

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСВЕТЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ  
ОСМОТИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ЖИДКОСТЯМИ**

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ПОДГОТОВЛЕННОЙ  
НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ (ДИССЕРТАЦИИ)

аспиранта 4 года обучения

направление подготовки 06.06.01 – «Биологические науки»

физического факультета

Козинцевой Марины Дмитриевны

Научный руководитель

профессор кафедры оптики

и биофотоники, д.ф.-м.н.

\_\_\_\_\_ В. И. Кочубей

Саратов 2018

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность исследования**

В настоящее время в медицину активно вводятся новейшие методы диагностики и лечения заболеваний. В основном современные медицинские технологии базируются на последних достижениях физики, существенное внимание уделяется такому разделу биофизики, как оптика биотканей и биомедицинская оптика. Существенный прогресс в разработке неинвазивных методов мониторинга различных заболеваний в значительной мере связан с развитием оптических методов диагностики и терапии.

Оптические методы перспективны для диагностики, локализации и лечения злокачественных новообразований в дерматологии, офтальмологии, гинекологии, гастроэнтерологии, нейрохирургии, фотодинамической терапии различных заболеваний, маммографии и томографии кожи и внутренних органов. Оптические методы используются для мониторинга функциональной активности мозга, определения скорости кровотока и лимфотока, объема крови в биотканях и степени ее оксигенации.

Одним из перспективных оптических методов, которые уже применяются в медицине, является метод «оптического просветления» биологических тканей (биотканей) так называемыми оптическими просветляющими агентами (ОПА).

С точки зрения оптики, биологические ткани и жидкости (кровь, лимфа, слюна, желудочный сок и т.п.) можно разделить на два больших класса. Первый класс включает в себя «непрозрачные» биоткани и жидкости, которые обладают сильным светорассеянием в видимом и ближнем ИК-диапазонах. Это происходит вследствие неоднородностей показателя преломления на границах клеточных органелл, липидных капель, мембран и белковых волокнистых структур, составляющих ткани, что и определяет относительно неглубокое проникновение света в ткань с перераспределением падающих пучков света по

всем направлениям. Примерами таких биотканей являются кожа, мозг, стенки сосудов, склера глаза, кровь и лимфа. Оптические свойства таких биотканей и жидкостей могут быть описаны в рамках модели многократного рассеяния скалярных или векторных волн в случайно-неоднородной поглощающей среде. Второй класс состоит из слаборассеивающих (прозрачных) биологических тканей и жидкостей, таких как роговица, хрусталик, слезная жидкость и водянистая влага передней камеры глаза. Оптические свойства этих тканей и жидкостей можно описать в рамках модели однократного рассеяния (или рассеяния малой кратности) в упорядоченной изотропной или анизотропной среде с плотно упакованными центрами рассеяния и поглощения.

Для описания процесса распространения света в биологических тканях и для разработки математических моделей, адекватно описывающих распространение света в биотканях, необходимо знание оптических характеристик биотканей. Эти принципиально важно для развития новых оптических методов, используемых в различных областях биологии и медицины.

Рассеяние света в биотканях может быть существенно уменьшено при помощи оптически просветляющих агентов (ОПА).

Несмотря на многочисленные исследования в этой области, проблема управления оптическими параметрами биологических тканей включает в себя большой ряд вопросов, связанных с воздействием экзогенных препаратов, таких как иммерсионные жидкости (оптически просветляющие агенты - ОПА), красители, микро- и нанообъекты, на биологические ткани. В биомедицине их применяют с целью кратко- или долговременного изменения их рассеивающих и поглощающих свойств. Проблема изучения влияния данных препаратов на биоткани возникла на волне развития оптических методов для клинической функциональной визуализации, диагностики и терапии рака и других заболеваний, как например, перитонита. Интерес к использованию данных препаратов обусловлен уникальной информативностью, относительной

простотой, безопасностью и достаточно низкой стоимостью оптических устройств по сравнению с другими методами, например, с рентгеновской компьютерной томографией.

Проведенный анализ литературы показывает, что, несмотря на многочисленные исследования, связанные с измерением оптических характеристик биологических тканей, оптические параметры многих из них либо не исследованы, либо измерены в узком диапазоне длин волн.

Существуют работы, в которых представлены численные значения оптических характеристик (коэффициенты поглощения, рассеяния, фактор анизотропии) различных биотканей и в том числе мышечной ткани говядины, курицы, свиньи, кролика и человека каждая на определенной длине волны, но диапазон длин волн очень узок, что не позволяет полностью оценивать оптические свойства биоткани. Следовательно, возникает необходимость более детального изучения оптических свойств мышечной ткани и возможности их изменения.

Необходимость измерения скорости диффузии иммерсионных агентов в биотканях обоснована тем, что знание коэффициента диффузии может служить неким показателем того, какую ткань мы исследуем: здоровую или же пораженную, к примеру, раковыми клетками. Коэффициент диффузии при этом будет различаться вследствие различий в строении клеток здоровой и патологически измененной ткани. Необходимость измерения коэффициента диффузии глюкозы в биотканях связана в первую очередь с проблемами диагностики и лечения диабета, а поскольку мышечная ткань занимает 40% массы тела, то измерение коэффициента диффузии глюкозы в мышечной ткани остается достаточно актуальной проблемой.

