

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

Кафедра оптики и биофотоники

**«Исследование диффузии оптических просветляющих агентов в
фантоме биологических тканей»**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 4082 группы

направления 12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»

Института физики

Санникова Дмитрия Дмитриевича

Научный руководитель
Профессор кафедры
оптики и биофотоники
Доктор физико-математических наук

Э.А. Генина

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой оптики и биофотоники
Доктор физико-математических наук
Профессор кафедрой оптики и биофотоники
Заслуженный деятель науки РФ
Член-корреспондент РАН

В.В. Тучин

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

инициалы, фамилия

Саратов 2024 г.

Введение

Использование фантомов биологических тканей представляет собой ценный инструмент для исследования диффузии жидкостей в тканях [1]. Фантомы имитируют оптические и транспортные свойства натуральных тканей, поэтому исследователями проводятся контролируемые эксперименты для изучения диффузионных процессов [2].

Исследование диффузии оптических просветляющих агентов в фантомах биологических тканей имеет особую актуальность по нескольким причинам:

1. Ранняя диагностика и мониторинг заболеваний: Оптические просветляющие агенты широко используются в биомедицинской визуализации для улучшения контрастности тканей и облегчения обнаружения патологий. Исследование их диффузии в тканях может помочь в разработке более чувствительных и специфичных методов диагностики на ранних стадиях заболеваний, таких как рак. [3]
2. Направленная доставка лекарств: Диффузионные свойства тканей играют решающую роль в доставке лекарств к целевым клеткам. Исследование диффузии оптических просветляющих агентов в фантомах может предоставить ценную информацию о том, как оптимизировать доставку лекарств и минимизировать побочные эффекты. [4]
3. Инженерия тканей и регенеративная медицина: Инженерные ткани и регенеративные подходы требуют тщательного контроля диффузии питательных веществ и отходов для обеспечения жизнеспособности клеток. Изучение диффузии оптических просветляющих агентов в фантомах биологических тканей может помочь в разработке и оптимизации методов культивирования тканей и стратегий регенерации. [5]

4. Фундаментальное понимание биологических процессов: Исследование диффузии жидкостей в тканях предоставляет фундаментальное понимание физиологических процессов, таких как транспорт и обмен веществ. Это понимание может привести к разработке новых методов лечения и профилактики заболеваний. [6]

Поэтому исследование диффузии оптических просветляющих агентов в фантомах биологических тканей является актуальной и важной областью исследований, имеющей большое значение для улучшения диагностики и лечения заболеваний, разработки передовых методов лечения и получения фундаментального понимания биологических процессов.

Целью данной работы является разработка и апробация метода реконструкции и мониторинга коэффициента рассеяния с разрешением по глубине однородных оптических фантомов кожи при аппликации гиперосмотического раствора с использованием оптической когерентной томографии (ОКТ).

Были выдвинуты следующие задачи для выполнения этой цели:

1. Создание оптических фантомов кожи на основе желатина с использованием диоксида титана в качестве рассеивателя.
2. Индуцирование межмолекулярных коллагеновых сшивок с помощью экспозиции фантома в 10% растворе формалина.
3. Разработка и оптимизация метода реконструкции коэффициента рассеяния с разрешением по глубине с учетом аксиальной функции рассеяния ОКТ и неполного затухания зондирующего излучения.
4. Проведение серии измерений для мониторинга состояния оптических фантомов при аппликации 70% водного раствора глицерина с использованием спектрального ОКТ.
5. Реконструкция и построение глубинных профилей коэффициента рассеяния и оценка изменений оптических характеристик фантомов на различных глубинах при аппликации раствора глицерина.

6. Исследование влияния межмолекулярных коллагеновых шивок на диффузию воды из фантомов путем анализа характеристических времен диффузии.

