагерцовая импульсная визуализация тканей кожи мыши *ex vivo* толщиной 224 мкм до (слева) и после (справа) иммерсионного оптического просветления с помощью глицерина: (а) – фотография; (б), (в) – терагерцовые параметрические изображения, отражающие амплитуду первого импульса (размах от минимума до максимума) и амплитуды сигнала на временной задержке 7,5 пс, соответственно. Позади слоя кожи расположен металлический объект. [559].

1.7 Выводы по главе

Обзор современного состояния исследований в области терагерцовой, оптоэлектроники, спектроскопии и визуализации биологических тканей позволил выявить несколько ключевых проблем, сдерживающих развитие терагерцовой биофотоники, на решение которых направлена настоящая диссертация.

Во-первых, для терагерцовой импульсной спектроскопии актуальна разработка новых физико-математических моделей взаимодействия импульсного излучения с плоско-слоистыми средами, а также методов оценки оптических (диэлектрических) характеристик объектов различной природы (включая ткани). Такие модели и методы должны учитывать специфику сигналов терагерцовой импульсной спектроскопии, связанную с регистрацией временной зависимости напряженности терагерцового поля в конечном диапазоне временных задержек. Они должны описывать эволюцию комплексной амплитуды импульса при его распространении в измерительном тракте спектрометра и взаимодействии с объектом, интерференцию баллистического импульса с конечным числом волн-спутников, вызванных резонансами в слоях.

Во-вторых, актуально преодоление дифракционного предела Аббе в терагерцовом диапазоне, что позволит расширить возможности фундаментальных исследований

взаимодействия терагерцового излучения с оптически неоднородными средами (включая гетерогенные ткани) и обеспечить практически значимые уровни пространственного разрешения для медицинской диагностики, неразрушающего контроля и других приложений. Перспективный подход к решению этой проблемы – микроскопия, основанная на эффекте твердотельной иммерсии, которая впервые реализована в терагерцовом диапазоне и адаптирована для визуализации тканей научной группой под руководством соискателя. Важно обеспечить возможность получать количественную информацию об объекте исследования на основе его терагерцовых микроскопических изображений. Для этого требуются физико-математические модели взаимодействия излучения с объектом микроскопических исследования и связанные с ними методы решения обратных задач.

Наконец, терагерцовая биофотоника остается новым направлением научных исследований, в котором накоплен весьма ограниченный объем знаний о взаимодействии терагерцового излучения с тканями. Представляется актуальным применение новых методов терагерцовой спектроскопии и микроскопии для изучения объектов различной природы. В диссертации внимание уделяется терагерцовым измерениям водных растворов распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей, *in vivo* здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов, децеллюлированных клеточных матриц на основе бычьего перикарда, *ex vivo* свежесеченных интактных тканей и глиом головного мозга человека различной степени злокачественности, *ex vivo* модели глиомы 101.8, *ex vivo* тканям молочной железы и языка человека.

1.8 Цель и задачи диссертации

Целью диссертации является разработка физико-математических моделей взаимодействия терагерцового электромагнитного излучения с пространственно неоднородными объектами спектроскопических и микроскопических исследований, включая биологические ткани, а также методов оценки эффективных терагерцовых оптических свойств и мезомасштабной гетерогенности таких объектов.

Для достижения сформулированной цели решаются следующие теоретически и экспериментальные **задачи**:

- 1) Разработка физико-математической модели взаимодействия терагерцового импульсного излучения с плоско-слоистыми средами в импульсной спектроскопии для различных геометрий измерений.
- 2) Разработка и экспериментальная апробация метода оценки эффективных терагерцовых оптических свойств объектов различной природы, включая

- биологические ткани, с помощью импульсной спектроскопии.
- 3) Разработка метода терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, основанного на эффекте твердотельной иммерсии и адаптированного для визуализации оптически неоднородных объектов, включая биологические ткани. Теоретические и экспериментальные исследования пространственного разрешения нового метода микроскопии.
 - 4) Разработка физико-математической модели взаимодействия непрерывного терагерцового излучения с оптически неоднородными объектами исследования, включая биологические ткани, в микроскопии субволнового разрешения.
 - 5) Разработка и экспериментальная апробация метода оценки пространственного распределения (с субволновым разрешением) эффективных терагерцовых оптических свойств оптически неоднородных объектов, включая биологические ткани.
 - 6) Изучение терагерцовых оптических свойств водных растворов распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей, включая глицерин, полиэтиленгликоль различной молекулярной массы, пропиленгликоль, диметилсульфоксид, сахароза, фруктоза, глюкоза, декстран различной молекулярной массы.
 - 7) Измерение и анализ эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических свойств) свойств *in vivo* здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов, децеллюлированных клеточных матриц на основе бычьего перикарда, *ex vivo* свежееисеченных интактных тканей и глиом головного мозга человека различной степени злокачественности, а также модели глиомы 101.8 в мозгу крысы.
 - 8) Регистрация и анализ терагерцовых микроскопических изображений оптически неоднородных биологических тканей различной природы, включая клеточные сфероиды, *ex vivo* ткани молочной железы и языка человека, децеллюляризованный бычий перикард, интактные ткани и модель глиомы 101.8 в мозгу крысы.

ГЛАВА 2. Восстановление оптических характеристик объекта исследования в терагерцовой импульсной спектроскопии

В главе рассмотрены лабораторные терагерцовые импульсные спектрометры, использовавшиеся для проведения диссертационного исследования. Предложена физико-математическая модель взаимодействия импульсного излучения с объектом исследования и элементами измерительного тракта в терагерцовой импульсной спектроскопии. Она использует приближение плоской волны, формулы Френеля (для амплитуды) и закон Бугера-Ламберта-Бера, а также учитывающий конечный диапазон временных задержек сигнала, регистрируемого импульсным спектрометром. На ее основе модели предложен метод решения обратной задачи терагерцовой импульсной спектроскопии, связанный с оценкой терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик объекта спектроскопических исследований. Рассмотрены различные геометрии спектроскопического эксперимента, включая измерение твердого тела (имеющего форму плоско-параллельной пластинки) или жидкости (заключенной в диэлектрическую кювету) в геометрии «на пропускание», либо биологических тканей (закрепленных позади опорного окна) в геометрии «на отражение». Проведена апробация новых методов, включавшая исследование объектов с априорно известным терагерцовым откликом. С помощью новых методов впервые изучены терагерцовые оптические характеристики водных растворов распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей, что позволило выбрать оптимальные агенты для терагерцовой биофотоники. Получены данные о терагерцовых оптических характеристиках здоровой кожи человека *in vivo*, показавшие их вариабельность в различных областях организма. Изучены терагерцовые диэлектрические характеристики обыкновенных и диспластических невусов кожи *in vivo*, продемонстрировавшие принципиальную возможность их дифференциации терагерцовыми методами.

2.1 Лабораторные терагерцовые импульсные спектрометры

Рассмотрим терагерцовые импульсные спектрометры, использовавшиеся при подготовке диссертации:

- лабораторную систему на базе отечественных ФПА (ИСВЧПЭ РАН, Россия) с вакуумным измерительным отсеком для изучения твердых тел и жидкостей;
- коммерческую систему zOmega microZ (США) на базе ФПА-источника и электрооптического детектора для изучения тканей *ex vivo* и *in vivo*;
- лабораторную систему на базе ФПА от Vator (Германия) для изучения тканей *ex vivo*.

2.1.1 Система на базе отечественных ФПА с вакуумным измерительным отсеком для изучения твердых тел и жидкостей

Для спектроскопии твердых тел и жидкостей в диссертации использовался лабораторный терагерцовый импульсный спектрометр с вакуумным измерительным отсеком (Рис. 2.1 (а)) [20,21,44,176,726], разработанный в Отделе субмиллиметровой спектроскопии ИОФ РАН и использующий отечественные ФПА из LT-GaAs (ИСВЧПЭ РАН, Москва, Россия) [82,176,179,183,185] или ФПА от Fraunhofer Institute for Telecommunications, Heinrich Hertz Institute (Германия). Спектрометр построен на основе волоконного фемтосекундного лазера TOPICA Femto FErb 780 (вторая гармоника эрбиевого активного волокна) и использует моторизованную двухпроходную линейную ветвь задержки. Вакуумный измерительный отсек позволяет исключить влияние влажной атмосферы на результаты терагерцовых измерений, расширяя рабочий спектральный диапазон до $\approx 0,1\text{--}3,0$ ТГц. Данная система может быть оборудована криостатом или печью для диэлектрической или магнитной спектроскопии в широком диапазоне температур (от криогенных до сотен градусов Цельсия), а также может использоваться для поляризационных измерений [726].

На Рис. 2.1 (б) показана кювета прокачного типа для измерения жидкостей в вакуумной камере спектрометра [20,21]. Образец жидкости помещен между двумя окнами из HRFZ-Si толщиной 2 мм. При измерениях толщина слоя жидкости задается проставкой толщиной 100, 200 или 300 мкм, причем последняя выбирается исходя из априорных данных о терагерцовом коэффициенте поглощения образца α ; это обеспечивает одновременно высокую чувствительность и максимальную широкополосность измерений.

Перед измерениями анализируемая жидкость вводится в кювету через специальные каналы и прокачивается до удаления остаточных пузырьков воздуха. Затем каналы закрываются специальными винтами, а кювета с образцом помещается в вакуумную камеру спектрометра. Между измерениями различных образцов кювета разбирается, очищается дистиллированной и дионизованной водой и тщательно просушивается.

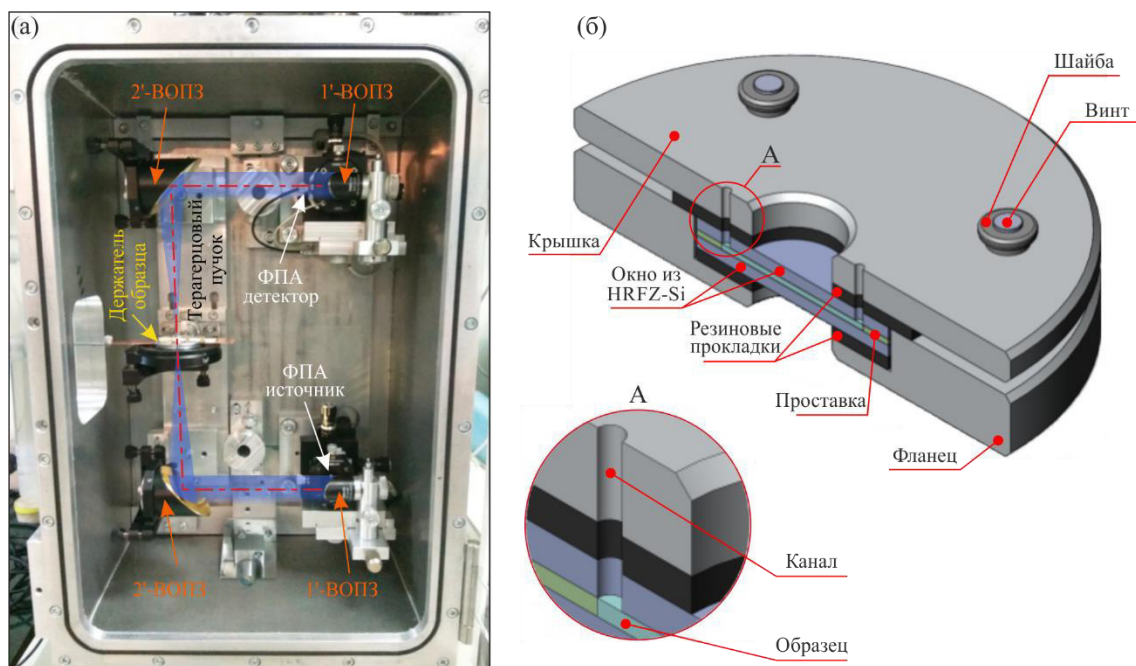


Рис. 2.1. Терагерцовый импульсный спектрометр на базе отечественных ФПА для изучения твердых тел и жидкостей [20,21,44,176,726]: (а) – фотография вакуумной камеры спектрометра с указанием основных элементов и хода терагерцового пучка, где ВОПЗ – внеосевое параболическое зеркало с золотым покрытием отражающей поверхности; (б) – модель прокачной кюветы для жидкостей.

Оснащенной описанной кюветой, эта терагерцовая импульсная система позволяет измерять оптические (диэлектрические) характеристики различных жидкостей в диапазоне 0,1–2,5 ТГц с разрешением до 0,015 ТГц. Измерения проводятся в слегка сфокусированном терагерцовом пучке, что позволяет, с одной стороны, предотвратить его дифракцию на апертуре образца и, с другой стороны, использовать приближение плоской волны и формулы Френеля (для амплитуды и нормального падения) при моделировании взаимодействия импульса с образцом.

2.1.2 Система zOmega microZ на базе ФПА-источника и электрооптического детектора для изучения тканей *ex vivo* и *in vivo*

На Рис. 2.2 показана фотография портативного коммерческого терагерцового импульсного спектрометра zOmega microZ [25–27,31] на экспериментальной базе Научно-образовательного центра «Фотоника и ИК техника» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Москва, Россия), адаптированного для измерения биологических тканей *in vivo* в кандидатской диссертации К.И. Зайцева [234]. В этой системе генерация импульсов осуществляется в ФПА на базе LT-GaAs (zOmega), а их когерентная регистрация – в электрооптическом детекторе на базе кристалла ZnTe [4]. Источником ультракоротких лазерных импульсов с центральной длиной волны $\lambda \approx 800$ нм, длительностью $\approx 80,0$ фс и частотой повторения $\approx 50,0$ МГц является волоконный эрбиевый лазер IMRA, работающий на второй гармонике.

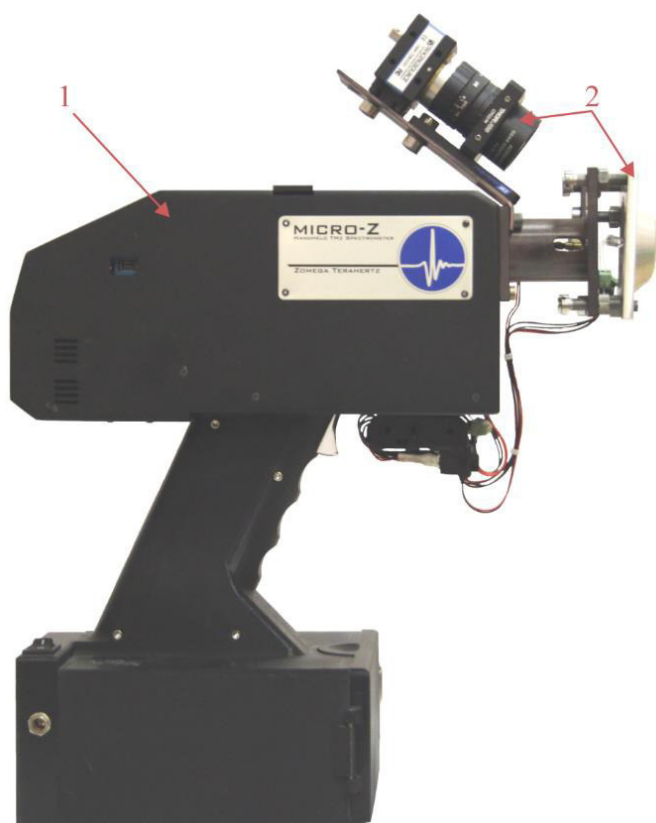


Рис. 2.2. Фотография терагерцового импульсного спектрометра zOmega microZ, адаптированного для изучения биологических тканей *ex vivo* и *in vivo* в геометрии «на отражение» [234], где 1 – zOmega microZ; 2 – разработанная оснастка.

В спектрометре задержка пробных лазерных импульсов относительно импульсов накачки (и, соответственно, терагерцовых импульсов) осуществляется с помощью вращающегося высокоскоростного (≈ 400 Гц) эвольвентного отражателя [456,457]. При столь высокой частоте работы отношение сигнала к шуму в регистрируемых временных

сигналах мало. Поэтому для получения приемлемого отношения сигнала к шуму в спектрометре реализовано усреднение множества реализаций сигнала (до $\sim 10^2-10^3$). Рабочий спектральный диапазон достигает 0,1–2,5 ТГц, а разрешение – 0,02 ТГц, причем эти характеристики могут ухудшаться в зависимости от геометрии и условий измерений. При измерении тканей *in vivo* «на отражение» в данной диссертации рабочей диапазон составил 0,2–1,2 ТГц.

На Рис. 2.3 показаны трехмерная модель и фотографии оснастки zOmega microZ, позволяющей адаптировать эту терагерцовую импульсную системы для измерения тканей *in vivo*. В ней ткани фиксируются позади опорного окна из кристаллического кварца (Рис. 2.3 (2)), при этом граница раздела «окно – образец» совпадает с фокальной плоскостью терагерцового (Рис. 2.2, 2.3). Наряду с терагерцовыми сигналами приставка позволяет регистрировать видимое изображение образца с помощью камеры (Рис. 2.3 (4)) типа CMOS (complementary metal-oxide-semiconductor integrated circuits). Лазерный маркер указывает фокус терагерцового пучка на границе «окно – образец» (Рис. 2.3 (7)), при этом оси лазерного маркера (I), терагерцового пучка (II) и камеры (III) пересекаются в терагерцовом фокусе (Рис. 2.3 (б), (в)).

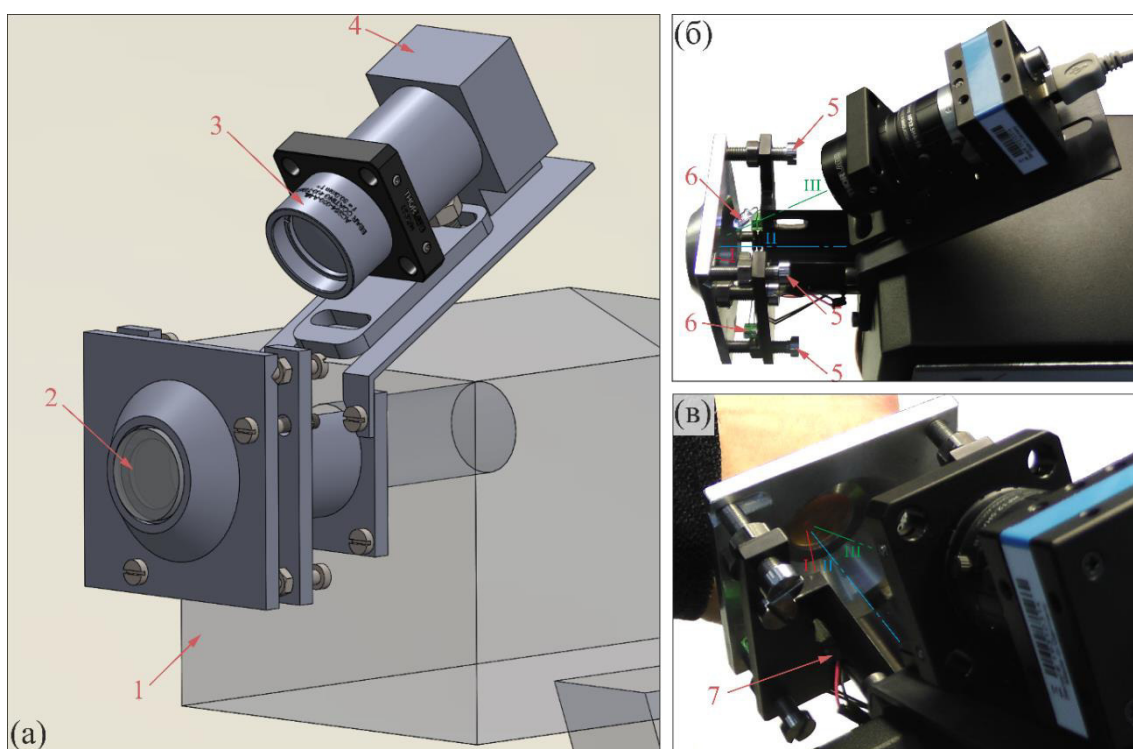


Рис. 2.3. Оснастки zOmega microZ для измерения тканей *in vivo* [234]: (а) – трехмерная модель; (б), (в) – фотографии; 1 – zOmega microZ; 2 – опорное окно (кристаллический кварц); 3 – объектив камеры; 4 – камера; 5 – винты юстировки положения опорного окна; 6 – светодиоды; 7 – лазерный маркер.

Лазерный маркер позволяет совмещать (в латеральных направлениях) фокус терагерцового пучка с объектом исследования, установленным позади опорного окна. Это позволяет изучать малоразмерные объекты, например, пигментные невусы кожи [234]. Камера используется для позиционирования объекта в фокусе терагерцового пучка и регистрации оптических изображений тканей для составления базы данных. Подсветка образца видимым светом осуществляется светодиодами постоянно (Рис. 2.3 (б)); лазерный маркер активен только при совмещении терагерцовой функции рассеяния с объектом. Программное обеспечение экспериментальной системы написано на языке C# (Рис. 2.4); обработка терагерцовых данных и оценка оптических (диэлектрических) характеристик объекта выполняется в MATLAB.

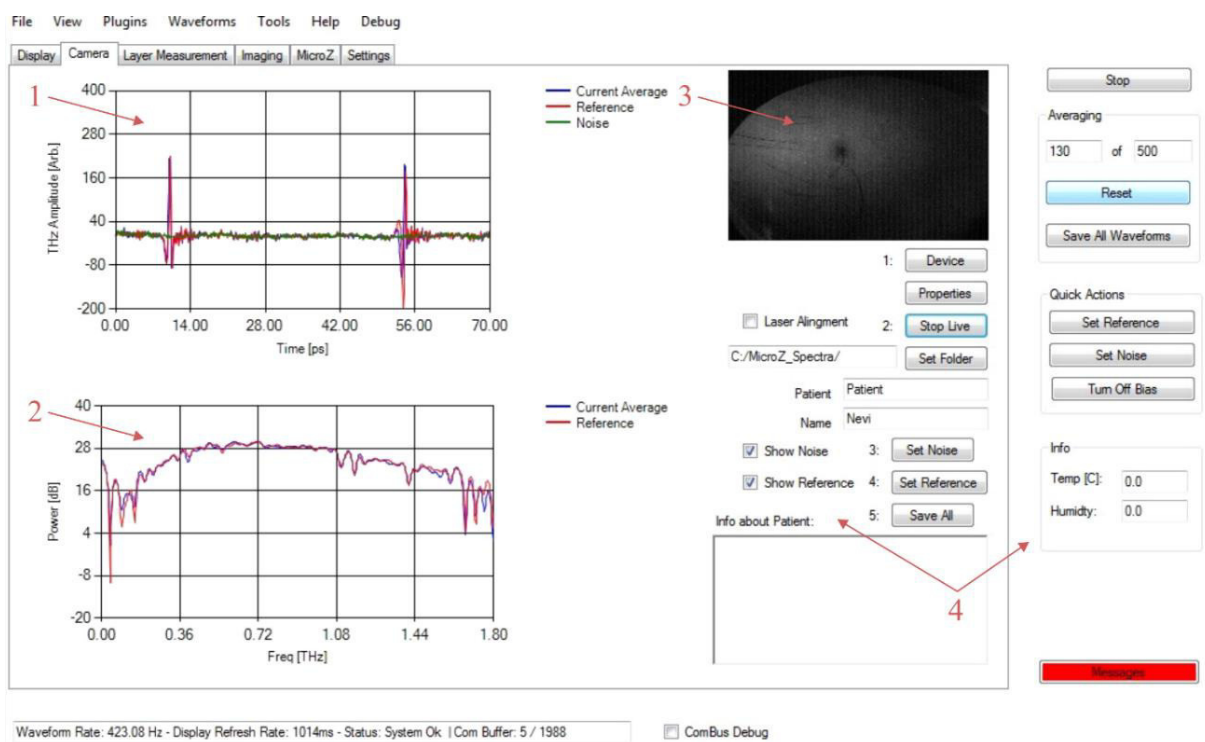


Рис. 2.4. Интерфейс программного обеспечения zOmega microZ, адаптированного для измерения тканей *in vivo* [234]: 1, 2 – сигналы спектрометра $E(t)$ и их фурье спектры $\tilde{E}(\nu)$; 3 – фотография образца; 4 – область управления процессом регистрации сигналов.

2.1.3 Система на базе ФПА Ватор для изучения тканей *ex vivo*

На Рис. 2.5 (а) показан импульсный спектрометр на базе ФПА из LT-GaAs (ВАТОР GmbH), расположенный в Научно-образовательном центре «Фотоника и ИК-техника»

МГТУ им. Н.Э. Баумана (Москва, Россия) и использовавшийся для исследования свежееисеченных тканей *ex vivo* в геометрии «на отражение» [52,58,727], а также для измерения прототипов терагерцовых волноводов, волокон и эндоскопических систем [47,49,51–53,56]. Как система с Рис. 2.1, этот спектрометр построен на волоконном фемтосекундном лазере TOPICA FemtoFErb 780 с центральной длиной волны 786 нм, длительностью импульса 93 фс, частотой повторения импульсов 98,59 МГц и выходной средней мощностью 68,9 мВт. Пучок лазерного излучения аттенюируется и разделяется на эквивалентные по мощности (≈ 20 мВт) пучок накачки (для возбуждения ФПА-источника) и пробный пучок (для стробирования сигнала с ФПА-детектора). Регулируемая задержка пробного пучка относительно пучка накачки обеспечивается механическим линейным транслятором (Zaber) с двойным ходом луча, диапазоном перемещения 101,6 мм и погрешностью позиционирования < 3 мкм. Генерируемое терагерцовое импульсное излучение модулируется огибающей (10 кГц) за счет переменного напряжения питания ФПА-источника и регистрируется в ФПА-детекторе с использованием синхронного детектора.

На Рис. 2.5 (б) показано, что для спектроскопии тканей *ex vivo* в данной системе используется приставка на базе пары внеосевых параболических зеркал с золотым покрытием и опорного окна из кристаллического кварца толщиной 1 мм, на котором объект исследования располагается в фокусе терагерцового пучка. Одно из зеркал фокусирует терагерцовое пучок на границе раздела «окно – образец», а другое – коллимирует отраженное излучение. Углы падения и отражения составляют $\theta \approx 17^\circ$ (внутри кристаллического кварца), что позволяет считать схему измерения квазинормальной (схожей с Рис. 2.1–2.3) и использовать приближение плоской волны и формулы Френеля (для нормального падения) при обработке сигналов.

В процессе измерений ТГц импульсный спектрометр закрыт кожухом из оргстекла (не показан на Рис. 2.5 (а)), заполненным газообразным азотом для подавления влияния паров воды на пути ТГц пучка на результаты измерений и обеспечения максимального рабочего спектрального диапазона. Опорное окно является частью кожуха, благодаря чему ТГц пучок находится в азотной атмосфере, а образец в атмосфере лабораторного воздуха. В данной конфигурации спектрометр обеспечивает спектральный диапазон характеристики тканей *ex vivo* до 0,15–1,5 ТГц [58].

В данной системе реализован схожий с Рис. 2.2–2.4 подход к позиционированию образца относительно терагерцового фокального пятна. После сборки и юстировки приставки (Рис. 2.5 (б)) найдено положение терагерцовой фокального пятна на верхней поверхности опорного окна. Для этого на окно установлена металлическая диафрагма

диаметром $\approx 0,5$ мм. За счет латеральных перемещений этой диафрагмы найдено ее положение, при котором сквозь нее проходит максимальная амплитуда терагерцового пучка, а амплитуда отраженной волны минимальна; в этом положении диафрагма концентрична терагерцовому фокальному пятну. Затем собран и зафиксирован относительно опорного окна блок оптической визуализации образца на основе камеры CMOS, объектива и светодиодов (Рис. 2.5 (а), (б)). На видимом изображении отмечалось положение диафрагмы и терагерцового фокального пятна, после чего диафрагма была удалена с окна, а положение фокального пятна на изображении сохранено в памяти компьютера. Это позволило изучать разные точки образца за счет перемещения по окну.

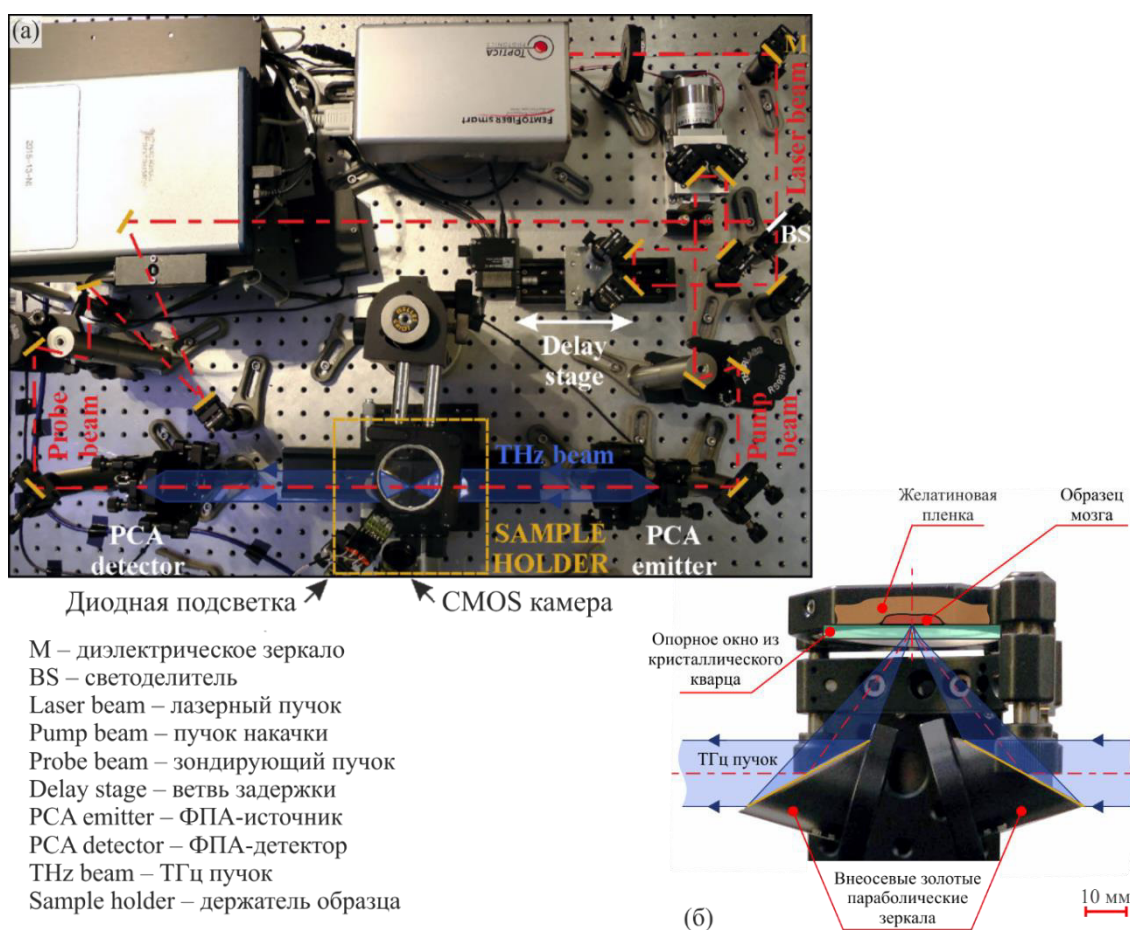


Рис. 2.5. Терагерцовый импульсный спектрометр на базе ФПА от Vator для измерения тканей *ex vivo* [58]: (а) – фотография спектрометра с указанием основных элементов и хода пучков; (б) – фотография приставки для измерения тканей *ex vivo* с указанием хода пучка, пары внеосевых параболических зеркал и опорного окна из кристаллического кварца. На (а) показана приставка для измерения тканей и камера для визуализации образца, однако отсутствует кожух для азотной продувки терагерцового оптического пути.

2.2 Метод оценки оптических характеристик объекта в терагерцовой импульсной спектроскопии

В главе 1 отмечалось, что спектроскопические исследования объектов различной природы с помощью импульсных систем предполагают решение обратной задачи, связанной с оценкой терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик объекта исследования (комплексного показателя преломления \tilde{n} , либо показателя преломления n и коэффициента поглощения α , либо комплексной диэлектрической проницаемости $\tilde{\epsilon}$; см. выражения (1.1) и (1.2))) по наблюдаемым сигналам спектрометра во временной $E(t)$ или частотной $\tilde{E}(\nu)$ областях. В основе любого метода решения обратной задачи лежит физико-математическая модель взаимодействия излучения с образцом в оптическом тракте системы с учетом эффектов деления волнового фронта и фазовых набегов на границах раздела сред, фазовых набегов и поглощения волны в объеме материалов, а также резонансов и интерференции в плоско-слоистых средах. Обычно геометрия эксперимента предполагает зондирование объекта низкоапертурными пучками (максимальный апертурный угол – $\theta_{\max} \leq 25^\circ$) при нормальном падении и отражении ($\theta = \theta' = 0$) или малых углах падения и отражения ($< 25^\circ$). В этом случае для описания пропускания и отражения излучения на границах раздела сред используются приближение плоской волны и формулы Френеля (для нормального падения) [25,29,30,71,72,234,494]. В главе 2 рассмотрим особенности решения обратной задачи при зондировании объекта спектроскопических исследования пучками терагерцового импульсного излучения при нормальном падении (или близком к нормальному).

С конца XX в. решению обратных задач импульсной спектроскопии уделяется пристальное внимание. Широкое распространение получили методы оценки терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик образцов в форме плоско-параллельных пластин (окон) в геометрии «на пропускание» [494,728,729]. Эти методы учитывают либо одиночный баллистический импульс, либо баллистический импульс в совокупности с импульсами-спутниками, являющимися следствием интерференции волны в образце. Для построения физико-математических моделей взаимодействия терагерцового излучения с образцом в таких методах используются формулы Френеля, закон Буггера-Ламберта-Бера и модель резонатора Фабри-Перо (зачастую для бесконечного числа резонансов в слое образца). Эти методы позволяют изучать широкий круг диэлектрических сред, причем толщина образца может варьироваться в широких пределах (~ 10 мкм–10 см). Они предъявляют высокие требования к качеству поверхностей ($\ll \lambda$) и отсутствию клиновидности ($< 3\text{--}5^\circ$) образца, а также требует априорного знания его толщины [494].

При ярко выраженных резонансах в спектрах (вследствие интерференции), толщина образца может быть установлена (или уточнена) в ходе обработки сигналов за счет использования критериев гладкости восстановленных оптических (диэлектрических) характеристик [71,494]. Одновременная оценка диэлектрического отклика и толщины образца с помощью импульсной спектроскопии для ненормального падения излучения на образец рассмотрена в работе [730], однако ненормальная геометрия измерений предполагает более трудоемкое решение обратной задачи [731,732].

Уделялось внимание вычислительным аспектам оценки терагерцового отклика, подходам к минимизации невязки между моделью и экспериментальными данными. Для этого использовались метод итераций с фиксированной точкой [733], симплексный подход Нелдера-Мида [734], метод доверительных интервалов [735–737], алгоритм Левенберга-Марквардта [738–740], метода внутренней точки [741–743], метода последовательного квадратичного программирования [744,745] и глобальная оптимизация. Растущие вычислительные возможности позволяют решать обратную задачу импульсной спектроскопии в реальном масштабе времени, что особо актуально для терагерцовой импульсной визуализации (глава 1) [746]. Уделялось внимание и автоматизации поиска начальных приближений терагерцовых оптических (диэлектрических) свойств, либо выбору физически обоснованного решения на основе конечного числа минимумов функционала ошибки (невязки между моделью и экспериментом) [747]. В работе [748] предложены методы самокалибровки, позволяющие восстанавливать диэлектрический отклик на основе обработки единственного сигнала импульсного спектрометра (без опорного сигнала).

В 2000 г. точность оценки диэлектрического отклика была повышена за счет использования принципов дифференциальной терагерцовой импульсной спектроскопии [749,750]. В ней практически одновременно измеряются опорный сигнал и сигнал образца (во временной области) в каждом положении механической ветви задержки. Это минимизирует погрешности измерений, связанные с нестабильностью во времени фемтосекундного лазера и атмосферы. Этот метод наиболее перспективен для изучения тонких пленок (до ~ 100 нм) или сред с низким показателем преломления и слабым поглощением, для которых характерны малые различия между опорным сигналом и сигналом образца. Совместная регистрация опорного сигнала и сигнала образца достигается за счет вращения образца в держателе с заданной частотой [751–755]. Несмотря на конструктивные отличия дифференциальной импульсной спектроскопии, методика оценка диэлектрического отклика с помощью этого метода не претерпевает кардинальных изменений.

В работах [452,453,756–759] измерения образца проводились с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии под углом Брюстера или в геометрии ПВО. Измерения под углом Брюстера позволяют до некоторой степени повысить энергетическую эффективность – отношение сигнала к шуму во временной и частотной областях. Схема с ПВО эффектом требует предварительной калибровки, однако обеспечивает высокую чувствительность, вплоть до анализа диэлектрического отклика монослоя клеток [452,453,759].

В работах [760–767] для оценки терагерцового диэлектрического отклика использовались априорные данные о характере наблюдаемых спектральных особенностей. В этом случае заранее выбирается модель диэлектрической дисперсии, включающая резонансные и релаксационные составляющие, а также вклад проводимости (глава 1). Обратная задача решается путем нахождения параметров диэлектрической модели и толщины образца, минимизирующих невязку между моделью и экспериментом; моделями параметризуются непосредственно спектры пропускания или отражения образца, амплитудные или по интенсивности. Подобная модельная оценка диэлектрических характеристик эффективна, если объект обладает характерными спектральными особенностями, которые могут быть предсказаны теоретически и описаны аналитически (или хотя бы численно). В противном случае модельные подходы могут привести к потере спектральной информации, выходящий за рамки выбранной модели.

Все больше работ посвящено методам оценки терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик образца с применением машинного обучения, нейронных сетей и генетических алгоритмов, не предполагающих построения строгой физико-математической модели взаимодействия излучения с образцом [768–773]. Такие методы весьма спорны, так как требуют создания исходной (обучающей) базы данных спектральных характеристик, для чего используются классические подходы. Эти модели легко обучаются для работы с узким спектром сред (узкими диапазонами вариации спектральных характеристик), тогда как их применение к новым объектам может привести к непредсказуемым результатам.

Анализ существующих методов решения обратной задачи терагерцовой импульсной спектроскопии выявил потребность в новых подходах, учитывающих специфику регистрируемых сигналов, особенности взаимодействия импульсного излучения с объектом спектроскопического исследования, конечный диапазон регистрации временного сигнала. Эти методы должны работать с различными геометриями эксперимента и обеспечивать возможность изучения объектов различной природы, включая биологические ткани. Эта проблема будет решена ниже в данной главе диссертации.

2.2.1 Общий подход к решению обратной задачи импульсной спектроскопии

Оценка комплексного показателя преломления \tilde{n} (или комплексной диэлектрической проницаемости $\tilde{\varepsilon} \approx \tilde{n}^2$) образца на основе сигналов импульсного спектрометра предполагает минимизацию невязки (векторного функционала ошибки Φ) между экспериментальными данными и их физико-математической моделью [20,25,29,30,58,71,494]

$$\tilde{n} = \operatorname{argmin}_{\tilde{n}}[\Phi], \quad \Phi = \left(\begin{array}{c} |\tilde{H}_{\text{th}}| - |\tilde{H}_{\text{exp}}| \\ \varphi[\tilde{H}_{\text{th}}] - \varphi[\tilde{H}_{\text{exp}}] \end{array} \right), \quad (2.1)$$

где \tilde{H}_{th} – теоретическая передаточная функция, определяемая моделью взаимодействия импульсного излучения с оптическим трактом спектрометра и образцом, \tilde{H}_{exp} – экспериментальная передаточная функция, вычисляемая на основе сигналов спектрометра.

В общем случае функционал Φ может зависеть не только от комплексного показателя преломления образца \tilde{n} , но и от других переменных, например, от его толщины l . Восстановление частотной зависимости комплексного показателя преломления \tilde{n} с помощью (2.1) обычно осуществляется независимо для каждого дискретного отсчета частоты, при этом при переходе с одной частоты на другую избегаются нефизичные скачки спектральных кривых, связанные с ошибками измерения и обработки фазы, либо неточным знанием толщины образца. В случае анализа только баллистических импульсов во временных сигналах (в отсутствие резонансов излучения в образце), оптические характеристики вычисляются на основе этих сигналов напрямую (аналитически) [16]. Однако это может негативно сказываться на спектральном разрешении и сопровождается краевыми эффектами, связанными с аподизацией сигналов для выделения баллистического импульса. Минимизация Φ выполняется с помощью одного из отмеченных выше численных подходов.

Функционал Φ может иметь несколько локальных минимумов (решений), поэтому для выбора одного верного требуется задать начальные приближения для показателя преломления n_{init} и коэффициента поглощения α_{init} , а также допустимые интервалы их вариации $[n_{\text{min}}, n_{\text{max}}]$ и $[\alpha_{\text{min}}, \alpha_{\text{max}}]$. Эти значения определяются на основе априорных данных об объекте исследования, либо на основе результатов предварительной обработки сигналов [29,30]. Например, для оценки начального приближения показателя преломления n_{init} анализируются временные задержки баллистического импульса и импульсов-

спутников во временных сигналах; для коэффициента поглощения α_{init} – спад амплитуды баллистического импульса во временной области.

В выражении (2.1) экспериментальная передаточная функция \tilde{H}_{exp} вычисляется на основе измеряемых сигналов импульсного спектрометра в частотной области, например, путем простого нормирования сигнала образца на опорный ($\tilde{H}_{\text{exp}} = \tilde{E}_s / \tilde{E}_r$); однако существуют и более сложных подходы к заданию \tilde{H}_{exp} , один из которых будет рассмотрен ниже. Подобное нормирование сигнала образца на опорный позволяет исключить (или минимизировать) влияние аппаратной функции прибора (его спектрально неоднородной чувствительности) на оценку терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик. В свою очередь, теоретическая передаточная функция \tilde{H}_{th} формируется на основе физико-математических моделей взаимодействия импульсного излучения с образцом в оптическом тракте спектрометра.

Рассмотрим базовую физико-математическую модель взаимодействия импульсного излучения с объектом исследования в терагерцовой импульсной спектроскопии, а также несколько примеров построения теоретической передаточной функций \tilde{H}_{th} для разных геометрий эксперимента.

2.2.2 Физико-математическая модель взаимодействия импульсного излучения с объектом

Если исследуемый объект прозрачен в терагерцовом диапазоне, его измерения проводятся в геометрии «на пропускание» [71]. Для этого твердым телам обычно придается форма плоско-параллельной пластинки (путем механической обработки) [23], а жидкости и аморфные тела заключаются между окнами кюветы (для формирования тонкого плоско-параллельного слоя) [20]. При измерении сильно поглощающих сред, включая биологических тканей *in vivo*, используется геометрия «на отражение», в которой плоская поверхность образца жестко фиксируется относительно спектрометра, а аморфные тела размещаются позади прозрачного опорного окна [25].

Сформулируем общий подход к построению физико-математической модели, описывающей распространение терагерцового импульса в оптическом тракте спектрометра и его взаимодействие с образцом, устанавливающий взаимосвязь между амплитудой волны на входе в тракт (E_{inc} и \tilde{E}_{inc} – во временной и частотной областях, соответственно) и после взаимодействия с элементами тракта и образцом (E_{sca} и \tilde{E}_{sca}) для различных значений

комплексного показателя преломления образца \tilde{n} . Для этого рассмотрим плоскую волну, распространяющуюся коллинеарно оптической оси OZ [4,234]

$$E(z, t) = E_0 \exp(-i(kz + \omega t + \varphi)) = \tilde{E}_0 \exp(-i(kz + \omega t)), \quad (2.2)$$

где E_0 – амплитуда электрического поля, k – волновое число, $\omega = 2\pi\nu$ – круговая частота, φ – фаза. В правой части выражения (2.2) вводится комплексная амплитуда волны $\tilde{E}_0 = E_0 \exp(-i\varphi)$, несущая информацию о ее амплитуде E_0 и фазе φ . Направление распространения волны фиксировано, а рассматриваемые среды линейны (нет нелинейной конверсии частоты ω), поэтому опустим экспоненциальный множитель $\exp(-i(kz + \omega t))$ в правой части выражения (2.2) и сведем задачу моделирования к описанию эволюции комплексной амплитуды волны \tilde{E}_0 [318,681].

Преобразование комплексной амплитуды при прохождении волны через границу раздела сред 1 и 2 (с комплексными показателями преломления \tilde{n}_1 и \tilde{n}_2) описывается формулами Френеля (для амплитуды и нормального падения; Рис. 2.6) [25,71,72]:

$$\begin{aligned} \tilde{E}_{T,s/p} &= \tilde{T}_{12,s/p} \tilde{E}_{0,s/p}, & \tilde{T}_{12,s} &= \tilde{T}_{12,p} = \frac{2\tilde{n}_1}{\tilde{n}_1 + \tilde{n}_2}, \\ \tilde{E}_{R,s/p} &= \tilde{R}_{12,s/p} \tilde{E}_{0,s/p}, & \tilde{R}_{12,p} &= -\tilde{R}_{12,s} = \frac{\tilde{n}_2 - \tilde{n}_1}{\tilde{n}_1 + \tilde{n}_2}, \end{aligned} \quad (2.3)$$

где $\tilde{E}_{T,s/p}$, $\tilde{E}_{R,s/p}$, $\tilde{E}_{0,s/p}$ – комплексные амплитуды прошедшей, отраженной и падающей волн, $\tilde{T}_{12,s/p}$, $\tilde{R}_{12,s/p}$ – комплексные коэффициенты пропускания и отражения для s и p поляризаций. При нормальном падении можно остановиться на рассмотрении одной из поляризаций, при этом для второй решение будет идентичным. Здесь рассмотрим p поляризацию. Важно отметить: при ненормальной геометрии эксперимента или широкой апертуре пучка поляризационные эффекты необходимо учитывать; см. главу 4 [43,44,62].

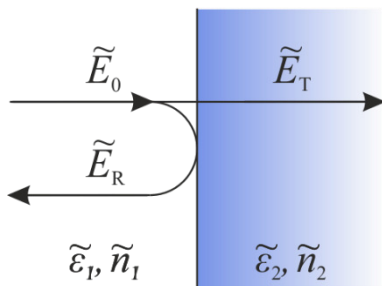


Рис. 2.6. Взаимодействие плоской волны с границей раздела сред [234].

Выражения (2.3) строго справедливы для нормального падения, однако они могут применяться и при небольших углах падения ($\theta \leq 25^\circ$), включая измерения в слабо сфокусированном (низкоапертурном) пучке, и в ненормальной геометрии с малыми углами падения ($\theta \leq 25^\circ$), ведь при столь малых θ коэффициенты Френеля отличаются

незначительно от нормального падения [318,681]. Выражения (2.3) могут применяться при незначительно угловой разориентации образца относительно оптической оси ($\leq 5^\circ$) [494]. Формулы Френеля справедливы для идеальных границ раздела с пренебрежимо малыми шероховатостью и отклонением от плоскости ($\ll \lambda$), что предъявляет соответствующие требования к качеству подготовки образца.

Фазовый набег и затухание электромагнитной волны в объеме среды 1 (с комплексным показателем преломления \tilde{n}_1) описываются модифицированным законом Бугера-Ламберта-Бера [25,71,72]

$$\tilde{E}_z = \tilde{E}_0 \tilde{P}_1, \quad \tilde{P}_1 = \exp\left(-i \frac{2\pi\nu}{c} \tilde{n}_1 z\right), \quad (2.4)$$

где \tilde{E}_z, \tilde{E}_0 – комплексная амплитуда в точках z и 0 , \tilde{P}_1 – оператор фазового набега и затухания при распространении волны от 0 до z . Этот закон нарушается при рассеянии излучения (в режиме Ми) на мезомасштабных ($\sim \lambda$) неоднородностях образца. Однако он справедлив для большого класса сред (в том числе биологических тканей), для которых зачастую характерны субволновые ($\ll \lambda$) неоднородности (Рис. 1.5) и которые могут быть описаны с помощью эффективных оптических (диэлектрических) характеристик.

Опираясь на (2.2)–(2.4), сформулируем подход к физико-математическому моделированию взаимодействия импульсного излучения с объектом исследования в терагерцовой импульсной спектроскопии [234].

- 1) Задание начальной комплексной амплитуды волны \tilde{E}_{inc} (выражение (2.2)), падающей на объект исследования, расположенный в свободном пространстве (при измерении твердых тел), в кювете (при измерении тонких слоев жидкостей или аморфных сред) или позади опорного окна (при измерении объемных образцов биологических тканей).
- 2) Трассировка волны через объект исследования (в свободном пространстве, кювете или держателе), корректировка комплексной амплитуды с учетом деления волнового фронта и фазовых набегов на границах раздела (с помощью выражений (2.3)), фазовых набегов и поглощения в объеме сред (выражение (2.4)).
- 3) Когерентное суммирование комплексной амплитуды баллистического импульса и волн-спутников после взаимодействия с образцом с учетом геометрии измерений, конечного временного диапазона регистрации сигналов и выбранного окна аподизации. Учет конечного размера временного окна и конечного числа волн-спутников принципиален для терагерцовой импульсной спектроскопии по сравнению с альтернативными методами, характеризующимися бесконечной длиной когерентности источника.

- 4) Нормировка суммарной комплексной амплитуды волны после взаимодействия с объектом спектроскопических исследований (модель сигнала образца) на комплексную амплитуду опорной волны после прохождения через пустой измерительный тракт (модель опорного сигнала) для получения теоретической передаточной функции \tilde{H}_{th} .

Рассмотрим примеры трассировки комплексной амплитуды импульса в оптическом тракте спектрометра и построения теоретической передаточной функции \tilde{H}_{th} для нескольких геометрий эксперимента.

2.2.3 Прохождение импульсного излучения через однослойный объект в свободном пространстве или диэлектрической кювете

На Рис. 2.7 с помощью пространственно-временной диаграммы показана трассировка терагерцового пучка через образец в форме плоско-параллельной пластины с комплексным показателем преломления \tilde{n}_1 и толщиной l_1 , окруженный свободным пространством с $\tilde{n}_0 = 1,0$. После взаимодействия с образцом одиночного импульса с комплексной амплитудой \tilde{E}_{inc} на детектор падает гребенка импульсов, включая баллистический (первый) и несколько спутников, обусловленных резонансами в образце.

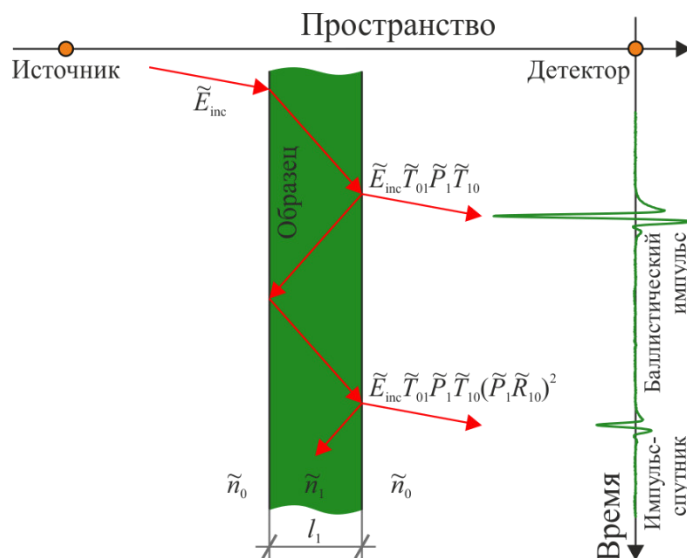


Рис. 2.7. Трассировка комплексной амплитуды импульса при его прохождении через образец в форме плоско-параллельной пластины с комплексным показателем преломления \tilde{n}_1 и толщиной l_1 , окруженной свободным пространством с $\tilde{n}_0 = 1,0$.

С учетом фазового набега в оптическом тракте спектрометра (за вычетом толщины образца l_1), описываемого оператором $\tilde{P}_0(l_0 - l_1)$, детектируемая комплексная амплитуда импульса имеет вид суммы членов геометрической прогрессии

$$\tilde{E}_s = \tilde{E}_{inc} \tilde{T}_{01} \tilde{P}_1 \tilde{T}_{10} \tilde{P}_0(l_0 - l_1) (1 + \tilde{P}_1^2 \tilde{R}_{10}^2 + \tilde{P}_1^4 \tilde{R}_{10}^4 + \dots), \quad (2.5)$$

где индексы 0, 1 соответствуют свободному пространству и образцу. Конечный размер временного окна регистрации сигналов в сочетании с их аподизацией (глава 1) ведет к регистрации конечного числа импульсов N , описываемых соответствующими членами прогрессии (2.5). Поэтому перейдем к сумме N членов геометрической прогрессии

$$\tilde{E}_s = \tilde{E}_{\text{inc}} \tilde{T}_{01} \tilde{P}_1 \tilde{T}_{10} \tilde{P}_0 (l_0 - l_1) \frac{1 - (\tilde{P}_1^2 \tilde{R}_{10}^2)^N}{1 - \tilde{P}_1^2 \tilde{R}_{10}^2}. \quad (2.6)$$

В рассматриваемой схеме измерений в качестве опорного сигнала регистрируется импульс, прошедший сквозь пустой измерительный отсек и имеющий комплексную амплитуду

$$\tilde{E}_r = \tilde{E}_{\text{inc}} \tilde{P}_0 (l_0). \quad (2.7)$$

С учетом (2.6) и (2.7) запишем теоретическую передаточную функцию \tilde{H}_{th} для данной геометрии эксперимента через отношение сигналов \tilde{E}_s и \tilde{E}_r

$$\tilde{H}_{\text{th}} = \frac{\tilde{E}_s}{\tilde{E}_r} = \tilde{T}_{01} \tilde{P}_1 \tilde{T}_{10} \tilde{P}_0 (-l_1) \frac{1 - (\tilde{P}_1^2 \tilde{R}_{10}^2)^N}{1 - \tilde{P}_1^2 \tilde{R}_{10}^2}. \quad (2.8)$$

Эта функция используется для оценки оптических (диэлектрических) характеристик твердых объектов по проходящему излучению с помощью выражения (2.1). При этом экспериментальная передаточная функции \tilde{H}_{exp} , с которой \tilde{H}_{th} сравнивается в выражении (2.1), вычисляется как отношение спектров экспериментальных сигналов $\tilde{H}_{\text{exp}} = \tilde{E}_{s,\text{exp}} / \tilde{E}_{r,\text{exp}}$ (после их аподизации).

Для минимизации функционала ошибки Φ в соответствии с (2.1) требуются начальные приближения искомым оптическим характеристикам. Начальное приближение показателя преломления $n_{1,\text{init}}$ можно оценить из положений максимумов баллистических импульсов t_1 и t_0 в сигнале образца E_s и опорном E_r , соответственно,

$$n_{1,\text{init}} \approx \frac{c_0}{l_1} (t_1 - t_0) + 1. \quad (2.9)$$

Начальное приближение коэффициента поглощения $\alpha_{1,\text{init}}$ (по амплитуде) задается через отношение максимальных амплитуд баллистических импульсов в сигналах E_s и E_r

$$\alpha_{1,\text{init}} \approx -\frac{1}{l_1} \ln \left[\frac{\max_t |E_s(t)|}{\max_t |E_r(t)|} \right]. \quad (2.10)$$

Число суммируемых волн N в выражении (2.8) может либо оцениваться на основе визуального анализа сигнала образца E_s , либо автоматически вычисляться из априорных данных о показателе преломления $n_{1,\text{init}}$ (выражение (2.9)) и ширины временного интервала T , в котором регистрируется сигнал $E(t)$; T задается от максимума баллистического импульса в опорном сигнале t_0 до последнего регистрируемого временного отсчета (с учетом аподизации). Во втором случае оценка N принимает вид

$$N = \text{floor} \left[\frac{Tc_0}{(n_{1,\text{init}} - 1)l_1} \right], \quad (2.11)$$

где $\text{floor}[\dots]$ – оператор округления к ближайшему меньшему целому числу.

Минимизация функционала ошибки и оценка комплексного показателя преломления в соответствии с выражением (2.1) начинается вблизи максимума спектральной чувствительности импульсного спектрометра (~ 1 ТГц) и выполняется последовательно при переходе к более низким и высоким частотам, вплоть до границ рабочего спектрального диапазона. В цифровом формате фаза хранится в «пилообразной» форме в интервале $[-\pi, \pi]$ (или $[0, 2\pi]$), а перед минимизацией функционала выполняется процедура ее развертки (phase unwrap) применительно к передаточной функции \tilde{H}_{th} . Развертка фазы начинается с частоты, на которой она определена однозначно (на этой частоте при распространении волны в образце набег фазы не превышает 2π (по сравнению со свободным пространством эквивалентной толщины) и является идентичной в развернутой и «пилообразной» формах; это исключает нефизичные скачки фазы.

Перейдем к измерению жидких или аморфных сред, помещенных между диэлектрическими окнами кюветы (Рис. 2.1). В данном случае сигнал образца E_s регистрируется, когда в фокальной плоскости слегка сфокусированного пучка установлена кювета с образцом; опорный сигнал E_r – когда в фокусе пучка установлена кювета без образца с сомкнутыми (прижатыми друг к другу) окнами [20,21]. Это обеспечивает эквивалентный фазовый набег импульса при прохождении через окна кюветы в сигнале образца и опорном сигнале, минимизируя влияние дефокусировки пучка на результаты измерений (сохраняя длину оптического пути в измерительном тракте). Воспользуемся Рис. 2.8 для построения моделей сигналов.

Окна кюветы изготовлены из HRFZ-Si с высоким терагерцовым показателем преломления ($\tilde{n}_{\text{Si}} \approx 3,415 - i0,0$) и имеют значительно большую по сравнению с образцом толщину ($l_1 \gg l_2$). Поэтому импульсы спутники, возникающие в результате резонансов волны в окнах кюветы, будут иметь значительно большую временную задержку относительно баллистического импульса, чем импульсы спутники, связанные с резонансами в образце. Импульсы-спутники, вызванные резонансами в окнах кюветы, без труда удаляются из сигнала за счет аподизации. В таком случае модель комплексной амплитуды сигнала образца \tilde{E}_s может быть записана в виде

$$\tilde{E}_s = \tilde{E}_{\text{inc}} \tilde{T}_{01} \tilde{P}_1^2 \tilde{T}_{12} \tilde{P}_2 \tilde{T}_{21} \tilde{T}_{10} \tilde{P}_0 (l_0 - 2l_1 - l_2) \frac{1 - (\tilde{P}_2^2 \tilde{R}_{21}^2)^N}{1 - \tilde{P}_2^2 \tilde{R}_{21}^2}, \quad (2.12)$$

где 0, 1, 2 – свободное пространство, материал окон и образец, соответственно, а $\tilde{P}_0(l_0 - 2l_1 - l_2)$ описывает фазовый набег волны при распространении во всем оптическом тракте спектрометра длиной l_0 , исключая окна кюветы толщиной $2l_1$ и образец толщиной l_2 . Модель комплексной амплитуды опорного сигнала \tilde{E}_r после пустой кюветы

$$\tilde{E}_r = \tilde{E}_{inc} \tilde{T}_{01} \tilde{P}_1^2 \tilde{T}_{10} \tilde{P}_0(l_0 - 2l_1), \quad (2.13)$$

где $\tilde{P}_0(l_0 - 2l_1)$ – фазовый набег волны во всем измерительном тракте, исключая окна кюветы толщиной $2l_1$.

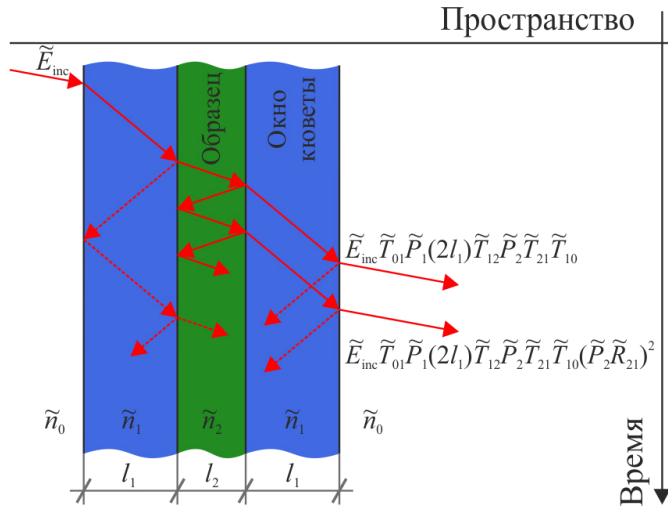


Рис. 2.8. Трассировка комплексной амплитуды импульса при его прохождении импульса через образец в форме слоя жидкости с комплексным показателем преломления \tilde{n}_2 и толщиной l_2 , зажатого между толстыми ($l_1 \gg l_2$) окнами кюветы (\tilde{n}_1), расположенной в свободном пространстве ($\tilde{n}_0 = 1,0$).

Для рассматриваемой геометрии измерений введем теоретическую передаточную функцию через отношение комплексных амплитуд \tilde{E}_s и \tilde{E}_r

$$\tilde{H}_{th} = \frac{\tilde{E}_s}{\tilde{E}_r} = \tilde{T}_{12} \tilde{P}_2 \tilde{T}_{21} \tilde{P}_0(-l_2) \frac{1 - (\tilde{P}_2^2 \tilde{R}_{21}^2)^N}{1 - \tilde{P}_2^2 \tilde{R}_{21}^2} \quad (2.14)$$

и заметим ее схожесть с выражением (2.8). Поиск начальных приближений показателя преломления $n_{2,init}$, коэффициента поглощения $\alpha_{2,init}$ и числа суммируемых волн N для образца в кювете также осуществляется схожим образом (выражения (2.9)–(2.11)), а комплексный показатель преломления окон кюветы \tilde{n}_{s_i} определяется априорно. Таким образом, минимизация функционала Φ (выражение (2.1)), построенного на базе теоретической передаточной функции \tilde{H}_{th} (выражение (2.14)) и экспериментальных данных позволяет восстановить оптические (диэлектрические) характеристики жидкого образца в кювете по проходящем излучению. Экспериментальная передаточная функции \tilde{H}_{exp} вычисляется как отношение спектров сигналов $\tilde{H}_{exp} = \tilde{E}_{s,exp} / \tilde{E}_{r,exp}$ (после аподизации), где сигнал образца $\tilde{E}_{s,exp}$ наблюдается за кюветой с образцом, а опорный $\tilde{E}_{r,exp}$ – за пустой кюветой с сомкнутыми окнами.

При оценке терагерцовых оптических характеристик в геометрии «на пропускание» с помощью выражений (2.1), (2.8) и (2.14) неточное знание толщины образца l ведет к ошибкам, а именно – вызывает периодические модуляции спектров n и α из-за рассогласования модельной и реальной толщин. Погрешность априорного определения толщины твердого тела с помощью микрометра (Рис. 2.7) и задания толщины жидкости (аморфного тела) с помощью проставок между окнами кюветы (Рис. 2.1 и 2.8) должна быть значительно меньше длины волны излучения ($\ll \lambda$), причем это требование должно быть выполнено для минимальной длины волны в спектре терагерцового импульса. На практике толщина должна определяться с точностью ~ 1 мкм.

Если толщина l и показатель преломления n образца достаточно велики в сравнении с длиной волны ($nl \geq \lambda$) и одновременно толщина l достаточно мала по сравнению с глубиной проникновения излучения в образец ($l \leq 3\delta = 3\alpha^{-1}$), в сигнале образца наблюдаются ярко выраженные волны-спутники во временной области E_s и связанные с ними интерференционные эффекты в частотном пространстве \tilde{E}_s . В этом случае толщина l может быть оценена априорно с низкой точностью (до нескольких сот микрометров, что можно обеспечить даже визуальным осмотром) и уточнена программно в ходе решения обратной задачи. Для этого оценка оптических характеристик выполняется для различных толщин в окрестности априорного грубого значения, после чего для каждой толщины вычисляется критерий гладкости этих характеристик $R(l)$, минимум которого и соответствует искомой толщине

$$l = \operatorname{argmin}_l [R(l)]. \quad (2.15)$$

Критерий $R(l)$ может быть задан через производные (по частоте) от ТГц оптических характеристик [18,71] или с помощью оператора сглаживания $\mathcal{S}[\dots]$ спектральных характеристик

$$R(l) = \frac{\int_{\nu} (n(l, \nu) - \mathcal{S}[n(l, \nu)]) d\nu}{\int_{\nu} \mathcal{S}[n(l, \nu)] d\nu} + \frac{\int_{\nu} (\alpha(l, \nu) - \mathcal{S}[\alpha(l, \nu)]) d\nu}{\int_{\nu} \mathcal{S}[\alpha(l, \nu)] d\nu}. \quad (2.16)$$

Сглаживание $\mathcal{S}[\dots]$ может выполняться различными способами, например, с использованием скользящего среднего с большой (по сравнению с периодом модуляций спектральных кривых) шириной.

2.2.4 Отражение импульсного излучения от объекта позади опорного окна

При изучении сильно поглощающих сред, включая биологических тканей, в геометрии «на отражение», образец помещается позади опорного окна, см. Рис. 2.2, 2.3 и

2.9. В этом случае сигнал образца E_s (окно с тканью позади) и опорный сигнал E_r (пустое окно или окно с зеркалом позади) содержат набор импульсов:

- первый импульс, соответствующий отражению от передней поверхности окна (по ходу пучка) и являющийся идентичным для сигнала образца E_s и опорного E_r ;
- второй импульс, соответствующий отражению от задней поверхности опорного окна (границ раздела «окно – образец» для E_s , а также «окно – свободное пространство» или «окно – зеркало» для E_r);
- импульсы-спутники, связанные с резонансами внутри опорного окна.

На Рис. 2.9 показано, что комплексная амплитуда первого импульса составляет $\tilde{E}_{\text{inc}}\tilde{R}_{01}$. Он не несет информации об объекте, но может быть полезен при обработке данных для определения общего начала отсчета времени в сигналах E_s и E_r . Это особенно важно при исследовании биологических объектов *in vivo*, когда объект способен оказать давление на опорное окно и сместить его вдоль оптической оси. Такая возможность используется ниже при спектроскопии кожи и невусов *in vivo*. Второй импульс с комплексной амплитудой $\tilde{E}_{\text{inc}}\tilde{T}_{01}\tilde{P}_1^2\tilde{R}_{12}\tilde{T}_{10}$ несет информацию об объекте, заложенную во френелевском коэффициенте отражения \tilde{R}_{12} . Именно на основе анализа этого импульса осуществляется оценка терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик. Импульсы-спутники также содержат информацию об образце, однако их достаточно сложно описать аналитически. С ростом числа резонансов волны в опорном окне (соответственно, с ростом ее оптического пути в окне) все большее влияние на регистрируемые сигналы оказывают эффекты дефокусировки пучка, так как в эксперименте фокальная плоскость обычно совпадает с задней поверхностью окна, а глубина резкости конечна. Поэтому импульсами-спутниками в данной геометрии удобнее пренебречь, убрав их с помощью аподизации.

В соответствии с Рис. 2.9 для оценки комплексного показателя преломления образца \tilde{n}_2 после уточнения общего начала отсчетов времени в сигналах E_s и E_r выполняется их аподизация, которая оставляет только второй импульс, соответствующий отражению от задней поверхности окна. Отношение спектров этих сигналов задает экспериментальную передаточную функцию \tilde{H}_{exp} , а эквивалентная ей теоретическая \tilde{H}_{th} принимает вид

$$\tilde{H}_{\text{th}} = \frac{\tilde{E}_s}{\tilde{E}_r} = \frac{\tilde{R}_{12}}{\tilde{R}_{10}}, \quad (2.17)$$

где \tilde{R}_{10} и \tilde{R}_{12} – коэффициент отражения Френеля (по амплитуде) для границ «окно – образец» и «окно – свободное пространство», соответственно. Минимизация невязки между \tilde{H}_{th} и \tilde{H}_{exp} (выражение (2.1)) позволяет получить однозначную оценку \tilde{n}_2 (без знания начальных приближений).

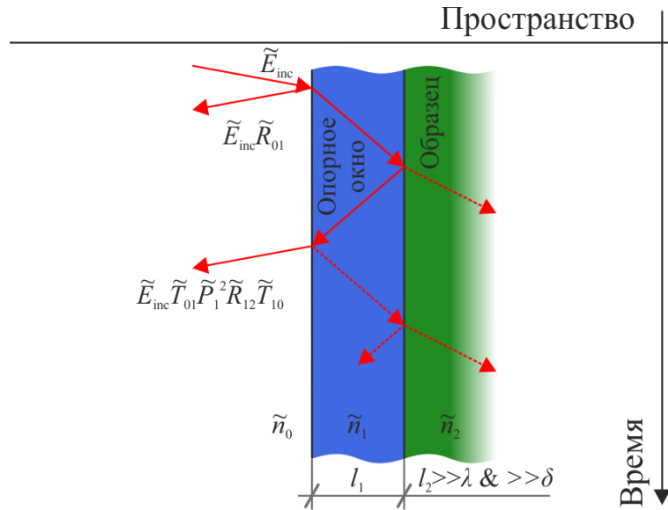


Рис. 2.9. Трассировка комплексной амплитуды ТГц поля для отражения импульса от толстого ($l_2 \gg \lambda$ и $l_2 \gg \delta = \alpha^{-1}$) образца с комплексным показателем преломления \tilde{n}_2 , расположенного позади опорного окна (\tilde{n}_1) толщиной l_1 и окруженного свободным пространством ($\tilde{n}_0 = 1,0$).

Альтернативный подход к построению теоретической передаточной функции для рассматриваемой геометрии эксперимента рассмотрен в работе [234]. В нем регистрировались один сигнал образца E_s и сразу два опорных – E_r и E_m , соответствующих отражению импульсного излучения от окна со свободным пространством и золотым зеркалом позади. Аподизация применяется ко всем сигналам, оставляя первый и второй импульсы, относящиеся к передней и задней поверхностям опорного окна, и удаляя импульсы-спутники. Теоретическая передаточная функция задается выражением [25–27]

$$\tilde{H}_{th} = \frac{\tilde{E}_s - \tilde{E}_r}{\tilde{E}_m - \tilde{E}_r}. \quad (2.18)$$

Аналогично ей задается и экспериментальная передаточная функция, после чего вычисляются оптические характеристики образца (выражение (2.1)). Этот подход более трудоемкий, так как предполагает измерение и обработку сразу трех сигналов. Однако он автоматически исключает из сигналов первый импульс (при вычитании), позволяя расширить окно аподизации и повысить спектральное разрешение, а также позволяет проверить совместность сигналов E_s , E_r и E_m (на стадии вычитания).

Тем не менее результаты характеристики тканей с применением моделей (2.17) и (2.18) не имеют принципиальных отличий, учитывая широкие релаксационные спектральные особенности, формирующие терагерцовый диэлектрический отклик тканей (глава 1). В обоих случаях необходимо априорно знать комплексный показатель преломления \tilde{n}_1 и толщину l_1 опорного окна. В диссертации это опорное окно изготовлено из кристаллического кварца и предварительно охарактеризовано лабораторной импульсной системой, показанной на Рис. 2.1.

Описав основные физико-математические модели взаимодействия импульсного излучения с объектом исследования в терагерцовой импульсной спектроскопии и связанный с ними метод оценки оптических (диэлектрических) свойств объекта для разных геометрий эксперимента, перейдем к экспериментальной апробации новых методов на объектах различной природы.

2.3 Экспериментальная апробация метода оценки оптических характеристик объекта в терагерцовой импульсной спектроскопии

Разработанные выше физико-математические модели взаимодействия ТГц излучения с объектом исследования и связанные с ними методы решения обратной задачи терагерцовой импульсной спектроскопии применяются в научно-исследовательской деятельности ИОФ РАН, МГТУ им. Н.Э. Баумана, ИФТТ РАН и Сеченовского университета. Описанное лабораторное спектроскопическое оборудование и методы позволили изучить диэлектрический отклик объектов различной природы в терагерцовом диапазоне и проанализировать связанные с этим откликом физико-химические процессы.

Изучены терагерцовые диэлектрические свойства полимера нафiona [72], связующих полимерных композитов в процессе отверждения [19], нового нанопористого оптического материала с управляемым электродинамическим откликом на основе искусственных опаловых матриц из наночастиц SiO_2 , отожженных при различных температурах и подверженных влиянию влажной атмосферы [23,24,68]. Изучена эволюция терагерцовых диэлектрических свойств α -лактозы моногидрата в процессе ее термической декомпозиции при различных температурах; оценены скорость протекания и энергия активации Аррениуса для данной химической реакции [22,65]. Получены данные о терагерцовых оптических свойствах гидрогелей [64]. Зарегистрированы широкополосные диэлектрические спектры лабораторных аналогов межзвездных и околозвездных льдов различного молекулярного состава, выращенных и отожженных при криогенных температурах [29,30].