Существует много методов измерения коэффициентов диффузии, основанных на детектировании радиоактивных меток, измерениях интенсивности флуоресценции, кинетике изменения коэффициента поглощения диффундирующего вещества и т.д. В том числе одним из методов является

метод, основанный на изменении рассеивающих характеристик биоткани вследствие согласования показателей преломления рассеивателей и окружающей их среды, то есть оптическими свойствами биотканей можно эффективно управлять, если воздействовать на них гиперосмотическими жидкостями. Поскольку данный метод ввиду неинвазивности применения, нетоксичности используемых гиперосмотических жидкостей и др. имеет ряд преимуществ по сравнению с другими используемыми методами, то именно он и был использован нами в настоящей работе для определения коэффициента диффузии глюкозы в мышечной ткани.

В данной работе нами было использовано три метода детектирования процесса оптического просветления: метод коллимированного пропускания, метод ОКТ (оптической когерентной томографии) и впервые был применен метод люминесценции с использованием ап-конверсионных наночастиц.

**Целью диссертационной работы** является измерение основных оптических свойств мышечной ткани, а также сравнение методов исследования кинетики просветления, и нахождение оптимального метода измерения и оценки скорости проникновения (коэффициента диффузии) ОПА в биоткань, для возможного дальнейшего внедрения метода *in vivo* в области практической медицины.

**Основными задачами данной работы являются:**

1. Измерение оптических характеристик (коэффициентов рассеяния и поглощения, и фактора анизотропии рассеяния) мышечной ткани в диапазоне длин волн 400-2000 нм.
2. Оценка коэффициента диффузии глюкозы в мышечной ткани *in vitro* с использованием различных методов, таких как метод определения скорости диффузии ОПА (оптически просветляющего агента) в широком диапазоне длин волн с помощью измерения коллимированного пропускания, метода ОКТ

(оптической когерентной томографии) и люминесцентного метода, и сравнение полученных значений с целью определения наиболее эффективного метода для дальнейшего использования *in vivo*.

**Объектом исследования является** мышечная ткань (говядина и курица). Жировая ткань удалялась.

### **Предмет исследования**

Спектры диффузионного отражения, полного и коллимированного пропускания, которые измерялись на спектрофотометре LAMBDA 950 (PerkinElmer, США) с интегрирующей сферой в спектральном диапазоне 400-2000 нм;

Измерения геометрических характеристик мышечной ткани в процессе оптического просветления исследуемой биоткани;

Оценка численного значения коэффициента диффузии 40% раствора глюкозы (который был использован в качестве ОПА) в мышечной ткани методом оптической когерентной томографии (ОКТ), коллимированного пропускания, и с помощью люминесценции.

### **Научная новизна работы**

1. Впервые получены оптические характеристики мышечной ткани говядины *in vitro* в широком диапазоне длин волн 400-2000 нм методом спектроскопии с использованием интегрирующих сфер, и рассчитаны коэффициенты поглощения, рассеяния и фактор анизотропии рассеяния исследуемой мышечной ткани;
2. Исследована кинетика изменения оптического коллимированного пропускания, веса, толщины и площади образцов мышечной ткани говядины *in vitro* во время их оптического просветления 40% водным раствором глюкозы;

3. Впервые измерены коэффициенты диффузии глюкозы мышечной ткани говядины *in vitro* тремя разными способами: методом коллимированного пропускания, ОКТ и с помощью люминесценции ап-конверсионных наночастиц. Проведено сравнение результатов проведенных исследований.

### **Научная и практическая значимость работы**

Результаты работы дают основания для дальнейших научных исследований диффузионных свойств ОПА в различных биологических тканях при различных заболеваниях, таких как перитонит. Данные исследования могут способствовать созданию неинвазивного метода мониторинга ранних стадий этого заболевания у детей. При исследовании просветления *in vivo* становятся невозможными методики измерения в режиме пропускания из-за небольшой глубины проникновения света в биоткань. Поэтому необходима разработка методик, позволяющих исследовать просветление по свету, отраженному от образца, или по люминесценции введенных в образец флуоресцентных объектов.

Результаты также способствуют дальнейшему развитию метода оптического просветления биотканей, применяемого для управления оптическими параметрами тканей для повышения эффективности диагностики и терапии различных заболеваний оптическими методами.

**Достоверность полученных результатов** обеспечивается точностью используемых методов для вычисления коэффициентов диффузии различных ОПА в биоткани, согласованностью полученных численных значений рассматриваемых характеристик с имеющимися экспериментальными результатами, опубликованными в ведущих отечественных и зарубежных изданиях, обсуждением результатов работы на многочисленных международных конференциях.

## **Теоретическая и практическая значимость исследования**

1. Полученные в работе данные говорят о преимуществах использования метода оптического просветления в биомедицине. Так как биоткани представляют собой сильно рассеивающие ткани, то существует необходимость разработки метода неинвазивной диагностики различных заболеваний, таких как диабет, перитонит и др. Рассеяние света в биотканях может быть существенно уменьшено при помощи гиперосмотических иммерсионных жидкостей, так называемых оптически просветляющих агентов (ОПА).

