

DOI: 10.17586/1023-5086-2024-91-08-75-88

УДК 535.361.22:577.3

Ex vivo определение перфузионно-кинетических параметров яичников при гранулёзоклеточной опухоли методом отражательной спектроскопии

АЛЕКСЕЙ АНДРЕЕВИЧ СЕЛИФОНОВ¹✉, АНДРЕЙ СЕРГЕЕВИЧ РЫХЛОВ²,
ЕКАТЕРИНА ИГОРЕВНА СЕЛИФОНОВА³, ВАЛЕРИЙ ВИКТОРОВИЧ ТУЧИН⁴

¹ ³Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

¹Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия

²Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, Ветеринарный госпиталь, Саратов, Россия

⁴Научный медицинский центр Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

⁴Лаборатория лазерной молекулярной визуализации и машинного обучения, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

¹peshka029@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-6270-9395>

²ryhlov.andrej@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0003-1194-9548>

³selif-ei@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0003-2497-5489>

⁴tuchinvv@mail.ru <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>

Аннотация

Предмет исследования. В данном исследовании изучались оптические свойства здоровых и раковых тканей яичников кошек под воздействием 99,5-процентного глицерина — одного из эффективных гиперосмотических агентов. **Цель работы.** Определение перфузионно-кинетических параметров здоровых и раковых тканей яичников при действии 99,5-процентного глицерина. **Метод.** Оптические свойства исследованных образцов были изучены методом диффузной оптической спектроскопии пропускания и отражения в широком спектральном диапазоне от ультрафиолетовой до ближней инфракрасной области. **Основные результаты.** Измерены спектры диффузного отражения и полного пропускания исследованных образцов. С использованием модели свободной диффузии и уравнений молекулярной диффузии Фика и модифицированного закона затухания излучения Бугера–Бера–Ламберта рассчитаны коэффициенты диффузии для потока интерстициальной воды, индуцированного действием глицерина, в ткани яичника. Коэффициент диффузии тканевой воды для здоровых яичников был определён, как $D = (2,2 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$, а для яичников с гранулёзоклеточной опухолью, как $D = (2,6 \pm 0,6) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Используя полученные коэффициенты диффузии, было найдено время полного обезвоживания исследованных образцов при действии глицерина. Время полной дегидратации срезов здоровых яичников в лютеиновой фазе составило 19,4 мин, а для гранулёзоклеточной опухоли — 16,6 мин. **Практическая значимость.** Полученные данные можно использовать для оценки общего обезвоживания яичников при применении концентрированного глицерина, что важно для разработки протоколов доставки лекарственных препаратов и криоконсервации органов. Технология оптического просветления может быть использована в терапевтических и диагностических клинических приложениях для изучения глуболежащих молекулярных структур в тканях. Улучшение прозрачности тканей в ультрафиолетовом диапазоне может быть использовано в ультрафиолетовой биомедицинской спектроскопии и фототерапии.

Ключевые слова: яичники, рак яичников, гранулёзоклеточная карцинома, глицерин, спектры полного пропускания, спектры диффузного отражения, коэффициент диффузии, эффективность оптического просветления

Благодарность: работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-75-00021.

Ссылка для цитирования: Селифонов А.А., Рыхлов А.С., Селифонова Е.И., Тучин В.В. Ex vivo определение перфузионно-кинетических параметров яичников при гранулёзоклеточной опухоли методом отражательной спектроскопии // Оптический журнал. 2024. Т. 91. № 8. С. 75–88. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2024-91-08-75-88>

Код OCIS: 300.0300.

Ex vivo determination of perfusion-kinetic parameters of ovaries with granulosa cell carcinoma using reflectance spectroscopy

ALEXEY A. SELIFONOV¹✉, ANDREY S. RYKHOV²,
EKATERINA I. SELIFONOVA³, VALERY V. TUCHIN⁴

^{1, 3}Educational and Scientific Institute of Nanostructures and Biosystems, Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia

¹Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

²SSAU named after N.I. Vavilov, Veterinary Hospital, Saratov, Russia

⁴Science Medical Center of the Saratov State University, Saratov, Russia

⁴Laboratory of Laser Molecular Imaging and Machine Learning, Tomsk State University, Tomsk, Russia