Значительное внимание уделялось приложениям новых методов в биофотонике, что будет детальной рассмотрено в диссертации. Изучены терагерцовые оптические свойства распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей, в результате чего выбраны оптимальные агенты для терагерцовой биофотоники [20,21] (глава 2). Изучены *in vivo* терагерцовые оптические свойства здоровой кожи человека [25] и ее пигментных новообразований (невусов или родинок) [26–28] (глава 2). Изучена эволюция терагерцовых диэлектрических характеристик децеллюляризованных

клеточных матриц в процессе адсорбции ими паров воды; оценена постоянная времени процесса адсорбции [44] (глава 4). Изучены *ex vivo* терагерцовые оптические характеристики интактных тканей головного мозга человека и глиом различной степени злокачественности [58,60], а также модели глиомы 101.8 в мозгу крысы [62]; показана возможность дифференциации интактных тканей и опухоли (глава 5).

2.3.1 Спектроскопия тестовых диэлектрических сред по проходящему излучению

Рассмотрим результаты верификации метода оценки терагерцовых оптических свойств твердых объектов в форме плоско-параллельной пластинки в геометрии «на пропускание» (Рис. 2.7). Для этого с помощью лабораторного импульсного спектрометра изучены тестовые образцы керамик и кристалла GaAs, используемые в Отделе субмиллиметровой спектроскопии ИОФ РАН для поверки спектрометров на базе ЛОВ. Их диэлектрический отклик измерен априорно с высокой точностью с помощью ЛОВ [18,71].

На Рис. 2.10 (а) и (б) для образца слабо поглощающей керамики показаны сигнал образца E_s и опорный E_r во временной области до и после аподизации с помощью окна Тьюки (ширина – 45 пс; параметр гладкости – 0,2). Этот оконный фильтр удаляет паразитные импульсы из сигналов спектрометра, оставляя только баллистические импульсы и один спутник, а также подавляет шумы Гиббса [18,29,71]. На Рис. 2.10 (в) и (г) показаны модуль $|\tilde{H}_{\text{exp}}|$ и фаза $\varphi[\tilde{H}_{\text{exp}}]$ экспериментальной комплексной передаточной функции \tilde{H}_{exp} (амплитудного коэффициента пропускания). Она рассчитана как отношение комплексных амплитуд сигналов \tilde{E}_s и \tilde{E}_r (после аподизации). Заметим спад пропускания, фазовый набег, а также модуляции спектральных кривых.

С помощью выражений (2.1) и (2.8)–(2.11) получены оценки показателя преломления n и коэффициента поглощения α (по амплитуде) для трех тестовых образцов (Рис. 2.11 (а) и (б)). Толщина образцов измерялась априорно штангенциркулем и уточнялась программно с помощью выражений (2.15) и (2.16) (Рис. 2.11 (в)). На Рис. 2.11 результаты оценки терагерцовых оптических свойств с помощью разработанных методов импульсной спектроскопии (непрерывные линии) сравниваются с данными спектроскопии на базе ЛОВ (маркеры) [18,71], причем для спектроскопии на базе ЛОВ показан доверительный интервал измерений (3%), обусловленный стоячими волнами в оптическом тракте и другими факторами.

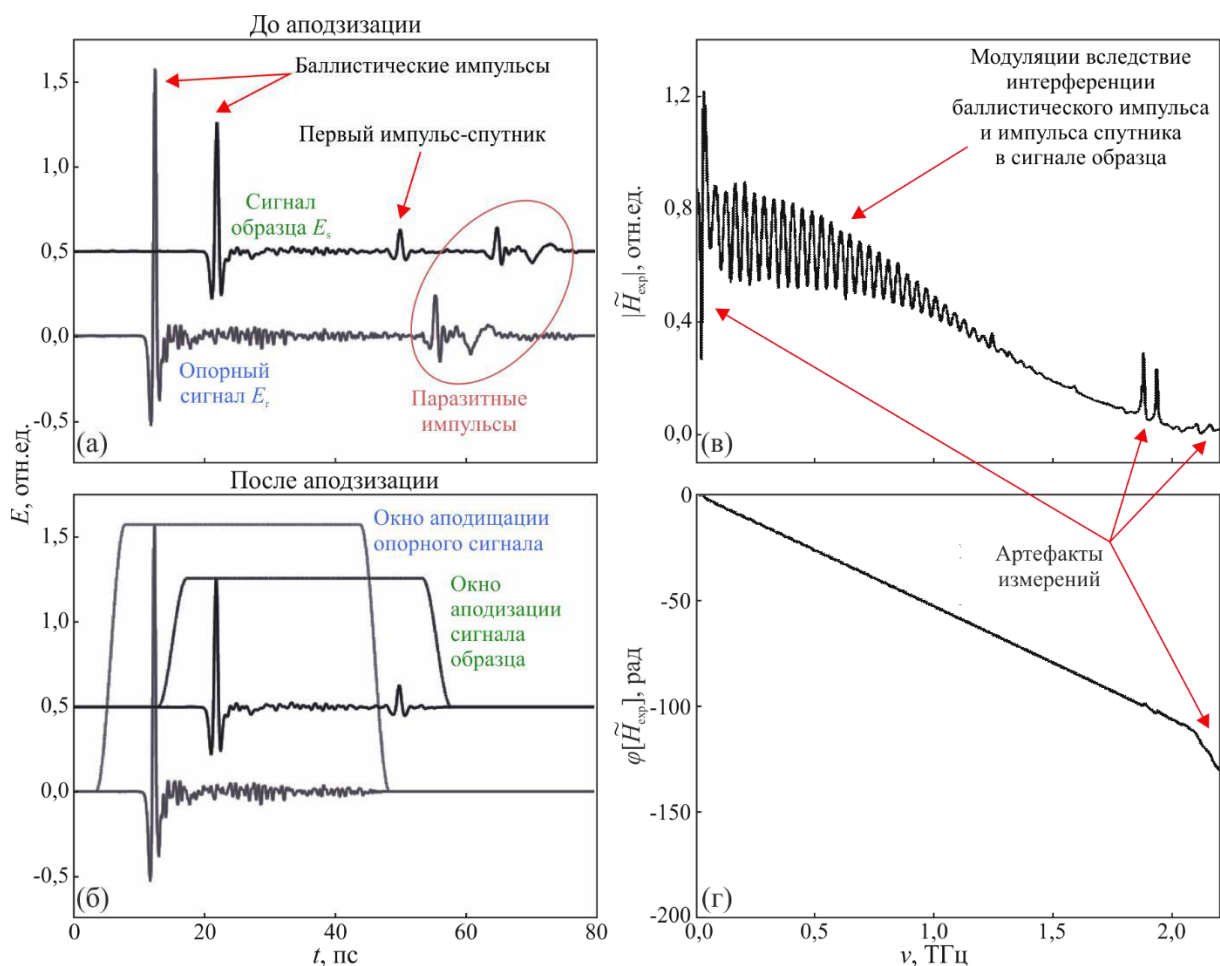


Рис. 2.10. Апробация метода оценки терагерцовых оптических характеристик твердого объекта в форме плоско-параллельной пластины в геометрии «на пропускание» (на примере слабо поглощающей керамики) [18,71]: (а) и (б) – сигнал образца E_s и опорный E_r во временной области до и после аподизации, соответственно; (в) и (г) – модуль $|\tilde{H}_{exp}|$ и фаза $\varphi[\tilde{H}_{exp}]$ комплексной передаточной функции \tilde{E}_{exp} (амплитудного коэффициента пропускания), соответственно.

Полученные результаты оценки оптических свойств импульсными методами в полной мере согласуются с данными спектроскопии на базе ЛОВ, с точностью до доверительных интервалов. Таким образом, спектроскопия на базе ЛОВ позволила верифицировать разработанные физико-математические модели и метод решения обратной задачи импульсной спектроскопии (выражения (2.1), (2.8)–(2.11), (2.15) и (2.16)) в спектральных полосах генерации отдельных ЛОВ, в совокупности охватывающих широкую область частот $\approx 0,3\text{--}1,2$ ТГц. Это позволяет рассчитывать на работоспособность разработанных моделей и методов во всем рабочем спектральном диапазоне терагерцовых импульсных систем. В главе 4 диссертации данный метод применялся при терагерцовой

импульсной спектроскопии децеллюляризованных клеточных матриц в процессе адсорбции ими паров воды [44].

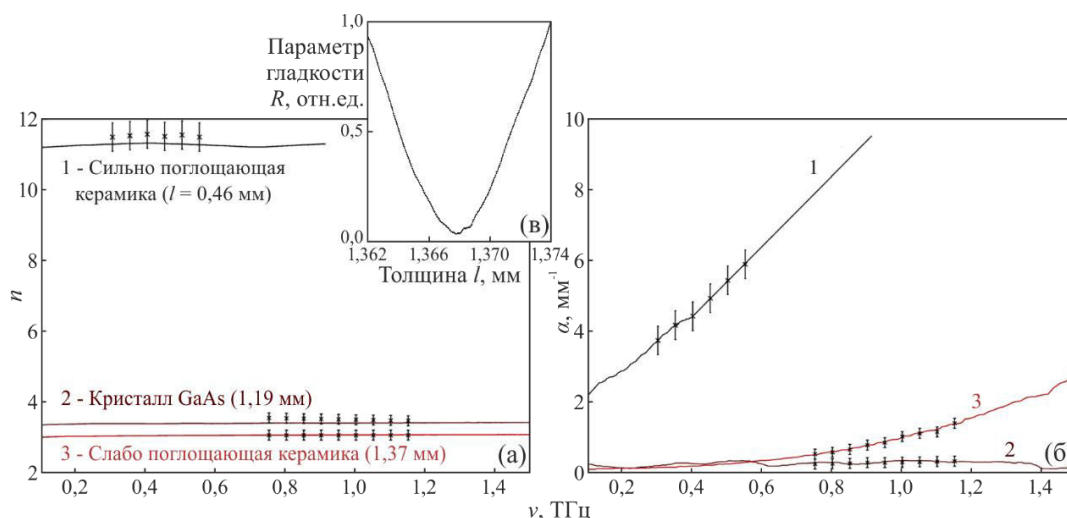


Рис. 2.11. Апробация метода оценки терагерцовых оптических характеристик твердого объекта в форме плоско-параллельной пластины в геометрии «на пропускание» (на примере сильно и слабо поглощающих керамик, а также кристалла GaAs) [18,71]: (а) – показатель преломления n , (б) коэффициент поглощения α (по амплитуде); (в) – иллюстрация программного уточнения толщины образца слабо поглощающей керамики с помощью критерия гладкости спектральных кривых $R(l)$. На панелях (а) и (б) непрерывные линии показывают данные импульсной спектроскопии, а маркеры – спектроскопии на базе ЛОВ.

2.3.2 Спектроскопия водных растворов агентов для иммерсионного оптического просветления тканей по проходящему излучению

Апробация метода восстановления терагерцовых оптических свойств жидкостей в диэлектрической кювете в геометрии «на пропускание» (Рис. 2.8; выражения (2.1) и (2.14)) включала исследование распространенных агентов, в том числе: глицерина, полиэтиленгликоля (ПЭГ) разной молекулярной массы, пропиленгликоля (ПГ), диметилсульфоксида (ДМСО), сахарозы, глюкозы, фруктозы, декстрана разной молекулярной массы, применяемых в иммерсионном оптическом просветлении тканей, а также их водных растворов (таблица 2.1) [20,21]. Подобные исследования крайне актуальны при адаптации методов иммерсионного оптического просветления тканей для терагерцовой биофотоники (глава 1) [74,75]; они позволят выбрать оптимальные агенты, обеспечивающие высокий инкремент глубины терагерцового зондирования тканей.

Водные растворы с указанными в таблице 2.1 концентрациями приготовлены с использованием чистых агентов в жидкой или порошкообразной формах и дионизированной воды (HLP Hydrolab, Польша). Для жидких агентов использовался метод «объем–объем»; для порошков – «масса–объем»; взвешивание проводилось лабораторными аналитическими весами AND HR-250AZG (максимальный вес – 210 мг; точность – 0,1 мг) [20]. Агенты и их водные растворы измерялись в прокачанной кювете (Рис. 2.1 (б)) в вакуумном отсеке терагерцовой импульсной системы (Рис. 2.1 (а)). Толщина слоя жидкости в кювете подбиралась независимо для каждого образца в диапазоне 100–500 мкм, чтобы максимизировать чувствительность и широкополосность измерений.

Таблица 2.1. Изученные агенты для иммерсионного оптического просветления тканей и концентрации их водных растворов [20,21].

Агент	Производитель	Концентрации, %
Глицерин	Spektr Chem (Россия)	20, 40, 60, 70 и 80
ПЭГ 200	Нижекамскнефтехим (Россия)	20, 40, 60, 70 и 80
ПЭГ 300	Sigma Aldrich (Германия)	20, 40, 60 и 80
ПЭГ 400	Нижекамскнефтехим (Россия)	20, 40, 60, 70 и 80
ПЭГ 600	Nor Chem (Россия)	20, 40, 60 и 80
ПГ	Chemical Line (Россия)	20, 40, 60, 70 и 80
ДМСО	Spektr Chem (Россия)	20, 40, 60 и 80
Сахароза	Pan Reac (Испания)	10, 30 и 50
Глюкоза	Hungrana KFT (Венгрия)	10, 30 и 50
Фруктоза	Pan Reac (Испания)	10, 30 и 50
Декстран 40	Appli Chem (Германия)	10, 30 и 50
Декстран 70	Appli Chem (Германия)	10, 30 и 50

Разработанные методики позволили оценить оптические характеристики агентов и их водных растворов в частотном диапазоне 0,1–2,5 ТГц. На Рис. 2.12 приведен пример оценки одновременно (а) показателя преломления n , (б) коэффициента поглощения α и (в) толщины l чистого глицерина. На (а), (б) заметны модуляции спектральных кривых n , α при неправильной оценке толщины слоя жидкости l . Уточнение l с помощью критерия гладкости $R(l)$, как показано на (в), позволяет избежать подобных модуляций; минимум функции $R(l)$ соответствует наиболее гладким кривым n и α . Подобный подход к уточнению толщины работает только для образцов жидкостей с достаточно слабым

поглощения, ведь в противном случае импульсы-спутники (во временной области) и модуляции (в частотном пространстве) в сигналах спектрометра подавляются.

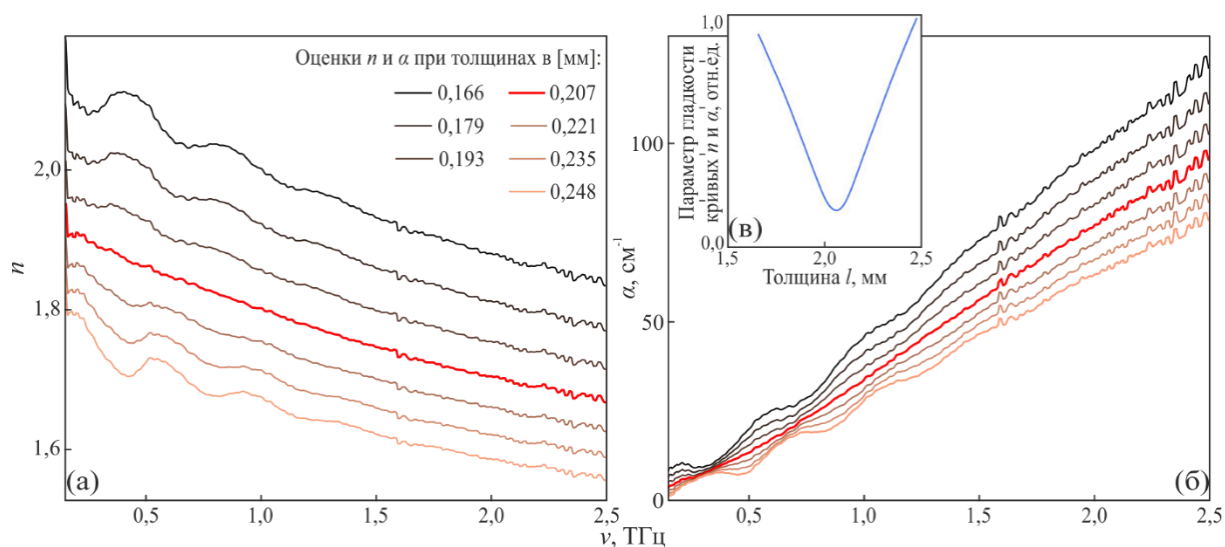


Рис. 2.12. Иллюстрация процесса одновременной оценки (а) терагерцового показателя преломления n , (б) коэффициента поглощения α (по амплитуде) и (в) толщины l чистого глицерина [774].

Результаты оценки терагерцовых оптических характеристик чистых жидких агентов и водных растворов агентов (как жидких, так и порошкообразных) показаны на Рис. 2.13–2.17 в сравнении с полученными результатами измерения деионизированной водой [20,21]. Важно отметить, что полученные результаты спектроскопии деионизированной воды в полной мере согласуются с многочисленными литературными данными, например с работой [324]; это также позволяет косвенно верифицировать разработанные методы терагерцовой импульсной спектроскопии. На всех рисунках показаны спектрально однородные ошибки оценки n ($\approx 2\%$) и α ($\approx 10\%$). Желтой полосой выделен низкочастотный спектральный диапазон, для которого могут наблюдаться погрешности оценки вследствие дифракции на апертуре образца.

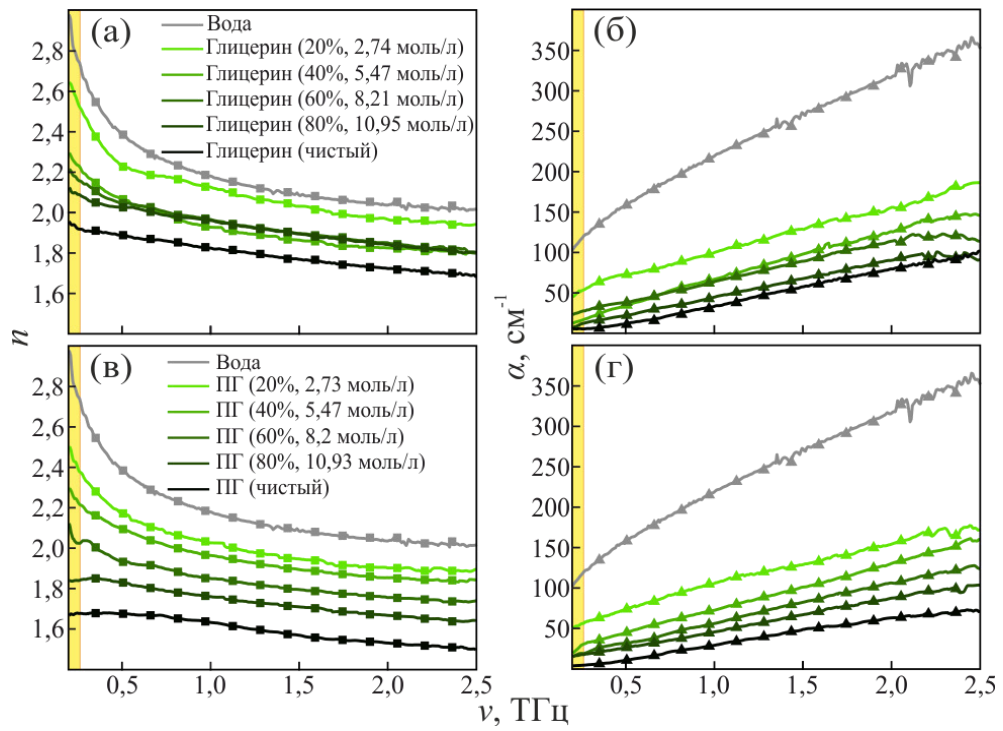


Рис. 2.13. Терагерцовый показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) деионизованной воды, агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов [20,21]: (а),(б) – глицерин; (в),(г) – ПГ.

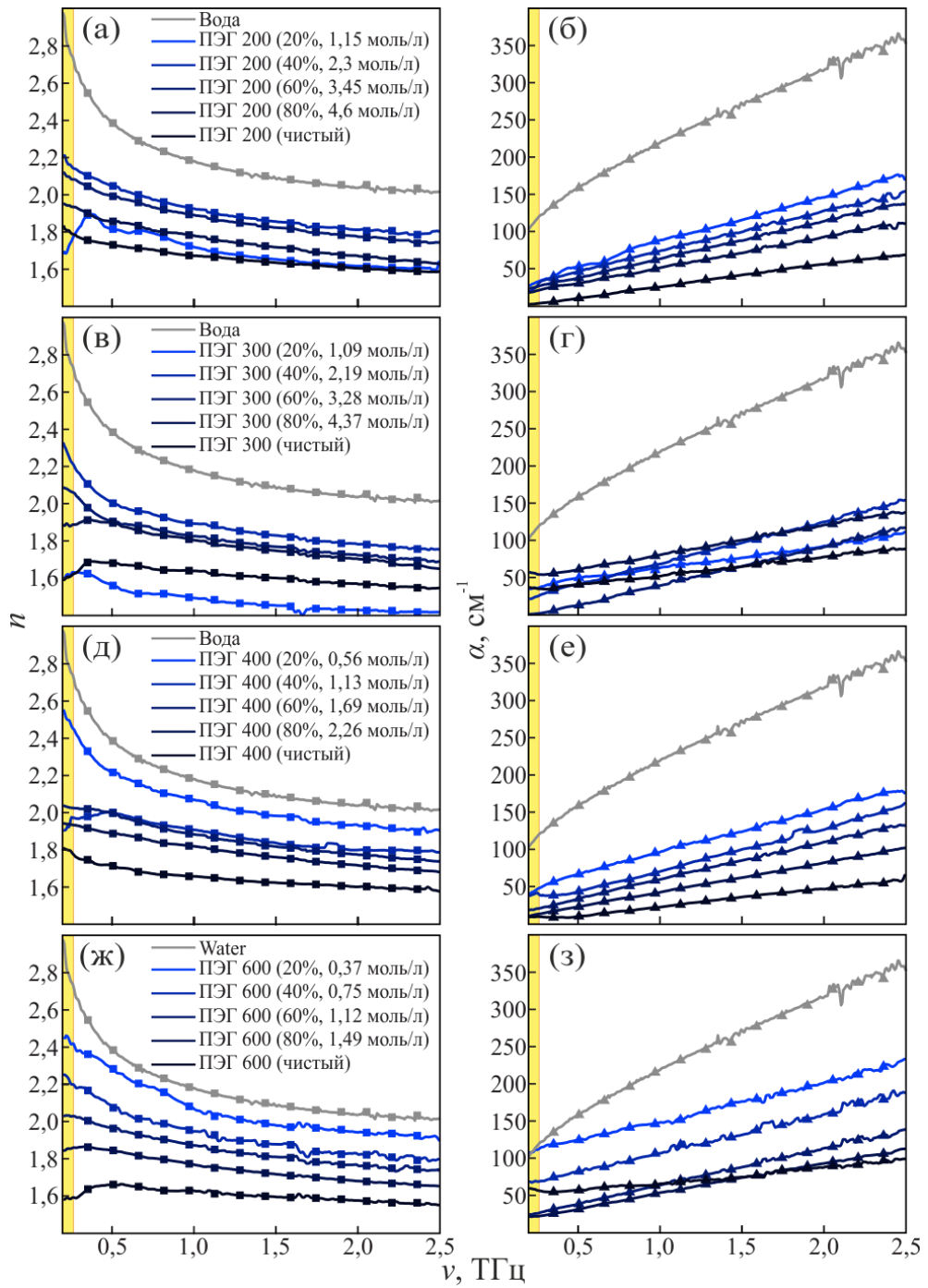


Рис. 2.14. Терагерцовый показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) деионизованной воды, агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов [20,21]: (а), (б) – ПЭГ 200; (в), (г) – ПЭГ 300; (д), (е) – ПЭГ 400; (ж), (з) – ПЭГ 600.

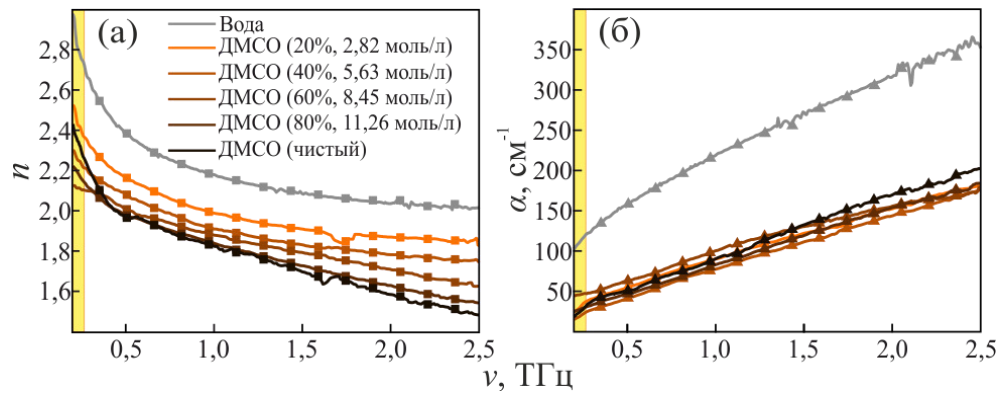


Рис. 2.15. Терагерцовый показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) деионизованной воды, агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов [20,21]: (а),(б) – ДМСО.

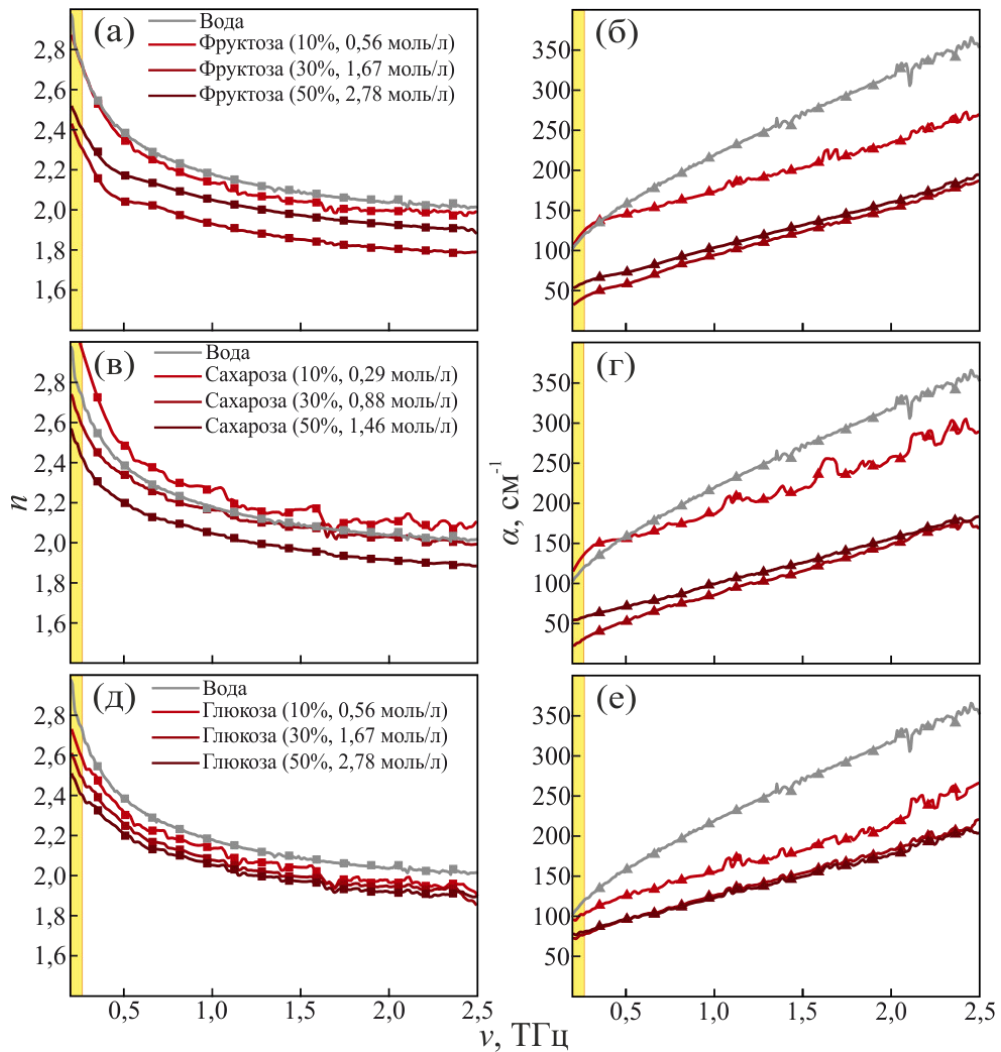


Рис. 2.16. Терагерцовый показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) деионизованной воды, агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов [20,21]: (а), (б) –фруктоза; (в), (г) – сахароза; (д), (е) – глюкоза.

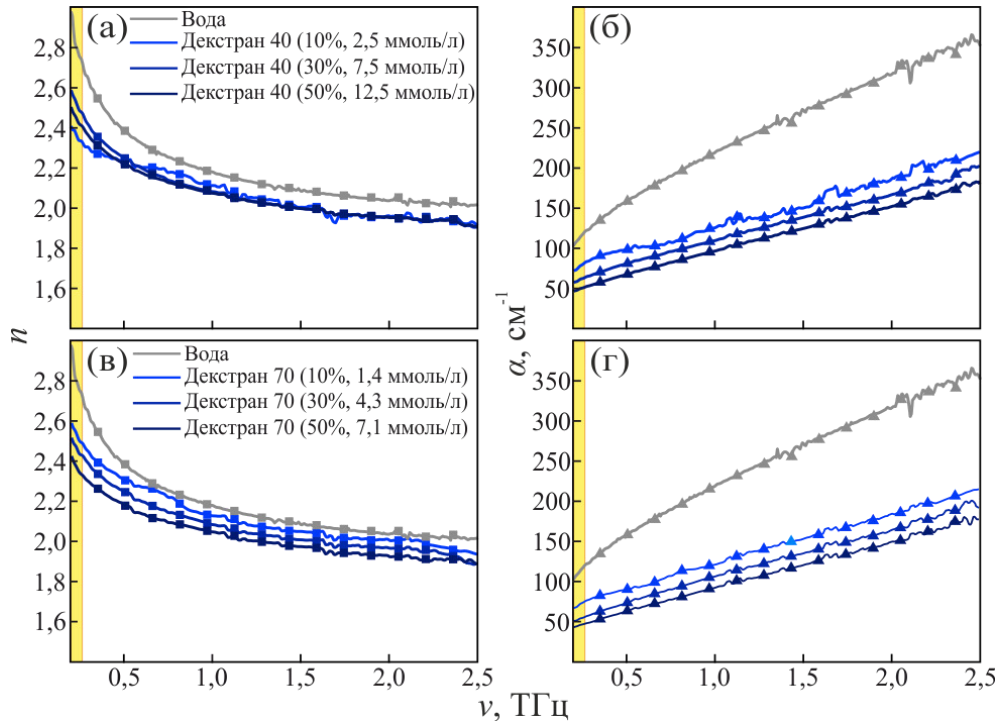


Рис. 2.17. Терагерцовый показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) деионизованной воды, агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов [20,21]: (а), (б) – декстран 40; (в), (г) – декстрана 70.

Очевидно, что значения показателя преломления n и амплитудного коэффициента поглощения α для всех агентов и их водных растворов ниже в сравнении с деионизированной водой. Учитывая, что именно воды является основным поглотителем терагерцового излучения в тканях и пренебрегая эффектами рассеяния терагерцовых волн на мезомасштабных неоднородностях тканей, можно заключить, что все рассмотренные агенты принципиально могут использоваться для иммерсионного оптического просветления тканей в терагерцовом диапазоне. Они способны частично или полностью заместить тканевую воду, снижая эффективный терагерцовый коэффициент поглощения тканей α и повышая глубину их терагерцового зондирования $\delta = \alpha^{-1}$ [20,21].

Наименьшее поглощение наблюдается у глицерина, ПГ, ПЭГ 200, 300 и 400; для их 50%-х водных растворов $\alpha \approx 60\text{--}70 \text{ см}^{-1}$ на 1,0 ТГц, что значительно меньше по сравнению с деионизированной водой ($\alpha \approx 210 \text{ см}^{-1}$). Учитывая взаимосвязь глубины проникновения и коэффициента поглощения ($\delta = \alpha^{-1}$), применение перечисленных агентов способно в разы повысить глубину терагерцового зондирования тканей. Тем не менее достижимый

инкремент глубины проникновения еще предстоит изучить экспериментально для различных терагерцовых частот, типов тканей и условий проведения измерений.

Эффективность агента определяется не только инкрементом глубины зондирования, но и скоростью процесса иммерсионного оптического просветления, задаваемой коэффициентом бимодальной диффузии D . Эта характеристика описывает одновременно перенос молекул агента в ткань и молекул воды из ткани [20]. Поэтому объективно сравнить агенты и выбрать из них наиболее подходящие можно только в двухмерном пространстве, одна координата которого несет информацию о терагерцовом поглощении, другая – о кинетике диффузии. Для этого предложен подход к сравнению агентов с помощью двумерных номограмм «терагерцовое поглощение α – коэффициент диффузии D » [20].

Рассмотрим выбор агентов для иммерсионного оптического просветления тканей мозга *ex vivo* в терагерцовом диапазоне. Наряду с терагерцовыми оптическими характеристиками агентов (Рис. 2.13–2.17) в работе [20] с помощью спектроскопии коллимированного пропускания в видимом диапазоне изучена кинетика бимодальной диффузии в ткани мозга крысы *ex vivo* чистых агентов (глицерин, ПГ, ПЭГ 200, 300 и 400) и их водных растворов (70%); методика таких измерений хорошо известна и является общепринятой, поэтому ее описание выходит за рамки диссертации. На Рис. 2.18 с помощью номограммы сравниваются терагерцовый коэффициент поглощения α (на 1,0 ТГц) и коэффициент диффузии D (применительно к тканям мозга *ex vivo*) для рассматриваемых агентов.

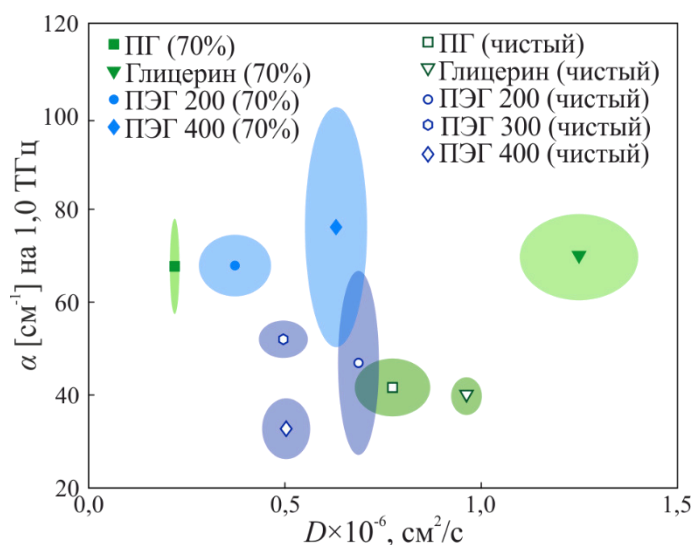


Рис. 2.18. Сравнение агентов для иммерсионного оптического просветления тканей в терагерцовом диапазоне и их водных растворов (70%) с помощью номограммы, отражающей коэффициент поглощения α (по амплитуде) на 1,0 ТГц и коэффициент диффузии D в ткани мозга крысы *ex vivo* [20]; эллиптические области – стандартные отклонения оценок.

Очевидно, что глицерин обладает одновременно малым терагерцовым поглощением и максимальной скоростью диффузии. Следовательно, он подходит для быстрого

просветления тканей с умеренным инкрементом глубины проникновения. В свою очередь, ПЭГ различной молекулярной массы (особенно ПЭГ 400) обладает средней скоростью диффузии и наименьшим коэффициентом поглощения. Поэтому он может обеспечить наибольший инкремент глубины проникновения, однако требует достаточно длительного приложения агента к тканям. Очевидно, что выбор агента для иммерсионного оптического просветления тканей в терагерцовом диапазоне предполагает компромисс между инкрементом глубины и скоростью процедуры [20].

Еще одним важным параметром агента для иммерсионного оптического просветления тканей *in vivo* является его токсичность. Наименьшей токсичностью характеризуются агенты, обладающие высоким биохимическим сходством с тканями и являющиеся метаболическими агентами в организме. Например, такими свойствами обладает глицерин – важный структурный элемент ряда липидов и метаболический продукт липолиза жировых клеток [775].

Методы иммерсионного оптического просветления тканей в терагерцовом диапазоне находятся на ранней стадии своего развития. Еще предстоит провести апробацию данного метода при работе с различными тканями *ex vivo* и *in vivo*, оценить вклад в экстинкцию терагерцового излучения не только его поглощения тканевой водой и агентом, но и его рассеяния на мезомасштабных неоднородностях тканей. Тем не менее предложенный подход к выбору агентов поспособствует развитию данного направления.

2.3.3 Спектроскопия *in vivo* здоровой кожи человека по отраженному излучению

Перейдем к апробации метода оценки терагерцовых оптических свойств биологических тканей *in vivo* в геометрии «на отражение» (Рис. 2.9; выражения (2.1), (2.17) и (2.18)) на примере кожи человека *in vivo* [25–28]. Эти исследования проводились с помощью импульсной системы zOmega microZ (Рис. 2.2–2.4) в сотрудничестве с коллективом акад. РАН, И.В. Решетова на клинических базах МНИОИ им. П.А. Герцена и Сеченовского университета.

На Рис. 2.19 показаны сигналы импульсного спектрометра во временной области:

- сигнал образца E_s , отраженный от опорного окна из кристаллического кварца с образцом здоровой кожи позади (рука человека);
- опорный сигнал E_r , отраженный от окна со свободным пространством позади;
- опорный сигнал E_m , отраженный от окна с золотым зеркалом позади.

Все три сигнала содержат (I) первый импульс, отраженный от передней поверхности окна, (II) второй импульс, отраженный от границ раздела «окно–образец» (E_s), «окно–свободное пространство» (E_r) или «окно–зеркало» (E_m), а также (III) третий импульс – спутник, связанный с резонансом волны в окне (Рис. 2.9).

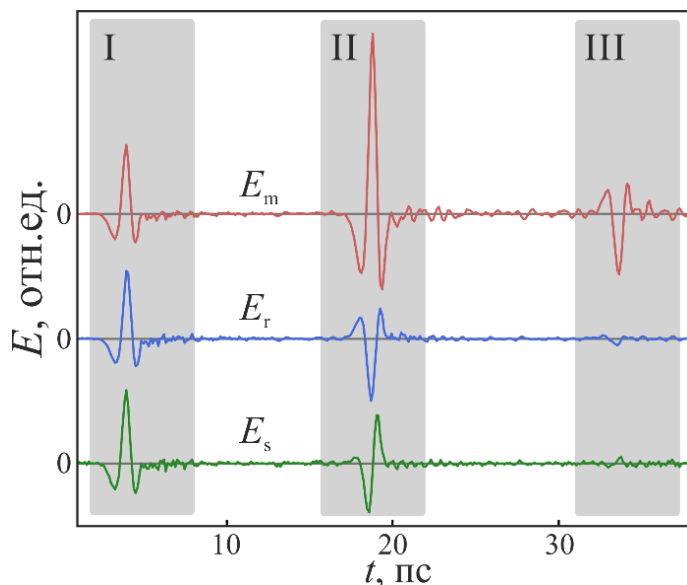


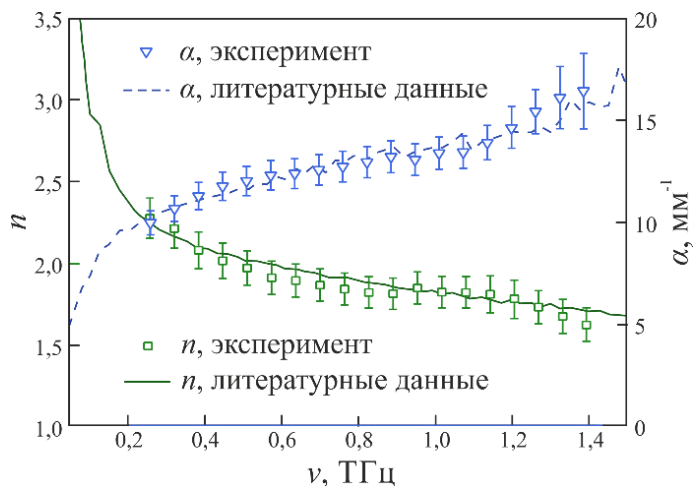
Рис. 2.19. Сигналы импульсной системы zOmega microZ [25]: E_s – сигнал образца; E_r , E_m – опорные сигналы; I – импульс, отраженный от передней поверхности окна; II – импульс, отраженный от границы раздела «окно–образец» (E_s), «окно–воздух» (E_r) и «окно–зеркало» (E_m); III – первый импульс-спутник.

На Рис. 2.20 результаты оценки показателя преломления n и амплитудного коэффициента поглощения α кожи на руке человека *in vivo* сравниваются с данными известной работы [327]. Зарегистрированные в диссертации оптические характеристики (маркеры и доверительные интервалы) в полной мере согласуются с литературными данными (непрерывные кривые), где спектрально неоднородные доверительные интервалы учитывают погрешности измерений и естественные флуктуации терагерцового отклика кожи руки. Полученные результаты позволили верифицировать новый метод оценки оптических свойств сильно поглощающих сред (включая ткани *in vivo*) в геометрии «на отражение» Проблема устойчивости решения обратной задачи (к различным негативным факторам) обсуждалась в работах [25,234].

С помощью нового метода изучены естественные флуктуации (вариабельность) эффективных терагерцовых оптических характеристик кожи человека *in vivo* в различных областях организма (Рис. 2.21) [25]. Наблюдаемые флуктуации могут быть связаны с рядом факторов, включая различные гидратацию кожи, шероховатость ее поверхности (она приводит к рассеянию волн) и толщины рогового слоя (верхнего слоя эпидермиса; Рис. 1.8 (б)). Толщина рогового слоя обычно мала по сравнению с длинами волн терагерцового излучения и, следовательно, не оказывает влияния на результаты терагерцовых измерений. Однако в ряде случаев она может быть достаточно велика, чтобы

искажить наблюдаемые терагерцовые сигналы [352]. Для учета отмеченной вариабельности эффективных терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик тканей при дифференциации (диагностики) тканей, отклик патологии должен сравниваться с откликом интактных тканей в непосредственной близости [25].

Рис. 2.20. Эффективный терагерцовый показатель преломления n и амплитудный коэффициент поглощения α для здоровой кожи на руке человека *in vivo* [25] в сравнении с известными литературными данными [327].



2.3.4 Спектроскопия *in vivo* обыкновенных и диспластических невусов кожи по отраженному излучению

В главе 1 обсуждалось, что перспективным приложением терагерцовой техники является ранняя неинвазивная диагностика злокачественных новообразований кожи [11], причем до последнего времени внимание уделялось исключительно слабопигментированным немеланомным видам рака (BCC и SCC) [10,11,376–378,490,510–513,776]. В диссертации разработанные методы терагерцовой импульсной спектроскопии применены для изучения пигментированных новообразований кожи – обыкновенных и диспластических невусов (родинок) [777]. Диспластический невус считается предшественником или нулевой стадией развития меланомы (меланома *in situ*), одного из наиболее злокачественных новообразований [778].

Для оценки возможности дифференциации обыкновенных и диспластических невусов с помощью импульсной спектроскопии проведены экспериментальные исследования на базе МНИОИ им. П.А. Герцена и Сеченовского университета. Изучены *in vivo* эффективные терагерцовые диэлектрические характеристики нескольких обыкновенных и диспластических невусов, а также окружающей их здоровой кожи [26,27,507]. Верификация данных осуществлялась с помощью оценки степени дисплазии невуса врачом-дерматологом, а для удаляемых хирургически диспластических невусов еще

и путем гистологических исследований. На Рис. 2.22 приведены клинические фотографии обыкновенного (а) и диспластического (б) нувусов.

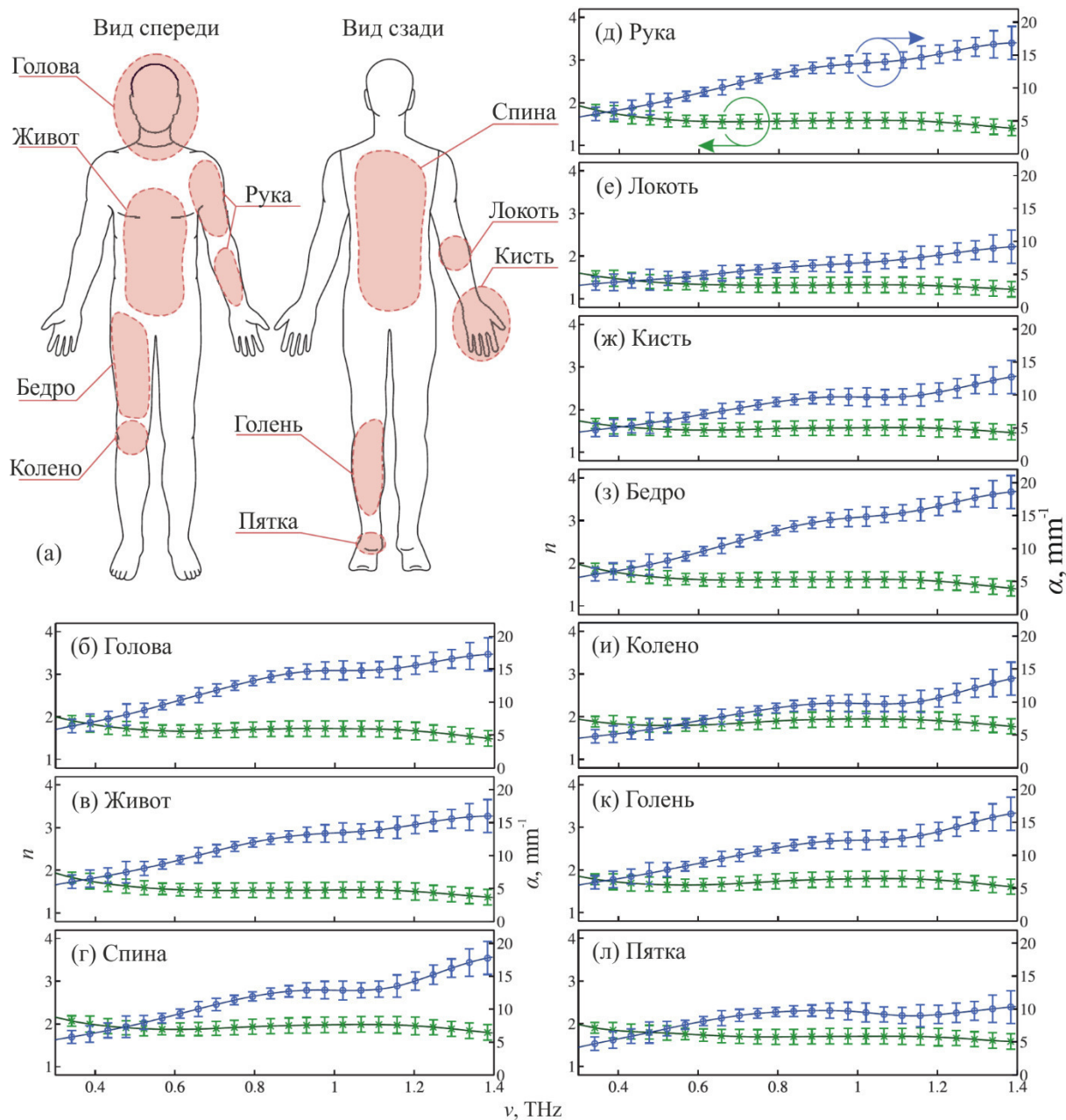


Рис. 2.21. Эффективный терагерцовый показатель преломления n и амплитудный коэффициент поглощения α для кожи в различных областях организма *in vivo* [25]: (а) – изученные области; (б)–(л) –оптические характеристики для кожи головы, живота, спины, руки, локтя, кисти, бедра, колена, голени и пятки, соответственно.

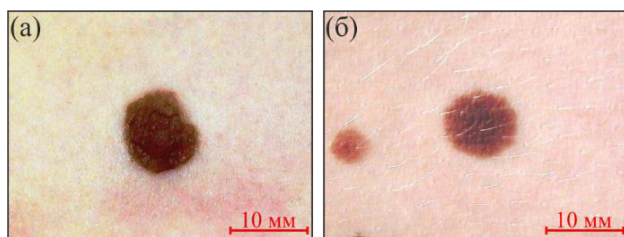


Рис. 2.22. Фотографии (а) обыкновенного и (б) диспластического невусов [26].

На Рис. 2.23 приведены результаты оценки *in vivo* эффективной комплексной диэлектрической проницаемости здоровой кожи ($\tilde{\epsilon}_S = \epsilon'_S - i\epsilon''_S$), обыкновенных ($\tilde{\epsilon}_N = \epsilon'_N - i\epsilon''_N$) и диспластических ($\tilde{\epsilon}_D = \epsilon'_D - i\epsilon''_D$) невусов четырех пациентов [26–28]: (а), (б) – действительная ϵ' и мнимая ϵ'' диэлектрическая проницаемость; (в) – диаграммы Коула-Коула $\epsilon''(\epsilon')$, широко применяемые для анализа результатов гигагерцовой–терагерцовой спектроскопии [72,346,347] при релаксационном характере наблюдаемых полос поглощения (выражение (1.3)) [324–326,328,779]. На комплексной плоскости Коула-Коула $\epsilon''(\epsilon')$ каждое слагаемое Дебая описывает полу-окружность, либо ее сектор [72,346,347]. Спектральный диапазон характеристики тканей ограничен в области низких частот ($\nu \geq 0,3$ ТГц) дифракционным пределом разрешения и конечным размером невуса, а в области высоких ($\nu \leq 1,0$ ТГц) – неоднородностью поверхности тканей, эффектами рассеяния и флуктуациями влажности в атмосфере. В диапазоне 0,3–1,0 ТГц наблюдалась воспроизводимость экспериментальных данных.

На Рис. 2.23 (а) наблюдаются статистические различия между *in vivo* действительной диэлектрической проницаемостью обыкновенных (ϵ'_N) и диспластических (ϵ'_D) невусов, а также здоровой кожи (ϵ'_S). В области I ($\nu \leq 0,45$ ТГц) обыкновенные невусы (ϵ'_N) отличаются одновременно от диспластических (ϵ'_D) и здоровой кожи (ϵ'_S); в области II ($0,85 \leq \nu \leq 0,95$ ТГц) здоровая кожа (ϵ'_S) – от невусов (ϵ'_N, ϵ'_D). Также заметны различия в наклоне диаграмм Коула-Коула $\epsilon''_S(\epsilon'_S)$, $\epsilon''_N(\epsilon'_N)$ и $\epsilon''_D(\epsilon'_D)$. Так как диэлектрический отклик тканей *in vivo* на терагерцовых частотах носит релаксационный характер [324–326,328,779] можно предположить, что наблюдаемый на Рис. 2.23 контраст обусловлен различиями в релаксационных процессах Дебая, связанными с тканевой водой (глава 1).

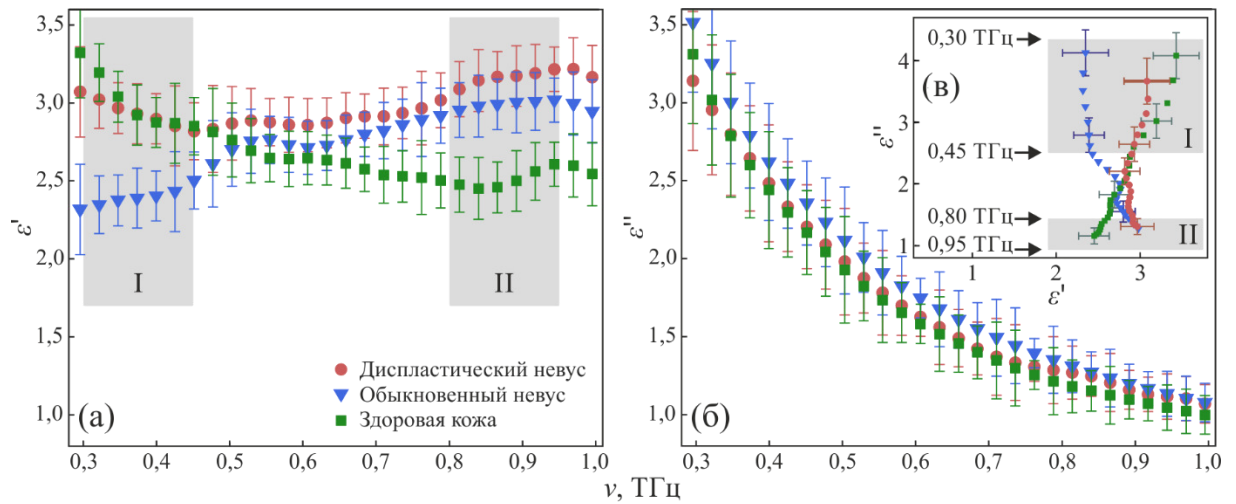


Рис. 2.23. Эффективный терагерцовый диэлектрический отклик *in vivo* обыкновенных и диспластических невусов в сравнении со здоровой кожей [26]: (а), (б) – действительная ε' и мнимая ε'' диэлектрическая проницаемость; (в) – диаграммы Коула-Коула $\varepsilon''(\varepsilon')$.

Для дифференциации обыкновенных и диспластических невусов по терагерцовым данным предложено сравнивать средний наклон диаграмм Коула-Коула [26], причем наклон кривых для невусов ($\varepsilon''_N(\varepsilon'_N)$, $\varepsilon''_D(\varepsilon'_D)$) сравнивается с интактной кожей ($\varepsilon''_S(\varepsilon'_S)$). Вычисление признака для дифференциации обыкновенных и диспластических невусов выполняется следующим образом.

- 1) Рассчитывается средний наклон диаграмм Коул-Коула θ для обыкновенных и диспластических невусов, а также здоровой кожи

$$\theta = \frac{1}{\Delta\nu} \int_{\Delta\nu} \arctan\left(\frac{d\varepsilon''}{d\varepsilon'}\right) d\nu, \quad (2.19)$$

где $\Delta\nu$ – спектральный диапазон измерений (0,3–0,95 ТГц).

- 2) Вычисляется наклон диаграмм Коула-Коула для обыкновенных и диспластических невусов относительно здоровой кожи

$$\Delta\theta_{N,D} = \theta_{N,D} - \theta_S. \quad (2.20)$$

Пример дифференциации четырех пар обыкновенных и диспластических невусов с помощью описанного подхода показан на Рис. 2.24. Наблюдается различный наклон диаграмм для всех пар обыкновенных и диспластических невусов (а), что позволяет ввести порог для их дифференциации – серая пунктирная прямая на (б).

Таким образом, пилотные результаты исследование показали принципиальную возможность дифференциации обыкновенных и диспластических невусов с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии [26–28]. Это свидетельствует о перспективности

применения терагерцовой техники в диагностике диспластических невусов и меланомы *in situ*. Важно отметить, что эти выводы нашли подтверждение в работе [780], где методами терагерцовой спектроскопии и визуализации была изучена модель меланомы кожи *ex vivo* и наблюдался схожий контраст между интактными тканями и новообразованием.

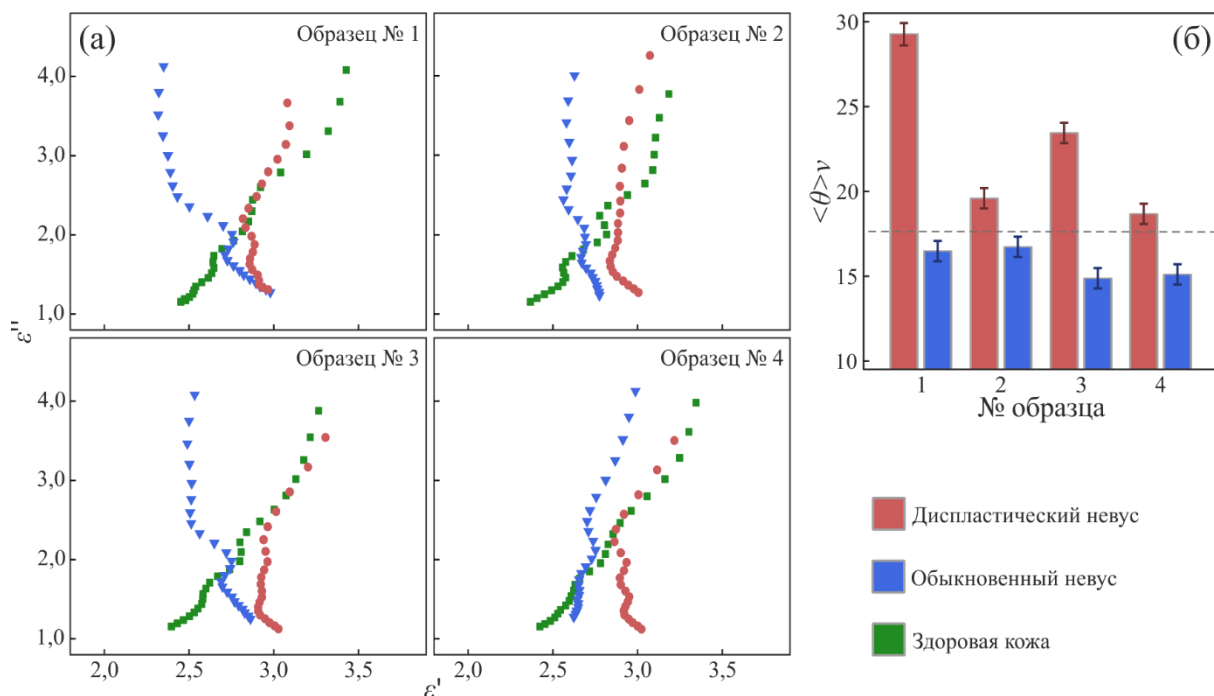


Рис. 2.24. Дифференциация обыкновенных и диспластических невусов *in vivo* с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии [26]: (а) – диаграммы Коула-Коула $\varepsilon''(\varepsilon')$ для *in vivo* обыкновенных и диспластических невусов, а также здоровой кожи четырех пациентов; (б) – дифференциация обыкновенных и диспластических невусов на основе наклона диаграмм Коула-Коула $\Delta\theta$.

Для объективной оценки возможности терагерцовой диагностики новообразований кожи представляется важным дальнейшее накопление верифицированной базы данных эффективных оптических (диэлектрических) характеристик тканей кожи в норме и при патологии. Статистический анализ такой базы позволит оценить чувствительность и специфичность методов терагерцовой диагностики новообразований и объективно сравнить их с существующими аналогами, уже применяемыми в клинической практике или находящимися в разработке или на стадии внедрения [781–786]. Этот анализ также позволит выработать более совершенные диагностические признаки и уточнить модели взаимодействия излучения с тканями [776].

Для сильно пигментированных тканей (включая обыкновенные и диспластические невусы, меланому) наряду с тканевой водой, высокое содержание пигмента может

оказывать заметное влияние на эффективные терагерцовые оптические (диэлектрические) характеристики тканей [506,787]. В этой связи требуется дальнейшее изучение природы различий здоровой кожи, обыкновенных и диспластических невусов, меланомы и др. патологий в терагерцовом диапазоне.

Отметим, что дифракционный предел пространственного разрешения терагерцовой импульсной спектроскопии ограничивает минимальные латеральные размеры объекта исследования, что особенно актуально при исследовании невусов и меланомы кожи. Мезомасштабные и субволновые новообразования не могут быть изучены с помощью классических методов терагерцовой спектроскопии и визуализации. В частности, это обстоятельство значительно ограничило выборку пигментных новообразований кожи, охарактеризованных в диссертации. Дальнейшее развитие данного терагерцового приложения предполагает создание высокоразрешающих терагерцовых оптических систем, инструментов и методов, способных изучать объекты малых размеров или детектировать границы новообразования с субволновым разрешением.

В данном разделе рассмотрена апробация разработанного метода восстановления терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик сильно поглощающих сред, включая ткани *in vivo*, в геометрии «на отражение» (выражения (2.1), (2.17) и (2.18)) на примере здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов *in vivo*. Апробации нового метода на *ex vivo* свежееисеченных интактных тканях и опухолях головного мозга человека и модельных животных посвящена глава 5.

2.4 Выводы по главе

В данной главе разработан метод решения обратной задачи терагерцовой импульсной спектроскопии, связанный с восстановлением оптических (диэлектрических) характеристик объектов различной природы (включая биологические ткани *in vivo*) для разных геометрий эксперимента, а также проведена его экспериментальная апробация.

- 1) Разработана физико-математическая модель взаимодействия импульсного излучения с измерительным трактом спектрометра и объектом исследования в терагерцовой импульсной спектроскопии.
- 2) На основе этой разработан метод восстановления терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик объектов различной природы (включая биологические ткани *in vivo*) для разных геометрий эксперимента: измерение твердых сред (в форме плоско-параллельной пластинки) или жидкости (в диэлектрической кювете) в геометрии «на пропускание», либо измерение

биологических тканей *in vivo* (закрепленных позади опорного окна) в геометрии «на отражение».

- 3) Впервые экспериментально изучены терагерцовые оптические характеристики распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов. Сравнительный анализ агентов с помощью двумерных номограмм «терагерцовый коэффициент поглощения – коэффициент бимодальной диффузии» позволил выбрать из них оптимальные для терагерцовой биофотоники.
- 4) Впервые экспериментально изучены эффективные терагерцовые оптические (диэлектрические) характеристики *in vivo* здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов. Показана существенная вариабельность терагерцового отклика кожи в различных областях организма, а также возможность дифференциации обыкновенных и диспластических невусов на основе терагерцовых диэлектрических спектров.

ГЛАВА 3. Терагерцовая микроскопия, основанная на эффекте твердотельной иммерсии

Разработан метод терагерцовой микроскопии, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, обеспечивающий пространственное разрешение за дифракционным пределом Аббе и адаптированный для визуализации объектов различной природы, включая биологические ткани [17]. Создана лабораторная экспериментальная установка, реализующая новый метод терагерцовой микроскопии и использующая ЛОВ и ячейку Голя, в качестве источника и детектора потока мощности непрерывного излучения. Ключевой элемент микроскопа – фокусирующая оптическая система на базе широкоапертурного асферического синглета [35,36] и ближнефокусной иммерсионной линзы [37,39,40]. В свою очередь иммерсионная линза состоит из неподвижной гипополусферы и подвижного опорного окна, причем оба элемента изготовлены из HRFZ-Si, плотно прижаты друг к другу и формируют единый оптический элемент. Опорное окно способно перемещаться в латеральных направлениях для растрового сканирования поверхности образца сфокусированным терагерцовым пучком. Численное моделирование и экспериментальные исследования показали, что микроскоп обеспечивает разрешение до $0,15\lambda$ при формировании каустики в свободном пространстве (λ – длина волны в свободном пространстве), тем самым преодолевая предел Аббе ($\sim 0,5\lambda$) [37,39]. Теоретически и экспериментально показано, что разрешение микроскопа зависит от оптических характеристик объекта, что характерно для всех методов ближнепольной визуализации [42]. Выявлены различные режимы работы микроскопа в зависимости от оптических свойств объекта и, соответственно, условий ПВО на границе раздела «иммерсионная линза – образец». Разрешение микроскопа остается субволновым ($0,15\lambda - 0,40\lambda$) в широком диапазоне изменения оптических свойств объекта ($n = 1,0-5,0$ и $\alpha = 0-400 \text{ см}^{-1}$, по мощности). Проведена апробация нового метода, включающая исследования объектов различной природы, результаты которой показали его перспективность для различных областей терагерцовой оптики и биофотоники [37,39,41].

3.1 Оптическая система, реализующая эффект твердотельной иммерсии

Предложена терагерцовая оптическая система, использующая эффект твердотельной иммерсии, работающая в геометрии «на отражение», предназначенная для исследования объектов различной природы (включая биологические ткани) и состоящая из трех элементов (Рис. 3.1) [17,37,40]:

- неподвижный широкоапертурный асферический синглет из HDPE с фокусным расстоянием 15 мм и диаметром 25 мм [35,36];
- неподвижная гипополусферическая линза из HRFZ-Si с диаметром $D = 10$ мм и толщиной $l_1 = 4,65$ мм, расположенная вблизи фокальной плоскости;
- подвижное опорное окно из HRFZ-Si с толщиной $l_2 = 0,25$ мм и диаметром 50 мм, находящееся в контакте с гипополусферой.

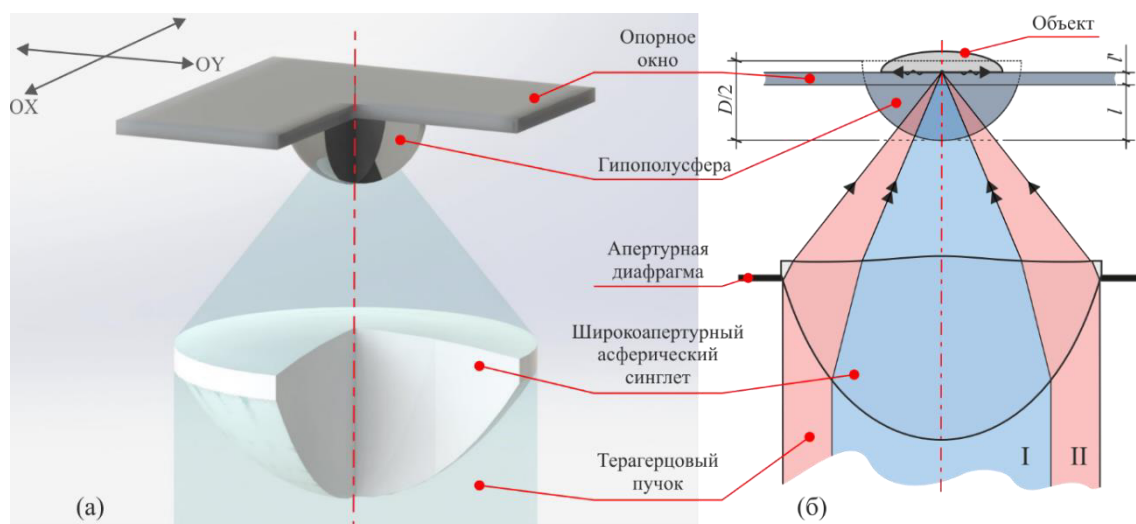


Рис. 3.1. Терагерцовая оптическая, использующая эффект твердотельной иммерсии [17]: (а) – трехмерная схема [37]; (б) – двухмерная схема [41]. На (б) символы I и II показывают две составляющие пучка, претерпевающие обычное френелевское отражение и ПВО на границе раздела «HRFZ-Si – образец».

В оптической системе широкоапертурный асферический синглет фокусирует терагерцовый пучок. Гипополусфера расположена на расстоянии $z_0 \approx 2,7$ мм от задней поверхности синглета. Ее сферическая поверхность концентрична сходящемуся волновому фронту, что обеспечивает нормальное падение волны на границу «свободное пространство – HRFZ-Si» и исключает рефракцию на этой границе; ее плоская поверхность параллельна фокальной плоскости. Передняя поверхность опорного окна (по ходу пучка) контактирует с плоской поверхностью гипополусферы; задняя – совпадает с фокальной плотностью.

HRFZ-Si используется в качестве материала гипополусферы и окна, так как он оптически изотропен, обладает высоким терагерцовым показателем преломления ($n_{Si} \approx 3,415$), низким коэффициентом поглощения ($\alpha_{Si} \approx 0,03 \text{ см}^{-1}$) и пренебрежимой дисперсией [595].

Зазор между гипополусферой и окном значительно меньше длины волны ($\ll \lambda$), поэтому эти два независимых механических элемента формируют единый оптический элемент – иммерсионную полусферу $l_1 + l_1 = 4,9 \text{ мм}$ (несмотря на несколько меньшую толщину по сравнению с радиусом, этот элемент можно считать полусферой, ведь разница невелика по сравнению с рабочей длиной волны). Эта иммерсионная полусфера позволяет повысить разрешение оптической системы за счет твердотельной иммерсии [17,37,39,40]. Составная конструкция иммерсионной полусферы позволяет строить изображение аморфных сред и биологических тканей за счет растрового сканирования поверхности объекта каустикой пучка (фокальным пятном) при перемещении окна относительно гипополусферы [37]. Подобная конструкция позволяет впервые решить проблему визуализации аморфных сред и мягких тканей, свойственную как для классических методов ближнепольной визуализации, так и для микроскопии, основанной на твердотельной иммерсии, работающими в основном с твердыми планарными объектами (глава 1, п.1.6.2).

На Рис. 3.1 (б) проиллюстрировано, что вклад в формирование каустики терагерцового поля вносят как низкоапертурная составляющая пучка (I), испытывающая обычное френелевское отражение на границе раздела «иммерсионная линза – объект», так и высокоапертурная составляющая (II), претерпевающая ПВО с возбуждением эванесцентных волн [42,43]. Вклад обычной отраженной и эванесцентной волн в формирование каустики регулируется условиями ПВО на границе «иммерсионная линза – объект» и, следовательно, оптическими характеристиками объекта. Уменьшение длины волны излучения обычной и эванесцентной волн, лежащее в основе данного метода микроскопии, обсуждалось выше (глава 1, выражения (1.14) и (1.15)). Более подробно проблема физико-математического моделирования отражения электромагнитной волны от объекта позади разработанной оптической системы будет рассмотрена в главе 4. В этой главе опишем конструкцию разработанной оптической системы и микроскопа, а также результаты теоретических и экспериментальных исследований пространственного разрешения нового метода микроскопии и его зависимости от оптических характеристик объекта.

Анализ геометрии каустики пучка (функции рассеяния или фокального пятна) и оценка разрешения, обеспечиваемого оптической системой, – нетривиальные задачи из-за ее широкой апертуры и ближнепольного режима работы. Для синтеза и оптимизации таких систем не могут использоваться классические методы геометрической оптики (трассировка

лучей и оценка геометрических aberrаций) или скалярной теории дифракции (оценка функции рассеяния с учетом волновой природы света с помощью дифракционных интегралов скалярной теории дифракции) [17,318,681]. При разработке таких систем применяются вычислительные методы векторной теории дифракции или электродинамики [682–689]. Синтез и оптимизация таких систем проводятся при формировании каустики позади иммерсионной линзы (в свободном пространстве) [37,40,41,680,706], в то время как зависимость их пространственного разрешения от оптических характеристик объекта хоть и отмечалась ранее [684], но до настоящего момента не изучалась. Экспериментальная оценка разрешения таких систем обычно выполняется с помощью контрастных объектов (металлической полуплоскости, расположенной позади иммерсионной линзы в свободном пространстве) и классических критериев (например, Релея) [37,40,41,679,714,788,789].

Как и при численному моделировании оптической системы (Рис. 3.1), при экспериментальной реализации микроскопа необходимо обеспечить высокое качество коллимированного пучка, падающего на эту систему [17]. В этом случае экспериментальное разрешение может сравниваться с априорным численным предсказанием, причем нет необходимости в моделировании остальных элементов оптического тракта микроскопа.

Разработка оптической системы выполнялась в два этапа:

- 1) синтез и оптимизация широкоапертурного асферического синглета с помощью вычислительных методов геометрической оптики и электродинамики, при которых минимизируется размер его функции рассеяния для точки на оси [35,36];
- 2) введение в схему иммерсионной полусферы, как описано выше; оценка функции рассеяния и пространственного разрешения оптической системы в сборе с помощью вычислительной электродинамики [37].

3.1.1 Моделирование синглета

Роль иммерсионной полусферы заключается в уменьшении в $\sim n_{Si}$ раз размеров функции рассеяния оптической системы в сборе по сравнению с широкоапертурным асферическим синглетом, работающим независимо, где n_{Si} – показатель преломления HRFZ-Si (глава 1, раздел 1.6.2, выражения (1.14) и (1.15)). Для обеспечения максимального пространственного разрешения оптической системой в сборе ее базовый элемент (синглет) должен обладать максимальной числовой апертурой (numerical aperture – NA) и высоким разрешением независимо от иммерсионной линзы. Требуется скорректировать aberrаций волнового фронта, обеспечить высокую энергетическую эффективность (минимизировать

френелевские потери и потери при поглощении излучения в объеме материала) для синглета, работающего независимо.