2. Проведенные нами исследования *in vitro* в этой области показали положительные результаты и возможность перенесения данных методик в область исследований *in vivo*, то есть на живых системах. На данный момент, можно сделать вывод о приоритете метода ОКТ при исследовании биообъектов на глубинах до 1 мм, ввиду неинвазивности метода. При исследовании объектов, находящихся на больших глубинах предпочтительным является люминесцентный.

Однако наибольшую точность полученных данных при сравнении с экспериментально полученными данными, найденными в литературе, дает метод коллимированного пропускания.

3. Проведены эксперименты по диффузии раствора глюкозы 40% в мышечную ткань курицы при одновременной регистрации люминесцентных изображений сверху, сквозь ткань, и снизу, регистрируя люминесценцию, неослабленную биотканью. Интегральные интенсивности для обеих камер носят сложный характер зависимости от времени просветления. В то же время, отношение сигналов верхней и нижней камер характеризует только ослабление люминесценции при прохождении сквозь кожу. Нелинейная зависимость ослабления плотности мощности возбуждающего света и квадратичная зависимость интенсивности люминесценции ап-конверсионных наночастиц от мощности возбуждения при этом устраняются.

### **На защиту выносятся следующие положения:**

1. Впервые получены оптические характеристики скелетной мышечной ткани (говядины) в широком диапазоне длин волн.
2. Использована модифицированная методика определения коэффициентов диффузии иммерсионных жидкостей в мышечной ткани *in vitro*, основанная на измерении временных зависимостей коллимированного пропускания образцов и математической модели, учитывающей изменение показателя преломления компонентов ткани, изменение геометрических параметров исследуемых образцов (толщины, площади), вызванных сжатием ткани. Получены значения коэффициентов диффузии глюкозы в скелетной мышце говядины.
3. Впервые была исследована кинетика оптического просветления мышечной ткани по люминесценции ап-конверсионных наночастиц и получен коэффициент диффузии глюкозы в мышечную ткань. Показаны возможности регистрации и определения параметров кинетики просветления образцов мышечной ткани *in vitro* по изменению люминесцентного сигнала от расположенных в глубине образцов ап-конверсионных наночастиц. По зависимости интегральной интенсивности можно сказать, что регистрацию изображений можно описывать приближением коллимированного пропускания.

### **Личный вклад автора диссертации**

Автор лично участвовал в проведении всех экспериментальных исследований, обработке полученных данных, анализе и обсуждении полученных результатов, в написании научных статей и апробации результатов исследований на конференциях.

### **Структура и объем диссертации**

Научно-квалификационная работа состоит из введения, двух глав, заключения и списка цитируемой литературы. Первая глава посвящена

исследованию и измерению оптических свойств мышечной ткани *in vitro*. Во второй главе описан процесс оптического просветления и методика определения коэффициента диффузии с помощью метода ОКТ, метода коллимированного пропускания и люминесценции. Диссертация изложена на 107 страницах, содержит 38 рисунков, 4 таблицы, 39 формул.

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им.Н.Г.Чернышевского».

### **Содержание работы**

**Во введении** обоснована актуальность выбранной темы диссертации, определена ее цель и основные задачи, описана научная новизна и практическая значимость работы, представлены основные результаты, полученные в ходе написания работы, и сформулированы защищаемые положения, выносимые на защиту.

**Первая глава** носит обзорный характер и дает представления о строении скелетной мышечной ткани, об оптических характеристиках мышечной ткани (говядины).

Описан метод определения оптических свойств биотканей: одним из непрямых методов определения оптических свойств биотканей, обычно используемый в исследованиях *in vitro*, является метод спектроскопии с использованием интегрирующих сфер, который использовался многими исследователями для определения оптических характеристик исследуемых объектов. Данным методом измеряются коэффициенты диффузного отражения  $R_d$ , полного пропускания  $T_t$  и коллимированного пропускания  $T_c$ . В общем случае из этих данных можно получить коэффициент поглощения  $\mu_a$ , коэффициент рассеяния  $\mu_s$  и фактор анизотропии  $g$  с использованием одного из методов, решения обратных задач основанных на теории переноса излучения.

Оптические свойства биологических тканей полностью характеризуются следующими параметрами: коэффициентом поглощения  $\mu_a$ , коэффициентом

рассеяния  $\mu_s$ , транспортным коэффициентом рассеяния  $\mu'_s$  и фактором анизотропии рассеяния  $g$ .

На рисунке 1 представлены типичные спектры экспериментально измеренных оптических характеристик мышечной ткани.  $R_d$  - диффузионное отражение,  $T_t$  – полное пропускание,  $T_c$  – коллимированное пропускание.

