

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

Кафедра оптики и биофотоники

**Особенности оптического просветления биологических тканей в
ультрафиолетовом диапазоне длин волн**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ ДИПЛОМНОЙ РАБОТЫ

Студента 2 курса 2024 группы
направления (специальности) 03.04.02 Физика
Института физики
Елизарова Арсения Данииловича

Научный руководитель
д.ф.-м.н.,
член-корреспондент РАН,
профессор



В. В. Тучин

подпись, дата

Зав. кафедрой
д.ф.-м.н.,
член-корреспондент РАН,
профессор



В. В. Тучин

подпись, дата

Саратов 2024 год

Введение

В настоящее время оптические методы исследования играют важную роль в современной медицине. В медицинской диагностике активно применяются такие методы, как оптическая когерентная томография (ОКТ), флуоресцентная спектроскопия, конфокальная микроскопия, оптическая диффузионная томография. Также все чаще применяются методы лазерной терапии и хирургии, в частности, в офтальмологии [1]. Биологические ткани представляют собой оптически неоднородные поглощающие среды, средний показатель преломления которых выше, чем у воздуха [2]. Благодаря этому часть падающего излучения отражается на границе между биологической тканью и воздухом, а оставшаяся часть проникает глубоко в биологическую ткань. Многократное преломление светового потока внутри биологической ткани, из-за большого количества границ раздела внутренних компонентов (клеток, клеточных органелл и различных волокнистых (волокнистых) структур) приводит к многократному рассеянию света, проходящего через ткань. Размер, форма и плотность этих структур, их показатель преломления относительно окружающей среды, поляризация падающего света — все это играет важную роль в распространении света через биологические ткани.

Ультрафиолетовое (УФ) излучение — это электромагнитное излучение, которое лежит в спектральном диапазоне между видимым и рентгеновским излучением и характеризуется длиной волны от $\lambda_{min} \sim 10$ нм до $\lambda_{max} \sim 380$ нм [3].

Ультрафиолетовому излучению (УФИ) принадлежит область излучения с длинами волн от 10 до 390 нм, которая располагается между областями рентгеновского ($\lambda=0,0001-10$ нм) и видимого излучения ($\lambda=390-790$ нм). Область УФИ, подразделяется на следующие диапазоны: А ($\lambda=315-390$ нм), В ($\lambda=280-315$ нм), С ($\lambda=200-280$ нм) (в ряде источников диапазон А области определяется от 320 до 400 нм, а В области соответственно 290–320 нм). Область УФИ ($\lambda=200-10$ нм), называют также вакуумной областью.

Название вакуумной области связано с тем, что электромагнитное излучение с указанным диапазоном длин волн должно поглощаться атмосферой [4].

В настоящее время УФИ находит активное применение в различных отраслях деятельности человека, например в медицине [5], научно-медицинских исследованиях [6] и т. д.

Актуальность данной работы следует из высокой распространенности УФ- исследования биологических сред и проблемы доставки излучения через биологические ткани из-за их сильного рассеяния и поглощения, вследствие неоднородного строения и наличия сильно поглощающих свет хромофоров.

Целью дипломной работы является исследование эффективности оптического просветления биологической ткани в УФ и видимом диапазонах длин волн, их сравнение и анализ цветовых изменений, вследствие оптического просветления.

Для реализации цели были решены следующие задачи:

- подготовка оптического просветляющего агента (ОПА), в качестве ОПА был использован глицерин ЧДА ГОСТ 6259-76 99,5%
- подготовка срезов биологической ткани (яичники кошек в фолликулярной и лютеиновой фазах, а также образцы, пораженные синдромом поликистозных яичников)
- получение спектров диффузного отражения и полного пропускания образцов до и после взаимодействия с ОПА
- обработка экспериментально полученных спектров
- расчет эффективности просветления образцов
- расчет цветовых характеристик образцов до и после взаимодействия с ОПА

Основное содержание работы

В данной работе были исследованы срезы яичников кошек (1-7 лет), полученных после овариоэктомии, проведенной в ветеринарном госпитале Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова. Были использованы срезы в трех состояниях: фолликулярная фаза яичника, лютеиновая фаза яичника и срезы яичников пораженных синдромом поликистозных яичников (поликистоз).

