

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

Кафедра оптики и биофотоники

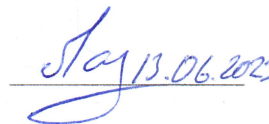
**Исследование влияния длительного воздействия ОПА-аэрозоля
(глицерин/пропиленгликоль) на плазму крыс методом спектроскопии КР**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

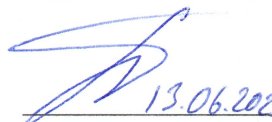
Студентки 4 курса 4023 группы
направления 03.03.02. «Физика»

Института физики
Соковой Арины Алексеевны

Научный руководитель
Старший преподаватель
кафедры оптики и биофотоники

 13.06.2023 Лазарева Е.Н.

Зав. кафедрой оптики и биофотоники
д.ф.-м.н., профессор, чл.-корр. РАН

 13.06.2023 Тучин В.В.

Саратов 2023 г.

Введение

Актуальность работы. Актуальной проблемой современности является замена курения табака использованием устройств с паровыми курительными смесями. При курении распространённых ныне «курительных смесей» в крови накапливается от 3 до 10% активных веществ, которые и оказывают негативное влияние на организм. Так как, одной из функций крови является транспортировка кислорода и питательных веществ, именно она занимается транспортировкой и вредных для организма химических соединений, поэтому объектом исследования в данной работе является кровь, а именно составляющая большую часть её объёма плазма.

Дополнительной мотивацией к проведению исследования послужил тот факт, что основными компонентами курительных смесей являются вещества глицерин и пропиленгликоль, которые часто используются в качестве оптических просветляющих агентов (ОПА).

Целью данной работы является оценка возможности измерения минимальной концентрации ОПА (глицерина и пропиленгликоля) в плазме крови методом спектроскопии комбинационного рассеяния (КР), а также исследование спектров КР плазмы крови крыс после длительного воздействия ОПА-аэрозоля.

Для достижения поставленных целей требовалось выполнить соответствующие **задачи**:

1. Изучить спектры КР растворов глицерина и пропиленгликоля различных концентраций;
2. Изучить спектры КР смеси плазмы крови крыс и растворов глицерина и пропиленгликоля различных концентраций.
3. Изучить изменение спектров КР плазмы крови крыс после воздействия ОПА-аэрозоля в течение 14 и 28 дней.

В работе приведены два эксперимента соответствующие целям работы. Для первого эксперимента были приготовлены растворы глицерина в

процентном содержании: 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%; и растворы пропиленгликоля в таком же процентном соотношении. Вторым компонентом в данных растворах является физиологический раствор. Так же была приготовлена смесь плазмы крови крыс и растворов ОПА, глицерина и пропиленгликоля. Концентрация глицерина в смеси с плазмой была 0%, 1%, 2%, 3%, 5%, 7%, 10%, 20%. Концентрация пропиленгликоля в смеси с плазмой - 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%.

Эксперимент по длительному воздействию ОПА-аэрозоля проводился с использованием 14 самок белых лабораторных крыс линии Wistar массой 180 ± 30 гр, возрастом 9 месяцев. Количественное содержание глицерина и пропиленгликоля в жидкости, предназначенной для заправки POD-системы, составляло 50/50 %. Продолжительность одной ингаляции составляла в среднем 5–7 минут, общее число ингаляций – 5 в сутки. Период отдыха лабораторных крыс после одной манипуляции составлял 15 минут. По окончании эксперимента производился забор крови из хвостовой вены крыс.

Для дальнейшего изучения была выбрана плазма крови. После центрифугирования цельной крови крыс, было получено шесть образцов плазмы крови с контрольной группы, шесть образцов с группы с ингаляционным воздействием курительной смеси (14 дней) и шесть образцов с группы с ингаляционным воздействием курительной смеси (28 дней).