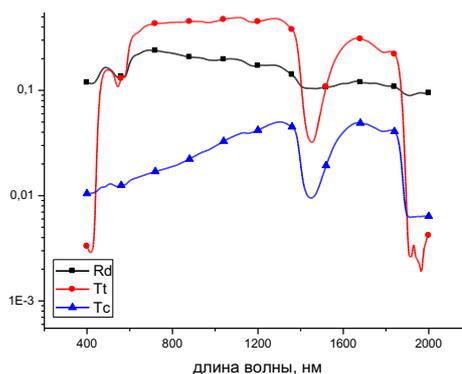


Рисунок 1. Типичные спектры экспериментально измеренных оптических характеристик мышечной ткани толщиной около миллиметра.  $R_d$  - диффузионное отражение,  $T_t$  – полное пропускание,  $T_c$  – коллимированное пропускание

На рисунках 2 - 5 показаны значения коэффициента поглощения, транспортного коэффициента рассеяния, коэффициента рассеяния и спектральная зависимость фактора анизотропии рассеяния мышечной ткани, рассчитанные с помощью инверсного метода Монте-Карло на основе экспериментально измеренных значений коэффициентов диффузного отражения и полного и коллимированного пропускания.

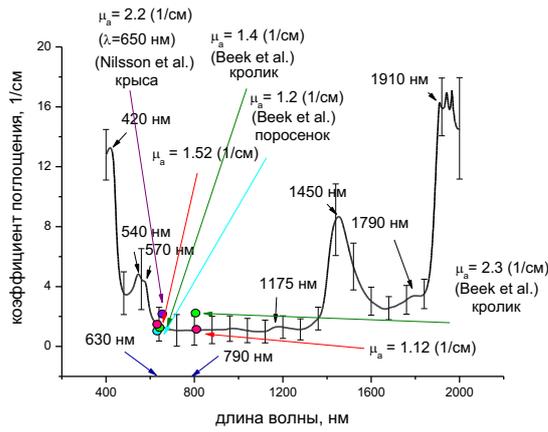


Рисунок 2. Коэффициент поглощения мышечной ткани. ИС, ИМК, усреднение по 20 образцам

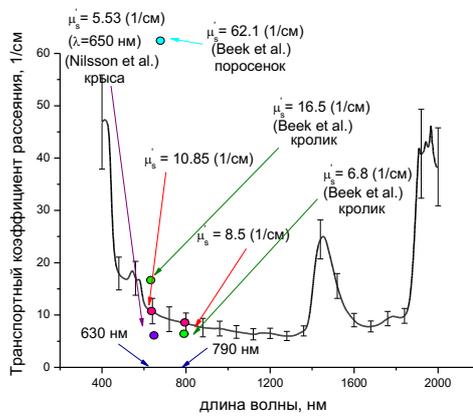


Рисунок 3. Транспортный коэффициент рассеяния  $\mu'_s = \mu_s(1-g)$  мышечной ткани.

ИС, ИМК, усреднение по 20 образцам

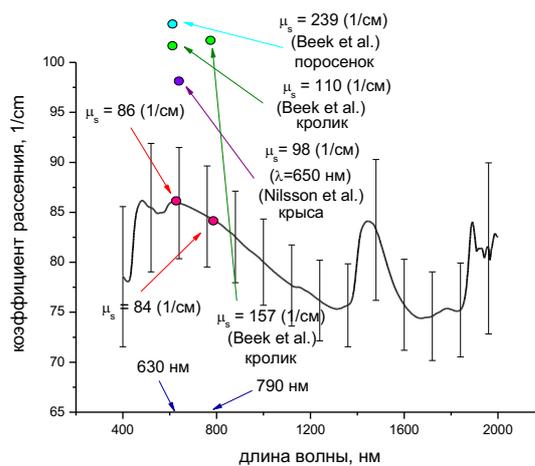


Рисунок 4. Коэффициент рассеяния мышечной ткани. ИС, ИМК, усреднение по 20 образцам

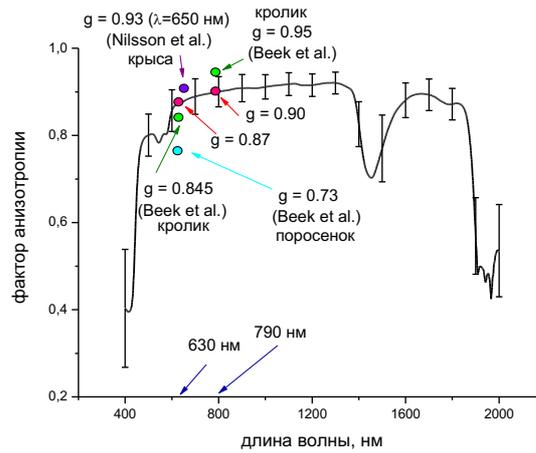


Рисунок 5. Зависимость фактора анизотропии рассеяния мышечной ткани от длины волны. ИС, ИМК, усреднение по 20 образам

На основании представленных оптических параметров в диапазоне длин волн 400-2000 нм можно оценить глубину проникновения света в биоткани с помощью уравнения  $\delta = 1/\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$ . На рисунке 6 красными точками показаны значения глубины проникновения света нескольких длин волн, используемых в диагностике и фотодинамической терапии, в мышечную ткань.