Экспериментальная установка

Образцы помещались на стенку кварцевой кюветы так, что эпителиальная оболочка (внешняя сторона образца) была обращена к внутренней части кюветы, куда заливался ОПА, а внутренняя сторона образца была направлена на входной луч источника спектрофотометра (рис. 1). С использованием спектрофотометра Shimadzu UV-2550 с интегрирующей сферой диаметром 10мм были получены спектры полного пропускания и диффузного отражения образцов ткани до и после взаимодействия с ОПА. Во время взаимодействия с ОПА снимались спектры диффузного отражения образцов в интервале от $\lambda_{min} \sim 200$ нм до $\lambda_{max} \sim 800$ нм. с шагом 2 нм. Измерения производились в моменты времени 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 15, 20, 25, 30 и далее каждые 10 минут с начального момента.

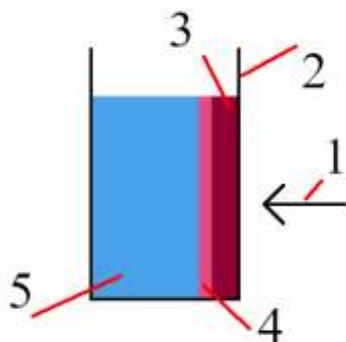


Рис. 1 Схема кюветы с образцом и ОПА: 1) Входной луч спектрофотометра; 2) Кварцевая кювета; 3) Внутренняя сторона образца; 4) Внешняя сторона образца; 5) ОПА.

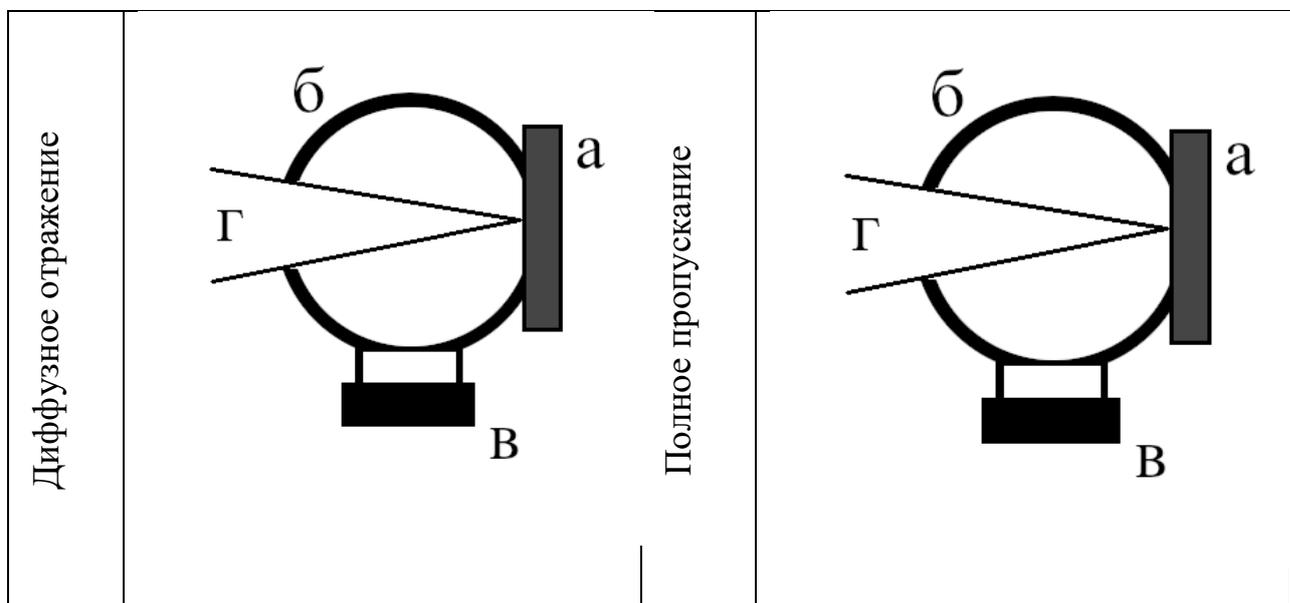


Рис. 2 Схема установки: а) образец, б) интегрирующая сфера, в) детектор спектрофотометра, г) излучение источника

Расчет эффективности оптического просветления

Из экспериментальных спектров полного пропускания образцов была получена эффективность оптического просветления по формуле:

$$Q = \{T(t, \lambda) - T(t = 0, \lambda)\} * 100\% / T(t = 0, \lambda) \quad (1)$$

На рис. 3 – 8 представлены диаграммы эффективности просветления для образцов, каждый столбец диаграммы обозначает диапазон длин волн равный 50 нм.

