

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

**Исследование молекулярного механизма иммерсионного оптического
просветления биотканей**

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

аспиранта 4 курса

направления 03.06.01 «Физика и астрономия»

физического факультета

Чернавиной Марии Леонидовны

Научный руководитель

профессор кафедры оптики и биофотоники

д.ф.-м.н., профессор

_____ Березин К.В.

Саратов 2019

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

В настоящее время диагностика и терапия заболеваний, а также проведение лазерных операций с помощью современных методов фотомедицины и биомедицинской оптики, в том числе оптически-когерентной томографии, связано с определенными трудностями, которые возникают из-за свойств кожи и многих другие биотканей, которые обладают сильным рассеянием света в видимой и ближней инфракрасной области. Это рассеяние возникает за счет неоднородностей показателей преломления на границах различных макромолекулярных структур, в частности на коллагеновых волокнах, которые преимущественно ответственны за рассеяние света в коже (J.M. Hirshburg, 2009). Эти трудности преодолеваются путем введения в ткань биосовместимых молекулярных агентов, которые в той или иной степени способствуют ее оптическому просветлению (Tuchin V. V., 2006, 2009, D. Zhu, K.V. Larin, Q. Luo, V.V. Tuchin, 2013, E.A. Genina, A.N. Bashkatov, Yu.P. Sinichkin, I.Yu. Yanina, V.V. Tuchin, 2015). Экспериментальным *in vivo* и *in vitro* исследованиям просветления различных типов биотканей посвящено довольно много работ (E.A.Генина, А.Н.Башкатов, В.И.Кочубей, В.В.Тучин, 2005, Э.А. Генина, А.Н. Башкатов, Ю.П. Синичкин, В.В. Тучин, 2006, A.N. Bashkatov, A.N. Korolevich, V.V. Tuchin, Yu.P. Sinichkin, E.A. Genina, M.M. Stolnitz, N.S. Dubina, S.I. Vecherinski, and M.S. Belsley, 2006, E. A. Genina, A.N. Bashkatov, and V.V. Tuchin, 2008, Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V., Altshuler G.B., 2009, X. Wen, V. V. Tuchin, Q. Luo and D. Zhu, 2009, N. Sudheendran, M. Mohamed, M.G. Ghosn, V.V. Tuchin, and K.V. Larin, 2010), что говорит об актуальности проблемы. В работах (G. V. Simonenko, E. S. Kirillova, V. V. Tuchin, 2009, А.В. Папаев, Г.В. Симоненко, В.В. Тучин, 2004, Симоненко Г.В., Папаев А.В., Тучин В.В., 2007) предложены математические модели распространения света в биотканях. В работе (Tuchina D.K., Shi R., Bashkatov A.N., Genina E.A., Zhu D., Luo Q. and Tuchin V.V., 2015) рассмотрено влияние модельного сахарного диабета на оптическое просветления кожи лабораторных мышей. В работе (X. Wen, Z. Mao,

Z. Han, V. V. Tuchin, D. Zhu, 2010) путем визуализации с помощью второй оптической гармоники (SHG-imaging) исследовался механизм оптического просветления кожи при использовании глицерина в качестве просветляющего агента. Тем не менее механизмы оптического просветления на молекулярном уровне до сих пор однозначно не определены, а изучению молекулярных процессов, ответственных за оптическое просветление кожи, посвящены единичные работы (J.M. Hirshburg, 2009, J. M. Hirshburg, K. M. Ravikumar, W. Hwang, and A. T. Yeh, 2010, W. Feng, R. Shi, N. Ma, D. K. Tuchina, V. V. Tuchin, D. Zhu, 2016). В работе (T. Yu, X. Wen, V. V. Tuchin, Q. Luo, D. Zhu, 2011) представлены результаты исследований дегидратирующих свойств просветляющих агентов и отмечается, что дегидратация - это только один из возможных механизмов, приводящих к просветлению биотканей. Проведение исследований в этой области открывает путь к пониманию сути процессов оптического просветления на молекулярном уровне, что в свою очередь позволит применять новые эффективные просветляющие агенты с заданными свойствами.

Целью диссертационной работы является расшифровка молекулярного механизма иммерсионного оптического просветления методами классической молекулярной динамики, молекулярного докинга и квантовой химии.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Провести конформационный анализ иммерсионных агентов-спиртов (1,2 и 1,3-пропандиол, этиленгликоль, глицерол, ксилитол и сорбитол) в изолированном состоянии и вычислить значения зарядов на атомах по Малликену методом DFT/B3LYP/6 - 311+G(d,p) с использованием программы Gaussian.
2. Методами классической молекулярной динамики, молекулярного докинга и квантовой химии (PM6 и DFT/B3LYP) провести исследования взаимодействия шести просветляющих иммерсионных агентов (1,2 и 1,3-

пропандиол, этиленгликоль, глицерол, ксилитол и сорбитол) с миметическими пептидом коллагена (GPH)₃.