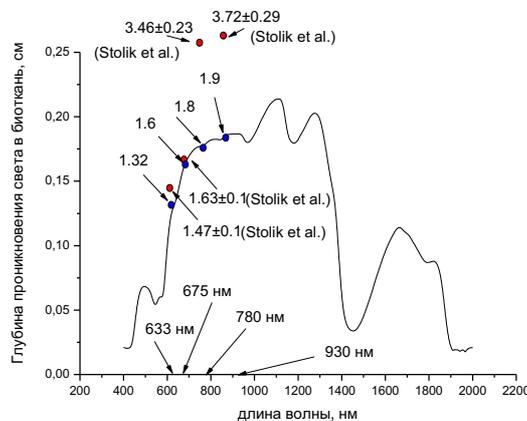


Рисунок 6. Зависимость глубины проникновения света в мышечную ткань *in vitro* от длины волны. ИС, ИМК, усреднение по 20 образам

**Глава 2** называется «Оптическое просветление биоткани и методика оценки коэффициента диффузии 40% раствора глюкозы в мышечной ткани *in vitro*». В пункте 1 описаны общие сведения об оптическом просветлении

биологических тканей и методика оценки коэффициента диффузии ОПА (оптически просветляющих агентов) в биоткань.

В пункте 2, 3 и 4 для проведения оценки коэффициента диффузии 40% раствора глюкозы в мышечной ткани в работе нами были использованы методы оптической когерентной томографии (ОКТ), коллимированного пропускания и люминесценции.

Измерение спектров коллимированного пропускания проводилось на многоканальном спектрометре USB4000 (Ocean Optics, США) в спектральном диапазоне 400-1000 нм. Источником излучения служила галогенная лампа HL-2000 (Ocean Optics, США). Метод оценки коэффициентов диффузии ОПА в биотканях основан на измерении кинетики изменения коллимированного пропускания образцов биоткани, помещенных в раствор просветляющей жидкости.

В качестве оптического просветляющего агента (ОПА) был использован 40% водный раствор глюкозы. В качестве исследуемой биоткани была взята *in vitro* мышечная ткань (говядина). Так как мышечная ткань представляет собой волокнистую структуру, нам еще предстоит выяснить, как протекает процесс просветления в зависимости от направления процесса замещения внутритканевой жидкости на ОПА. В наших экспериментах срезы были подготовлены по продольному направлению волокон без повреждения структуры ткани. 10 образцов были отрезаны вдоль по направлению волокон.

Измерения веса, толщины и площади выполнялись вручную. Вес образцов фиксировался с помощью электронных весов SCIENTECH (SA 210, USA) с точностью  $\pm 1$  мг. Толщина измерялась с помощью микрометра с точностью  $\pm 5$  мкм, для чего образцы помещались между двумя предметными стеклами и в таком статичном состоянии проводились измерения, после чего толщина стекол вычиталась. Толщина измерялась в пяти точках, после чего результаты усреднялись. Измерение таких параметров, как ширина и длина образца необходимо для подсчета площади образца. Для оценки площади

образца сначала изображение обрабатывалось с помощью функции READ\_HLS\_HUE программного обеспечения MathCad (Parametric Technology Corporation, США).

Спектры коллимированного пропускания образцов мышечной ткани измерялись при воздействии на них 40%-раствора глюкозы. Типичные спектры коллимированного пропускания образца мышечной ткани, измеренные во время иммерсии в 40%-растворе глюкозы, представлены на рисунке 16а. Как видно из приведенного спектра, образец слабо пропускает видимый свет в первые минуты измерений из-за сильного рассеяния света в ткани. В последующие минуты наблюдается достаточно быстрый рост коллимированного пропускания и примерно через 40-60 минут (в зависимости от толщины образцов) после начала измерений стабилизируется и дальнейшего увеличения пропускания не наблюдается. Полученные данные были использованы для анализа кинетики изменения коллимированного пропускания образца мышечной ткани, погруженного в 40%-раствор глюкозы (рис. 7б).

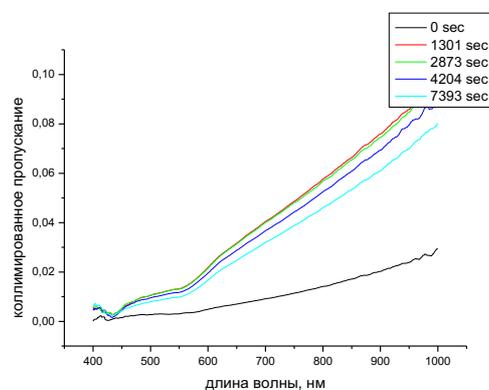


Рисунок 7. а) Спектры коллимированного пропускания образца мышечной ткани, помещенного в водный 40%-раствор глюкозы, измеренные в различные моменты времени

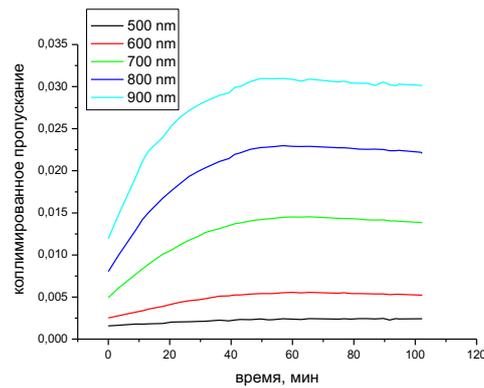


Рисунок 7. б) Кинетика изменения коллимированного пропускания образца мышечной ткани на разных длинах волн, помещенного в водный 40%-раствор глюкозы.

