

УДК 535.3

МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ ВОДЫ И ОПТИЧЕСКИХ ПРОСВЕТЛЯЮЩИХ АГЕНТОВ В ТОНКИХ СРЕЗАХ БИОТКАНЕЙ *EX VIVO*

Сурков Ю.И. (Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского), Серебрякова И.А. (Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского)

Научный руководитель – доктор физико-математических наук, профессор Генина Э.А. (Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского)

Для развития метода иммерсионного оптического просветления биологических тканей необходимы знания деталей взаимодействия иммерсионных жидкостей с тканью, в частности характеристика осмотической дегидратации под действием иммерсионной жидкости, так и процесса диффузии иммерсионного агента в ткань. В настоящей работе реализован простой метод мониторинга группового показателя преломления, объемной доли воды и оптического просветляющего агента (ОПА) в тонких срезах биотканей (толщиной до 500 мкм) при ее оптическом просветлении (ОП) с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ). Данный метод позволяет получать распределение измеряемых величин в поперечном направлении с разрешением сопоставимым с латеральным разрешением ОКТ системы.

Введение. Актуальность исследования обусловлена необходимостью развития методов оптического просветления биологических тканей, а также распространенностью ОПА в составе косметики, фармакологических средств и электронных сигаретах, кроме того, индекс содержания воды в биоткани может служить важным маркером патологического процесса или использоваться для контроля результата терапии или косметических процедур.

Контроль оптических свойств биологических тканей с помощью ОП используется для улучшения визуализации внутренней структуры образца, фототерапии, оптической диагностики и др. Ключевыми процессами при ОП являются обезвоживание ткани, обусловленное осмотическим действием ОПА, и диффузия иммерсионного агента в образец. Данные механизмы ОП дают аналогичный оптический эффект: уменьшение рассеяния света в биоткани и увеличение среднего показателя преломления. Однако эти процессы противоположно направлены: в то время как дегидратация вызывает уменьшение объема образца, иммерсия ОПА в ткань приводит к ее увеличению, поэтому сложно разделить и оценить вклад обезвоживания и диффузии ОПА в эффект ОП. Количественная и качественная информация о характеристическом времени данных процессов и степени выраженности этих механизмов в конкретных условиях может быть получена, например, при согласованном во времени и пространстве отслеживании среднего группового показателя преломления и геометрических размеров ткани при ОП.

Спектрофотометрические методы широко используются для характеристики воздействия ОПА на биоткани, однако согласованные во времени и пространстве измерения оптических и геометрических характеристик образцов затруднительны, так как требуют временного извлечения образца из спектрофотометрической установки для измерения геометрических параметров биоткани, что влечет к неизбежному изменению начального положения образца и приостановки естественного процесса ОП, что существенным образом влияет на точность измерений. Для некоторых тонких типов или срезов биологических тканей, например кожи, такой мониторинг может быть проведен при помощи ОКТ *ex vivo*.

Основная часть. Материалом для исследования послужили 6 образцов кожи с предварительно удаленными жировой тканью и волосным покровом с брюшной части лабораторных крыс-альбиносов. Каждый образец размером 1×2 см фиксировался на предметном стекле и помещался в ОКТ систему так, чтобы одновременно наблюдать край

биоткани и участок, где образец отсутствует. На поверхность кожи и область рядом с ней наносилось большое количество ОПА, исходя из того, что объем ОПА значительно превышает объем выделившейся в него воды из образца, групповой показатель преломления раствора окружающего образец можно считать приблизительно равным начальному значению. В качестве ОПА использовались ПЭГ-300 и 40% водный раствор глицерина с групповыми показателями преломления равными 1.461 и 1.398, соответственно.

Мониторинг исследуемого участка с помощью спектрального ОКТ ОСМ0930SR (Thorlabs, США), работающего на центральной длине волны 930 нм и имеющим продольное и поперечное разрешение 2.67 и 7.32 мкм, длился до завершения процесса ОП (не менее 2 часов). Для уменьшения спекл-шума выполнялось усреднение по времени 30 А-сканов в один.

Определив по ОКТ-изображению оптическую толщину образца и смещение точки изображения верхней границы предметного стекла при наличии образца относительно ее положения в отсутствие образца можно количественно оценить средний групповой показатель преломления биоткани. Знание группового показателя преломления и оптической толщины образца позволяет определить геометрическую толщину образца. При этом объем кожи, зафиксированной на предметном стекле, изменяется при воздействии ОПА в основном только за счет изменения толщины образца, а не ее поперечных размеров.

Рассматривая биоткань с проникающим в нее иммерсионным агентом как трехкомпонентную систему, состоящую из «сухой» составляющей ткани, воды и ОПА, и предполагая аддитивность объемов этих трех компонентов, а также применимость к этой системе соотношения Гладстона-Дейла, можно оценить содержание воды и ОПА в любой момент времени.

Групповой показатель преломления воды, ПЭГ-300, водного 40% раствора глицерина и сухого остатка кожи составлял 1.3416, 1.4612, 1.3980, и 1.5940 на длине волны 930 нм соответственно. По нашим оценкам при толщине образца 300 мкм представленный метод позволяет определить n_{gr} с точностью порядка 0.0045, точность измерения при уменьшении толщины образца значительно снижается и при толщине 100 мкм составляет всего 0.013.

Средний по всему зондируемому объему кожи групповой показатель преломления в начальный момент времени составил 1.416 ± 0.013 , что с достаточной точностью соответствует известным данным 1.41 ± 0.03 . Начальная объемная доля воды в образцах составила $70.6 \pm 1.1\%$. У края образца наблюдаемая дегидратация более выражена и объемная доля ОПА в коже выше, чем на участках удаленных от края, что может объясняться наличием боковой диффузии со стороны, где эпидермис и роговой слой отсутствует и ОПА взаимодействует непосредственно с дермой. На расстоянии более 2 ± 1 мм от края образца вклад боковой диффузии не наблюдался. Содержание ОПА в коже зависело от продолжительности аппликации агента и от удаленности от края образца. Максимальные объемные доли ПЭГ-300 и 40% раствора глицерина в коже составили $5 \pm 1\%$ и $83 \pm 4\%$ соответственно.

Продольное разрешение распределения показателя преломления, объемной доли воды и ОПА достигается за счет анализа каждых 10 А-сканов на каждом В-скане в каждый момент времени.

Выводы. Приведены экспериментальные примеры относительно простого метода ОКТ-мониторинга объемной доли воды и ОПА в коже в процессе её оптического просветления *ex vivo*. Основное преимущество описанного подхода состоит в том, что он позволяет одновременно отслеживать изменения геометрических и оптических свойств ткани, не нарушая естественного течения процесса ОП, и получать надежные оценки скорости дегидратации и диффузии и степени выраженности этих механизмов ОП в конкретных условиях. Данный метод может быть полезен для изучения взаимодействия ОПА с тонкими срезами биотканей, а также для изучения особенностей боковой диффузии агента в биоткань.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-52-56005.