3. Исследовать вероятность образования водородной связи между пептидом коллагена ((GPH)₃)₁₀ и выбранными молекулярными агентами и оценить время их пребывания в водородосвязанном состоянии с коллагеном, а также влияние, которое они оказывают на его структуру.
4. Определить значения энергии межмолекулярного взаимодействия выбранных просветляющих агентов с коллагеном.
5. С помощью метода ОКТ получить результаты оптического иммерсионного просветления кожи человека *in vivo* рядом водных растворов иммерсионных агентов (моносахаров рибозы, глюкоза и фруктозы, а также трехатомного спирта – глицерола).

Предмет исследования.

Рассеяние света видимого и ближнего ИК диапазона в коже человека и крысы.

Объект исследования.

Содержащийся в коже человека и крысы белок коллаген и просветляющие кожу иммерсионные агенты (водные растворы спиртов и моносахаров).

Методология и методы исследования.

Классическая молекулярная динамика, молекулярный докинг, квантовая химия и ОКТ кожи человека *in vivo*.

Достоверность научных результатов.

Достоверность научных результатов обеспечивается комплексным

подходом к проведению исследований, сочетающим эксперимент и теорию, использованием физически корректных моделей, обоснованных методов и приближений, согласованием теоретических и экспериментальных данных по иммерсионному оптическому просветлению. Достоверность полученных результатов подтверждена отсутствием противоречий между ними и результатами, опубликованными другими авторами.

Научная новизна работы:

- Впервые были получены значения энергий взаимодействия иммерсионных агентов (1,2-, 1,3-пропиленгликоль, этиленгликоль, глицерол, ксилитол, сорбитол) с фибриллярным белком коллагеном.
- Впервые была получена зависимость потенциала оптического просветления от энергии взаимодействия вышеперечисленных иммерсионных агентов с фибриллярным белком коллагеном.
- Впервые был получен коэффициент соответствия, который связывает потенциал оптического просветления и энергию взаимодействия вышеуказанных иммерсионных агентов с фибриллярным белком коллагеном.
- Впервые установлена нелинейная зависимость эффективности оптического просветления от концентрации раствора иммерсионного агента.

Научная и практическая значимость работы.

В результате проведенной работы был получен ранее неизвестный коэффициент соответствия, который показывает зависимость потенциала оптического просветления и энергии взаимодействия вышеуказанных иммерсионных агентов с фибриллярным белком коллагеном, позволяющей теоретически предсказывать потенциал оптического просветления для любых низкомолекулярных иммерсионных агентов. Также теоретически установлена нелинейная зависимость эффективности оптического просветления от концентрации раствора иммерсионного агента.

Результаты способствуют развитию метода оптического просветления биотканей, используемого для управления оптическими параметрами тканей,

также способствуют повышению эффективности диагностики и терапии заболеваний с помощью оптических методов.

Основные результаты и положения, выносимые на защиту:

1. Установлена корреляция между энергиями взаимодействия ряда иммерсионных агентов с белком коллагеном и эффективностью оптического просветления кожи человека и крысы.
2. Установлено, что энергия взаимодействия между иммерсионными агентами и белком коллагена, зависит не только от числа образованных межмолекулярных водородных связей, но и от степени взаимной структурной подстройки агента и молекулярного кармана коллагена, а также от энергетической конкуренции при образовании внутримолекулярных и межмолекулярных водородных связей.
3. Вычислены значения коэффициентов пропорциональности между энергиями межмолекулярных взаимодействий ряда иммерсионных агентов с белком коллагеном и эффективностью оптического просветления позволяют в рамках построенных моделей предсказывать эффективность оптического просветления кожи человека и крысы для произвольных низкомолекулярных систем.
4. Теоретически установлена нелинейная зависимость эффективности оптического просветления биотканей от концентрации раствора иммерсионного агента.
5. С помощью построенных молекулярных моделей возможно предсказывать эффективность оптического просветления биоткани иммерсионными агентами.

Научно-квалификационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения и списка цитируемой литературы, состоящего из 100 наименований. Полный объем работы составляет 96 страниц, содержит 16 рисунков, 4 таблицы, 66 формул.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные выводы по данной работе заключаются в следующем: найдена связь между энергией взаимодействия белка коллагена с иммерсионными агентами и значением модуля средней скорости изменения коэффициента рассеяния на выбранном временном отрезке. Получены квантово-механические модели, позволяющие предсказывать эффективность оптического просветления кожи человека и крысы для любых низкомолекулярных иммерсионных агентов. Найдены численная связь между энергией межмолекулярного взаимодействия белка коллагена с иммерсионными агентами и эффективностью оптического просветления. Установлено, что энергия взаимодействия между иммерсионными агентами и белком коллагена, зависит не только от числа образованных межмолекулярных водородных связей, но и от степени взаимной структурной подстройки агента и молекулярного кармана коллагена, а также от энергетической конкуренции при образовании внутримолекулярных и межмолекулярных водородных связей. Теоретически установлена нелинейная зависимость эффективности оптического просветления биотканей от концентрации раствора иммерсионного агента.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на 3 международных и российских мероприятиях, в том числе: XVIII, XIX, XX международных симпозиумах оптике и биофотоники «Saratov Fall Meeting - SFM» (Саратов, 2016, 2017, 2018).