Полученные расчетные временные зависимости коллимированного пропускания образцов мышечной ткани при их иммерсии в 40%-растворе глюкозы использовались для вычисления коэффициентов диффузии глюкозы в мышечную ткань *in vitro*, которое было выполнено с использованием алгоритма, описанного выше. Среднее значение коэффициента диффузии ( $D$ ) глюкозы в мышце получено и принимает значение  $\langle D \rangle = (2,07 \pm 0,14) \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{сек}$ .

Второй метод измерения характеристик, использованный для измерения коэффициента диффузии - метод ОКТ. Основной частью систем ОКТ является двухлучевой интерферометр, освещаемый широкополосным источником излучения. Диффузия раствора глюкозы описывалась в рамках теории свободной диффузии. Эксперименты проводились с помощью системы спектральной ОКТ Spectral Radar OCT (THORLABS, США). Исследования проводились на 10 образцах мышечной ткани (говядина, мякоть) *in vitro*. Перед началом эксперимента цельная мышечная ткань разрезалась на образцы площадью около  $20 \times 15 \text{ мм}^2$ . Толщина образцов биоткани измерялась микрометром, для чего образец помещался между двумя предметными стеклами, и измерения выполнялись в нескольких его точках. Точность каждого измерения  $\pm 50 \text{ мкм}$ . Полученные значения усреднялись. Среднее значение толщины исследуемого образца до воздействия  $1,9 \pm 0,18 \text{ мм}$ , после проведения измерений  $2,63 \pm 0,54 \text{ мм}$ .

Образцы мышечной ткани помещались в кювету, заполненную водным 40% раствором глюкозы, а затем на предметный столик экспериментальной установки (ОКТ).

Рисунки 8 и 9 представляют собой изображения мышечной ткани *in vitro*, полученные с помощью ОКТ. На рисунках видно, что под действием иммерсионной жидкости происходит просветление образца мышечной ткани, вследствие чего становится видна его противоположная граница, что хорошо заметно на рисунке 9.

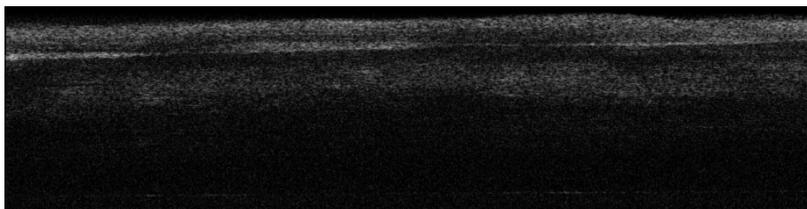


Рисунок 8. Образец мышечной ткани *in vitro* до просветления

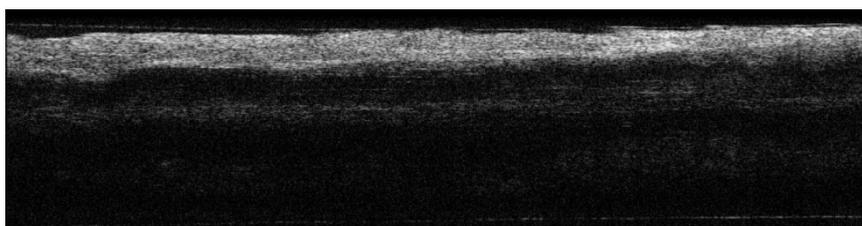


Рисунок 9. Образец мышечной ткани *in vitro* после просветления 40% раствором глюкозы

Значения сигнала ОКТ от мышечной ткани *in vitro* до и после просветления 40% раствором глюкозы представлен на рисунке 10. Из рисунка видно, что кривая, соответствующая мышечной ткани после просветления, имеет меньший угол наклона, чем та, которая соответствует мышечной ткани до ее взаимодействия с просветляющим агентом. Отсюда следует, что после просветления ПА коэффициент ослабления уменьшается.

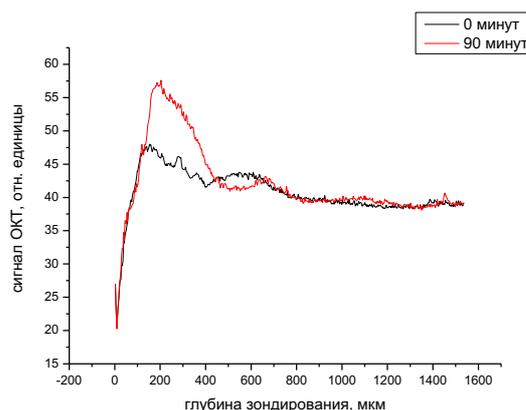


Рисунок 10. Профиль распределения сигнала ОКТ по глубине мышечной ткани *in vitro* до и после просветления 40 % раствором глюкозы

При обработке наших экспериментальных данных получили, что среднее значение коэффициента диффузии глюкозы в мышечной ткани составляет  $(1,89 \pm 0,35) \times 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/сек.