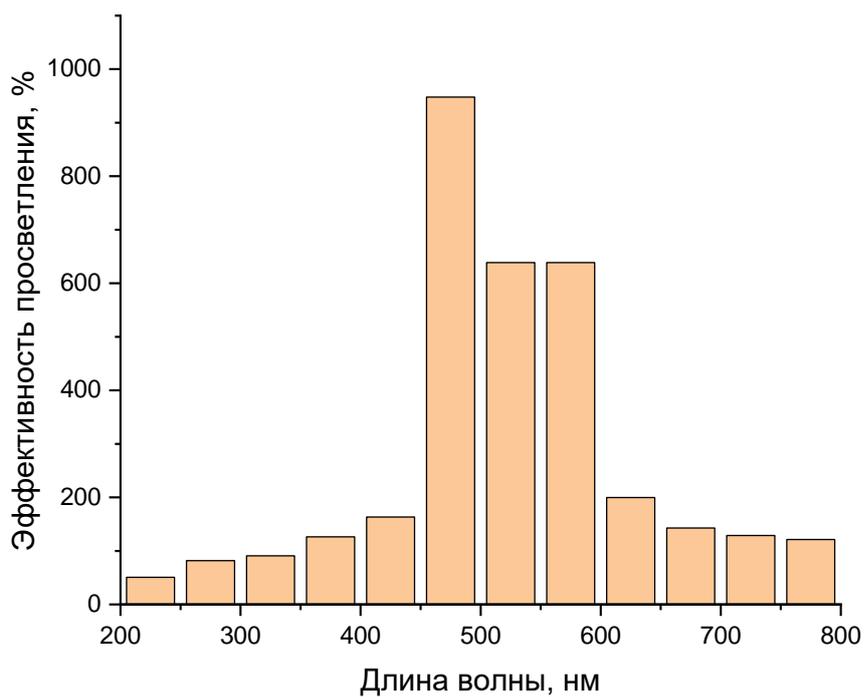


Рис. 3. Диаграмма эффективности просветления для образца в фолликулярной фазе.

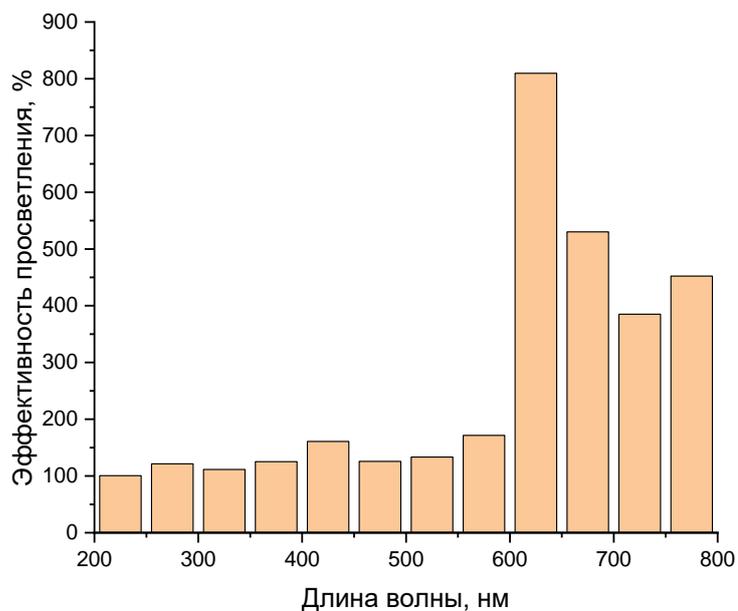


Рис. 4. Диаграмма эффективности просветления для образца в лютеиновой фазе.