Экспериментальные исследования были выполнены при помощи портативной КР системы включающей в себя спектрометр (OceanOptics, QE65000, со спектральным разрешением 10 см^{-1}), диодный лазер (785 нм, энергия лазера 400 мВт), ручной зонд КР ($f = 7,5 \text{ мм}$) и компьютер.

Для чистых растворов ОПА было выбрано время интегрирования равное 1 сек., для растворов плазмы и плазмы крови крыс после ингаляционного воздействия, время интегрирования составляло 10 сек.

Структура и объем работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, теоретической части, экспериментальной части, заключения и списка используемой литературы. Всего в работе 44 страницы.

Основное содержание работы

Во **введении** кратко описаны актуальность работы, мотивация к исследованию, цели работы и поставленные задачи.

Теоретическая часть разделена на три соответствующих раздела. *Раздел 1.1* описывает сущность метода спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) и его применение в биофотонике. Так же в данном разделе кратко рассмотрена история открытия данного метода.

Раздел 1.2 содержит в себе краткое описание различных методов оптического просветления (ОП) биологических тканей, в том числе ОП при воздействии ОПА-аэрозоля.

Раздел 1.3 описывает кровь и её состав, а также оптические и физико-химические свойства цельной крови и её основной составляющей - плазмы.

Следующей частью ВКР является **экспериментальная часть**, которая в свою очередь разделена на три раздела. *Раздел 2.1* содержит подробную информацию об экспериментальной установке КР, а также об этапах обработки полученных спектров.

Портативная система КР включала в себя спектрометр КР (OceanOptics, QE65000, со спектральным разрешением 10 см^{-1}), диодный лазер (785 нм, энергия лазера 400 мВт), ручной зонд КР ($f = 7,5 \text{ мм}$) и компьютер.

В *разделе 2.2* описан эксперимент по оценке возможности измерения минимальной концентрации ОПА. Данный раздел дополнительно разделён на два подраздела. *Подраздел 2.2.1* содержит информацию о приготовленных растворах глицерина и пропиленгликоля с физиологическим раствором с различной концентрацией ОПА. Дополнительно для исследования были приготовлены смеси плазмы крови крыс с добавлением глицерина и пропиленгликоля в разных концентрациях.

Плазма крови была получена из цельной крови крыс. Забор крови выполнялся из хвостовой вены в вакуумные пробирки, затем пробирки

помещали в центрифугу на 15 минут при 2000 об/мин. Отделенная плазма отбиралась в отдельную пробирку для дальнейших исследований.

По итогу образцами для данного эксперимента служили: растворы глицерина с физиологическим раствором с концентрациями 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%; растворы пропиленгликоля с физиологическим раствором с концентрациями 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%; смесь плазмы крови крысы с глицерином с концентрациями 0%, 1%, 2%, 3%, 5%, 7%, 10%, 20%; смесь плазмы крови крысы с пропилен гликолем с концентрациями 0%, 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 20%.

Подраздел 2.2.2 содержит в себе информацию о результатах обработки полученных спектров. После анализа спектров КР были построены графики зависимости интенсивности сигнала КР от концентрации растворов. Для этого для каждого ОПА было выбрано по три линии КР: 422, 682 и 1063 см^{-1} - для глицерина; 528, 810 и 1347 см^{-1} - для пропиленгликоля. Данные полосы для каждого ОПА были выбраны в связи с тем, что они являются характерными максимумами только для данных агентов.