В рамках данной работы нами был использован еще и метод люминесценции как метод регистрации оптического просветления биотканей. Нами проведено исследование просветления мышечной ткани по люминесценции ап-конверсионных наночастиц. Показаны возможности регистрации и определения динамики просветления образцов мышечной ткани *in vitro* по изменению люминесцентного сигнала от расположенных в глубине образцов ап-конверсионных наночастиц. Для обработки брались полученные изображения биоткани с верхней и нижней камер и рассчитывались интегральные интенсивности люминесценции.

Ап-конверсионные наночастицы располагались под образцами в виде слоя с поперечным размером 2 см толщиной 0,04-0,06 мм. Возбуждение проводилось сквозь рассеивающие образцы. При помощи программы ImageJ определялись интенсивности люминесцентных изображений, и строилась зависимость интенсивности от времени просветления образца.

Зависимости интегральной интенсивности люминесценции (верхней и нижней камер) от времени просветления показаны на рисунках 11, 12.

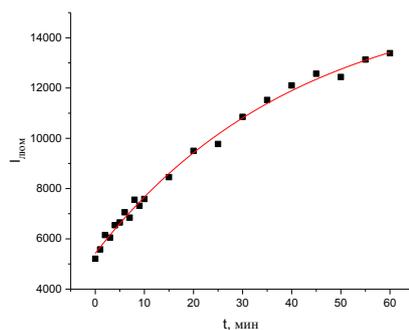


Рисунок 11. Зависимость интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой верхней камерой от времени просветления.

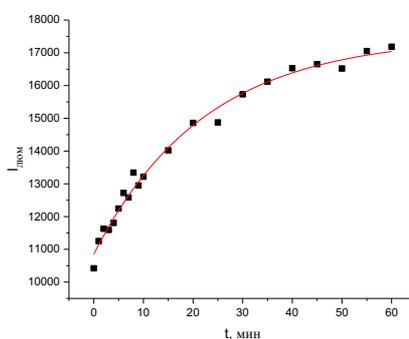


Рисунок 12. Зависимость интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой нижней камерой от времени просветления.

Отношение, т.е. динамика просветления на длине волны люминесценции и корень квадратный из интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой нижней камерой, а так же экстраполяция данных экспоненциальной зависимостью показаны на рисунках 13, 14.

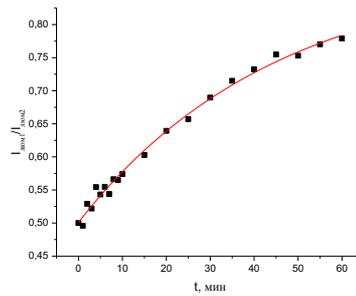


Рисунок 13. Изменение во времени отношения интегральных интенсивностей, регистрируемых верхней и нижней камерами.

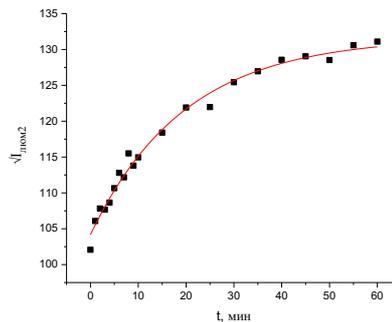


Рисунок 14. Корень квадратный из интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой нижней камерой от времени просветления.

Интегральные интенсивности для обеих камер носят сложный характер зависимости от времени просветления. В то же время, отношение сигналов верхней и нижней камер характеризует только ослабление люминесценции при прохождении сквозь образец. Нелинейная зависимость интенсивности возбуждающего света, ослабленного вследствие прохождения через образец, и квадратичная зависимость люминесценции наночастиц от плотности мощности возбуждения при этом устраняются. Полученные зависимости (рисунки 13 - 14) позволяют рассчитать коэффициент диффузии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные выводы по данной работе заключаются в следующем:

1. Выполнено измерение оптических характеристик мышечной ткани *in vitro* в диапазоне длин волн 400-2000 нм, и рассчитаны коэффициенты

поглощения, рассеяния и фактор анизотропии рассеяния исследуемой мышечной ткани;

2. Исследована кинетика изменения геометрических параметров скелетной мышечной биоткани в ходе проведения экспериментов по просветлению;

3. На основе ОКТ измерений выполнена оценка коэффициента диффузии глюкозы в мышечной ткани. Среднее значение коэффициента диффузии составило  $(1,25 \pm 0,35) \times 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/сек;

4. На основе метода коллимированного пропускания выполнена оценка коэффициента диффузии глюкозы в мышечной ткани. Среднее значение коэффициента диффузии составило  $(2,07 \pm 0,14) \times 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/сек;

5. С помощью люминесценции ап-конверсионных наночастиц была выполнена оценка скорости диффузии глюкозы в мышечную ткань. Отношение интегральных интенсивностей, регистрируемых верхней и нижней камерами равно  $(5,78 \pm 3,1) \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/сек.