¹peshka029@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-6270-9395>

²ryhlov.andrej@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1194-9548>

³selif-ei@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2497-5489>

⁴tuchinvv@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>

Abstract

Subject of study. This study examined the optical properties of healthy and cancerous feline ovarian tissues under the influence of 99.5% glycerol, one of the effective hyperosmotic agents. **Aim of study.** Determination of perfusion-kinetic parameters of healthy and cancerous ovarian tissues under the influence of 99.5% glycerol. **Method.** The optical properties of the studied samples were studied by diffuse optical spectroscopy of transmittance and reflectance in a wide spectral range from ultraviolet to near infrared region. **Main results.** The diffuse reflectance and total transmittance spectra of the studied samples were measured. Using the free diffusion model and Fick's molecular diffusion equation, and the modified Bouguer–Beer–Lambert law for attenuation of radiation, the diffusion coefficient of interstitial water flux induced by the action of glycerol in ovarian tissue was calculated. The tissue diffusion coefficient of water for healthy ovaries was found as $D = (2.2 \pm 0.5) \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ and for ovaries with granulosa cell cancer $D = (2.6 \pm 0.6) \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$. Using the obtained diffusion coefficients, we determined the time of complete dehydration of the studied samples under the influence of glycerol. The time for complete dehydration of sections of healthy ovaries in the luteal phase was 19.4 minutes, and for a granulosa cell tumor — 16.6 minutes. **Practical significance.** The data obtained can be used to assess the overall dehydration of the ovaries when using concentrated glycerol, as well as to develop protocols for drug delivery and organ cryopreservation. The demonstrated effect of optical clearing can be used in therapeutic and diagnostic clinical applications to study molecular structures deep in tissues. Optical clearing technology using hyperosmotic agents, in particular glycerol, leading to improved tissue transparency in the ultraviolet range, can be used in ultraviolet biomedical spectroscopy and for phototherapy.

Keywords: ovaries, ovarian cancer, granulosa cell carcinoma, glycerol, total transmittance spectra, diffuse reflectance spectra, diffusion coefficient, optical clearing efficiency

Acknowledgment: work was supported by the Russian Science Foundation Grant № 22-75-00021.

For citation: Selifonov A.A., Rykhlov A.S., Selifonova E.I., Tuchin V.V. Ex vivo determination of perfusion-kinetic parameters of ovaries with granulosa cell carcinoma using reflectance spectroscopy [in Russian] // Opticheskii Zhurnal. 2024. V. 91. № 8. P. 75–88. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2024-91-08-75-88>

OCIS code: 300.0300.

ВВЕДЕНИЕ

Онкологические поражения яичников — это наиболее смертельное гинекологическое заболевание, поражающее женщин всех возрастов. Менее половины пациенток имеют пятилетнюю выживаемость после постановки диагноза. Более чем у 75% поражённых женщин диагноз ставится на поздней стадии, поскольку ранняя стадия заболевания обычно протекает бессимптомно. Наиболее сильными факторами риска являются пожилой возраст, семейный анамнез рака яичников и молочной железы [1]. Рекомендуются проведение ежегодного скрининга с измерениями ракового антигена, трансвагинальным ультразвуковым исследованием, для женщин с повышенным риском и с семейным анамнезом, генетическое консультирование (для выявления генетических мутаций, например, мутаций BRCA). Выявлено, что, длительное применение гормональных контрацептивов снижает риск заболевания примерно на 50% [2].

Гранулёзноклеточные опухоли яичников относятся к неэпителиальным опухолям и составляют 3–5% от всех злокачественных новообразований яичников [3]. У многих пациентов диагноз устанавливается по клиническим и рентгенологическим признакам, включая преимущественно фиброзное содержимое при ультразвуковом исследовании или магнитно-резонансной томографии (фибротекома), большое геморрагическое многокистозное образование у ребенка с преждевременным половым созреванием (ювенильный тип гранулёзноклеточной карциномы) и сопутствующие синдромы. В отличие от гранулёзноклеточных опухолей взрослого типа гранулёзноклеточные опухоли ювенильного типа развиваются у девочек и женщин в первые три десятилетия жизни (пик заболеваемости приходится на первые 10 лет жизни). Клиническая картина сопровождается преждевременным половым созреванием, быстрым ростом опухоли с возможностью её разрыва и перекрута. В настоящее время патогенез этих опухолей

неизвестен [4]. Хирургическое вмешательство остаётся наиболее эффективным подходом для лечения как первичных, так и рецидивирующих опухолей яичников, тогда как адъювантная химиотерапия может использоваться только при запущенных или неоперабельных опухолях из-за токсичности и ограниченной эффективности этой терапии [5].