Научная новизна данной работы заключается в разработке и апробации нового метода реконструкции коэффициента рассеяния с разрешением по глубине для оптических фантомов кожи. Этот метод учитывает аксиальную функцию рассеяния ОКТ и неполное затухание зондирующего излучения, что позволяет получить более точные и интерпретируемые результаты. Введение межмолекулярных коллагеновых шивок с помощью формалина и последующий мониторинг изменений при аппликации гиперосмотического раствора глицерина демонстрируют новые аспекты взаимодействия биологических тканей с растворами. Практическая значимость работы заключается в возможности применения разработанного метода для диагностики кожных заболеваний, а также для оценки эффективности различных терапевтических вмешательств. Более точное понимание процессов диффузии и структурных изменений в тканях может способствовать разработке новых методов лечения и улучшению существующих.

Основное содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цели и задачи работы, показана научная новизна и практическая значимость результатов.

Раздел 1 содержит обзор литературы и теоретические основы исследования диффузии в биологических тканях. Рассмотрены основные механизмы диффузии и методы её исследования. Обсуждены физические и химические свойства оптических просветляющих агентов, а также их влияние на оптические характеристики биологических тканей.

Раздел 2 посвящен описанию материалов и методов, используемых при выполнении работы. Коэффициент затухания в оптических коллагеновых фантомах с и без индуцированных формалином межмолекулярных коллагеновых шивок при аппликации оптического просветляющего агента, в качестве которого был выбран 70% водный раствор глицерина, регистрировался с помощью оптического когерентного томографа. ОКФ создавались на основе пищевого желатина (ООО ТД-холдинг, Россия, ГОСТ 11293-89), в качестве рассеивателя использовался порошок диоксида титана (ООО «Хобби Групп, Россия»). С помощью микроаналитических весов (DA-225DC, Bel Engineering, Италия) было отобрано 3.0000 г исходного порошка желатина и 0.0075 г диоксида титана. В стеклянную чашку петри добавлялся желатин и порошок диоксида титана, после чего в чашку петри было добавлено 12 мл дистиллированной воды. Водный раствор желатина с диоксидом титана разогревался до 50 ± 5 °С на водяной бане и медленно перемешивался в течение 10 минут до однородного состояния. Готовый раствор переливался в две кюветы цилиндрической формы равного объема и помещался в холодильную камеру на 30 минут для остывания до 20 °С. Толщины готовых ОКФ составили приблизительно 4 мм, диаметры основания ОКФ 35 мм. Для индуцирования межмолекулярных шивок коллагеновых молекул в первую кювету на поверхность ОКФ был добавлен 1 мл 10% раствора формалина (забуференный, pH 7). Второй ОКФ не подвергался экспозиции формалина и выступал в качестве контрольного. Кюветы с ОКФ помещались в холодильную камеру с температурой 7-10 °С на 18 часов. После чего с поверхности первого ОКФ удалялся раствор формалина. На рисунке 4 представлена схема и основные этапы исследования ОКФ. Для мониторинга состояния ОКФ при аппликации ОПА использовался спектральный ОКТ GAN930V2-BU (Thorlabs, США), с аксиальным разрешением 5.34 мкм (на воздухе) и центральной длиной волны 930 нм. С целью увеличения эффективной глубины зондирования ОКТ фокальная плоскость была размещена внутри образца на оптической глубине 1.45 мм от поверхности

ОКФ. Для минимизации зеркального отражения от поверхности ОКФ, образец был зафиксирован под небольшим наклоном. Регистрация ОКТ-изображений производилась сразу после аппликации ОПА и каждые 5 минут в течение 60 минут.

Раздел 3 посвящен описанию результатов исследования. На рисунке 1 представлены типичные исходные ОКТ-изображения ОКФ кожи в моменты времени 0 и 60 минут после нанесения ОПА. На изображениях видно границу между ОПА и воздухом, между ОПА и ОКФ. Кроме того, легко заметить, что с ростом глубины наблюдается увеличение интенсивности ОКТ-сигнала, так как фокальная плоскость системы размещена на глубине 1.45 мм от поверхности ОКФ.