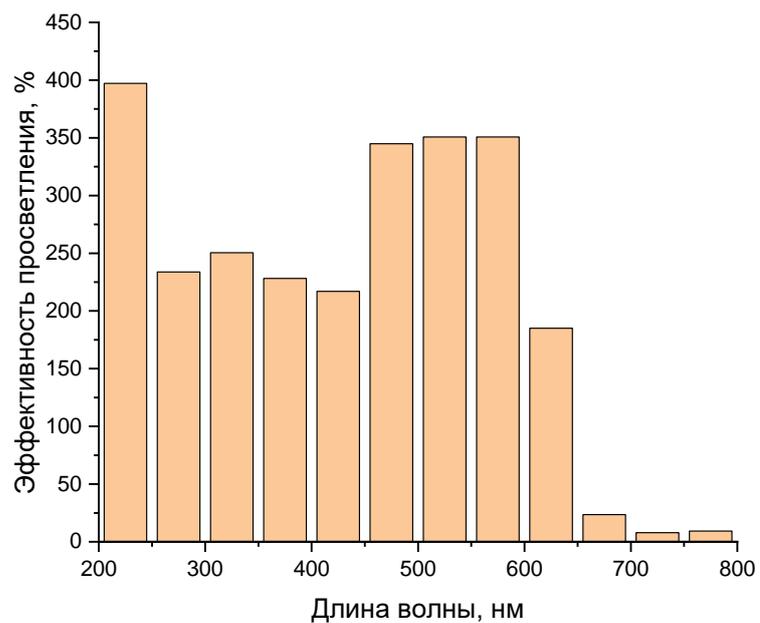


Рис. 5. Диаграмма эффективности просветления для образца, пораженного поликистозом.

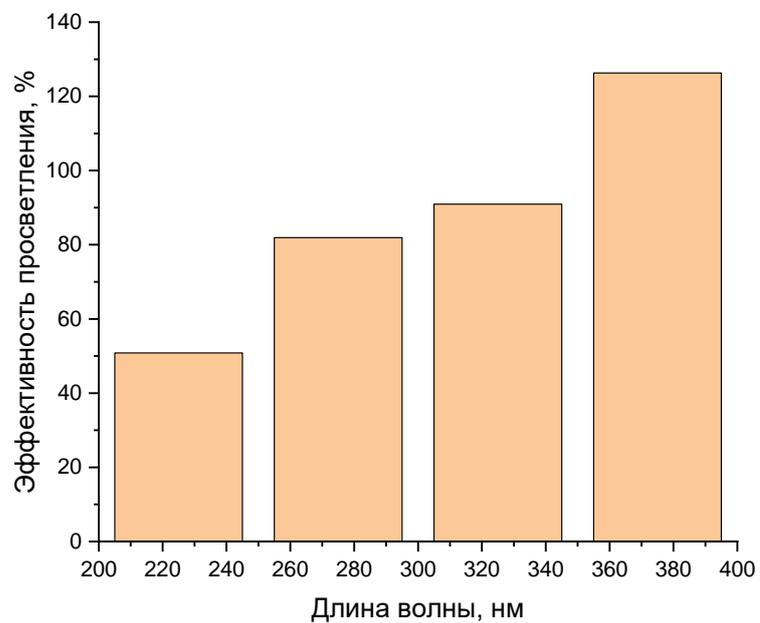


Рис. 6. Диаграмма эффективности просветления для образца в фолликулярной фазе в УФ диапазоне длин волн.

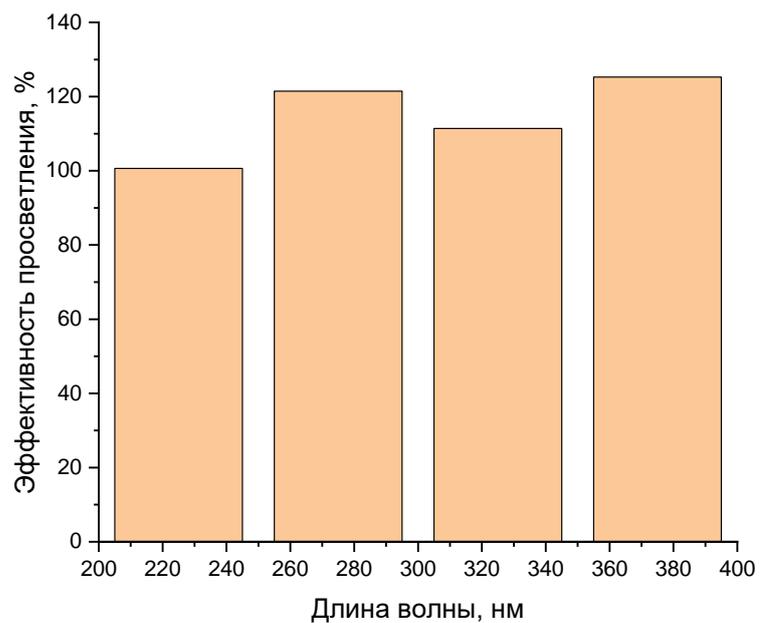


Рис. 7. Диаграмма эффективности просветления для образца в лютеиновой фазе в УФ диапазоне длин волн.