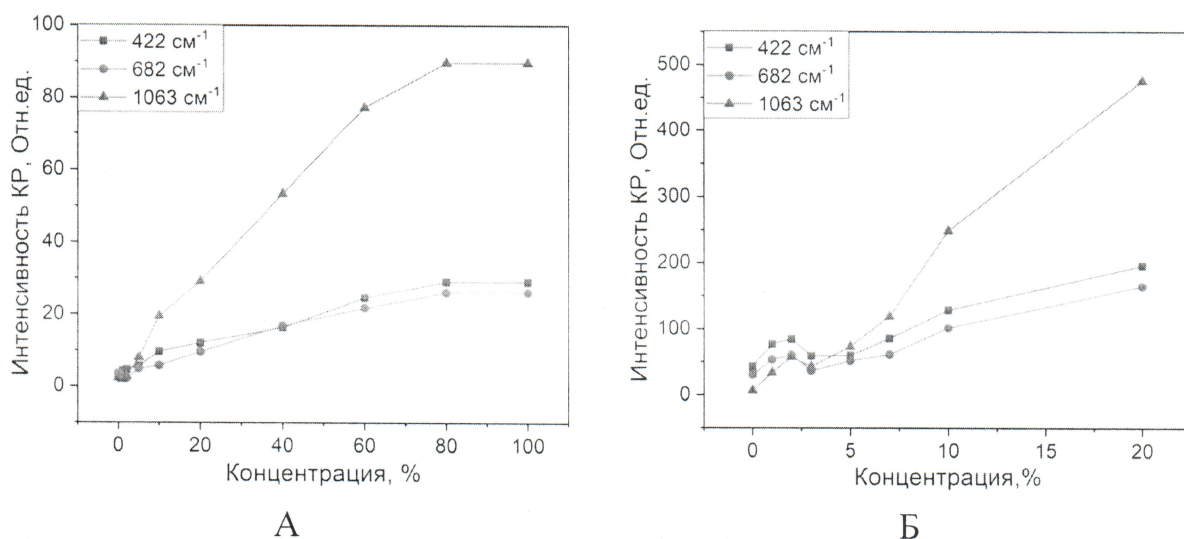


Рисунок 1 – Зависимость интенсивности спектра КР: А – физраствора от концентрации глицерина для КР сдвига 422, 682, 1063 см^{-1} . Б – плазмы от концентрации раствора глицерина для КР сдвига 422, 682, 1063 см^{-1}

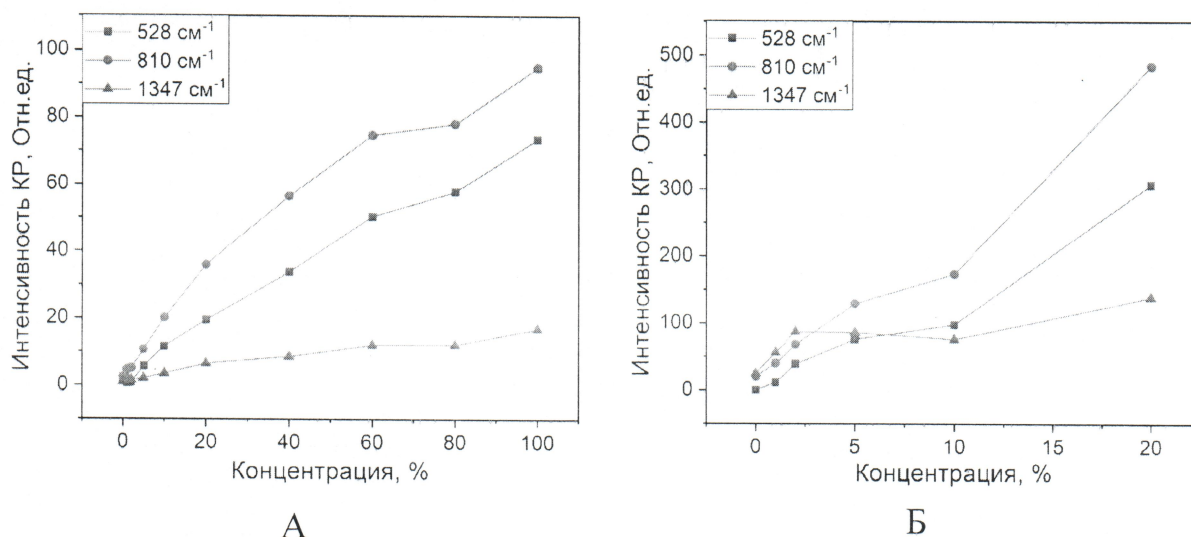


Рисунок 2 – Зависимость интенсивности спектра КР: А – физраствора от концентрации пропиленгликоля для КР сдвига 528, 810, 1347 cm^{-1} ; Б – плазмы от концентрации раствора пропиленгликоля для КР сдвига 528, 810, 1347 cm^{-1}

Минимальной предельной концентрацией будет являться то её значение, после которого значение интенсивности будет линейно возрастать.