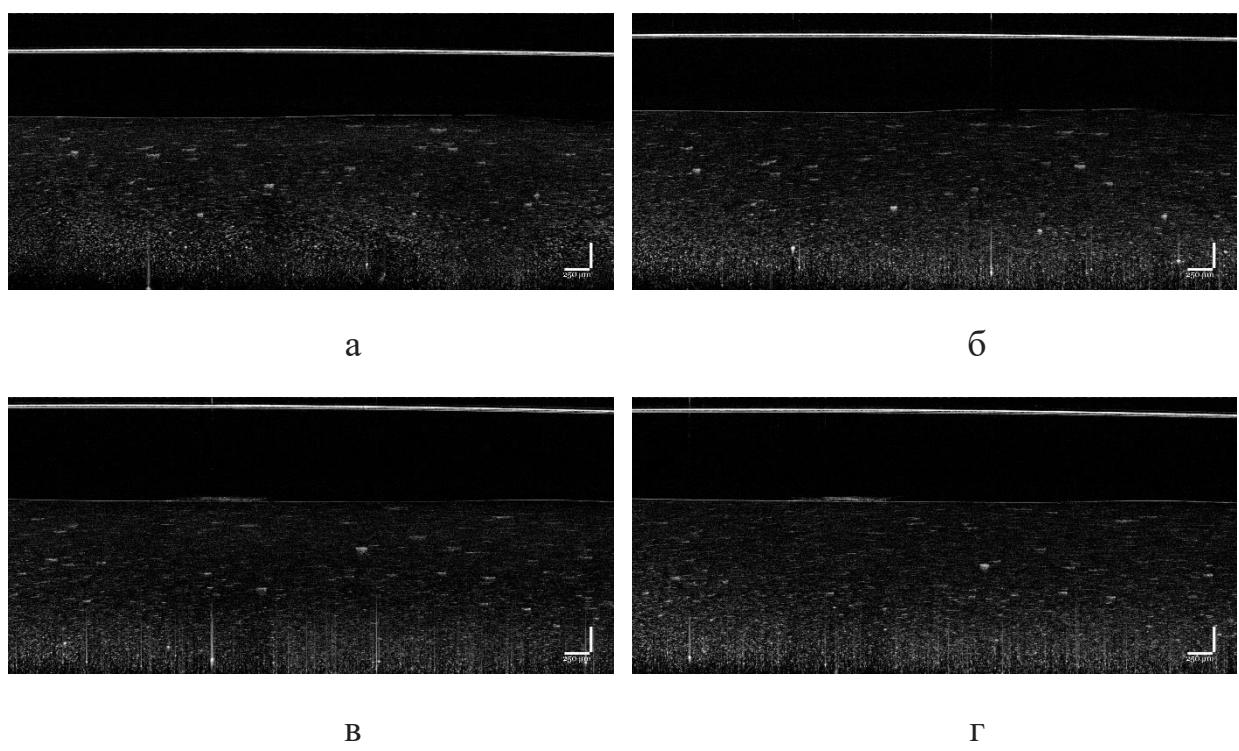
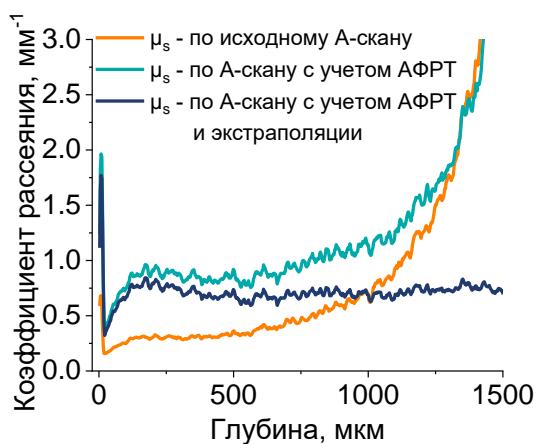
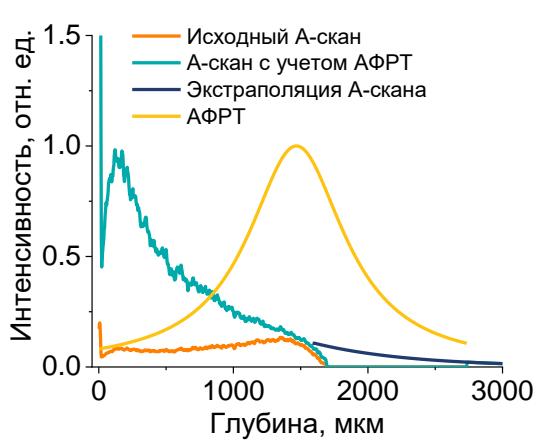


Рисунок. 1. Типичные ОКТ-изображения спустя 0 минут (а и в) и 60 минут (б и г) после аппликации ОПА для контрольного ОКФ (а и б) и ОКФ, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина (в и г). Масштабная метка соответствует 250 мкм.