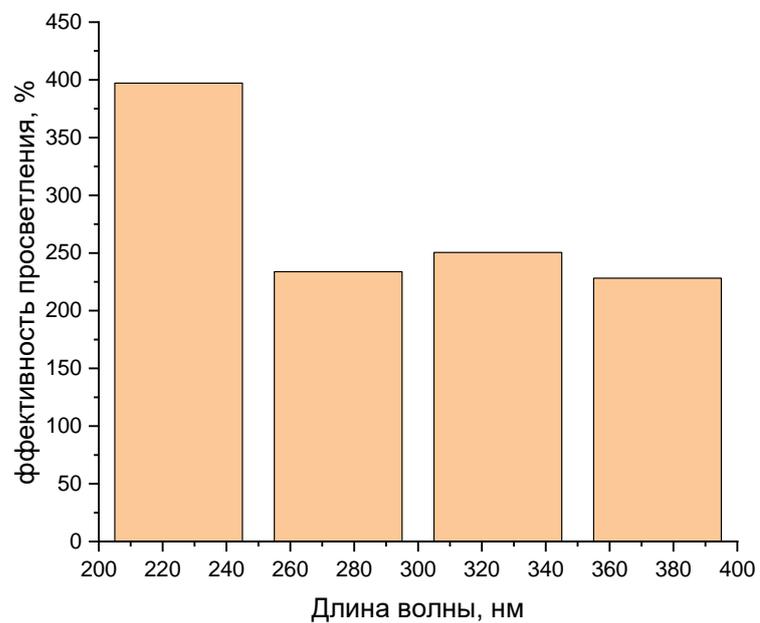


Рис. 8. Диаграмма эффективности просветления для образца, пораженного поликистозом в УФ диапазоне длин волн.

Наибольшая эффективность оптического просветления в фолликулярной фазе при взаимодействии с 99,5% глицерином составила: ~1000% при 475 нм и ~650% в диапазоне от 500 до 600 нм. Для лютеиновой фазы наибольшая эффективность в ~800% достигается при 625 нм и ~530% при 675 нм, тогда как для среза яичника пораженного поликистозом, самая высокая эффективность наблюдается в диапазоне длин волн от 450 нм до 600 нм и составляет ~350%.

В УФ диапазоне эффективность просветления в среднем ниже, чем в видимом диапазоне, что объясняется полосами поглощения основных хромофоров, расположенных в видимой части спектра и их вымыванием в процессе оптического просветления.

Для ультрафиолетовой части спектра наибольшая эффективность просветления для фолликулярной фазы составила ~125% при 375 нм. В лютеиновой фазе наибольшая эффективность в ~125% наблюдается в диапазоне от 250 до 400 нм. В случае поражения поликистозом, наибольшая эффективность просветления достигается при центральной длине волны в 225 нм и составляет ~400%

Оценка цветовых характеристик образцов ткани

Из экспериментально полученных спектров СДО были рассчитаны и визуализированы цветовые координаты R , G , B для всех типов образцов.

Таблица 1. Результаты оценки цветовых характеристик СДО яичников кошки в фолликулярной и лютеиновой фазе в системе RGB.

Фаза	R	G	B	Цвет
Фолликулярная до взаимодействия с ОПА	0,394 $\pm 0,006$	0,296 $\pm 0,003$	0,309 $\pm 0,006$	

Лютеиновая до взаимодействия с ОПА	0,393 ± 0,036	0,292 ± 0,019	0,316 ± 0,017	
Поликистоз до взаимодействия с ОПА	0,374 ± 0,034	0,306 ± 0,019	0,319 ± 0,017	
Фолликулярная после взаимодействия с ОПА	0,356 ± 0,005	0,311 ± 0,002	0,333 ± 0,003	
Лютеиновая после взаимодействия с ОПА	0,336 ± 0,001	0,319 ± 0,001	0,345 ± 0,001	
Поликистоз после взаимодействия с ОПА	0,336 ± 0,006	0,318 ± 0,003	0,345 ± 0,003	

Для образцов было рассчитано цветовое различие в системе L*a*b МКО-1976 г., согласно выражению:

$$\Delta E_{ij}^* = \sqrt{(\Delta L_{ij}^*)^2 + (\Delta a_{ij}^*)^2 + (\Delta b_{ij}^*)^2} \quad (2).$$

Таблица 2. Цветовое различие между образцами.