Из полученных графиков можно сделать вывод что минимальная предельная концентрация для каждого из растворов равна: 5% для раствора глицерина, 3% для плазмы крови с присутствием глицерина, 2% для раствора пропиленгликоля, 10% для плазмы крови с присутствием пропиленгликоля.

В разделе 2.3 описано исследование плазмы крови крыс после длительного воздействия ОПА-аэрозоля. Данный раздел дополнительно разделён на два подраздела. Подраздел 2.3.1 содержит подробную информацию об эксперименте по длительному воздействию ОПА-аэрозоля.

Воздействие POD-системы на крыс осуществлялось с помощью специально сконструированной установки, которая представляет собой: стеклянную емкость объемом 0,003 m^3 с плотно закрывающейся резиновой крышкой, с двумя отверстиями: первое отверстие соответствовало диаметру отверстия POD-системы, второе отверстие соответствовало диаметру гибкой пластиковой трубки, к которой присоединялся шприц Жане. При потягивании

поршня шприца Жане происходил эффект обратной тяги, таким образом, происходило нагнетание дыма/аэрозоля в ёмкость, где находились животные.

В подразделе 2.3.2 описаны результаты исследования плазмы крови крыс после длительного воздействия ОПА-аэрозоля методом спектроскопии КР. После анализа спектров КР для каждой группы, было проведено их усреднение и сглаживание для более наглядной иллюстрации разницы интенсивностей для каждой из групп.

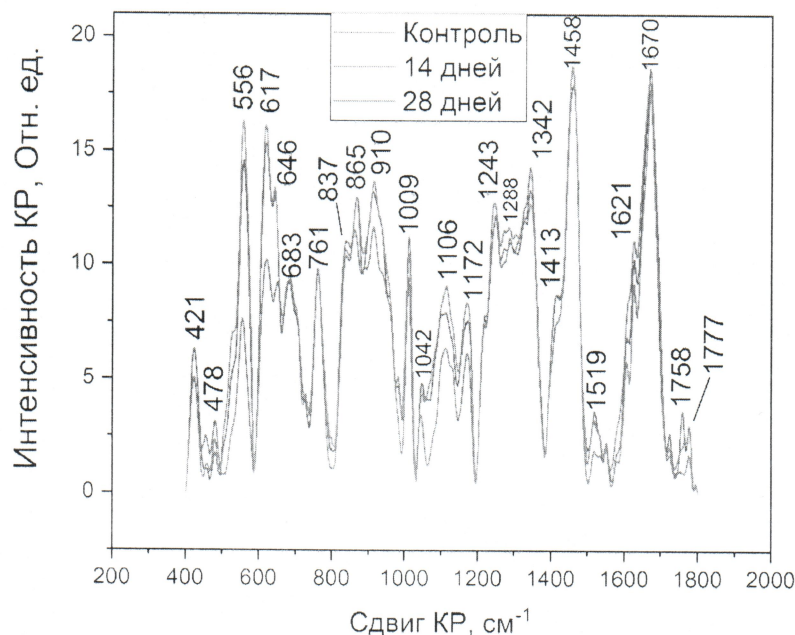


Рисунок 3 – Спектр КР для усреднённых значений контрольной группы, группы подвергшейся ингаляционным воздействиям аэрозоля POD-систем в течение 14 дней и группы подвергшейся ингаляционным воздействиям ОПА – аэрозоля в течение 28 дней

Для оценки воздействия ОПА был подсчитан коэффициент эффективности воздействия $E_{\text{ОП}}$:

$$E_{\text{ОП}} = \frac{I_{\text{ОПА}} - I_{\text{контроль}}}{I_{\text{контроль}}} \times 100\%, \quad (1)$$

где $I_{\text{ОПА}}$ – интенсивность выделенной линии спектра КР для группы животных после воздействия ОПА-аэрозоля, $I_{\text{контроль}}$ – интенсивность выделенной линии спектра КР для контрольной группы.