На рисунке 2(а) изображены после алгоритма горизонтального выравнивания исходный средний А-скан, А-скан, восстановленный согласно уравнениям АФРТ, экстраполяция А-скана, учитывающая неполное затухание зондирующего излучения, и используемая АФРТ. На рисунке 2(б) представлены реконструированные коэффициенты рассеяния по уравнению коэффициента затухания, где исходными данными служили А-сканы из рисунка 2(а). Легко заметить, что μ_s , восстановленный по А-скану с учетом АФРТ и последующей экстраполяцией сигнала вне глубины окна ОКТ-зондирования, демонстрирует относительно постоянное значение коэффициента рассеяния, что объясняется однородностью ОКФ. В то время как рассчитанный μ_s по исходному А-скану демонстрирует рост с увеличением глубины. Кроме того, μ_s рассчитанный по А-скану после восстановления с учетом АФРТ и без экстраполяции сигнала показывает близкие значения к μ_s восстановленному по А-скану с экстраполяцией сигнала вне глубины окна ОКТ-зондирования на глубине от 25 мкм до 500 мкм, однако далее с ростом глубины результаты реконструкции расходятся. Таким образом, использования метода оценки μ_s с учетом АФРТ и неполного затухания сигнала в диапазоне глубин окна ОКТ-зондирования позволяет проводить адекватные оценки коэффициента затухания по всей глубине ОКТ-зондирования.

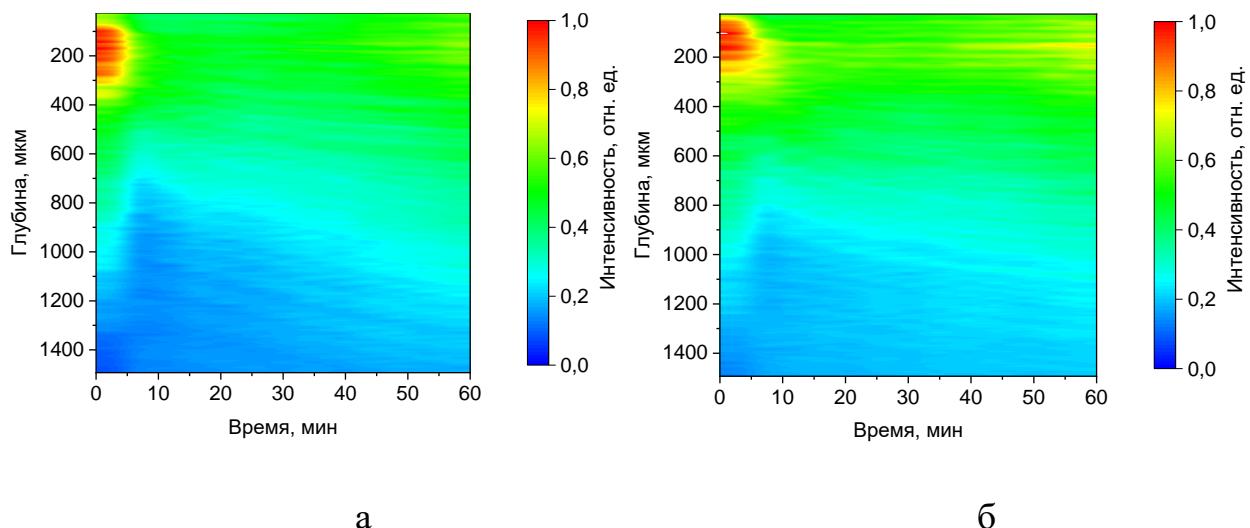


а

б

Рисунок 2. Изображения исходного А-скана, А-скана с учетом АФРТ и экстраполяция А-скана с учетом АФРТ (а) и реконструированного коэффициента рассеяния по данным А-сканам (б).