### **Апробация работы**

Основные результаты работы докладывались на конференциях: Saratov Fall Meeting XIV International School for Young Scientists and Students on Optics, Laser Physics & Biophotonics (Saratov, 2010), Saratov Fall Meeting XV International School for Junior Scientists and Students on Optics, Laser Physics & Biophotonics (Saratov, 2011), I Всероссийской Неделе Науки с международным участием, посвященной дню Российской науки, проведенной в СГМУ им. В. И. Разумовского, заняв 3 место в 73-й студенческой межрегиональной научно – практической конференции «Молодые ученые - здравоохранению» (Саратов, 2012), Saratov Fall Meeting 1st International Symposium on Optics and Biophotonics (Saratov, 2013), The 5th International Conference for Young Scientists «Presenting Academic Achievements to the world» (Saratov, 2014), Saratov Fall Meeting, International

Symposium on Optics and Biophotonics II, III, X (Saratov, 2014, 2015, 2017),  
Current Trends in Cancer Theranostics, (2015, Jena, Germany).

**Публикации автора по теме диссертации в журналах**

1. Козинцева М.Д., Волкова Е.К., Конюхова Ю.Г., Кочубей В.И.  
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СТРУКТУРЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ С  
ПОМОЩЬЮ АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ // В сборнике:  
XII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция  
научных работ по оптике и лазерной физике, 2014 Сборник  
конкурсных докладов. 2014. С. 387-394.

**В том числе включенных в перечень ВАК:**

2. Kozintseva M.D., Bashkatov A.N., Kochubey V.I., Genina E.A., Gorodkov  
S.Yu., Morozov D.A., Tuchin V.V. Optical properties of parietal peritoneum  
in the spectral range 350-2500 nm // in Saratov Fall Meeting 2013: Optical  
Technologies in Biophysics and Medicine XV; and Laser Physics and  
Photonics XV, edited by Elina A. Genina, Vladimir L. Derbov, Igor V.  
Meglinski, Valery V. Tuchin, Proc. SPIE, Vol. 9031, 90310E, 2014.
3. Volkova E., Skaptsov A., Konyukhova J., Kochubey V., Kozintseva M.  
FLUORESCENT ZNCDS NANOPARTICLES FOR  
NANOTHERMOMETRY OF BIOLOGICAL TISSUES // Progress in  
Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE Optical Technologies  
in Biophysics and Medicine XVI; Laser Physics and Photonics XVI; and  
Computational Biophysics. 2014. C. 94480V.
4. Volkova E.K., Yanina I.Y., Genina E.A., Dolotov L.E., Bashkatov A.N.,  
Genin V.D., Konyukhova J.G., Kozintseva M.D., Speranskaya E., Lomova  
M., Terentyuk G.S., Goryacheva I.Y., Kochubey V.I., Gorin D.A., Tuchin  
V.V., Sukhorukov G.B., Popov A.P., Bucharskaya A.B., Navolokin N.A.

- LUMINESCENCE MONITORING OF PARTICLE DELIVERY INTO RAT SKIN IN VIVO // Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 4. Сер. "Clinical and Biomedical Spectroscopy and Imaging IV" 2015. С. 95371P.
5. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Козинцева М.Д., Кочубей В.И., Городков С.Ю., Тучин В.В. ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ БРЮШИНЫ В СПЕКТРАЛЬНОМ ДИАПАЗОНЕ 350–2500 НМ // Оптика и спектроскопия. 2016. Т. 120. № 1. С. 6-14. (Bashkatov A.N., Genina E.A., Kozintseva M.D., Kochubei V.I., Tuchin V.V., Gorodkov S.Y. OPTICAL PROPERTIES OF PERITONEAL BIOLOGICAL TISSUES IN THE SPECTRAL RANGE OF 350–2500 nm // Optics and Spectroscopy. 2016. Т. 120. № 1. С. 1-8.)
  6. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Козинцева М.Д., Тучин В.В. ОКТИССЛЕДОВАНИЕ ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ IN VITRO С ПОМОЩЬЮ 40%-НОГО РАСТВОРА ГЛЮКОЗЫ // Оптика и спектроскопия. 2016. Т. 120. № 1. С. 27-35. (OCT STUDY OF OPTICAL CLEARING OF MUSCLE TISSUE IN VITRO WITH 40% GLUCOSE SOLUTION Genina E.A., Bashkatov A.N., Kozintseva M.D., Tuchin V.V. Optics and Spectroscopy. 2016. Т. 120. № 1. С. 20-27).
  7. Kozintseva M.D., Volkova E.K., Konyukhova J.G., Kochubey V.I., Zabenkov I.V. LUMINESCENCE MONITORING OF TEMPORAL CHANGES AND EFFICIENCY OF TISSUE OPTICAL CLEARING BY NIR-EXCITED UPCONVERSION PARTICLES // BioNanoScience. 2016. Т. 6. № 2. С. 169-175.