Таблица 1 – Характеристика спектров КР для контрольной группы и группы животных, подвергшейся ингаляционным воздействиям ОПА-аэрозоля в течение 14 дней.

Контрольная группа		Группа после ОПА-аэрозоля		Еос, %	Компонент	Сдвиг КР, см ⁻¹	Лит.
Сдвиг КР, см ⁻¹	Интенсивность КР, Отн. ед.	Сдвиг КР, см ⁻¹	Интенсивность КР, Отн. ед.				
422,85	6,30	422,85	4,94	-21,55	гистидин	422	[2]
558,58	14,57	553,98	7,64	-47,55	урацил	556	[2]
620,18	15,36	622,44	10,21	-33,54	глутатион	625	[2]
642,74	13,08	651,73	9,24	-29,41	тирозин	643	[1]
680,79	9,24	685,24	9,38	1,49	гистидин	680	[2]
725,06	4,10	--	--	--	ацетилкоэнзим А	724	[2]
762,29	9,76	760,11	9,82	0,64	амилопектин	762	[2]
837,75	11,08	839,88	10,39	-6,18	тирозин	830	[1]
867,50	12,95	861,15	11,53	-10,94	D-(+)-манноза	861	[2]
--	--	892,81	9,88	--	пальмитиновая кислота	893	[2]
911,67	13,21	913,76	11,65	-11,78	D-(+)-трегалоза	912	[2]
982,02	4,70	--	--	--	аргинин	982	[2]
1010,58	11,25	1010,58	9,43	-16,23	финилаланин	1003	[1]
1046,96	4,83	--	--	--	триптофан	1046	[2]
1063,00	4,14	--	--	--	пальмитиновая кислота	1063	[2]
1102,78	7,87	--	--	--	D-(+)-трегалоза	1102	[2]
1112,65	7,93	1112,65	6,37	-19,63	глицерин	1110	[2]
1173,22	7,58	1171,28	6,12	-19,23	стеариновая кислота	1173	[2]
1217,44	7,69	1217,44	7,40	-3,80	финилаланин	1216	[2]
1247,86	12,06	1245,96	12,75	5,71	амид	1240-1250	[1]
1272,36	10,73	--	--	--	гистидин	1271	[2]
1289,21	10,99	1287,34	11,18	1,74	пролин	1286	[2]
1342,91	13,29	1342,91	14,31	7,70	маркер гидрофобности триптофана	1340	[1]
1415,50	8,76	1415,50	8,70	-0,65	глутатион	1415	[2]
1458,23	17,89	1458,23	18,74	4,72	D-Фруктозо-6-фосфат	1458	[2]
1608,2	6,85	--	--	--	финилаланин	1609	[1]
1626,62	10,25	1624,95	11,09	8,16	амид	1630-1635	[1]
1669,68	18,65	1668,04	18,15	-2,69		1660-1670	[1]

Таблица 2 – Характеристика спектров КР для контрольной группы и группы животных, подвергшейся ингаляционным воздействиям ОПА-аэрозоля в течение 28 дней.