Золотым стандартом современной лабораторной диагностики взрослого типа гранулёзноклеточной карциномы и риска рецидивирования являются иммуногистохимические исследования, а также жидкостная биопсия (циркулирующие опухолевые клетки и циркулирующие ДНК, исследуемые в основном посредством полимеразной цепной реакции и секвенированием следующего поколения), а также в качестве необходимого дополнения выступает молекулярно-генетический анализ FOXL2 402C>G (C134 W).

Гормонпродуцирующие опухоли яичников встречаются относительно редко, но вопросы их ранней диагностики сейчас актуальны в связи с тем, что данные опухоли отличаются бессимптомным течением, выраженной степенью злокачественности, быстрым темпом роста, ранним распространением на близлежащие органы и активным метастазированием [6].

В последние десятилетия одним из приоритетных направлений прижизненного изучения организма *in vivo* является внедрение в клиническую практику оптических систем, которые обеспечивают неинвазивные методы диагностики и лечения: микроскопов, рефрактометров, медицинских осветителей, аппаратов для светолечения, эндоскопов, лазерных установок и др. В связи с этим, знание оптических свойств различных биологических тканей организма, а также, их перфузионно-кинетических характеристик, имеет очень важное как практическое, так и теоретическое значение в различных областях медицины. Благодаря простоте и удобству использования, относительной ценовой доступности, возможности

получения достаточно обширной информации о биоткани на клеточном и субклеточном уровнях неинвазивными методами, в последние десятилетия оптические технологии находят широкое внедрение в клиническую медицину [7].

Знание оптических свойств различных биологических тканей приобретает принципиально важное значение для мониторинга нормальных и патологических метаболических процессов. Например, метод спектроскопии комбинационного рассеяния применялся для оценки изменения состава эмали и дентина после отбеливания [8] и анализа костной ткани при экспериментальном остеопорозе [9], спектроскопия диффузного отражения использовалась для исследования проницаемости дентина к глюкозе [10], а флуоресцентная спектроскопия для диагностики гипоксии, мониторинга воспалительных процессов во многих тканях организма и сопровождения фотодинамической терапии [11].

В работе [12] для определения оптических характеристик ткани яичников человека и свиньи использовали гибридную оптическую систему, состоящую из оптического когерентного томографа, ультразвукового сканера и фотоакустического визуализатора. Было показано, что яичники свиньи и человека *ex vivo* имеют сходные структурные, системные характеристики и морфологию и для их исследования подходят одинаковые оптические методы. Предполагается перенесение результатов апробации методов, полученных на моделях животных, на исследования органов человека, что позволяет проводить медицинское вмешательство на ранних стадиях выявления смертельно опасных заболеваний [13]. В том числе, существует потребность в разработке доступных в клинической практике точных оптических методов диагностики яичников с целью выявления начальных патологий на клеточном уровне.

Однако практически всем биологическим тканям присуще сильное рассеяние и поглощение в области эндогенных хромофоров, что значительно снижает глубину проникновения света в биообъект [14]. Метод иммерсионного оптического просветления применяется для увеличения проникновения излучения вглубь биологического объекта [15]. Глицерин — один из широко применяемых в медицине гиперосмотических веществ, который способен ча-

стично замещать собой внутритканевую жидкость, частично вытягивать её за счёт осмоса и повышать показатель преломления внутритканевой среды относительно показателя преломления рассеивателей [16].

Целью работы является определение перфузионно-кинетических параметров здоровых и раковых тканей яичников при действии 99,5-процентного глицерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе *ex vivo* исследовали яичники беспородных кошек в возрасте от 5 до 10 лет, полученные после овариэктомии и овариогистерэктомии в ветеринарном госпитале. Всего было исследовано 6 образцов из 3 яичников от разных кошек с диагнозом «клинически здоровые» и 6 образцов из 2 яичников от одного животного с подозрением на злокачественное новообразование.