Публикации. По теме работы опубликовано 8 печатных работ, 5 из которых индексируются международными информационно-аналитическими системами научного цитирования Web of Science и Scopus, 1 издана в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 2 - в трудах конференций.

1. Bashkatov A.N., Berezin K.V., Dvoretzkiy K.N., Chernavina M.L., Genina E.A., Genin V.D., Kochubey V.I., Lazareva E.N., Pravdin A.B., Shvachkina

- M.E., Timoshina P.A., Tuchina D.K., Yakovlev D.D., Yakovlev D.A., Yanina I.Yu., Zhernovaya O.S., Tuchin V.V. Measurement of tissue optical properties in the context of tissue optical clearing // J. Biomed. Opt. – 2018. – T.23. – №9. – C.1-31. DOI: 10.1117/1.JBO.23.9.091416.
2. Berezin K.V., Dvoretzki K.N., Chernavina M.L., Likhter A.M., Smirnov V.V., Shagautdinova I.T., Antonova E.M., Stepanovich E.Yu., Dzhalambetova E.A., Tuchin V.V. Molecular modeling of immersion optical clearing of biological tissues, Journal of Molecular Modeling. – 2018. – 24. – №2. – p.45. DOI: 10.1007/s00894-018-3584-0)
 3. Berezin K. V., Dvoretzkiy K. N. , Chernavina M. L., Nechaev V. V., Likhter A. M., Shagautdinova I. T., Stepanovich E. Yu., Grechukhina O. N., Tuchin V. V. Studying the mechanism of tissue optical clearing using the method of molecular dynamics // Proceedings of SPIE 10336, Saratov Fall Meeting 2016: Optical Technologies in Biophysics and Medicine. – 2017. – XVIII. – 103360J. DOI: 10.1117/12.2267979.
 4. Dvoretzkiy K.N., Berezin K.V., Chernavina M.L., Likhter A.M., Shagautdinova I.T., Antonova E.M., Rybakov A.V., Grechukhina O.N., Tuchin V.V. Molecular modeling of the process of reversible dissolution of the collagen protein under the action of tissue-clearing agents // Proceedings of SPIE 10716, Saratov Fall Meeting 2017: Optical Technologies in Biophysics and Medicine. – XIX. – 2018. – 1071624. DOI: 10.1117/12.2311866.
 5. Berezin K. V., Dvoretzkiy K. N., Chernavina M. L., Nechaev V. V., Likhter A. M., Smirnov V. V., Antonova E. M., Grechukhina O. N., Kartashov M. V. , Tuchin V. V. In vivo optical clearing of human skin under the effect of aqueous solutions of some monosaccharides // Proc. SPIE 11066, Saratov Fall Meeting 2018: Laser Physics, Photonic Technologies, and Molecular Modeling. – 2019. – 110661D. DOI: 10.1117/12.2523317

6. Дворецкий К.Н., Березин К.В., Чернавина М.Л., Лихтер А.М., Шагаутдинова И.Т., Гречушкина О.Н., Антонова Е.М., Тучин В.В. Молекулярное моделирование постдиффузионной стадии иммерсионного оптического просветления приповерхностных слоев биотканей // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2018. – Т. 12. – № 5. – С. 961-967. DOI: 10.1134/S1027451018050233
7. Березин К.В., Дворецкий К.Н., Чернавина М.Л., Тучин В.В. Изучение молекулярного механизма постдиффузионной стадии иммерсионного оптического просветления кожи методами классической молекулярной динамики и квантовой химии // Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2017: материалы Международного симпозиума и Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2017 / под ред. Г. В. Симоненко, В. В. Тучина. – Саратов: Изд - во «Новый ветер». – 2017. – с. 6-16. ISBN 978-5-98116-224-4
8. Новоселова А.В., Нечаев В.В., Дворецкий К.Н., Чернавина М.Л., Березин К.В. Интерпретация КР спектра кристаллической d-рибозы на основе концепции локальной симметрии // Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2017: материалы Международного симпозиума и Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2017 / под ред. Г. В. Симоненко, В. В. Тучина. – Саратов: Изд - во «Новый ветер». – 2017. – с.76-80. ISBN 978-5-98116-224-4