	Фолликулярная до	Фолликулярная после	Лютеиновая до	Лютеиновая после	Поликистоз до	Поликистоз после
Фолликулярная до	0	10,6	6,6	11,1	4,8	11,1
Фолликулярная после	10,6	0	6,1	4,1	9,2	6,1
Лютеиновая до	6,6	6,1	0	8,9	7,2	9,8
Лютеиновая после	11,1	4,1	8,9	0	9,9	2,3
Поликистоз до	4,8	9,2	7,2	9,9	0	10,7
Поликистоз после	11,1	6,1	9,8	2,3	10,7	0

Заключение

В ходе данной работы было проведено исследование спектров диффузного отражения и полного срезом яичников кошек в УФ-диапазоне длин волн и в видимой области. Из полученных данных о кинетике оптического просветления следует, что в процессе взаимодействия с ОПА у образца уменьшается уровень отражения света и увеличивается уровень пропускания, что обеспечивает более глубокое проникновение света в ткань. Наиболее сильное изменение спектра связано с вымыванием основных хромофоров из ткани под действием ОПА, в основном, данные хромофоры представляют собой различные компоненты крови, содержащейся в ткани. В работе показано, что максимальное изменение оптической плотности в УФ-области в несколько раз ниже, чем в видимой области.

Эффективность оптического просветления в УФ-области оказывается, в среднем, ниже, чем в видимой области. Несмотря на это, даже относительно низкая эффективность просветления в УФ-области спектра может существенно повысить эффективность научных и медицинских методов, связанных с УФ-излучением. Например, допускается увеличение эффективности PUVA-терапии псориаза, которая использует сочетание ультрафиолетового излучения типа А (UVA) и фоточувствительного препарата псоралена [7]. Для увеличения эффективности метода следует наносить ОПА за некоторое время до терапии на пораженный участок. Оптимальное время взаимодействия ОПА с пораженной псориазом кожей *in vivo* требует дополнительных исследований.

Из сравнения спектров диффузного отражения и полного пропускания следует, что выбранный ОПА (глицерин ЧДА ГОСТ 6259-76 99,5%) является эффективным иммерсионным агентом для оптического просветления.

Также в работе была проведена визуализация цветовых изменений и расчет цветовых характеристик образцов до и после взаимодействия с ОПА в различных цветовых системах, предполагается использование цветового различия в системе $L^*a^*b^*$ МКО-1976 г., как меры эффективности просветления в видимой области спектра, при условии, что известны основные хромофоры исследуемой ткани и их полосы поглощения.

Список литературы

1. Генина Э. А., Башкатов А. Н., Синичкин Ю. П., Тучин В. В. Оптическое просветление склеры глаза *in vivo* под действием глюкозы // Квантовая электроника, 2006. - Т. 36, №12.- С. 1119–1124.
2. Табунов С. Н., Гордейчук Т. В., Тхостов М.Х.-М., Никитенко П. Н., Рункевич Е.Н., Кишкевич И. В., Кашицкий Э.С. Исследование воздействия физиотерапевтических факторов на микроциркуляцию поверхностных биотканей // Доклады БГУИР, 2016.- № 7.- С. 75-79.
3. Дугиева, Д. А. Ультрафиолетовое излучение // Молодой ученый, 2020.- № 5 .- С. 295.
4. Шашин Д. Е. Разработка технологии изготовления фотоэлектрического чувствительного элемента ультрафиолетового излучения на основе оксида цинка: дис. канд. тех. наук: 05.11.14 /Шашин Дмитрий Евгеньевич; науч. рук. Сушенцов Н. И., ПГТУ – Йошкар-Ола, 2019.- 113 с.
5. Zou, Yanan. Ultraviolet Detectors Based on Wide Bandgap Semiconductor Nanowire / Yanan Zou Yue Zhang, Yongming Hu, Haoshuang Gu // Sensors. – 2018. – №18. – P. 1–25
6. Mohania, D., Ultraviolet Radiations: Skin Defense-Damage Mechanism // Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2017.-№ 996. – P. 71- 87.
7. Liao, W., Han C., Ma J., Wang X., & Shi Y. The effectiveness of psoralen plus ultraviolet A for the treatment of psoriasis: a systematic review and meta-analysis // Journal of dermatological treatment, 2014.- №25(5), - P.-375-380.



Елизаров А. Д.