Для уточнения диагноза мы проводили гистологическое исследование образцов не позднее 48 часов после удаления. Для этого часть образца вручную вырезалась из каждого яичника скальпелем и фиксировалась в 10% забуференном формалине. Остальные части яичников хранили замороженными до проведения оптических измерений. Для гистологического исследования всех образцов использовали окраску гематоксилин-эозином. Для получения гистологических сканов использовали цифровой слайд-конвертер Aperio AT2 (экранный диагностический сканер), оснащённый светодиодным источником света и средствами калибровки. Для оптических измерений использовали 6 срезов здоровых и 6 срезов патологических яичников. Толщину срезов тканей (образцов) измеряли электронным микрометром (Union Source CO., Ltd., Китай, Нинбо) в нескольких точках образца и усредняли. Точность каждого измерения составляла $\pm 0,01$ мм. Средняя толщина срезов яичников составила $0,80 \pm 0,09$ мм. Измерения спектров диффузного отражения (СДО) и спектров полного пропускания (СПП) образцов тканей проводили в спектральном диапазоне от 200 до 800 нм на двухлучевом спектрофотометре Shimadzu UV-2550 (Япония, Токио) с интегрирующей сферой (рис. 1).

Источником излучения выступала галогенная лампа с фильтрацией в исследуемом спектральном диапазоне. Предельное разрешение

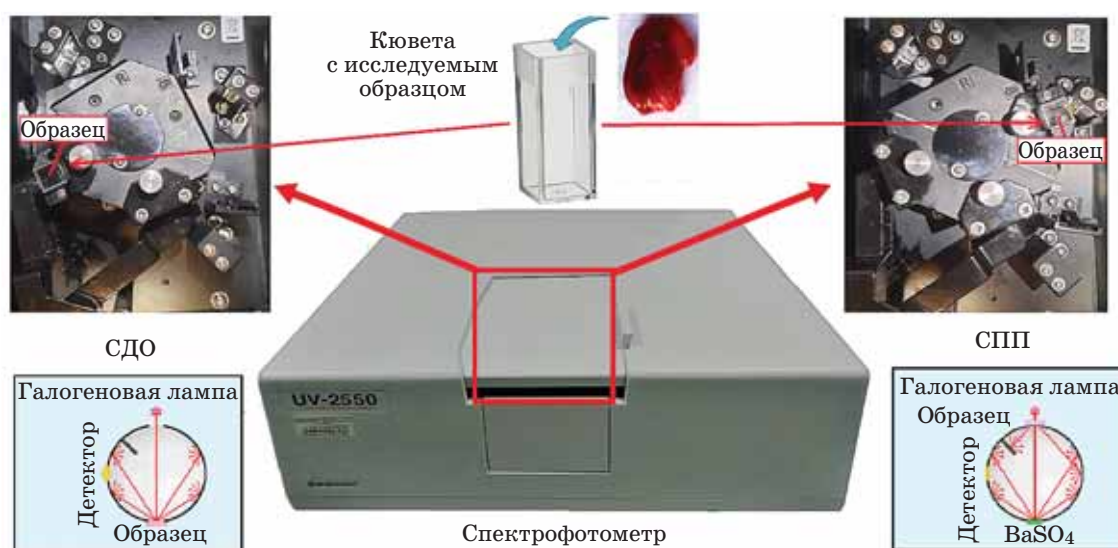


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для измерения спектров диффузного отражения (СДО) и спектров полного пропускания (СПП) образцов ткани яичника кошки

Fig. 1. Schematic of the experimental setup for measuring diffuse reflectance spectra (DRS) and total transmission spectra (TTS) of cat ovarian tissue samples

спектрометра равно 0,1 нм. Перед проведением измерений спектры нормализовались с использованием эталона из BaSO_4 , который имеет высокую отражательную способность для всего исследуемого диапазона. Все измерения проводились при комнатной температуре (около 25 °С) и нормальном атмосферном давлении. В исследовании использовали химически чистый 99,5-процентный глицерин (ООО «Акрихимфарм», Россия). Для оптических измерений использовали 6 срезов здоровых органов и 6 срезов злокачественных яичников, три из которых использовали для изучения кинетики СДО и три для измерения СПП. Каждый образец исследуемой ткани фиксировали двусторонним скотчем в специальной рамке с окном 0,5×0,5 см в кварцевой кювете так, чтобы образец ткани был прижат к стенке кюветы. Глицерин добавляли между поверхностью образца и стенкой кюветы, после чего проводили измерения до завершения процесса диффузии глицерина/интерстициальной воды, что наблюдается как насыщение зависимости от времени интенсивности СДО и СПП исследуемых образцов.