Контрольная группа		Группа после ОПА-аэрозоля (28 дней)		Еос, %	Компонент	Сдвиг КР, см ⁻¹	Лит.
Совис КР, см ⁻¹	Интенсивность КР, Отн. ед.	Совис КР, см ⁻¹	Интенсивность КР, Отн. ед.				
422,85	6,30	422,85	5,07	-19,63	гистидин	422	[2]
558,58	14,57	556,28	16,31	11,92	урацил	556	[2]
620,18	15,36	617,91	16,10	4,88	глутатион	625	[2]
642,74	13,08	642,74	13,37	2,20	тирозин	643	[1]
680,79	9,24	680,79	9,30	0,55	гистидин	680	[2]
725,06	4,10	729,46	4,32	5,32	ацетилкоэнзим А	724	[2]
762,29	9,76	762,29	9,76	0,03	амилопектин	762	[2]
837,75	11,08	837,75	10,65	-3,83	тирозин	830	[1]
867,50	12,95	867,50	12,96	0,04	D-(+)-манноза	861	[2]
911,67	13,21	913,76	13,68	3,59	D-(+)-трегалоза	912	[2]
982,02	4,70	982,02	5,10	8,48	аргинин	982	[2]
1010,58	11,25	1010,58	10,45	-7,18	финилаланин	1003	[1]
1046,96	4,83	1048,97	4,34	-10,04	триптофан	1046	[2]
1063,00	4,14	--	--	--	пальмитиновая кислота	1063	[2]
1102,78	7,87	--	--	--	D-(+)-трегалоза	1102	[2]
1112,65	7,93	1114,63	9,09	14,74	глицерин	1110	[2]
1173,22	7,58	1169,34	8,35	10,24	стеариновая кислота	1173	[2]
1217,44	7,69	1219,35	7,83	1,83	финилаланин	1216	[2]
1247,86	12,06	1249,75	12,21	1,26	амид	1240-1250	[1]
1272,36	10,73	1272,36	11,55	7,61	гистидин	1271	[2]
1289,21	10,99	1283,60	11,67	6,24	пролин	1286	[2]
--	--	1302,26	11,35	--	вакценовая кислота	1302	[2]
--	--	1324,50	12,12	--	кофермент а	1325	[2]
1342,91	13,29	1342,91	12,67	-4,64	маркер гидрофобности триптофана	1340	[1]
1415,50	8,76	--	--	--	глутатион	1415	[2]
1458,23	17,89	1456,47	18,55	3,65	D-Фруктозо-6-фосфат	1458	[2]
1608,20	6,85	1606,52	5,80	-15,33	финилаланин	1609	[1]
1626,62	10,25	1626,62	9,18	-10,47	амид	1630-1635	[1]
1669,68	18,65	1671,33	17,70	-5,07		1660-1670	[1]

Таблица 3 – Характеристика спектров КР для группы животных, подвергшейся ингаляционным воздействиям ОПА–аэрозоля в течение 14 дней и группы животных, подвергшейся ингаляционным воздействиям ОПА–аэрозоля в течение 28 дней.