На рисунке 3 представлены функции глубины и времени среднего А-скана ОКТ контрольного фантома и фантома, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина. Легко заметить снижение интенсивности регистрируемого ОКТ-сигнала при увеличении времени воздействия 70% раствора глицерина с последующим медленным ростом для всех глубин, что может быть связано с эффектом оптического просветления, при котором наблюдается уменьшение коэффициента рассеяния, что с одной стороны приводит к уменьшению доли отраженного сигнала и как следствие доли полезного сигнала, с другой стороны приводит к увеличению доли зондирующего излучения проходящего вглубь образца.



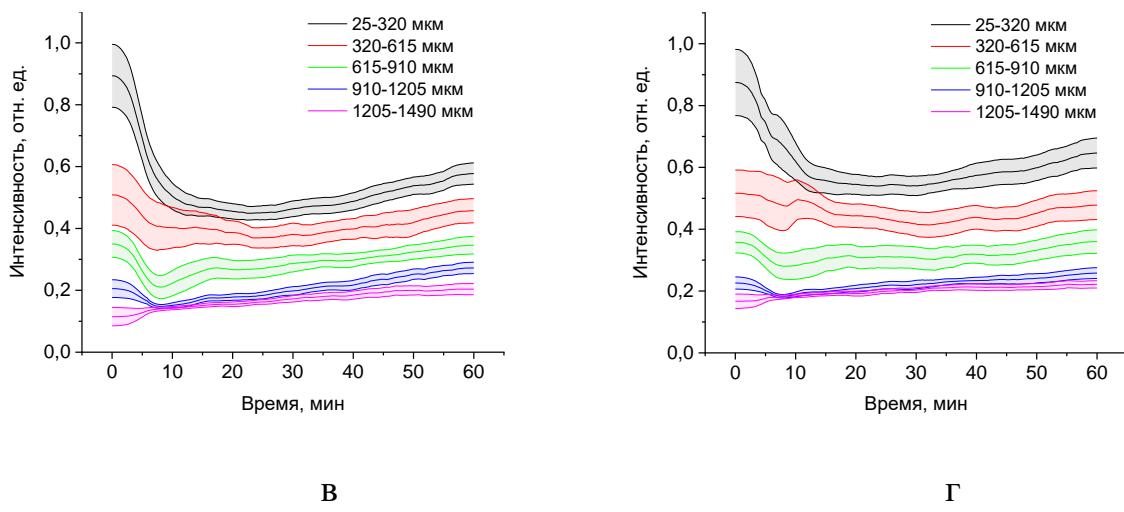


Рисунок 3. Цветная карта функции глубины и времени, усредненного А-скана оптических фантомов при аппликации 70% раствора глицерина для контрольного фантома (а) и фантома, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина (б) и соответствующие им временные профили, усредненные по различным глубинам для контрольного фантома (в) и фантома, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина (г)

На рисунке 4 изображены функции глубины и времени среднего по ширине коэффициента рассеяния оптических фантомов при аппликации 70% раствора глицерина для контрольного фантома и их усредненные по различным глубинам временные профили. Легко заметить, что по всей глубине коэффициенты рассеяния приблизительно равны, что объясняется оптической однородностью фантома. Кроме того, можно заметить, что начальные значения μ_s для фантома с индуцированными межколлагеновыми шивками ниже, относительно контрольного фантома. Что может быть связано с осмотичностью 10% раствора формалина и при 18 часовой экспозиции небольшая часть воды диффундировала из фантома, что привело к снижению коэффициента рассеяния. Кроме того, наблюдается снижение коэффициента рассеяния с течением времени по всей глубине, спустя 60 минут воздействия раствором глицерина наблюдается уменьшение коэффициента рассеяния до приблизительно 0.5 мм^{-1} для обоих фантомов.