В оптических системах видимого и ИК диапазонов, использующих эффект твердотельной иммерсии, базовый фокусирующий объектив обычно состоит из нескольких линзовых элементов со сферическими или асферическими поверхностями [696,711,790,791]. Такие многолинзовые объективы обладают малыми аберрациями волнового фронта, при этом поглощение видимого или ИК излучения в объеме оптических материалов невелико, а френелевские потери на границах раздела снижаются просветляющими покрытиями [45]. В терагерцовом диапазоне разработка подобных многолинзовых оптических систем затруднительна по ряду причин (глава 1, п. 1.6.1) [23,24,49].

- Существующие терагерцовые оптические материалы характеризуются весьма высоким поглощением, поэтому для снижения потерь оптические элементы на их основе должны иметь минимальную толщину.
- В отличие от видимого и ИК диапазонов, перечень терагерцовых оптических материалов весьма ограничен, что затрудняет синтез и оптимизацию многокомпонентных оптических систем.
- Нерешенной остается проблема снижения френелевских потерь, связанная с трудностями подбора материалов просветляющих покрытий, а также отсутствием технологий их нанесения на терагерцовые оптические элементы.
- Из-за больших длин волн корректировка аберрации волнового фронта в терагерцовом диапазоне значительно проще по сравнению с видимым и ИК. Дифракционное качество фокального пятна может быть получено с использованием малого количества оптических поверхностей.

Ввиду отмеченного в качестве базового элемента оптической системы в диссертации использовалась одиночная широкоапертурная асферическая линза (синглет) [792–794]. Для его изготовления выбран технологичный полимер HDPE, который легко обрабатывается механически для получения асферических оптических поверхностей высокого порядка, имеет терагерцовый показатель преломления $n \approx 1,54$ и малую дисперсию в широком спектральном диапазоне, а также умеренный коэффициент поглощения [599,795,796]. Так как изображение регистрируется с помощью оптической системы путем растрового сканирования образца каустикой терагерцового пучка (при перемещении опорного окна в латеральных направлениях), синтез и оптимизация синглета направлены на минимизацию аберраций (до дифракционного качества функции рассеяния) для точки на оси и нескольких точек поля зрения в пределах $\pm 2,5^\circ$ [35,36].

Синтез и оптимизация синглета выполнялись с применением вычислительных методов геометрической оптики (трассировка лучей) в пакете программ ZEMAX [35,36]. Для этого оптические характеристики HDPE в терагерцовом диапазоне внесены в базу ZEMAX. Рабочая длина волны синглета установлена равной $\lambda = 500$ мкм, заднее фокусное расстояние – $f' = 15,0$ мм, а диаметр входного зрачка – $D = 25,0$ мм, что обеспечило совместимость синглета со стандартными оправками ThorLabs (их внутренний диаметр – 1' или 25,4 мм) и числовую апертуру $NA \approx 0,65$. Дальнейшее уменьшение f' и увеличение NA ведут к трудностям установки иммерсионной линзы перед фокальной плоскостью.

При синтезе и оптимизации в ZEMAX в качестве основы разрабатываемого синглета выбрана двояковыпуклая линза с двумя сферическими поверхностями радиусами $R_1 = 12,7$ мм и $R_2 = -13,0$ мм и толщиной $t = 15,0$ мм, причем толщина оптического элемента задана неизменной в ходе оптимизации. В соответствии с выражением

$$\frac{n_0}{f} = (n - n_0) \left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2} + \frac{(n - n_0)d}{nR_1R_2} \right) \quad (3.1)$$

заданная геометрия двояковыпуклой линзы обеспечила требуемое расстояние $f' = 15,0$ мм; $n_0 = 1$ – показатель преломления свободного пространства. Для задания асферических поверхностей использовался полином [35,36,797,798]

$$f(r) = \frac{r^2/R}{1 + \sqrt{1 - (1 + k) \left(\frac{r}{R}\right)^2}} + a_1r^2 + a_2r^4 + a_3r^6 + a_4r^8 + a_5r^{10} + a_6r^{12}, \quad (3.2)$$

где R – радиус поверхности, k – параметр коничности поверхности, a_i – коэффициенты степенного полинома, r – координата зрачка. Оптимизация геометрии синглета включала поиск параметров R , k и a_i , минимизирующих aberrации для точки на оси и точек поля зрения (в пределах $\theta \leq 2,5^\circ$), при этом критериями оптимизации были удовлетворение условия синусов Аббе и исправление сферической aberrации [798,799].

Результаты оптимизации синглета представлены на Рис. 3.2 и в таблице 3.1 для его передней (А) и задней (В) поверхностей. Асферические поверхности, описанные выражением (3.2) и параметрами из таблицы 3.1, могут быть без труда изготовлены с помощью токарного станка с числовым программным управлением. Основные характеристики полученного синглета представлены в таблице 3.2. Геометрическая функция рассеяния для точки на оси и точек поля зрения в пределах $\theta \leq 1,5^\circ$ значительно меньше выбранной рабочей длины волны ($RMS \ll \lambda$; Рис. 3.2). Это свидетельствует о дифракционном качестве функции рассеяния: геометрическими aberrациями можно пренебречь, а разрешение синглета определяется волновой природой света.

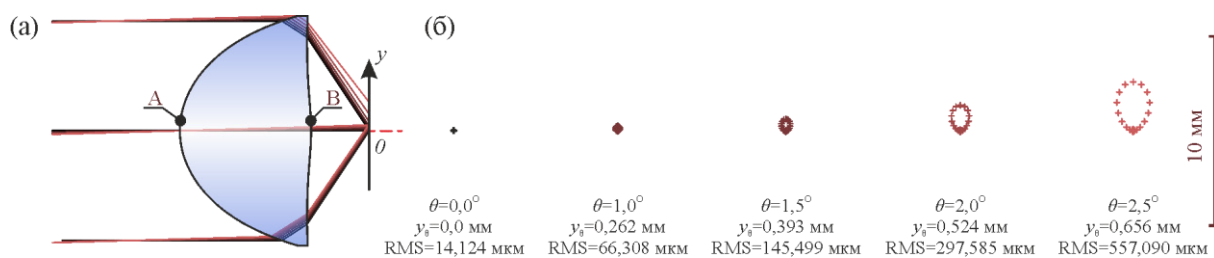


Рис. 3.2. Геометрические функции рассеяния синглета, полученные с помощью (а) трассировки лучей в ZEMAX для (б) точки на оси $\theta = 0,0^\circ$ и точек поля зрения $\theta = 1,0^\circ, 1,5^\circ, 2,0^\circ$ и $2,5^\circ$, где y – координата в плоскости изображения, y_θ – высота главного луча в плоскости изображения для θ ; RMS (root mean square) – среднеквадратический размер геометрической функции рассеяния [35,36].

Таблица 3.1. Коэффициенты полинома (3.2) для асферических поверхностей А и Б.

Коэффициенты	А	В
R , мм	19,37101	-73,76880
k	0,0	0,0
a_1 , мм ⁻¹	0,02732	-0,01254
a_2 , мм ⁻²	$5,53606 \times 10^{-5}$	$3,94958 \times 10^{-4}$
a_3 , мм ⁻³	$1,55993 \times 10^{-7}$	$-5,17249 \times 10^{-6}$
a_4 , мм ⁻⁴	$1,04584 \times 10^{-9}$	$4,26306 \times 10^{-8}$
a_5 , мм ⁻⁵	$2,74243 \times 10^{-12}$	$-1,99195 \times 10^{-10}$
a_6 , мм ⁻⁶	0,0	$3,99674 \times 10^{-13}$

Оценка функции рассеяния синглета с учетом волновой природы света с помощью численных методов скалярной теории дифракции и фурье оптики, встроенных в ZEMAX, невозможна, так как для оптического элемента характерны высокая числовая апертура ($NA > 0,6$) и ближнепольный режимом работы (каустика фокусируется на соизмеримом с длиной волны ($\sim \lambda$) расстоянии от входного зрачка и задней оптической поверхности) [35,36,681]. В данном случае для учета волновой природы света можно использовать различные численные методы: вычисление дифракционных интегралов векторной теории дифракции [680,688,693,800], трассировку частотно углового спектра волны [801–804], методы конечных элементов (finite-element method – FEM) [464,805,806] или конечных разностей во временной области (finite-difference time-domain method – FDTD) [37,40,41,807,808] численного решения уравнений Максвелла, статистические подходы Монте-Карло [809–811].

Таблица 3.2. Характеристики синглета, где s_F – задний фокальный отрезок.

Параметр	f' , мм	D , мм	NA	s_F , мм
Значение	15,0	25,0	0,65	6,62

Для оценки функции рассеяния синглета с учетом волновой природы света использовался метод FDTD [808], а именно – оригинальный пакет программ, реализующий классический алгоритм К. Уее с прямоугольной сеткой дискретизации (1966 г.) [812] и написанный в C, C# и CUDA с векторизацией расчетов на графических картах NVIDIA и визуализацией данных в MATLAB [35,36,40,41,813–815]. В диссертации с помощью метода FDTD моделировалось взаимодействие с синглетом монохроматической ($\lambda = 500$ мкм или $\nu_0 \approx 0,6$ ТГц) плоской электромагнитной волны с поляризацией TEM (transverse electric & magnetic):

$$\mathbf{E}_0 = (0,0,E_z)^T, \quad \mathbf{H}_0 = (H_x,0,0)^T. \quad (3.3)$$

Приближение цилиндрических оптических элементов использовалось для упрощения задачи моделирования и сокращения объем вычислений до приемлемого (с учетом имеющихся в распоряжении соискателя вычислительных средств). Для цилиндрических элементов моделирование выполнялось в двухмерном сечении трехмерного пространства. Результаты моделирования цилиндрической оптики отличаются от аналогичных для осисимметричных систем, однако эти различия незначительны и предсказуемы [41]. В зависимости от ориентации цилиндрических оптических элементов относительно линейной поляризации падающей волны, рассеянное поле может иметь два ортогональных состояния поляризации [40,41,807,808]:

- поляризация ТМ (transverse magnetic) наблюдается, когда электрическое поле падающей волны направлено вдоль оси цилиндрических оптических элементов:

$$\mathbf{E} = (0,0,E_z)^T, \quad \mathbf{H} = (H_x,H_y,0)^T; \quad (3.4)$$

- поляризацию ТЕ (transverse electric) – электрическое поле перпендикулярно оси цилиндрических оптических элементов (лежит в плоскости их сечения):

$$\mathbf{E} = (E_x,E_y,0)^T, \quad \mathbf{H} = (0,0,H_z)^T. \quad (3.5)$$

Для простоты в диссертации рассматриваются результаты моделирования только для ТМ поляризации, в то время как информация об анизотропии функции рассеяния оптической системы в сборе будет получена ниже другим методом.

Ввод излучения в моделируемое пространство осуществлялся с помощью метода TFSF (total-field / scattered-field), обеспечивающего идеально плоский волновой фронт TEM пучка (несмотря на конечный размер моделируемого пространства) [816–818]. Нефизичное

отражение излучения от границ моделируемого пространства подавлялось с помощью поглотителей Мура 2-го порядка [819]. Шаг дискретизации пространства составлял [807]

$$\Delta \approx \frac{\lambda}{50} \quad (3.6)$$

во всех направлениях; шаг дискретизации времени удовлетворял условию Куранта-Фридрихса-Леви [820]

$$\Delta_t \leq \frac{\Delta}{c_0 \sqrt{2}}, \quad (3.7)$$

где $c_0 = 3 \times 10^8$ м/с – скорость света.

На Рис. 3.3 показаны результаты моделирования синглета по методу FDTD в форме распределения интенсивности поля в пространстве

$$I(\mathbf{r}) \propto \frac{1}{T} \int_{t_0}^{t_0+T} |\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)|^2 dt, \quad (3.8)$$

где \mathbf{r} – точка моделируемого пространства, t_0 и T – начало и диапазон интегрирования. Время t_0 соответствует моменту, когда распределение интенсивности в моделируемом пространстве $I(\mathbf{r})$ становится стационарным (поле заполняет все пространство), а T – несколькими полным осцилляциям поля:

$$T = \frac{m\lambda}{c_0}, \quad m \in \mathbb{N}. \quad (3.9)$$

Рис. 3.3 (в) показывает функцию рассеяния оптической системы $I(\mathbf{r})$, полученную как сечение интенсивности поля в фокальной плоскости синглета.

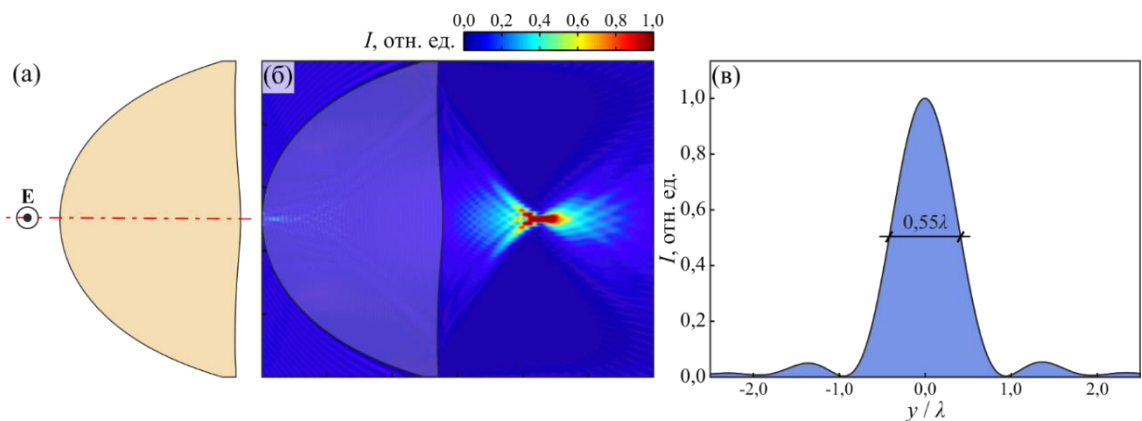


Рис. 3.3. Моделирование FDTD синглета (в приближении цилиндрических оптических элементов), где падающая монохроматическая ($\lambda = 500$ мкм) плоская волна имеет поляризацию ТЕМ, а рассеянное поле – ТМ [35,36]: (а) – схема синглета; (б) – интенсивность поля в пространстве $I(\mathbf{r})$; (в) – функция рассеяния.

Результаты моделирования показывают, что полная ширина функции рассеяния синглета по среднему уровню интенсивности (full-width at half maximum – FWHM) составляет $r = 0,55\lambda$. Эта оценка получена для цилиндрического оптического элемента с эквивалентным сечением, поэтому она до некоторой степени занижена по сравнению с осесимметричным элементом. Таким образом, разработанный синглет обеспечивает высокое (субволновое) разрешение даже при работе без иммерсионной полусферы. В то же время подобное это разрешение по-прежнему подчиняется дифракционному пределу Аббе ($\sim 0,5\lambda$) для цилиндрической оптики.

3.1.2 Моделирование синглета с иммерсионной линзой

Для оценки разрешения, обеспечиваемого оптической системой в сборе (Рис. 3.1), проведено моделирование FDTD фокусировки ей монохроматической ($\lambda = 500$ мкм) плоской ТЕМ волны, для чего также использовалось приближение цилиндрических оптических элементов и ТМ поляризация рассеянного поля. Результаты показаны на Рис. 3.4 (формат представления данных аналогичен Рис. 3.3). Добавление двухкомпонентной иммерсионной полусферы к синглету приводит к уменьшению ширины функции рассеяния по FWHM до $0,16\lambda$, что позволяет повысить разрешение и преодолеть предел Аббе для свободного пространства ($\sim 0,5\lambda$). Наряду с обрезанием каустики в латеральных направлениях, она уменьшается и в направлении оптической оси, снижая глубину резкости оптической системы до $0,10\text{--}0,12\lambda$ [41]. Предсказанное обрезание функции рассеяния с $0,55\lambda$ (синглет) до $0,16\lambda$ (система в сборе) соответствует инкременту разрешения в $\approx 3,44$ раза, что ожидаемо близко к показателю преломления кремния $n_{\text{Si}} \approx 3,415$. В дальнейшем эти показатели будут оценены экспериментально.

В работе [41] оценены допуски на юстировки элементов оптической системы. Даже значительные ($\sim \lambda$ или $\sim 0,5$ мм) продольные и поперечные смещения элементов оптической системы не приводят к существенному снижению разрешения и глубины резкости. Подобные допуски делают рассмотренную систему весьма технологичной, позволяют без труда реализовать ее экспериментально.

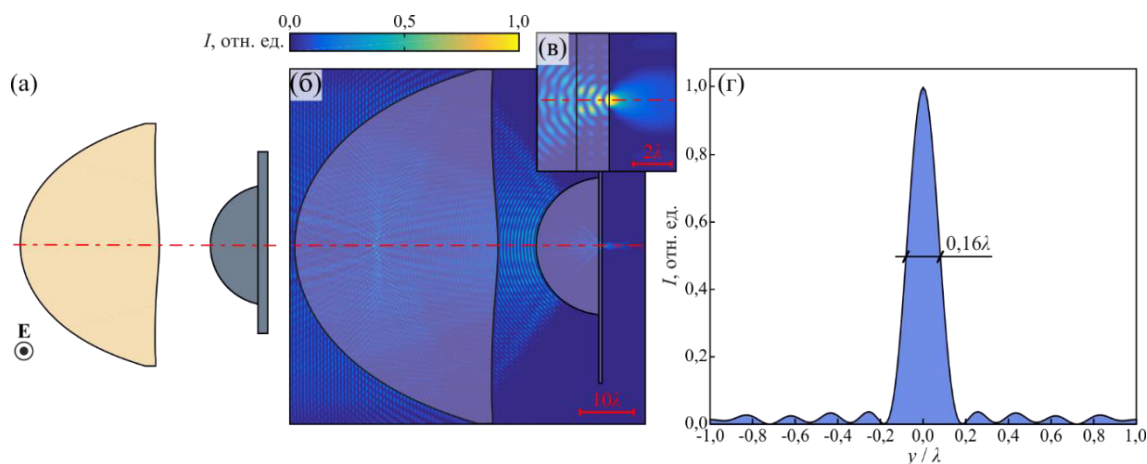


Рис. 3.4. Моделирование FDTD оптической системы в сборе [41]: (а) – схема оптической системы; (б) – интенсивность поля $I(\mathbf{r})$; (в) – функция рассеяния.

3.1.3 Моделирование зависимости разрешения от оптических характеристик объекта

Как и для других методов ближнепольной визуализации, в которых объект находится в непосредственной близости ($< \lambda$) от зонда (субволновой апертуры или кантилевера; см. главу 1, п. 1.6.2), пространственное разрешение предложенной оптической системы (Рис. 3.1) должно зависеть от оптических характеристик объекта [42]. Действительно, его показатель преломления n_{obj} влияет на критический угол ПВО на границе «иммерсионная линза – объект»

$$\theta_{TIR}(n_{obj}) = \arcsin\left(\frac{n_{obj}}{n_{Si}}\right) \quad (3.10)$$

(он регулирует вклад обычных / распространяющихся и эванесцентных волн в формирование каустики; см Рис. 3.1), а коэффициент поглощения α_{obj} – на распространение и интерференцию обычных и эванесцентных волн вблизи интерфейса.

Проведено моделирование FDTD для оценки зависимости разрешения оптической системы r от оптических характеристик объекта n_{obj} , α_{obj} [42]. Как показано на Рис. 3.5 (а), изучалась фокусировка монохроматической ($\lambda = 500$ мкм) плоской ТЕМ волны оптической системой в сборе, позади которой был установлен объект. При моделировании показатель преломления объекта изменялся в диапазоне $n_{obj} \in (1,0, 5,0)$ с шагом $\Delta n_{obj} = 0,1$, а коэффициент поглощения – в диапазоне $\alpha_{obj} \in (0, 400) \text{ см}^{-1}$ (по мощности) с неравномерным шагом $\Delta \alpha_{obj}$. Использование неравномерного шага $\Delta \alpha_{obj}$ обусловлено тем, что в моделировании потери задавались через динамическую проводимость $\sigma_{obj} [\text{Ом}^{-1}\text{см}^{-1}]$ с равномерным шагом $\Delta \sigma_{obj} = 0,75 \text{ Ом}^{-1}\text{см}^{-1}$, которая затем пересчитывалась в

коэффициент α_{obj} . Для каждой пары n_{obj} , α_{obj} получены распределение интенсивности поля в моделируемом пространстве (Рис. 3.5 (б)), функция рассеяния и ширина FWHM.

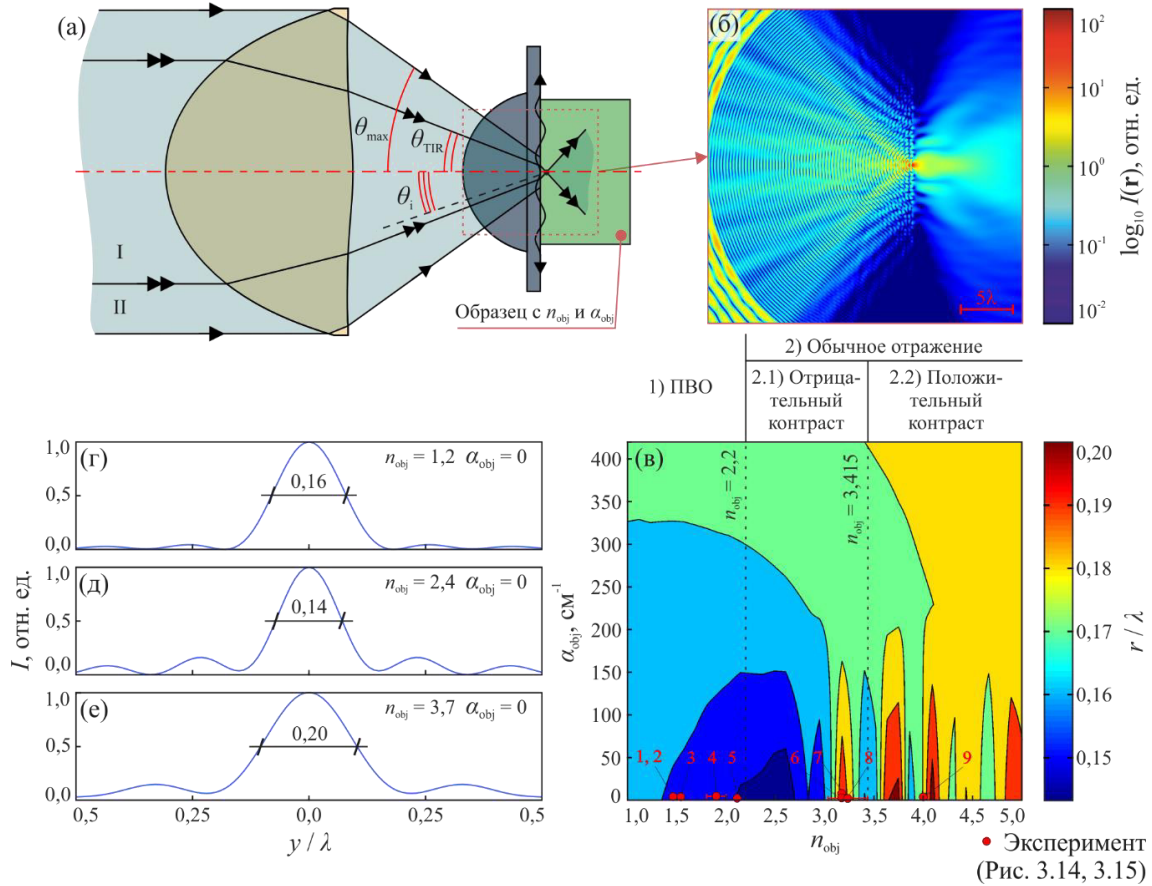


Рис. 3.5. Моделирование FDTD зависимости пространственного разрешения r оптической системы в сборе от характеристик объекта – его показателя преломления n_{obj} и коэффициента поглощения α_{obj} (по мощности) [42]: (а) – схема моделирования; (б) – распределение интенсивности $I(\mathbf{r})$ вблизи фокуса для $n_{\text{obj}} = 1,0$ и $\alpha_{\text{obj}} = 0 \text{ см}^{-1}$; (в) – зависимость параметра разрешения r/λ от n_{obj} и α_{obj} ; (г)–(е) – функции рассеяния для $n_{\text{obj}} = 1,2, 2,4, 3,7$ и $\alpha_{\text{obj}} = 0$.

На Рис. 3.5 (в) результаты моделирования показаны в форме параметрического изображения, цвет которого отражает нормированный на длину волны параметр разрешения r/λ [42]. С ростом n_{obj} и α_{obj} размер фокального пятна в целом увеличивается, при этом в области низкого поглощения ($\alpha_{\text{obj}} < 100 \text{ см}^{-1}$) наблюдается осциллирующий характер функции $r(n_{\text{obj}})$. Эти осцилляции обусловлены различными условиями возбуждения стоячих волн в иммерсионной линзе – полусферическом резонаторе, добротность которого меняется с оптическими свойствами объекта и коэффициентом отражения границы «иммерсионная линза – объект». В то же время функция рассеяния

оптической системы остается существенно субволновой (за пределом Аббе) в рассмотренном диапазоне вариации оптических характеристик объекта. Минимальный размер каустики и, соответственно, параметр разрешения r достигаются при показателе преломления образца в диапазоне $n_{\text{obj}} \in (2,0, 3,0)$ и относительно низком коэффициенте поглощения $\alpha_{\text{obj}} < 50 \text{ см}^{-1}$. Наименьший параметр разрешения $r = 0,14\lambda$ наблюдается при $n_{\text{obj}} = 2,3$ и $\alpha_{\text{obj}} = 0$.

На Рис. 3.5 (в) в зависимости от оптических характеристик объекта выделяются несколько режимов работы анализируемой оптической системы.

- 1) Режим ПВО наблюдается при малых показателях преломления объекта ($n_{\text{obj}} < n_{\text{TIR}} = n_{\text{Si}} \sin(\theta_{\text{max}}) \approx 2,2$, где $\theta_{\text{max}} \approx 40^\circ$), когда каустика пучка формируется с участием обычных (распространяющихся) и эванесцентных волн.
- 2) Режим обычного отражения – при больших показателях преломления объекта ($n_{\text{obj}} \geq n_{\text{TIR}} \approx 2,2$), когда эванесцентные волны уже не возбуждаются, а каустика формируется только обычными волнами. В пределах этого режима можно выделить:
 - 2.1) область с отрицательным диэлектрическим контрастом ($2,2 \leq n_{\text{obj}} \leq n_{\text{Si}}$);
 - 2.2) область с положительным диэлектрическим контрастом ($n_{\text{obj}} > n_{\text{Si}}$).

Отметим особенности применения разработанной терагерцовой оптической системы для визуализации биологических тканей. При измерении тканей будет возникать явление ПВО на границе раздела «иммерсионная линза – объект», и система будет работать в режиме ПВО (область (1) на Рис. 3.5 (в)). Например, эффективные оптические характеристики интактных тканей мозга ($n_{\text{obj}} \approx 1,9$ и $\alpha_{\text{obj}} \approx 150 \text{ см}^{-1}$) [58] и кожи человека ($n_{\text{obj}} \approx 2,0$ и $\alpha_{\text{obj}} \approx 50 \text{ см}^{-1}$) [25] соответствуют данному режиму работы. При работе с тканями ожидается незначительное повышение размеров каустики пучка и, следовательно, параметра разрешения r/λ , что связано с высоким коэффициентом поглощения таких объектов.

Таким образом, с помощью метода FDTD теоретически изучено влияние оптических характеристик объекта на пространственное разрешение, обеспечиваемое разработанной оптической системой. Показано, что разрешение остается субволновым (за пределом Аббе) в широком диапазоне вариации оптических характеристик объекта, в том числе, когда условия ПВО на границе раздела «иммерсионная линза – объект» нарушается. Более того, оптическая система будет сохранять свои высокие характеристики при работе с биологическими тканями. Ниже эти результаты будут верифицированы экспериментально.

3.2 Лабораторный терагерцовый микроскоп

Перейдем к экспериментальной реализации и апробации разработанной оптической системы и терагерцового микроскопа на ее основе [17,37,39,40,42,43]. Начнем с конструкции микроскопа, собранного на оптическом столе с применением оптико-механических комплектующих ThorLabs и разработанных элементов и узлов в Отделе субмиллиметровой спектроскопии ИОФ РАН и работающего в геометрии «на отражение» (Рис. 3.6).

В микроскопе источником непрерывного излучения с длиной волны $\lambda = 500$ мкм (или частотой $\nu \approx 0,6$ ТГц), шириной линии $\Delta\nu/\nu \sim 10^{-6}$ и выходной мощностью $\sim 10^{-1}$ Вт служит ЛОВ «ОВ-80» (НПО «Исток») [467], а детектором потока мощности излучения – ячейка Голя ОАР (ИОФ РАН) с постоянной времени $\sim 10^{-1}$ с и чувствительностью $\sim 10^5$ В/Вт (при комнатной температуре) [2,32–34]. Во-первых, выбранная рабочая длина волны соответствует проведенному выше моделированию FDTD, что позволяет адекватно сравнить результаты теоретических предсказаний и эксперимента. Во-вторых, на ней наблюдается высокая выходная мощность ЛОВ и, соответственно, отношение сигнала к шуму в изображениях. В-третьих, она находится вблизи максимума чувствительности терагерцовых импульсных спектрометров (глава 2), используемых в диссертационном исследовании. Подобное совпадение позволит объективно сравнить данные импульсной спектроскопии и микроскопии биологических тканей.

На Рис. 3.6 показано, что в микроскопе для коллимации излучения ЛОВ используется сферическая линза из HDPE, имеющая диаметр 50,8 мм и фокусное расстояние 60 мм. Для регулировки выходной мощности ЛОВ (с целью предотвращения насыщения ячейки Голя) используется набор аттенуаторов на базе майларовых пленок толщиной 3 мкм с металлизацией (Ni) разной толщины. Излучение фокусируется на чувствительную площадку (мембрану) ячейки Голя с помощью линзы из HDPE, также имеющей диаметр 50,8 мм и фокусное расстояние 60 мм. Ячейка Голя может регистрировать только нестационарный поток мощности излучения, поэтому в экспериментальной установке пучок излучения ЛОВ проходит через механический модулятор (чоппер) с частотой ≈ 22 Гц. Сигнал с ячейки Голя демодулируется синхронным детектором на заданной частоте, повышая отношение сигнала к шуму.

Для ЛОВ характерно неоднородное пространственное распределение интенсивности по апертуре пучка [821]. Это может негативно сказаться на качестве функции рассеяния и пространственное разрешение микроскопа. Для возбуждения оптической системы плоской волной с однородной интенсивностью по апертуре (аналогично численному

моделированию; Рис. 3.3 и 3.4), в оптическую схему микроскопа включен гомогенизатор [37,40,41] – телескопическая система Кеплера, в плоскости промежуточного изображения которой (в фокусе) установлена диафрагма диаметром 0,5 мм. Эта система позволяет выровнять интенсивность пучка по апертуре за счет его дифракции на диафрагме, а также уменьшить диаметр пучка с 50 до 25 мм, согласовав его с синглетом (Рис. 3.1). Телескопическая система построена из двух линз: фокусирующая линза из HDPE имеет диаметр 50 мм и фокусное расстояние 100 мм; коллимирующая из TPX – 25 и 50 мм, соответственно.

Светоделитель, изготовленный из HRFZ-Si и имеющий диаметр 50 мм и толщину 2 мм, позволяет реализовать геометрию измерений «на отражение». Он пропускает часть пучка от источника к образцу, а затем направляет часть отраженного образцом излучения на детектор. Для s-поляризации и повороте относительно оптической оси на 45° светоделитель пропускает 58% и отражает 42% пучка по мощности. С помощью плоского золотого зеркала диаметром 50,8 мм, установленного по ходу пучка после светоделителя, оптическая ось микроскопа поворачивается на 90° . Это позволяет размещать объект на поверхности опорного окна в горизонтальном положении.

В микроскопе изображение регистрируется путем растрового сканирования объекта каустикой пучка. Сканирование осуществляется за счет перемещения опорного окна в латеральных направлениях (в плоскости XOY), в то время как остальные элементы микроскопа неподвижны. Опорное окно установлено в системе механического сканирования, построенной на базе моторизированных линейных подвижек Thorlabs. В соответствии с теоремой Виттекера-Найквиста-Котельникова-Шеннона [822] для исключения нелинейных искажений изображений шаг сканирования составляет не более $< 0,075\lambda$. Программное обеспечение микроскопа реализовано в LabView; постобработка изображений – в MATLAB.

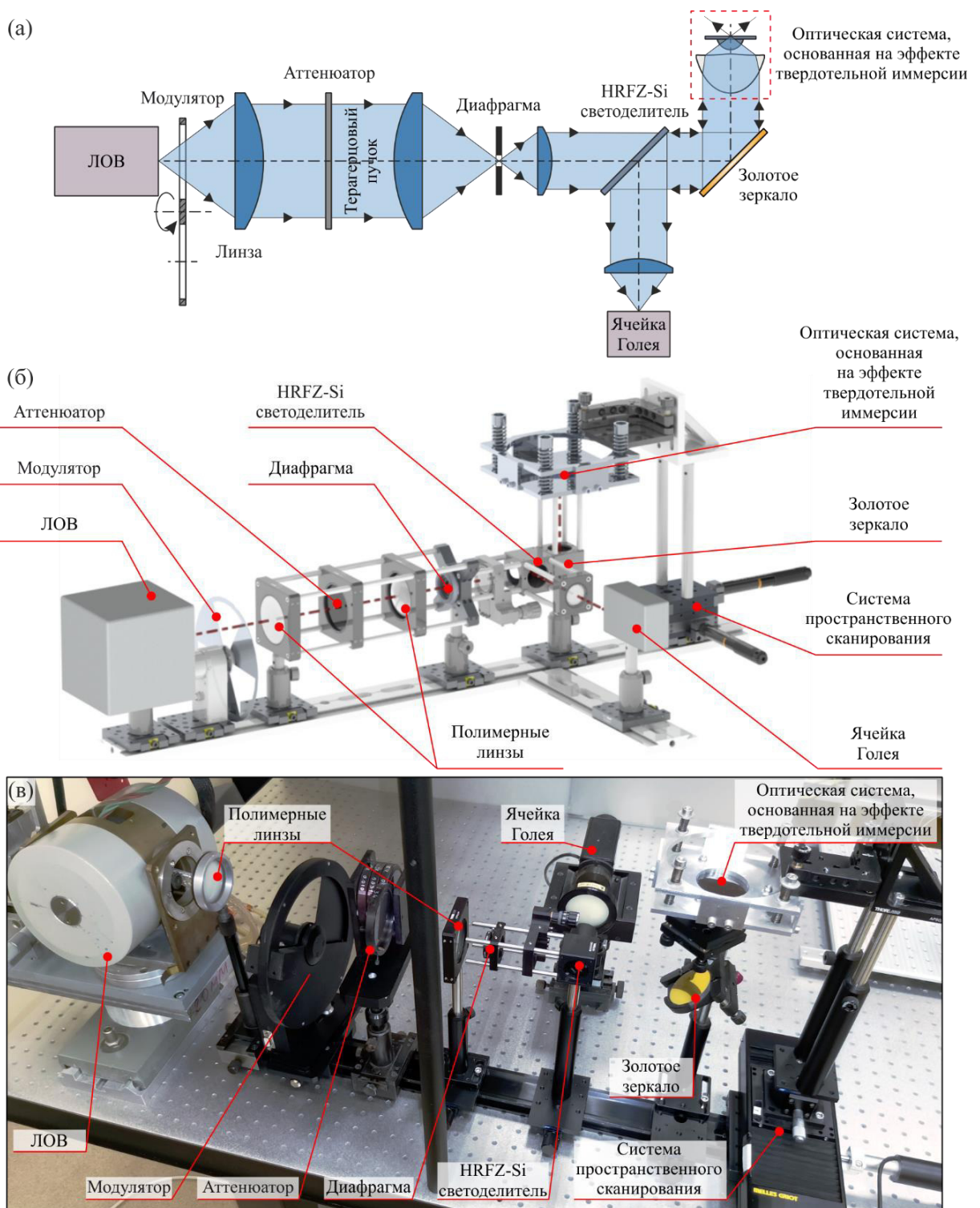


Рис. 3.6. Лабораторный терагерцовый микроскоп, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, работающий в геометрии «на отражение» и использующий ЛОВ и ячейку Голя в качестве непрерывного источника ($\lambda = 500$ мкм) и детектора потока мощности излучения [41]: (а) – двухмерная схема; (б) – трехмерный чертеж; (в) – фотография.

3.2.1 Светоэнергетический расчет

Проведем оценку энергетической эффективности терагерцового микроскопа. В оптической схеме микроскопа (Рис. 3.6) отсутствуют субволновые диафрагмы (или кантилеверы), а поглощение излучения в атмосфере на пути терагерцового пучка и объеме оптических материалов пренебрежимо мало (для рассматриваемых толщин элементов). По этой причине поэтому потери мощности терагерцового пучка в микроскопе преимущественно связаны с френелевским отражением на оптических поверхностях.

Ограничимся нормальным падением излучения на границы раздела. В таком случае интенсивность излучения, проходящего сквозь весь оптический тракт микроскопа – от источника к объекту и от объекта к детектору, может быть записана в виде

$$I_S = T^{\text{SIL}} I_{\text{inc}} = I_{\text{inc}} (T_1^{\text{HDPE}} T_2^{\text{HDPE}})^5 T_1^{\text{TPX}} T_2^{\text{TPX}} (T_1^{\text{Si}} T_2^{\text{Si}})^2 R_1^{\text{Si}} T_{\text{Ap}}, \quad (3.11)$$

где I_{inc} – интенсивность излучения ЛОВ, T^{SIL} – коэффициент пропускания всей системы (по мощности), T_1^i, T_2^i – коэффициенты пропускания (по мощности) передней и задней поверхностей i -ого оптического элемента (индекс i соответствует HDPE, TPX и HRFZ-Si), R_1^{Si} – коэффициент отражения (по мощности) светоделителя. Для рассматриваемого случая формулы Френеля имеют вид:

$$\begin{aligned} T_1^i &= (t_1^i)^2 = 1 - \left(\frac{n_0 - n_i}{n_0 + n_i} \right)^2, \\ T_2^i &= (t_2^i)^2 = 1 - \left(\frac{n_i - n_0}{n_0 + n_i} \right)^2, \\ R_1^{\text{Si}} &= (r_1^{\text{Si}})^2 = \left(\frac{n_0 - n_{\text{Si}}}{n_0 + n_{\text{Si}}} \right)^2, \end{aligned} \quad (3.12)$$

где $n_0 = 1,0$ – показатель преломления свободного пространства; n_i – показатели преломления материалов на $\lambda = 500$ мкм: $n_{\text{Si}} \approx 3,415$, $n_{\text{HDPE}} \approx 1,54$ и $n_{\text{TPX}} \approx 1,46$, T_{Ap} – коэффициент пропускания диафрагмы гомогенизатора, рассчитанный как отношение энергии функции рассеяния $\text{PSF}(x)$ в области апертуры (отверстия диафрагмы диаметром d) к ее полной энергии

$$T_{\text{Ap}} = \frac{\int_{-d/2}^{d/2} \text{PSF}(x) dx}{\int_{-\infty}^{\infty} \text{PSF}(x) dx}. \quad (3.13)$$

Модель $\text{PSF}(x)$ задавалась с помощью спецфункции Бесселя для оптической системы с круглым зрачком [823]. При расчете принято допущение, что золотое зеркало и объект отражают все падающее излучение ($R \approx 1,0$), что позволило оценить энергетическую эффективность микроскопа сверху.

Подставляя параметры всех элементов оптической системы, рассчитанные в соответствии с (3.12) и (3.13), в выражение (3.11), получена оценка коэффициента пропускания оптической системы микроскопа в 3,5%. Именно такая доля мощности излучения ЛОВ попадает в ячейку Голея. Выходная мощность ЛОВ «ОВ-80» на длине волны $\lambda = 500$ мкм составляет $\approx 1,0$ мВт [2], поэтому на детектор попадает поток мощности $P = 3,5 \times 10^{-2}$ мВт. На частоте модуляции ≈ 22 Гц эквивалентная мощность шума (noise equivalent power – NEP) ячейки Голея ОАР составляет $NEP = 10^{-9}$ Вт Гц^{-1/2} [824], что позволяет получить оценку сигнала к шуму (по мощности)

$$SNR_{th} = \frac{P}{NEP\sqrt{f}} \approx 7,4 \times 10^3. \quad (3.14)$$

Таким образом, разработанный микроскоп должен обеспечивать высокое отношение сигнала к шуму. Тем не менее наблюдаемые в эксперименте значения может быть ниже преимущественно благодаря конечному коэффициенту отражения излучения объектом и дополнительными шумами в сигналах ячейки Голея, связанными с вибрациями.

Также получены оценки отношения сигнала к шуму для изображающих систем на базе одиночного синглета (вместо оптической системы в сборе) или апертурной системы SNOM на базе синглета и субволновой диафрагмы диаметром $0,15\lambda$, установленной в его фокусе; пропускание диафрагмы рассчитано с помощью выражения (3.13) и теоретических оценок функции рассеяния синглета (Рис. 3.3).

Энергетические характеристики трех систем сравниваются в Таблице 3.3. Одиночный синглет обеспечивает в 2 раза более высокое отношение сигнала к шуму по сравнению с оптической системой в сборе, однако его разрешение более чем в 3 раза ниже. Система SNOM обеспечивает разрешение эквивалентное оптической системе в сборе, однако для нее отношение сигнала к шуму в 2 раза ниже. Таким образом, разработанный микроскоп обеспечивает одновременно высокое разрешение и энергетическую эффективность.

Таблица 3.3. Энергетические характеристик изображающих систем на базе субволновой диафрагмы (апертурный SNOM), одиночного синглета и оптической системы в сборе.

Система	Пропускание (по мощности) T , %	Отношение сигнала к шуму SNR_{th}	Параметр разрешения r / λ
Апертурная SNOM	1,6	$3,6 \times 10^3$	0,15
Одиночный синглет (Рис. 3.3)	7,0	15×10^3	0,55
Оптическая система в сборе (Рис. 3.1, 3.4)	3,5	$7,4 \times 10^3$	0,15

3.2.1 Оптическая система, реализующая эффект твердотельной иммерсии

Опишем процесс изготовления, сборки и юстировки оптической системы, использующей эффект твердотельной иммерсии (Рис. 3.1). Синглет изготовлен из бруска HDPE (ООО «ТИДЕКС») путем механической обработки на прецизионном токарно-фрезерном станке с числовым программным управлением Toshiba TUD-13 (Корейский политехнический университет, Южная Корея); чертеж представлен на Рис. 3.7 [35,36]. Обеспечена пренебрежимо малая шероховатость оптических поверхностей ($\leq 0,2$ мкм) по сравнению с рабочей длиной волны микроскопа ($\ll \lambda$), что исключило энергетические потери, снижение качества пучка и фокального пятна вследствие рассеяния. Из фотографии синглета (Рис. 3.2 (б)) очевидно высокое качество его оптических поверхностей.

Гипополусфера и опорное окно из HRFZ-Si (Рис. 3.8) изготовлены ООО «TYDEX» путем механической обработки. Высокая удельная проводимость HRFZ-Si (≈ 10 кОм·см) обеспечивает низкий коэффициент поглощения ($\alpha_{Si} \approx 0,03$ см⁻¹ на 0,6 ТГц); его показатель преломления – $n_{Si} \approx 3,415$; дисперсия пренебрежимо мала. Терагерцовые оптические характеристики HRFZ-Si почти не зависят от температуры (с точностью до второго знака после запятой; вплоть до криогенных температур), что позволяет использовать его в измерениях объектов при различных температурах, включая биологические ткани. Гипополусфера и опорное окно из HRFZ-Si обладают высоким (оптическим) качеством поверхностей.

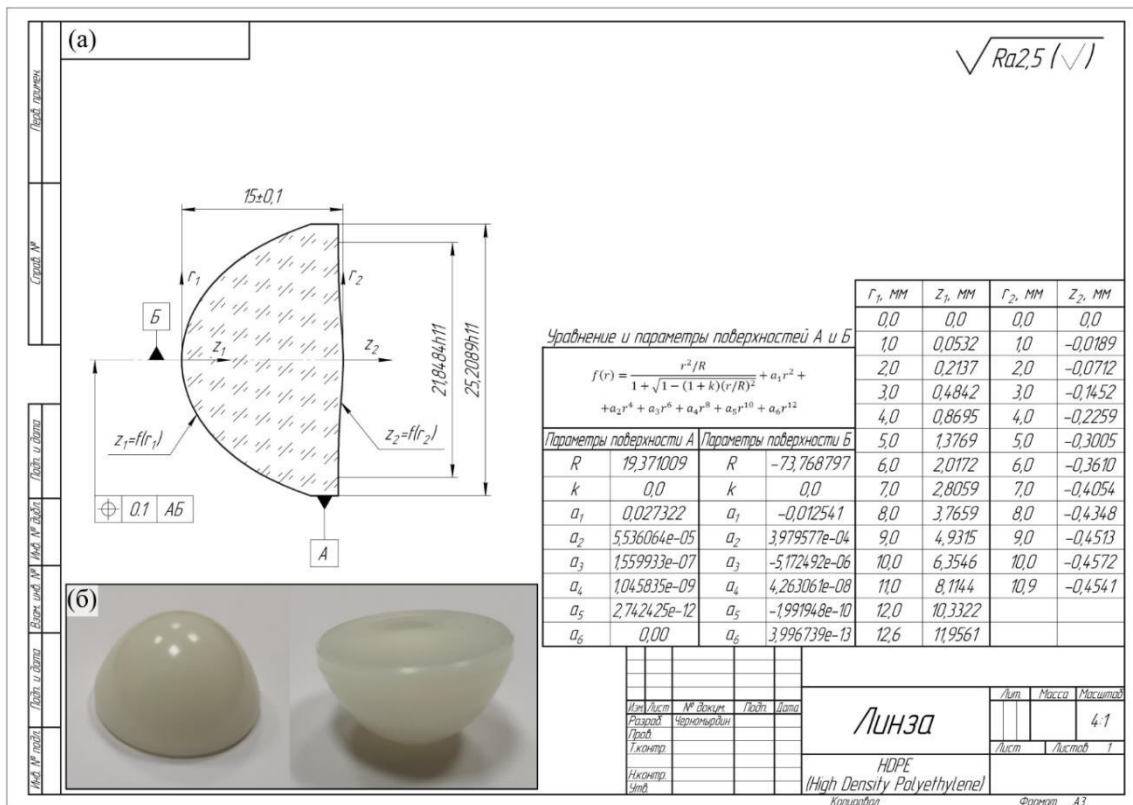


Рис. 3.7. Синглет из HDPE: (а) – чертеж; (б) – фотография.

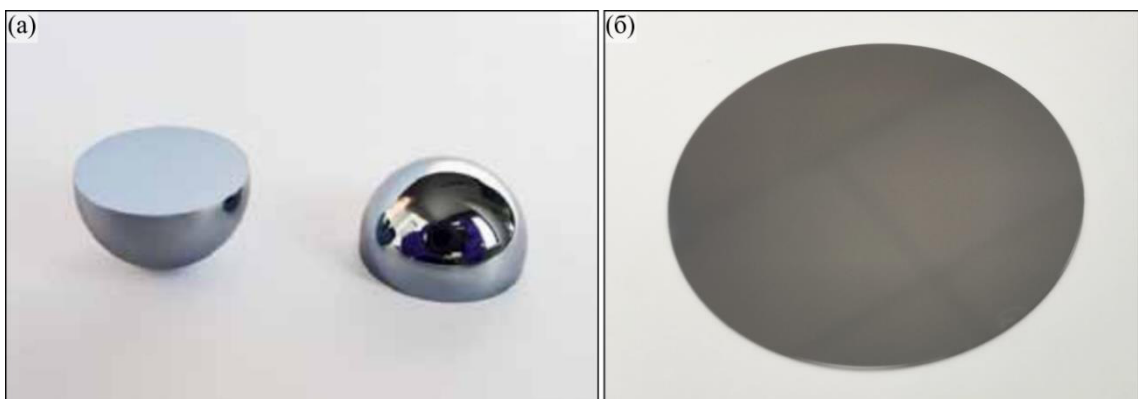


Рис. 3.8. Фотографии элементов иммерсионной линзы (полусферы) из HRFZ-Si: (а) – гипополусфера; (б) – опорное окно.

На задней (по ходу пучка) поверхности опорного окна нанесена металлизация (Ti), причем квадратный фрагмент поверхности со стороной 10,0 мм свободен от металла и обрамляет объект исследования для удобства его позиционирования в поле зрения микроскопа (Рис. 3.9). Эта же металлическая рамка используется ниже в качестве тестового объекта (с резким изменением коэффициента отражения) при экспериментальной оценке пространственного разрешения микроскопа. Металлизация сформирована на поверхности окна по методу вакуумного магнетронного напыления через маску на основе

металлической фольги. Свободные от металлизации полосы, расходящиеся от углов рамки к краю окна, обусловлены элементами крепления маски на окне в процессе напыления.

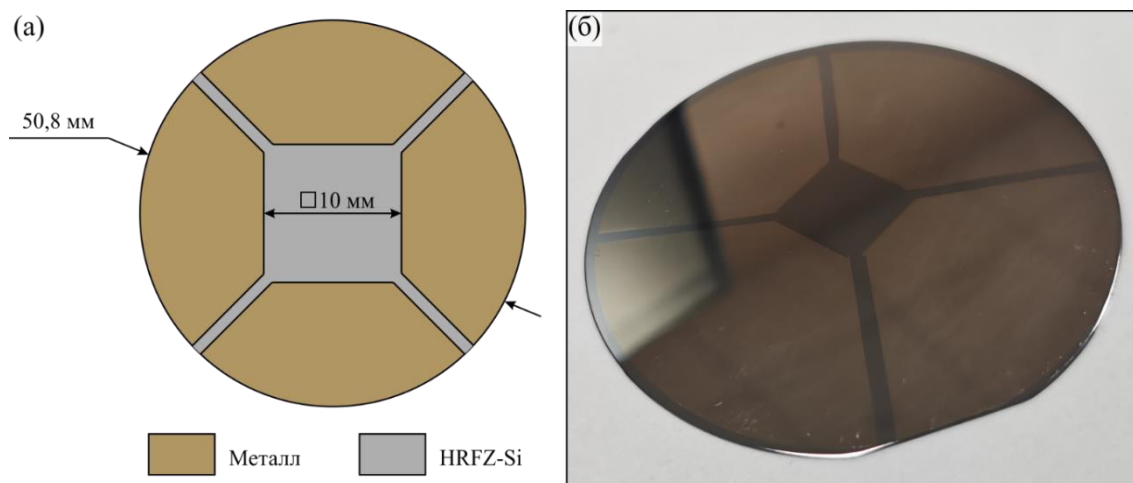


Рис. 3.9. Металлизация (Ti) на задней поверхности опорного окна из HRFZ-Si для удобства позиционирования объекта в поле зрения микроскопа и оценки его пространственного разрешения: (а) – схема; (б) – фотография.

Синглет и гипополусфера собраны в тубусе со внутренним диаметром 25,5 мм (Рис. 3.10). Малый диаметр гипополусферы (10 мм) и небольшое расстояние между синглетом и гипополусферой (2,7 мм) затрудняют применение кинематических механизмов для юстировки этих элементов. По этой причине гипополусфера центрирована в специальной оправе, ориентирована в пространстве (с помощью опорной плоскости и прокладок) и зафиксирована термопластическим клеем до установки в тубус (Рис. 3.10 (а)). Затем в определенной последовательности в тубус устанавливаются набор резьбовых колец, синглет и гипополусфера в оправе (Рис. 3.10 (б)), причем расстояние между синглетом и гипополусферой $z = 2,7$ мм (по оптической оси) и небольшой вынос гипополусферы из тубуса достигалось путем правильного подбора положений и толщин колец. Тубус с синглетом и гипополусферой установлены на двухкоординатной угловой юстировке в коллимированном пучке (Рис. 3.6). Вплотную к плоской поверхности гипополусферы прижато опорное окно, а позади опорного окна закреплено золотое зеркало, используемое только на стадии юстировки. Поперечное и угловое положение оптической системы в сборе юстировалось до достижения максимального сигнала на детекторе. Затем зеркало убиралось, после чего регистрировалось изображение тонкой металлической рамки на задней поверхности окна (Рис. 3.9). Выполнялись поочередно регистрация изображений рамки и юстировка углового положения системы для максимизации сигнала и пространственного разрешения микроскопа.

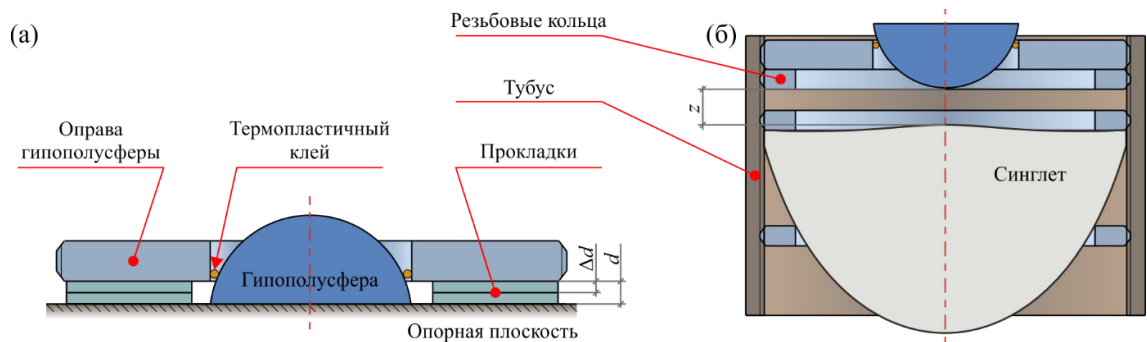


Рис. 3.10. Сборка оптической системы: (а) – схема задания положения и ориентации гипополусферы в оправе; (б) – схема крепление в тубусе набора резьбовых колец, синглета и гипополусферы с оправой.

Для плотного прилегания окна к гипополусфере разработано специальное устройство (Рис. 3.11), позволяющее регулировать давление окна на гипополусферу, избегая их повреждения [41]. Оно состоит из двух пластин, разделенных амортизирующим креплением на основе пружин. Натяжение пружин и жесткость всей конструкции регулируется при помощи винтов. Смещение пластин в латеральных направлениях ограничивается вертикальными прижимными пластинами, в то время как в вертикальном направлении пластины свободно перемещаются друг относительно друга. Устройство крепится за верхнюю пластину к системе растрового сканирования на базе двух линейных моторизированных трансляторов. Окно фиксируется в оправе крепежного устройства с помощью трех прижимных винтов. Параллельность окна и плоской поверхности гипополусферы обеспечивается юстировкой угловой ориентации крепежного устройства.

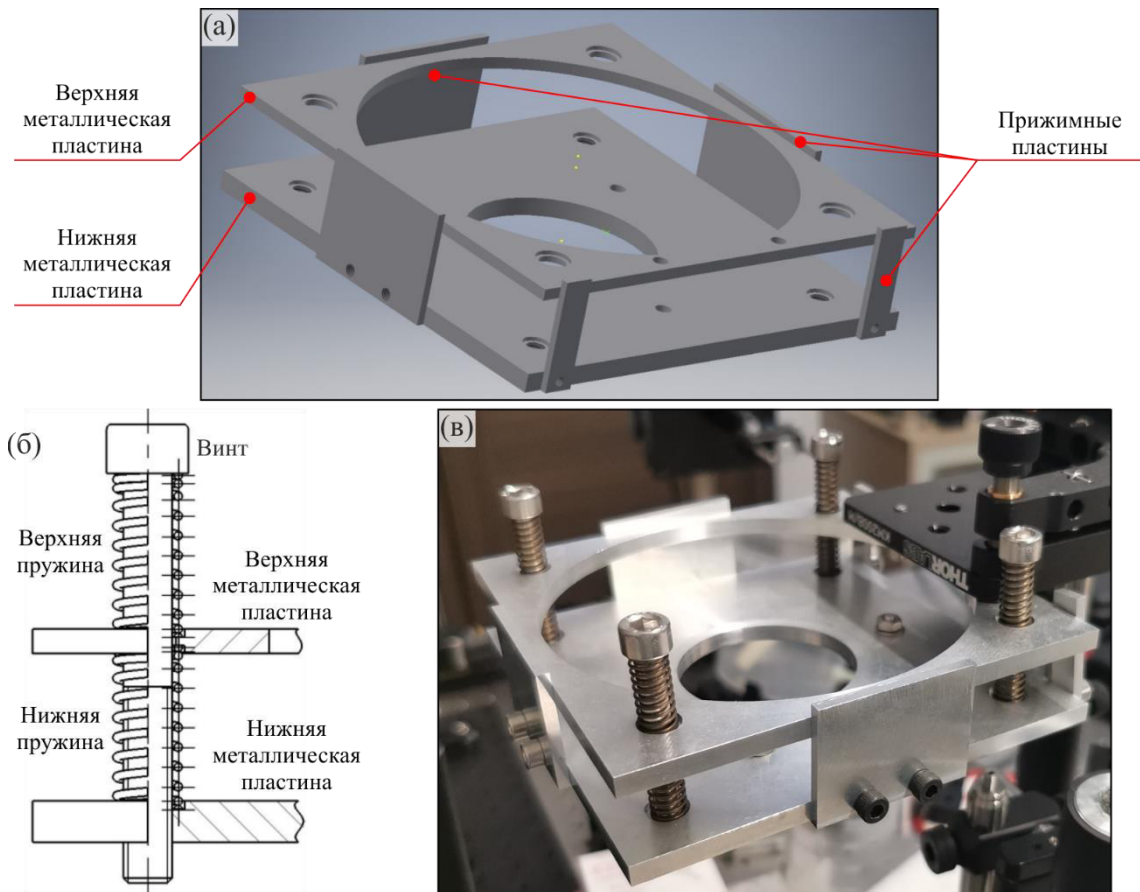


Рис. 3.11. Устройство для крепления опорного окна относительно гипополусферы [41]: (а) – трехмерная модель; (б) – схема пружинного крепления пластин для амортизации; (в) – фотография конструкции.

3.2.2 Экспериментальная оценка разрешения микроскопа

Разрешение микроскопа (Рис. 3.6) и оптической системы (Рис. 3.1) определялось путем визуализации тестового объекта в виде металлического «ножа» (полуплоскости) с резким измерением коэффициента отражения в латеральных направлениях (для этого использовалась металлическая рамка на поверхности окна; Рис. 3.10) [37,39]. Профиль коэффициента отражения такого объекта моделируется функцией Хевисайда [825,826]

$$H(x) = \begin{cases} 0, & x < 0 \\ 1, & x \geq 0 \end{cases} \quad (3.14)$$

а профиль интенсивности его изображения – сверткой функции $H(x)$ и функцией рассеяния оптической системы $PSF(x)$

$$I(x) = PSF(x) \otimes H(x) = \int_{-\infty}^{\infty} PSF(x') H(x - x') dx', \quad (3.15)$$

Функция Хевисайда является первообразной дельта функции Дирака, поэтому с помощью фильтрующего свойств дельта функции можно получить

$$\begin{aligned} \frac{dI(x)}{dx} &= \frac{d}{dx} \int_{-\infty}^{\infty} \text{PSF}(x') H(x - x') dx' = \int_{-\infty}^{\infty} \text{PSF}(x') \frac{dH(x - x')}{dx} dx' \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} \text{PSF}(x') \frac{d}{dx} \left(\int_{-\infty}^x \delta(x - x') dx \right) dx' \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} \text{PSF}(x') \delta(x - x') dx' = \text{PSF}(x) \otimes \delta(x) = \text{PSF}(x). \end{aligned} \quad (3.16)$$

Таким образом, производная профиля интенсивности изображения такого объекта $dI(x)/dx$ может служить в качестве экспериментальной оценки функции рассеяния $\text{PSF}(x)$. Пространственное разрешение оптической системы r можно оценить по положению первого минимума функции $\text{PSF}(x)$ (классический критерий Релея [827]) или по ее полуширине (распространенный критерий). В диссертации используется второй подход.

На Рис. 3.12 показаны профиль интенсивности изображения тестового объекта $I(x)$ и его первая производная $dI(x)/dx \propto \text{PSF}(x)$ при его визуализации на $\lambda = 500$ мкм ($\nu \approx 0,6$ ТГц) одиночным синглетом (отдельно от иммерсионной линзы) [35]; вектор напряженности электрического поля \mathbf{E} направлен поперек границы «металл – свободное пространство». Показано, что одиночный синглет обеспечивает субволновое разрешение $0,70\lambda$, что весьма близко к предсказаниям моделирования FDTD, $0,55\lambda$. Наблюдаемые различия могут быть связаны с погрешностями юстировкой системы или с приближением цилиндрических линз, использовавшимся в численном моделировании FDTD.

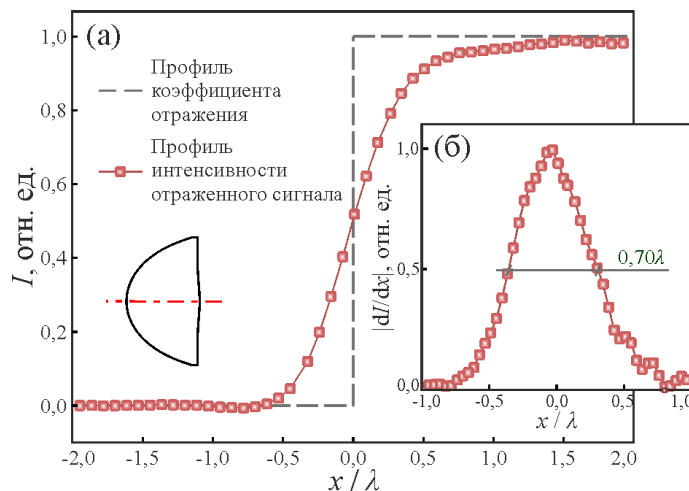
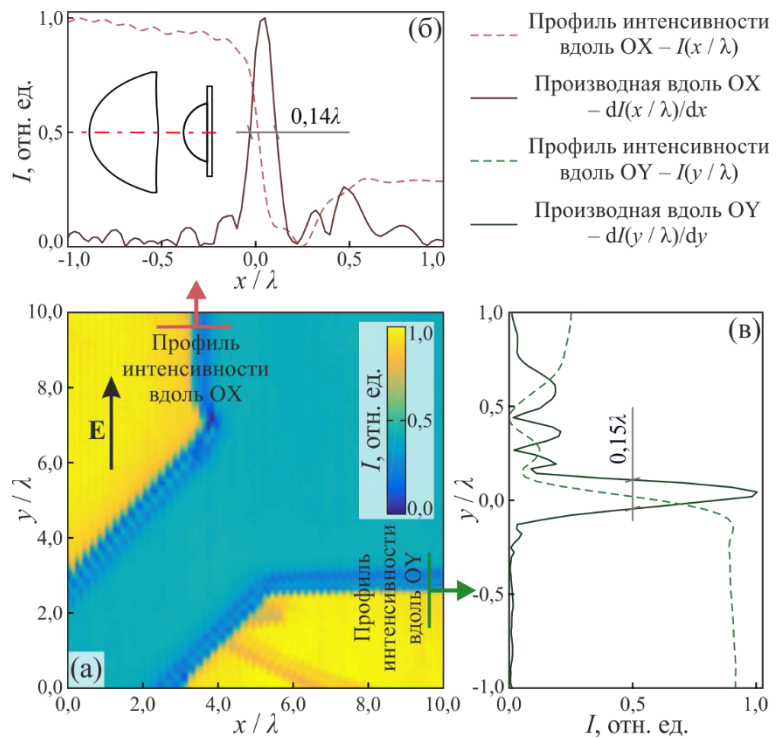


Рис. 3.12. Экспериментальная оценка разрешения одиночного синглета на $\lambda = 500$ мкм [40]: (а) – функция Хевисайда и экспериментальный профиль интенсивности изображения тестового объекта $I(x)$; (б) – оценка функции рассеяния $dI(x)/dx \propto \text{PSF}(x)$ и ее полуширины.

На Рис. 3.13 разрешение оптической системы в сборе оценивается с помощью тестового объекта по двум ортогональным направлениям плоскости изображения – перпендикулярно \mathbf{E} (вдоль оси OX) и параллельно \mathbf{E} (вдоль оси OY) [37,39]. Показано, что разработанная оптическая система и микроскоп на ее основе обеспечивают практически изотропное пространственное разрешение, а именно – $0,14\lambda$ и $0,15\lambda$ вдоль OX и OY, соответственно. Эта оценка в полной мере согласуется с теоретическими предсказаниями по методу FDTD ($0,16\lambda$, Рис. 3.4).

Рис. 3.13. Экспериментальная оценка разрешения оптической системы в сборе на $\lambda = 500$ мкм [37,39]: (а) – терагерцовое изображение тестового объекта $I(\mathbf{r})$; (б), (в) – профили интенсивности $I(x)$, $I(y)$ и производные $dI(x)/dx$, $dI(y)/dy$ вдоль OX и OY; \mathbf{E} – вектор напряженности электрического поля.



В таблице 3.4 сравниваются результаты теоретической и экспериментальной оценки пространственного разрешения одиночного синглета и оптической системы в сборе. Стоит учитывать, что в эксперименте на результат оценки оказывают влияние масса факторов, начиная с неидеальных юстировок системы и качества падающего на систему пучка, заканчивая выбранным методом вычисления функции рассеяния оптической системы. Последний, хоть и является общепринятым, все же не в полной мере подходит для методов ближнепольной визуализации, для которых функция рассеяния оптической системы во многом зависит от оптических характеристик, структуры и рассеивающих свойств объекта [42]. Теоретические и экспериментальные данные в целом согласуются: разработанная оптическая и терагерцовый микроскоп на ее основе преодолевают предел Аббе для свободного пространства ($\approx 0,5\lambda$) и обеспечивают разрешение до $\approx 0,15\lambda$. Наблюдаемый

инкремент разрешения после добавления к синглету иммерсионной линзы согласуется с показателем преломления HRFZ-Si, что соответствует выражениям (1.14) и (1.15).

Таблица 3.4. Сравнение теоретической (FDTD) и экспериментальной оценок пространственного разрешения одиночного синглета и оптической системы в сборе.

	Пространственное разрешение		Инкремент	Показатель преломления HRFZ-Si n_{Si}
	Одиночный синглет	Оптическая система в сборе		
FDTD	0,55 λ	0,16 λ	3,43	3,415
Эксперимент	0,70 λ	0,15 λ	4,66	

Также получена оценка отношения сигнала к шуму для лабораторного терагерцового микроскопа. На основе изображения тестового объекта (Рис. 3.13 (а)) экспериментальное отношение сигнала к шуму оценено как

$$\text{SNR}_{\text{exp}} = \frac{\langle I_S \rangle}{\sigma_N}, \quad (3.17)$$

где $\langle I_S \rangle$ – интенсивность излучения, отраженного от металла (среднее значение по области 10×10 пикселей²), σ_N – среднеквадратическое отклонение шумов (вычисленное по той же области). Для рассматриваемого микроскопа получено значение $\text{SNR}_{\text{exp}} = 10^2$, что ожидаемо ниже (на порядок величины) теоретических предсказаний (выражения (3.11)–(3.14), таблица 3.3). Причины подобного различия обсуждались выше (п. 3.2.1).

3.2.3 Зависимость разрешения от оптических характеристик объекта

Для экспериментальных исследований влияния оптических характеристик объекта на разрешение микроскопа изготовлены тестовые объекты в виде металлических полуплоскостей, в которых с металлом вместо свободного пространства контактируют различные диэлектрические среды (Рис. 3.14 (а)), для которых параметры n_{obj} , α_{obj} на $\lambda = 500$ мкм ($\nu \approx 0,6$ ТГц) известны априорно (таблица 3.5): ТРХ, Teflone, HDPE, фторид магния (MgF_2), кристаллический кварц (SiO_2), селенид цинка (ZnSe), фосфид галлия (GaP), сапфир ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) и германий (Ge). Результаты исследования этих объектов с помощью терагерцового микроскопа на $\lambda = 500$ мкм приведены на Рис. 3.14 (б)–(к) [42]. Для каждого объекта показаны ступенчатая функция, профиль интенсивности изображения $I(x)$ и его первая производная $\text{PSF}(x) \propto dI(x)/dx$. Во всех случаях параметр разрешения r

оценивался как ширина центрального пика функции рассеяния $PSF(x)$ по уровню FWHM. Полученные оценки $PSF(x)$ демонстрируют ее асимметрию и наличие в ней интенсивных побочных пиков. Этот эффект можно объяснить асимметричным возбуждением эванесцентных волн на границе «иммерсионная линза– объект» при асимметричной структуре последнего [40,42].

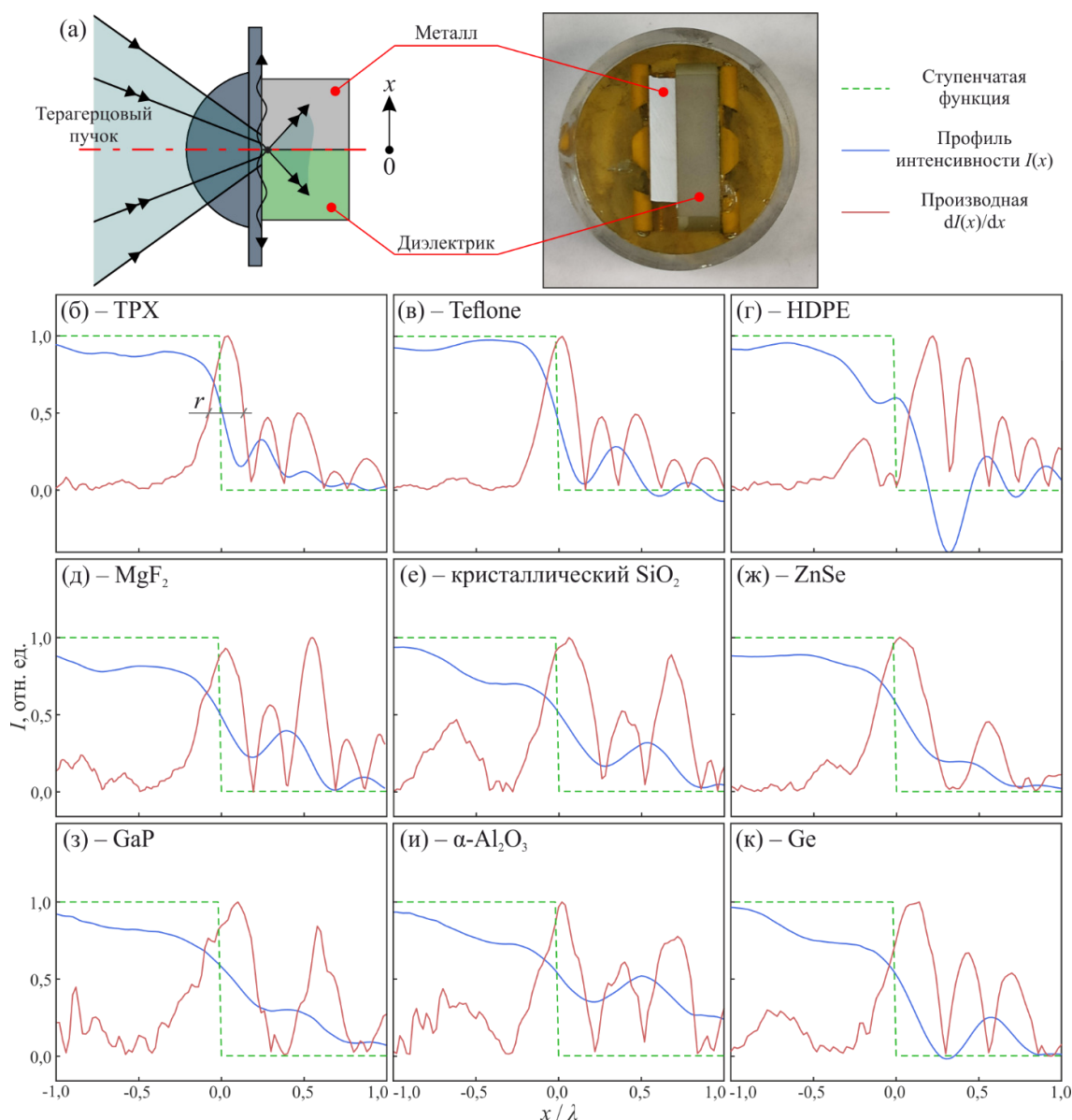


Рис. 3.14. Зависимость разрешения микроскопа от оптических свойств объекта исследования на $\lambda = 500$ мкм [42]: (а) – схема измерений и фотография тестового объекта; (б)–(к) – ступенчатые функции, профили интенсивности изображений $I(x)$ и их первые производные $dI(x)/dx$ для тестовых объектов (таблица 3.5).