Протокол локальной этической комиссии на разрешение проведения исследований на животных (№ 4 от 1 ноября 2022 г.) был выдан Саратовским государственным медицинским университетом имени В.И. Разумовского, ко-

торый отвечает за предоставление разрешений на проведение исследований на животных для Саратовской области.

РАСЧЁТЫ

Определение коэффициента тканевой диффузии глицерина/интерстициальной воды основано на измерении кинетики СДО. Процесс транспорта исследуемого агента в образце можно описать в рамках модели свободной диффузии [17–19]. Геометрически образец биологической ткани можно представить в виде плоскопараллельной пластины конечной толщины. Необходимо также учитывать некоторые ограничения, присущие модели свободной диффузии:

- 1) имеет место только концентрационная диффузия,
- 2) коэффициент диффузии постоянен во всех точках внутри исследуемого образца ткани,
- 3) объём агента значительно превышает объём биологического образца,
- 4) до начала эксперимента предполагается отсутствие агента во всех внутренних точках образца.

Для плоскопараллельного образца ткани конечной толщины, используя второй закон Фика и модифицированный закон Бугера–Бера–Ламберта, можно получить выражение

для разности $\Delta A(t, \lambda)$ между эффективной оптической плотностью в текущий момент времени $A(t, \lambda)$ и в начальный момент времени $A(t = 0, \lambda)$.

$$\begin{aligned} \Delta \dot{A}(t, \lambda) &= \dot{A}(t, \lambda) - \dot{A}(t = 0, \lambda) = \\ &= \Delta \mu_{\text{eff}}(t, \lambda) L \approx C_0 \left(1 - \exp \left(-\frac{\pi D t}{l^2} \right) \right) L, \end{aligned} \quad (1)$$

$$I = I_0 \exp[-\mu_{\text{eff}} L] \quad \mu_{\text{eff}}(t, \lambda) = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)} \rightarrow \Delta \mu_{\text{eff}}(t, \lambda),$$

где $\Delta A(t, \lambda)$ — разность между эффективной оптической плотностью в текущий момент времени $A(t, \lambda)$ и в начальный момент времени $A(t = 0, \lambda)$; t — время, в течение которого происходит процесс диффузии, с; λ — длина волны, нм; $\Delta \mu_{\text{eff}}(t, \lambda)$ — разность между эффективным коэффициентом ослабления оптического излучения в биоткани в текущий момент времени и в начальный момент времени, 1/см; L — средняя длина пробега фотонов, которая в режиме обратного рассеяния равна $L \approx 2l_d$; $1/l_d = \mu_{\text{eff}}$, $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$, g — фактор анизотропии рассеяния, а для пропускания $L \approx l$, l — толщина образца, см; D — эффективный коэффициент диффузии молекул агента и интерстициальной воды, см²/с; C_0 — начальная концентрация оптического просветляющего агента, моль/л. Из анализа кинетики изменения эффективной оптической плотности ΔA рассчитывался коэффициент диффузии D , используя уравнение (1) и учитывая коэффициенты, полученные после аппроксимации экспериментальных данных.

$$\tau = \frac{4l^2}{\pi^2 D}, \quad (2)$$

где D — эффективный коэффициент диффузии молекул глицерина и интерстициальной воды, см²/с; l — толщина образца, см.

Зарегистрированные СДО ($R(\lambda)$, %) с помощью стандартного алгоритма Кубелки–Мунка преобразуются в спектры оптической плотности $A(\lambda)$ (программное обеспечение для спектрофотометра Shimadzu UV-2550). И глицерин и пропиленгликоль являются хорошо известными эффективными оптически просветляющими агентами и часто используется [15, 16, 18].