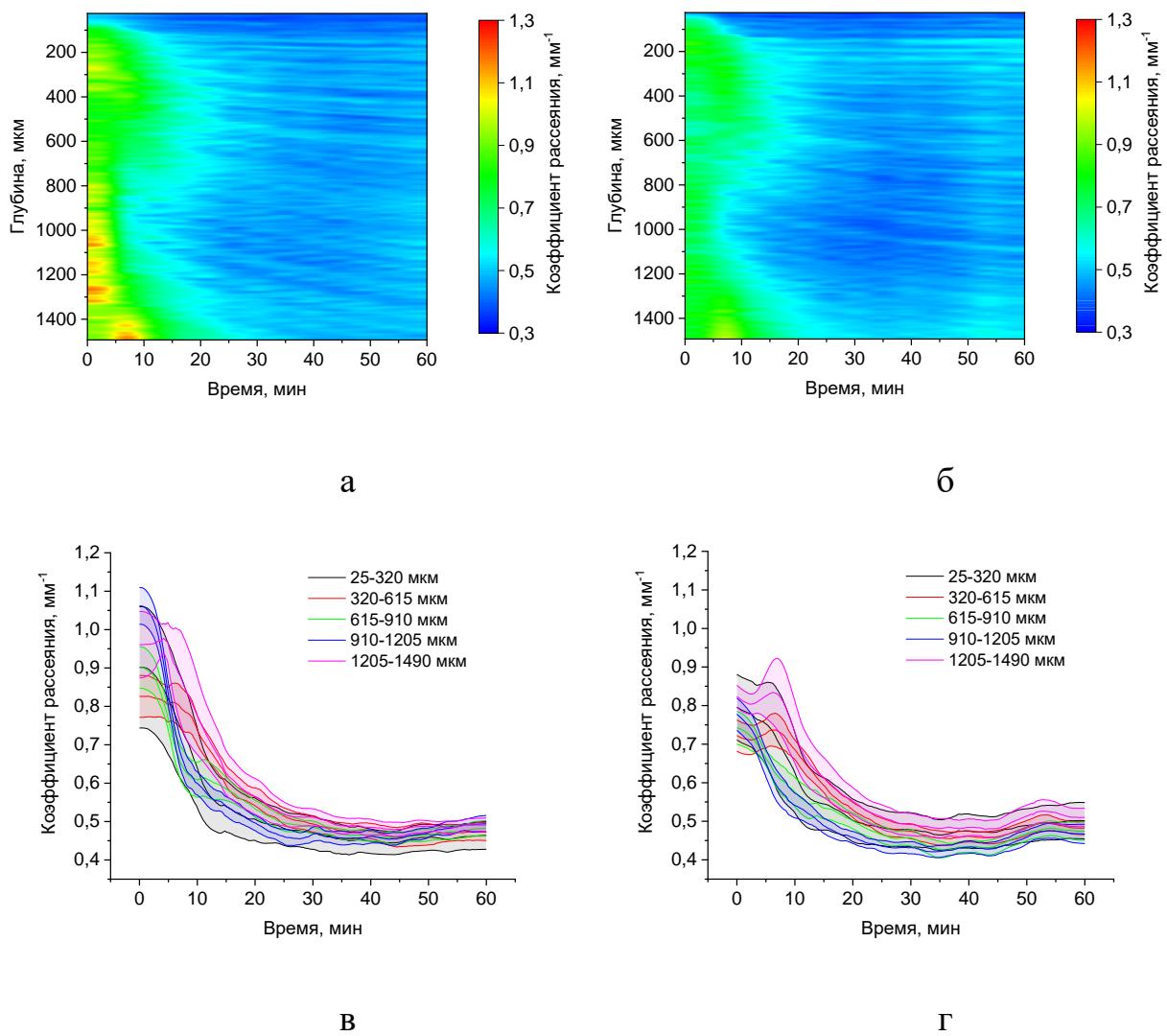


Рисунок 4. Цветная карта функции глубины и времени среднего по ширине коэффициента рассеяния оптических фантомов при аппликации 70% раствора глицерина для контрольного фантома (а) и фантома, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина (б) и соответствующие им временные профили, усредненные по различным глубинам для контрольного фантома (в) и фантома, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина (г)

На рисунке 5 представлены диаграммы распределения параметров экспоненциальной аппроксимации по уравнению кинетики нормированного коэффициента рассеяния для двух ОКФ. Легко заметить, что значения параметров максимального снижения нормированного коэффициента рассеяния ниже на всех участках для ОКФ, подвергнувшегося экспозиции 10%

раствора формалина, в сравнении с контрольным ОКФ. Кроме того, наблюдается увеличение характеристического времени диффузии воды для ОКФ с формалином (наличие швов) в сравнении с контрольным на глубине более 320 мкм. Таким образом, межмолекулярные швы коллагена замедляют диффузию воды из ОКФ.