Таблица 3.5. Оптические характеристики тестовых сред на $\lambda = 500$ мкм ($\approx 0,6$ ТГц) [42].

Материал	Показатель преломления n_{obj} (или n_o / n_e)	Коэффициент поглощения α_{obj} , см ⁻¹	Ист.
TPX	1,46	0,1	[596,828]
Teflon	1,46	0,2	[795,829]
HDPE	1,514	0,2	[828]
MgF ₂	1,8 / 2,0	1	[830]
Крист. SiO ₂	2,107 / 2,154	0,03	[595]
ZnSe	3,2	8	[831]
GaP	3,2	2	[832]
α -Al ₂ O ₃	3,068 / 3,407	0,2	[595]
Ge	4,0	1,2	[595]

На Рис. 3.15 (а) синим цветом показаны экспериментальные оценки разрешения микроскопа в зависимости от показателя преломления образца n_{obj} , где маркеры – средние значения, вертикальные отрезки – доверительные интервалы $\pm\sigma$ (они получены на основе нескольких измерений), а горизонтальные отрезки – неопределенности показателя преломления вследствие анизотропии кристаллов (Таблица 3.5). Очевидно, что параметр разрешения r снижается при визуализации объектов с отличным от свободного пространства показателем преломления ($n_{obj} > 1$) и отличным от нуля поглощением ($\alpha_{obj} \neq 0$). В то же время разрешение остается субволновым ($r/\lambda \in (0,15, 0,4)$) для всех тестовых объектов и преодолевает предел Аббе ($< 0,5\lambda$).

Результаты экспериментальных исследования (Рис. 3.14 и 3.15 (а)) согласуются с численными предсказаниями. Например, наряду с экспериментальными данными на Рис. 3.15 (а) зелеными маркерами показаны результаты численной оценки разрешения по методу 2D FDTD (они получены из данных Рис. 3.5 (в) для оптических характеристик тестовых объектов; таблицы 3.5), свидетельствующие о его субволновом уровне во всех рассмотренных случаях ($r/\lambda \in (0,15, 0,2)$).

На Рис. 3.15 (а) и (б) также приведены результаты оценки разрешения с помощью метода 3D FEFD (three-dimensional finite-element frequency-domain method или трехмерный метод конечных элементов для численного решения уравнений Максвелла в частотной области) в пакете программ COMSOL Multiphysics Software [42]. В данном методе используется осисимметричность оптической системы, что позволяет свести полноценную

3D вычислительную проблему к квази-3D / 2D. Моделирование выполняется в осевом сечении оптической системы в цилиндрической системе координат с применением цилиндрических граничных поглотителей (идеально согласованных слоев). Плоская монохроматическая ($\lambda = 500$ мкм) волна вводилась в моделируемое пространство с помощью TF/SF метода. Задача моделирования решалась последовательно для двух циркулярных поляризаций волны с угловыми моментами $m = \pm 1$. Сложение полученных в моделируемом пространстве распределений поля для $m = \pm 1$ позволяет получить данные для случая возбуждения оптической системы плоской волной с линейной поляризацией.

На Рис. 3.15 (а) показана зависимость разрешения микроскопа от n_{obj} при $\alpha_{\text{obj}} = 0$ для двух ортогональных направлений плоскости изображения относительно линейной поляризации излучения (вектора \mathbf{E}); на (б) – численные данные о распределении интенсивности поля $I \propto |\mathbf{E}|^2$ в осевом сечении системы при $n_{\text{obj}} = 2$, $\alpha_{\text{obj}} = 0$. Моделирование 3D FEFD выявило асимметрию функции рассеяния, однако этот эффект не наблюдался в эксперименте (Рис. 3.13). Подобное несоответствие может быть вызвано рядом факторов, среди которых отметим и возможные погрешности моделирования, обусловленные тем, что используемый метод 3D FEFD работает только с циркулярной или линейной поляризациями излучения (они заложены в расчетной схеме); этот метод не учитывает преобразование поляризации широкоапертурной оптикой.

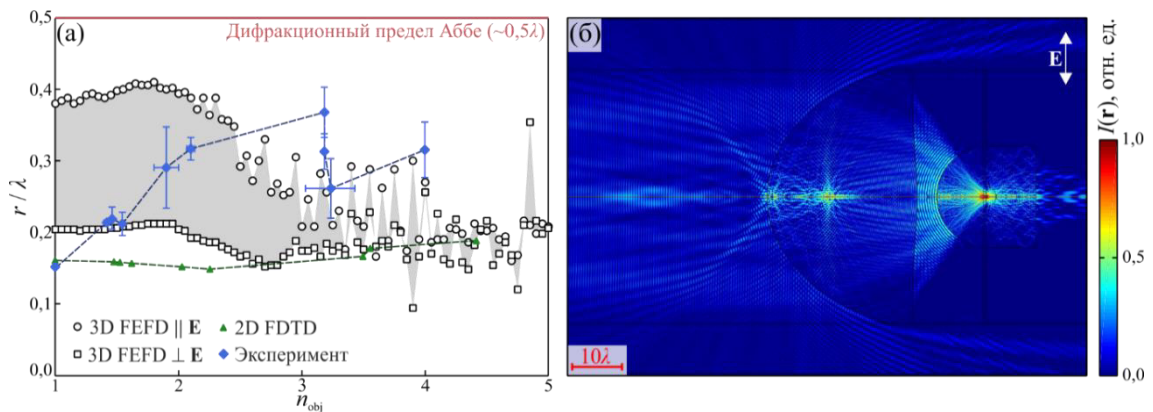


Рис. 3.15. Зависимость разрешения микроскопа от оптических свойств объекта исследования на $\lambda = 500$ мкм [42,43]: (а) – экспериментальные (синие маркеры) и численные (зеленые маркеры – 2D FDTD, Рис. 3.5 (в); черные маркеры – 3D FEFD) оценки разрешения; для 3D FEFD рассмотрены два ортогональных направления плоскости изображения (относительно вектора \mathbf{E}); (б) – интенсивность $I \propto |\mathbf{E}|^2$ в осевом сечении системы, полученная по методу 3D FEFD для $n_{\text{obj}} = 2$, $\alpha_{\text{obj}} = 0$.

Таким образом, теоретически и экспериментально показано, что разрешение разработанного микроскопа зависит от оптических характеристик объекта, однако в широких пределах измерения его показателя преломления ($n_{\text{obj}} \in (1,0, 5,0)$) и коэффициента поглощения ($\alpha_{\text{obj}} \in (0, 400) \text{ см}^{-1}$, по мощности) оно остается субволновым ($r/\lambda \in (0,15, 0,4)$) и преодолевает предел Аббе для свободного пространства ($\approx 0,5\lambda$). Это свидетельствуя о перспективности нового метода терагерцовой микроскопии в различных областях науки и техники. Рассмотренные диапазоны вариации n_{obj} и α_{obj} включают типичные оптические характеристики биологических тканей в терагерцовом диапазоне [11,15,16], что подчеркивает перспективность нового метода для биофотоники и медицинской визуализации [37,39,41,43,44,62].

3.2.4 Апробация микроскопа

Лабораторный терагерцовый микроскоп применялся для визуализации биологических тканей различной природы [37,39,41]. Сперва рассмотрим результаты микроскопии листовых пластин растений. Содержание воды в тканях листовых пластин является ключевым параметром их состояния. Повышенное содержание воды ведет к снижению количества и качества урожая, а ее дефицит – к гибели растений, поэтому необходимо поддерживать приемлемый уровень гидратации [93]. Благодаря высокой чувствительности терагерцовых методов к тканевой воде, в ряде работ они применялись для оценки гидратации растений [93,833–836], мониторинга состояния семян [837,838], а также контроля гидратации и плотности древесины [839,840].

Терагерцовая микроскопия применен для визуализации листовых пластин пуансеттии (рождественской звезды или лат. *Euphorbia pulcherrima*) и мяты (лат. *Méntha*) [37,841]. Показанные на Рис. 3.16. изображения позволяют различить субволновые структурные элементы листовых пластин – жилки. Интенсивность излучения, отраженного жилками, выше по сравнению с окружающими областями, что может быть связано с различным содержанием и состоянием тканевой воды, а также флуктуациями структуры и плотности тканей. Требуется дальнейший анализ природы наблюдаемых различий, тем не менее можно заключить, что новый методы терагерцовой микроскопии способен найти свои приложения в биологии и растениеводстве.

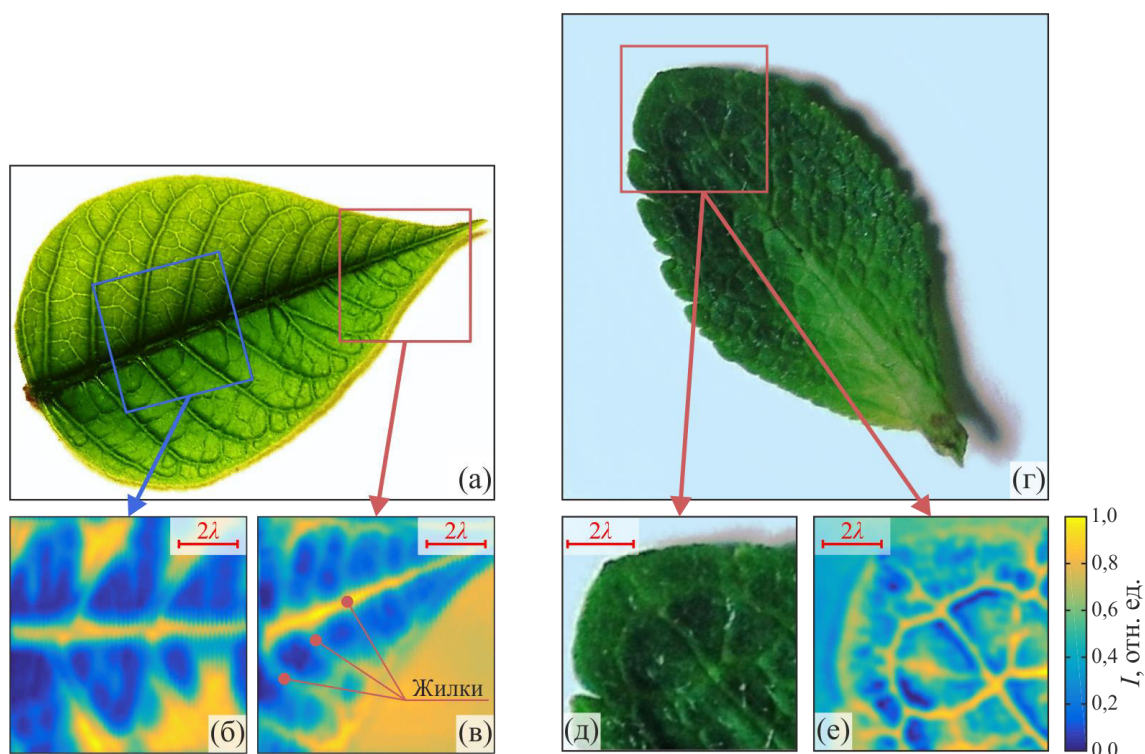


Рис. 3.16. Микроскопия листовых пластин [37,841]: (а)–(в) – фотография и терагерцовые ($\lambda = 500$ мкм) изображения пуансеттии (рождественской звезды или лат. *Euphorbia pulcherrima*); (г)–(е) – схожие данные для мяты (лат. *Méntha*).

Затем лабораторный микроскоп применен для визуализации клеточных сфероидов, предназначенных для трехмерного биопринтинга тканей [37,842]. Такие сфероиды формируются живыми клетками, выращенными в искусственной среде, и применяются в регенеративной медицине для создания двухмерных и трехмерных тканевых конструкций путем биопринтинга. Для этой области актуален ряд проблем диагностики [843,844], включая контроль гидратации и жизнеспособности сфероидов и тканевых конструкций, детектирование некрозов, контроль формирования межклеточного матрикса, а также диагностику патологических процессов в сфероидах и тканевых конструкциях. Терагерцовая спектроскопия и микроскопия чувствительны к патологическим состояниям в биологических тканях и, соответственно, могут применяться для решения отмеченных проблем. Однако подобные приложения до сих пор систематически не изучались, что в значительной степени обусловлено субволновыми размерами клеточных сфероидов.

На Рис. 3.17 показаны результаты терагерцовой и видимой микроскопии (а)–(б) одиночного клеточного сфероида диаметром 250–300 мкм (он состоит из $\sim 10^4$ хондроцитов артикулярного гиалинового хряща самца) и (в)–(г) агломерата из трех таких сфероидов (триплета). Для визуализации сфероида извлекались из питательной среды и помещались на опорное окно микроскопа. На терагерцовых изображениях сфероиды

вполне различимы, несмотря на субволновой диаметр. Разработанный метод терагерцовой микроскопии обеспечивает достаточное для визуализации отдельных сфероидов разрешение, открывая возможности решения отмеченных проблем биопринтинга тканей. Дальнейшие исследования в данной области представляются весьма перспективными.

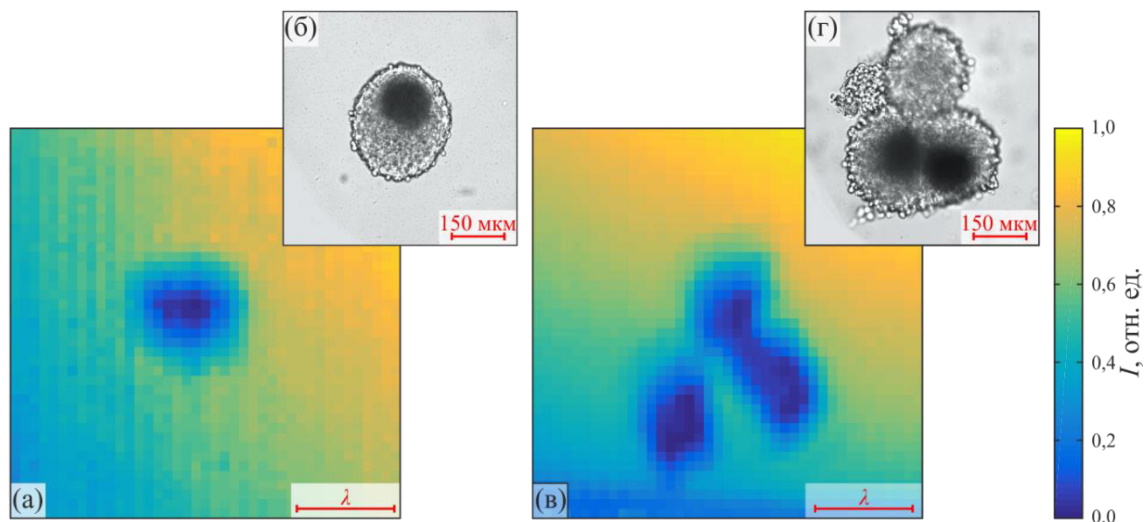


Рис. 3.17. Микроскопия клеточных сфероидов, сформированных хондритами из хряща самца овцы [37,842]: (а), (б) – терагерцовое ($\lambda = 500$ мкм) и видимое изображения одиночного сфероида; (в), (г) – данные для триплета сфероидов.

Важная проблема терагерцовой биофотоники – построение новых физико-математических моделей распространения излучения в тканях, выходящих за рамки классических подходов теории эффективной среды и учитывающих эффекты рассеяния на мезомасштабных ($\sim\lambda$) неоднородностях тканей (глава 1, Рис. 1.5) [11,15,16]. Построение таких моделей невозможно без методов терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, позволяющих регистрировать локальные оптические характеристики и изучать гетерогенность тканей. Таким методом может стать терагерцовая микроскопия, основанная на твердотельной иммерсии.

Эта возможность демонстрируется в диссертации за счет регистрации и анализа терагерцовых микроскопических изображений свежесеченных образцов различных тканей организма человека *ex vivo* (Рис. 3.18) [37,41]. На панелях (а)–(в) показаны фотография, гистология Н&Е и терагерцовое изображение стромы молочной железы, состоящей из фиброзной соединительной ткани с включением отдельных зрелых жировых клеток субволнового диаметра (80–100 мкм) и их агломератов (2–25 клеток), где на терагерцовом изображении различимы отдельные жировые клетки и их агломераты. На (г)–(е) показаны схожие данные для расширенного протокового канала молочной железы,

имеющего субволновой размер и наблюдаемого на терагерцовом изображении; на (ж)–(и) – для поперечно-полосатой мышечной ткани языка, где на терагерцовом изображении видны отдельные продольные и поперечные мышечные волокна. Наблюдаемый на терагерцовых изображениях контраст между различными структурными элементами тканей преимущественно определяется содержанием в них тканевой воды (глава 1) [11,15,16]. Новый метод терагерцовой микроскопии позволяет различать структурные элементы тканей размерами $d \geq 50\text{--}150$ мкм, способные стать источниками рассеяния Ми ($d/\lambda \geq 0,1$).

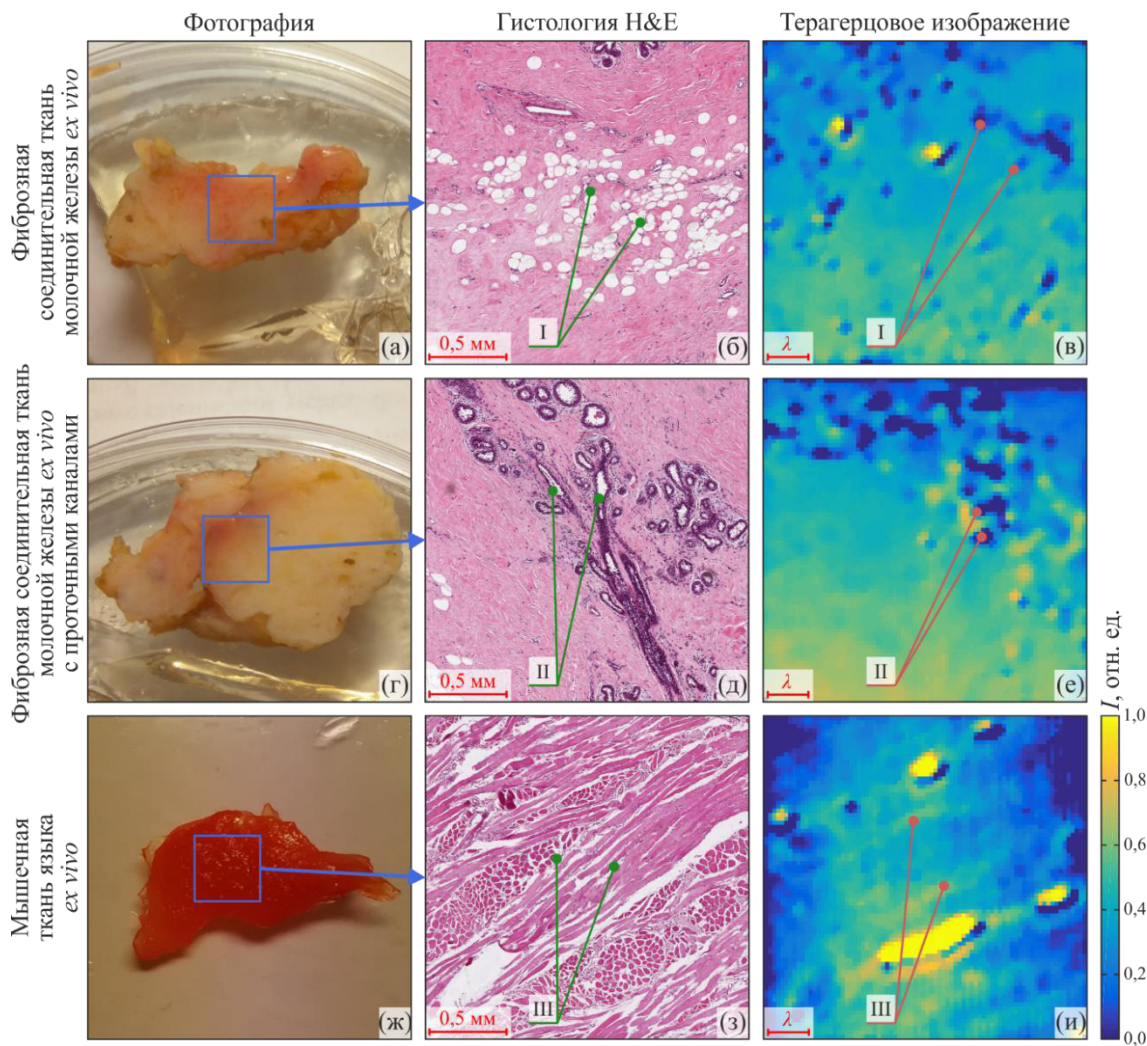


Рис. 3.18. Микроскопия свежесеченных тканей организма человека *ex vivo* [37,39]: (а)–(в) – фотография, гистология Н&Е и терагерцовое ($\lambda = 500$ мкм) изображение стромы молочной железы с включениями жировых клеток (I); (г)–(е) – протоковый канала молочной железы (II); (ж)–(и) – поперечно-полосатая мышечная ткань языка, состоящей из отдельных мышечных волокон (III).

В качестве примера рассмотрим подробнее результаты терагерцовой микроскопии стромы молочной железы (Рис. 3.18 (в)) и применим аналитические подходы теории Ми для оценки параметров рассеяния терагерцового излучения отдельной жировой клеткой в матрице соединительных тканей молочной железы; рассмотрим несколько частот ($\nu = 0,5, 1,0$ и $1,5$ ТГц) и клеточных диаметров ($d = 50, 100, 150, 200$ и 250 мкм). На основе экспериментальных данных об эффективных терагерцовых оптических характеристиках свежесеченных фиброзной соединительной и жировой тканей молочной из работы [319] рассчитаны параметры рассеяния Ми для жировых клеток; рассмотрен случай неполяризованного излучения. Они показаны на Рис. 3.19 в форме дифференциального $\sigma(\theta)$ и интегрального σ_t сечений рассеяния, а также среднего косинуса угла рассеяния $\overline{\cos \theta}$ (фактора анизотропии рассеяния) [11]. В зависимости от частоты ν и диаметра d наблюдается как скалярное (изотропное) рассеяния во все стороны, так и сильное рассеяние вперед или назад. Другими словами: для различных соотношений d и λ предсказано как изотропное рассеяние Релея, так и рассеяния Ми со сложной формой индикатрисы. Это может влиять на результаты терагерцовой спектроскопии и визуализации таких тканей и вести к неверной интерпретации экспериментальных данных.

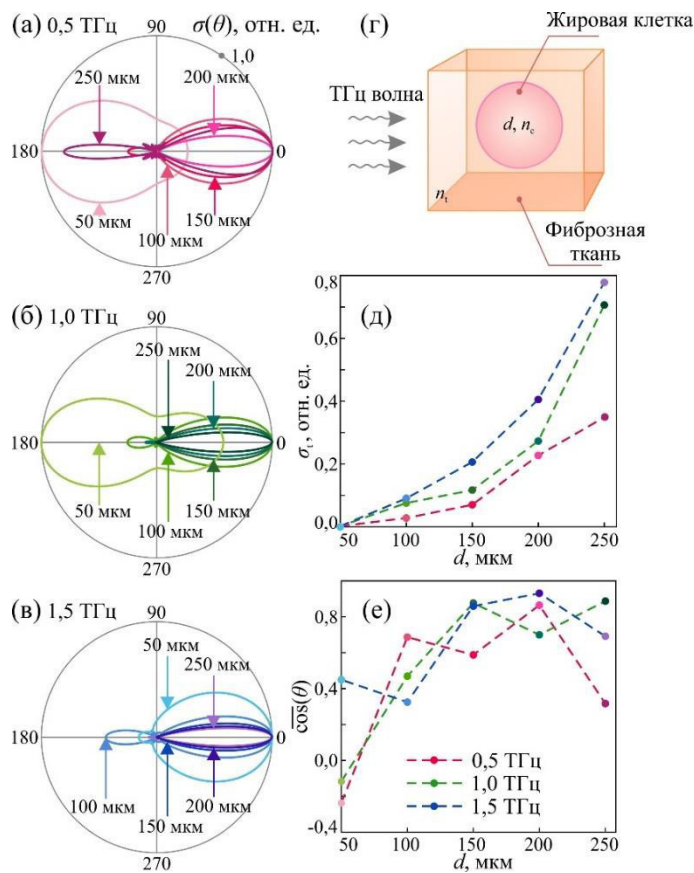


Рис. 3.19. Параметры рассеяния Ми неполяризованной плоской терагерцовой волны на одиночной сферической жировой клетке диаметром d в матрице фиброзной соединительной ткани молочной железы человека [11]: (а)–(в) – нормированное дифференциальное сечение рассеяния $\sigma(\theta)$ для $\nu = 0,5, 1,0$ и $1,5$ ТГц и $d = 50, 100, 150, 200$ и 250 мкм; (г) – модель клетки; (д) – интегральное сечение рассеяния σ_t ; (е) – фактор анизотропии рассеяния $\overline{\cos \theta}$.

Таким образом, полученные результаты терагерцовой визуализации тканей (Рис. 3.16–3.18) и пилотные расчеты параметров рассеяния терагерцового излучения (Рис. 3.19) показывают, что разработанный метод терагерцовой микроскопии может стать эффективным в решении фундаментальных и прикладных проблем оптики и биофотоники.

3.3 Выводы по главе

В данной главе разработан метод терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, работающий в геометрии «на отражение» и предназначенный для визуализации объектов различной природы, включая биологические ткани.

- 1) Разработана оптическая система, основанная на твердотельной иммерсии, и построенная на базе широкоапертурного асферического синглета, кремниевых гипополусферы и опорного окна. Последние два элемента формируют единый оптический – составную иммерсионную линзу (полусферу). Составная конструкция этой линзы позволяет визуализировать как твердые объекты, так и мягких тканей за счет механического перемещения опорного окна вместе с объектом относительно каустики электромагнитного пучка (фокального пятна).
- 2) Создан лабораторный терагерцовый микроскоп субволнового разрешения, ключевыми элементами которого является оптическая системы, основанная на эффекте твердотельной иммерсии, ЛОВ и ячейка Голя.
- 3) Теоретически и экспериментально показано, что разрешение терагерцового микроскопа достигает $0,15\lambda$, когда позади иммерсионной линзы расположено свободное пространство. Также показано, что разрешение микроскопа зависит от оптических характеристики объекта, оставаясь субволновым ($r/\lambda \in (0,15, 0,4)$) в широких пределах изменения его показателя преломления ($n_{\text{obj}} \in (1,0, 5,0)$) и коэффициента поглощения ($\alpha_{\text{obj}} \in (0, 400) \text{ см}^{-1}$, по мощности).
- 4) Проведена апробация терагерцового микроскопа, включавшая исследование биологических тканей различной природы: листовых пластин растений, клеточных сфероидов и свежесеченных тканей организма человека. Показана возможность терагерцовой визуализации субволновых неоднородностей тканей, а также перспективность нового метода в разных областях биофотоники и медицинской визуализации.

ГЛАВА 4. Восстановление оптических характеристик объекта исследования в терагерцовой микроскопии, основанной на эффекте твердотельной иммерсии

Новый метод терагерцовой микроскопии, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, позволяет получить качественную информацию об объекте – пространственное распределение интенсивности рассеянного объектом излучения. Для анализа результатов терагерцовой микроскопии и их количественного сравнение с данными импульсной спектроскопии представляется актуальным решение обратной задачи, связанной с оценкой пространственного распределения (с субволновым разрешением) локальных оптических характеристик объекта путем обработки микроскопических изображений [43,44,62]. Для этого в данной главе разработана аналитическая физико-математическая модель отражения электромагнитного излучения от объекта, расположенного позади иммерсионной линзы. Эта модель описывает интенсивность отраженного излучения с учетом широкой апертуры и поляризации пучка, интерференционных эффектов и стоячих волн внутри иммерсионной линзы, эффекта ПВО и возбуждения эванесцентных волн на границе «иммерсионная линза–образец», а также локальных оптических характеристик образца. На основе этой модели предложен и реализован экспериментально метод решения обратной задачи терагерцовой микроскопии. Проведена его численная верификация и экспериментальная апробация, включавшая исследования тестовых сред с априорно известными оптическими характеристиками. Показана возможность применения нового метода для оценки локальных оптических характеристик слабо и сильно поглощающих объектов, включая биологические ткани. В сочетании с импульсной спектроскопией новый метод применен для исследования децеллюляризованных тканей на основе бычьего перикарда и эффектов их взаимодействия с парами воды в атмосфере.

4.1 Метод оценки локальных оптических характеристик объекта в терагерцовой микроскопии

Рассмотрим объект, расположенный позади иммерсионной линзы (Рис. 3.1) и характеризуемый искомым распределением комплексного показателя преломления $\tilde{n}(\mathbf{r})$ в фокальной плоскости оптической системы; \mathbf{r} – радиус-вектор (точка) в плоскости. Примем следующие допущения о толщине $l(\mathbf{r})$, гетерогенности и шероховатости объекта [43].

- В каждой точке \mathbf{r} , толщина объекта l намного больше глубины резкости δ оптической системы ($l \geq \delta \approx 0,1\lambda$) [41], что позволяет пренебречь отражением излучения от задней (по ходу пучка) поверхности объекта, а также связанными с ним резонансами и стоячими волнами внутри объекта.
- Оптические свойства объекта меняются медленно в масштабах функции рассеяния ($r/\lambda \in (0,15, 0,4)$) и глубины резкости ($\delta \approx 0,1\lambda$) оптической системы, что позволяет считать объект однородным в пределах каустики пучка (функции рассеяния).
- Шероховатость поверхности объекта, контактирующей с иммерсионной линзой, пренебрежимо мала по сравнению с длиной волны ($\ll \lambda$), пространственным разрешением ($\ll r \in (0,15\lambda, 0,4\lambda)$) и глубиной резкости ($\ll \delta \approx 0,1\lambda$) оптической системы, что позволяет считать границу «иммерсионная линза– объект» плоской.

Другими словами: объект исследования рассматривается как однородный в пределах функции рассеяния и глубины резкости оптической системы (каустики пучка). Это позволяет описывать локальный терагерцовый отклик образца с помощью эффективных оптических (диэлектрических) характеристик (глава 1, выражения (1.1)–(1.3)), например, комплексного показателя преломления \tilde{n} .

С учетом описанных допущений, пространственное распределение показателя преломления $\tilde{n}(\mathbf{r})$ может быть восстановлено независимо для каждой точки \mathbf{r} за счет минимизации невязки между экспериментальными данными и теоретической моделью, описываемой функционалом ошибки Φ [43,44,62]

$$\tilde{n} = \operatorname{argmin}_{\tilde{n}}[\Phi], \quad \Phi = H_{\text{exp}} - H_{\text{th}}(\tilde{n}), \quad (4.1)$$

где H_{exp} и H_{th} – теоретическая и экспериментальная передаточные функции. Функция H_{exp} задается на основе экспериментальных данных

$$H_{\text{exp}} = \frac{I_{\text{exp}}^{\text{obj}}}{I_{\text{exp}}^{\text{ref}}}, \quad (4.2)$$

где $I_{\text{exp}}^{\text{obj}}$ и $I_{\text{exp}}^{\text{ref}}$ – интенсивности поля, отраженного от оптической системы с объектом позади и без него, соответственно. В диссертации в качестве подобной опорной среды при регистрации $I_{\text{exp}}^{\text{obj}}$ использовалось свободное пространство (воздух) позади иммерсионной линзы ($n_{\text{ref}} = 1,0$ и $\alpha_{\text{ref}} = 0$). Однако для этого можно использовать и другие твердые, аморфные или жидкие среды с априорно известными оптическими характеристиками.

Теоретическая передаточная функция H_{th} задается схожим образом

$$H_{\text{th}}(\tilde{n}) = \frac{I_{\text{th}}^{\text{obj}}(\tilde{n})}{I_{\text{th}}^{\text{ref}}(\tilde{n})} \quad (4.3)$$

на основе модели интенсивности поля $I_{\text{th}}(\tilde{n})$, отраженного от оптической системы с объектом позади или без него. Модель $I_{\text{th}}(\tilde{n})$ может быть либо задана аналитически, либо рассчитана путем численного моделирования. В выражениях (4.2) и (4.3) сигнал образца нормируется на опорный для исключения влияния аппаратной функции микроскопа на результат оценки локальных оптических характеристик (схожим образом с нормировкой сигналов в терагерцовой импульсной спектроскопии; глава 2) [29,30,43,44,62].

Разработка физико-математической модели отражения излучения от объекта исследования позади оптической системы – ключевой этап на пути решения обратной задач терагерцовой микроскопии. Модель $I_{\text{th}}(\tilde{n})$ должна максимально подробно описывать физические особенности взаимодействие излучения с оптической системой и объектом, включая: широкую апертуру и поляризацию пучка, интерференционные эффекты и стоячие волны внутри иммерсионной линзы, эффект ПВО и возбуждение эванесцентных волн на границе «иммерсионная линза– образец», оптические характеристик и толщину объекта. Модель должна давать адекватные оценки в широких пределах изменения показателя преломления n и коэффициента поглощения α образца. Большинство биологических тканей и жидкостей, полимеров, кристаллических материалов и композиционных сред в терагерцовом диапазоне обладают сравнительно низким показателем преломления ($n < 5$) и конечным поглощением ($\alpha < 10^3 \text{ см}^{-1}$, по мощности) [43]. Поэтому в диссертации ограничим область анализа модели отражения $I_{\text{th}}(\tilde{n})$ диапазонами показателя преломления $n \in (1,0, 5,0)$ и коэффициента поглощения $\alpha \in (0, 10^3) \text{ см}^{-1}$ (по мощности).

4.1.1 Физико-математическая модель отражения излучения от объекта

Благодаря простой геометрии разработанной оптической системы (Рис. 3.1), а именно: концентричности сходящегося волнового фронта (после синглета) и сферической поверхности иммерсионной линзы, а также полусферической формы иммерсионной линзы,

в диссертации разработана полностью аналитическая физико-математическая модель отражения $I_{th}(\tilde{n})$, а методы численного моделирования использовались для ее верификации. На Рис. 4.1 схематично иллюстрируется взаимодействие излучения с оптической системой, где для простоты не показан синглет. Тем не менее он учтен в модели $I_{th}(\tilde{n})$ через максимальный апертурный угол сходящегося пучка θ_{max} .

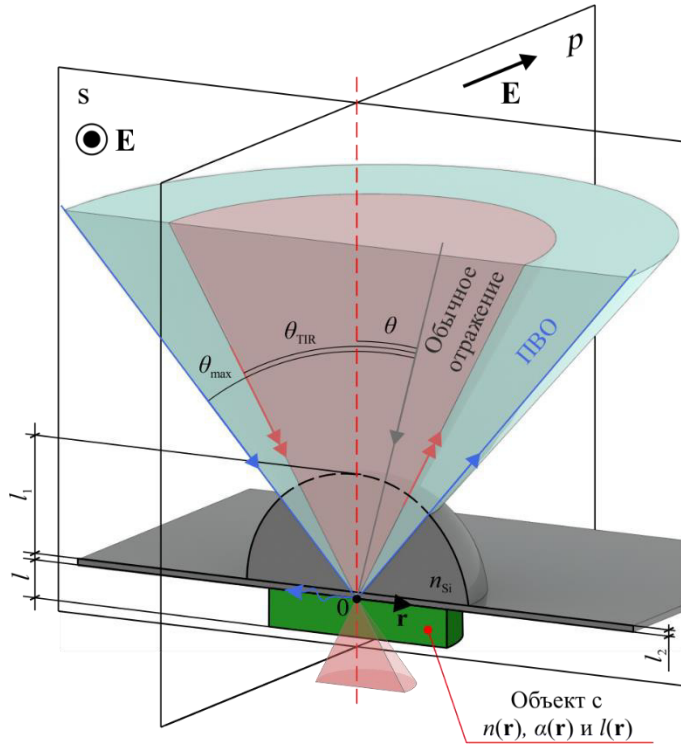


Рис. 4.1. Схема отражения излучения от объекта позади оптической системы, реализующей эффект твердотельной иммерсии, где для простоты показана только иммерсионная линза, но не показан синглет [43].

Разработанная модель $I_{th}(\tilde{n})$ учитывает вклад волн с поляризациями s и p типа, существующих в пределах широкой апертуры пучка и по-разному взаимодействующих с границей раздела «иммерсионная линза – объект» [43]

$$I_{th}(\tilde{n}) = \frac{|E^s(\tilde{n})|^2 + |E^p(\tilde{n})|^2}{2}. \quad (4.4)$$

В числителе два слагаемых суммируются некогерентно, так как соответствуют двум ортогональным состояниям поляризации, при этом каждое слагаемое учитывает обычную отраженную волну и волну ПВО с соответствующей поляризацией. Обычная отраженная волна наблюдается для s и p поляризаций при низкой апертуре пучка (когда угол падения на границу «иммерсионная линза – объект» ниже критического угла ПВО, $\theta < \theta_{TIR} = \arcsin(n/n_{Si})$), а эффект ПВО – при более высоких углах падения ($\theta \geq \theta_{TIR}$).

Для s и p поляризаций интегральная по апертуре пучка амплитуда отраженного поля может быть записана в виде

$$E^{s/p}(\tilde{n}) = E_0 \frac{\int_0^{\theta_{\max}} R^{s/p}(\tilde{n}, \theta) \sin(\theta) d\theta}{\int_0^{\theta_{\max}} \sin(\theta) d\theta}, \quad (4.5)$$

где E_0 – амплитуда подающей на иммерсионную линзу волны. В выражении (4.5) угловое распределение амплитудного коэффициента отражения оптической системы с объектом позади $R^{s/p}(\tilde{n}, \theta)$ интегрируется по апертуре пучка. Множитель $\sin(\theta)$ регулирует вклад различных элементарных составляющих пучка (с их элементарной конической апертурой) в результирующее отраженное поле, причем он растет с телесным углом

$$\Omega = \iint_S \sin(\theta) d\varphi d\theta, \quad (4.6)$$

где θ – широта (угол от оптической оси), а φ – долгота (поворот вокруг оси).

Для бесконечной длины когерентности ЛОВ, используемой в качестве источника в лабораторном терагерцовом микроскопе (Рис. 3.6), коэффициент отражения $R^{s/p}(\tilde{n}, \theta)$ задается выражением

$$R^{s/p}(\tilde{n}, \theta) = r_{0/Si}^{s/p} + \frac{t_{0/Si} t_{Si/0} p_{Si}^2 r_{Si/obj}^{s/p}(\tilde{n}, \theta)}{1 - p_{Si}^2 r_{Si/0}^{s/p} r_{Si/obj}^{s/p}(\tilde{n}, \theta)}, \quad (4.7)$$

где $r_{0/Si}^{s/p}$, $r_{Si/0}^{s/p}$ и $t_{0/Si}$, $t_{Si/0}$ – зависящие от поляризации амплитудные коэффициенты отражения и пропускания Френеля (для нормального падения излучения на границы «свободное пространство – иммерсионная линза» и «иммерсионная линза – свободное пространство», то есть падение сферического волнового фронта на сферическую поверхность иммерсионной линзы) [29,30,43,44,62,494]:

$$\begin{aligned} r_{0/Si}^s &= -r_{Si/0}^s = \frac{1 - n_{Si}}{n_{Si} + 1}, \\ r_{0/Si}^p &= -r_{Si/0}^p = \frac{n_{Si} - 1}{n_{Si} + 1}, \\ t_{0/Si} &= \frac{2}{n_{Si} + 1}, \\ t_{Si/0} &= \frac{2n_{Si}}{n_{Si} + 1}. \end{aligned} \quad (4.8)$$

Параметр p_{Si} описывает фазовый набег волны внутри иммерсионной линзы из HRFZ-Si и задается модифицированным законом Бугера-Ламберта-Бера [29,30,43,44,62,494]:

$$p_{Si} = \exp\left(-i \frac{2\pi\nu}{c_0} n_{Si} (l_1 + l_2)\right), \quad (4.9)$$

причем для рассматриваемых толщин оптических элементов поглощение излучения в HRFZ-Si пренебрежимо мало. Параметр $r_{Si/obj}^{s/p}$ описывает амплитудный коэффициент

отражения Френеля на границе «иммерсионная линза – образец» для поляризаций s и p, а также различных углов падения θ ; он задается через комплексные волновые вектора [43]:

$$\begin{aligned}
 r_{\text{Si/obj}}^s(\tilde{n}, \theta) &= \frac{k_{z,\text{Si}}(\theta) - k_{z,\text{obj}}(\tilde{n}, \theta)}{k_{z,\text{Si}}(\theta) + k_{z,\text{obj}}(\tilde{n}, \theta)}, \\
 r_{\text{Si/obj}}^p(\tilde{n}, \theta) &= \frac{\tilde{n}^2 k_{z,\text{Si}}(\theta) - n_{\text{Si}}^2 k_{z,\text{obj}}(\tilde{n}, \theta)}{\tilde{n}^2 k_{z,\text{Si}}(\theta) + n_{\text{Si}}^2 k_{z,\text{obj}}(\tilde{n}, \theta)}, \\
 k_{z,\text{Si}}(\theta) &= \frac{2\pi\nu}{c_0} n_{\text{Si}} \cos(\theta), \\
 k_{z,\text{obj}}(\tilde{n}, \theta) &= \frac{2\pi\nu}{c_0} \sqrt{\tilde{n}^2 - n_{\text{Si}}^2 \sin^2(\theta)}.
 \end{aligned} \tag{4.10}$$

Заметим, что эти выражения описывают как обычное отражение, так и эффект ПВО.

Выражения (4.1)–(4.10) устанавливают связь между измеряемой микроскопом интенсивностью поля и локальным показателем преломления объекта в каждой точке \mathbf{r} . Они могут использоваться для решения обратной задачи микроскопии [43]. Аналитическая модель $I_{\text{th}}(\tilde{n})$ дает ясное физически-обоснованное решение прямой задачи, однако её точность может быть ограничена рядом факторов. В частности, она сформулирована для объекта большой толщины (по сравнению с длиной волны и глубиной резкости оптической системы), в то время как толщина может быть конечной. Она описывает локальное отражение излучения (в точке пересечения оптической оси и предметной плоскости), в то время как эванесцентные волны могут распространяться на конечное расстояние вдоль поверхности, а отраженный луч может быть смещен поперек оптической оси на конечное расстояние [318]. Наконец, синглет учтен в модели только через максимальный апертурный угол θ_{max} , при этом эффекты аподизации пучка (неравномерного пропускания по апертуре из-за френелевских потерь на асферических поверхностях и поглощения в объеме HDPE) остаются неучтенными и могут оказать влияние на фокусировку пучка [682,693]. Поэтому для верификации аналитической модели используется численное моделирование.

В аналитическом методе и численном моделировании учитывались как интенсивность, так и фаза волны, отраженной объектом позади оптической системы и имеющим определенный комплексный показатель преломления. Учитывая, что лабораторный микроскоп способен детектировать только интенсивность поля, в диссертации рассмотрена возможность оценки комплексной диэлектрической проницаемости только по информации об интенсивности отраженной волны. Действительно, одновременная оценка двух оптических констант n , α на основе единственного значения интенсивности I_{exp} представляется затруднительной. Тем не менее предлагается два частных подхода к решению этой задачи. Во-первых, рассматривается случай слабо поглощающих сред, в которых конечные потери не оказывают влияния на

оценку показателя преломления. Во-вторых, решается задача оценки комплексного показателя преломления \tilde{n} водосодержащих сред (включая биологические ткани), для которых параметры n и α связаны и определяются объемным содержанием воды C .

4.1.2 Верификация аналитической модели численными методами

Для верификации аналитической модели использовался численный метод 3D FEFD в пакете COMSOL Multiphysics Software (см. главу 3). При моделировании фокусировки излучения оптической системой (Рис. 3.1 и 4.1) получена численная оценка интенсивности отраженного поля I_{th} в зависимости от комплексного показателя преломления \tilde{n} и толщины l объекта. Затем с помощью выражения (4.3) получена численная оценка теоретической передаточной функции H_{th} для объекта с различными \tilde{n} , l и для свободного пространства (в качестве опорной среды). Рассмотрены непоглощающие объекты ($\alpha = 0$) и объекты с конечным поглощением ($\alpha \neq 0$), бесконечно толстые объекты ($l \rightarrow \infty$) и объекты конечной толщины l . Проведенный численный анализ основан на первых принципах и поэтому является более общим по сравнению с аналитической моделью (4.1)–(4.10), учитывая все ключевые особенности взаимодействия излучения с объектом и оптической системой в рамках классической электродинамики [265,318,681,808]. Однако результаты численного моделирования искажены своими специфическими шумами из-за конечности моделируемого пространства, конечного шага дискретизации, ограничений на поляризацию излучения (в используемом методе рассматриваются только линейная или циркулярная) и других факторов [808].

На Рис. 4.2 (а) аналитическая и численная передаточные функции H_{th} сравниваются для непоглощающих ($\alpha = 0$) бесконечно толстых ($l \rightarrow \infty$) объектов с различным показателем преломления n [43]. Разработанный метод должен обеспечивать единственность решения обратной задачи, то есть функция H_{th} должна задавать однозначную взаимосвязь между детектируемой интенсивностью I_{exp} и показателем преломления n . В таком случае функция H_{th} должна быть монотонной в определенном диапазоне изменения n . На Рис.4.2 (б) показана первая производная функции dH_{th}/dn [43]. Аналитическая функция H_{th} имеет отрицательную первую производную и, следовательно, монотонно спадает с ростом n в диапазоне $n \in (1,0, 4,5)$, обеспечивая единственность решения. Численная кривая H_{th} схожа с аналитической, также демонстрируя монотонный характер. Однако в области больших показателей преломления она искажена модуляциями, связанными с погрешностями численного счета и сужающими область монотонности

функции H_{th} . При малых показателях преломления ($n \leq 2,2$) на функцию H_{th} значительное влияние оказывает эффект ПВО и возбуждение эванесцентных волн на границе «иммерсионная линза – объект» [42]. В этом случае функция H_{th} претерпевает значительные изменения, что приводит к высокой чувствительности разработанного метода к малым изменениям показателя преломления n . При $n > 2,2$ условие ПВО нарушается и только обычные распространяющиеся волны участвуют в зондировании объекта (Рис. 3.5) [42]. В этой области изменения H_{th} менее выражены, что обеспечивает меньшую чувствительность метода.

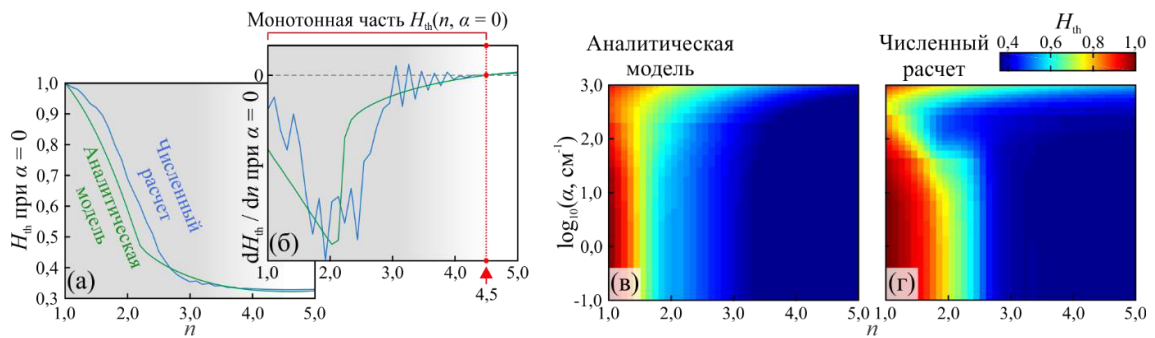


Рис. 4.2. Теоретическая передаточная функция $H_{th}(\tilde{n})$ на $\nu = 0,6$ ТГц ($\lambda \approx 500$ мкм), рассчитанная аналитически (выражения (4.3)–(4.10)) или численно (по методу 3D FEFD) [43]: (а), (б) – аналитическая и численная функции H_{th} для непоглощающего ($\alpha = 0$) бесконечно толстого ($l \rightarrow \infty$) объекта с различным показателем преломления n , а также их первые производные $dH_{th} = dn$; (в), (г) – аналитическая и численная функции H_{th} для бесконечно толстого ($l \rightarrow \infty$) объекта с различными показателем преломления n и коэффициентом поглощения α (по мощности). На (б) красный пунктир соответствует значению $n = 4,5$, ниже которого аналитическая функция H_{th} монотонно спадает с ростом n .

На Рис. 4.2 (в) и (г) аналитическая передаточная функция H_{th} сравнивается с численной для бесконечно толстого объекта ($l \rightarrow \infty$) с различными показателями преломления ($n \in (1,0, 5,0)$) и коэффициентами поглощения ($\alpha \in (10^{-1}, 10^3) \text{ см}^{-1}$, по мощности) [43]. Аналитическая модель в полной мере согласуется с численными предсказаниями. Наблюдаемые различия между аналитической и численной моделями связаны с рядом допущений, использовавшихся при выводе аналитической модели, а также с некоторыми искажениями численных данных. Например, в численном моделировании интенсивность отраженного излучения определяется в ближней зоне (на небольшом расстоянии позади асферического синглета), а в аналитической модели – в дальней зоне,

что больше соответствует эксперименту. Наблюдаемое на Рис. 4.2 снижение интенсивности отраженного излучения и, соответственно, теоретической передаточной функции H_{th} с ростом показателя преломления n связано с ростом критического угла ПВО θ_{TIR} при повышении n и уменьшением претерпевающей ПВО части пучка (Рис. 4.1). Более того, диэлектрический контраст границы «иммерсионная линза – образец» снижается с ростом n вплоть до n_{Si} , что является вторым фактором спада интенсивности отраженного излучения. Напротив, незначительный рост H_{th} при показателях преломления выше $n > 4,5$ связан с повышением диэлектрического контраста границы «иммерсионная линза – образец» [42].

Из расчетов для бесконечно толстого ($l \rightarrow \infty$) объекта (Рис. 4.2 (в), (г)) заметим, что функция $H_{th}(n, a)$ слабо зависит от коэффициента поглощения излучения объектом a при сравнительно малых значениях последнего ($a \in (0, 10) \text{ см}^{-1}$). В этом случае показатель преломления n может быть однозначно восстановлен по регистрируемой интенсивности I_{exp} без какой-либо априорной информации о поглощении a . При более высоком поглощении ($a \in (10, 10^{2,5}) \text{ см}^{-1}$) функция $H_{th}(n, a)$ претерпевает значительные изменения, особенно в области малых значений показателя преломления ($n \in (1,0, 2,5)$). Столь сильные изменения могут быть связаны с поглощением внутри объекта эванесцентных волн, распространяющихся вдоль границы «иммерсионная линза – объект». В таком случае при фиксированном a , функция H_{th} по-прежнему имеет монотонный характер в широком диапазоне вариации показателя преломления n . Решение обратной задачи остается единственным, однако для этого требуется либо априорное знание a , либо однозначная физически обоснованная взаимосвязь между n и a . Для еще больших потерь ($a > 10^{2,5} \text{ см}^{-1}$) эванесцентные волны полностью подавляются и микроскоп переходит в другой режим работы, анализ которого выходит за рамки диссертации.

Конечная толщина объекта l может осложнить оценку его оптических характеристик. На Рис. 4.3 приведена теоретической передаточной функции $H_{th}(n, a)$, полученная по 3D FEFD методу для объектов толщиной $l \rightarrow \infty$, $l = 10\lambda$, λ и $0,1\lambda$ [43]. При $l \rightarrow \infty$ (панель (а)) функция H_{th} остается гладкой при заданном a в широком диапазоне показателей преломления ($n \in (1,0, 4,5)$) и коэффициентов поглощения $a \in (10^{-1}, 10^{2,5}) \text{ см}^{-1}$ (белая штриховка). Моделирование для $l = 10\lambda$ (панель (б)) выявило стоячие волны внутри образца и связанные с ними модуляции функции H_{th} при $n > 2,0$ и $a < 10^{0,5} \text{ см}^{-1}$ (серая штриховка), тогда как H_{th} остается гладкой при $n \in (1,0, 2,0)$ (белая штриховка). Амплитуда модуляций снижается со спадом диэлектрического контраста границ «иммерсионная линза– объект» и «объект – свободное пространство», а также с ростом поглощения в образце, так как оба фактора снижают добротность сформированного

образцом резонатора. На панелях (в) и (г) приведены результаты для $l = \lambda$ и $0,1\lambda$, соответственно. Уменьшение l приводит к модуляциям функции H_{th} с растущими амплитудой и периодом $\Delta n \propto \lambda/2l$, а также сужению области пространства (n, α) , в которой функция H_{th} остается гладкой. Важно отметить, что конечное поглощение α подавляет стоячие волны в образце и связанные с ними модуляции при выполнении условия

$$2l\alpha \geq 1. \quad (4.11)$$

Результаты моделирования продемонстрировали влияние конечной толщины образца l на возможность оценки его оптических характеристик с помощью разработанного метода. Полученные оценки допустимых толщин l можно также трактовать как характерные глубины зондирования образца микроскопом, на которых оптические свойства образца не должны существенно меняться, чтобы исключить искажения восстанавливаемых характеристик. Наконец, толщина объекта l становится не столь критичным фактором, если он обладает конечным коэффициентом поглощения α .

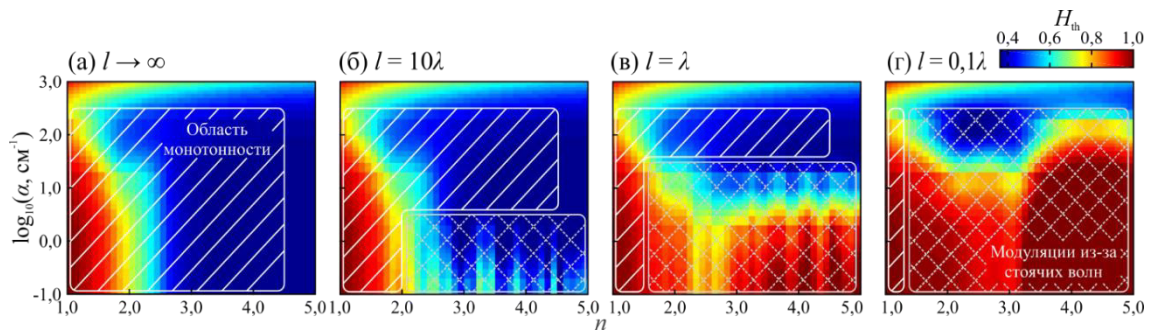


Рис. 4.3. Численная (3D FEM) теоретическая передаточная функция $H_{th}(\tilde{n})$ на $\nu = 0,6$ ТГц ($\lambda \approx 500$ мкм) для различных показателей преломления n , коэффициентов поглощения α и толщин l образца [43]: (а) – $l \rightarrow \infty$, (б) – $l = 10\lambda$, (в) – $l = \lambda$, (г) – $l = 0,1\lambda$. Белая штриховка – область пространства (n, α) , где функция H_{th} является гладкой; серая – область (n, α) , в которой функция H_{th} искажена модуляциями из-за стоячих волн внутри образца.

4.2 Апробация метода оценки локальных оптических характеристик

Разработанный метод оценки локальных оптических характеристик объекта реализован в среде MATLAB и применен для обработки изображений лабораторного микроскопа. Рассмотрим независимо его применение для работы со слабо поглощающими средами, а также средами со значительным коэффициентом поглощения, обусловленным высоким содержанием воды, включая биологические ткани [43].

4.2.1 Слабо поглощающие среды

Рассмотрим результаты микроскопии нескольких толстых ($l \gg \lambda$, $l \gg \delta$) плоскопараллельных окон, изготовленных из диэлектрических материалов с априорно известным показателем преломления n и малым поглощением ($\alpha \leq 10 \text{ см}^{-1}$): TPX, HDPE, PMMA и кристаллический кварц (SiO_2). В ходе измерений полированные образцы устанавливались поверх опорного окна микроскопа, без зазоров (Рис. 3.1 и 4.1). Результаты показаны на Рис. 4.4 (а)–(з) в форме терагерцовых изображений $I(\mathbf{r})$ и распределений показателя преломления $n(\mathbf{r})$, причем каждое изображение захватывает материал окна и окружающее его свободное пространство.

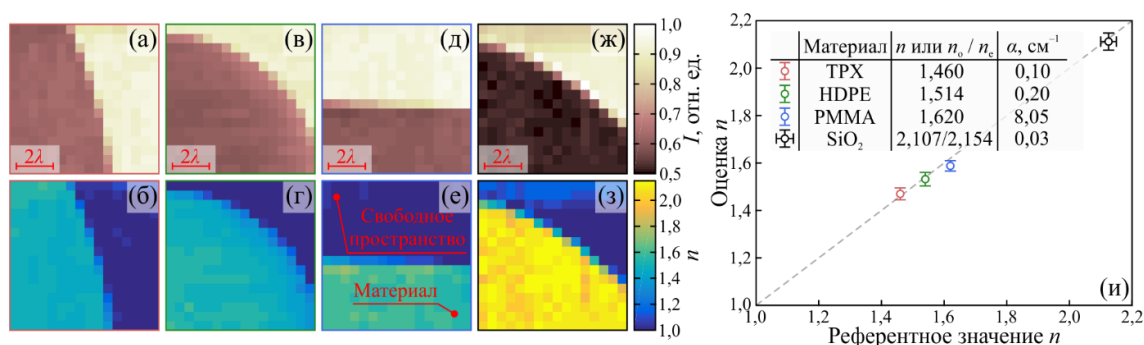


Рис. 4.4. Оценка показателя преломления $n(\mathbf{r})$ слабо поглощающих ($\alpha < 10 \text{ см}^{-1}$) сред на $\nu = 0,6 \text{ ТГц}$ ($\lambda \approx 500 \text{ мкм}$) [43]: (а), (б) – терагерцовое изображение $I(\mathbf{r})$ и показатель преломления $n(\mathbf{r})$ для TPX; (в)–(з) – данные для HDPE, PMMA и кристаллического кварца (SiO_2); (и) – сравнение восстановленного показателя преломления n с литературными данными для TPX [828], HDPE [828], PMMA [845] и SiO_2 [595]. На (и) вертикальные доверительные интервалы показывают стандартное отклонение измерений $\pm\sigma$; горизонтальные – неопределенность показателя преломления анизотропного SiO_2 .

Восстановленные распределения терагерцового показателя преломления $n(\mathbf{r})$ использовались для оценки его среднего значения и дисперсии по апертуре образца. На Рис. 4.4 (и) показано, что полученные с помощью терагерцовой микроскопии результаты оценки показателя преломления n согласуются с литературными данными с точностью до доверительных интервалов измерений $\pm\sigma$, где σ – стандартное отклонение. Таким образом, разработанный метод решения обратной задачи может использоваться для изучения слабо поглощающих сред без каких-либо дополнительных допущений. В данном случае он может

быть полезным при создании новых методов терагерцовой дефектоскопии диэлектрических материалов и композиционных сред [19], контроля качества в химии, фармацевтике [305] и пищевой промышленности [306].

4.2.2 Сильно поглощающие среды

Перейдем к рассмотрению широкого класса сильно поглощающих сред, терагерцовый диэлектрический отклик которых определяется содержанием воды [43]. Для таких сред показатель преломления n и коэффициент поглощения α являются связанными величинами, которые могут быть заданы через объемное содержание в среде воды C . В таких системах высокий дипольный момент молекулы H_2O и существенное содержание воды (единицы или десятки процентов) – доминирующие факторы в формировании диэлектрического отклика на терагерцовых частотах. Измерения таких сред особо важны в биофотонике, где эффективные терагерцовые оптические характеристики тканей во многом определяются содержанием в них воды (глава 1) [11,15,16]. Тканевая вода также играет роль эндогенного (естественного) маркера патологических процессов в различных диагностических приложениях [11,16,69,70]. Поэтому оценка пространственного распределения (с субволновым разрешением) показателя преломления $n(\mathbf{r})$ тканей и содержания в них тканевой воды $C(\mathbf{r})$ представляется актуальной проблемой.

В работе [333] предложена модель, связывающая эффективный терагерцовый комплексный показатель преломления тканей \tilde{n} с объемным содержанием в них тканевой воды C . В этой модели ткань рассматривается как двухкомпонентная среда, состоящая из тканевой воды с ее эффективным комплексным показателем преломления \tilde{n}_{H_2O} и остальных менее полярных компонент (клеточный матрикс, компоненты клеток, белки, липиды, ДНК, аминокислоты и другие биологические молекулы) с их суммарным эффективным комплексным показателем преломления \tilde{n}_{dry} , причем \tilde{n}_{dry} соответствует дегидратированным (высушенным / лиофилизированным) тканям. Вместо простой линейризованной модели, использовавшейся в работе [333] и предполагающей линейную декомпозицию спектральных характеристик, в диссертации для моделирования отклика тканей \tilde{n} воспользуемся более строгой моделью Бругеммана [23,43] (глава 1)

$$\frac{\tilde{n}_{H_2O}^2 - \tilde{n}^2(C)}{\tilde{n}_{H_2O}^2 + 2\tilde{n}^2(C)} C + \frac{\tilde{n}_{dry}^2 - \tilde{n}^2(C)}{\tilde{n}_{dry}^2 + 2\tilde{n}^2(C)} (1 - C) = 0. \quad (4.12)$$

Подобные модели пренебрегают эффектами гидратации биологических молекул и тканей, способными изменить их эффективный диэлектрический отклик [11,15,16]. Тем не менее

они позволяют с высокой точностью предсказать эффективный комплексный показатель преломления тканей $\tilde{n}(C)$ в широком диапазоне изменения содержания воды C [43,333].

На Рис. 4.6 (а) показан фрагмент аналитической передаточной функции $H_{th}(\tilde{n})$ в диапазонах $n \in (1,6, 2,4)$ и $\alpha \in (0, 200) \text{ см}^{-1}$ [43]. Используя комплексный показатель преломления воды $\tilde{n}_{H_2O} = 2,32 - i0,69$ ($\alpha_{H_2O} = 174 \text{ см}^{-1}$), измеренный с помощью терагерцового импульсного спектрометра (Рис. 4.6) [20,21], и дегидратированных тканей мозга $\tilde{n}_{dry} = 1,8 - i0,05$ ($\alpha_{dry} = 12 \text{ см}^{-1}$) из работ [323,333], на Рис. 4.6 (а) белой кривой показана эволюция комплексного показателя преломления тканей мозга на $\nu = 0,6$ ТГц с ростом содержания тканевой воды в диапазоне $C \in (0, 1)$. Эта зависимость рассчитана с помощью модели (4.12); она близка к линейной. Ткань мозга рассмотрена на Рис. 4.5 (а) в качестве примера, так как в главе 5 диссертации разработанный метод будет применяться для анализа интактных тканей и опухолей головного мозга [43,62]. Хотя в работе рассмотрена эволюция комплексного показателя преломления тканей головного мозга, другие типы тканей имеют во-многом схожий отклик, определяемый содержанием воды. В качестве примера на Рис. 4.5 (а) нанесены литературные данные об оптических характеристиках на $\nu = 0,6$ ТГц различных тканей организма человека, нормальных и патологических. Очевидно, что разработанный метод применим для изучения локального комплексного показателя преломления \tilde{n} и содержания воды C в различных тканях; для этого в выражении (4.12) необходимо использовать оптические характеристики дегидратированных тканей соответствующего типа и локализации \tilde{n}_{dry} .

С помощью модели (4.12), устанавливающей взаимосвязь оптических характеристик тканей мозга n , α и содержания тканевой воды C рассчитано сечение теоретической передаточной функции $H_{th}^{tissue}(\tilde{n})$; оно соответствует белой кривой на Рис. 4.5 (а) и показано отдельно на панели (б). Функция H_{th}^{tissue} имеет монотонный характер во всем диапазоне изменения оптических характеристик тканей и, следовательно, может использоваться для получения единственного решения обратной задачи (однозначной оценки оптических характеристик по сигналам микроскопа). Подобный подход к решению обратной задачи позволяет одновременно оценить распределение показателя преломления $n(\mathbf{r})$, коэффициента поглощения $\alpha(\mathbf{r})$ и содержания воды $C(\mathbf{r})$ в объекте исследования с субволновым разрешением на основе регистрируемого микроскопом изображения $I_{exp}(\mathbf{r})$.

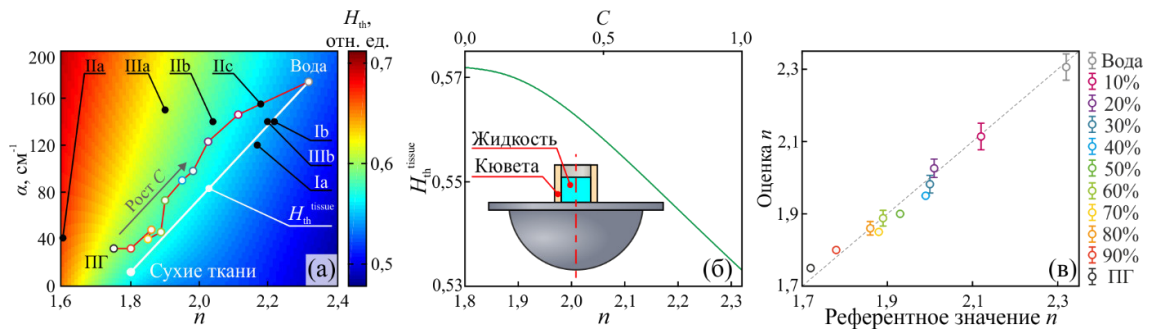


Рис. 4.5. Оценка показателя преломления n сильно поглощающих ($\alpha > 10 \text{ см}^{-1}$) сред на $\nu = 0,6 \text{ ТГц}$ ($\lambda \approx 500 \text{ мкм}$) [43]: (а) – аналитическая передаточная функция $H_{th}(\tilde{n})$ и ее сечение $H_{th}^{tissue}(\tilde{n})$ (белая кривая), заданное выражением (4.12)) и описывающее эволюцию эффективного комплексного показателя преломления тканей \tilde{n} (на примере головного мозга *ex vivo*) с ростом объемного содержания тканевой воды в диапазоне $C \in (0, 1)$; (б) – передаточная функция H_{th}^{tissue} для модельной оценки параметров n , α и C ; (в) – верификация метода решения обратной задачи путем сравнения оценок показателя преломления n для ПГ и его водных растворов с данными импульсной спектроскопии (Рис. 4.6 и 4.7). На (а) показаны оптические характеристики ПГ и его водных растворов (Рис. 4.6) [20,21], а также литературные данные о характеристиках тканей [здорового эпидермиса (Ia) и ВСС (Ib) кожи [325]; жировой ткани (IIa), фиброзной соединительной ткани (IIb) и опухоли (IIc) молочной железы [319]; интактной ткани (IIIa) и глиомы (IIIb) головного мозга [60]]; на вставке панели (б) – схема терагерцовой микроскопии жидких образцов в кювете.

Для апробации предложенного подхода использовались тестовые объекты на основе ПГ и его водных растворов с объемной концентрацией от 10% до 90% и шагом 10% [43]. Схема измерения жидкостей в полимерной кювете с помощью микроскопа показана на вставке Рис. 4.5 (б). Для тестирования метода решения обратной задачи приготовлены деионизованная вода (НЛР Hydrolab, Польша), чистый ПГ (Chemical Line Co. Ltd, Россия) и его водные растворы, оптические характеристики которых изучены с помощью терагерцового импульсного спектрометра (Рис. 2.1) с применением разработанных методик (глава 2) [20,21]. Полученные результаты показаны на Рис. 4.6 в форме спектров показателя преломления n и коэффициента поглощения α (по мощности) и на Рис. 4.5 (а) в виде маркеров на плоскости (n, α) для $\nu = 0,6 \text{ ТГц}$. Чистый ПГ имеет низкие оптические константы n, α , которые растут почти линейно с уменьшением концентрации агента в

растворе $(1 - C)$, либо ростом содержания воды C . Это позволяет использовать водные растворы ПГ в качестве фантома тканей в рамках рассматриваемой модели (4.12).

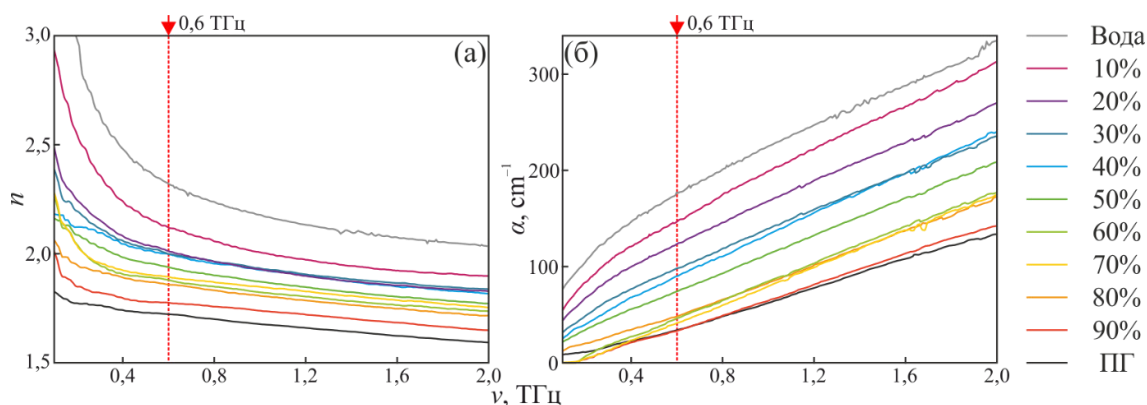


Рис. 4.6. Оптические характеристики деионизованной воды, чистого ПГ и его водных растворов с объемной концентрацией 10%–90% и шагом 10% [43]: (а) – показатель преломления n ; (б) – коэффициент поглощения α (по мощности). Вертикальная красная линия – рабочая частота микроскопа ($\nu = 0,6$ ТГц).

На Рис. 4.7 представлены результаты микроскопии ПГ и его водных растворов в форме пространственного распределения показателя преломления образцов $n(\mathbf{r})$. Анализ флуктуации интенсивности изображений позволил оценить средний показатель преломления и дисперсию его оценки, которые на Рис. 4.5 (в) сравниваются с данными терагерцовой импульсной спектроскопии (Рис. 4.6). Показано, что оценки оптических характеристик ПГ и его водных растворов методами терагерцовой микроскопии и импульсной спектроскопии в полной мере согласуются (с точностью до доверительных интервалов измерений). Это свидетельствует о применимости нового метода решения обратной задачи терагерцовой микроскопии для исследования водосодержащих объектов с высоким коэффициентом поглощения. К данному классу объектов относятся биологические ткани, что подчеркивает важность нового метода для биофотоники.

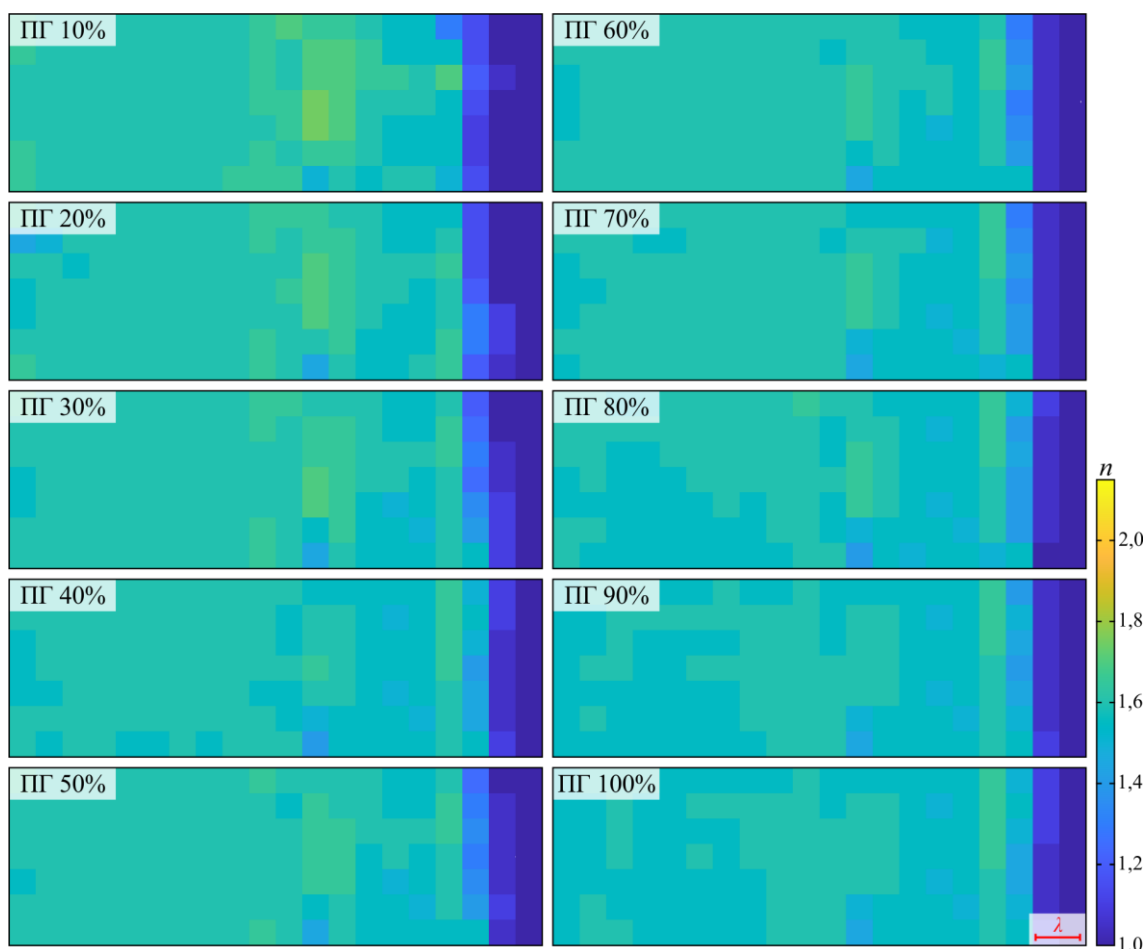


Рис. 4.7. Микроскопии на $\nu = 0,6$ ТГц ($\lambda \approx 500$ мкм) образцов ПГ (100%) и его водных растворов различной концентрации (10%–90% с шагом 10%) в полимерной кювете (см. вставку Рис. 4.5 (б)) в форме пространственного распределения показателя преломления $n(\mathbf{r})$.