Группа после ОПА-аэрозоля (14 дней)		Группа после ОПА-аэрозоля (28 дней)		Еос, %	Компонент	Сдвиг КР, см ⁻¹	Лит.
Сдвиг КР, см ⁻¹	Интенсивность КР, Отн. ед.	Сдвиг КР, см ⁻¹	Интенсивность КР, Отн. ед.				
422,85	4,94	422,85	5,07	2,45	гистидин	422	[2]
553,98	7,64	556,28	16,31	113,38	урацил	556	[2]
622,44	10,21	617,91	16,10	57,81	глутатион	625	[2]
651,73	9,24	642,74	13,37	44,79	тирозин	643	[1]
685,24	9,38	680,79	9,30	-0,93	гистидин	680	[2]
--	--	729,46	4,32	--	ацетилкоэнзим А	724	[2]
760,11	9,82	762,29	9,76	-0,60	амилопектин	762	[2]
839,88	10,39	837,75	10,65	2,50	тирозин	830	[1]
861,15	11,53	867,50	12,96	12,32	D-(+)-манноза	861	[2]
892,81	9,88	--	--	--	пальмитиновая кислота	893	[2]
913,76	11,65	913,76	13,68	17,42	D-(+)-трегалоза	912	[2]
--	--	982,02	5,10	--	аргинин	982	[2]
1010,58	9,43	1010,58	10,45	10,80	финилаланин	1003	[1]
--	--	1048,97	4,34	--	триптофан	1046	[2]
1112,65	6,37	1114,63	9,09	42,77	глицерин	1110	[2]
1171,28	6,12	1169,34	8,35	36,48	стеариновая кислота	1173	[2]
1217,44	7,40	1219,35	7,83	5,86	финилаланин	1216	[2]
1245,96	12,75	1249,75	12,21	-4,21	амид	1240-1250	[1]
--	--	1272,36	11,55	--	гистидин	1271	[2]
1287,34	11,18	1283,60	11,67	4,43	пролин	1286	[2]
--	--	1302,26	11,35	--	вакценовая кислота	1302	[2]
--	--	1324,50	12,12	--	кофермент а	1325	[2]
1342,91	14,31	1342,91	12,67	-11,46	маркер гидрофобности триптофана	1340	[1]
1415,50	8,70	--	--	--	глутатион	1415	[2]
1458,23	18,74	1456,47	18,55	-1,02	D-Фруктозо-6-фосфат	1458	[2]
--	--	1606,52	5,80	--	финилаланин	1609	[1]
1624,95	11,09	1626,62	9,18	-17,22	амид	1630-1635	[1]
1668,04	18,15	1671,33	17,70	-2,44		1660-1670	[1]

В заключении кратко описаны общие результаты исследования и результаты в отдельности для каждого этапа.

Заключение

В работе проведены исследования спектров КР растворов с ОПА в различных концентрациях, растворов плазмы крови лабораторных крыс, полученной методом центрифугирования, с присутствием ОПА в различных концентрациях. Также были исследованы спектры КР плазмы крови крыс, полученной методом центрифугирования из цельной крови, до эксперимента и после эксперимента с воздействием ОПА-аэрозоля в течение 14 дней и 28 дней. Было проведено сравнение спектров КР всех групп, внутри каждого эксперимента, после вычета автофлуорисценции.

Для эксперимента по оценке возможности измерения минимальной концентрации ОПА была определена зависимость интенсивности спектра от концентрации ОПА в растворе и выявлена минимально допустимая концентрация.

Для эксперимента по исследованию воздействия ОПА-аэрозоля на плазму крови крыс также было проведено сравнение усреднённых спектров КР после вычета автофлуорисценции для всех трёх исследуемых групп. Проведён анализ пиков для выявления изменений в молекулярной структуре образцов.

Список публикаций по теме ВКР:

1 Сокова А.А., Лазарева Е.Н., Бучарская А.Б., Тучин В.В. Исследование оптических свойств плазмы крови с добавлением растворов глицерина и пропиленгликоля методом спектроскопии комбинационного рассеяния // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами биообъектами: Сборник статей девятой Всероссийской школы-семинара. - Саратов: Саратовский источник, 2022. - С. 254-257.

2 Сокова А.А., Лазарева Е.Н., Положенков А.Е., Мыльников А.М., Бучарская А.Б., Тучин В.В. Исследование плазмы крови крыс после воздействия ОПА-аэрозоля методом спектроскопии комбинационного рассеяния // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами биообъектами: Сборник статей десятой Всероссийской школы-семинара. - Саратов: Саратовский источник, 2023. - С. 303-307.

Список литературы, цитируемой в автореферате

1 Kuhar N., Sil S., Verma T., Umapathy S. Challenges in application of Raman spectroscopy to biology and materials // The Royal Society of Chemistry. - 2018. - №8. - С. 25888–25908.

2 De Gelder J. et al. Reference database of Raman spectra of biological molecules // Journal of Raman Spectroscopy: An International Journal for Original Work in all Aspects of Raman Spectroscopy, Including Higher Order Processes, and also Brillouin and Rayleigh Scattering. – 2007. – Т. 38. – №. 9. – С. 1133-1147.

13.06.23



Сокова А.А.