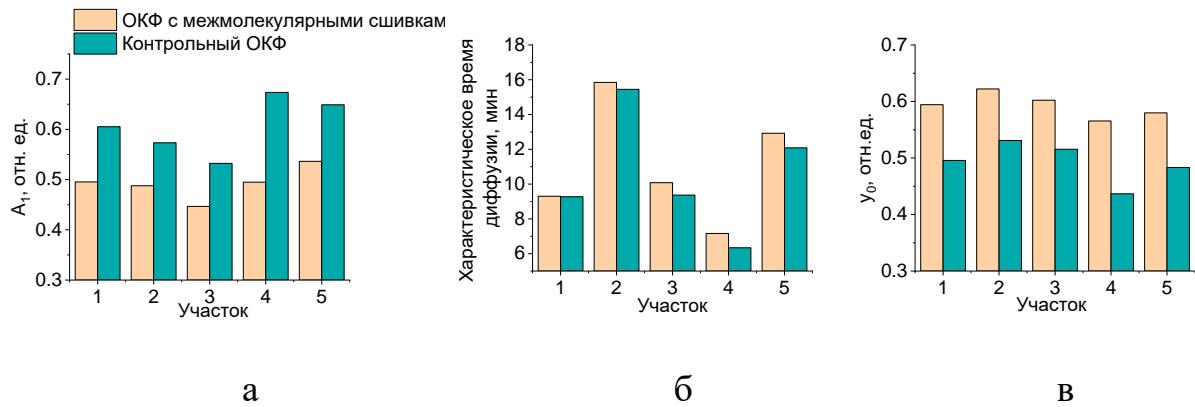


Рисунок. 5. Диаграммы распределения параметров экспоненциальной аппроксимации нормированного коэффициента рассеяния для контрольного ОКФ и ОКФ, подвергнувшегося экспозиции 10% раствора формалина.
Участок 1 соответствует интервалу глубин: 25-320 мкм; 2: 320-615 мкм; 3: 615-910 мкм; 4: 910-1205 мкм; 5: 1205-1490 мкм.

В заключении подводятся итоги дипломной работы, изгаляются его основные результаты.

В данной работе были рассмотрены основные аспекты оптического просветления биологических тканей, методы исследования диффузии просветляющих агентов, а также использование фантомов биологических тканей для подобных исследований. Было показано, что применение ОКТ для мониторинга изменений оптических характеристик позволяет получить значимые данные о процессах, происходящих в тканях под воздействием различных агентов.

Основные результаты работы подтверждают эффективность разработанного метода и его потенциальную применимость для диагностики и исследования различных кожных заболеваний. Введение межмолекулярных коллагеновых сшивок и последующий мониторинг изменений при аппликации гиперосмотических растворов демонстрируют новые аспекты взаимодействия биологических тканей с растворами, что открывает перспективы для дальнейших исследований в этой области.

Список литературы

1. Smith, R., & Jones, D. (2010). Optical Properties of Tissue Phantoms. *Journal of Biomedical Optics*, 15(1), 015002.
2. Brown, A., & Clark, B. (2012). Diffusion in Biological Tissues: Theory and Experiments. *Physics Reports*, 503(2-3), 91-156.
3. Zhang, L., & Wang, X. (2014). Use of Optical Clearing Agents in Cancer Diagnosis. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(4), 756-762.
4. Li, H., & Zhao, F. (2016). Targeted Drug Delivery and its Diffusion in Tissue Phantoms. *Drug Delivery Reviews*, 64(3), 222-239.
5. Chen, Y., & Thompson, M. (2018). Tissue Engineering and Optical Clearing Methods. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 24(4), 296-310.
6. Anderson, R., & Martinez, J. (2019). Fundamentals of Diffusion in Biological Tissues. *Advances in Biological Physics*, 28(2), 123-145.

ly