4.3 Визуализация децеллюляризованных клеточных матриц

Рассмотрим результаты применения нового метода терагерцовой микроскопии для изучения децеллюляризованных клеточных матриц (скаффолдов), используемых в регенеративной медицине [44]. Тканевая инженерия предлагает широкий спектр биоразлагаемых каркасов, которые в сочетании с клетками и/или биоактивными молекулами (факторами роста, цитокинами, гормонами, антибиотиками и т.д.) могут замещать поврежденные ткани живого организма [846,847]. В настоящее время одним из наиболее доступных и распространенных видов клеточных матриц является децеллюляризованный бычий перикард (decellularized bovine pericardium – DBP), состоящий преимущественно из коллагена I типа [848,849]. Модификация таких материалов позволяет стандартизировать технологию их получения, так как контролируемое

воздействие позволяет создавать матрицы с постоянным составом, воспроизводимой структурой и физико-химическими свойствами (гидрофильность, пористость и др.) или персонализировать импланты с учетом анатомо-физиологических особенностей пациента [850].

Среди распространенных подходов к обработке скаффолдов выделим плазменную обработку – простой и масштабируемый метод модификации поверхности биоматериалов для повышения их гидрофильности [851,852]. Показано, что клетки, культивируемые на обработанных плазмой структурах, обладают лучшей адгезией к поверхности матрикса [853,854]. Вторым распространенным методом модификации биоматериалов на основе тканей млекопитающих – сшивка (кросслинкинг) глутаральдегидом (glutaraldehyde – GA). Химическое структурирование повышает протеолитическую устойчивость, а также снижает иммуногенность биологической ткани за счет маскирования чужеродных антигенов. В то же время интеграция таких конструкций в организм реципиента затруднена из-за приобретенной цитотоксичности, уплотнения материала и риска кальцификации в отдаленном периоде [855]. Контроль физико-химических характеристик и биосовместимости скаффолда должен осуществляться на всех этапах его производства.

Важным показателем являются водопоглощающие свойства скаффолдов [856]. Исследования эффектов взаимодействия скаффолдов с водой (включая адсорбцию воды из атмосферы) важны для тканевой инженерии и регенеративной медицины, так как адсорбция может оказать как положительное, так и отрицательное влияние. С одной стороны, гидрофильность и адсорбция важны для гидролитической деградации скаффолда и внутринового транспорта [856]. С другой, они могут оказать негативное влияние на механические свойства скаффолда, пролиферацию клеток и морфологию регенерируемых тканей [857,858]. Исследование кинетики гидратации / дегидратации скаффолдов крайне актуально, а терагерцовые методы перспективны для решения этой задачи [11,15,16].

Разработанные в диссертации методы терагерцовой импульсной спектроскопии и микроскопии применены для исследования коллагеновых матриц DBP в дегидратированном состоянии и после взаимодействия с водой в атмосфере [44]. Рассмотрены как интактные скаффолды, так и сшитые GA или обработанные плазмой.

4.3.1 Подготовка скаффолдов

Работа с тканями животных проводилась в соответствии с этическими принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection of

Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, Strasbourg, 2006) и Международными стандартами биомедицинских исследований с применением животных (International Guidelines for Biomedical Research in Animals, CIOMS and ICLAS, 2012). Ткани перикарда молодых телят получены на местной ферме и доставлены в холодном гипертоническом растворе в Сеченовский университет (Москва, Россия), после чего с них были удалены излишки жировых и соединительных тканей.

Децеллюляризация достигалась обработкой тканей смесью раствора (1 моль) гидроксида натрия и раствора (0,85 моль) сульфата натрия в течение 2 ч при температуре 20°C с последующим ополаскиванием водой и нейтрализацией 4% (масса / объем) борной кислотой в течение 1 ч. Децеллюляризованную ткань тщательно промывали водой, а затем лиофилизировали. Полученные образцы DBP в форме пластов толщиной 0,54–0,74 мм разделены на фрагменты площадью $22 \times 13 \text{ мм}^2$. Они разделены на три группы для дальнейших экспериментальных исследований (Рис. 4.8):

- интактные коллагеновые матрицы DBP (панели (а), (б));
- сшитые GA образцы DBP, для изготовления которых на дно эксикатора с подложкой добавили 3 мл ГА, после чего эксикатор был накрыт фильтровальной бумагой для образования дубильной камеры, в которой образцы выдерживались в течение 7 ч до пожелтения (панели (в), (г));
- обработанные плазмой образцы DBP, для изготовления которых исходный скаффолд обрабатывался в течение 60 сек синтетическим воздухом и вспышкой низкочастотной (40 кГц) газоразрядной плазмы мощностью 50 Вт при давлении 66,6 Па (панели (д), (е)).

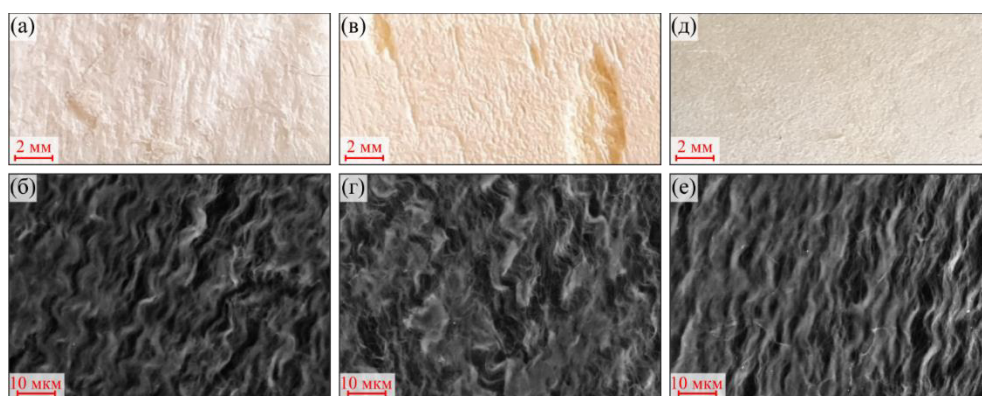


Рис. 4.8. Коллагеновые матрицы DBP разного типа [44]: (а), (б) – фотография и микроскопическое изображение (сканирующий электронный микроскоп Zeiss EVO LS10, Германия) интактной коллагеновой матрицы DBP; (в), (г) и (д), (е) – данные для сшитых GA и обработанный плазмой образцов DBP, соответственно.

4.3.2 Спектроскопия скаффолдов

Для измерения DBP использовалась терагерцовая импульсная спектроскопия и разработанные методики, описанные в главе 2 и работах [20,44,176,726]. Измерения проходили в геометрии «на пропускание» в слегка сфокусированном пучке. Вакуумный отсек спектрометра оснащен независимой (отдельный объем) кюветой образца, в которой он может располагаться либо в вакууме, либо во влажной атмосфере. Давление в обоих вакуумных объемах измерялось вакуумметром Thugacont VD85 с точностью 10%. Лабораторный терагерцовый импульсный спектрометр позволил охарактеризовать скаффолды в диапазоне 0,4–2,0 ТГц. Для оценки диэлектрической проницаемости образцов использовались методы, разработанные в главе 2 [44].

При измерениях образец крепился в своем независимом объеме (кювете). Этот объем сперва вакуумировался для исследования дегидратированных тканей, а затем наполнялся влажным воздухом с относительной влажностью $80,0 \pm 5,0\%$ и температурой $\approx 25^\circ\text{C}$ для исследования эволюции терагерцового диэлектрического отклика тканей и адсорбции ими паров воды. Вакуумный измерительный отсек спектрометра и кювета образца разделены майларовыми окнами толщиной 20 мкм. Для приготовления влажной атмосферы разработана специальная камера большого объема, оснащенная увлажнителем, прецизионным термогигрометром Testo 635 (Германия) с погрешностью измерения влажности 0,1% и температуры 0,1°C. Приготовленная в этой камере влажная атмосфера вводилась в кювету образца путем открытия вакуумного крана. Камера со влажной атмосферой намного больше кюветы образца, что позволяет считать параметры атмосферы в этих двух объемах после открытия вакуумного крана эквивалентными исходной атмосферы в большой камере.

На Рис. 4.9 показаны результаты измерения эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости скаффолдов трех типов в процессе адсорбции ими паров воды [44]. Диэлектрические спектры регистрировались после ввода влажной атмосферы в кювету образца в течении 1 ч с шагом 2 мин. Процесс адсорбции и наблюдаемые изменения терагерцовых диэлектрических характеристик оказались значительно медленнее, поэтому на Рис. 4.9 показаны данные измерений с большим шагом по времени.

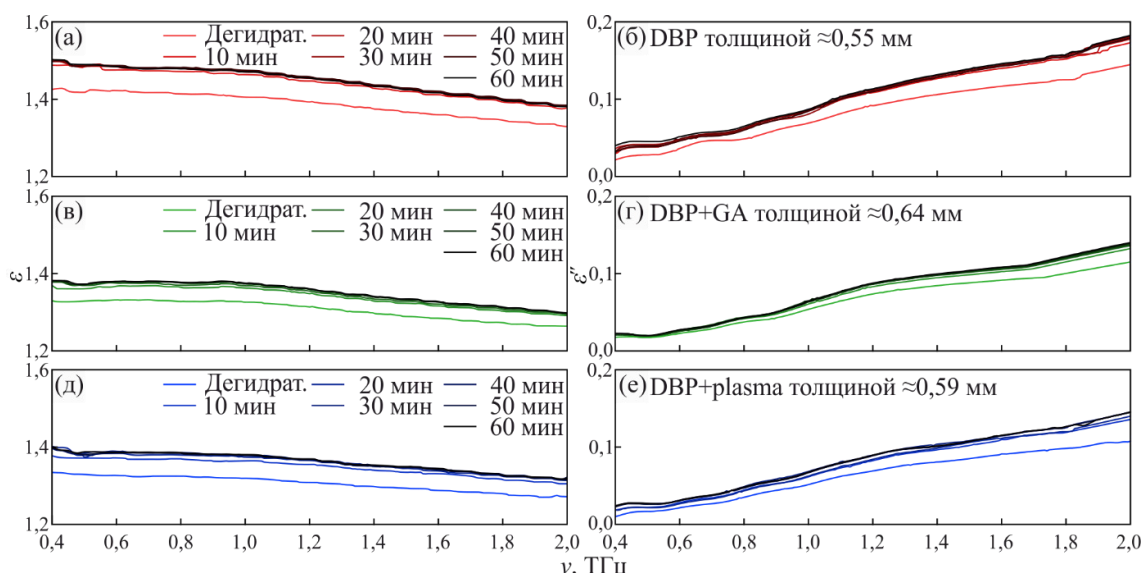


Рис. 4.9. Эволюция эффективного терагерцового диэлектрического отклика коллагеновых матриц DBP, предварительно дегидратированных в вакууме и выдержанных 1 ч в атмосфере с относительной влажностью $80,0 \pm 5,0\%$ и температурой $\approx 25^\circ\text{C}$: (а), (б) – действительная ϵ' и мнимая ϵ'' диэлектрическая проницаемость интактного образца DBP; (в), (г) и (д), (е) – данные для сшитого GA (DBP+GA) и обработанного плазмой (DBP+plasma) образцов, соответственно.

Кинетика процесса адсорбции паров воды скаффолдами изучалась по зарегистрированным диэлектрическим спектрам, при этом предполагалось, что она носит экспоненциальный характер с одной постоянной времени τ [44,859]. Временная зависимость действительной диэлектрической проницаемости $\epsilon'(v, t)$ нормировалась и усреднялась в диапазоне 0,4–2,0 ТГц. Полученная зависимость $\langle \epsilon'(t) - 1 \rangle_v$ аппроксимировалась моделью

$$f(t) \propto 1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right), \quad (4.13)$$

С помощью метода взвешенных наименьших квадратов, в результате чего определялась постоянная времени τ .

Обычно скаффолды имеют высокую пористость, формируя высокоразвитую поверхность. Для подобных сложных объектов адсорбция, диффузия и капиллярные течения могут иметь многовременную динамику, описываемую неэкспоненциальными переходными процессами, несколькими постоянными времени или даже непрерывным распределением характерных времен [860–862]. Более того, для водных растворов биологических молекул и тканей можно ожидать сложную нелинейную зависимость между диэлектрической проницаемостью и содержанием тканевой воды из-за гидратации биологических молекул [16,257]. На Рис. 4.10 (а)–(в) проиллюстрирован процесс оценки

постоянной времени τ для интактного DBP, сшитого GA и обработанного плазмой, соответственно. Очевидно, что даже простая экспоненциальная модель (4.13) эффективно описывает наблюдаемый переходной процесс, причем полученные оценки постоянной времени τ различаются для рассмотренных образцов DBP.

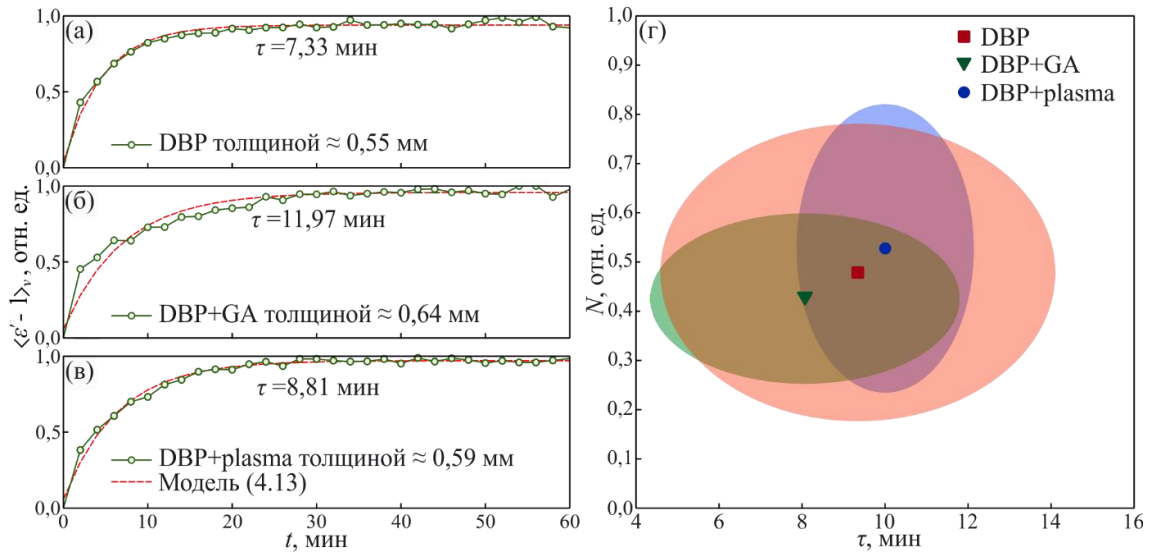


Рис. 4.10. Оценка параметров адсорбции паров воды коллагеновыми матрицами DBP [44]: (а)–(в) – параметризация экспериментальных кривых $\langle \varepsilon'(t) - 1 \rangle_v$ моделью переходного процесса $f(t)$ (выражение (4.13)) и результаты оценки постоянной времени τ для интактного (DBP), сшитого GA (DBP+GA) и обработанного плазмой (DBP+plasma) образцов, соответственно; (г) – средние значения (маркеры) и доверительные интервалы измерений (закрашенный области $\pm\sigma$) параметров адсорбции паров воды τ и N для образцов DBP, DBP+GA и DBP+plasma.

Данные терагерцовой импульсной спектроскопии также позволили оценить (качественно) число молекул воды N , адсорбированных единичным объемом скаффолда [44]. Для этого использовалось правило сумм (глава 1), в соответствии с которым число зарядов / диполей, лежащих в основе диэлектрического отклика вещества, пропорционально интегралу от динамической проводимости [60,345]

$$N \propto \int_0^{\infty} \omega \varepsilon'' d\omega = \text{finite}. \quad (4.14)$$

Рассматривая только аддитивную часть динамической проводимости скаффолда, появившуюся вследствие адсорбции воды (спустя 30 мин после начала эксперимента; Рис. 4.10 (а)–(в)), число адсорбированных молекул воды оценено как

$$N \propto \int_{\omega_{\min}}^{\omega_{\max}} \omega (\varepsilon''_{\text{moistured}} - \varepsilon''_{\text{dehydrated}}) d\omega, \quad (4.15)$$

где $\varepsilon''_{\text{dehydrated}}$ и $\varepsilon''_{\text{moistured}}$ – мнимая комплексная диэлектрическая проницаемость образца в дегидратированном и гидратированном состояниях, соответственно. Подобный подход к оценке N весьма приближителен. С одной стороны, интегрирование экспериментальной динамической проводимости осуществляется в конечном рабочем спектральном диапазоне $(\omega_{\min}, \omega_{\max})$, а не по всем положительным частотам $(0, \infty)$. С другой, метод (4.15) требует, чтобы диэлектрический отклик молекул воды не менялся с ростом ее содержания в тканях по мере адсорбции. Тем не менее он дает физически обоснованные оценки содержания воды [44,60,859].

На Рис. 4.10 (г) сравниваются средние значения (маркеры) и доверительные интервалы измерений (закрашенные области, $\pm\sigma$) постоянной времени адсорбции τ и числа адсорбированных молекул воды N для интактного (DBP), сшитого GA (DBP+GA) и обработанного плазмой (DBP+plasma) образцов. Характерное время процесса адсорбции для всех образцов составило $\tau \approx 8\text{--}10$ min, в то время как измеренные параметры характеризуются очень высокой дисперсией.

4.3.3 Микроскопия скаффолдов

Наблюдаемая вариабельность терагерцовых диэлектрических характеристик и параметров адсорбции паров воды коллагеновыми матрицами DBP вполне естественна. Она отмечалась в ряде работ, причем ее связывали преимущественно с гетерогенностью тканей – флуктуациями их структуры и эффективного диэлектрического отклика по апертуре образца [11,16,37,39,41–44,62,375]. Для подтверждения этого, образцы коллагеновых матриц DBP изучены с помощью терагерцовой микроскопии. Рассмотрены ткани в дегидратированном (выдержанные 1 ч. в вакууме) и гидратированном (выдержанные 1 ч. в атмосфере влажностью $80 \pm 5\%$ и температурой 25°C) состояниях. Результаты этих исследований представлены на Рис. 4.11 в виде терагерцовых изображений $I(\mathbf{r})$, действительной диэлектрической проницаемости $\varepsilon'(\mathbf{r})$ и гистограмм $p(\varepsilon')$, отражающей флуктуации ε' по полю зрения.

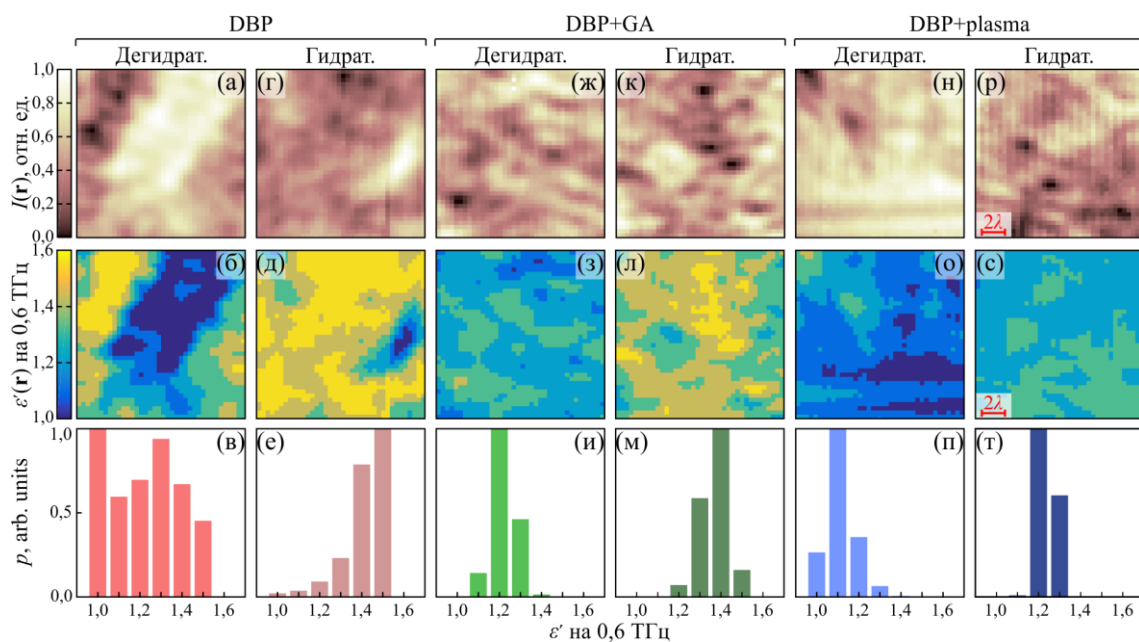


Рис. 4.11. Микроскопия на $\nu \approx 0,6$ ТГц ($\lambda = 500$ мкм) интактных (DBP), связанных GA (DBP+GA) или обработанных плазмой (DBP+plasma) образцов коллагеновых матриц в дегидратированном (выдержанные 1 ч в вакууме) и гидратированном (после 1 ч адсорбции паров воды из атмосферы влажностью $80 \pm 5\%$ и температурой 25°C) состояниях [44]: (а)–(в) и (г)–(е) – терагерцовые изображения $I(\mathbf{r})$, действительная диэлектрическая проницаемость $\varepsilon'(\mathbf{r})$ и гистограммы $p(\varepsilon')$, отражающие флуктуации диэлектрической проницаемости по полю зрения, для дегидратированного (слева) и гидратированного (справа) образцов интактного DBP; (ж)–(т) – данные для сшитого GA или обработанного плазмой образцов DBP.

С одной стороны, полученные результаты терагерцовой микроскопии в полной мере согласуются с данными импульсной спектроскопии, демонстрируя рост усредненной по полю зрения диэлектрической проницаемости образца вследствие гидратации. С другой, микроскопические изображения выявили сильную гетерогенность тканей в масштабах длины волны, которые не могут наблюдаться методами импульсной спектроскопии из-за ее дифракционно ограниченного пространственного разрешения и которые являются причиной сильной дисперсии эффективных диэлектрических характеристик и параметров адсорбции образцов (Рис. 4.10 (г)). В ряде случаев данные терагерцовой микроскопии демонстрируют близкую к свободному пространству диэлектрическую проницаемость $\varepsilon' \approx 1$ (Рис. 4.11 (в)), что может быть артефактом измерения, связанным с неплотным контактом образца с опорным окном, либо с высокой пористостью образца.

Хоть обработка образцов DBP с помощью GA или плазмы влияет на кинетику адсорбции ими воды, полученные результаты выявили высокую вариабельность их электродинамических характеристик и параметров адсорбции, маскирующую наблюдаемый эффект обработки скаффолдов. Таким образом, обработка коллагеновых матриц DBP преимущественно меняет их механические и химические свойства и в меньшей степени терагерцовый диэлектрический отклик и параметры адсорбции паров воды. Полученные данные могут быть весьма полезны для оптимизации технологий получения скаффолдов в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

4.4 Перспективы нового метода терагерцовой микроскопии

Разработанный метод терагерцовой микроскопии, основанный на эффекте твердотельной иммерсии (глава 3) и дополненный методом оценки локальных оптических характеристик объекта (глава 4), позволяет визуализировать мезомасштабные ($\sim 10^{-1}$ – $10^1 \lambda$) структурные неоднородности биологических тканей, важные с точки зрения понимания взаимодействия излучения с тканями [37,43]. Такие неоднородности могут приводить к рассеянию Ми при взаимодействии излучения с тканями [265,318]. Новый метод терагерцовой микроскопии будет полезен для фундаментальных исследований эффектов рассеяния и построения теории переноса терагерцового излучения в тканях с учетом поглощения и рассеяния. Структурные неоднородности тканей меньшего размера ($\leq 10^{-1} \lambda$) не могут быть разрешены с помощью нового метода, однако они способны вызвать только рассеяние Релея с изотропной индикатрисой. В этом случае нет необходимости для использования подходов теории переноса, а эффективный диэлектрический отклик тканей может быть описан в рамках теории эффективной среды (глава 1) [11,15,16].

Новый метод терагерцовой микроскопии может быть адаптирован для решения фундаментальных и прикладных проблем в таких востребованных областях науки, как материаловедение и неразрушающий контроль качества, обеспечение безопасности, химия и фармацевтическая промышленность, биология и медицина. Для перечисленных приложений представляется важным сочетание следующих его достоинств: высокое пространственное разрешение, высокая энергетическая эффективность (благодаря отсутствию субволновых зондов в оптической схеме), а также возможность извлекать количественную информацию об объекте из измеряемых данных (локальные оптические характеристики, содержание воды C или другие физико-химические параметры) [43].

Среди всех приложений нового метода, биофотоника и медицинская визуализация особо привлекательны [11,15,16]. Терагерцовая визуализация тканей с субволновым разрешением, оценка локальных оптических характеристик тканей и содержания тканевой воды могут найти приложения в диагностике новообразований [11] (детектирование новообразований субволнового масштаба или очерчивание границ опухоли с субволновым разрешением, недостижимым для классических систем импульсной спектроскопии и визуализации (глава 1) [11,16,69,70]. В главе 5 эта возможность демонстрируется в ходе визуализации модели глиомы в мозгу крысы *ex vivo* [43,62].

Разработанный метод решения обратной задачи ТГц микроскопии может быть в будущем обобщен для прямой оценки оптических характеристик сильно поглощающих сред (без допущений о взаимосвязи показателя преломления n и коэффициент поглощения α) за счет использования детекторов амплитуды терагерцового поля: фотопроводящих антенн, фотомиксеров, гетеродинных и гомодинных приемников [43,63]. За счет детектирования амплитуды и фазы волны в таких системах можно одновременно оценить n и α , причем для этого легко адаптировать предложенные модели (выражения (4.4)–(4.10)).

В дальнейшем пространственное разрешение терагерцового микроскопа может быть повышено за счет использования иммерсионных линзы (Рис. 3.1 и 4.1), изготовленных из материалов с более высоким показателем преломления по сравнению с HRFZ-Si. В качестве такого материала может выступать рутил (TiO_2) с $n \sim 10$ или композиционные среды на базе микрочастиц TiO_2 [63]. Также представляется перспективным адаптация нового метода для работы с широкополосными источниками и монохроматорами для мультиспектральной визуализации [45,46]. Наконец, новый метод решения обратной задачи микроскопии на основе эффекта твердотельной иммерсии может быть адаптирован для работы с экспериментальными системами в других спектральных диапазонах, включая видимый, ближний и средний ИК. Для этого требуется адаптировать его для анализа физических характеристиках объекта, измеряемых с помощью оптических методов в этих диапазонах.

4.5 Выводы по главе

В данной главе разработан новый метод решения обратной задачи терагерцовой микроскопии, основанной на эффекте твердотельной иммерсии.

- 1) Разработана аналитическая физико-математическая модель отражения электромагнитного излучения от объекта исследования позади оптической системы, реализующей эффект твердотельной иммерсии. Она устанавливает взаимосвязь между локальным комплексным показателем преломления объекта \tilde{n} и

регистрируемой микроскопом интенсивностью рассеянного объектом поля I_{exp} с учетом широкой апертуры и поляризации пучка, интерференционных эффектов и стоячих волн внутри иммерсионной линзы, эффекта ПВО и возбуждения эванесцентных волн на границе «иммерсионная линза – образец».

- 2) Разработан метод решения обратной задачи терагерцовой микроскопии, связанной с оценкой локальных оптических характеристик объекта. Рассмотрены случаи оценки показателя преломления n слабо поглощающих ($\alpha < 10 \text{ см}^{-1}$, по мощности) сред, а также показателя преломления n , коэффициента поглощения α и объемного содержания воды C в сильно поглощающих ($\alpha > 10 \text{ см}^{-1}$) водосодержащих средах, для которых параметры n , α и C связаны.
- 3) Проведена численная (3D FEFD) верификация физико-математической модели отражения излучения от объекта исследования в терагерцовой микроскопии, а также основанного на ней метода решения обратной задачи. Показана возможность оценки локальных оптических характеристик объекта с помощью нового метода в широких диапазонах изменения показателя преломления ($n \in (1,0, 4,5)$) и коэффициента поглощения ($\alpha \in (10^{-1}, 10^{2,5}) \text{ см}^{-1}$, по мощности).
- 4) Новый метод решения обратной задачи терагерцовой микроскопии экспериментально апробирован путем исследования объектов с априорно известными оптическими характеристиками. Показана возможность оценки показателя преломления слабо поглощающих сред ($\alpha < 10 \text{ см}^{-1}$), а также одновременной оценки показателя преломления n , коэффициент поглощения α и содержания воды C в сильно поглощающих ($\alpha > 10 \text{ см}^{-1}$) водосодержащих средах.
- 5) Терагерцовая импульсная спектроскопия и микроскопия применены для анализа эффективного диэлектрического отклика и изображений дегидратированных и гидратированных децеллюлярированных клеточных матриц DBP, интактных, обработанных химически или плазмой. Для матриц разного типа впервые измерены терагерцовая комплексная диэлектрическая проницаемость и данные о ее флуктуации по апертуре образца с субволновым разрешением. Оценено характерное время адсорбции паров воды матрицами, составившее $\tau = 8\text{--}10$ мин.

ГЛАВА 5. Терагерцовая импульсная спектроскопия и микроскопия глиом головного мозга

В данной главе методы импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения применены для исследования в терагерцовом диапазоне интактных тканей и глиомы головного мозга *ex vivo* [43,58,60–62,69,727]. С помощью импульсной спектроскопии изучены эффективные оптические характеристики свежееиссеченных глиом головного мозга человека различной степени злокачественности (WHO Grade I–IV), а также интактных и отечных тканей [58,73,727]. Выявлены статистические различия эффективных терагерцовых оптических характеристик интактных тканей и глиом всех степеней злокачественности, а также схожесть отклика отечных тканей и опухоли. Построены физико-математические модели эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости тканей мозга, оценено содержание в них тканевой воды, а также выявлено ее повышенное содержание в опухоли [60]. С помощью импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения изучена модель глиомы 101.8 в мозгу крысы *ex vivo* [43,61,62]. Спектроскопия свежееиссеченных тканей подтвердила различия эффективных терагерцовых оптических характеристик интактных тканей и глиомы 101.8. Микроскопия свежееиссеченных тканей выявила гетерогенность интактных тканей, связанную с различным откликом белого и серого вещества, а также гетерогенность опухоли, обусловленную некрозом тканей и гематомами. Мезомасштабные неоднородности являются причиной флуктуация эффективных терагерцовых оптических характеристик тканей, наблюдавшихся в импульсной спектроскопии. Микроскопия парафинизированных тканей показала, что контраст между интактными тканями и опухолью пропадает после их дегидратации. Именно повышенное содержание воды в опухоли является основным эндогенным фактором контраста между интактными тканями и опухолью в терагерцовом диапазоне.

5.1 Спектроскопия глиом головного мозга человека *ex vivo*

Ранее возможности интраоперационной терагерцовой диагностики опухолей мозга изучались с применением моделей глиом на лабораторных мышах и крысах *ex vivo* и *in vivo* [69,70,322,333,534–537,863,864]. Такие модели лишь частично имитируют структурные и биофизические свойства глиом человека. Модели зачастую имеют четкие границы, видимые даже невооруженным глазом (Рис. 1.17), и не всегда имитируют гетерогенность тканей опухоли, связанную с аномальной микроваскуляризацией, некрозом и кровоизлияниями. Представляется актуальным изучение глиом человека методами терагерцовой импульсной спектроскопии для объективной оценки возможности дифференциации интактных тканей и опухоли терагерцовыми методами. Для этого с помощью импульсной спектроскопии изучены *ex vivo* эффективные оптические характеристики глиом головного мозга человека и перифокальной области опухоли, включающей интактные и отечные ткани.

5.1.1 Эффективные оптические характеристики тканей

В таблице 5.1 приведена информация о 26 изученных образцах глиом человека *ex vivo*, предоставленных НМИЦ Нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко (Москва, Россия) и классифицированных по степеням злокачественности на WHO Grade I–IV [865,866]; рассмотрены 2, 9, 4 и 11 глиом Grade I, II, III и IV, соответственно. Наряду с опухолью в образцах присутствовали перифокальные участки, включающие интактные и отечные ткани. После резекции ткани помещались на подложку и накрывались желатиновыми пленками [58,727] для предотвращения их гидратации / дегидратации в процессе транспортировки и терагерцовых измерений, а также сохранения их терагерцового отклика неизменными (по сравнению со свежееисеченными тканями) в течение нескольких часов [430]. Для подтверждения диагноза использовалась гистология H&E.

Измерения тканей проводились с помощью терагерцового импульсного спектрометра в геометрии «на отражение» (глава 2, Рис. 2.5) [52,58,727]. Для этого использовалась приставка на базе пары внеосевых параболических зеркал с золотым покрытием и опорного окна из кристаллического кварца толщиной 1 мм, на котором помещался объект (Рис. 5.1 (а)). Одно зеркало фокусирует пучок на границе раздела «опорное окно – образец»; другое – коллимирует отраженное излучение. Угол падения на границу раздела «опорное окно – образец» составляет $\theta \approx 17^\circ$ (внутри кварца). Оба зеркала имеют фокусное расстояние $f = 50$ мм и диаметр $D = 25$ мм. Допуская дифракционное качество фокального пятна, можно оценить его размер как радиус первого диска Эйри

$$r = 1,22 \frac{f}{Dn_{\text{SiO}_2}} \lambda \approx 1,14\lambda, \quad (5.1)$$

где $n_{\text{SiO}_2} \approx 2,15$ – обыкновенный показатель преломления кристаллического кварца [58]. Параметр разрешения фокусирующей системы и измеряемая площадь поверхности образца растут с длиной волны как $\sim \lambda$ и $\sim \lambda^2$, соответственно.

Таблица 5.1. Образцы глиом головного мозга человека *ex vivo* [58].

№	Возраст	Пол	Патология	WHO Grade
1	39	Женский	Пилоидная астроцитома	I
2	25	Женский	Ганглиоцитома	I
3	31	Мужской	Диффузная астроцитома	II
4	56	Женский	Олигодендроглиома	II
5	29	Мужской	Диффузная астроцитома	II
6	42	Мужской	Диффузная астроцитома	II
7	34	Женский	Олигодендроглиома	II
8	43	Мужской	Олигодендроглиома	II
9	18	Мужской	Плеоморфная ксантоастроцитома	II
10	63	Женский	Диффузная астроцитома	II
11	58	Женский	Олигодендроглиома	II
12	47	Женский	Анапластическая астроцитома	III
13	26	Женский	Анапластическая олигодендроглиома	III
14	68	Мужской	Анапластическая олигодендроглиома	III
15	38	Мужской	Анапластическая олигодендроглиома	III
16	35	Мужской	Глиобластома	IV
17	63	Женский	Глиобластома	IV
18	34	Женский	Глиобластома	IV
19	56	Мужской	Глиобластома	IV
20	55	Женский	Глиобластома	IV
21	54	Женский	Глиобластома	IV
22	69	Женский	Глиобластома	IV
23	64	Женский	Глиобластома	IV
24	54	Женский	Глиобластома	IV
25	50	Мужской	Глиобластома	IV
26	55	Женский	Глиобластома	IV

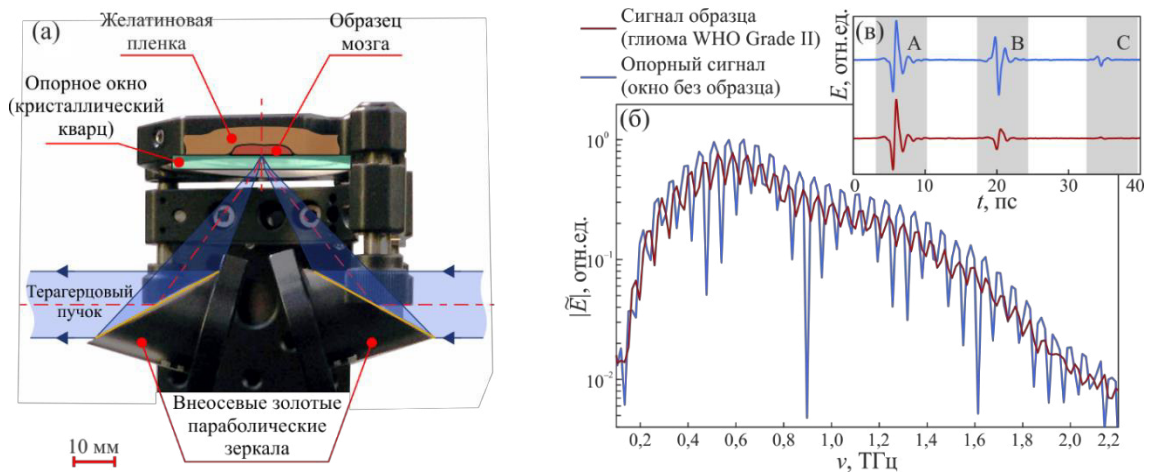


Рис. 5.1. Терагерцовая импульсная спектроскопия глиом человека *ex vivo* [58]: (а) – схема измерения тканей, помещенных позади опорного окна (кристаллический кварц) и покрытого желатином; (б), (в) – сигнал образца и опорный в частотном ($\tilde{E}_s(\nu)$ и $\tilde{E}_r(\nu)$) и временном ($E_s(t)$ и $E_r(t)$) пространствах.

На основе сигналов спектрометра для *ex vivo* тканей мозга в норме и при патологии восстановлены эффективные оптические характеристики в диапазоне 0,2–1,5 ТГц. На Рис. 5.1 (б) и (в) показано, что для оценки оптических характеристик регистрировались два сигнала – сигнал образца E_s (отраженный от опорного окна с образца) и опорный E_r (отраженный от пустого окна). Из Рис. 5.1 (в) видно, что опорный сигнал и сигнал образца во временной области состоят из трех отдельных импульсов, обозначенных как А, В и С. Как обсуждалось в главе 2, импульсы А и В обусловлены отражением волны от границ «свободное пространство – кварц» и «кварц – образец» (или «кварц – свободное пространство»), соответственно; импульс С – резонансом волны внутри окна. Импульс А идентичен для сигнала образца и опорного. Эти три волновых пакета формируют интерференционную картину в частотной области (Рис. 5.1 (б)). Ко временным сигналам применяется аподизационный фильтр Блэкмана-Харриса 4-го порядка шириной 20 пс, центрированный на максимуме импульса В [58]. Он удаляет из временных сигналов импульсы А и С, оставляя только В, несущий информацию об отражении волны от границы «кварц – объект» (E_s) или «кварц – свободное пространство» (E_r). Затем выполняется восстановление эффективных терагерцовых оптических тканей, как описано в главе 2 [58,727].

На Рис. 5.2 приведены результаты оценки показателя преломления n и коэффициента поглощения α (по амплитуде) для глиом WHO Grade I–IV, интактных и отечных тканей, а также примеры гистологии Н&Е для глиом разной степени

злокачественности [58]. Оценены флуктуации оптических характеристик тканей n , α за счет их измерения в различных точках поверхности образца. Выполнен тест Колмогорова-Смирнова, подтвердивший нормальный (гауссов) характер статистических распределений для рассмотренных типов тканей. На Рис. 5.2 показаны средние значения n , α и дисперсия измеренных величин (в пределах каждого типа тканей) в виде спектрально неоднородных доверительных интервалов $\pm 2.0\sigma$ ($\approx 95\%$); σ – среднеквадратическое отклонение. В полном соответствии с результатами ранних исследований моделей глиом [69,70,322,333,534–537,863,864] на Рис. 5.2 наблюдаются статистически значимые различия между интактными тканями и глиомами человека всех степеней злокачественности, а также между интактными и отечными тканями. Например, эффективный показатель преломления n у глиом WHO Grade I–IV и отечных тканей выше, чем у интактных тканей, причем наблюдаемые различия в несколько процентов согласуются с результатами работы [537].

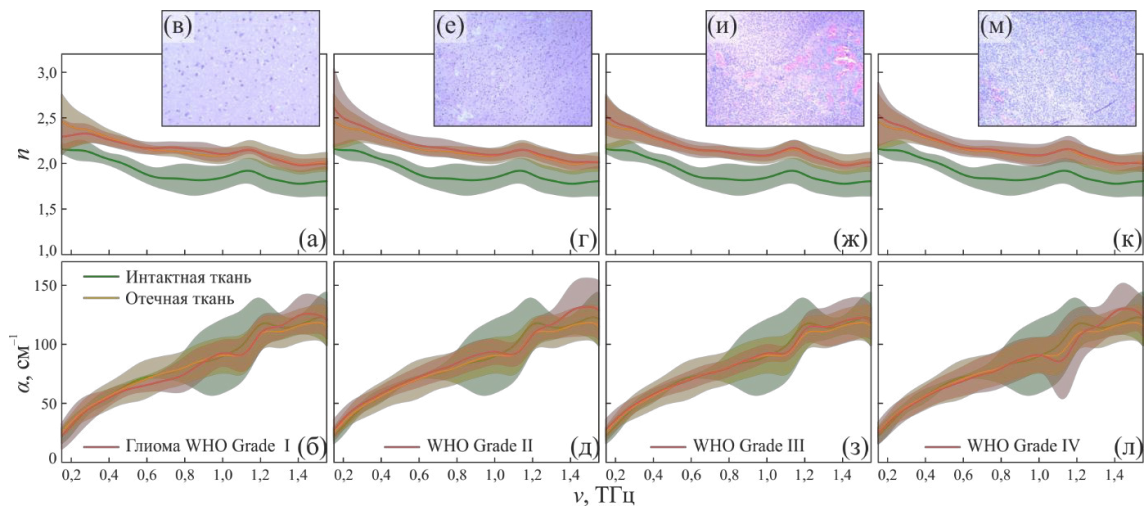


Рис. 5.2. Терагерцовая импульсная спектроскопия глиом человека *ex vivo* [58]: (а)–(в) – показатель преломления n , коэффициент поглощения α (по амплитуде) и результаты гистологии Н&Е, соответственно, для глиомы WHO Grade I; (г)–(е), (ж)–(и) и (к)–(м) – данные для глиом WHO Grade II, III и IV, соответственно. Характеристики разных глиом сравниваются с идентичными данными для интактных и отечных тканей. Доверительный интервал – $\pm 2.0\sigma$ ($\approx 95\%$).

Для дополнительной демонстрации возможности дифференциации тканей рассчитаны p -values (p -значения или p -уровни значимости) для рассмотренных типов тканей на основе анализа их эффективного показателя преломления n на 1,0 ТГц (таблица 5.2). Полученные p -значения свидетельствуют о статистических различиях между

средними значениями показателя преломления интактных тканей и глиом всех степеней злокачественности, а также интактных и отечных тканей; для этих пар $p < 10^{-3}$. В свою очередь p -значения также не выявили различий между отечными тканями и глиомами всех степеней злокачественности, а также между глиомами различной степени злокачественности; для этих пар $p > 10^{-3}$.

На Рис. 5.2 наблюдается значительная дисперсия оптических свойств для каждого типа тканей, что характерно для оптической спектроскопии и визуализации тканей на основе эндогенных (естественных) признаков [11,16]. Подобную дисперсия можно объяснить гетерогенным характером тканей. В частности, при терагерцовых измерениях интактные ткани не дифференцировались на белое и серое вещество (из-за малого размера перифокальной области в образцах и конечного пространственного разрешения оптической системы). Это может быть причиной высокой дисперсии для интактных тканей, так как белое и серое вещество обладают разным терагерцовым откликом из-за различного содержания воды и миелина [322,867]. В свою очередь, разброс оптических свойств глиобластомы (глиомы WHO Grade IV) может возникать из-за характерных для данной опухоли неоднородностей тканей, связанных с некротическими областями. Структурная неоднородность тканей в масштабах терагерцовой длины волны может быть специфичной для различных типов тканей мозга [1,11,16,17], что будет рассмотрено ниже. Немонотонность и повышенный разброс экспериментальных данных на $\nu > 0,8$ ТГц не связаны с физическими особенностями терагерцового отклика [11,15,16,324], а обусловлены ошибками измерений, возникающими из-за флуктуаций влажности атмосферы на пути терагерцового луча (пары воды остаются даже при азотной продувке кожуха спектрометра) и спада сигнала спектрометра с ростом частоты (Рис. 5.1 (б)). Увеличивающаяся дисперсия данных на $\nu < 0,3$ ТГц связана с ограниченным разрешением фокусирующей системы (выражение (5.1)) и спадом чувствительности спектрометра (Рис. 5.1 (б)).

Результаты спектроскопии глиом человека WHO Grade I–IV подтвердили отмеченные ранее различия между интактными тканями и моделями глиом в мозгу лабораторных животных [69,70,322,333,534–537,863,864]. Они подтвердили перспективность терагерцовой техники в интраоперационной диагностике глиом, где терагерцовая спектроскопия и визуализация могут использоваться для детектирования границ опухоли и обеспечения ее полной резекции. Различия между терагерцовыми оптическими характеристиками интактных тканей и глиом наблюдаются для всех степеней злокачественности (WHO Grade I–IV), включая доброкачественные опухоли (I и II), менее эффективно диагностируемые существующими оптическими методами [58,61,62,544]. Это

формирует потенциальное преимущество терагерцовых методов над существующими аналогами.

Таблица 5.2. *P*-значений для дифференциации *ex vivo* глиом WHO Grade I–IV, интактных и отечных тканей на основе эффективного показателя преломления $n(1,0 \text{ ТГц})$.

	Grade IV	Grade III	Grade II	Grade I	Отечные	Интактные
Grade IV		0,45	0,23	0,12	0,32	$2,06 \times 10^{-5}$
Grade III	0,45		0,15	0,05	0,33	$1,32 \times 10^{-6}$
Grade II	0,23	0,15		0,14	0,07	$3,11 \times 10^{-7}$
Grade I	0,12	0,05	0,14		0,04	$2,53 \times 10^{-6}$
Отечные	0,32	0,33	0,07	0,04		$9,34 \times 10^{-6}$
Интактные	$2,06 \times 10^{-5}$	$1,32 \times 10^{-6}$	$3,11 \times 10^{-7}$	$2,53 \times 10^{-6}$	$9,34 \times 10^{-6}$	

В работах [322,333] отмечалось, что наблюдаемые различия терагерцовых оптических характеристик интактных тканей и глиом обусловлены повышенным содержанием тканевой воды в опухоли, связанным с ее аномальной микровакуляризацией и отеком. Другие биологические эффекты и события, такие как увеличение плотности клеток, изменение концентрации белков и других биологических молекул, скопления опухолевых клеток, также могут вносить свой вклад в контраст, однако он не столь значителен [322].

При использовании терагерцовой спектроскопии и визуализации для интраоперационного детектирования границ опухоли отечные ткани в перифокальной области можно спутать с опухолью, что приведет к ложноположительным результатам диагностики (ошибкам второго рода). Сравнительно недавно показана возможность использования терагерцовой технологий в диагностике степени травматических повреждений мозга, где отек тканей, повышенное содержание воды и гематомы также являются основными эндогенными факторами контраста [13,90]. Очевидно, что можно ожидать трудностей в терагерцовой диагностике опухоли головного мозга на фоне черепно-мозговой травмы и травматических повреждений мозга. Эта проблема может быть решена за счет комбинации терагерцовых методов с другими неинвазивными подходами [11,16].

5.1.2 Модели эффективной комплексной диэлектрической проницаемости тканей

Важной проблемой является разработка физико-математических моделей эффективного диэлектрического отклика интактных тканей и глиом человека в

терагерцовом диапазоне. Такие модели важны для анализа элементарных электродипольных возбуждений, лежащих в основе эффективного диэлектрического отклика тканей, а также для последующего аналитического и численного моделирования взаимодействия излучения с тканями при разработке новых инструментов диагностики [11,15,69,70]. В диссертации эта проблема решена с помощью двух классических моделей [60].

- Модель на базе двух релаксаторов Дебая (модель DD – double Debye model).
- Модель на базе двух передемпфированных осцилляторов Лоренца (модель DO – double overdamped-oscillator model).

Модель DD широко используется в биофотонике и имеет вид [11,15,324,325]

$$\tilde{\varepsilon} = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon_1}{1 + i\omega\tau_1} + \frac{\Delta\varepsilon_2}{1 + i\omega\tau_2}. \quad (5.2)$$

Физический смысл, роль «медленной» (τ_1) и «быстрой» (τ_2) релаксаций, характер спектральных кривых ε' и ε'' обсуждались в главе 1. Эта модель обеспечивает удобную параметризацию терагерцовых оптических характеристик биологических объектов с помощью 5 коэффициентов (ε_{∞} , $\Delta\varepsilon_1$, $\Delta\varepsilon_2$, τ_1 , τ_2). На Рис. 5.3 построена модель DD для жидкой воды из работы [324], где $\varepsilon_{\infty} = 4,1$, $\Delta\varepsilon_1 = 72,2$, $\Delta\varepsilon_2 = 2,5$, $\tau_1 = 10,6$ пс и $\tau_2 = 0,18$ пс. Она описывает две широкие полосы поглощения на кривой ε'' , относящиеся к «медленной» и «быстрой» релаксациям воды и центрированные на $\nu = (2\pi\tau_1)^{-1}$ и $(2\pi\tau_2)^{-1}$. Функция ε' спадает с ростом частоты и имеет значения $\varepsilon'(\nu \rightarrow 0) = \varepsilon_{\infty} + \Delta\varepsilon_1 + \Delta\varepsilon_2$ и $\varepsilon'(\nu \rightarrow \infty) = \varepsilon_{\infty}$ в низко- и высокочастотных пределах.

Модель DO впервые применена для биологических тканей и имеет вид

$$\tilde{\varepsilon} = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon_1}{1 - \frac{\omega^2}{\omega_{01}^2} + i\frac{\omega\gamma_1}{\omega_{01}^2}} + \frac{\Delta\varepsilon_2}{1 - \frac{\omega^2}{\omega_{02}^2} + i\frac{\omega\gamma_2}{\omega_{02}^2}}. \quad (5.3)$$

где $\Delta\varepsilon_1$, $\Delta\varepsilon_2$ – амплитуды двух осцилляторов Лоренца, ω_{01} , ω_{02} – квазирезонансные частоты (они задаются силой упругости осциллятора), γ_1 , γ_2 – параметры затухания (константами демпинга). Два осциллятора с амплитудами $\Delta\varepsilon_1$ и $\Delta\varepsilon_2$ практически эквивалентны «медленной» и «быстрой» релаксациям Дебая в выражении (5.2). Константа ε_{∞} и амплитуды релаксаторов Дебая $\Delta\varepsilon_i$ в модели DD эквивалентны таковым в модели DO. Другие параметры i -го передемпфированного осциллятора можно однозначно рассчитать на основе параметров соответствующего релаксатора Дебая, решив систему уравнений:

$$\begin{aligned} \gamma_i &= \omega_{oi}^2 \tau_i, \\ \gamma_i &= C \omega_{oi}, \\ C &\gg 1. \end{aligned} \quad (5.4)$$

При выполнении неравенства $C \gg 1$ конкретное значение константы C не имеет принципиального значения; в диссертации этот параметр составлял $C = 10^2$. В передемпфированном осцилляторе параметры $\omega_{0,i}$, γ_i теряют свой независимый физический смысл (который они имеют в классическом осцилляторе Лоренца), а их комбинация $\omega_{0,i}/\gamma_i \approx \tau_i^{-1}$ определяет положение широкой полосы поглощения в спектре потерь ε'' [345]. На Рис. 5.3 модель DO рассчитана для воды на основе параметров модели DD из работы [324] с помощью системы уравнений (5.4).

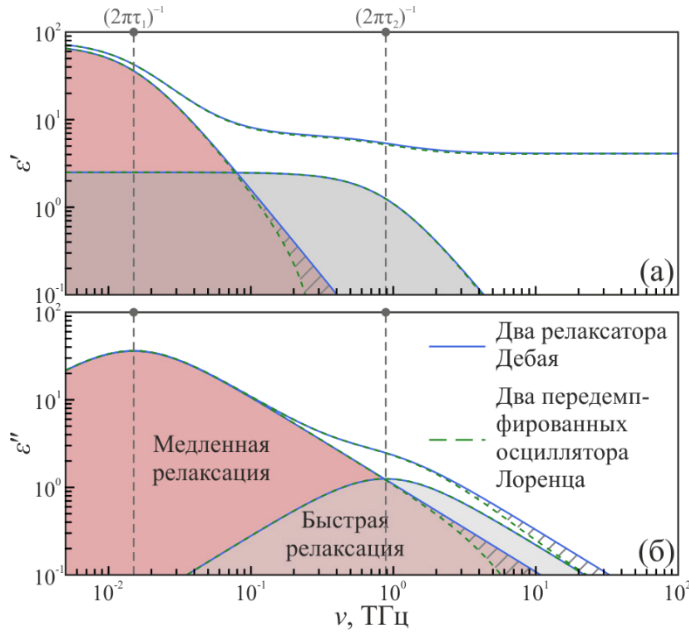


Рис. 5.3. Модели комплексной диэлектрической проницаемости $\tilde{\varepsilon}$ DD и DO для жидкой воды [60]: (а), (б) – действительная ε' и мнимая ε'' диэлектрическая проницаемость, соответственно. Модель DD построена на базе параметров из работы [324]; модель DO – с помощью выражения (5.4).

Из Рис. 5.3 видно, что релаксатор Дебая и передемпфированный осциллятор практически эквивалентны в области низких частот вплоть до $\omega \sim (2\pi\tau_i)^{-1} < \omega_{0,i} \ll \gamma_i$. Однако в области высоких частот $\omega > (2\pi\tau_i)^{-1}$ модель Дебая предсказывает более высокие потери ε' [345]. В отличие от передемпфированного осциллятора, ядро Дебая не удовлетворяет правилу сумм для сил осцилляторов [345,438,868]

$$N \propto \int_0^{\infty} \sigma d\omega = \int_0^{\infty} \omega \varepsilon'' d\omega = \text{finite}, \quad (5.5)$$

где σ – динамическая проводимость. Другими словами: модель DD предсказывает бесконечное число носителей заряда / диполей N , ответственных за диэлектрический отклик среды. В свою очередь, интегрирование проводимости, заданной i -ым передемпфированным осциллятором, дает конечное число $\Delta\varepsilon_i \omega_{0,i}^2 = \Delta\varepsilon_i \gamma_i^2 / C^2$, где $\omega_{0,i}^2 = N_i q_i^2 / m_i \varepsilon_0$, N_i – количество зарядов / диполей, участвующих в i -ом релаксационном процессе, а q_i и m_i – эффективные заряд и масса. Поэтому для корректного описания

спектров ε' и ε'' в области высоких частот ($\omega > (2\pi\tau_i)^{-1}$) и количественной оценки числа зарядов/диполей в среде N предпочтительнее использовать более строгую модель DO. Это делает модель DO более подходящей для терагерцовой биофотоники.

Модели DD и DO применены для анализа результатов *ex vivo* терагерцовой импульсной спектроскопии глиом человека WHO Grade I–IV (Рис. 5.2). Для этого оптические характеристики тканей (n и α ; Рис. 5.2) пересчитаны в диэлектрические спектры (ε' и ε'') в соответствии с выражениями (1.1) и (1.2). Затем параметры модели DD рассчитаны путем аппроксимации экспериментальных данных выражением (5.2), для чего использовался метод взвешенных наименьших квадратов. Для всех тканей постоянные времена «медленной» τ_1 и «быстрой» τ_2 релаксаций заданы идентичными аналогичным характеристикам воды из работы [324], что упростило задачу параметризации спектров. Результаты каждого терагерцового измерения аппроксимировались моделью DD независимо, что после анализа совокупности измерений позволило вычислить средние значения и среднеквадратические отклонения параметров моделей. Наконец, параметры модели DO (выражение (5.3)) рассчитаны на основе параметров модели DD с помощью выражения (5.4). На Рис. 5.4 экспериментальные кривые ε' , ε'' сравниваются с полученными моделями DD и DO, а также с моделью DD для воды из работы [324]. В рассматриваемом спектральном диапазоне обе модели дают практически идентичные результаты, достаточно точно воспроизводя экспериментальные данные (с точностью до доверительных интервалов измерений). Спектральные зависимости ε' и ε'' для тканей ожидаемо ниже, чем для жидкой воды.

На Рис. 5.5 показаны параметры моделей ε_∞ , $\Delta\varepsilon_1$, $\Delta\varepsilon_2$ для рассматриваемых тканей и воды. Из панели (а) видно, что параметр ε_∞ выше для отечных тканей и глиом всех степеней, чем для интактных. Это можно объяснить повышенным содержанием воды и повышенной плотностью клеток в отечной ткани и опухоли [322,865,866,869]. На панели (б) наблюдаются более высокие амплитуды «медленной» и «быстрой» релаксаций $\Delta\varepsilon_1$, $\Delta\varepsilon_2$ для глиом всех степеней злокачественности, что также может быть связано повышенным содержанием воды [538]. В то же время диэлектрические параметры ε_∞ , $\Delta\varepsilon_1$, $\Delta\varepsilon_2$ для всех тканей меньше, чем для воды, и это вполне ожидаемо, ведь объемная доля воды в тканях ограничена ($C < 100\%$).

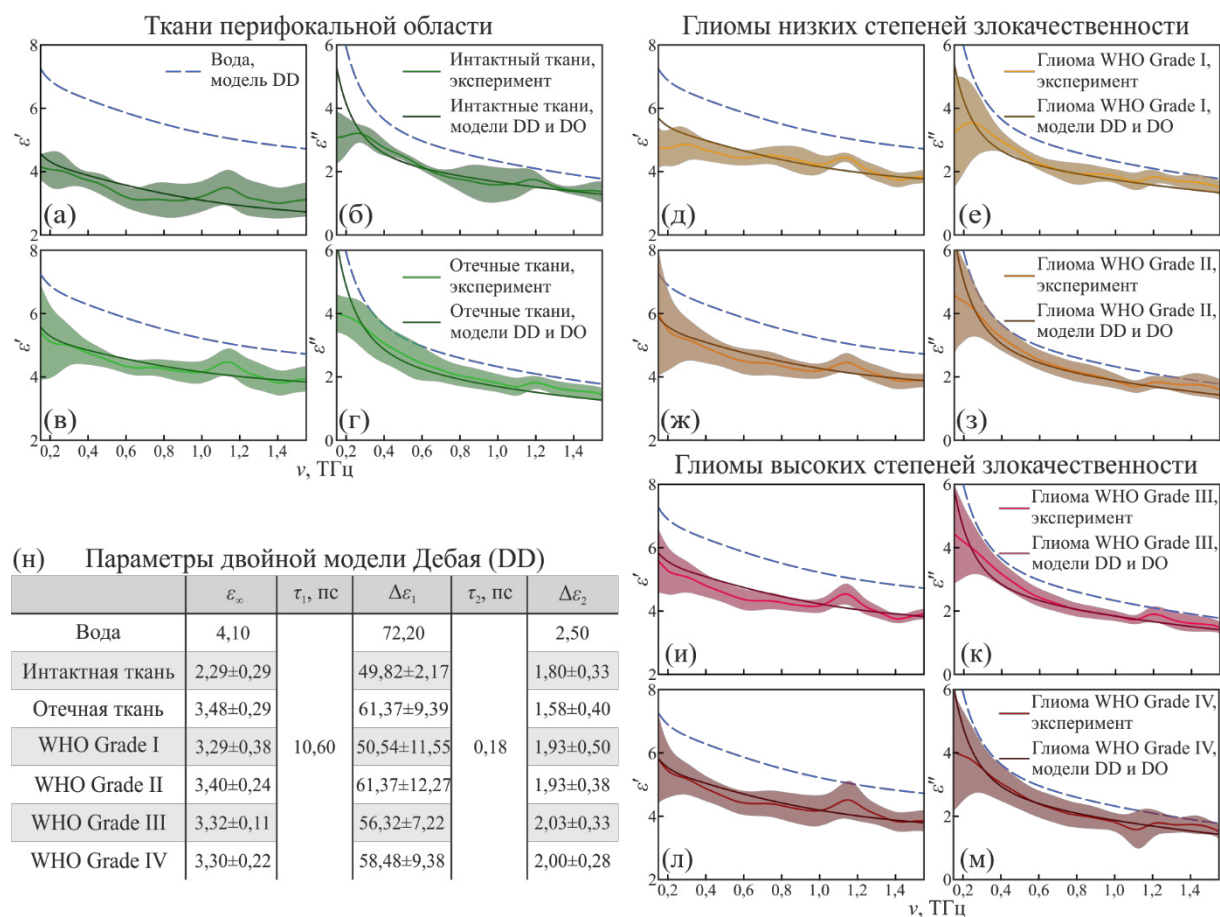


Рис. 5.4. Модели комплексной диэлектрической проницаемости $\tilde{\epsilon}$ DD и DO для *ex vivo* глиом человека, интактных и отечных тканей [60]: (а),(б) – экспериментальные и модельные характеристики ϵ' , ϵ'' для интактных тканей; (в)–(м) – данные для отечных тканей и глиом WHO Grade I–IV; (н) – параметры модели DD для всех тканей. Диэлектрические спектры тканей сравниваются с характеристиками воды из работы [324].

Различная амплитуда релаксационных процессов $\Delta\epsilon_1$, $\Delta\epsilon_2$ для жидкой воды и тканей (Рис. 5.5) может быть интерпретирована с позиции связывания и сегрегации воды в тканях. В работе [257] показано, что диэлектрические параметры ϵ_∞ , $\Delta\epsilon_1$, $\Delta\epsilon_2$ ниже для связанной воды, чем для свободной. Также для связанной воды амплитуда «медленной» релаксации $\Delta\epsilon_1$ подавлена по сравнению с «быстрой» $\Delta\epsilon_2$, что уменьшает отношение $\Delta\epsilon_1/\Delta\epsilon_2$. В свою очередь, сегрегация может сложным и менее предсказуемым образом изменить релаксационную динамику воды и соотношение $\Delta\epsilon_1/\Delta\epsilon_2$ [72]. Когда жидкая вода взаимодействует со средой без каких-либо выраженных изменений ее пикосекундной релаксационной динамики, можно ожидать, что отношение амплитуд «медленной» и «быстрой» релаксаций $\Delta\epsilon_1/\Delta\epsilon_2$ будет лежать на прямой (синяя линия на Рис. 5.5 (б)), соответствующей свободной воде. Для глиомы WHO Grade IV соотношение $\Delta\epsilon_1/\Delta\epsilon_2$

аналогично жидкой воде; это можно связать со значительным содержанием свободной воды в такой опухоли (из-за некроза тканей). Соотношение $\Delta\varepsilon_1/\Delta\varepsilon_2$ меньше для интактных тканей и глиом WHO Grade I и III; это можно объяснить связыванием воды. Рост $\Delta\varepsilon_1/\Delta\varepsilon_2$ характерен для отечных тканей и глиомы WHO Grade II; этот эффект трудно интерпретировать без привлечения других экспериментальных методов. Информативности данных терагерцовой импульсной спектроскопии недостаточно для интерпретации эффектов связывания и сегрегации воды в тканях, что определяется значительной шириной пиков поглощения, обусловленных «медленной» и «быстрой» релаксациями и выходящих за пределы терагерцового диапазона (Рис. 5.3) [11,15,16]. Для объективного анализа релаксационной динамики тканевой воды представляется перспективным охват более широкого спектрального диапазона.

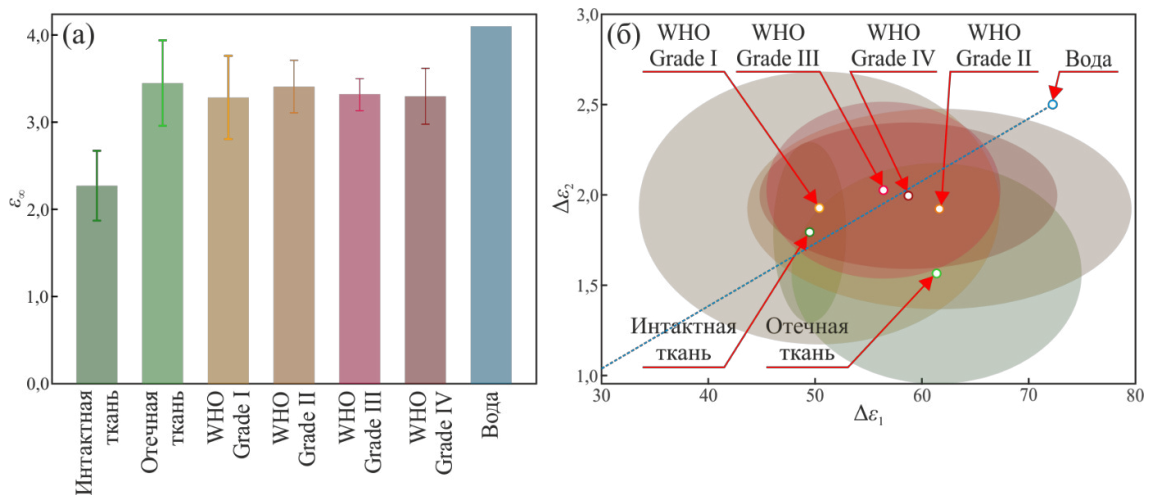


Рис. 5.5. Параметры ε_∞ , $\Delta\varepsilon_1$ и $\Delta\varepsilon_2$ моделей DD и DO для *ex vivo* глиом человека, интактных и отечных тканей [60]: (а) – высокочастотная диэлектрическая проницаемость ε_∞ ; (б) – амплитуды «медленной» $\Delta\varepsilon_1$ и «быстрой» $\Delta\varepsilon_2$ релаксаций. Доверительные интервалы – $\pm 3\sigma$. Синий пунктир на (б) – прямая для которой отношение $\Delta\varepsilon_1/\Delta\varepsilon_2$ эквивалентно жидкой воде. Параметры моделей для тканей сравниваются с характеристиками воды из работы [324].

Объемное содержание воды в тканях C можно оценить с помощью правила сум [60]

$$C = \frac{N_{\text{tissue}}}{N_{\text{water}}} = \frac{\int_{\omega_{\min}}^{\omega_{\max}} \sigma_{\text{tissue}} d\omega}{\int_{\omega_{\min}}^{\omega_{\max}} \sigma_{\text{water}} d\omega} = \frac{\int_{\omega_{\min}}^{\omega_{\max}} \omega \varepsilon''_{\text{tissue}} d\omega}{\int_{\omega_{\min}}^{\omega_{\max}} \omega \varepsilon''_{\text{water}} d\omega}, \quad (5.6)$$

где для тканей (в числителе) и для жидкой воды (в знаменателе) интегрируется динамическая проводимость σ в рабочем спектральном диапазоне ($\omega_{\min}, \omega_{\max}$). Такая оценка опирается на первые принципы и является более строгой, чем упрощенные методы

линейной декомпозиции спектральных характеристик [16,333,870]. На Рис. 5.6 (а) с помощью (5.6) рассчитано содержание воды для *ex vivo* глиом человека, интактных и отечных тканей. Для интактных тканей оно составляет $71,1 \pm 6,8\%$; для отечных тканей и глиом всех степеней злокачественности – на $\approx 5-10\%$ выше. Для глиом WHO Grade II–IV характерно самое высокое содержание воды, а для глиобластомы (глиома WHO Grade IV) оно достигает $80,6 \pm 8,6\%$. На Рис. 5.6 (а) заметны довольно большие доверительные интервалы, связанные с отмеченной выше вариабельностью терагерцовых характеристик тканей [590,871].

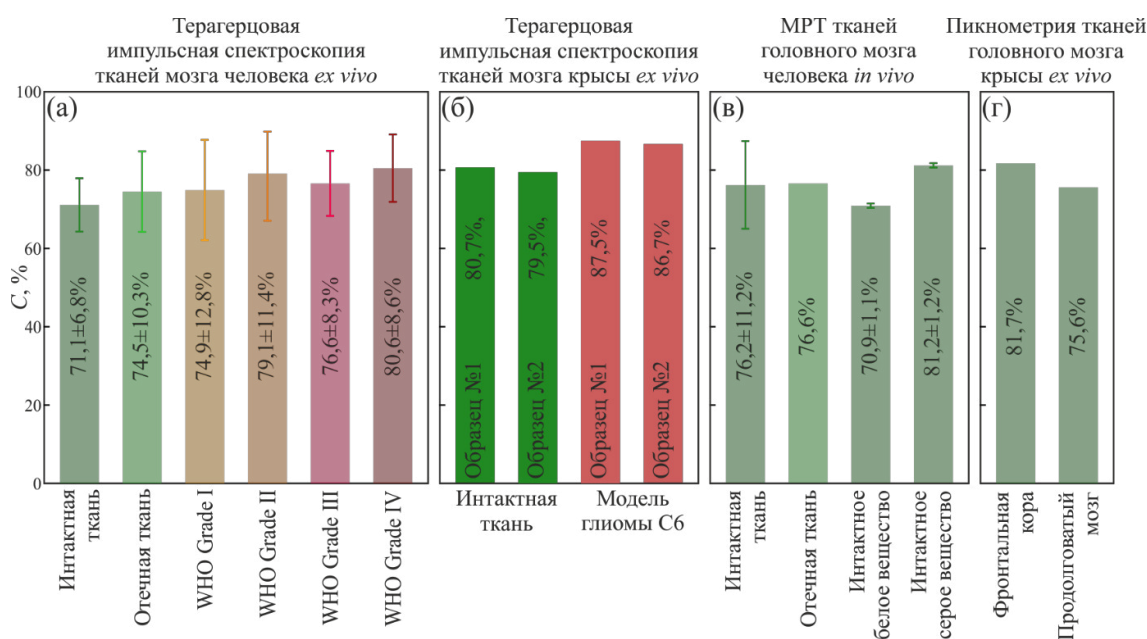


Рис. 5.6. Объемное содержание тканевой воды C , оцененное различными методами [60]: (а) – оценка на основе данных терагерцовой импульсной спектроскопии для *ex vivo* глиом человека, интактных и отечных тканей [60]; (б) – оценка на основе данных терагерцовой импульсной спектроскопии *ex vivo* для интактных тканей и модели глиомы С6 в мозгу крысы [333]; (в) – оценки на основе МРТ для *in vivo* здоровых тканей мозга человека из работ [872–874]; (г) – оценка на основе данных пикнометрии для *ex vivo* здоровых тканей мозга крысы [875].