Для оценки эффективности оптического просветления Q образцов ткани *ex vivo* обычно используют измерения СПП, а параметр Q рассчитывается как:

$$Q(\%) = \frac{T(t, \lambda) - T(t = 0, \lambda)}{T(t = 0, \lambda)} \times 100\%, \quad (3)$$

где $T(t = 0, \lambda)$ — суммарный коэффициент пропускания (%) образца ткани для конкретной длины волны λ в начальный момент времени, а $T(t, \lambda)$ — то же самое в текущий момент времени.

Столбцы на графиках СДО и СПП представляют собой границы доверительного интервала, найденные как:

$$\delta = \frac{t_s \sigma}{\sqrt{n}}, \quad (4)$$

где t_s — коэффициент Стьюдента; σ — стандартное отклонение ($n = 3$, $p = 0,95$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование

Гистологическое исследование подтвердило предварительные клинические диагнозы: ткани с гранулёзноклеточной патологией яичника (рис. 2а, 2б) и здоровая ткань (рис. 2в, 2г).

Гистология яичников с патологией

Из амбулаторной карты известно, что животное было вялое и малоподвижное, с плохим аппетитом, потеряло вес. При гистологическом исследовании выявлены фрагменты фиброваскулярной ткани с солидными и фокально кистозными структурами опухоли, преобладают муцитозные поля с рассеянными полиморфными клетками с эозинофильной цитоплазмой и округлыми ядрами. Определяется неинкапсулированная, монофазная, высококлеточная опухоль с чёткой границей. Опухолевые клетки цилиндрические и кубовидные, с размытыми межклеточными границами, среднего размера, со слабоэозинофильной цитоплазмой, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, овоидными ядрами, с мелкодисперсным хроматином, без видимых ядрышек. Ядерная атипия выражена слабо. Клетки опухоли формируют истинные ветвящиеся

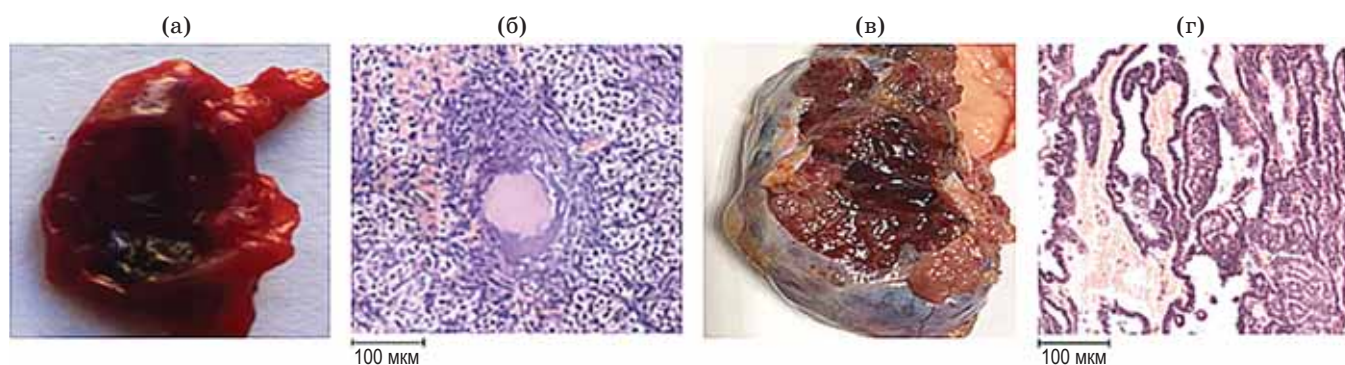


Рис. 2. Фото исследованных яичников кошек в разрезе: здоровый яичник (а), яичник с гранулёзноклеточной опухолью (в). Фото фрагмента гистологического препарата яичника: здоровый яичник (б), яичник с гранулёзноклеточной опухолью (г)

Fig. 2. Photo of the examined ovaries of cats in a section: a healthy ovary (а), an ovary with a granulosa cell tumor (в). Photo of a fragment of a histological specimen of an ovary: a healthy ovary (б), an ovary with a granulosa cell tumor (г)

сосочковые структуры с микропапиллярным компонентом. Строма выражена слабо, соединительнотканная, васкуляризация скудная за счёт мелких тонкостенных щелевидных сосудов. Фигуры митозов не выявляются. Определяются зоны некроза и острой воспалительной инфильтрации. Гистологическое заключение: морфологическая картина соответствует гранулёзноклеточной опухоли яичника (папиллярная карцинома).