Полученные оценки содержания тканевой воды можно сравнить с известными результатами различных экспериментальных исследований. На Рис. 5.6 (б) приведены результаты оценки содержания воды в свежееисеченных интактных тканях и модели глиомы С6 в мозгу крысы *ex vivo*, также полученные с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии в работе [333]. В ней выявлено более высокое содержание воды как в интактных тканях, так и в модели глиомы, при этом в опухоли по-прежнему наблюдается

на $\approx 5\text{--}10\%$ больше воды. Наблюдаемое расхождение между оценками настоящей работы и статьи [333] может быть связано с разными методами обработки сигналов импульсной спектроскопии, возможными различиями содержания воды в тканях мозга человека и модельных животных, а также различными условиями проведения эксперимента (например, фиксации тканей). На Рис. 5.6 (в) показаны оценки содержания воды *in vivo* на основе МРТ в здоровых (белое и серое вещество) и отечных (перифокальная зона опухоли) тканях головного мозга человека из работ [872–874]. Эти оценки вполне согласуются с данными настоящей работы. В работе [874] показано, что содержание воды в белом и сером веществе различается, что должно приводить к отчетливым различиям между эффективными терагерцовыми оптическими характеристиками этих тканей. На Рис. 5.6 (г) приведены оценки содержания воды с помощью пикнометрии (взвешивания в градиентном столбе жидкости) в тканях мозга здоровых крыс *ex vivo* из работы [875]. Несмотря на совершенно другой физический принцип работы, пикнометрия дает схожие оценки, подтверждая корректность результатов диссертации.

Построенные модели DD и DO позволяют описывать взаимодействия терагерцовых волн с *ex vivo* глиомами человека, интактными и отечными тканями, поэтому они могут быть полезны в решении следующих задач.

- Аналитическое описание взаимодействия излучения с пространственно однородными объектами простой геометрии (полу-бесконечными, плоско-слоистыми, сферическими, цилиндрическими и др.) при анализе результатов терагерцовых измерений тканей [11,15,16];
- Численное моделирование взаимодействия излучения с объектами сложной (произвольной) геометрии при фундаментальных исследованиях эффектов рассеяния терагерцовых волн в гетерогенных тканях [11,15,16];
- Параметры моделей DD и DO могут использоваться как физически обоснованные признаки для дифференциации здоровых и патологических тканей на основе данных терагерцовой спектроскопии и визуализации [330].

Две широкие полосы поглощения, описываемые моделями DD и DO и лежащие в основе гигагерцового–терагерцового отклика воды и тканей, находятся на краях или за пределами рабочего спектрального диапазона импульсных спектрометров (Рис. 5.3). По этой причине параметризация спектральных данных этими моделями является до некоторой степени их экстраполяцией, при этом результирующие параметры моделей зависят от начальных условий и метода параметризации. Биологические системы могут иметь более сложный диэлектрический отклик, включающий три и более релаксационных слагаемых (каждое отвечает за определенный вид свободной, связанной или

сегрегированной воды; выражение (1.6) [72,257], либо непрерывный спектр релаксационных времен (выражение (1.7)) [19,345,876]. Понимание взаимосвязи молекулярной динамики биологических сред с их диэлектрическим откликом остается неполным [877]. Для получения более точных данных о пикосекундной релаксационной динамике таких систем целесообразно применение методов широкополосной диэлектрической спектроскопии, сочетающих импедансные измерения [859], спектроскопию на базе ЛОВ [2], терагерцовую импульсную спектроскопию и ИК фурье спектроскопию [29,30], а также спектроскопии комбинационного рассеяния [16]. Однако практическая реализация такого подхода затруднительна из-за технических сложностей и временных ограничений измерения тканей несколькими экспериментальными системами.

5.2 Спектроскопия и микроскопия модели глиомы 101.8 в мозгу крысы *ex vivo*

Полученные выше результаты терагерцовой спектроскопии глиом человека основаны на общепринятом приближении об однородности тканей в масштабах длины волны и функции рассеяния оптической системы [11,15,16]. В то же время появляется все больше свидетельств гетерогенности и рассеивающих свойств тканей в терагерцовом диапазоне [17,37,39,41,376]. Для интактных тканей мозга и глиом структурная неоднородность тканей может иметь место благодаря различным эффективным оптическим характеристикам белого и серого вещества [867], разнообразным нейроваскулярным структурам (Рис. 5.7), областям некроза, гематом и скоплений опухолевых клеток [61], а также другим факторам. Изучение таких неоднородностей, их влияния на регистрируемые эффективные оптические характеристики тканей и точность детектирования границ опухоли с применением образцов тканей головного мозга человека затруднительно из-за их малого размера и низкой доступности. Поэтому в диссертации для исследования гетерогенности интактных тканей и опухоли использовалась модель глиомы 101.8 в мозгу крысы *ex vivo* в сочетании с разработанными методами спектроскопии (глава 2) и микроскопии (главы 3 и 4) [17,43,62].

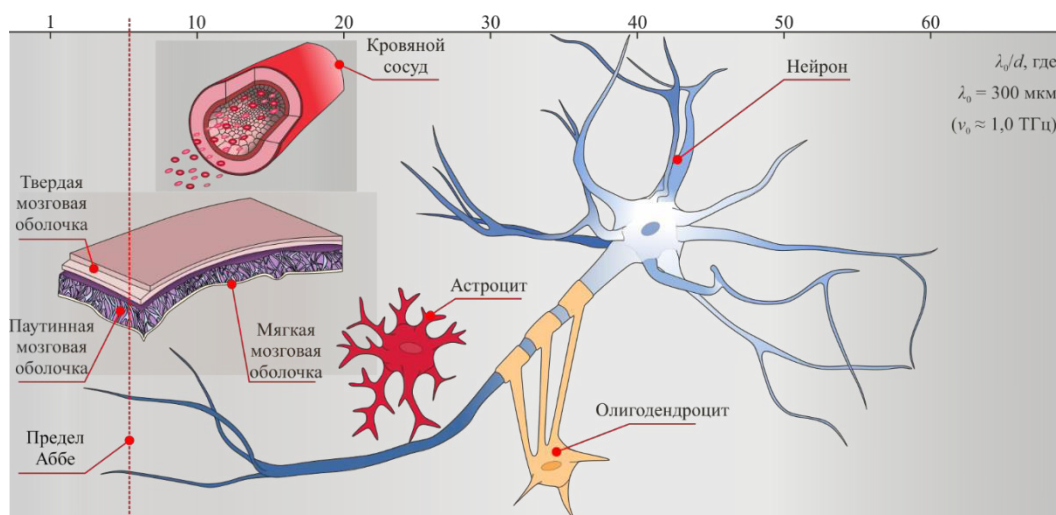


Рис. 5.7. Масштабы d структурных элементов тканей головного мозга (нейрофибриллы, нейроны, глиальные клетки, и т.д.), мозговой оболочки и кровяных сосудов в сравнении с длиной волны $\lambda_0 = 300$ мкм [70]. Вертикальная красная линия – предел разрешения Аббе для свободного пространства ($\approx \lambda/2$).

5.2.1 Модель глиомы 101.8

В предыдущих работах по терагерцовой спектроскопии и визуализации глиом рассматривались только ксенотрансплантированные модели опухолей в мозгу крыс и мышей [322,333,534–537]. Такие модели предполагают ксенотрансплантацию линий опухолевых клеток человека в мозг животных. Такая опухоль растет с четкими границами, которые можно обнаружить даже невооруженным глазом. Ксенотрансплантированные модели не имитируют микроваскуляризацию и диффузные границы опухоли. По этой причине они плохо подходят для апробации новых методов оптической диагностики тканей.

Гомотрансплантированная (гомографтная) модель глиомы 101.8 предполагает введение тканей глиомы головного мозга крысы в мозг другой крысы [878]. Она получена в НИИ морфологии человека (Москва, Россия), близка к глиобластоме (глиоме WHO Grade IV) [865,866] и применяется в различных областях экспериментальной нейроонкологии. Глиома 101.8 имитирует диффузные границы и гетерогенность опухоли, включая некроз, кровоизлияние и микроваскуляризацию, которые обычно характерны для глиом человека. Эта модель представляется подходящей для апробации новых оптических методов [61,548].

В диссертации модель глиомы 101.8 изучена *ex vivo* с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии, микроскопии субволнового разрешения и гистологии Н&Е. Работа с животными проводилась в соответствии с этическими принципами Европейской

конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (2006 г.) и Международными рекомендациями по биомедицинским исследованиям на животных (Council for International Organizations of Medical Sciences и International Council for Laboratory Animal Science, 2012 г.).

Трансплантацию опухоли в головной мозг крыс Wistar проводили согласно работе [879]. Через 14–18 д после трансплантации животных с клиническими признаками внутримозгового опухолевого роста (нарастающие парезы, гиперкинезы и крованистые выделения на веках и носу) забивали путем удушения в атмосфере углекислого газа. Затем череп вскрывали и извлекали весь мозг. Расположение опухоли определялось визуально. Разрез скальпелем производили во фронтальной плоскости примерно через центр новообразования. Иссеченный фрагмент мозга помещали на опорные окна импульсного спектрометра (Рис. 2.2 и 2.3) или микроскопа (Рис. 3.1 и 3.6). Передняя сторона мозга (поверхность разреза) находилась в контакте с окном, а задняя закрыта полиэтиленовой пленкой для предотвращения гидратации / дегидратации тканей.

После терагерцовых измерений ткани фиксировались в 4% растворе параформальдегида (48 ч) и затем заливались в парафиновые блоки. Срезы парафинового блока с тканями толщиной 5 мкм получены и окрашены Н&Е. Первые 5 срезов использовались для изучения и картирования интересующей области. Затем проводили гистологическое исследование с выделением белого и серого вещества, краев опухоли, участков инфильтративного прорастания, очагов некрозов, сосудов и кровоизлияний. Эти гистологические данные служили эталоном («золотым стандартом») для верификации терагерцовых измерений. Наконец, дегидратированные ткани в парафиновых блоках дополнительно исследовали с помощью терагерцового микроскопа, а полученные результаты сравнивались с измерениями свежееисеченных тканей и гистологией Н&Е.

5.2.2 Эффективные оптические характеристики модели глиомы 101.8

Интактные ткани мозга крысы и модель глиомы 101.8 изучены с помощью импульсного спектрометра zOmega MicroZ и разработанных методик (глава 2, Рис. 2.2 и 2.3) [25,26,62,234]. Для фокусировки пучка использовалась плоско-выпуклая линза из HDPE с фокусным расстоянием $f \approx 75$ мм и диаметром $D \approx 25$ мм, обеспечивающая разрешение $r \approx 1,7\lambda$ (выражение (5.1)); см. Рис. 5.8. Из-за выбранной геометрии измерения и флуктуаций влажности лабораторной атмосферы рабочий спектральный диапазон составил 0,2–1,1 ТГц, а спектральное разрешение – ≈ 50 ГГц. Регистрация и анализ терагерцовых данных проводились аналогичным образом с описанными выше

исследованиями тканей мозга человека (Рис. 5.1 и 5.2) [58]. Для оценки эффективных оптических характеристик тканей регистрировались сигнал образца E_s и опорный E_r (Рис. 5.9 (а) и (б)). На Рис. 5.9 (а) показано, что сигналы E_r и E_s во временной области состоят из трех импульсов I, II и III той же природы, что и импульсы А, В и С на Рис. 5.1 (в). Перед оценкой эффективных оптических характеристик тканей ко временным сигналам спектрометра E_r , E_s применялась аподизация – фильтр Блэкмана-Харриса 4-го порядка шириной 20 пс, центрированный на максимуме импульса II. Она позволила сохранить только импульс II, несущий информацию об объекте; остальные составляющие временных сигналов были отфильтрованы.

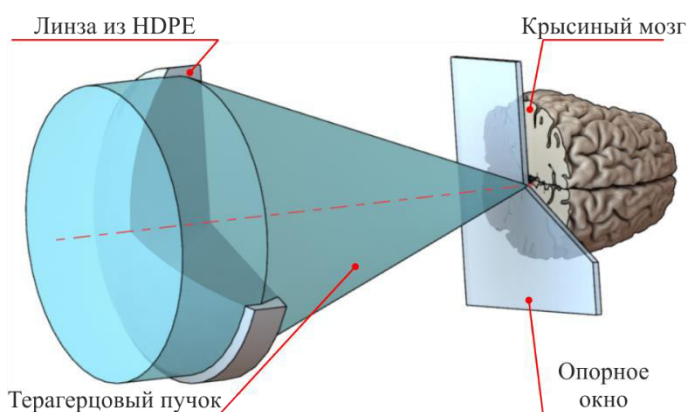


Рис. 5.8. Схема измерения мозга крысы *ex vivo* с помощью терагерцовой импульсной спектроскопии в геометрии «на отражение» [62].

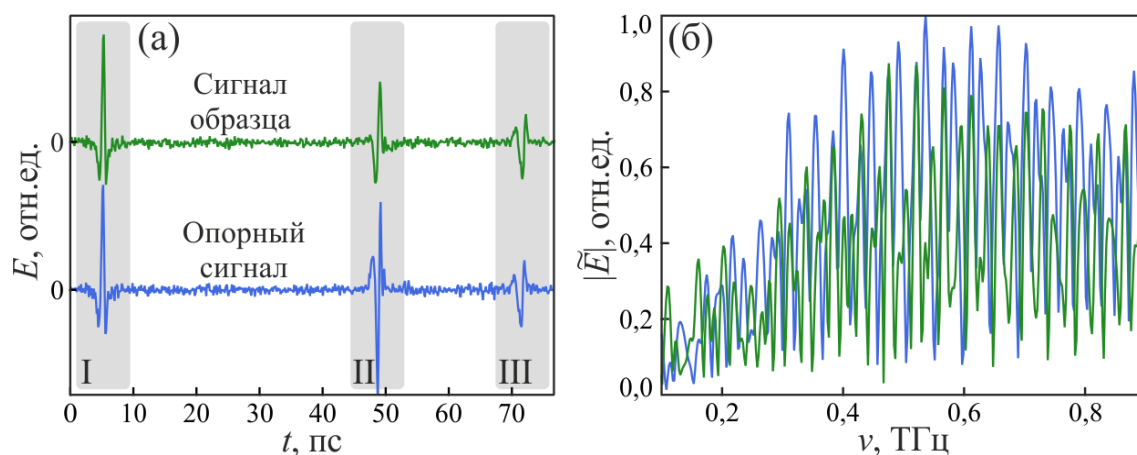


Рис. 5.9. Терагерцовая импульсная спектроскопия модели глиомы 101.8 в мозгу крысы *ex vivo* [62]: (а) – примеры сигнала образца (интактный мозг) $E_s(t)$ и опорного $E_r(t)$ во временной области, где I и II – импульсы, отраженные от границ «свободное пространство – кварц» и «кварц – образец» (или «кварц – свободное пространство»), соответственно, а III – импульс-спутник, обусловленный резонансом в окне; (б) – спектры Фурье сигналов $\tilde{E}_s(\nu)$ и $\tilde{E}_r(\nu)$.

На Рис. 5.10 (а) и (б) показаны эффективный показатель преломления n и коэффициент поглощения α (по амплитуде) для свежееисеченного интактного мозга крысы и модели глиомы 101.8 *ex vivo* [62]; на Рис. 5.10 (в) – результаты гистологии Н&Е. За счет измерения тканей сфокусированным пучком в различных латеральных положениях (Рис. 5.10 (в)) оценены средние значения характеристик тканей n , α (маркеры) и их дисперсия (доверительные интервалы $\pm 2\sigma$ или $\approx 95\%$). Из-за дифракционно ограниченного пространственного разрешения оптической системы интактная ткань не дифференцировалась на белое и серое вещество (или другие нейроваскулярные структуры).

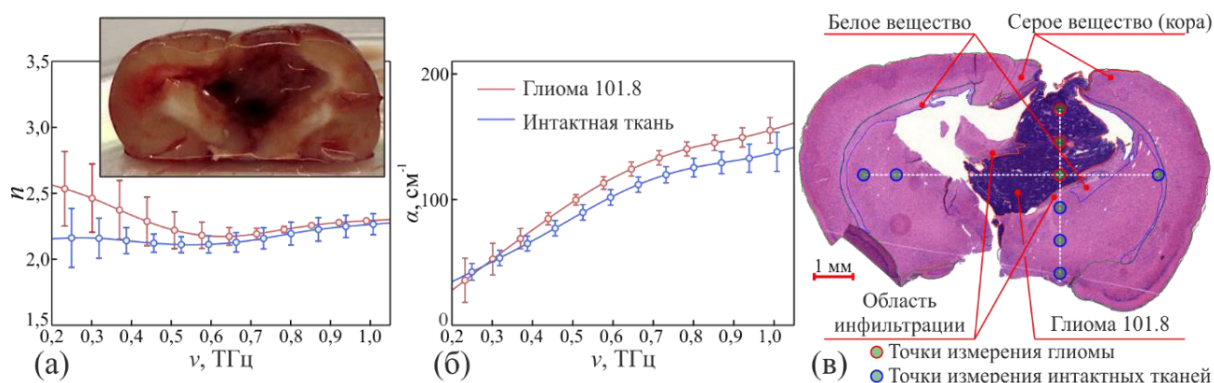


Рис. 5.10. Терагерцовая импульсная спектроскопия модели глиомы 101.8 в мозгу крысы *ex vivo* [62]: (а) – показатель преломления n ; (б) – коэффициент поглощения α (по амплитуде); (в) – гистология Н&Е. Вставка на (а) – фотография образца.

Результаты спектроскопии модели глиомы 101.8 подтвердили статистически значимые различия между эффективными оптическими характеристиками интактных тканей и опухолей [62]. Опухоль характеризуется более высокими значениями n и α . В то же время наблюдаемый контраст менее выражен по сравнению с ранними исследованиями ксенотрансплантированных моделей глиом животных (Рис. 1.17) [322,333,534–537] и глиом человека (Рис. 5.2) [58,60]. Заметна дисперсия полученных эффективных оптических характеристик, что согласуется с ранними исследованиями моделей глиом и глиом человека [58,322]. На Рис. 5.10 (а) и (б) заметны модуляции кривых n и α , схожие с наблюдавшимися для тканей кожи (Рис. 2.20, 2.21 и 2.23) [25,535] и (возможно) вызванные неоднородностями тканей и проблемами их позиционирования на опорном окне (сжатием и окклюзия тканей [423,445,448]).

5.2.3 Данные микроскопии модели глиомы 101.8

Модель глиомы 101.8 изучена с помощью метода лабораторного терагерцового ($\lambda = 500$ мкм) микроскопа (глава 3) и разработанных методов оценки локальных оптических характеристик тканей (глава 4) [17,37,39,41–43]. На Рис. 5.11 приведена схема фокусирующей оптической системы микроскопа. Ткани *ex vivo* помещались позади опорного окна из HRFZ-Si и сканировались субволновой каустикой пучка за счет перемещения окна с образцом в латеральных направлениях с шагом $< 0,075\lambda$ [37]. В результате измерений регистрируется пространственное распределение интенсивности отраженного объектом терагерцового излучения $I(\mathbf{r})$, где \mathbf{r} – точка в фокальной плоскости. Путем решения обратной задачи терагерцовой микроскопии (главе 4) [43,44,62], оценены локальные оптические характеристик n , α и объемное содержания тканевой воды C .

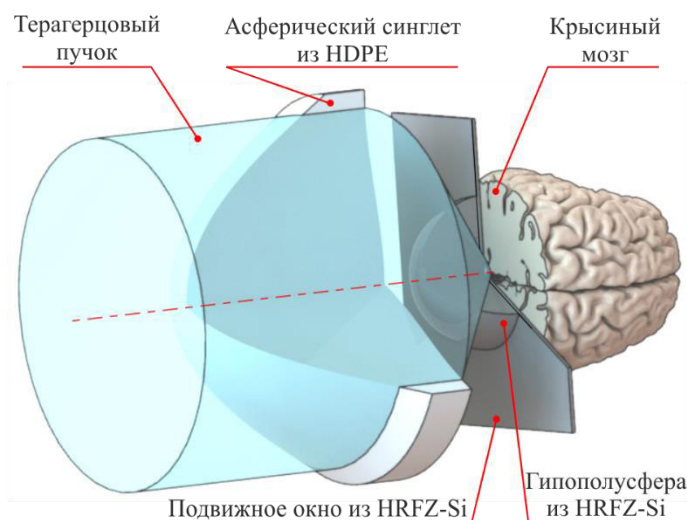


Рис. 5.11. Схема измерения мозга крысы *ex vivo* с помощью терагерцовой микроскопии субволнового разрешения [62].

На Рис. 5.12 сравниваются результаты микроскопии свежесеченного интактного мозга крысы и модели глиомы 101.8 *ex vivo* в форме фотографии, терагерцового изображения $I(\mathbf{r})$, распределений показателя преломления $n(\mathbf{r})$, коэффициента поглощения $\alpha(\mathbf{r})$ (по мощности) и содержания тканевой воды $C(\mathbf{r})$, а также гистологии Н&Е. Результаты терагерцовой микроскопии согласуются с описанными выше данными дифракционно ограниченной импульсной спектроскопии опухолей мозга (Рис. 5.2 и 5.10) [58,60,333]. Для опухоли характерен (в среднем по апертуре образца) более высокий показатель преломления n и коэффициент поглощения α как в терагерцовой микроскопии, так и в импульсной спектроскопии. Оценки локального содержания воды $C(\mathbf{r})$ в интактных тканях и опухоли также согласуются с данными импульсной спектроскопии и других методов (Рис. 5.6). Благодаря субволновому разрешению терагерцовая микроскопия

позволила впервые выявить неоднородность тканей головного мозга в масштабе длины волны и связанные с ней локальные флуктуации оптических характеристик тканей.

На Рис. 5.12 (б)–(д) наблюдается ярко выраженная разница между белым веществом и серым веществом, что согласуется с работами [323,880]. Белое вещество обладает более высокими оптическими характеристиками n , α , что может быть связано с повышенным содержанием воды C (в виде раствора электролита внутри аксонов) и миелина (окружающего аксоны и богатого липидами вещества). На Рис. 5.12 (з)–(л) видно, что опухоль обладает более высокими оптическими характеристиками n , α по сравнению с интактными тканями, что также преимущественно связано с повышенным содержанием воды C . Заметная мезомасштабная неоднородность опухоли обусловлена скоплениями опухолевых клеток, наличием сосудов, областей некроза и кровоизлияний (гематом).

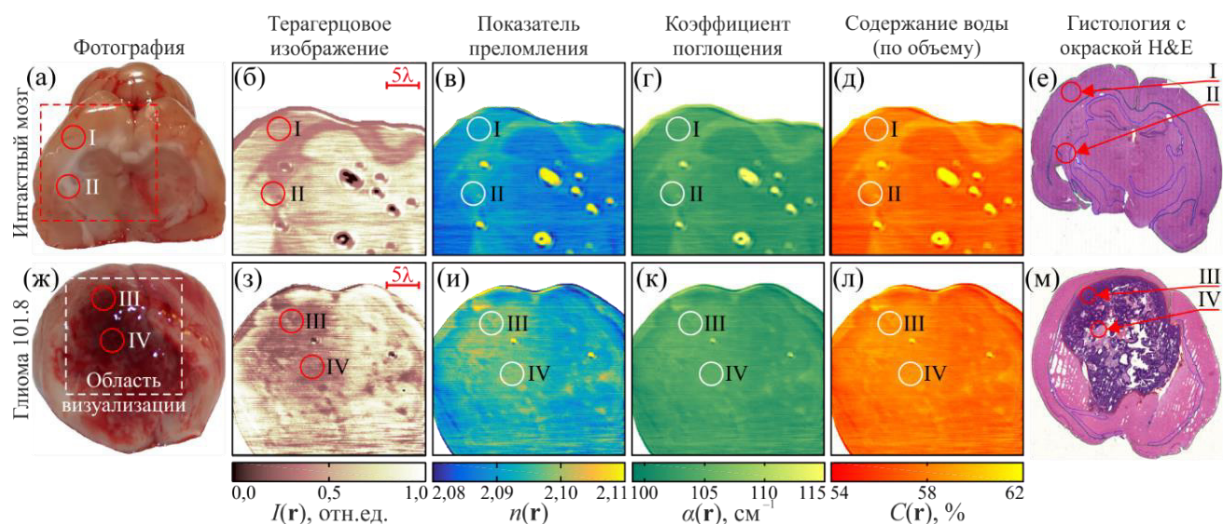


Рис. 5.12. Микроскопия на $\lambda = 500$ мкм интактного мозга крысы и модели глиомы 101.8 *ex vivo* [43]: (а)–(е) – фотография, терагерцовое изображение $I(\mathbf{r})$, показатель преломления $n(\mathbf{r})$, коэффициент поглощения $\alpha(\mathbf{r})$ (по мощности), содержание воды $C(\mathbf{r})$ и гистология Н&Е, соответственно, для свежесеченного интактного мозга крысы; I, II – серое и белое вещество; (ж)–(м) – данные для свежесеченной глиомы 101.8; III, IV – скопление опухолевых клеток и некроз.

На Рис. 5.13 результаты микроскопии интактного мозга и модели глиомы 101.8 сравниваются для свежесеченных (гидратированных) и парафинизированных (дегидратированных) тканей. На (а)–(в) показаны фотографии образцов, их терагерцовые изображения $I(\mathbf{r})$ и распределения показателя преломления $n(\mathbf{r})$, соответственно, для свежесеченных тканей; на (г)–(е) – схожие данные для парафинизированных образцов; на (ж) – данные гистологии Н&Е. Гистология обеспечивает качественную верификацию

результатов терагерцовой микроскопии, однако необходимо учитывать возможные геометрические искажения мягких тканей мозга в процессе парафинизации.

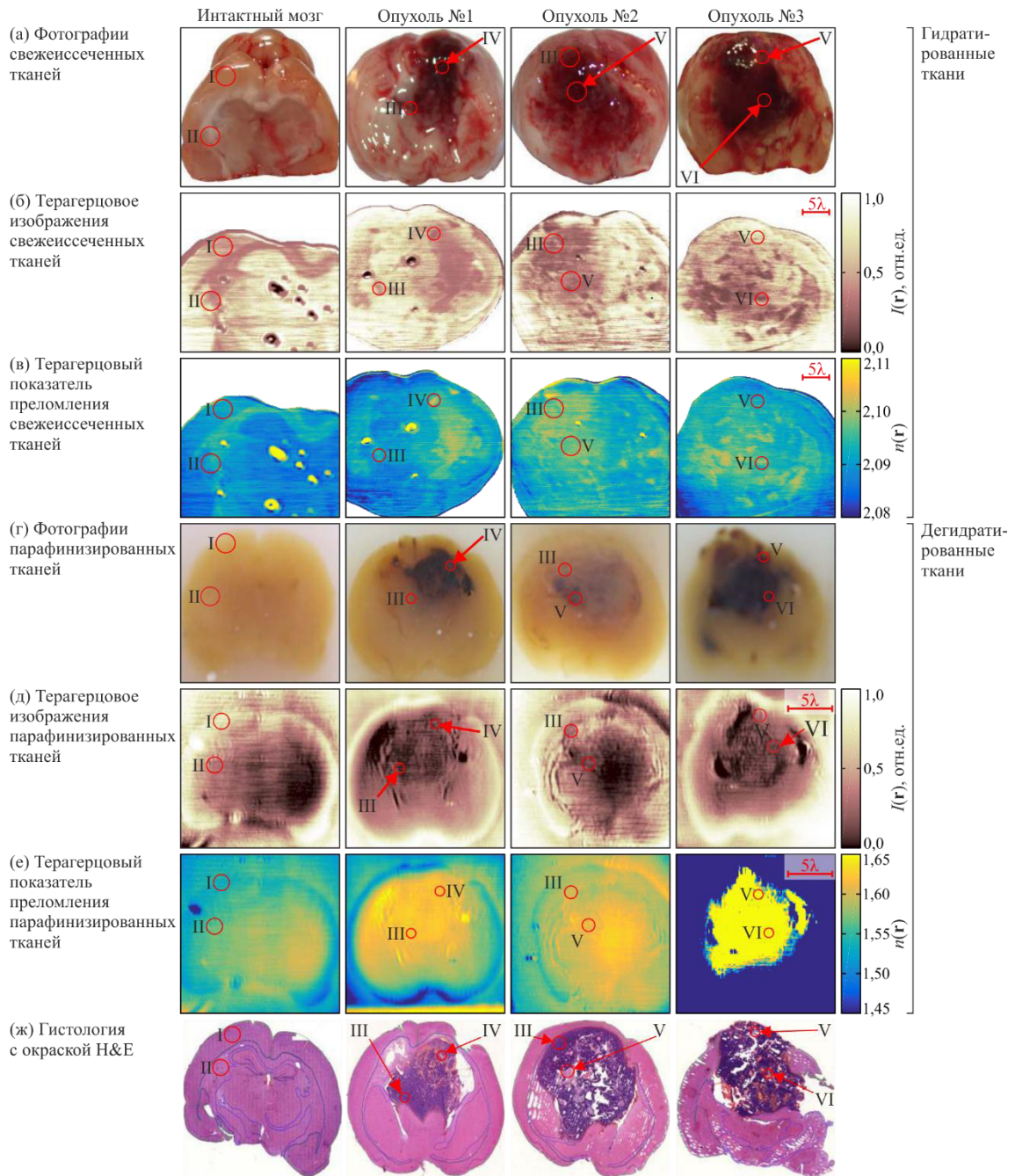


Рис. 5.13. Микроскопия на $\lambda = 500$ мкм интактного мозга крысы и модели глиомы 101.8 *ex vivo* [62]: (а)–(в) – фотография, терагерцовое изображение $I(\mathbf{r})$ и показатель преломления $n(\mathbf{r})$, соответственно, для свежесеченных (гидратированных) интактного мозга и трех глиом 101.8; (д)–(е) – данные для парафинизированных (дегидратированных) образцов; (ж) – гистология Н&Е. I, II – серое и белое вещество; III, IV, V и VI – скопление опухолевых клеток, сосуд в опухоли, некроз и гематома, соответственно.

Терагерцовые изображения имеют высокое, исключая изображения образца опухоли №3 в парафиновом блоке (панели (д) и (е)). Искажения этих изображений связаны с кривизной поверхности парафинового блока, приводящая к образованию воздушных зазоров между опорным окном и блоком. Такие искажения показывают необходимость качественной подготовки парафинового блока (полной дегидратации тканей), ведь остаточная вода ведет к постепенному «проседанию» поверхности блока.

Терагерцовые изображения свежееиссеченных образцов подтверждают наличие эндогенного контраста между интактными тканями и опухолью (Рис. 5.13 (б) и (в)), в то время как после парафинизации (Рис. 5.13 (д) и (е)) контраст пропадает, подтверждая, что именно тканевая вода является источником контраста в терагерцовых данных. Наблюдаемая на микроскопических изображениях (Рис. 5.12 (б)–(д) и (з)–(л), Рис. 5.13 (б) и (в)) гетерогенность интактных тканей и опухоли лежат в основе флуктуаций эффективных оптических характеристик тканей, измеряемых импульсной спектроскопией (Рис. 5.2 и 5.10). Наличие таких неоднородностей ставит важные задачи изучения эффектов рассеяния излучения в таких тканях, исследования вклада процессов поглощения и рассеяния в экстинкцию излучения, а также адаптации теории переноса излучения для нужд терагерцовой биофотоники [11,43,62,373,881].

Гетерогенность тканей и связанные с ними эффекты рассеяния могут либо усложнить детектирование границ опухоли терагерцовыми методами, либо стать источником дополнительной полезной информации для дифференциации тканей. Например, такие структурные неоднородности глиомы, как участки некрозов и кровоизлияний, присущи именно глиобластоме (глиоме WHO Grade IV), которую имитирует модель глиомы 101.8 [43,61,62]. Поскольку эти гетерогенности тканей видны на терагерцовых микроскопических изображениях, они могут стать дополнительными признаками для дифференциации глиобластомы от интактного мозга.

5.3 Молекулярные маркеры глиом

В работе [882], опубликованной после описанных результатов соискателя [58,60,727], проведены независимые исследования возможности терагерцовой дифференциации *ex vivo* свежееиссеченных интактных тканей и глиом головного мозга человека различной степени злокачественности, которые подтвердили основные результаты данной главы диссертации. Показаны наличие статистически значимых различий между терагерцовыми оптическими характеристиками интактных тканей и глиом головного мозга человека различной степени злокачественности. За счет использования

более чувствительной схемы терагерцовых измерений с ПВО призмой авторы работы [882] впервые показали возможность дифференциации глиом с различными молекулярными маркерами, отличными от воды.

Хоть вода и остается основным эндогенным маркером новообразований в терагерцовом диапазоне [11], установление взаимосвязи между терагерцовым диэлектрическим откликом тканей и отличными от воды молекулярными маркерами опухоли представляется актуальным [70]. Роль таких маркеров в современной онкологии становится определяющей. Среди них в диагностике глиом применяются маркировочный индекс Ki-67 [883–887], мутации в генах изоцитратдегидрогеназы (isocitrate dehydrogenase genes – IDH1 и IDH2) [888–891], метилирование промотора гена Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (methylguanine–DNA methyltransferase gene promoter – MGMT) [892].

В работе [882] показано, что *ex vivo* свежееисеченные ткани глиом головного мозга человека с мутацией IDH (IDH1 mutant-positive) и дикого типа (IDH1 wild-type) можно дифференцировать на основе анализа их эффективных оптических характеристик (Рис. 5.14). Терагерцовые методы обладают потенциалом для быстрого молекулярного типирования тканей глиомы по этому важному диагностическому фактору. В то же время возможность терагерцовой диагностики других молекулярных маркеров и событий, связанных с глиомами, остается слабо изученной.

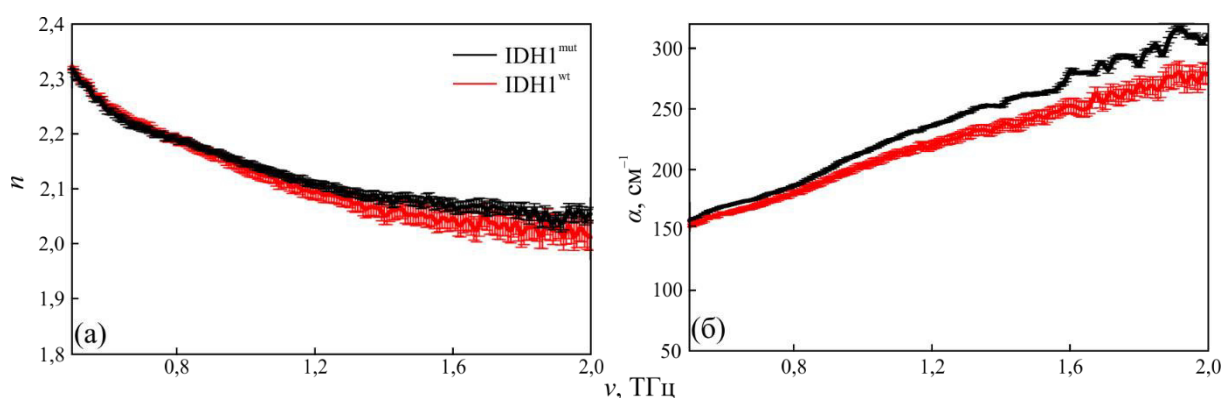


Рис. 5.14. Эффективные терагерцовые оптические характеристики *ex vivo* свежееисеченных глиом человека двух молекулярно-генетических типов – «IDH1 wild-type» и «IDH1 mutant-positive» [882]: (а) – показатель преломления n ; (б) – коэффициент поглощения α .

5.4 Выводы по главе

В данной главе методами терагерцовой импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения изучены *ex vivo* эффективные оптические характеристики и изображения глиом человека и модели глиомы 101.8 в мозгу крысы.

- 1) Получены эффективные оптические характеристики глиом человека WHO Grade I–IV, интактных и отечных тканей, на основе которых показаны статистические различия терагерцового отклика интактных тканей и глиом, а также схожесть отклика отечных тканей и опухолей.
- 2) Построены физико-математические модели эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости глиом человека WHO Grade I–IV, интактных и отечных тканей. На основе анализа эффективных оптических характеристик выявлено повышенное содержание воды в отечных тканях и опухолях по сравнению с интактными.
- 3) Зарегистрированы эффективные оптические характеристики и микроскопические изображения интактных тканей и модели глиомы 101.8 *ex vivo*. Полученные результаты подтвердили наличие контраста между интактными тканями и опухолью в терагерцовом диапазоне. Микроскопия свежееисеченных тканей выявила мезомасштабную гетерогенность интактных тканей (различный отклик белого и серого вещества) и опухоли (наличие скоплений опухолевых клеток, некроза и гематом). Микроскопия парафинизированных тканей показала, что различия терагерцового отклика интактных тканей и глиом пропадают после дегидратации, подтверждая, что тканевая вода является основным эндогенным маркером опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертации решена важная научная проблема развития методов импульсной спектроскопии и микроскопии субволнового разрешения для исследования биологических тканей в терагерцовом диапазоне. С помощью разработанных методов получены новые знания о взаимодействии терагерцового излучения с различными биологическими объектами. Сформулируем основные результаты диссертации.

- 1) Разработана физико-математическая модель взаимодействия терагерцового излучения с объектом исследования в импульсной спектроскопии для различных геометрий эксперимента (пропускание и отражение) с учетом конечного размера временного окна, в котором регистрируется сигнал спектрометра. На ее основе разработан метод восстановления терагерцовых оптических (диэлектрических) характеристик объектов различной природы для разных геометрий эксперимента.
- 2) Экспериментально изучены терагерцовые оптические характеристики распространенных агентов для иммерсионного оптического просветления тканей и их водных растворов. Сравнительный анализ агентов с помощью двумерных номограмм «терагерцовый коэффициент поглощения – коэффициент бимодальной диффузии» позволил выбрать из них оптимальные для терагерцовой биофотоники.
- 3) Экспериментально изучены эффективные терагерцовые оптические или диэлектрические характеристики *in vivo* здоровой кожи человека, обыкновенных и диспластических невусов. Показана существенная вариабельность терагерцового отклика кожи. Показана возможность дифференциации обыкновенных и диспластических невусов кожи на основе терагерцовых спектров.
- 4) Разработан терагерцовый микроскоп субволнового разрешения, основанный на эффекте твердотельной иммерсии, использующий иммерсионную полусферу из высокорезистивного кремния и обеспечивающий пространственное разрешение до $0,15\lambda$. Теоретически и экспериментально показано, что разрешение микроскопа зависит от оптических характеристик объекта, оставаясь субволновым ($r/\lambda \in (0,15, 0,4)$) в широких пределах изменения его показателя преломления ($n_{obj} \in (1,0, 5,0)$) и коэффициента поглощения ($\alpha_{obj} \in (0, 400) \text{ см}^{-1}$, по мощности).
- 5) С помощью разработанного терагерцового микроскопа изучены биологические ткани различной природы: листовые пластины растений, клеточные сфероиды и свежееиссеченные ткани организма человека. Показана возможность терагерцовой визуализации субволновых неоднородностей тканей.

- 6) Разработана физико-математическая модель отражения терагерцового излучения от объекта исследования позади оптической системы, использующей эффект твердотельной иммерсии. На ее основе разработан метод решения обратной задачи терагерцовой микроскопии субволнового разрешения, связанной с оценкой локальных оптических характеристик объекта. Рассмотрены случаи оценки показателя преломления n для слабо поглощающих ($\alpha < 10 \text{ см}^{-1}$, по мощности) сред, а также одновременно показателя преломления n , коэффициента поглощения α и объемного содержания воды C для сильно поглощающих ($\alpha > 10 \text{ см}^{-1}$) водосодержащих сред.
- 7) Терагерцовая импульсная спектроскопия и микроскопия применены для анализа эффективного диэлектрического отклика и изображений дегидратированных и гидратированных децеллюлярированных клеточных матриц на основе бычьего перикарда, интактных, обработанных химически или плазмой. Для матриц разного типа впервые измерены терагерцовая комплексная диэлектрическая проницаемость и данные о ее флуктуации по апертуре образца с субволновым разрешением. Оценено характерное время адсорбции паров воды матрицами $-\tau = 8\text{--}10$ мин.
- 8) Экспериментально изучены эффективные терагерцовые оптические характеристики глиом человека различной степени злокачественности (WHO Grade I–IV), интактных и отечных тканей *ex vivo*. Показаны статистические различия терагерцового отклика интактных тканей и глиом, а также схожесть отклика отечных тканей и опухолей.
- 9) Построены физико-математические модели эффективной терагерцовой комплексной диэлектрической проницаемости глиом человека WHO Grade I–IV, интактных и отечных тканей *ex vivo*. На основе анализа эффективных оптических характеристик выявлено повышенное содержание воды в отечных тканях и опухолях по сравнению с интактными.
- 10) Зарегистрированы эффективные оптические характеристики и микроскопические изображения интактных тканей и модели глиомы 101.8 *ex vivo*. Они подтвердили наличие контраста между интактными тканями и опухолью. Микроскопия свежееиссеченных тканей выявила их мезомасштабную гетерогенность. Микроскопия парафинизированных тканей показала, что различия терагерцового отклика интактных тканей и глиом пропадает после дегидратации, подтверждая, что тканевая вода является основным эндогенным маркером опухоли.

Отметим перспективность разработанных физико-математических моделей и методов исследования терагерцовых оптических свойств объектов различной природы, включая биологические ткани, для разных областей науки и техники. Они могут

применяться как в фундаментальных исследованиях эффектов взаимодействия терагерцового излучения с разнообразными физическими и биологическими средами, так и в прикладных исследованиях для поиска применений терагерцовых технологий в различных сферах жизнедеятельности человека: неразрушающем контроле материалов, контроле качества химической, фармацевтической и пищевой продукции. Наиболее актуальным приложением новых методов является медицинская диагностика социально значимых заболеваний, включая злокачественные новообразования. Это наглядно продемонстрировано в диссертации при исследовании новообразований кожи и головного мозга.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИК – инфракрасный,
ЛОВ – лампа обратной волны,
ФПА – фотопроводящая антенна,
DAST – 4'-диметиламино-N-метил-4-стильбазолий тозилат / 4'-DimethylAmino-N-methyl-4-Stilbazolium Tosylate,
ИМПАТТ – impact ionization avalanche transit-time диод,
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота,
ICNIRP – the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection,
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота,
TPS – THz pulsed spectroscopy,
TPI – THz pulsed imaging,
ПВО – полное внутреннее отражение, TIR – total internal reflection,
THz-QTDS – THz quasi-time-domain spectroscopy,
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения,
WHO – the World Health Organization,
ВСС – basal cell carcinoma, базальноклеточный рак или базалиома,
SCC – squamous cell carcinoma, плоскоклеточный рак,
H&E – hematoxylin and eosin / гематоксилин и эозин,
МРТ – магнитно-резонансная томографии,
HDPE – high-density polyethylene,
LDPE – low density polyethylene, полиэтилен низкой плотности,
PMMA – polymethyl-methacrylate, полиметилметакрилат,
PMP, TPX – polymethylpentene, полиметилпентен,
PTFE / ПТФЭ – polytetrafluoroethylene, политетрафторэтилен или Teflon,
COC – cyclic olefin copolymer,
HRFZ-Si – high-resistivity float-zone silicon,
ARROW – anti-resonant reflecting optical waveguide, антирезонансный волновод,
ФК – фотонный кристалл,
EFG – edge-defined film-fed growth method / метод Степанова,
PMMA – polymethylmethacrylate, полиметилметакрилат,
PP – polypropylene, полипропилен,
SNOM – scanning-probe near-field optical microscopy, сканирующая зондовая ближнепольная микроскопия,

CIOMS – Council for International Organizations of Medical Sciences,
ПЭГ – полиэтиленгликоль,
ПГ – пропиленгликоль,
ДМСО – диметилсульфоксид,
NA – numerical aperture / числовая апертура,
RMS – root mean square / среднеквадратический размер,
FEM – finite element method / метод конечных элементов численного решения уравнений Максвелла,
FDTD – finite-difference time-domain method / метод конечных разностей во временной области численного решения уравнений Максвелла,
ТЕМ – поляризация transverse electric & magnetic,
ТМ – поляризация transverse magnetic,
ТЕ – transverse electric поляризация,
TF/SF – total-field / scattered-field method / метод полного и рассеянного полей,
FWHM – full-width at half-maximum / полная ширина по среднему уровню (на уровне половины от максимума сигнала),
NEP – noise equivalent power / эквивалентная мощность шума,
3D FEFD – three-dimensional finite-element frequency-domain method / трехмерный метод конечных элементов для численного решения уравнений Максвелла в частотной области,
DBP – decellularized bovine pericardium / децеллюлированного бычьего перикарда,
CMOS – complementary metal-oxide-semiconductor integrated circuits,
DD – double-Debye model / двойная модель Дебая,
DO – double overdamped-oscillator model / модель из двух передемпфированных осцилляторов,
ICLAS – International Council for Laboratory Animal Science,
IDH1, IDH2 – isocitrate dehydrogenase genes / гены изоцитратдегидрогеназы,
MGMT – methylguanine–DNA methyltransferase gene promoter / промотор гена метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- [1] Guerboukha H., Nallappan K., Skorobogatiy M. Toward real-time terahertz imaging. 2018. Vol. 10, № 4. P. 843–938.
- [2] Komandin G.A. et al. BWO generators for terahertz dielectric measurements // IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol. 2013. Vol. 3, № 4. P. 440–444.
- [3] Auston D.H. Picosecond optoelectronic switching and gating in silicon // Appl. Phys. Lett. 1975. Vol. 26, № 3. P. 101–103.
- [4] Lee Y.S. Principles of terahertz science and technology. Springer Science+Business Media, LLC., USA, 2009. 1–340 p.
- [5] Farrah D. et al. Review: far-infrared instrumentation and technological development for the next decade // J. Astron. Telesc. Instruments, Syst. 2019. Vol. 5, № 02. P. 1.
- [6] Jacobsen R.H., Mittleman D.M., Nuss M.C. Chemical recognition of gases and gas mixtures with terahertz waves // Opt. Lett. 1996. Vol. 21, № 24. P. 2011–2013.
- [7] Gorshunov B.P. et al. Incipient ferroelectricity of water molecules confined to nano-channels of beryl // Nat. Commun. 2016. Vol. 7, № 1. P. 12842.
- [8] Stoik C.D., Bohn M.J., Blackshire J.L. Nondestructive evaluation of aircraft composites using transmissive terahertz time domain spectroscopy // Opt. Express. 2008. Vol. 16, № 21. P. 17039–17051.
- [9] Zeitler J.A. et al. Terahertz pulsed spectroscopy and imaging in the pharmaceutical setting - a review // J. Pharm. Pharmacol. 2010. Vol. 59, № 2. P. 209–223.
- [10] Lindley-Hatcher H. et al. Real time THz imaging—opportunities and challenges for skin cancer detection // Appl. Phys. Lett. 2021. Vol. 118, № 23. P. 230501.
- [11] Zaytsev K.I. et al. The progress and perspectives of terahertz technology for diagnosis of neoplasms: A review // J. Opt. 2020. Vol. 22, № 1. P. 013001.
- [12] Hernandez-Cardoso G.G. et al. Terahertz imaging for early screening of diabetic foot syndrome: A proof of concept // Sci. Rep. 2017. Vol. 7, № 1. P. 42124.
- [13] Zhao H., Chen T. High-sensitivity terahertz imaging of traumatic brain injury in a rat model // J. Biomed. Opt. 2018. Vol. 23, № 03. P. 036015.
- [14] Bajwa N. et al. Non-invasive terahertz imaging of tissue water content for flap viability assessment // Biomed. Opt. Express. 2017. Vol. 8, № 1. P. 460–474.
- [15] Cherkasova O.P. et al. Cellular effects of terahertz waves // J. Biomed. Opt. 2021. Vol. 26, № 9. P. 090902.
- [16] Smolyanskaya O.A. et al. Terahertz biophotonics as a tool for studies of dielectric and spectral properties of biological tissues and liquids // Prog. Quantum Electron. 2018. Vol.

62. P. 1–77.
- [17] Chernomyrdin N.V. et al. Terahertz solid immersion microscopy: Recent achievements and challenges // *Appl. Phys. Lett.* 2022. Vol. 120, № 11. P. 110501.
- [18] Zaytsev K.I. et al. A method of studying spectral optical characteristics of a homogeneous medium by means of terahertz time-domain spectroscopy // *Opt. Spectrosc.* 2015. Vol. 118, № 4. P. 552–562.
- [19] Yakovlev E. V. et al. Non-destructive evaluation of polymer composite materials at the manufacturing stage using terahertz pulsed spectroscopy // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 5. P. 810–816.
- [20] Musina G.R. et al. Optimal hyperosmotic agents for tissue immersion optical clearing in terahertz biophotonics // *J. Biophotonics.* 2020. Vol. 13, № 12. P. e202000297.
- [21] Musina G.R. et al. Optical properties of hyperosmotic agents for immersion clearing of tissues in terahertz spectroscopy // *Opt. Spectrosc.* 2020. Vol. 128, № 7. P. 1026–1035.
- [22] Komandin G.A. et al. Quantification of solid-phase chemical reactions using the temperature-dependent terahertz pulsed spectroscopy, sum rule, and Arrhenius theory: Thermal decomposition of α -lactose monohydrate // *Opt. Express.* 2022. Vol. 30, № 6. P. 9208–9221.
- [23] Ulitko V.E. et al. Nanoporous SiO₂ based on annealed artificial opals as a favorable material platform of terahertz optics // *Opt. Mater. Express.* 2020. Vol. 10, № 9. P. 2100–2113.
- [24] Ulitko V.E. et al. Opal-based terahertz optical elements fabricated by self-assembly of porous SiO₂ nanoparticles // *Opt. Express.* 2021. Vol. 29, № 9. P. 13764–13777.
- [25] Zaytsev K.I. et al. Highly accurate in vivo terahertz spectroscopy of healthy skin: variation of refractive index and absorption coefficient along the human body // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 5. P. 817–827.
- [26] Zaytsev K.I. et al. In vivo terahertz spectroscopy of pigmented skin nevi: Pilot study of non-invasive early diagnosis of dysplasia // *Appl. Phys. Lett.* 2015. Vol. 106, № 5. P. 053702.
- [27] Zaitsev K.I. et al. Terahertz spectroscopy of pigmented skin nevi in vivo // *Opt. Spectrosc.* 2015. Vol. 119, № 3. P. 404–410.
- [28] Reshetov I.V. et al. Terahertz spectroscopy: Pilot study of non-invasive early diagnosis of dysplasia and melanoma // *Eur. J. Cancer.* 2015. Vol. 51. P. S167.
- [29] Giuliano B.M. et al. Broadband spectroscopy of astrophysical ice analogues. I. Direct measurement of the complex refractive index of CO ice using terahertz time-domain spectroscopy // *Astron. Astrophys.* 2019. Vol. 629. P. A112.
- [30] Gavidush A.A. et al. Broadband spectroscopy of astrophysical ice analogues II. Optical

- constants of CO and CO₂ ices in the terahertz and infrared ranges // *Astron. Astrophys.* 2022. Vol. 667. P. A49.
- [31] Zaytsev K.I. et al. Invariant embedding technique for medium permittivity profile reconstruction using terahertz time-domain spectroscopy // *Opt. Eng.* 2013. Vol. 52, № 6. P. 068203.
- [32] Dolganova I.N. et al. A hybrid continuous-wave terahertz imaging system // *Rev. Sci. Instrum.* 2015. Vol. 86, № 11. P. 113704.
- [33] Dolganova I.N. et al. Combined terahertz imaging system for enhanced imaging quality // *Opt. Quantum Electron.* 2016. Vol. 48, № 6. P. 325.
- [34] Dolganova I.N. et al. The role of scattering in quasi-ordered structures for terahertz imaging: Local order can increase an image quality // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2018. Vol. 8, № 4. P. 403–409.
- [35] Chernomyrdin N. V. et al. Wide-aperture aspherical lens for high-resolution terahertz imaging // *Rev. Sci. Instrum.* 2017. Vol. 88, № 1. P. 014703.
- [36] Chernomyrdin N. V. et al. Wide-aperture aspheric optics for formation of subwavelength caustics of a terahertz electromagnetic-radiation beam // *Opt. Spectrosc.* 2018. Vol. 124, № 3. P. 428–436.
- [37] Chernomyrdin N. V. et al. Reflection-mode continuous-wave 0.15λ -resolution terahertz solid immersion microscopy of soft biological tissues // *Appl. Phys. Lett.* 2018. Vol. 113, № 11. P. 111102.
- [38] Cherkasova O.P. et al. Effects of terahertz radiation on living cells: a review // *Opt. Spectrosc.* 2020. Vol. 128, № 6. P. 855–866.
- [39] Chernomyrdin N. V. et al. Terahertz microscope based on solid immersion effect for imaging of biological tissues // *Opt. Spectrosc.* 2019. Vol. 126, № 5. P. 560–567.
- [40] Chernomyrdin N. V. et al. Solid immersion terahertz imaging with sub-wavelength resolution // *Appl. Phys. Lett.* 2017. Vol. 110, № 22. P. 221109.
- [41] Chernomyrdin N. V. et al. Numerical analysis and experimental study of terahertz solid immersion microscopy // *Opt. Eng.* 2019. Vol. 59, № 06. P. 061605.
- [42] Zhelnov V.A. et al. Object-dependent spatial resolution of the reflection-mode terahertz solid immersion microscopy // *Opt. Express.* 2021. Vol. 29, № 3. P. 3553–3566.
- [43] Chernomyrdin N.V. et al. Quantitative super-resolution solid immersion microscopy via refractive index profile reconstruction // *Optica.* 2021. Vol. 8, № 11. P. 1471–1480.
- [44] Musina G.R. et al. Moisture adsorption by decellularized bovine pericardium collagen matrices studied by terahertz pulsed spectroscopy and solid immersion microscopy // *Biomed. Opt. Express.* 2021. Vol. 12, № 9. P. 5368–5386.

- [45] Gavdush A.A. et al. Proof of concept for continuously-tunable terahertz bandpass filter based on a gradient metal-hole array // *Opt. Express*. 2020. Vol. 28, № 18. P. 26228–26238.
- [46] Chernomyrdin N.V. et al. Continuously-tunable middle-IR bandpass filters based on gradient metal-hole arrays for multispectral sensing and thermography // *J. Appl. Phys.* 2022. Vol. 131, № 12. P. 123103.
- [47] Katyba G.M. et al. Sapphire shaped crystals for waveguiding, sensing and exposure applications // *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* Elsevier, 2018. Vol. 64, № 4. P. 133–151.
- [48] Zaytsev K.I. et al. Special section guest editorial: Advances in terahertz biomedical science and applications // *J. Biomed. Opt.* 2021. Vol. 26, № 4. P. 043001.
- [49] Katyba G.M. et al. Sapphire waveguides and fibers for terahertz applications // *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* Elsevier Ltd, 2021. Vol. 67, № 3. P. 100523.
- [50] Katyba G.M. et al. Sapphire single-crystal waveguides and fibers for THz frequency range // *J. Surf. Investig.* 2020. Vol. 14, № 3. P. 437–439.
- [51] Zaytsev K.I. et al. Terahertz photonic crystal waveguides based on sapphire shaped crystals // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2016. Vol. 6, № 4. P. 576–582.
- [52] Katyba G.M. et al. Sapphire photonic crystal waveguides for terahertz sensing in aggressive environments // *Adv. Opt. Mater.* 2018. Vol. 6, № 22. P. 1800573.
- [53] Katyba G.M. et al. THz generation by two-color laser air plasma coupled to antiresonance hollow-core sapphire waveguides: THz-wave delivery and angular distribution management // *Opt. Express*. 2022. Vol. 30, № 3. P. 4215–4230.
- [54] Katyba G.M. et al. Terahertz transmission-mode scanning-probe near-field optical microscopy based on a flexible step-index sapphire fiber // *Opt. Eng.* 2021. Vol. 60, № 8. P. 082010.
- [55] Minin I. V. et al. Experimental observation of a photonic hook // *Appl. Phys. Lett.* 2019. Vol. 114, № 3. P. 031105.
- [56] Zaytsev K.I.I. et al. Overcoming the Abbe diffraction limit using a bundle of metal-coated high-refractive-index sapphire optical fibers // *Adv. Opt. Mater.* 2020. Vol. 8, № 18. P. 2000307.
- [57] Katyba G.M. et al. Superresolution Imaging Using a Tapered Bundle of High-Refractive-Index Optical Fibers // *Phys. Rev. Appl.* 2022. Vol. 18, № 3. P. 034069.
- [58] Gavdush A.A. et al. Terahertz spectroscopy of gelatin-embedded human brain gliomas of different grades: a road toward intraoperative THz diagnosis // *J. Biomed. Opt.* 2019. Vol. 24, № 02. P. 027001.
- [59] Smolyanskaya O.A. et al. Multimodal optical diagnostics of glycated biological tissues //

- Biochem. 2019. Vol. 84. P. 124–143.
- [60] Gavdush A.A. et al. Terahertz dielectric spectroscopy of human brain gliomas and intact tissues ex vivo: double-Debye and double-overdamped-oscillator models of dielectric response // *Biomed. Opt. Express*. 2021. Vol. 12, № 1. P. 69–83.
- [61] Dolganova I.N. et al. Capability of physically reasonable OCT-based differentiation between intact brain tissues, human brain gliomas of different WHO grades, and glioma model 101.8 from rats // *Biomed. Opt. Express*. 2020. Vol. 11, № 11. P. 6780–6798.
- [62] Kucheryavenko A.S. et al. Terahertz dielectric spectroscopy and solid immersion microscopy of ex vivo glioma model 101.8: brain tissue heterogeneity // *Biomed. Opt. Express*. 2021. Vol. 12, № 8. P. 5272–5289.
- [63] Quentin Chapdelaine et al. Fabrication and characterization of a composite TiO₂-polypropylene high-refractive-index solid immersion lens for super-resolution THz imaging // *Opt. Mater. Express*. 2022. Vol. 12, № 8. P. 3015–3031.
- [64] Bakulina A.A. et al. PEG-Fibrin conjugates: PEG impact on polymerization dynamics // *Soft Mater*. 2023. Vol. 19. P. 2430–2437.
- [65] Komandin G.A. et al. Temperature Evolution of the Dielectric Response of α -Lactose Monohydrate in the THz Frequency Range // *Opt. Spectrosc*. 2020. Vol. 128, № 6. P. 752–758.
- [66] Martins I.S. et al. Measurement of tissue optical properties in a wide spectral range: a review // *Biomed. Opt. Express*. 2023. Vol. 14, № 1. P. 249–298.
- [67] Kucheryavenko A.S. et al. Super-resolution THz endoscope based on a hollow-core sapphire waveguide and a solid immersion lens // *Opt. Express*. 2023. Vol. 31, № 8. P. 13366–13373.
- [68] Ulitko V.E. et al. Moisture adsorption by porous terahertz optical materials: a case study of artificial SiO₂ opals // *Opt. Mater. Express*. 2023. Vol. 13, № 4. P. 1163–1176.
- [69] Musina G.R. et al. Prospects of terahertz technology in diagnosis of human brain tumors – A review // *J. Biomed. Photonics Eng*. 2020. Vol. 6, № 2. P. 3375.
- [70] Chernomyrdin N.V. et al. Terahertz technology in intraoperative neurodiagnostics: A review // *Opto-Electronic Adv*. 2023. Vol. 6. P. 220071.
- [71] Zaytsev K.I. et al. Accuracy of sample material parameters reconstruction using terahertz pulsed spectroscopy // *J. Appl. Phys*. 2014. Vol. 115, № 19. P. 193105.
- [72] Yurchenko S.O., Zaytsev K.I. Spectroscopy of nafion in terahertz frequency range // *J. Appl. Phys*. 2014. Vol. 116, № 11. P. 113508.
- [73] Zaytsev K.I. et al. Terahertz Spectroscopy and Imaging of Brain Tumors // *Multimodal Optical Diagnostics of Cancer*. 1st Ed. / ed. Tuchin V. V., Popp J., Zakharov V. Springer, Cham, 2020. P. 551–574.

- [74] Lazareva E.N. et al. Refractive index measurements of tissue and blood components and OCAs in a wide spectral range // Handbook of Tissue Optical Clearing. New Prospects in Optical Imaging. 1st Ed. / ed. Tuchin V.V., Zhu D., Genina E.A. CRC Press, 2022. P. 141–166.
- [75] Smolyanskaya O.A. et al. Tissue optical clearing in the terahertz range // Handbook of Tissue Optical Clearing. New Prospects in Optical Imaging. 1st Ed. / ed. Tuchin V.V., Zhu D., Genina E.A. CRC Press, 2022. P. 445–458.
- [76] Yang X. et al. Biomedical Applications of Terahertz Spectroscopy and Imaging // Trends Biotechnol. 2016. Vol. 34, № 10. P. 810–824.
- [77] Pickwell E., Wallace V.P. Biomedical applications of terahertz technology // J. Phys. D. Appl. Phys. 2006. Vol. 39, № 17. P. R301–R310.
- [78] Cherkasova O. et al. Diagnosis of glioma molecular markers by terahertz technologies // Photonics. 2021. Vol. 8, № 1. P. 1–30.
- [79] Nikitkina A.I. et al. Terahertz radiation and the skin: a review // J. Biomed. Opt. 2021. Vol. 26, № 4. P. 043005.
- [80] D’arco A. et al. Thz pulsed imaging in biomedical applications // Condens. Matter. 2020. Vol. 5, № 2. P. 25.
- [81] Son J.H., Oh S.J., Cheon H. Potential clinical applications of terahertz radiation // J. Appl. Phys. AIP Publishing LLC, 2019. Vol. 125, № 19. P. 190901.
- [82] Yachmenev A.E. et al. Metallic and dielectric metasurfaces in photoconductive terahertz devices: a review // Opt. Eng. 2019. Vol. 59, № 06. P. 061608.
- [83] Manjappa M., Singh R. Materials for Terahertz Optical Science and Technology // Adv. Opt. Mater. 2020. Vol. 8, № 3. P. 1901984.
- [84] Yachmenev A.E. et al. Arsenides-and related III-V materials-based multilayered structures for terahertz applications: Various designs and growth technology // Prog. Cryst. Growth Charact. Mater. 2020. Vol. 66, № 2. P. 100485.
- [85] Islam M.S. et al. Terahertz optical fibers [Invited] // Opt. Express. 2020. Vol. 28, № 11. P. 16089–16117.
- [86] Atakaramians S. et al. Terahertz dielectric waveguides // Adv. Opt. Photonics. 2013. Vol. 5, № 2. P. 169–215.
- [87] Khalatpour A. et al. High-power portable terahertz laser systems // Nat. Photonics. 2021. Vol. 15, № 1. P. 16–20.
- [88] Echchgadda I. et al. Using a portable terahertz spectrometer to measure the optical properties of in vivo human skin // J. Biomed. Opt. 2013. Vol. 18, № 12. P. 120503.
- [89] Cherkasova O., Nazarov M., Shkurinov A. Noninvasive blood glucose monitoring in the

- terahertz frequency range // *Opt. Quantum Electron.* 2016. Vol. 48, № 3. P. 217.
- [90] Shi J. et al. Automatic evaluation of traumatic brain injury based on terahertz imaging with machine learning // *Opt. Express.* 2018. Vol. 26, № 5. P. 6371–6381.
- [91] Wang Y. et al. Terahertz spectroscopic diagnosis of early blast-induced traumatic brain injury in rats // *Biomed. Opt. Express.* 2020. Vol. 11, № 8. P. 4085–4098.
- [92] Cao Y. et al. Qualitative and quantitative detection of liver injury with terahertz time-domain spectroscopy // *Biomed. Opt. Express.* 2020. Vol. 11, № 2. P. 982–993.
- [93] Shchepetilnikov A. V. et al. Quantitative analysis of water content and distribution in plants using terahertz imaging // *Opt. Eng.* 2020. Vol. 59, № 06. P. 061617.
- [94] Iomdina E.N. et al. Terahertz scanning of the rabbit cornea with experimental UVB-induced damage: in vivo assessment of hydration and its verification // *J. Biomed. Opt.* 2021. Vol. 26, № 04. P. 043010.
- [95] Borovkova M. et al. Terahertz time-domain spectroscopy for non-invasive assessment of water content in biological samples // *Biomed. Opt. Express.* 2018. Vol. 9, № 5. P. 2266–2276.
- [96] Smolyanskaya O.A. et al. Glycerol dehydration of native and diabetic animal tissues studied by THz-TDS and NMR methods // *Biomed. Opt. Express.* 2018. Vol. 9, № 3. P. 1198–1215.
- [97] Romanenko S. et al. The interaction between electromagnetic fields at megahertz, gigahertz and terahertz frequencies with cells, tissues and organisms: Risks and potential // *J. R. Soc. Interface.* 2017. Vol. 14, № 137. P. 20170585.
- [98] Mattsson M.O., Zeni O., Simkó M. Is there a Biological Basis for Therapeutic Applications of Millimetre Waves and THz Waves? // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves. Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 2018. Vol. 39, № 9. P. 863–878.
- [99] Titova L. V. et al. Intense THz pulses down-regulate genes associated with skin cancer and psoriasis: A new therapeutic avenue? // *Sci. Rep.* 2013. Vol. 3, № 1. P. 2363.
- [100] Rubens H., Nichols E.F. Heat Rays Of Great Wave Length // *Phys. Rev. (Series I)*. 1895. Vol. 4, № 4. P. 314–323.
- [101] Rubens H., Nichols E.F. Certain Optical and Electro-Magnetic Properties of Heat Waves of Great Wave-Length, I // *Phys. Rev. (Series I)*. 1897. Vol. 5, № 2. P. 98–112.
- [102] Rubens H., Nichols E.F. Certain Properties of Heat Waves of Great Wave-Length. II // *Phys. Rev. (Series I)*. 1897. Vol. 5, № 3. P. 152–169.
- [103] Rubens H., Kurlbaum F. On the Heat Radiation of Long Wave-Length Emitted by Black Bodies at Different Temperatures // *Astrophys. J.* 1901. Vol. 14. P. 335–348.
- [104] Jammer M. *The Conceptual Development of Quantum Mechanics (The History of Modern Physics 1880-1950, Vol 12)*. 2nd Revise. USA: American Institute of Physics, 1989. 436 p.

- [105] Rubens H., von Baeyer O. LXXX. On extremely long waves, emitted by the quartz mercury lamp // London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci. (Series 6). 1911. Vol. 21, № 125. P. 689–695.
- [106] Griffiths P.R., De Haseth J.A., Winefordner J.D. Fourier transform infrared spectrometry. 2nd Edition. Hoboken, USA: Wiley- Blackwell, 2007. 560 p.
- [107] Fleming J.W. High-Resolution Submillimeter-Wave Fourier-Transform Spectrometry of Gases // IEEE Trans. Microw. Theory Tech. 1974. Vol. 22, № 12. P. 1023–1025.
- [108] Hagen E., Rubens H. XVI. On some relations between the optical and the electrical qualities of metals // London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci. (Series 6). 1904. Vol. 7, № 38. P. 157–179.
- [109] Wood R.W. The echelette grating for the infra-red // London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci. (Series 6). 1910. Vol. 20, № 118. P. 770–778.
- [110] Lodge O. Electrical Radiation from Conducting Spheres, an Electric Eye, and a Suggestion regarding Vision // Nature. 1890. Vol. 41. P. 462–463.
- [111] Lebedew P. Ueber die Doppelbrechung der Strahlen elektrischer Kraft // Ann. der Phys. und Chemie. 1895. Vol. 292, № 9. P. 1–17.
- [112] Nichols E.F., Tear J.D. Short Electric Waves // Phys. Rev. 1923. Vol. 21, № 6. P. 587–610.
- [113] Glagolewa-Arkadiewa A. Short Electromagnetic Waves of Wave-length up to 82 Microns // Nature. 1924. Vol. 113, № 2844. P. 640–640.
- [114] Langley S.P.S.P. The Bolometer // Nature. 1881. Vol. 25, № 627. P. 14–16.
- [115] Barnes R.B., Benedict W.S., Lewis C.M. The Far Infrared Spectrum of H₂O // Phys. Rev. 1935. Vol. 47, № 12. P. 918–921.
- [116] Randall H.M. et al. The Far Infrared Spectrum of Water Vapor // Phys. Rev. 1937. Vol. 52, № 3. P. 160–174.
- [117] Golay M.J.E. A Pneumatic Infra-Red Detector // Rev. Sci. Instrum. 1947. Vol. 18, № 5. P. 357–362.
- [118] Hossain A., Rashid M.H. Pyroelectric detectors and their applications // IEEE Trans. Ind. Appl. 1991. Vol. 27, № 5. P. 824–829.
- [119] Beerman H.P. The Pyroelectric Detector of Infrared Radiation // IEEE Trans. Electron Devices. 1969. Vol. 16, № 6. P. 554–557.
- [120] Andrews D.H., Milton R.M., DeSorbo W. A Fast Superconducting Bolometer // J. Opt. Soc. Am. 1946. Vol. 36, № 9. P. 518–524.
- [121] Dobroiu A. et al. Terahertz imaging system based on a backward-wave oscillator // Appl. Opt. 2004. Vol. 43, № 30. P. 5637–5646.
- [122] Grüner G. Millimeter and Submillimeter Wave Spectroscopy of Solids. Germany: Springer-

Verlag Berlin Heidelberg, 1998. 287 p.

- [123] Petkie D.T. et al. A fast scan submillimeter spectroscopic technique // *Rev. Sci. Instrum.* 1997. Vol. 68, № 4. P. 1675–1683.
- [124] Gorshunov B. et al. Terahertz BWO-spectroscopy // *Int. J. Infrared Millimeter Waves.* 2005. Vol. 26, № 9. P. 1217–1240.
- [125] Volkov A.A., Prokhorov A.S. Broadband Dielectric Spectroscopy of Solids // *Radiophys. Quantum Electron.* 2003. Vol. 46, № 8–9. P. 657–665.
- [126] Hu L. et al. Experimental Demonstration of a 0.34-THz Backward-Wave Oscillator with a Sinusoidally Corrugated Slow-Wave Structure // *IEEE Trans. Electron Devices.* 2018. Vol. 65, № 6. P. 2149–2155.
- [127] Mineo M., Paoloni C. Corrugated rectangular waveguide tunable backward wave oscillator for terahertz applications // *IEEE Trans. Electron Devices.* 2010. Vol. 57, № 6. P. 1481–1484.
- [128] He W. et al. Generation of broadband terahertz radiation using a backward wave oscillator and pseudospark-sourced electron beam // *Appl. Phys. Lett.* 2015. Vol. 107, № 13. P. 133501.
- [129] San M.T. et al. Study on Operation of Oversized Backward Wave Oscillator for Broadband Terahertz Radiation // *IEEE Trans. Plasma Sci.* 2018. Vol. 46, № 3. P. 530–538.
- [130] Ding Y.J. Progress in terahertz sources based on difference-frequency generation [Invited] // *J. Opt. Soc. Am. B.* 2014. Vol. 31, № 11. P. 2696–2711.
- [131] Shibuya T. et al. Terahertz-wave generation using a 4-dimethylamino-N-methyl-4-stilbazolium tosylate crystal under intra-cavity conditions // *Appl. Phys. Express.* 2008. Vol. 1, № 4. P. 0420021–0420023.
- [132] Shi W. et al. Efficient, tunable, and coherent 0.18–5.27-THz source based on GaSe crystal // *Opt. Lett.* 2002. Vol. 27, № 16. P. 1454–1456.
- [133] Shi W., Ding Y.J. Tunable terahertz waves generated by mixing two copropagating infrared beams in GaP // *Opt. Lett.* 2005. Vol. 30, № 9. P. 1030–1032.
- [134] Liu P. et al. Cascaded difference frequency generation in organic crystal 4'-dimethylamino-N-methyl-4-stilbazolium tosylate // *Opt. Lett.* 2019. Vol. 44, № 20. P. 4965–4968.
- [135] Kawase K., Shikata J.I., Ito H. Terahertz wave parametric source // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2002. Vol. 35, № 3. P. R1–R14.
- [136] Piestrup M.A., Fleming R.N., Pantell R.H. Continuously tunable submillimeter wave source // *Appl. Phys. Lett.* 1975. Vol. 26, № 8. P. 418–421.
- [137] Wu M.-H. et al. Terahertz parametric generation and amplification from potassium titanyl phosphate in comparison with lithium niobate and lithium tantalate // *Opt. Express.* 2016.

Vol. 24, № 23. P. 25964–25973.

- [138] Kawase K. et al. Coherent tunable THz-wave generation from LiNbO₃ using grating coupler // *Appl. Phys. Lett.* 1996. Vol. 68, № 18. P. 2483–2485.
- [139] Kawase K. et al. Unidirectional radiation of widely tunable THz wave using a prism coupler under noncollinear phase matching condition // *Appl. Phys. Lett.* 1997. Vol. 71, № 6. P. 753–755.
- [140] Imai K. et al. Injection-seeded terahertz-wave parametric oscillator // *Appl. Phys. Lett.* 2001. Vol. 78, № 8. P. 1026–1028.
- [141] Imai K. et al. Achromatically injection-seeded terahertz-wave parametric // *Opt. Lett.* 2002. Vol. 27, № 24. P. 2173–2175.
- [142] Kawase K. et al. Injection-seeded terahertz-wave parametric generator with wide tunability // *Appl. Phys. Lett.* 2002. Vol. 80, № 2. P. 195–197.
- [143] Shikata J.I. et al. Tunable terahertz-wave parametric oscillators using LiNbO₃ and MgO : LiNbO₃ crystals // *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.* 2000. Vol. 48, № 4. P. 653–661.
- [144] Minamide H. et al. Kilowatt-peak terahertz-wave generation and sub-femtojoule terahertz-wave pulse detection based on nonlinear optical wavelength-conversion at room temperature // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2014. Vol. 35, № 1. P. 25–37.
- [145] Hayashi S. et al. Ultrabright continuously tunable terahertz-wave generation at room temperature // *Sci. Rep.* 2014. Vol. 4. P. 5045.
- [146] Guo R. et al. Highly sensitive coherent detection of terahertz waves at room temperature using a parametric process // *Appl. Phys. Lett.* 2008. Vol. 93, № 2. P. 021106.
- [147] Sato A. et al. Tabletop terahertz-wave parametric generator using a compact, diode-pumped Nd:YAG laser // *Rev. Sci. Instrum.* 2001. Vol. 72, № 9. P. 3501–3504.
- [148] Edwards T. et al. Compact source of continuously and widely-tunable terahertz radiation. // *Opt. Express.* 2006. Vol. 14, № 4. P. 1582–1589.
- [149] Hayashi S. et al. Output power enhancement of a palmtop terahertz-wave parametric generator // *Appl. Opt.* 2007. Vol. 46, № 1. P. 117–123.
- [150] Hayashi S. et al. Tunability enhancement of a terahertz-wave parametric generator pumped by a microchip Nd:YAG laser // *Appl. Opt.* 2009. Vol. 48, № 15. P. 2899–2902.
- [151] Mine S., Kawase K., Murate K. Real-time wide dynamic range spectrometer using a rapidly wavelength-switchable terahertz parametric source // *Opt. Lett.* 2021. Vol. 46, № 11. P. 2618–2621.
- [152] Zhang X.C. et al. Terahertz optical rectification from a nonlinear organic crystal // *Appl. Phys. Lett.* 1992. Vol. 61, № 26. P. 3080–3082.
- [153] Xu L., Zhang X.C., Auston D.H. Terahertz beam generation by femtosecond optical pulses

- in electro-optic materials // *Appl. Phys. Lett.* 1992. Vol. 61, № 15. P. 1784–1786.
- [154] Auston D.H. et al. Cherenkov radiation from femtosecond optical pulses in electro-optic media // *Phys. Rev. Lett.* 1984. Vol. 53, № 16. P. 1555–1558.
- [155] Rice A. et al. Terahertz optical rectification from $\langle 110 \rangle$ zinc-blende crystals // *Appl. Phys. Lett.* 1994. Vol. 64, № 11. P. 1324–1326.
- [156] Schneider A. et al. Generation of terahertz pulses through optical rectification in organic DAST crystals: theory and experiment // *J. Opt. Soc. Am. B.* 2006. Vol. 23, № 9. P. 1822.
- [157] Vicario C. et al. High efficiency THz generation in DSTMS, DAST and OH1 pumped by Cr:forsterite laser // *Opt. Express.* 2015. Vol. 23, № 4. P. 4573–4580.
- [158] Hauri C.P. et al. Strong-field single-cycle THz pulses generated in an organic crystal // *Appl. Phys. Lett.* 2011. Vol. 99, № 16. P. 161116.
- [159] Jang D. et al. Scalable terahertz generation by large-area optical rectification at 80 TW laser power // *Opt. Lett.* 2019. Vol. 44, № 22. P. 5634–5637.
- [160] Tripathi S.R. et al. Fiber-laser pumped, high-power terahertz wave source based on optical rectification of femtosecond pulses in 4-dimethylamino-n-methyl-4-stilbazolium tosylate crystal // *Appl. Phys. Express.* 2013. Vol. 6, № 7. P. 072703.
- [161] Ovchinnikov A. V et al. A source of THz radiation with electric field strength of more than 1 MV cm⁻¹ on the basis of 100-fs femtosecond Cr: forsterite laser system // *Quantum Electron.* 2018. Vol. 48, № 6. P. 554–558.
- [162] Agranat M.B. et al. Damage in a Thin Metal Film by High-Power Terahertz Radiation // *Phys. Rev. Lett.* 2018. Vol. 120, № 8. P. 85704.
- [163] Sitnikov D.S., Ilina I. V., Pronkin A.A. Experimental system for studying bioeffects of intense terahertz pulses with electric field strength up to 3.5 MV/cm // *Opt. Eng.* 2020. Vol. 59, № 6. P. 061613.
- [164] Sitnikov D.S. et al. System for Long-Term Irradiation of Living Cell Culture with High-Intensity THz Pulses // *High Temp.* 2020. Vol. 58, № 1. P. 36–43.
- [165] Vicario C. et al. Generation of 0.9-mJ THz pulses in DSTMS pumped by a Cr:Mg₂SiO₄ laser // *Opt. Lett.* 2014. Vol. 39, № 23. P. 6632–6635.
- [166] Gallot G., Grischkowsky D. Electro-optic detection of terahertz radiation // *J. Opt. Soc. Am. B.* 1999. Vol. 16, № 8. P. 1204–1212.
- [167] Cai Y. et al. Free-space electro-optics sampling of mid-infrared pulses // *Appl. Phys. Lett.* 1997. Vol. 71, № 10. P. 1285–1286.
- [168] Wu Q., Zhang X.-C. 7 terahertz broadband GaP electro-optic sensor // *Appl. Phys. Lett.* 1997. Vol. 70, № 14. P. 1784–1786.
- [169] Park S.-G., Melloch M.R., Weiner A.M. Comparison of terahertz waveforms measured by

- electro-optic and photoconductive sampling // *Appl. Phys. Lett.* 1998. Vol. 73, № 22. P. 3184–3186.
- [170] Nahata A., Weling A.S., Heinz T.F. A wideband coherent terahertz spectroscopy system using optical rectification and electro-optic sampling // *Appl. Phys. Lett.* 1996. Vol. 69, № 16. P. 2321–2323.
- [171] Auston D.H., Nuss M.C. Electrooptic Generation and Detection of Femtosecond Electrical Transients // *IEEE J. Quantum Electron.* 1988. Vol. 24, № 2. P. 184–197.
- [172] Auston D.H., Cheung K.P., Smith P.R. Picosecond photoconducting Hertzian dipoles // *Appl. Phys. Lett.* 1984. Vol. 45, № 3. P. 284–286.
- [173] Van Exter M., Fattinger C., Grischkowsky D. High-brightness terahertz beams characterized with an ultrafast detector // *Appl. Phys. Lett.* 1989. Vol. 55, № 4. P. 337–339.
- [174] Fattinger C., Grischkowsky D. Terahertz beams // *Appl. Phys. Lett.* 1989. Vol. 54, № 6. P. 490–492.
- [175] Burford N.M., El-Shenawee M.O. Review of terahertz photoconductive antenna technology // *Opt. Eng.* 2017. Vol. 56, № 1. P. 010901.
- [176] Lavrukhin D. V. et al. Shaping the spectrum of terahertz photoconductive antenna by frequency-dependent impedance modulation // *Semicond. Sci. Technol.* 2019. Vol. 34, № 3. P. 034005.
- [177] Smith P.R., Auston D.H., Nuss M.C. Subpicosecond Photoconducting Dipole Antennas // *IEEE J. Quantum Electron.* 1988. Vol. 24, № 2. P. 255–260.
- [178] Ponomarev D.S. et al. Enhanced terahertz emission from strain-induced InGaAs/InAlAs superlattices // *J. Appl. Phys.* 2019. Vol. 125, № 15. P. 151605.
- [179] Lavrukhin D. V et al. Strain-Induced InGaAs-Based Photoconductive Terahertz Antenna Detector // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2021. Vol. 11, № 4. P. 417–424.
- [180] Lepeshov S. et al. Enhancement of terahertz photoconductive antenna operation by optical nanoantennas // *Laser Photonics Rev.* 2017. Vol. 11, № 1. P. 1–20.
- [181] Berry C.W. et al. Significant performance enhancement in photoconductive terahertz optoelectronics by incorporating plasmonic contact electrodes // *Nat. Commun.* 2013. Vol. 4. P. 1622.
- [182] Yang S. et al. Offered by Photoconductive Emitters With Three-dimensional Contact Plasmonic Electrodes // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2014. Vol. 4, № 5. P. 575–581.
- [183] Lavrukhin D. V. et al. Terahertz photoconductive emitter with dielectric-embedded high-aspect-ratio plasmonic grating for operation with low-power optical pumps // *AIP Adv.* 2019. Vol. 9, № 1. P. 015112.

- [184] Jepsen P.U., Jacobsen R.H., Keiding S.R. Generation and detection of terahertz pulses from biased semiconductor antennas // *J. Opt. Soc. Am. B.* 1996. Vol. 13, № 11. P. 2424–2436.
- [185] Henri R. et al. Fabrication and characterization of an 8×8 terahertz photoconductive antenna array for spatially resolved time domain spectroscopy and imaging applications // *IEEE Access.* 2021. Vol. 9. P. 117691–117702.
- [186] Preu S. et al. Tunable, continuous-wave Terahertz photomixer sources and applications // *J. Appl. Phys.* 2011. Vol. 109, № 6. P. 061301.
- [187] McIntosh K.A. et al. Terahertz photomixing with diode lasers in low-temperature-grown GaAs // *Appl. Phys. Lett.* 1995. Vol. 67, № 26. P. 3844–3846.
- [188] Safian R., Ghazi G., Mohammadian N. Review of photomixing continuous-wave terahertz systems and current application trends in terahertz domain // *Opt. Eng.* 2019. Vol. 58, № 11. P. 110901.
- [189] Ironside D.J. et al. Enhancing THz generation in photomixers using a metamaterial approach // *Opt. Express.* 2019. Vol. 27, № 7. P. 9481–9494.
- [190] Feiginov M. Sub-terahertz and terahertz microstrip resonant-tunneling-diode oscillators // *Appl. Phys. Lett.* 2015. Vol. 107, № 12. P. 123504.
- [191] Asada M., Suzuki S., Kishimoto N. Resonant tunneling diodes for sub-terahertz and terahertz oscillators // *Jpn. J. Appl. Phys.* 2008. Vol. 47, № 6 PART 1. P. 4375–4384.
- [192] Maestrini A. et al. Multiplicateurs de fréquences et mélangeurs THz utilisant des diodes Schottky // *Comptes Rendus Phys.* 2010. Vol. 11, № 7–8. P. 480–495.
- [193] Maestrini A. et al. A 1.7-1.9 THz local oscillator source // *IEEE Microw. Wirel. Components Lett.* 2004. Vol. 14, № 6. P. 253–255.
- [194] Maestrini A. et al. Local oscillator chain for 1.55 to 1.75 THz with 100- μ W peak power // *IEEE Microw. Wirel. Components Lett.* 2005. Vol. 15, № 12. P. 871–873.
- [195] Chantry G.W. Long-wave optics. London, UK: Academic Press, 1984. 790 p.
- [196] Kumar S. Recent progress in terahertz quantum cascade lasers // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 2011. Vol. 17, № 1. P. 38–47.
- [197] Belkin M.A., Capasso F. New frontiers in quantum cascade lasers: High performance room temperature terahertz sources // *Phys. Scr.* 2015. Vol. 90, № 11. P. 118002.
- [198] Jung S. et al. Terahertz difference-frequency quantum cascade laser sources on silicon // *Optica.* 2017. Vol. 4, № 1. P. 38–43.
- [199] Li L. et al. Terahertz quantum cascade lasers with >1 W output powers // *Electron. Lett.* 2014. Vol. 50, № 4. P. 309–311.
- [200] Wang X. et al. High-power terahertz quantum cascade lasers with ~0.23 W in continuous wave mode // *AIP Adv.* 2016. Vol. 6, № 7. P. 075210.

- [201] Williams B.S. et al. High-power terahertz quantum-cascade lasers // *Electron. Lett.* 2006. Vol. 42, № 2. P. 89–91.
- [202] Fujita K. et al. Recent progress in terahertz difference-frequency quantum cascade laser sources // *Nanophotonics*. 2018. Vol. 7, № 11. P. 1795–1817.
- [203] Köhler R. et al. Terahertz semiconductor-heterostructure laser // *Nature*. 2002. Vol. 417, № 6885. P. 156–159.
- [204] Williams B.S. Terahertz quantum-cascade lasers // *Nat. Photonics*. 2007. Vol. 1, № 9. P. 517–525.
- [205] Idehara T. et al. The gyrotrons as promising radiation sources for THz sensing and imaging // *Appl. Sci.* 2020. Vol. 10, № 3. P. 980.
- [206] Kumar N. et al. A review on the sub-THz/THz gyrotrons // *Infrared Phys. Technol.* 2016. Vol. 76. P. 38–51.
- [207] Idehara T., Sabchevski S.P. Development and Application of Gyrotrons at FIR UF // *IEEE Trans. Plasma Sci.* 2018. Vol. 46, № 7. P. 2452–2459.
- [208] Idehara T. et al. Development of a second cyclotron harmonic gyrotron operating at submillimeter wavelengths // *Phys. Fluids B Plasma Phys.* 1992. Vol. 4, № 1. P. 267–273.
- [209] Tatematsu Y. et al. Development of second harmonic gyrotrons, gyrotron FU CW GII and gyrotron FU CW GIII, equipped with internal mode converters // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2014. Vol. 35, № 2. P. 169–178.
- [210] Saito T. et al. Performance test of CW 300 GHz gyrotron FU CW I // *Int. J. Infrared Millimeter Waves*. 2007. Vol. 28, № 12. P. 1063–1078.
- [211] Zapevalov V.E. et al. High-power oscillator of continuous electromagnetic radiation with a frequency of 300 GHz // *Radiophys. Quantum Electron.* 2007. Vol. 50, № 6. P. 420–428.
- [212] Glyavin M.Y. et al. Terahertz gyrotrons: State of the art and prospects // *J. Commun. Technol. Electron.* 2014. Vol. 59, № 8. P. 792–797.
- [213] Glyavin M.Y., Luchinin A.G., Golubiatnikov G.Y. Generation of 1.5-kW, 1-THz coherent radiation from a gyrotron with a pulsed magnetic field // *Phys. Rev. Lett.* 2008. Vol. 100, № 1. P. 015101.
- [214] Thumm M. State-of-the-Art of High-Power Gyro-Devices and Free Electron Masers // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2020. Vol. 41, № 1. P. 1–140.
- [215] Irizawa A. et al. Spatially resolved spectral imaging by a THz-FEL // *Condens. Matter*. 2020. Vol. 5, № 2. P. 38.
- [216] Kulipanov G.N. et al. Novosibirsk Free Electron Laser-Facility Description and Recent Experiments // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 5. P. 798–809.
- [217] Knyazev B.A. et al. Novosibirsk Free Electron Laser as a User Facility // *Phys. Procedia*.

2016. Vol. 84. P. 27–34.
- [218] Choporova Y.Y. et al. First Terahertz-range Experiments on Pump - Probe Setup at Novosibirsk free Electron Laser // *Phys. Procedia*. 2016. Vol. 84. P. 152–156.
- [219] Shevchenko O.A. et al. The Novosibirsk Free Electron Laser - Unique Source of Terahertz and Infrared Coherent Radiation // *Phys. Procedia*. 2016. Vol. 84. P. 13–18.
- [220] Shevchenko O.A. et al. Novosibirsk Free Electron Laser: Recent Achievements and Future Prospects // *Radiophys. Quantum Electron*. 2017. Vol. 59, № 8–9. P. 605–612.
- [221] Shevchenko O.A. et al. The Novosibirsk Free-Electron Laser Facility // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys*. 2019. Vol. 83, № 2. P. 228–231.
- [222] Ryzhii M. et al. Far-infrared photodetection in graphene nanoribbon heterostructures with black-phosphorus base layers // *Opt. Eng*. 2020. Vol. 60, № 8. P. 082002.
- [223] Boubanga-Tombet S. et al. Room-Temperature Amplification of Terahertz Radiation by Grating-Gate Graphene Structures // *Phys. Rev. X*. 2020. Vol. 10, № 3. P. 31004.
- [224] Ryzhii V. et al. Negative and positive terahertz and infrared photoconductivity in uncooled graphene // *Opt. Mater. Express*. 2019. Vol. 9, № 2. P. 585–597.
- [225] Gayduchenko I. et al. Tunnel field-effect transistors for sensitive terahertz detection // *Nat. Commun*. 2021. Vol. 12. P. 543.
- [226] Ryzhii V. et al. Far-infrared and terahertz emitting diodes based on graphene/black-P and graphene/MoS₂ heterostructures // *Opt. Express*. 2020. Vol. 28, № 16. P. 24136–24151.
- [227] Delgado-Notario J.A. et al. Asymmetric dual-grating gates graphene FET for detection of terahertz radiations // *APL Photonics*. 2020. Vol. 5, № 6. P. 066102.
- [228] Padmanabhan P. et al. A graphene-based magnetoplasmonic metasurface for actively tunable transmission and polarization rotation at terahertz frequencies // *Appl. Phys. Lett*. 2020. Vol. 116, № 22. P. 221107.
- [229] Morozov M. et al. Optical pumping in graphene-based terahertz/far-infrared superluminescent and laser heterostructures with graded-gap black-P_xAs_{1-x} absorbing-cooling layers // *Opt. Eng*. 2019. Vol. 56, № 6. P. 061606.
- [230] Ryzhii V. et al. Far-infrared photodetectors based on graphene / black-AsP heterostructures // *Opt. Express*. 2020. Vol. 28, № 2. P. 2480–2498.
- [231] Dubinov A.A. et al. Terahertz plasmon-emitting graphene-channel transistor // *Opto-Electronics Rev*. 2019. Vol. 27, № 4. P. 345–347.
- [232] Ryzhii M. et al. Concepts of infrared and terahertz photodetectors based on vertical graphene van der Waals and HgTe-CdHgTe heterostructures // *Opto-Electronics Rev*. 2019. Vol. 27, № 2. P. 219–223.
- [233] Ryzhii V. et al. Negative photoconductivity and hot-carrier bolometric detection of terahertz

- radiation in graphene-phosphorene hybrid structures // *J. Appl. Phys.* 2019. Vol. 125, № 15. P. 151608.
- [234] Зайцев К.И. Метод исследования диэлектрических характеристик сильно поглощающих сред и биологических тканей в терагерцовой импульсной спектроскопии. Диссертация на соискание ученой степени к.т.н. по специальности 05.11.07. МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2017. 170 p.
- [235] Nave R. Портал Hyperphysics [Electronic resource] // The interaction of radiation with mater. 2021. URL: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/mod3.html>.
- [236] Markelz A.G., Roitberg A., Heilweil E.J. Pulsed terahertz spectroscopy of DNA, bovine serum albumin and collagen between 0.1 and 2.0 THz // *Chem. Phys. Lett.* 2000. Vol. 320, № 1–2. P. 42–48.
- [237] Fischer B.M., Walther M., Uhd Jepsen P. Far-infrared vibrational modes of DNA components studied by terahertz time-domain spectroscopy // *Phys. Med. Biol.* 2002. Vol. 47, № 21. P. 3807–3814.
- [238] Markelz A.G. et al. Protein dynamical transition in terahertz dielectric response // *Chem. Phys. Lett.* 2007. Vol. 442, № 4–6. P. 413–417.
- [239] He Y. et al. Protein dynamical transition does not require protein structure // *Phys. Rev. Lett.* 2008. Vol. 101, № 17. P. 178103.
- [240] Lipps F., Levy S., Markelz A.G. Hydration and temperature interdependence of protein picosecond dynamics // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012. Vol. 14, № 18. P. 6375–6381.
- [241] Acbas G. et al. Optical measurements of long-range protein vibrations // *Nat. Commun.* 2014. Vol. 5, № 1. P. 3076.
- [242] Cao C. et al. Terahertz Spectroscopy Tracks Proteolysis by a Joint Analysis of Absorptance and Debye Model // *Biophys. J.* 2020. Vol. 119, № 12. P. 2469–2482.
- [243] Choi D.H. et al. Dielectric relaxation change of water upon phase transition of a lipid bilayer probed by terahertz time domain spectroscopy // *J. Chem. Phys.* 2012. Vol. 137, № 17. P. <https://doi.org/10.1063/1.4764304>.
- [244] Tielrooij K.J. et al. Dielectric Relaxation Dynamics of Water in Model Membranes Probed by Terahertz Spectroscopy // *Biophys. J.* 2009. Vol. 97, № 9. P. 2484–2492.
- [245] Wang W.N., Wang G., Zhang Y. Low-frequency vibrational modes of glutamine // *Chinese Phys. B.* 2011. Vol. 20, № 12. P. 123301.
- [246] Platte F., Heise H.M. Substance identification based on transmission THz spectra using library search // *J. Mol. Struct.* 2014. Vol. 1073, № C. P. 3–9.
- [247] Yamamoto K. et al. Terahertz time-domain spectroscopy of amino acids and polypeptides // *Biophys. J.* 2005. Vol. 89, № 3. P. L22–L24.

- [248] Kröll J., Darmo J., Unterrainer K. Terahertz optical activity of sucrose single-crystals // *Vib. Spectrosc.* 2007. Vol. 43, № 2. P. 324–329.
- [249] Singh R. et al. Improved mode assignment for molecular crystals through anisotropic terahertz spectroscopy // *J. Phys. Chem. A.* 2012. Vol. 116, № 42. P. 10359–10364.
- [250] Son J.H. Principle and applications of terahertz molecular imaging // *Nanotechnology.* 2013. Vol. 24, № 21. P. 214001.
- [251] Oh S.J. et al. Molecular imaging with terahertz waves // *Opt. Express.* 2011. Vol. 19, № 5. P. 4009–4016.
- [252] Møller U. et al. Terahertz reflection spectroscopy of Debye relaxation in polar liquids [Invited] // *J. Opt. Soc. Am. B.* 2009. Vol. 26, № 9. P. A113–A125.
- [253] Keutsch F.N. et al. Terahertz vibration-rotation-tunneling spectroscopy of water clusters in the translational band region of liquid water // *J. Chem. Phys.* 2001. Vol. 114, № 9. P. 3994–4004.
- [254] Fukasawa T. et al. Relation between dielectric and low-frequency Raman spectra of hydrogen-bond liquids // *Phys. Rev. Lett.* 2005. Vol. 95, № 19. P. 197802.
- [255] Popov I. et al. The mechanism of the dielectric relaxation in water // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. Vol. 18, № 20. P. 13941–13953.
- [256] Koeberg M. et al. THz dielectric relaxation of ionic liquid:water mixtures // *Chem. Phys. Lett.* 2007. Vol. 439, № 1–3. P. 60–64.
- [257] Cherkasova O.P. et al. THz Spectroscopy of Bound Water in Glucose: Direct Measurements from Crystalline to Dissolved State // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2020. Vol. 41, № 9. P. 1057–1068.
- [258] Bye J.W. et al. Analysis of the hydration water around bovine serum albumin using terahertz coherent synchrotron radiation // *J. Phys. Chem. A.* 2014. Vol. 118, № 1. P. 83–88.
- [259] Heyden M., Tobias D.J., Matyushov D. V. Terahertz absorption of dilute aqueous solutions // *J. Chem. Phys.* 2012. Vol. 137, № 23. P. 235103.
- [260] Jepsen P.U., Møller U., Merbold H. Investigation of aqueous alcohol and sugar solutions with reflection terahertz time-domain spectroscopy // *Opt. Express.* 2007. Vol. 15, № 22. P. 14717–14737.
- [261] Dodo T. et al. Submillimeter spectroscopic study of concentrated electrolyte solutions as high density plasma // *J. Chem. Phys.* 2002. Vol. 116, № 13. P. 5701–5707.
- [262] Asaki M.L.T. et al. Dielectric relaxation of electrolyte solutions using terahertz transmission spectroscopy // *J. Chem. Phys.* 2002. Vol. 116, № 19. P. 8469–8482.
- [263] Glancy P., Beyermann W.P. Dielectric properties of fully hydrated nucleotides in the terahertz frequency range // *J. Chem. Phys.* 2010. Vol. 132, № 24. P. 245102.

- [264] van Exter M., Fattinger C., Grischkowsky D. Terahertz time-domain spectroscopy of water vapor // *Opt. Lett.* 1989. Vol. 14, № 20. P. 1128–1130.
- [265] Tuchin V. V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics*, Third Edition. USA: SPIE Press, 2015. 988 p.
- [266] Reid C.B. *Spectroscopic methods for medical diagnosis at terahertz wavelengths*. University College of London, 2009. 194 p.
- [267] Berry E. et al. Do in vivo terahertz imaging systems comply with safety guidelines? // *J. Laser Appl.* 2003. Vol. 15, № 3. P. 192–198.
- [268] Mittleman D.M. Twenty years of terahertz imaging [Invited] // *Opt. Express*. 2018. Vol. 26, № 8. P. 9417–9431.
- [269] Mittleman D. *Sensing with terahertz radiation*. New York, USA: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003. 338 p.
- [270] Lequeux J. Early infrared astronomy // *J. Astron. Hist. Herit.* 2009. Vol. 12, № 2. P. 125–140.
- [271] Okuda H. A half century of infrared astronomy - a personal recollection of the footprints in Japan // *Proc. Japan Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2019. Vol. 95, № 9. P. 495–522.
- [272] Turon-Lacarrière P., Verdet J.P. Quelques données sur l'absorption atmosphérique de 50 μ à 1 mm // *Ann. d'Astrophysique*. 1968. Vol. 31. P. 237–243.
- [273] Gay J. Balloon Observations in the Submillimeter Region // *Astron. Astrophys.* 1970. Vol. 6. P. 327–348.
- [274] Hoffmann W.F., Frederick C.L. Far-Infrared Observation of the Galactic-Center Region at 100 Microns // *Astrophys. J.* 1969. Vol. 155, № 1. P. L9–L13.
- [275] Biraud Y. et al. Transmission atmosphérique et spectroscopie solaire en ondes submillimétriques // *Astron. Astrophys.* 1969. Vol. 2. P. 413–418.
- [276] Lequeux J. The Nature of the Far-Infrared Radiation of the Galactic Center // *Astrophys. J.* 1970. Vol. 159, № 2. P. 459–462.
- [277] Chokshi A., Tielens A.G.G.M., Hollenbach D. Dust Coagulation // *Astrophys. J.* 1993. Vol. 407. P. 806.
- [278] Walker C.K. *Terahertz Astronomy*. 1st Edition. Boca Raton, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2015. 367 p.
- [279] Boogert A.C.A., Gerakines P.A., Whittet D.C.B. Observations of the icy universe // *Annu. Rev. Astron. Astrophys.* 2015. Vol. 53, № 1. P. 541–581.
- [280] Roll P.G., Wilkinsonview D.T. Cosmic Background Radiation at 3.2 cm-Support for Cosmic Black-Body Radiation // *Phys. Rev. Lett.* 1966. Vol. 16, № 10. P. 405–407.
- [281] Dicke R.H. et al. Cosmic Black-Body Radiation // *Astrophys. J.* 1965. Vol. 142, № 1. P.

- 414–419.
- [282] Ratra B., Vogeley M.S. The Beginning and Evolution of the Universe // *Publ. Astron. Soc. Pacific*. 2008. Vol. 120, № 865. P. 235–265.
- [283] Mittleman D.M. et al. Gas sensing using terahertz time-domain spectroscopy // *Appl. Phys. B Lasers Opt.* 1998. Vol. 67, № 3. P. 379–390.
- [284] Hübers H.W. et al. High-resolution gas phase spectroscopy with a distributed feedback terahertz quantum cascade laser // *Appl. Phys. Lett.* 2006. Vol. 89, № 6. P. 061115.
- [285] Vaks V. et al. High-Resolution Terahertz Spectroscopy for Investigation of Energetic Materials During Their Thermal Decomposition // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2021. Vol. 11, № 4. P. 443–453.
- [286] Lykina A.A. et al. Terahertz high-resolution spectroscopy of thermal decomposition gas products of diabetic and non-diabetic blood plasma and kidney tissue pellets // *J. Biomed. Opt.* 2021. Vol. 26, № 04. P. 043008.
- [287] Vaks V. et al. Application of THz Fast Frequency Sweep Spectrometer for Investigation of Chemical Composition of Blood Content // *J. Infrared, Millim. Terahertz Waves*. 2020. Vol. 41, № 9. P. 1114–1120.
- [288] Dexheimer S.L. Terahertz spectroscopy: principles and applications. Boca Raton, USA: CRC Press, 2007. 300 p.
- [289] Ulbricht R. et al. Carrier dynamics in semiconductors studied with time-resolved terahertz spectroscopy // *Rev. Mod. Phys.* 2011. Vol. 83, № 2. P. 543–586.
- [290] Burdanova M.G. et al. Ultrafast, high modulation depth terahertz modulators based on carbon nanotube thin films // *Carbon N. Y.* 2021. Vol. 173. P. 245–252.
- [291] Zhukova E.S. et al. Vibrational states of a water molecule in a nano-cavity of beryl crystal lattice // *J. Chem. Phys.* 2014. Vol. 140, № 22. P. 224317.
- [292] Cervetti C. et al. Sub-Terahertz Frequency-Domain Spectroscopy Reveals Single-Grain Mobility and Scatter Influence of Large-Area Graphene // *Adv. Mater.* 2015. Vol. 27, № 16. P. 2635–2641.
- [293] Belyanchikov M.A. et al. Dielectric ordering of water molecules arranged in a dipolar lattice // *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11, № 1. P. 3927.
- [294] Hafez H.A. et al. Terahertz Nonlinear Optics of Graphene: From Saturable Absorption to High-Harmonics Generation // *Adv. Opt. Mater.* 2020. Vol. 8, № 3. P. 1900771.
- [295] Hafez H.A. et al. Extremely efficient terahertz high-harmonic generation in graphene by hot Dirac fermions // *Nature*. 2018. Vol. 561, № 7724. P. 507–511.
- [296] Mittleman D.M. et al. Optical properties of planar colloidal crystals: Dynamical diffraction and the scalar wave approximation // *J. Chem. Phys.* 1999. Vol. 111, № 1. P. 345–354.

- [297] Auston D.H. et al. Picosecond spectroscopy of semiconductors // *Solid. State. Electron.* 1978. Vol. 21, № 1. P. 147–150.
- [298] Pustogow A. et al. Low-Energy Excitations in Quantum Spin Liquids Identified by Optical Spectroscopy // *Phys. Rev. Lett.* 2018. Vol. 121, № 5. P. 056402.
- [299] Pustogow A. et al. Quantum spin liquids unveil the genuine Mott state // *Nat. Mater.* 2018. Vol. 17, № 9. P. 773–777.
- [300] Motovilov K.A. et al. Redox chemistry in the pigment eumelanin as a function of temperature using broadband dielectric spectroscopy // *RSC Adv.* 2019. Vol. 9, № 7. P. 3857–3867.
- [301] Buron J.D.J.D. et al. Graphene conductance uniformity mapping // *Nano Lett.* 2012. Vol. 12, № 10. P. 5074–5081.
- [302] Taday P.F. et al. Applications of terahertz spectroscopy to pharmaceutical sciences // *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2004. Vol. 362, № 1815. P. 351–364.
- [303] Watanabe Y. et al. Component spatial pattern analysis of chemicals using terahertz spectroscopic imaging // *Appl. Phys. Lett.* 2003. Vol. 83, № 4. P. 800–802.
- [304] Taday P.F. et al. Using Terahertz pulse spectroscopy to study the crystalline structure of a drug: A case study of the polymorphs of ranitidine hydrochloride // *J. Pharm. Sci.* 2003. Vol. 92, № 4. P. 831–838.
- [305] Shen Y.C. Terahertz pulsed spectroscopy and imaging for pharmaceutical applications: A review // *Int. J. Pharm.* 2011. Vol. 417, № 1–2. P. 48–60.
- [306] Afsah-Hejri L. et al. A Comprehensive Review on Food Applications of Terahertz Spectroscopy and Imaging // *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2019. Vol. 18, № 5. P. 1563–1621.
- [307] Shiraga K. et al. Evaluation of the hydration state of saccharides using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy // *Food Chem.* 2013. Vol. 140, № 1–2. P. 315–320.
- [308] Younus A. et al. A continuous millimeter-wave imaging scanner for art conservation science // *Adv. Opt. Technol.* 2011. Vol. 2011. P. 275682.
- [309] Abraham E. et al. Non-invasive investigation of art paintings by terahertz imaging // *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 2010. Vol. 100, № 3. P. 585–590.
- [310] Naftaly M., Vieweg N., Deninger A. Industrial applications of terahertz sensing: State of play // *Sensors.* 2019. Vol. 19, № 19. P. 4203.
- [311] Karpowicz N. et al. Fire damage on carbon fiber materials characterized by THz waves // *Proc. SPIE.* 2006. Vol. 6212. P. 62120G.
- [312] Amenabar I., Lopez F., Mendikute A. In introductory review to THz non-destructive testing

- of composite mater // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2013. Vol. 34, № 2. P. 152–169.
- [313] Tao Y.H., Fitzgerald A.J., Wallace V.P. Non-contact, non-destructive testing in various industrial sectors with terahertz technology // *Sensors*. 2020. Vol. 20, № 3. P. 712.
- [314] Ahi K., Shahbazmohamadi S., Asadizanjani N. Quality control and authentication of packaged integrated circuits using enhanced-spatial-resolution terahertz time-domain spectroscopy and imaging // *Opt. Lasers Eng.* 2018. Vol. 104. P. 274–284.
- [315] Ahi K. Mathematical modeling of THz point spread function and simulation of THz imaging systems // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2017. Vol. 7, № 6. P. 747–754.
- [316] True J. et al. Review of THz-based semiconductor assurance // *Opt. Eng.* 2021. Vol. 60, № 6. P. 060901.
- [317] Hu B.B., Nuss M.C. Imaging with terahertz waves // *Opt. Lett.* 1995. Vol. 20, № 16. P. 1716–1718.
- [318] Ishimaru A. *Electromagnetic Wave Propagation, Radiation, and Scattering: From Fundamentalstendon to Applications, Second Edition*. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons, 2017. 938 p.
- [319] Ashworth P.C. et al. Terahertz pulsed spectroscopy of freshly excised human breast cancer // *Opt. Express*. 2009. Vol. 17, № 15. P. 12444–12454.
- [320] Digirolamo M., Owens J.L. Water content of rat adipose tissue and isolated adipocytes in relation to cell size // *Am. J. Physiol.* 1976. Vol. 231, № 5. P. 1568–1572.
- [321] Lykina A.A. et al. Terahertz spectroscopy of diabetic and non-diabetic human blood plasma pellets // *J. Biomed. Opt.* 2021. Vol. 26, № 4. P. 043006.
- [322] Oh S.J. et al. Study of freshly excised brain tissues using terahertz imaging // *Biomed. Opt. Express*. 2014. Vol. 5, № 8. P. 2837–2842.
- [323] Lee K. et al. Measuring water contents in animal organ tissues using terahertz spectroscopic imaging // *Biomed. Opt. Express*. 2018. Vol. 9, № 4. P. 1582–1589.
- [324] Pickwell E. et al. Simulation of terahertz pulse propagation in biological systems // *Appl. Phys. Lett.* 2004. Vol. 84, № 12. P. 2190–2192.
- [325] Pickwell E. et al. Simulating the response of terahertz radiation to basal cell carcinoma using ex vivo spectroscopy measurements // *J. Biomed. Opt.* 2005. Vol. 10, № 6. P. 064021.
- [326] Walker G.C. et al. Modelling the propagation of terahertz radiation through a tissue simulating phantom // *Phys. Med. Biol.* 2004. Vol. 49, № 10. P. 1853–1864.
- [327] Pickwell E. et al. In vivo study of human skin using pulsed terahertz radiation // *Phys. Med. Biol.* 2004. Vol. 49, № 9. P. 1595–1607.
- [328] Ney M., Abdulhalim I. Modeling of reflectometric and ellipsometric spectra from the skin

- in the terahertz and submillimeter waves region // *J. Biomed. Opt.* 2011. Vol. 16, № 6. P. 067006.
- [329] Fitzgerald A.J., Pickwell-MacPherson E., Wallace V.P. Use of finite difference time domain simulations and Debye theory for modelling the terahertz reflection response of normal and tumour breast tissue // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 7. P. e99291.
- [330] Truong B.C.Q. et al. The Potential of the Double Debye Parameters to Discriminate between Basal Cell Carcinoma and Normal Skin // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 6. P. 990–998.
- [331] Hernandez-Cardoso G.G., Singh A.K., Castro-Camus E. Empirical comparison between effective medium theory models for the dielectric response of biological tissue at terahertz frequencies // *Appl. Opt.* 2020. Vol. 59, № 13. P. D6.
- [332] Markel V.A. Introduction to the Maxwell Garnett approximation: tutorial // *J. Opt. Soc. Am. A*. 2016. Vol. 33, № 7. P. 1244.
- [333] Yamaguchi S. et al. Origin and quantification of differences between normal and tumor tissues observed by terahertz spectroscopy // *Phys. Med. Biol.* 2016. Vol. 61, № 18. P. 6808–6820.
- [334] Torii T. et al. Measurements of glucose concentration in aqueous solutions using reflected THz radiation for applications to a novel sub-THz radiation non-invasive blood sugar measurement method // *Digit. Heal.* 2017. Vol. 3. P. 1–5.
- [335] Duponchel L. et al. Terahertz microfluidic sensor for in situ exploration of hydration shell of molecules // *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 2013. Vol. 123. P. 28–35.
- [336] Morozov N.A. *Periodic Systems of the Structure of Matter: The Theory of the Formation of Chemical Elements*. Moscow, Russia: Izdatelskii Dom Sytina, 1907.
- [337] Nagai M. et al. Terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy in water and biological solution // *Int. J. Infrared Millimeter Waves*. 2006. Vol. 27, № 4. P. 505–515.
- [338] Frohlich H. *Theory of dielectrics: dielectric constant and dielectric loss*. Clarendon Press, Oxford, UK, 1958. 192 p.
- [339] Funkner S. et al. Watching the low-frequency motions in aqueous salt solutions: The terahertz vibrational signatures of hydrated ions // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. Vol. 134, № 2. P. 1030–1035.
- [340] Vinh N.Q. et al. High-precision gigahertz-to-terahertz spectroscopy of aqueous salt solutions as a probe of the femtosecond-to-picosecond dynamics of liquid water // *J. Chem. Phys.* 2015. Vol. 142, № 16. P. 164502.
- [341] Penkov N. et al. Terahertz Spectroscopy Applied for Investigation of Water Structure // *J. Phys. Chem. B*. 2015. Vol. 119, № 39. P. 12664–12670.

- [342] Rønne C. et al. Investigation of the temperature dependence of dielectric relaxation in liquid water by THz reflection spectroscopy and molecular dynamics simulation // *J. Chem. Phys.* 1997. Vol. 107, № 14. P. 5319–5331.
- [343] Kindt J.T., Schmuttenmaer C.A. Far-infrared dielectric properties of polar liquids probed by femtosecond terahertz pulse spectroscopy // *J. Phys. Chem.* 1996. Vol. 100, № 24. P. 10373–10379.
- [344] Truong B.C.Q. et al. Debye parameter extraction for characterizing interaction of terahertz radiation with human skin tissue // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2013. Vol. 60, № 6. P. 1528–1537.
- [345] Buixaderas E., Kamba S., Petzelt J. Lattice dynamics and central-mode phenomena in the dielectric response of ferroelectrics and related materials // *Ferroelectrics*. 2004. Vol. 308, № 1. P. 131–192.
- [346] Cole K.S., Cole R.H. Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics // *J. Chem. Phys.* 1941. Vol. 9, № 4. P. 341–351.
- [347] Cole K.S., Cole R.H. Dispersion and absorption in dielectrics: II. Direct current characteristics // *J. Chem. Phys.* 1942. Vol. 10, № 2. P. 98–105.
- [348] Fang P.H. Cole-Cole Diagram and the Distribution of Relaxation Times. 1965. Vol. 42, № 10. P. 3411–3413.
- [349] Davidson D.W. Dielectric relaxation in liquids: I. The presentation of relaxation behavior // *Can. J. Chem.* 1961. Vol. 39, № 3. P. 571–594.
- [350] Havriliak S., Negami S. A complex plane analysis of α -dispersions in some polymer systems // *J. Polym. Sci. Part C Polym. Symp.* 1966. Vol. 14, № 1. P. 99–117.
- [351] Fokina I.N. et al. Impact of structure geometry on scattering in partially-ordered media // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2014. Vol. 149. P. 108–116.
- [352] Chen Y., Huang S., Pickwell-MacPherson E. Frequency-wavelet domain deconvolution for terahertz reflection imaging and spectroscopy // *Opt. Express*. 2010. Vol. 18, № 2. P. 1177–1190.
- [353] Arikawa T., Nagai M., Tanaka K. Characterizing hydration state in solution using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy // *Chem. Phys. Lett.* 2008. Vol. 457, № 1–3. P. 12–17.
- [354] Bykhovskaia M. et al. Prediction of DNA far-IR absorption spectra based on normal mode analysis // *Theor. Chem. Acc.* 2001. Vol. 106, № 1–2. P. 22–27.
- [355] Globus T.R. et al. Submillimeter-wave Fourier transform spectroscopy of biological macromolecules // *J. Appl. Phys.* 2002. Vol. 91, № 9. P. 6105–6113.
- [356] Globus T., Sizov I., Gelmont B. Sub-THz specific relaxation times of hydrogen bond

- oscillations in E.coli thioredoxin. *Molecular dynamics and statistical analysis // Faraday Discuss.* 2014. Vol. 171. P. 179–193.
- [357] Woolard D.L. et al. Submillimeter-wave phonon modes in DNA macromolecules // *Phys. Rev. E.* 2002. Vol. 65, № 5. P. 051903.
- [358] Globus T.R. et al. THz-spectroscopy of biological molecules // *J. Biol. Phys.* 2003. Vol. 29, № 2–3. P. 89–100.
- [359] Globus T. et al. Sub-millimetre wave absorption spectra of artificial RNA molecules // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2003. Vol. 36, № 11. P. 1314–1322.
- [360] Globus T. et al. Terahertz Fourier transform characterization of biological materials in a liquid phase // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2006. Vol. 39, № 15. P. 3405–3413.
- [361] Li X. et al. Terahertz absorption of DNA decamer duplex // *J. Phys. Chem. A.* 2008. Vol. 112, № 47. P. 12090–12096.
- [362] Xie Z. et al. Computational Modeling of the Molecular Complex Formed by DIPAIN II and T-2 Toxin // *IEEE Sens. J.* 2010. Vol. 10, № 3. P. 541–546.
- [363] Alijabbari N. et al. Molecular dynamics modeling of the sub-THz vibrational absorption of thioredoxin from E. coli // *J. Mol. Model.* 2012. Vol. 18, № 5. P. 2209–2218.
- [364] Sizov I. et al. Sub-THz spectroscopic characterization of vibrational modes in artificially designed DNA monocrystal // *Chem. Phys.* 2013. Vol. 425. P. 121–125.
- [365] Cheon H. et al. Terahertz molecular resonance of cancer DNA // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 37103.
- [366] Bykhovski A., Gelmont B. The influence of environment on terahertz spectra of biological molecules // *J. Phys. Chem. B.* 2010. Vol. 114, № 38. P. 12349–12357.
- [367] Globus T. et al. Sub-terahertz vibrational spectroscopy of ovarian cancer and normal control tissue for molecular diagnostic technology // *Cancer Biomarkers.* 2019. Vol. 24, № 4. P. 405–419.
- [368] Globus T. et al. Sub-terahertz vibrational spectroscopy for microRNA based diagnostic of ovarian cancer // *Converg. Sci. Phys. Oncol.* 2016. Vol. 2, № 4. P. 045001.
- [369] Cheon H. et al. Detection and manipulation of methylation in blood cancer DNA using terahertz radiation // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9, № 1. P. 6413.
- [370] Cheon H. et al. Effective demethylation of melanoma cells using terahertz radiation // *Biomed. Opt. Express.* 2019. Vol. 10, № 10. P. 4931–4941.
- [371] Jeong S.-Y. et al. Determining terahertz resonant peaks of biomolecules in aqueous environment // *Opt. Express.* 2020. Vol. 28, № 3. P. 3854–3863.
- [372] Tao Y.H. et al. Reproducibility of Terahertz Peaks in a Frozen Aqueous Solution of 5-Methylcytidine // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2021. Vol. 42, № 5. P. 588–606.

- [373] Okada K. et al. Label-free observation of micrometric inhomogeneity of human breast cancer cell density using terahertz near-field microscopy // *Photonics*. 2021. Vol. 8, № 5. P. 151.
- [374] Okada K. et al. Terahertz near-field microscopy of ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast // *JPhys Photonics*. 2020. Vol. 2, № 4. P. 044008.
- [375] Li Z. et al. Single cell imaging with near-field terahertz scanning microscopy // *Cell Prolif.* 2020. Vol. 53, № 4. P. e12788.
- [376] Joseph C.S. et al. Imaging of ex vivo nonmelanoma skin cancers in the optical and terahertz spectral regions // *J. Biophotonics*. 2014. Vol. 7, № 5. P. 295–303.
- [377] Fan B., Neel V.A., Yaroslavsky A.N. Multimodal imaging for nonmelanoma skin cancer margin delineation // *Lasers Surg. Med.* 2017. Vol. 49, № 3. P. 319–326.
- [378] Yaroslavsky A. et al. Delineating nonmelanoma skin cancer margins using terahertz and optical imaging // *J. Biomed. Photonics Eng.* 2017. Vol. 3, № 1. P. 010301.
- [379] Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection // *Health Phys.* 1998. Vol. 74, № 4. P. 494–522.
- [380] Scientific Committee on Emerging Newly Identified Health Risks. Opinion on potential health effects of exposure to electromagnetic fields // *Bioelectromagnetics*. 2015. Vol. 36, № 6. P. 480–484.
- [381] Wilmink G.J., Grundt J.E. Invited review article: Current state of research on biological effects of terahertz radiation // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2011. Vol. 32, № 10. P. 1074–1122.
- [382] Ramundo Orlando A., Gallerano G.P. Terahertz radiation effects and biological applications // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2009. Vol. 30, № 12. P. 1308–1318.
- [383] Kristensen T.T.L. et al. Modeling terahertz heating effects on water // *Opt. Express*. 2010. Vol. 18, № 5. P. 4727–4739.
- [384] Demidova E. V. et al. Impact of Terahertz Radiation on Stress-Sensitive Genes of E.Coli Cell // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2016. Vol. 6, № 3. P. 435–441.
- [385] Bogomazova A.N. et al. No DNA damage response and negligible genome-wide transcriptional changes in human embryonic stem cells exposed to terahertz radiation // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5, № 1. P. 7749.
- [386] Weightman P. Prospects for the study of biological systems with high power sources of terahertz radiation // *Phys. Biol.* 2012. Vol. 9, № 5. P. 053001.
- [387] Alexandrov L.B. et al. Evaluating the role of coherent delocalized phonon-like modes in DNA cyclization // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, № 1. P. 9731.

- [388] Preto J. Classical investigation of long-range coherence in biological systems // *Chaos*. 2016. Vol. 26, № 12. P. 123116.
- [389] Alexandrov B.S. et al. DNA breathing dynamics in the presence of a terahertz field // *Phys. Lett. Sect. A Gen. At. Solid State Phys.* 2010. Vol. 374, № 10. P. 1214–1217.
- [390] Chitanvis S.M. Can low-power electromagnetic radiation disrupt hydrogen bonds in dsDNA? // *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 2006. Vol. 33, № 18. P. 2740–2747.
- [391] Feldman Y. et al. Human skin as arrays of helical antennas in the millimeter and submillimeter wave range // *Phys. Rev. Lett.* 2008. Vol. 100, № 12. P. 128102.
- [392] Feldman Y. et al. The electromagnetic response of human skin in the millimetre and submillimetre wave range // *Phys. Med. Biol.* 2009. Vol. 54, № 11. P. 3341–3363.
- [393] Tripathi S.R. et al. Morphology of human sweat ducts observed by optical coherence tomography and their frequency of resonance in the terahertz frequency region // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5, № 1. P. 9071.
- [394] Tripathi S.R., Ben Ishai P., Kawase K. Frequency of the resonance of the human sweat duct in a normal mode of operation // *Biomed. Opt. Express*. 2018. Vol. 9, № 3. P. 1301–1308.
- [395] Betzalel N. et al. The AC conductivity of human sweat ducts as the dominant factor in the sub-THz reflection coefficient of skin // *J. Biophotonics*. 2021. Vol. 14, № 7. P. e202100027.
- [396] Betzalel N., Ben Ishai P., Feldman Y. The human skin as a sub-THz receiver – Does 5G pose a danger to it or not? // *Environ. Res.* 2018. Vol. 163, № December 2017. P. 208–216.
- [397] Yamazaki S. et al. Actin polymerization is activated by terahertz irradiation // *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8, № 1. P. 9990.
- [398] Fëdorov V.I. et al. The influence of terahertz radiation on the cell's genetic apparatus // *J. Opt. Technol.* 2017. Vol. 84, № 8. P. 509–514.
- [399] Il'ina I. V., Sitnikov D.S., Agranat M.B. State-of-the-Art of Studies of the Effect of Terahertz Radiation on Living Biological Systems // *High Temp.* 2018. Vol. 56, № 5. P. 789–810.
- [400] Bondar N.P. et al. Behavioral effect of terahertz waves in male mice // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. Vol. 145, № 4. P. 401–405.
- [401] Fedorov V.I., Weisman N.Y. The development of F1 progeny from mature egg cells after terahertz radiation of parental drosophila // *Biophysics (Oxf)*. 2017. Vol. 62, № 3. P. 460–465.
- [402] Kiseliiov V.K. et al. Application of terahertz lasers setup for the investigation of the influence of HHF-radiation on the tumor processes // *2012 37th International Conference on Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*. 2012. P. 13192556.

- [403] Hintzsche H., Stopper H. Effects of Terahertz Radiation on Biological Systems // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 2012. Vol. 42, № 22. P. 2408–2434.
- [404] Park G.-S. et al. Convergence of Terahertz Sciences in Biomedical Systems.
- [405] Angeluts A.A. et al. Study of terahertz-radiation-induced DNA damage in human blood leukocytes // *Quantum Electron.* 2014. Vol. 44, № 3. P. 247–251.
- [406] Zeni O. et al. Cytogenetic observations in human peripheral blood leukocytes following in vitro exposure to THz radiation: A pilot study // *Health Phys.* 2007. Vol. 92, № 4. P. 349–357.
- [407] Doria A. et al. THz radiation studies on biological systems at the ENEA FEL facility // *Infrared Phys. Technol.* 2004. Vol. 45, № 5–6. P. 339–347.
- [408] Fedorov V.I. The biological effects of terahertz laser radiation as a fundamental premise for designing diagnostic and treatment methods // *Biophysics (Oxf)*. 2017. Vol. 62, № 2. P. 324–330.
- [409] Korenstein-Ilan A. et al. Terahertz radiation increases genomic instability in human lymphocytes // *Radiat. Res.* 2008. Vol. 170, № 2. P. 224–234.
- [410] Wilmink G.J. et al. Terahertz radiation preferentially activates the expression of genes responsible for the regulation of plasma membrane properties // *2011 Int. Conf. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2011.
- [411] Echchgadda I. et al. Terahertz stimulate specific signaling pathways in human cells // *Int. Conf. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves, IRMMW-THz*. 2014.
- [412] Wilmink G.J. et al. Quantitative investigation of the bioeffects associated with terahertz radiation // *Proc. SPIE*. 2010. Vol. 7562. P. 75620L.
- [413] Titova L. V. et al. Intense THz pulses cause H2AX phosphorylation and activate DNA damage response in human skin tissue // *Biomed. Opt. Express*. 2013. Vol. 4, № 4. P. 559–568.
- [414] Kim K.T. et al. High-power femtosecond-terahertz pulse induces a wound response in mouse skin // *Sci. Rep.* 2013. Vol. 3, № 1. P. 2296.
- [415] Echchgadda I. et al. Effects of different terahertz frequencies on gene expression in human keratinocytes // *Opt. Interact. with Tissue Cells XXVI*. 2015. Vol. 9321. P. 93210Q.
- [416] Franchini V. et al. Study of the effects of 0.15 terahertz radiation on genome integrity of adult fibroblasts // *Environ. Mol. Mutagen.* 2018. Vol. 59, № 6. P. 476–487.
- [417] Borovkova M. et al. Investigation of terahertz radiation influence on rat glial cells // *Biomed. Opt. Express*. 2017. Vol. 8, № 1. P. 273–280.
- [418] Hintzsche H. et al. Terahertz Electromagnetic Fields (0.106 THz) Do Not Induce Manifest Genomic Damage In Vitro // *PLoS One*. 2012. Vol. 7, № 9. P. e46397.

- [419] Yaekashiwa N. et al. Investigation of the non-thermal effects of exposing cells to 70–300 GHz irradiation using a widely tunable source // *J. Radiat. Res.* 2018. Vol. 59, № 2. P. 116–121.
- [420] Bernier M. et al. Accurate Characterization of Resonant Samples in the Terahertz Regime Through a Technique Combining Time-Domain Spectroscopy and Kramers-Kronig Analysis // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2016. Vol. 6, № 3. P. 442–450.
- [421] Wang J. et al. THz in vivo measurements: the effects of pressure on skin reflectivity // *Biomed. Opt. Express.* 2018. Vol. 9, № 12. P. 6467–6476.
- [422] Sun Q. et al. In vivo estimation of water diffusivity in occluded human skin using terahertz reflection spectroscopy // *J. Biophotonics.* 2019. Vol. 12, № 2. P. e201800145.
- [423] Lindley-Hatcher H. et al. A Robust Protocol for In Vivo THz Skin Measurements // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2019. Vol. 40, № 9. P. 980–989.
- [424] Hoshina H. et al. Terahertz pulsed imaging of frozen biological tissues // *Appl. Phys. Lett.* 2009. Vol. 94, № 12. P. 123901.
- [425] Sim Y.C. et al. Temperature-dependent terahertz imaging of excised oral malignant melanoma // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2013. Vol. 3, № 4. P. 368–373.
- [426] Knyazkova A.I. et al. Paraffin-Embedded Prostate Cancer Tissue Grading Using Terahertz Spectroscopy and Machine Learning // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2020. Vol. 41, № 9. P. 1089–1104.
- [427] He Y. et al. Determination of terahertz permittivity of dehydrated biological samples // *Phys. Med. Biol.* 2017. Vol. 62, № 23. P. 8882–8893.
- [428] Guo L. et al. Observation of dehydration dynamics in biological tissues with terahertz digital holography [Invited] // *Appl. Opt.* 2017. Vol. 56, № 13. P. F173–F178.
- [429] Png G.M. et al. The impact of hydration changes in fresh bio-tissue on THz spectroscopic measurements // *Phys. Med. Biol.* 2008. Vol. 53, № 13. P. 3501–3517.
- [430] Fan S. et al. Gelatin embedding: A novel way to preserve biological samples for terahertz imaging and spectroscopy // *Phys. Med. Biol.* 2015. Vol. 60, № 7. P. 2703–2713.
- [431] Skoromets V. et al. Performance Comparison of Time-Domain Terahertz, Multi-terahertz, and Fourier Transform Infrared Spectroscopies // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2018. Vol. 39, № 12. P. 1249–1263.
- [432] Sizov F., Rogalski A. THz detectors // *Prog. Quantum Electron.* 2010. Vol. 34, № 5. P. 278–347.
- [433] Shurakov A., Lobanov Y., Goltzman G. Superconducting hot-electron bolometer: From the discovery of hot-electron phenomena to practical applications // *Supercond. Sci. Technol.* 2015. Vol. 29, № 2. P. 23001.

- [434] Han Q. et al. Highly sensitive hot electron bolometer based on disordered graphene // *Sci. Rep.* 2013. Vol. 3, № 1. P. 3533.
- [435] Mankova A.A. et al. Terahertz time-domain and FTIR spectroscopic study of interaction of α -chymotrypsin and protonated tris with 18-crown-6 // *Chem. Phys. Lett.* 2013. Vol. 560. P. 55–59.
- [436] Zhang Y. et al. A first principle study of terahertz (THz) spectra of acephate // *Chem. Phys. Lett.* 2008. Vol. 452, № 1–3. P. 59–66.
- [437] Ding T. et al. Terahertz and far infrared Spectroscopy of alanine-rich peptides having variable ellipticity // *Opt. Express.* 2010. Vol. 18, № 26. P. 27431–27444.
- [438] Martin P.C. Sum Rules, Kramers-Kronig Relations, and Transport Coefficients // *Media.* 1967. Vol. 161, № 1. P. 143–155.
- [439] Peiponen K.E. et al. Dispersion relations for evaluating the complex refractive index of medium without the information of its thickness // *Appl. Phys. Lett.* 2013. Vol. 102, № 18. P. 181110.
- [440] Tuononen H. et al. Using modified Kramers–Kronig relations to test transmission spectra of porous media in THz-TDS // *Opt. Lett.* 2010. Vol. 35, № 5. P. 631–633.
- [441] Silfsten P. et al. Kramers–Kronig analysis on the real refractive index of porous media in the terahertz spectral range // *Opt. Lett.* 2011. Vol. 36, № 5. P. 778–780.
- [442] Lucarini V. et al. *Kramers-Kronig Relations in Optical Materials Research.* Berlin, Germany, Germany: Springer, 2005.
- [443] Reid C.B. et al. Accuracy and resolution of THz reflection spectroscopy for medical imaging // *Phys. Med. Biol.* 2010. Vol. 55, № 16. P. 4825–4838.
- [444] Huang S. et al. Improved sample characterization in terahertz reflection imaging and spectroscopy: erratum // *Opt. Express.* 2009. Vol. 17, № 5. P. 3848–3854.
- [445] Fan S. et al. Calibration method to improve the accuracy of THz imaging and spectroscopy in reflection geometry // *Photonics Res.* 2016. Vol. 4, № 3. P. A29–A35.
- [446] Chen X. et al. A Robust Baseline and Reference Modification and Acquisition Algorithm for Accurate THz Imaging // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2017. Vol. 7, № 5. P. 493–501.
- [447] Zhang R. et al. Composite multiscale entropy analysis of reflective terahertz signals for biological tissues // *Opt. Express.* 2017. Vol. 25, № 20. P. 23669–23676.
- [448] Sun Q. et al. In vivo THz imaging of human skin: Accounting for occlusion effects // *J. Biophotonics.* 2018. Vol. 11, № 2. P. e201700111.
- [449] Grootendorst M.R. et al. Use of a handheld terahertz pulsed imaging device to differentiate benign and malignant breast tissue // *Biomed. Opt. Express.* 2017. Vol. 8, № 6. P. 2932–

2945.

- [450] Wilmink G.J. et al. Development of a compact terahertz time-domain spectrometer for the measurement of the optical properties of biological tissues // *J. Biomed. Opt.* 2011. Vol. 16, № 4. P. 047006.
- [451] Nazarov M.M., Cherkasova O.P., Shkurinov A.P. Study of the dielectric function of aqueous solutions of glucose and albumin by THz time-domain spectroscopy // *Quantum Electron.* 2016. Vol. 46, № 6. P. 488–495.
- [452] Grognot M., Gallot G. Quantitative measurement of permeabilization of living cells by terahertz attenuated total reflection // *Appl. Phys. Lett.* 2015. Vol. 107, № 10. P. 103702.
- [453] Zou Y. et al. Label-free monitoring of cell death induced by oxidative stress in living human cells using terahertz ATR spectroscopy // *Biomed. Opt. Express.* 2018. Vol. 9, № 1. P. 14–24.
- [454] Shiraga K. et al. Determination of the complex dielectric constant of an epithelial cell monolayer in the terahertz region // *Appl. Phys. Lett.* 2013. Vol. 102, № 5. P. 053702.
- [455] Xu J., Zhang X.-C. Circular involute stage // *Opt. Lett.* 2004. Vol. 29, № 17. P. 2082–2084.
- [456] Skorobogatiy M. Linear rotary optical delay lines // *Opt. Express.* 2014. Vol. 22, № 10. P. 11812–11833.
- [457] Guerboukha H. et al. Time Resolved Dynamic Measurements at THz Frequencies Using a Rotary Optical Delay Line // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 4. P. 564–572.
- [458] Wilk R. et al. Terahertz spectrometer operation by laser repetition frequency tuning // *J. Opt. Soc. Am. B.* 2011. Vol. 28, № 4. P. 592–595.
- [459] Kolano M. et al. Single-laser polarization-controlled optical sampling system for THz-TDS // *Int. Conf. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves, IRMMW-THz.* 2018. Vol. 2018-Sept, № 6. P. 1351–1354.
- [460] Baker R.D. et al. Self-triggered Asynchronous Optical Sampling Terahertz Spectroscopy using a Bidirectional Mode-locked Fiber Laser // *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8, № 1. P. 14802.
- [461] Kim Y., Yee D.-S. High-speed terahertz time-domain spectroscopy based on electronically controlled optical sampling // *Opt. Lett.* 2010. Vol. 35, № 22. P. 3715–3717.
- [462] Guerboukha H., Nallappan K., Skorobogatiy M. Exploiting k-space/frequency duality toward real-time terahertz imaging // *Optica.* 2018. Vol. 5, № 2. P. 109–116.
- [463] Stantchev R.I. et al. Compressed sensing with near-field THz radiation // *Optica.* 2017. Vol. 4, № 8. P. 989–992.
- [464] Stantchev R.I. et al. Noninvasive, near-field terahertz imaging of hidden objects using a single-pixel detector // *Sci. Adv.* 2016. Vol. 2, № 6. P. e1600190.

- [465] Vaks V.L. et al. Methods and instruments of high-resolution transient THz spectroscopy for diagnostics of socially important diseases // *Phys. Wave Phenom.* 2014. Vol. 22, № 3. P. 177–184.
- [466] Yablokov A.A. et al. Two-Frequency THz Spectroscopy for Analytical and Dynamical Research // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 5. P. 845–851.
- [467] Gompf B. et al. THz-micro-spectroscopy with backward-wave oscillators // *Infrared Phys. Technol.* 2006. Vol. 49, № 1–2. P. 128–132.
- [468] H. E., A. R., Haddad G.I. Recent advances in the performance of InP Gunn devices and GaAs TUNNETT diodes for the 100-300-GHz frequency range and above // *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.* 2000. Vol. 48, № 4. P. 626–631.
- [469] Roggenbuck A. et al. Coherent broadband continuous-wave terahertz spectroscopy on solid-state samples // *New J. Phys.* 2010. Vol. 12, № 4. P. 043017.
- [470] Nakanishi A. et al. Terahertz imaging with room-temperature terahertz difference-frequency quantum-cascade laser sources // *Opt. Express.* 2019. Vol. 27, № 3. P. 1884–1893.
- [471] Locatelli M. et al. Real-time terahertz digital holography with a quantum cascade laser // *Sci. Rep. Nature Publishing Group*, 2015. Vol. 5, № 1. P. 13566.
- [472] Graf M. et al. Terahertz range quantum well infrared photodetector // *Appl. Phys. Lett.* 2004. Vol. 84, № 4. P. 475–477.
- [473] Rakić A.D. et al. Sensing and imaging using laser feedback interferometry with quantum cascade lasers // *Appl. Phys. Rev.* 2019. Vol. 6, № 2. P. 021320.
- [474] Naftaly M. Metrology Issues and Solutions in THz Time-Domain Spectroscopy: Noise, Errors, Calibration // *IEEE Sens. J.* 2013. Vol. 13, № 1. P. 8–17.
- [475] Naftaly M., Dudley R. Methodologies for determining the dynamic ranges and signal-to-noise ratios of terahertz time-domain spectrometers // *Opt. Lett.* 2009. Vol. 34, № 8. P. 1213–1215.
- [476] Skorobogatiy M., Sadasivan J., Guerboukha H. Statistical Models for Averaging of the Pump-Probe Traces: Example of Denoising in Terahertz Time-Domain Spectroscopy // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2018. Vol. 8, № 3. P. 287–298.
- [477] Harris F.J. On the use of windows for harmonic analysis with the discrete Fourier transform // *Proc. IEEE.* 1978. Vol. 66, № 1. P. 51–83.
- [478] Vázquez-Cabo J. et al. Windowing of THz time-domain spectroscopy signals: A study based on lactose // *Opt. Commun.* 2016. Vol. 366. P. 386–396.
- [479] Galvão R.K.H. et al. Optimization of apodization functions in terahertz transient spectrometry // *Opt. Lett.* 2007. Vol. 32, № 20. P. 3008–3010.

- [480] Bafluelos-Saucedo M.A. Compensation of THz spectrum spurious oscillations by local apodization // 2015 IEEE Sensors - Proc. 2015.
- [481] Naylor D.A., Tahic M.K. Apodizing functions for Fourier transform spectroscopy // J. Opt. Soc. Am. A. 2007. Vol. 24, № 11. P. 3644–3648.
- [482] Pei J., Ye P., Xie W. Optimal wavelet analysis for THz-TDS pulse signals // Proc. SPIE. 2008. Vol. 7277. P. 727708.
- [483] Zaytsev K.I. et al. An approach for automatic construction of the wavelet-domain de-noising procedure for THz pulsed spectroscopy signal processing // J. Phys. Conf. Ser. 2014. Vol. 486, № 1. P. 012034.
- [484] Chernomyrdin N. V. et al. Wavelet-domain de-noising technique for THz pulsed spectroscopy // Proc. SPIE. 2014. Vol. 9216. P. 921611.
- [485] Dolganova I.N. et al. Nanoparticle-enabled experimentally trained wavelet-domain denoising method for optical coherence tomography // J. Biomed. Opt. 2018. Vol. 23, № 09. P. 091406.
- [486] Dong J. et al. Terahertz frequency-wavelet domain deconvolution for stratigraphic and subsurface investigation of art painting // Opt. Express. 2016. Vol. 24, № 23. P. 26972–26985.
- [487] Huang N.E., Wu Z. A Review on Hilbert-Huang Transform : Method and Its Applications // Rev. Geophys. 2008. Vol. 46, № 2007. P. 1–23.
- [488] Qiao X. et al. Mean estimation empirical mode decomposition method for terahertz time-domain spectroscopy de-noising // Appl. Opt. 2017. Vol. 56, № 25. P. 7138–7145.
- [489] Baughman W.E. et al. Observation of hydrofluoric acid burns on osseous tissues by means of terahertz spectroscopic imaging // IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol. 2013. Vol. 3, № 4. P. 387–394.
- [490] Wallace V.P. et al. Terahertz pulsed imaging of basal cell carcinoma ex vivo and in vivo // Br. J. Dermatol. 2004. Vol. 151, № 2. P. 424–432.
- [491] Takayanagi J. et al. High-resolution time-of-flight terahertz tomography using a femtosecond fiber laser // Opt. Express. 2009. Vol. 17, № 9. P. 7533–7539.
- [492] Guillet J.P. et al. Review of terahertz tomography techniques // J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves. 2014. Vol. 35, № 4. P. 382–411.
- [493] Lai W. et al. Antireflection self-reference method based on ultrathin metallic nanofilms for improving terahertz reflection spectroscopy // Opt. Express. 2018. Vol. 26, № 15. P. 19470–19478.
- [494] Pupeza I., Wilk R., Koch M. Highly accurate optical material parameter determination with THz time-domain spectroscopy // Opt. Express. 2007. Vol. 15, № 7. P. 4335–4350.

- [495] Kistenev Y. V. et al. Medical diagnosis using NIR and THz tissue imaging and machine learning methods // Proc. SPIE. 2019. № 10877. P. 108770J.
- [496] Yu L. et al. The medical application of terahertz technology in non-invasive detection of cells and tissues: opportunities and challenges // RSC Adv. 2019. Vol. 9, № 17. P. 9354–9363.
- [497] Chen H. et al. High-sensitivity in vivo THz transmission imaging of early human breast cancer in a subcutaneous xenograft mouse model // Opt. Express. 2011. Vol. 19, № 22. P. 21552–21562.
- [498] Masson J.B. et al. Ionic contrast terahertz near-field imaging of axonal water fluxes // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2006. Vol. 103, № 13. P. 4808–4812.
- [499] Joseph C.S. et al. Terahertz spectroscopy of intrinsic biomarkers for non-melanoma skin cancer // Proc. SPIE. 2009. Vol. 7215. P. 72150I.
- [500] Son J.H. Terahertz electromagnetic interactions with biological matter and their applications // J. Appl. Phys. 2009. Vol. 105, № 10. P. 102033.
- [501] Sy S. et al. Terahertz spectroscopy of liver cirrhosis: Investigating the origin of contrast // Phys. Med. Biol. 2010. Vol. 55, № 24. P. 7587–7596.
- [502] Park J.Y. et al. Terahertz spectroscopic imaging of a rabbit VX2 hepatoma model // J. Appl. Phys. 2011. Vol. 109, № 6. P. 064704.
- [503] Ney M., Abdulhalim I. Comprehensive Monte-Carlo simulator for optimization of imaging parameters for high sensitivity detection of skin cancer at the THz // Proc. SPIE. 2016. Vol. 9721. P. 97210W.
- [504] Doradla P. et al. Detection of colon cancer by continuous-wave terahertz polarization imaging technique // J. Biomed. Opt. 2013. Vol. 18, № 9. P. 090504.
- [505] Woodward R.M. et al. Terahertz pulse imaging in reflection geometry of skin tissue using time-domain analysis techniques // Proc. SPIE. 2002. Vol. 4625. P. 160–169.
- [506] Lipscomb D. et al. Determination of the optical properties of melanin-pigmented human skin equivalents using terahertz time-domain spectroscopy // Proc. SPIE. 2013. Vol. 8585. P. 85850F.
- [507] Vilagosh Z., Lajevardipour A., Wood A.W. Modelling terahertz radiation absorption and reflection with computational phantoms of skin and associated appendages // Proceedings SPIE. 2018. Vol. 10456. P. 104560M.
- [508] Vilagosh Z., Lajevardipour A., Wood A.W. Computational phantom study of frozen melanoma imaging at 0.45 terahertz // Bioelectromagnetics. 2019. Vol. 40, № 2. P. 118–127.
- [509] Lajevardipour A. et al. Estimation of dielectric values for tissue water in the Terahertz range

- // Bioelectromagnetics. 2016. Vol. 37, № 8. P. 563–567.
- [510] Woodward R.M. et al. Terahertz pulse imaging in reflection geometry of human skin cancer and skin tissue // *Phys. Med. Biol.* 2002. Vol. 47, № 21. P. 3853–3863.
- [511] Woodward R.M. et al. Terahertz Pulse Imaging of ex vivo Basal Cell Carcinoma // *J. Invest. Dermatol.* 2003. Vol. 120, № 1. P. 72–78.
- [512] Wallace V.P. et al. Terahertz pulsed spectroscopy of human basal cell carcinoma // *Appl. Spectrosc.* 2006. Vol. 60, № 10. P. 1127–1133.
- [513] Zaytsev K.I. et al. Medical diagnostics using terahertz pulsed spectroscopy // *J. Phys. Conf. Ser.* 2014. Vol. 486, № 1. P. 012014.
- [514] Kong K. et al. Diagnosis of tumors during tissue-conserving surgery with integrated autofluorescence and Raman scattering microscopy // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2013. Vol. 110, № 38. P. 15189–15194.
- [515] Takamori S. et al. Optimization of multimodal spectral imaging for assessment of resection margins during Mohs micrographic surgery for basal cell carcinoma // *Biomed. Opt. Express.* 2015. Vol. 6, № 1. P. 98–111.
- [516] Sim Y.C. et al. Terahertz imaging of excised oral cancer at frozen temperature // *Biomed. Opt. Express.* 2013. Vol. 4, № 8. P. 1413–1421.
- [517] Wickham J. The new surgery // *Br. Med. J.* 1987. Vol. 195. P. 1581–1582.
- [518] Reid C.B. et al. Terahertz pulsed imaging of freshly excised human colonic tissues // *Phys. Med. Biol.* 2011. Vol. 56, № 14. P. 4333–4353.
- [519] Wahaia F. et al. Terahertz absorption and reflection imaging of carcinoma-affected colon tissues embedded in paraffin // *J. Mol. Struct.* 2016. Vol. 1107. P. 214–219.
- [520] Doradla P., Joseph C., Giles R.H. Terahertz endoscopic imaging for colorectal cancer detection: Current status and future perspectives // *World J. Gastrointest. Endosc.* 2017. Vol. 9, № 8. P. 346.
- [521] Hou D. et al. Terahertz spectroscopic investigation of human gastric normal and tumor tissues // *Phys. Med. Biol.* 2014. Vol. 59, № 18. P. 5423–5440.
- [522] Ji Y. Bin et al. Feasibility of terahertz reflectometry for discrimination of human early gastric cancers // *Biomed. Opt. Express.* 2015. Vol. 6, № 4. P. 1398–1406.
- [523] Formanek F., Brun M.-A., Yasuda A. Contrast improvement of terahertz images of thin histopathologic sections // *Biomed. Opt. Express.* 2011. Vol. 2, № 1. P. 58–64.
- [524] Chen H. et al. The diagnosis of human liver cancer by using THz fiber-scanning near-field imaging // *Chinese Phys. Lett.* 2013. Vol. 30, № 3. P. 030702.
- [525] Duan F. et al. Feasibility of terahertz imaging for discrimination of human hepatocellular carcinoma // *World J. Gastrointest. Endosc. Gastrointest Oncol.* 2019. Vol. 11, № 2. P. 153–

- [526] Konnikova M.R. et al. Malignant and benign thyroid nodule differentiation through the analysis of blood plasma with terahertz spectroscopy // *Biomed. Opt. Express*. 2021. Vol. 12, № 2. P. 1020–1035.
- [527] Crane N.J. et al. Evidence of a heterogeneous tissue oxygenation: renal ischemia / reperfusion injury in a large animal // *J. Biomed. Opt.* 2003. Vol. 18, № 3. P. 035001.
- [528] Ito K., Katagiri T., Matsuura Y. Analysis of transmission properties of terahertz hollow-core optical fiber by using time-domain spectroscopy and application for remote spectroscopy // *J. Opt. Soc. Am. B*. 2017. Vol. 34, № 1. P. 60–65.
- [529] Fitzgerald A.J. et al. Terahertz pulsed imaging of human breast tumors // *Radiology*. 2006. Vol. 239, № 2. P. 533–540.
- [530] Fitzgerald A.J. Classification of terahertz-pulsed imaging data from excised breast tissue // *J. Biomed. Opt.* 2012. Vol. 17, № 1. P. 016005.
- [531] Truong B.C.Q. et al. Concentration analysis of breast tissue phantoms with terahertz spectroscopy // *Biomed. Opt. Express*. 2018. Vol. 9, № 3. P. 1334–1349.
- [532] Cassar Q. et al. Pilot study of freshly excised breast tissue response in the 300 – 600 GHz range // *Biomed. Opt. Express*. 2018. Vol. 9, № 7. P. 2930–2942.
- [533] Png G.M. et al. Terahertz spectroscopy of snap-frozen human brain tissue: An initial study // *Electron. Lett.* 2009. Vol. 45, № 7. P. 343–345.
- [534] Meng K. et al. Terahertz pulsed spectroscopy of paraffin-embedded brain glioma // *J. Biomed. Opt.* 2014. Vol. 19, № 7. P. 077001.
- [535] Yamaguchi S. et al. Brain tumor imaging of rat fresh tissue using terahertz spectroscopy // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6, № 1. P. 30124.
- [536] Wu L. et al. Study of in vivo brain glioma in a mouse model using continuous-wave terahertz reflection imaging // *Biomed. Opt. Express*. 2019. Vol. 10, № 8. P. 3953–3962.
- [537] Ji Y. Bin et al. Terahertz reflectometry imaging for low and high grade gliomas // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6, № 1. P. 36040.
- [538] McIntyre G.I. Cell hydration as the primary factor in carcinogenesis: A unifying concept // *Med. Hypotheses*. 2006. Vol. 66, № 3. P. 518–526.
- [539] Hefti M. et al. Fluorescence-Guided Surgery for Malignant Glioma: A Review on Aminolevulinic Acid Induced Protoporphyrin IX Photodynamic Diagnostic in Brain Tumors // *Curr. Med. Imaging*. 2010. Vol. 6, № 4. P. 254–258.
- [540] Chang E.F. et al. Multiinstitutional validation of the University of California at San Francisco low-grade glioma prognostic scoring system: Clinical article // *J. Neurosurg.* 2009. Vol. 111, № 2. P. 203–210.