Гистология здоровых яичников

Яичники имеют сохранённую гистологическую структуру. Корковое вещество хорошо развито и доминирует над стромой, хорошо визуализируется жёлтое тело (рис. 2г). В некоторых образцах обнаруживается гиперплазия жёлтого тела без атипии. Строма представлена типичной тека тканью без отёка, развита умеренно, капиллярная сеть множественная, отмечаются мелкоочаговые свежие кровоизлияния. Сосуды толстостенные, неравномерно полнокровные. Визуализируются также атретические фолликулы с внутренней и наружной фолликулярной текой с обилием кровеносных сосудов и интерстициальной соединительной тканью. Гистологическое заключение: яичник с нормальным гистологическим строением в лютеиновой фазе.

Оптическое исследование

На рис. 3а и 3в представлены СДО исследованных образцов яичников кошек, измеренные

до и после взаимодействия с 99,5-процентным глицерином.

Разница эффективной оптической плотности $\Delta A(t, \lambda)$ исследуемых образцов яичников определена при 600, 700 и 800 нм и затем усреднена (см. (1)). Символы — экспериментальные данные, сплошные кривые — соответствующая аппроксимация экспериментальных данных в рамках модели свободной диффузии: здоровая ткань (б), ткань яичника с гранулёзноклеточной патологией (г).

Исходные СДО образцов яичников имеют провалы в УФ области, которые свойственны для аминокислотных остатков белков соединительной ткани в виде коллагеновых и ретикулярных волокон, а также гемоглобина и порфиринов. Провалы при длинах волн 415–420 нм и 540–580 нм характерны для полос поглощения оксигемоглобина (415, 542 и 576 нм). Водопоглощение во всём исследуемом диапазоне незначительно. Коэффициент диффузии глицерин/интерстициальная вода в образцах определяли из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего изменению оптической плотности, методом наименьших квадратов. Кинетика СДО (DRS) взаимодействия с 99,5-процентным глицерином для одного из образцов здоровой ткани и одного из образцов с патологией показана на рис. 3а и 3в.

Разность эффективной оптической плотности в текущий момент времени и в начальный момент времени ΔA рассчитывалась по экспе-