- [541] Noh T., Mustroph M., Golby A.J. Intraoperative Imaging for High-Grade Glioma Surgery // *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2021. Vol. 32, № 1. P. 47–54.
- [542] Schatlo B. et al. Outcomes after combined use of intraoperative MRI and 5-aminolevulinic acid in high-grade glioma surgery // *Neuro. Oncol.* 2015. Vol. 17, № 12. P. 1560–1567.
- [543] Senft C. et al. Intraoperative MRI guidance and extent of resection in glioma surgery: A randomised, controlled trial // *Lancet Oncol.* 2011. Vol. 12, № 11. P. 997–1003.
- [544] Pustogarov N. et al. Hiding in the Shadows: CPOX Expression and 5-ALA Induced Fluorescence in Human Glioma Cells // *Mol. Neurobiol. Molecular Neurobiology*, 2017. Vol. 54, № 7. P. 5699–5708.
- [545] Potapov A.A. et al. Laser biospectroscopy and 5-ALA fluorescence navigation as a helpful tool in the meningioma resection // *Neurosurg. Rev. Neurosurgical Review*, 2016. Vol. 39, № 3. P. 437–447.
- [546] Chen B. et al. Gross total resection of glioma with the intraoperative fluorescence- Guidance of fluorescein sodium // *Int. J. Med. Sci.* 2012. Vol. 9, № 8. P. 708–714.
- [547] Goryaynov S.A. et al. Fluorescence Diagnosis in Neurooncology: Retrospective Analysis of 653 Cases // *Front. Oncol.* 2019. Vol. 9. P. 830.
- [548] Kiseleva E.B. et al. Optical coefficients as tools for increasing the optical coherence tomography contrast for normal brain visualization and glioblastoma detection // *Neurophotonics*. 2019. Vol. 6, № 3. P. 035003.
- [549] Vasefi F. et al. Review of the potential of optical technologies for cancer diagnosis in neurosurgery: a step toward intraoperative neurophotonics // *Neurophotonics*. 2016. Vol. 4, № 1. P. 011010.
- [550] Orringer D.A. et al. Rapid intraoperative histology of unprocessed surgical specimens via fibre-laser-based stimulated Raman scattering microscopy // *Nat. Biomed. Eng.* 2017. Vol. 1, № 2. P. 0027.
- [551] Jermyn M. et al. Raman spectroscopy detects distant invasive brain cancer cells centimeters beyond MRI capability in humans // *Biomed. Opt. Express*. 2016. Vol. 7, № 12. P. 5129–5137.
- [552] Genina E.A. et al. Optical properties of brain tissues at the different stages of glioma development in rats: pilot study // *Biomed. Opt. Express*. 2019. Vol. 10, № 10. P. 5182–5197.
- [553] Feng X. et al. Multimodal quantitative imaging of brain cancer in cultured cells // *Biomed. Opt. Express*. 2019. Vol. 10, № 8. P. 4237–4248.
- [554] Wirth D. et al. Demeclocycline as a contrast agent for detecting brain neoplasms using confocal microscopy // *Phys. Med. Biol.* 2015. Vol. 60, № 7. P. 3003–3011.

- [555] Kircher M.F. et al. A brain tumor molecular imaging strategy using a new triple-modality MRI-photoacoustic-Raman nanoparticle // *Nat. Med.* 2012. Vol. 18, № 5. P. 829–834.
- [556] Shikunova I.A. et al. Neurosurgery contact handheld probe based on sapphire shaped crystal // *J. Cryst. Growth.* 2017. Vol. 457. P. 265–269.
- [557] Knobloch P. et al. Medical THz imaging: an investigation of histo-pathological samples // *Phys. Med. Biol.* 2002. Vol. 47, № 21. P. 3875–3884.
- [558] Sun Y., Fischer B.M., Pickwell-MacPherson E. Effects of formalin fixing on the terahertz properties of biological tissues // *J. Biomed. Opt.* 2009. Vol. 14, № 6. P. 064017.
- [559] Oh S.J. et al. Measurement depth enhancement in terahertz imaging of biological tissues // *Opt. Express.* 2013. Vol. 21, № 18. P. 21299–21305.
- [560] Kolesnikov A.S. et al. In vitro terahertz monitoring of muscle tissue dehydration under the action of hyperosmotic agents // *Quantum Electron.* 2014. Vol. 44, № 7. P. 633–640.
- [561] Kolesnikov A.S. et al. THz monitoring of the dehydration of biological tissues affected by hyperosmotic agents // *Phys. Wave Phenom.* 2014. Vol. 22, № 3. P. 169–176.
- [562] He Y. et al. Freeze-thaw hysteresis effects in terahertz imaging of biomedical tissues // *Biomed. Opt. Express.* 2016. Vol. 7, № 11. P. 4711–4717.
- [563] Zakharova N. et al. *Neuroimaging of Traumatic Brain Injury.* USA: Springer, 2014. 154 p.
- [564] Tewari P. et al. In vivo terahertz imaging of rat skin burns // *J. Biomed. Opt.* 2012. Vol. 17, № 4. P. 040503.
- [565] Taylor Z.D. et al. Reflective terahertz imaging of porcine skin burns // *Opt. Lett.* 2008. Vol. 33, № 11. P. 1258–1260.
- [566] Dutta M., Bhalla A.S., Guo R. THz Imaging of Skin Burn: Seeing the Unseen - An Overview // *Adv. Wound Care.* 2016. Vol. 5, № 8. P. 338–348.
- [567] Fan S. et al. In vivo terahertz reflection imaging of human scars during and after the healing process // *J. Biophotonics.* 2017. Vol. 10, № 9. P. 1143–1151.
- [568] Shiraga K. et al. Quantitative characterization of hydration state and destructuring effect of monosaccharides and disaccharides on water hydrogen bond network // *Carbohydr. Res.* 2015. Vol. 406. P. 46–54.
- [569] Cherkasova O.P. et al. Analysis of blood plasma at terahertz frequencies // *Opt. Spectrosc.* 2016. Vol. 120, № 1. P. 50–57.
- [570] Heyden M. et al. Long-range influence of carbohydrates on the solvation dynamics of water - Answers from terahertz absorption measurements and molecular modeling simulations // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Vol. 130, № 17. P. 5773–5779.
- [571] Leitner D.M., Gruebele M., Havenith M. Solvation dynamics of biomolecules: Modeling and terahertz experiments // *HFSP J.* 2008. Vol. 2, № 6. P. 314–323.

- [572] Cherkasova O.P., Nazarov M.M., Shkurinov A.P. Investigation of bovine serum albumin glycation by THz spectroscopy // *Saratov Fall Meet. 2015 Third Int. Symp. Opt. Biophotonics Seventh Finnish-Russian Photonics Laser Symp.* 2016. Vol. 9917. P. 991706.
- [573] Fanali G. et al. Human serum albumin: From bench to bedside // *Mol. Aspects Med.* 2012. Vol. 33, № 3. P. 209–290.
- [574] Mernea M. et al. In vitro human serum albumin glycation monitored by Terahertz spectroscopy // *Opt. Quantum Electron.* 2015. Vol. 47, № 4. P. 961–973.
- [575] Cherkasova O.P. et al. Application of time-domain THz spectroscopy for studying blood plasma of rats with experimental diabetes // *Phys. Wave Phenom.* 2014. Vol. 22, № 3. P. 185–188.
- [576] Chen H. et al. Quantify Glucose Level in Freshly Diabetic's Blood by Terahertz Time-Domain Spectroscopy // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2018. Vol. 39, № 4. P. 399–408.
- [577] Cherkasova O.P. et al. Studying human and animal skin optical properties by terahertz time-domain spectroscopy // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 2016. Vol. 80, № 4. P. 479–483.
- [578] Hernandez-Cardoso G.G. et al. Terahertz imaging demonstrates its diagnostic potential and reveals a relationship between cutaneous dehydration and neuropathy for diabetic foot syndrome patients // *Sci. Rep.* 2022. Vol. 12. P. 3110.
- [579] Bennett D.B. et al. Terahertz sensing in corneal tissues // *J. Biomed. Opt.* 2011. Vol. 16, № 5. P. 057003.
- [580] Ke L. et al. Terahertz spectroscopy analysis of human corneal sublayers // *J. Biomed. Opt.* 2021. Vol. 26, № 4. P. 043011.
- [581] Chen A. et al. Non-contact terahertz spectroscopic measurement of the intraocular pressure through corneal hydration mapping // *Biomed. Opt. Express.* 2021. Vol. 12, № 6. P. 3438–3449.
- [582] Bennett D. et al. Assessment of corneal hydration sensing in the terahertz band: in vivo results at 100 GHz // *J. Biomed. Opt.* 2012. Vol. 17, № 9. P. 097008.
- [583] Iomdina E.N. et al. Study of transmittance and reflectance spectra of the cornea and the sclera in the THz frequency range // *J. Biomed. Opt.* 2016. Vol. 21, № 9. P. 097002.
- [584] Norn M.S. Desiccation of the precorneal film. I. Corneal wetting-time // *Acta Ophthalmol.* 1969. Vol. 47, № 4. P. 865–880.
- [585] Craig J.P., Tomlinson A. Importance of the Lipid Layer in Human Tear Film Stability and Evaporation // *Optom. Vis. Sci.* 1997. Vol. 74, № 1. P. 8–13.
- [586] Böhnke M., Masters B.R. Confocal microscopy of the cornea // *Prog. Retin. Eye Res.* 1999. Vol. 18, № 5. P. 553–628.

- [587] Taylor Z.D. et al. THz and mm-Wave Sensing of Corneal Tissue Water Content: Electromagnetic Modeling and Analysis // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2015. Vol. 5, № 2. P. 170–183.
- [588] Sung S. et al. Preliminary results of non-contact THz imaging of cornea // *Proc. SPIE.* 2015. Vol. 9362. P. 93620C.
- [589] John T. Corneal Endothelial Transplant DSEAK, DMEK and DLEK. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishing (P) Ltd., 2010. 458 p.
- [590] Bashkatov A.N. et al. Measurement of tissue optical properties in the context of tissue optical clearing // *J. Biomed. Opt.* 2018. Vol. 23, № 9. P. 091416.
- [591] Guerboukha H. et al. Planar Porous Components for Low-Loss Terahertz Optics // *Adv. Opt. Mater.* 2019. Vol. 7, № 15. P. 1900236.
- [592] Tuchin V.V., Zhu D., Genina E.A. Handbook of Tissue Optical Clearing. New Prospects in Optical Imaging. 1st Edition. Boca Raton, USA: CRC Press, 2022. 682 p.
- [593] Oh S.J. et al. Nanoparticle-enabled terahertz imaging for cancer diagnosis // *Opt. Express.* 2009. № 5. P. 3469–3475.
- [594] Moldosanov K.A. et al. Terahertz-to-infrared converter based on metal nanoparticles: potentialities of applications // *J. Nanophotonics.* 2012. Vol. 6, № 6. P. 061716.
- [595] Grischkowsky D. et al. Far-infrared time-domain spectroscopy with terahertz beams of dielectrics and semiconductors // *J. Opt. Soc. Am. B.* 1990. Vol. 7, № 10. P. 2006–2015.
- [596] Podzorov A., Gallot G. Low-loss polymers for terahertz applications // *Appl. Opt.* 2008. Vol. 47, № 18. P. 3254–3257.
- [597] Saha S.C. et al. Imprinted terahertz artificial dielectric quarter wave plates // *Opt. Express.* 2010. Vol. 18, № 12. P. 12168–12175.
- [598] Anthony J. et al. THz propagation in kagome hollow-core microstructured fibers // *Opt. Express.* 2011. Vol. 19, № 19. P. 18470–18478.
- [599] Rogalin V.E., Kaplunov I.A., Kropotov G.I. Optical Materials for the THz Range // *Opt. Spectrosc.* 2018. Vol. 125, № 6. P. 1053–1064.
- [600] Vinokurov N.A., Shevchenko O.A. Free electron lasers and their development at the Budker Institute of Nuclear Physics, SB RAS // *Physics-Uspekhi.* 2018. Vol. 61, № 5. P. 435.
- [601] Garin B.M. et al. Dielectric Properties and Applications of CVD Diamonds in the Millimeter and Terahertz Ranges // *Recent Advances in Broadband Dielectric Spectroscopy. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics / ed. Kalmykov Y.P. Dordrecht, Germany: Springer, 2012. P. 79–87.*
- [602] Yashchyshyn Y. et al. Emerging ferroelectric ceramic-polymer composites for sub-THz tunable devices // *2013 Asia-Pacific Microwave Conference Proceedings (APMC).* 2013.

- P. 206–208.
- [603] Nakanishi A., Satozono H. Terahertz optical properties of wood–plastic composites // *Appl. Opt.* 2020. Vol. 59, № 4. P. 904–909.
- [604] Nazarov M.M. et al. Terahertz response of a polymer composite with high concentration of silicon micro- and nanoparticles // *Nanotechnologies*. 2015. Vol. 10, № 3–4. P. 247–253.
- [605] Wichmann M. et al. Terahertz plastic compound lenses // *Appl. Opt.* 2013. Vol. 52, № 18. P. 4186–4191.
- [606] Feng T. et al. Highly Flexible Ti₃C₂T_x MXene/Waterborne Polyurethane Membranes for High-Efficiency Terahertz Modulation with Low Insertion Loss // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2023. P. DOI: 10.1021/acsami.2c21031.
- [607] Guerboukha H. et al. Silk Foam Terahertz Waveguides // *Adv. Opt. Mater.* 2014. Vol. 2, № 12. P. 1181–1192.
- [608] Zhang J., Grischkowsky D. Terahertz Time-Domain Spectroscopy Study of Silica Aerogels and Adsorbed Molecular Vapors // *J. Phys. Chem. B*. 2004. Vol. 108, № 48. P. 18590–18600.
- [609] Tuniz A. et al. Drawn metamaterials with plasmonic response at terahertz frequencies // *Appl. Phys. Lett.* 2010. Vol. 96, № 19. P. 191101.
- [610] Komlenok M.S. et al. Fabrication and electrodynamic properties of all-carbon terahertz planar metamaterials by laser direct-write // *Laser Phys. Lett.* 2018. Vol. 15, № 3. P. 036201.
- [611] Burdanova M.G. et al. Giant Negative Terahertz Photoconductivity in Controllably Doped Carbon Nanotube Networks // *ACS Photonics*. 2019. Vol. 6, № 4. P. 1058–1066.
- [612] Kovalev S. et al. Electrical tunability of terahertz nonlinearity in graphene // *Sci. Adv.* 2021. Vol. 7, № 15. P. eabf9809.
- [613] Burdanova M.G. et al. A Review of the Terahertz Conductivity and Photoconductivity of Carbon Nanotubes and Heteronanotubes // *Adv. Opt. Mater.* 2021. Vol. 9, № 24. P. 2101042.
- [614] Katyba G.M. et al. Tunable THz flat zone plate based on stretchable single-walled carbon nanotube thin film // *Optica*. 2023. Vol. 10, № 1. P. 53–61.
- [615] Gallot G. et al. Terahertz waveguides // *J. Opt. Soc. Am. B*. 2000. Vol. 17, № 5. P. 851–863.
- [616] Wallis R. et al. Investigation of hollow cylindrical metal terahertz waveguides suitable for cryogenic environments // *Opt. Express*. 2016. Vol. 24, № 26. P. 30002–30014.
- [617] Melinger J.S. et al. Guided-wave terahertz spectroscopy of molecular solids [Invited] // *J. Opt. Soc. Am. B*. 2009. Vol. 26, № 9. P. A79–A89.

- [618] Jamison S.P., McGowan R.W., Grischkowsky D. Single-mode waveguide propagation and reshaping of sub-ps terahertz pulses in sapphire fibers // *Appl. Phys. Lett.* 2000. Vol. 76, № 15. P. 1987–1989.
- [619] Chen L.-J. et al. Low-loss subwavelength plastic fiber for terahertz waveguiding // *Opt. Lett.* 2006. Vol. 31, № 3. P. 308–310.
- [620] Bowden B., Harrington J.A., Mitrofanov O. Silver/polystyrene-coated hollow glass waveguides for the transmission of terahertz radiation // *Opt. Lett.* 2007. Vol. 32, № 20. P. 2945–2947.
- [621] Hidaka T. et al. Ferroelectric PVDF cladding terahertz waveguide // *Proc. SPIE.* 2003. Vol. 5135. P. 70–77.
- [622] Nazarov M.M. et al. Eight-Capillary Cladding THz Waveguide With Low Propagation Losses and Dispersion // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2018. Vol. 8, № 2. P. 183–191.
- [623] Nazarov M. et al. A flexible terahertz waveguide for delivery and filtering of quantum-cascade laser radiation // *Appl. Phys. Lett.* 2018. Vol. 113, № 13. P. 131107.
- [624] Ma T. et al. 3D Printed Hollow-Core Terahertz Optical Waveguides with Hyperuniform Disordered Dielectric Reflectors // *Adv. Opt. Mater.* 2016. Vol. 4, № 12. P. 2085–2094.
- [625] Li J. et al. 3D printed hollow core terahertz Bragg waveguides with defect layers for surface sensing applications // *Opt. Express.* 2017. Vol. 25, № 4. P. 4126–4144.
- [626] Wang K., Mittleman D.M. Metal wires for terahertz wave guiding // *Nature.* 2004. Vol. 432. P. 376–379.
- [627] Mbonye M., Mendis R., Mittleman D.M. A terahertz two-wire waveguide with low bending loss // *Appl. Phys. Lett.* 2009. Vol. 95, № 23. P. 233506.
- [628] Habib M.S. et al. A prism based magnifying hyperlens with broad-band imaging // *Appl. Phys. Lett.* 2017. Vol. 110, № 10. P. 101106.
- [629] Simovski C.R. et al. Wire Metamaterials: Physics and Applications // *Adv. Mater.* 2012. Vol. 24, № 31. P. 4229–4248.
- [630] Mendis R., Grischkowsky D. Undistorted guided-wave propagation of subpicosecond terahertz pulses // *Opt. Lett.* 2001. Vol. 26, № 11. P. 846–848.
- [631] Ma T. et al. Graded index porous optical fibers – dispersion management in terahertz range // *Opt. Express.* 2015. Vol. 23, № 6. P. 7856–7869.
- [632] Bao H. et al. Dielectric tube waveguides with absorptive cladding for broadband, low-dispersion and low loss THz guiding // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. P. 7620.
- [633] Bowden B., Harrington J.A., Mitrofanov O. Fabrication of terahertz hollow-glass metallic waveguides with inner dielectric coatings // *J. Appl. Phys.* 2008. Vol. 104, № 09. P. 093110.

- [634] Markov A., Skorobogatiy M. Hybrid plasmonic terahertz fibers for sensing applications // *Appl. Phys. Lett.* 2013. Vol. 103, № 18. P. 181118.
- [635] Markov A., Skorobogatiy M. Two-wire terahertz fibers with porous dielectric support // *Opt. Express.* 2013. Vol. 21, № 10. P. 12728–12743.
- [636] Mitrofanov O. et al. Reducing Transmission Losses in Hollow THz Waveguides // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2011. Vol. 1, № 1. P. 124–132.
- [637] Ung B. et al. Polymer microstructured optical fibers for terahertz wave guiding // *Opt. Express.* 2011. Vol. 19, № 26. P. B848–B861.
- [638] Skorobogatiy M., Dupuis A. Ferroelectric all-polymer hollow Bragg fibers for terahertz guidance // *Appl. Phys. Lett.* 2007. Vol. 90, № 11. P. 113514.
- [639] Ebendorff-Heidepriema H. et al. Extruded high-NA microstructured polymer optical fibre // *Opt. Commun.* 2007. Vol. 273, № 1. P. 133–137.
- [640] Dupuis A. et al. Transmission measurements of hollow-core THz Bragg fibers // *J. Opt. Soc. Am. B.* 2011. Vol. 28, № 4. P. 896–907.
- [641] Antonov P.I., Kurlov V.N. A review of developments in shaped crystal growth of sapphire by the Stepanov and related techniques // *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* 2002. Vol. 44, № 2. P. 63–122.
- [642] Abrosimov N. V., Kurlov V.N., Rossolenko S.N. Automated control of Czochralski and shaped crystal growth processes using weighing techniques // *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* 2003. Vol. 46, № 1–2. P. 1–57.
- [643] Dolganova I.N. et al. Optimization of sapphire capillary needles for interstitial and percutaneous laser medicine // *J. Biomed. Opt.* 2019. Vol. 24, № 12. P. 128001.
- [644] Dolganova I.N. et al. Microfocusing sapphire capillary needle for laser surgery and therapy: Fabrication and characterization // *J. Biophotonics.* 2020. Vol. 13, № 10. P. e202000164.
- [645] Dolganova I.N. et al. Proof of concept for the sapphire scalpel combining tissue dissection and optical diagnosis // *Lasers Surg. Med.* 2022. Vol. 54, № 4. P. 611–622.
- [646] Katyba G.M. et al. Technological aspects of manufacturing terahertz photonic crystal waveguides based on sapphire shaped crystals // *Proc. SPIE.* 2017. Vol. 10333. P. 103331C.
- [647] Chen H. et al. Review and perspective: Sapphire optical fiber cladding development for harsh environment sensing // *Appl. Phys. Rev.* 2018. Vol. 5, № 1. P. 011102.
- [648] Chernomyrdin N.V. et al. Terahertz transmission-mode near-field scanning-probe microscope based on a flexible sapphire fiber // *Proc. SPIE.* 2019. Vol. 11088. P. 110880I.
- [649] Katyba G.M. et al. Step-index sapphire fiber and its application in a terahertz near-field microscopy // *Proc. SPIE.* 2019. Vol. 11164. P. 111640G.
- [650] Minin O.V. et al. Electromagnetic field localization behind a mesoscale dielectric particle

- with a broken symmetry: a photonic hook phenomenon // Proc. SPIE. 2020. Vol. 11368. P. 1136807.
- [651] Yue L. et al. Photonic hook: a new curved light beam // Opt. Lett. 2018. Vol. 43, № 4. P. 771–774.
- [652] Lavi Y., Millo A., Katzir A. Thin ordered bundles of infrared-transmitting silver halide fibers // Appl. Phys. Lett. 2005. Vol. 87, № 24. P. 241122.
- [653] Keiser G. et al. Review of diverse optical fibers used in biomedical research and clinical practice // J. Biomed. Opt. 2014. Vol. 19, № 8. P. 080902.
- [654] Doronina-Amitonova L. V. et al. Multicolor in vivo brain imaging with a microscope-coupled fiber-bundle microprobe // Appl. Phys. Lett. 2012. Vol. 101, № 23. P. 233702.
- [655] Krishnamurthi M. et al. A magnifying fiber element with an array of sub-wavelength Ge/ZnSe pixel waveguides for infrared imaging // Appl. Phys. Lett. 2012. Vol. 101, № 2. P. 021108.
- [656] Pochechuev M.S., Fedotov I.V., Zheltikov A.M. An ultraslim all-fiber microendoscope for depth-resolved imaging // Appl. Phys. Lett. 2018. Vol. 113, № 19. P. 191102.
- [657] Yu J.-Y. et al. Fiber-bundle illumination: realizing high-degree time-multiplexed multifocal multiphoton microscopy with simplicity // Sci. Rep. 2018. Vol. 8. P. 14863.
- [658] Orth A. et al. Optical fiber bundles: Ultra-slim light field imaging probes // Sci. Adv. 2019. Vol. 5, № 4. P. eaav1555.
- [659] Szabo V. et al. Spatially Selective Holographic Photoactivation and Functional Fluorescence Imaging in Freely Behaving Mice with a Fiberscope // Neuron. 2014. Vol. 84, № 6. P. 1157–1169.
- [660] Yetisen A.K. et al. Nanotechnology in textiles // ACS Nano. 2016. Vol. 10, № 3. P. 3042–3068.
- [661] Doronina-Amitonova L.V. et al. Neurophotonics: optical methods to study and control the brain // Physics-Uspekhi. 2015. Vol. 58, № 4. P. 345–364.
- [662] Kim D. et al. Toward a miniature endomicroscope: pixelation-free and diffraction-limited imaging through a fiber bundle // Opt. Lett. 2014. Vol. 39, № 7. P. 1921–1924.
- [663] McClatchey K., Reiten M.T., Cheville R.A. Time resolved synthetic aperture terahertz impulse imaging // Appl. Phys. Lett. 2001. Vol. 79, № 27. P. 4485–4487.
- [664] Petrov N.V. et al. Terahertz phase retrieval imaging in reflection // Opt. Lett. 2020. Vol. 45, № 15. P. 4168–4171.
- [665] Choporova Y.Y., Knyazev B.A., Mitkov M.S. Classical holography in the terahertz range: Recording and reconstruction techniques // IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol. 2015. Vol. 5, № 5. P. 836–844.

- [666] Stantchev R.I., Li K., Pickwell-MacPherson E. Rapid imaging of pulsed terahertz radiation with spatial light modulators and neural networks // *ACS Photonics*. 2021. Vol. 8, № 11. P. 3150–3155.
- [667] Luk'yanchuk B.S. et al. Refractive index less than two: photonic nanojets yesterday, today and tomorrow [Invited] // *Opt. Mater. Express*. 2017. Vol. 7, № 6. P. 1820–1847.
- [668] Pham H.H.N. et al. Enhancement of spatial resolution of terahertz imaging systems based on terajet generation by dielectric cube // *APL Photonics*. 2017. Vol. 2, № 5. P. 056106.
- [669] van der Valk N.C.J., Planken P.C.M. Electro-optic detection of subwavelength terahertz spot sizes in the near field of a metal tip // *Appl. Phys. Lett.* 2002. Vol. 81, № 9. P. 1558–1560.
- [670] Chen H.-T., Kersting R., Cho G.C. Terahertz imaging with nanometer resolution // *Appl. Phys. Lett.* 2003. Vol. 83, № 15. P. 3009–3011.
- [671] Huber A.J. et al. Terahertz near-field nanoscopy of mobile carriers in single semiconductor nanodevices // *Nano Lett.* 2008. Vol. 8, № 11. P. 3766–3770.
- [672] Awad M., Nagel M., Kurz H. Tapered Sommerfeld wire terahertz near-field imaging // *Appl. Phys. Lett.* 2009. Vol. 94, № 5. P. 051107.
- [673] Schade U. et al. THz near-field imaging employing synchrotron radiation // *Appl. Phys. Lett.* 2004. Vol. 84, № 8. P. 1422–1424.
- [674] Ishihara K. et al. Terahertz-wave near-field imaging with subwavelength resolution using surface-wave-assisted bow-tie aperture // *Appl. Phys. Lett.* 2006. Vol. 89, № 20. P. 201120.
- [675] Macfaden A.J. et al. 3 μm aperture probes for near-field terahertz transmission microscopy // *Appl. Phys. Lett.* 2014. Vol. 104, № 1. P. 011110.
- [676] Kim S., Murakami H., Tonouchi M. Transmission-type laser THz emission microscope using a solid immersion lens // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 2008. Vol. 14, № 2. P. 498–504.
- [677] Okada K. et al. Scanning laser terahertz near-field reflection imaging system // *Appl. Phys. Express*. 2019. Vol. 12, № 12. P. 122005.
- [678] Chiu C.-M. et al. All-terahertz fiber-scanning near-field microscopy // *Opt. Lett.* 2009. Vol. 34, № 7. P. 1084–1086.
- [679] Mansfield S.M.M., Kino G.S.S. Solid immersion microscope // *Appl. Phys. Lett.* 1990. Vol. 57, № 24. P. 2615–2616.
- [680] Milster T.D., Jo J.S., Hirota K. Roles of propagating and evanescent waves in solid immersion lens systems // *Appl. Opt.* 1999. Vol. 38, № 23. P. 5046–5057.
- [681] Born M., Wolf E. *Principles of Optics*. 6th Edition. Pergamon, USA, 1980.
- [682] Liu C., Park S.-H. Numerical analysis of an annular-aperture solid immersion lens // *Opt.*

- Lett. 2004. Vol. 29, № 15. P. 1742–1744.
- [683] Baba M. et al. Aberrations and allowances for errors in a hemisphere solid immersion lens for submicron-resolution photoluminescence microscopy // *J. Appl. Phys.* 1999. Vol. 85, № 9. P. 6923–6925.
- [684] Karrai K., Lorenz X., Novotny L. Enhanced reflectivity contrast in confocal solid immersion lens microscopy // *Appl. Phys. Lett.* 2000. Vol. 77, № 21. P. 3459–3461.
- [685] Helseth L.E. Roles of polarization, phase and amplitude in solid immersion lens systems // *Opt. Commun.* 2001. Vol. 191, № 3–6. P. 161–172.
- [686] Ippolito S.B., Goldberg B.B., Ünlü M.S. Theoretical analysis of numerical aperture increasing lens microscopy // *J. Appl. Phys.* 2005. Vol. 97, № 5. P. 053105.
- [687] Kim W.-C. et al. Effects of optical variables in immersion lens-based near-field optics // *Opt. Express.* 2008. Vol. 16, № 18. P. 13933–13948.
- [688] Yoon Y.-J. et al. Feasibility study of the application of radially polarized illumination to solid immersion lens-based near-field optics // *Opt. Lett.* 2009. Vol. 34, № 13. P. 1961–1963.
- [689] Huang K., Li Y. Realization of a subwavelength focused spot without a longitudinal field component in a solid immersion lens-based system // *Opt. Lett.* 2011. Vol. 36, № 18. P. 3536–3538.
- [690] Serrels K.A. et al. Solid immersion lens applications for nanophotonic devices // *J. Nanophotonics.* 2008. Vol. 2, № 1. P. 021854.
- [691] Wang L. et al. Solid immersion microscopy images cells under cryogenic conditions with 12 nm resolution // *Commun. Biol.* 2019. Vol. 2. P. 74.
- [692] Brunner R. et al. Diffraction-based solid immersion lens // *J. Opt. Soc. Am. A.* 2004. Vol. 21, № 7. P. 1186–1191.
- [693] Moon H. et al. A study on the realization of high resolution solid immersion lens-based near-field imaging optics by use of an annular aperture // *Opt. Express.* 2010. Vol. 18, № 16. P. 17533–17541.
- [694] Ippolito S.B.B. et al. Angular spectrum tailoring in solid immersion microscopy for circuit analysis // *Appl. Phys. Lett.* 2008. Vol. 92, № 10. P. 101109.
- [695] Lerman G.M.G.M., Israel A., Lewis A. Applying solid immersion near-field optics to Raman analysis of strained silicon thin films // *Appl. Phys. Lett.* 2006. Vol. 89, № 22. P. 223122.
- [696] Fletcher D.A. et al. Near-field infrared imaging with a microfabricated solid immersion lens // *Appl. Phys. Lett.* 2000. Vol. 77, № 14. P. 2109–2111.
- [697] Challener W.A. et al. Miniature planar solid immersion mirror with focused spot less than

- a quarter wavelength // *Opt. Express*. 2005. Vol. 13, № 18. P. 7189–7197.
- [698] Fan W. et al. Three-dimensional all-dielectric metamaterial solid immersion lens for subwavelength imaging at visible frequencies // *Sci. Adv.* 2016. Vol. 2, № 8. P. e1600901.
- [699] Ghislain L.P. et al. Near-field photolithography with a solid immersion lens // *Appl. Phys. Lett.* 1999. Vol. 74, № 4. P. 501–503.
- [700] Lee W.-S. et al. Experimental demonstration of line-width modulation in plasmonic lithography using a solid immersion lens-based active nano-gap control // *Appl. Phys. Lett.* 2015. Vol. 106, № 5. P. 051111.
- [701] Tessier G. et al. Back side thermal imaging of integrated circuits at high spatial resolution // *Appl. Phys. Lett.* 2007. Vol. 90, № 17. P. 171112.
- [702] Ippolito S.B.B. et al. High spatial resolution subsurface thermal emission microscopy // *Appl. Phys. Lett.* 2004. Vol. 84, № 22. P. 4529–4531.
- [703] Peng C. et al. Near-field optical recording using a planar solid immersion mirror // *Appl. Phys. Lett.* 2005. Vol. 87, № 15. P. 151105.
- [704] Terris B.D.D. et al. Near-field optical data storage using a solid immersion lens // *Appl. Phys. Lett.* 1994. Vol. 65, № 4. P. 388–390.
- [705] Terris B.D., Mamin H.J., Rugar D. Near-field optical data storage // *Appl. Phys. Lett.* 1996. Vol. 68, № 2. P. 141–143.
- [706] Model near field calculations for optical data storage readout // *Appl. Phys. Lett.* 1997. Vol. 70, № 1. P. 31–33.
- [707] Michaels C.A. Surface-sensitive Raman microscopy with total internal reflection illumination // *J. Raman Spectrosc.* 2010. Vol. 41, № 12. P. 1670–1677.
- [708] Poweleit C.D. et al. Raman imaging of patterned silicon using a solid immersion lens // *Appl. Phys. Lett.* 1998. Vol. 73, № 16. P. 2275–2277.
- [709] Köklü F.H. et al. Widefield subsurface microscopy of integrated circuits // *Opt. Express*. 2008. Vol. 16, № 13. P. 9501.
- [710] Pomeroy J.W., Kuball M. Solid immersion lenses for enhancing the optical resolution of thermal and electroluminescence mapping of GaN-on-SiC transistors // *J. Appl. Phys.* 2015. Vol. 118, № 14. P. 144501.
- [711] Wu Q. et al. Imaging spectroscopy of two-dimensional excitons in a narrow GaAs/AlGaAs quantum well // *Phys. Rev. Lett.* 1999. Vol. 83, № 13. P. 2652–2655.
- [712] Hadfield R.H. et al. Submicrometer photoresponse mapping of nanowire superconducting single-photon detectors // *Appl. Phys. Lett.* 2007. Vol. 91, № 24. P. 241108.
- [713] Vamivakas A.N. et al. Strong extinction of a far-field laser beam by a single quantum dot // *Nano Lett.* 2007. Vol. 7, № 9. P. 2892–2896.

- [714] Pimenov A., Loidl A. Focusing of millimeter-wave radiation beyond the Abbe barrier // *Appl. Phys. Lett.* 2003. Vol. 83, № 20. P. 4122–4124.
- [715] Tuchin V. V. *Optical Clearing of Tissues and Blood.* 2005. 255 p.
- [716] Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V. V. Tissue optical immersion clearing // *Expert Rev. Med. Devices.* 2010. Vol. 7, № 6. P. 825–842.
- [717] Tuchin V. V. Optical clearing of tissues and blood using the immersion method // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2005. Vol. 38, № 15. P. 2497–2518.
- [718] Oliveira L.M.L.M., Zaytsev K.I., Tuchin V. V. Improved biomedical imaging over a wide spectral range from UV to THz towards multimodality // *Proc. SPIE.* 2020. Vol. 11585. P. 1158503.
- [719] Carneiro I. et al. Moving tissue spectral window to the deep-ultraviolet via optical clearing // *J. Biophotonics.* 2019. Vol. 12, № 12. P. e201900181.
- [720] Gomes N., Tuchin V. V., Oliveira L.M. UV-NIR efficiency of the refractive index matching mechanism on colorectal muscle during treatment with different glycerol osmolarities // *J. Biomed. Photonics Eng.* 2020. Vol. 6, № 2. P. 020307.
- [721] Genina E.A. et al. Optical clearing of biological tissues: prospects of application in medical diagnostics and phototherapy // *J. Biomed. Photonics Eng.* 2015. Vol. 1, № 1. P. 22–58.
- [722] Carneiro I. et al. Enhanced Ultraviolet Spectroscopy by Optical Clearing for Biomedical Applications // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 2021. Vol. 27, № 4. P. 7200108.
- [723] Musina G.R. et al. Terahertz spectroscopy of immersion optical clearing agents: DMSO, PG, EG, PEG // *Proc. SPIE.* 2018. Vol. 10800. P. 108000F.
- [724] Musina G.R. et al. A comparison of terahertz optical constants and diffusion coefficients of tissue immersion optical clearing agents // *Proc. SPIE.* 2019. Vol. 11065. P. 110651Z.
- [725] Kolesnikov A.S. et al. In-vitro terahertz spectroscopy of rat skin under the action of dehydrating agents // *Proc. SPIE.* 2014. Vol. 9031. P. 90310D.
- [726] Komandin G. et al. Optical cryostat with sample rotating unit for polarization-sensitive terahertz and infrared spectroscopy // *Opt. Eng.ineering.* 2019. Vol. 59, № 6. P. 061603.
- [727] Chernomyrdin N. V. et al. In vitro terahertz spectroscopy of gelatin-embedded human brain tumors: a pilot study // *Proc. SPIE.* 2018. Vol. 10716. P. 107160S.
- [728] Duvillaret L., Garet F., Coutaz J.-L. A reliable method for extraction of material parameters in terahertz time-domain spectroscopy // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 1996. Vol. 2, № 3. P. 739–746.
- [729] Duvillaret L., Garet F., Coutaz J.-L. Highly precise determination of optical constants and sample thickness in terahertz time-domain spectroscopy // *Appl. Opt.* 1999. Vol. 38, № 2. P. 409–415.

- [730] Dorney T.D., Baraniuk R.G., Mittleman D.M. Material parameter estimation with terahertz time-domain spectroscopy // *J. Opt. Soc. Am. A*. 2001. Vol. 18, № 7. P. 1562–1571.
- [731] Chang P.C.Y., Walker J.G., Hopcraft K.I. Ray tracing in absorbing media // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2005. Vol. 96, № 3–4. P. 327–341.
- [732] Chen J., Lu H. Generalized laws of reflection and refraction from real valued boundary conditions // *Opt. Commun.* 2011. Vol. 284, № 16–17. P. 3802–3807.
- [733] Withayachumnankul W. et al. Material parameter extraction for terahertz time-domain spectroscopy using fixed-point iteration // *Proceedings 5840, Photonic Materials, Devices, and Applications* / ed. Badenes G., Abbott D., Serpenguzel A. 2005. P. 221–231.
- [734] Nelder J.A., Mead R. A Simplex Method for Function Minimization // *Comput. J.* 1965. Vol. 7, № 4. P. 308–313.
- [735] Coleman T.F., Li Y. An Interior Trust Region Approach for Nonlinear Minimization Subject to Bounds // *SIAM J. Optim.* 1996. Vol. 6, № 2. P. 418–445.
- [736] Coleman T.F., Li Y. On the convergence of interior-reflective Newton methods for nonlinear minimization subject to bounds // *Math. Program.* 1994. Vol. 67, № 1–3. P. 189–224.
- [737] Dennis J.E.J. Nonlinear least squares and equations // *The State of the Art in Numerical Analysis* / ed. Jacobs D. London, England: Academic Press, 1977. P. 269–312.
- [738] Levenberg K. A method for the solution of certain non-linear problems in least squares // *Q. Appl. Math.* 1944. Vol. 2, № 2. P. 164–168.
- [739] Marquardt D.W. An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters // *J. Soc. Ind. Appl. Math.* 1963. Vol. 11, № 2. P. 431–441.
- [740] Moré J.J. The Levenberg-Marquardt algorithm: Implementation and theory // *Numerical Analysis. Lecture Notes in Mathematics*. Berlin: Springer Verlag Berlin Heidelberg GmbH, 1978. P. 105–116.
- [741] Byrd R.H., Gilbert J.C., Nocedal J. A trust region method based on interior point techniques for nonlinear programming // *Math. Program.* 2000. Vol. 89, № 1. P. 149–185.
- [742] Byrd R.H., Hribar M.E., Nocedal J. An Interior Point Algorithm for Large-Scale Nonlinear Programming // *SIAM J. Optim.* 1999. Vol. 9, № 4. P. 877–900.
- [743] Waltz R.A. et al. An interior algorithm for nonlinear optimization that combines line search and trust region steps // *Math. Program.* 2006. Vol. 107, № 3. P. 391–408.
- [744] Bonnans J.F. et al. *Numerical Optimization: Theoretical and practical aspects*. Second rev. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. xiv+490 p.
- [745] Nocedal J., Wright S.J. *Numerical Optimization*. Springer, New York, NY, 2006. xxii+664 p.

- [746] Scheller M. Real-time terahertz material characterization by numerical three-dimensional optimization // *Opt. Express*. 2011. Vol. 19, № 11. P. 10647–10655.
- [747] Krüger M. et al. Uncertainty and Ambiguity in Terahertz Parameter Extraction and Data Analysis // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2011. Vol. 32, № 5. P. 699–715.
- [748] Hejase J.A., Rothwell E.J., Chahal P. Self-calibrating technique for terahertz time-domain material parameter extraction // *J. Opt. Soc. Am. A*. 2011. Vol. 28, № 12. P. 2561–2567.
- [749] Mickan S.P. et al. Thin film characterization using terahertz differential time-domain spectroscopy and double modulation // *Proceedings 4591, Electronics and Structures for MEMS II* / ed. Bergmann N.W. et al. 2001. P. 197–209.
- [750] Mickan S.P. et al. Double modulated differential THz-TDS for thin film dielectric characterization // *Microelectronics J*. 2002. Vol. 33, № 12. P. 1033–1042.
- [751] Balakrishnan J., Fischer B.M., Abbott D. Low noise spinning wheel technique for THz material parameter extraction // *Opt. Commun*. 2010. Vol. 283, № 10. P. 2301–2307.
- [752] Balakrishnan J., Fischer B.M., Abbott D. Fixed Dual-Thickness Terahertz Liquid Spectroscopy Using a Spinning Sample Technique // *IEEE Photonics J*. 2009. Vol. 1, № 2. P. 88–98.
- [753] Jin Y.-S. et al. Fast scanning of a pulsed terahertz signal using an oscillating optical delay line // *Rev. Sci. Instrum*. 2007. Vol. 78, № 2. P. 023101.
- [754] Kim G.-J. et al. High speed scanning of terahertz pulse by a rotary optical delay line // *Rev. Sci. Instrum*. 2008. Vol. 79, № 10. P. 106102.
- [755] Sinyukov A.M. et al. Rapid-phase modulation of terahertz radiation for high-speed terahertz imaging and spectroscopy // *Opt. Lett*. 2008. Vol. 33, № 14. P. 1593–1595.
- [756] Ming Li et al. Dielectric constant measurement of thin films using goniometric terahertz time-domain spectroscopy // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron*. 2001. Vol. 7, № 4. P. 624–629.
- [757] Li M. et al. Time-domain dielectric constant measurement of thin film in GHz–THz frequency range near the Brewster angle // *Appl. Phys. Lett*. 1999. Vol. 74, № 15. P. 2113–2115.
- [758] Angeluts A.A. et al. Reconstruction of the spectrum of the relative permittivity of the plane-parallel plate from the angular dependences of its transmission coefficients // *JETP Lett*. 2011. Vol. 93, № 4. P. 191–194.
- [759] Nakanishi A. et al. Terahertz time domain attenuated total reflection spectroscopy with an integrated prism system // *Rev. Sci. Instrum*. 2012. Vol. 83, № 3. P. 033103.
- [760] Ahmed O.S. et al. Efficient Optimization Approach for Accurate Parameter Extraction With Terahertz Time-Domain Spectroscopy // *J. Light. Technol*. 2010. Vol. 28, № 11. P. 1685–

1692.

- [761] Ahmed O.S. et al. Accurate characterization of doped semiconductors with terahertz spectroscopy // Proceedings 8007, Photonics North 2011 / ed. Kashyap R., Têtu M., Kleiman R.N. 2011. P. 80071K.
- [762] Ahmed O.S. et al. Efficient material parameters estimation with terahertz time-domain spectroscopy // Proceedings 7938, Terahertz Technology and Applications IV / ed. Sadwick L.P., O’Sullivan C.M.M. 2011. P. 793805.
- [763] Li Z. et al. Linewidth Extraction From the THz Absorption Spectra Using a Modified Lorentz Model // J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves. 2013. Vol. 34, № 10. P. 617–626.
- [764] Franz M., Fischer B.M., Walther M. The Christiansen effect in terahertz time-domain spectra of coarse-grained powders // Appl. Phys. Lett. 2008. Vol. 92, № 2. P. 021107.
- [765] Bandyopadhyay A. et al. Effects of Scattering on THz Spectra of Granular Solids // Int. J. Infrared Millimeter Waves. 2007. Vol. 28, № 11. P. 969–978.
- [766] Shen Y.C., Taday P.F., Pepper M. Elimination of scattering effects in spectral measurement of granulated materials using terahertz pulsed spectroscopy // Appl. Phys. Lett. 2008. Vol. 92, № 5. P. 051103.
- [767] Sundberg G. et al. Modeling Rough-Surface and Granular Scattering at Terahertz Frequencies Using the Finite-Difference Time-Domain Method // IEEE Trans. Geosci. Remote Sens. 2010. Vol. 48, № 10. P. 3709–3719.
- [768] Ye D. et al. Pulsed terahertz spectroscopy combined with hybrid machine learning approaches for structural health monitoring of multilayer thermal barrier coatings // Opt. Express. 2020. Vol. 28, № 23. P. 34875–34893.
- [769] Tu W. et al. Neural network-based hybrid signal processing approach for resolving thin marine protective coating by terahertz pulsed imaging // Ocean Eng. 2019. Vol. 173. P. 58–67.
- [770] Sun X. et al. Generalized regression neural network association with terahertz spectroscopy for quantitative analysis of benzoic acid additive in wheat flour // R. Soc. Open Sci. 2019. Vol. 6, № 7. P. 190485.
- [771] Liu F. et al. Secure Deep Learning for Intelligent Terahertz Metamaterial Identification // Sensors. 2020. Vol. 20, № 19. P. 5673.
- [772] Mitsuhashi R. et al. Terahertz tag identifiable through shielding materials using machine learning // Opt. Express. 2020. Vol. 28, № 3. P. 3517–3527.
- [773] Li Y. et al. Terahertz spectroscopic material identification using approximate entropy and deep neural network // 2017 IEEE National Aerospace and Electronics Conference

- (NAECON). IEEE, 2017. P. 52–56.
- [774] Gavdush A.A. et al. A method for reconstruction of terahertz dielectric response of thin liquid samples // *Optical Methods for Inspection, Characterization, and Imaging of Biomaterials IV* / ed. Ferraro P. et al. SPIE, 2019. P. 52.
- [775] Yanina I.Y. et al. Optical monitoring of adipose tissue destruction under encapsulated lipase action // *J. Biophotonics*. 2018. Vol. 11, № 11. P. e201800058.
- [776] Nakajima S. et al. Terahertz imaging diagnostics of cancer tissues with a chemometrics technique // *Appl. Phys. Lett.* 2007. Vol. 90, № 4. P. 041102.
- [777] Arumi-Uria M., McNutt N.S., Finnerty B. Grading of atypia in nevi: Correlation with melanoma risk // *Mod. Pathol.* 2003. Vol. 16, № 8. P. 764–771.
- [778] Barnhill R.L., Fine J.A. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study // *Cancer*. 1996. Vol. 78, № 3. P. 427–432.
- [779] Reid C.B. et al. Terahertz Time-Domain Spectroscopy of Human Blood // *IEEE J. Biomed. Heal. Informatics*. 2013. Vol. 17, № 4. P. 774–778.
- [780] Li D. et al. Detecting melanoma with a terahertz spectroscopy imaging technique // *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2020. Vol. 234. P. 118229.
- [781] Esteva A. et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks // *Nature*. 2017. Vol. 542, № 7639. P. 115–118.
- [782] Barata C., Emre Celebi M., Marques J.S. Development of a clinically oriented system for melanoma diagnosis // *Pattern Recognit.* 2017. Vol. 69. P. 270–285.
- [783] Rosendahl C. et al. Diagnostic accuracy of dermatoscopy for melanocytic and nonmelanocytic pigmented lesions // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2011. Vol. 64, № 6. P. 1068–1073.
- [784] Kaufman H.L., Mehnert J.M. *Melanoma*. Switzerland: Springer International Publishing, 2016. 416 p.
- [785] Rinskaya E.N. et al. Development of a Standard for Verification of the System for Automated Morphometry of Clinical Images of Skin Neoplasms // *Opt. Spectrosc.* 2020. Vol. 128, № 6. P. 815–823.
- [786] Kudrin K.G. et al. Early Diagnosis of Skin Melanoma Using Several Imaging Systems // *Opt. Spectrosc.* 2020. Vol. 128, № 6. P. 824–834.
- [787] Peralta X.G. et al. Terahertz spectroscopy of human skin tissue models with different melanin content // *Biomed. Opt. Express*. 2019. Vol. 10, № 6. P. 2942–2955.
- [788] Fletcher D. Thermal microscopy with a microfabricated solid immersion lens // *Microscale Thermophys. Eng.* 2003. Vol. 7, № 4. P. 267–273.
- [789] Terris B.D., Mamin H.J., Rugar D. Near-field optical data storage // *Appl. Phys. Lett.* 1996.

- Vol. 68, № 2. P. 141–143.
- [790] Fletcher D.A. et al. Refraction contrast imaging with a scanning microlens // *Appl. Phys. Lett.* 2001. Vol. 78, № 23. P. 3589–3591.
- [791] Upputuri P.K., Pramanik M. Microsphere-aided optical microscopy and its applications for super-resolution imaging // *Opt. Commun.* 2017. Vol. 404. P. 32–41.
- [792] Lo Y.H., Leonhardt R. Aspheric lenses for terahertz imaging // *Opt. Express.* 2008. Vol. 16, № 20. P. 15991.
- [793] Li W. et al. Refractive aspherical lens for terahertz imaging // *Opt. Commun.* 2019. Vol. 433. P. 14–17.
- [794] Lo Y.H., Leonhardt R. Aspherical lenses for terahertz spectroscopy // *Proc. SPIE.* 2007. Vol. 6801. P. 68011R.
- [795] Cunningham P.D. et al. Broadband terahertz characterization of the refractive index and absorption of some important polymeric and organic electro-optic materials // *J. Appl. Phys.* 2011. Vol. 109, № 4. P. 043505-043505–5.
- [796] Sommer S. et al. THz-Spectroscopy on High Density Polyethylene with Different Crystallinity // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves.* 2016. Vol. 37, № 2. P. 189–197.
- [797] Русинов М.М. *Техническая оптика.* Ленинград: Машиностроение, 1979. 488 p.
- [798] Maxim E. Frolov et al. Design of aplanatic singlet for pickup // *Joint International Symposium on Optical Memory and Optical Data Storage.* Honolulu (Hawaii), 2005. P. 135–138.
- [799] Braat J.J.M. Abbe sine condition and related imaging conditions in geometrical optics // *Proceedings of SPIE.* 1997. Vol. 3190. P. 59.
- [800] Flagello D.G., Milster T., Rosenbluth A.E. Theory of high-NA imaging in homogeneous thin films // *J. Opt. Soc. Am. A.* 1996. Vol. 13, № 1. P. 53.
- [801] Richards B., Wolf E. Electromagnetic diffraction in optical systems - I. An integral representation of the image field // *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.* 1959. Vol. 253, № 1274. P. 349–357.
- [802] Vamivakas A.N. et al. A case study for optics: The solid immersion microscope // *Am. J. Phys.* 2008. Vol. 76, № 8. P. 758–768.
- [803] Richards B., Wolf E. Electromagnetic diffraction in optical systems, II. Structure of the image field in an aplanatic system // *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.* 1959. Vol. 253, № 1274. P. 358–379.
- [804] Novotny L., Hecht B. *Principles of Nano-Optics.* Cambridge: Cambridge University Press, 2012.
- [805] Yue L. et al. A Millimetre-Wave Cuboid Solid Immersion Lens with Intensity-Enhanced

- Amplitude Mask Apodization // *J. Infrared, Millimeter, Terahertz Waves*. 2018. Vol. 39, № 6. P. 546–552.
- [806] Monk P. *Finite Element Methods for Maxwell's Equations*. Oxford University Press, 2003.
- [807] Schneider J.B. *Understanding the Finite-Difference Time-Domain Method*. On-Line Book, 2016. 403 p.
- [808] Taflove A., Hagness S.C. *Computational Electrodynamics: The Finite-Difference Time-Domain Method*. Third Edition. Canton Street 685, Norwood, United Kingdom: Artech House, Inc., 2005. 852 p.
- [809] Wang L., Jacques S.L., Zheng L. MCML - Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues // *Comput. Methods Programs Biomed.* 1995. Vol. 47, № 2. P. 131–146.
- [810] Mølmer K., Castin Y., Dalibard J. Monte Carlo wave-function method in quantum optics // *J. Opt. Soc. Am. B*. 1993. Vol. 10, № 3. P. 524.
- [811] *The Monte Carlo Ray-Trace Method in Radiation Heat Transfer and Applied Optics* / ed. Mahan J.R. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd, 2019.
- [812] Yee K. Numerical solution of initial boundary value problems involving Maxwell's equations in isotropic media // *IEEE Trans. Antennas Propag.* 1966. Vol. 14, № 3. P. 302–307.
- [813] Yurchenko S.O. et al. Enhanced third-harmonic generation in photonic crystals at band-gap pumping // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2017. Vol. 50, № 5. P. 055105.
- [814] Yurchenko S.O., Zaytsev K.I. Enhancement of second harmonic generation in NaNO₂-infiltrated opal photonic crystal using structural light focusing // *Appl. Phys. Lett.* 2014. Vol. 105, № 5. P. 051902.
- [815] Zaytsev K.I. et al. Band-gap nonlinear optical generation: The structure of internal optical field and the structural light focusing // *J. Appl. Phys.* 2014. Vol. 115, № 21. P. 213505.
- [816] Merewether D.E., Fisher R., Smith F.W. On Implementing a Numeric Huygen's Source Scheme in a Finite Difference Program to Illuminate Scattering Bodies // *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 1980. Vol. 27, № 6. P. 1829–1833.
- [817] Umashankar K., Taflove A. A Novel Method to Analyze Electromagnetic Scattering of Complex Objects // *IEEE Trans. Electromagn. Compat.* 1982. Vol. EMC-24, № 4. P. 397–405.
- [818] Holland R., Williams J.W. Total-Field versus Scattered-Field Finite-Difference Codes: A Comparative Assessment // *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 1983. Vol. 30, № 6. P. 4583–4588.
- [819] Mur G. Absorbing Boundary Conditions for the Finite-Difference Approximation of the Time-Domain Electromagnetic-Field Equations // *IEEE Trans. Electromagn. Compat.* 1981. Vol. EMC-23, № 4. P. 377–382.

- [820] Courant R., Friedrichs K., Lewy H. Uber die partiellen Differenzengleichungen der mathematischen Physik // *Math. Ann.* 1928. Vol. 100, № 1. P. 32–74.
- [821] Perov A.N. et al. BWO based THz imaging system // *J. Phys. Conf. Ser.* 2014. Vol. 486, № 1. P. 012027.
- [822] Shannon C.E. Communication in the presence of noise // *Proc. IRE.* 1949. Vol. 37, № 1. P. 10–21.
- [823] Мосягин Г.М., Немтинов В.Б., Лебедев Е.Н. Теория оптико-электронных систем. Москва: Машиностроение, 1990. 432 p.
- [824] Dall'Oglio G. et al. Comparison between carbon, silicon and germanium bolometers and Golay cell in the far infrared // *Infrared Phys.* 1974. Vol. 14, № 4. P. 347–350.
- [825] Dean P. et al. Apertureless near-field terahertz imaging using the self-mixing effect in a quantum cascade laser // *Appl. Phys. Lett.* 2016. Vol. 108, № 9. P. 091113.
- [826] Lashansky S.N. et al. Edge response revisited // *Proc. SPIE.* 2008. Vol. 6941. P. 69410Z.
- [827] F.R.S. L.R. XXXI. Investigations in optics, with special reference to the spectroscope // London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci. (Series 5). 1879. Vol. 8, № 49. P. 261–274.
- [828] Withayachumnankul W., Fischer B.M., Abbott D. Material thickness optimization for transmission-mode terahertz time-domain spectroscopy // *Opt. Express.* 2008. Vol. 16, № 10. P. 7382.
- [829] Hale P.J. et al. 20 THz broadband generation using semi-insulating GaAs interdigitated photoconductive antennas // *Opt. Express.* 2014. Vol. 22, № 21. P. 26358.
- [830] Yu F. et al. The birefringence property of magnesium fluoride crystal in THz frequency region // *Proc. SPIE.* 2010. Vol. 78541S. P. 78541S.
- [831] Tapia A.K.G. et al. Charge carrier dynamics of ZnSe by optical-pump terahertz-probe spectroscopy // 2011 International Conference on Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves. IEEE, 2011. P. 1–2.
- [832] Bernerd C. et al. Evaluation of eight nonlinear crystals for phase-matched Terahertz second-order difference-frequency generation at room temperature // *Opt. Mater. Express.* 2020. Vol. 10, № 2. P. 561.
- [833] Song Z. et al. Temporal and Spatial Variability of Water Status in Plant Leaves by Terahertz Imaging // *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.* 2018. Vol. 8, № 5. P. 520–527.
- [834] Hadjiloucas S., Karatzas L.S., Bowen J.W. Measurements of leaf water content using terahertz radiation // *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.* 1999. Vol. 47, № 2. P. 142–149.
- [835] Breitenstein B. et al. Introducing terahertz technology into plant biology: A novel method to monitor changes in leaf water status // *J. Appl. Bot. Food Qual.* 2011. Vol. 84, № 2. P. 158–161.

- [836] Castro-Camus E., Palomar M., Covarrubias A.A. Leaf water dynamics of *Arabidopsis thaliana* monitored in-vivo using terahertz time-domain spectroscopy // *Sci. Rep.* 2013. Vol. 3, № 1. P. 2910.
- [837] Beard M.C., Turner G.M., Schmuttenmaer C.A. Progress towards two-dimensional biomedical imaging with THz spectroscopy // *Phys. Med. Biol.* 2002. Vol. 47, № 21. P. 3841–3846.
- [838] Liu W. et al. Application of terahertz spectroscopy imaging for discrimination of transgenic rice seeds with chemometrics // *Food Chem.* 2016. Vol. 210. P. 415–421.
- [839] Koch M. et al. THz-imaging: a new method for density mapping of wood // *Wood Sci. Technol.* 1998. Vol. 32, № 6. P. 421–427.
- [840] Jackson J.B. et al. Terahertz pulse imaging for tree-ring analysis: a preliminary study for dendrochronology applications // *Meas. Sci. Technol.* 2009. Vol. 20, № 7. P. 075502.
- [841] Chernomyrdin N. V. et al. Terahertz solid immersion microscopy for sub-wavelength-resolution imaging of biological objects and tissues // *Proc. SPIE.* 2018. Vol. 10716. P. 1071606.
- [842] Chernomyrdin N. V. et al. A potential of terahertz solid immersion microscopy for visualizing sub-wavelength-scale tissue spheroids // *Proc. SPIE.* 2018. Vol. 10677. P. 106771Y.
- [843] Park K.M. et al. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine 2017: A Year in Review* // *Tissue Eng. Part B Rev.* 2018. Vol. 24, № 5. P. 327–344.
- [844] Koudan E. V. et al. The Scalable Standardized Biofabrication of Tissue Spheroids from Different Cell Types Using Nonadhesive Technology // *3D Print. Addit. Manuf.* 2017. Vol. 4, № 1. P. 53–60.
- [845] Zhai M., Locquet A., Citrin D.S. Pulsed THz imaging for thickness characterization of plastic sheets // *NDT E Int.* 2020. Vol. 116. P. 102338.
- [846] Nikolova M.P., Chavali M.S. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: a review // *Bioact. Mater.* 2019. Vol. 4. P. 271–292.
- [847] Gafarova E.R. et al. Evaluation of Supercritical CO₂-Assisted Protocols in a Model of Ovine Aortic Root Decellularization // *Molecules.* 2020. Vol. 25, № 17. P. 3923.
- [848] Grebenik E.A. et al. Chemical cross-linking of xenopericardial biomeshes: A bottom-up study of structural and functional correlations // *Xenotransplantation.* 2019. Vol. 26, № 3. P. e12506.
- [849] Grebenik E.A. et al. Mammalian Pericardium-Based Bioprosthetic Materials in Xenotransplantation and Tissue Engineering // *Biotechnol. J.* 2020. Vol. 15, № 8. P. 1900334.

- [850] Xing J. et al. A Standardized and Quality-Controllable Protocol of Constructing Individual Tissue-Engineered Grafts Applicable to Treating Large Bone Defects // *Tissue Eng. Part C Methods*. 2019. Vol. 25, № 3. P. 137–147.
- [851] Minati L. et al. Plasma assisted surface treatments of biomaterials // *Biophys. Chem.* 2017. Vol. 229. P. 151–164.
- [852] Demina T.S. et al. DC Discharge Plasma Modification of Chitosan Films: An Effect of Chitosan Chemical Structure // *Plasma Process. Polym.* 2015. Vol. 12, № 8. P. 710–718.
- [853] Ujino D. et al. Effect of Plasma Treatment of Titanium Surface on Biocompatibility // *Appl. Sci.* 2019. Vol. 9, № 11. P. 2257.
- [854] Das P. et al. Surface modification of electrospun PVA/chitosan nanofibers by dielectric barrier discharge plasma at atmospheric pressure and studies of their mechanical properties and biocompatibility // *Int. J. Biol. Macromol.* 2018. Vol. 114. P. 1026–1032.
- [855] Gunning G.M., Murphy B.P. The effects of decellularization and cross-linking techniques on the fatigue life and calcification of mitral valve chordae tendineae // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2016. Vol. 57. P. 321–333.
- [856] do Amaral Montanheiro T.L. et al. Enhanced water uptake of PHBV scaffolds with functionalized cellulose nanocrystals // *Polym. Test.* 2019. Vol. 79. P. 106079.
- [857] Maslinda A.B. et al. Effect of water absorption on the mechanical properties of hybrid interwoven cellulosic-cellulosic fibre reinforced epoxy composites // *Compos. Struct.* 2017. Vol. 167. P. 227–237.
- [858] Zhang Y. et al. Mechanical properties and degradation of drug eluted bioresorbable vascular scaffolds prepared by three-dimensional printing technology // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2019. Vol. 30, № 7. P. 547–560.
- [859] Komandin G.A. et al. Effect of moisture adsorption on the broadband dielectric response of SiO₂-based nanoporous glass // *J. Appl. Phys.* 2019. Vol. 126, № 22. P. 224303.
- [860] Oliveira L.M. et al. Diffusion characteristics of ethylene glycol in skeletal muscle // *J. Biomed. Opt.* 2014. Vol. 20, № 5. P. 051019.
- [861] Al-Sharabi M. et al. Terahertz pulsed imaging as a new method for investigating the liquid transport kinetics of α -alumina powder compacts // *Chem. Eng. Res. Des.* 2021. Vol. 165. P. 386–397.
- [862] Lin H. et al. Sensing Water Absorption in Hygrothermally Aged Epoxies with Terahertz Time-Domain Spectroscopy // *Anal. Chem.* 2021. Vol. 93, № 4. P. 2449–2455.
- [863] Wu L. et al. Temperature dependent terahertz spectroscopy and imaging of orthotopic brain gliomas in mouse models // *Biomed. Opt. Express.* 2022. Vol. 13, № 1. P. 93–104.
- [864] Wang Y. et al. A hybrid method based region of interest segmentation for continuous wave

- terahertz imaging // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2020. Vol. 53, № 9. P. 095403.
- [865] Louis D.N. et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary // *Acta Neuropathol.* 2016. Vol. 131. P. 803–820.
- [866] Wesseling P., Capper D. WHO 2016 Classification of gliomas // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2018. Vol. 44, № 2. P. 139–150.
- [867] Zou Y. et al. Terahertz Spectroscopic Diagnosis of Myelin Deficit Brain in Mice and Rhesus Monkey with Chemometric Techniques // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. P. 5176.
- [868] Onodera Y. Breakdown of Debye's Model for Dielectric Relaxation in High Frequencies // *J. Phys. Soc. Japan.* 1993. Vol. 62. P. 4104–4107.
- [869] Jeong J.-W. et al. Multi-modal imaging of tumor cellularity and Tryptophan metabolism in human Gliomas // *Cancer Imaging.* 2015. Vol. 15. P. 10.
- [870] Chen X. et al. Exploiting Complementary Terahertz Ellipsometry Configurations to Probe the Hydration and Cellular Structure of Skin In Vivo // *Adv. Photonics Res.* 2021. Vol. 2, № 1. P. 2000024.
- [871] Chernomyrdin N. V. et al. Differentiation of basal cell carcinoma and healthy skin using multispectral modulation autofluorescence imaging: A pilot study // *J. Biomed. Photonics Eng.* 2019. Vol. 5, № 1. P. 010302.
- [872] Abbas Z. et al. Quantitative water content mapping at clinically relevant field strengths: A comparative study at 1.5 T and 3 T // *Neuroimage.* 2015. Vol. 106. P. 404–413.
- [873] Neeb H., Zilles K., Shah N.J. A new method for fast quantitative mapping of absolute water content in vivo // *Neuroimage.* 2006. Vol. 31, № 3. P. 1156–1168.
- [874] Neeb H. et al. Fast quantitative mapping of absolute water content with full brain coverage // *Neuroimage.* 2008. Vol. 42, № 3. P. 1094–1109.
- [875] Di Resta G.R., Lee J., Arbit E. Measurement of brain tissue specific gravity using pycnometry // *J. Neurosci. Methods.* 1991. Vol. 39, № 3. P. 245–251.
- [876] Yager W.A. The Distribution of Relaxation Times in Typical Dielectrics // *Physics (College. Park. Md).* 1936. Vol. 7, № 12. P. 434–450.
- [877] Liu J. et al. Hydrogen-bond structure dynamics in bulk water: insights from ab initio simulations with coupled cluster theory // *Chem. Sci.* 2018. Vol. 9, № 8. P. 2065–2073.
- [878] Федосеева В.В. et al. Лекарственный патоморфоз глиобластомы 101.8 у крыс линии Wistar при лечении наноразмерной формой доксорубицина на основе полилактидных наночастиц // *Современные технологии в медицине.* 2018. Vol. 10, № 4. P. 105–112.
- [879] Steiniger S.C.J. et al. Chemotherapy of glioblastoma in rats using doxorubicin-loaded nanoparticles // *Int. J. Cancer.* 2004. Vol. 109, № 5. P. 759–767.
- [880] Freer S. et al. Hybrid reflection retrieval method for terahertz dielectric imaging of human

- bone // *Biomed. Opt. Express*. 2021. Vol. 12, № 8. P. 4807–4820.
- [881] S. Di Meo et al. The variability of dielectric permittivity of biological tissues with water content // *J. Electromagn. Waves Appl*. 2022. Vol. 36, № 1. P. 48–68.
- [882] Mu N. et al. Molecular pathological recognition of freshly excised human glioma using terahertz ATR spectroscopy // *Biomed. Opt. Express*. 2022. Vol. 13, № 1. P. 222–236.
- [883] Menon S.S. et al. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker // *Clin. Chim. Acta*. 2019. Vol. 491. P. 39–45.
- [884] Sobecki M. et al. The cell proliferation antigen Ki-67 organises heterochromatin // *Elife*. 2016. Vol. 5. P. e13722.
- [885] Eugene Wong et al. Cut-point for Ki-67 proliferation index as a prognostic marker for glioblastoma // *Asia. Pac. J. Clin. Oncol*. 2019. Vol. 15, № 1. P. 5–9.
- [886] Henker C. et al. Correlation of Ki-67 Index with Volumetric Segmentation and its Value as a Prognostic Marker in Glioblastoma // *World Neurosurg*. 2019. Vol. 125. P. e1093–e1103.
- [887] Stine Z.E. et al. MYC, Metabolism, and Cancer // *Cancer Discov*. 2015. Vol. 5, № 10. P. 1024–1039.
- [888] Turkalp Z., Karamchandani J., Das S. IDH Mutation in Glioma. New Insights and Promises for the Future // *JAMA Neurol*. 2014. Vol. 71, № 10. P. 1319–1325.
- [889] Ceccarelli M. et al. Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma // *Cell*. 2016. Vol. 164, № 3. P. 550–563.
- [890] Han S. et al. IDH mutation in glioma: molecular mechanisms and potential therapeutic targets // *Br. J. Cancer*. 2020. Vol. 122. P. 1580–1589.
- [891] Kayabolen A., Yilmaz E., Bagci-Onder T. IDH Mutations in Glioma: Double-Edged Sword in Clinical Applications? // *Biomedicines*. 2021. Vol. 9, № 7. P. 799.
- [892] Bell E.H. et al. Association of MGMT Promoter Methylation Status With Survival Outcomes in Patients With High-Risk Glioma Treated With Radiotherapy and Temozolomide. An Analysis From the NRG Oncology/RTOG 0424 Trial // *JAMA Oncol*. 2018. Vol. 4, № 10. P. 1405–1409.