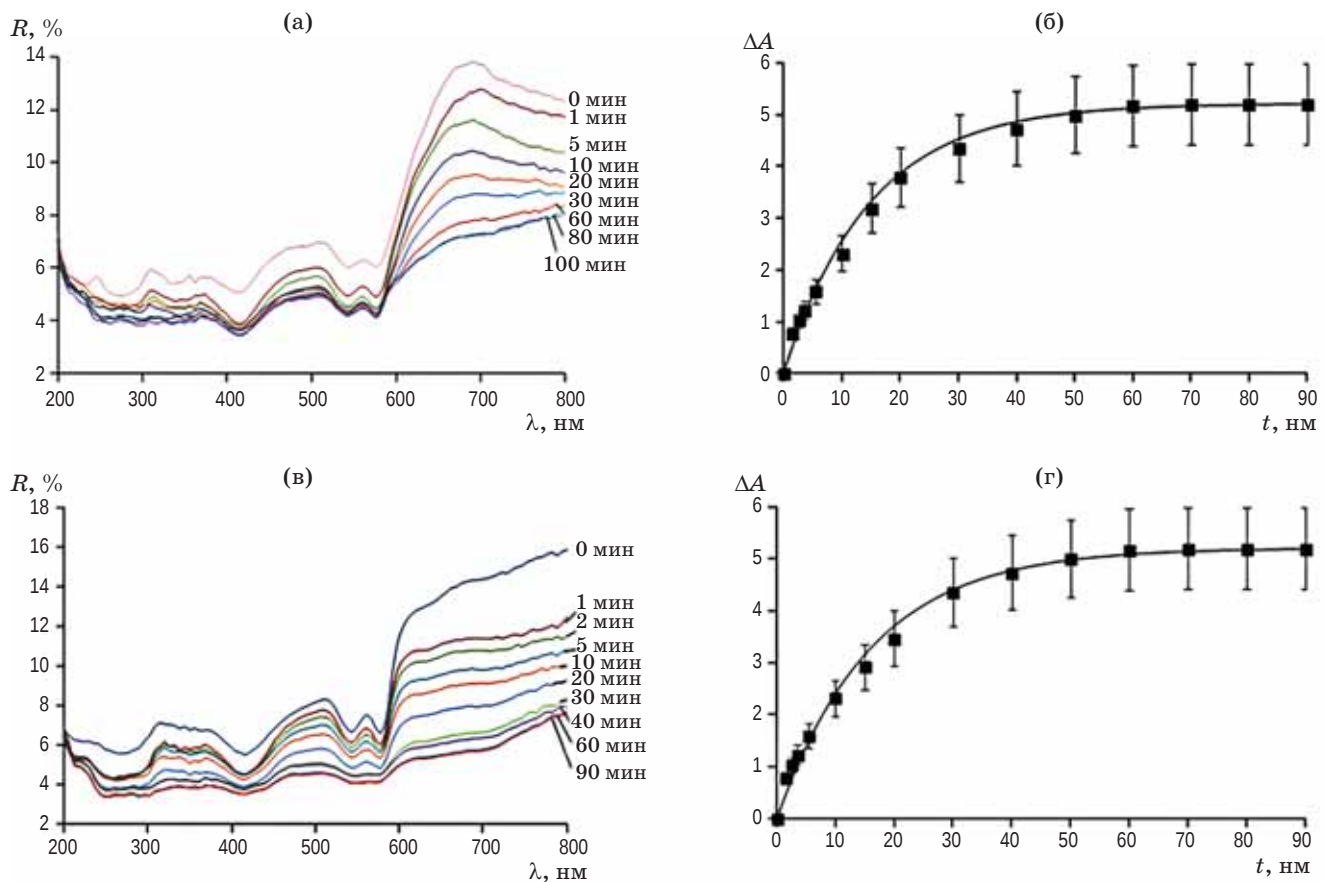


Рис. 3. СДО образцов ткани яичников кошек при погружении в 99,5-процентный глицерин: здоровая ткань (а), ткань яичника с гранулёзноклеточной опухолью (в). Разница эффективной оптической плотности $\Delta A(t, \lambda)$ исследуемых образцов яичников при 600, 700 и 800 нм усреднена (см. уравнение (1)). Символы — экспериментальные данные, сплошные кривые — соответствующая аппроксимация экспериментальных данных в рамках модели свободной диффузии: здоровая ткань (б), ткань яичника с гранулёзноклеточной патологией (г)

Fig. 3. DRS of cat ovarian tissue samples immersed in 99.5% glycerol: healthy tissue (a), ovarian tissue with granulosa cell tumor (в). The corresponding kinetics of the difference in effective optical density $\Delta A(t, \lambda)$ at 600, 700 and 800 nm and then averaged (see equation (1)) of the studied ovarian samples. Symbols are experimental data, solid curves are the corresponding approximation of experimental data within the framework of the free diffusion model: healthy tissue (б), ovarian tissue with granulosa cell pathology (г)

риментальным данным для каждого образца при λ , равных 600, 700 и 800 нм, после чего усреднялась (рис. 3б и 3г). Данные длины волн выбраны по причине того, что они далеки от линий поглощения гемоглобина, поэтому изменение диффузного отражения определяется в основном изменением рассеяния ткани.

После погружения образцов ткани в 99,5-процентный глицерин в течение всего времени взаимодействия агента с тканью наблюдается снижение коэффициента диффузного отражения R , что обусловлено уменьшением рассеяния света при выравнивании показателя преломления рассеивателей (коллагеновых воло-

кон и других структур ткани) и межтканевой жидкости за счёт миграции воды из ткани при сильном осмотическом давлении со стороны высококонцентрированного глицерина. Из представленных рис. 3б, 3г также видно, что изменения в оптической плотности исследуемых образцов наблюдаются в течение 60 мин с момента начала его взаимодействия с глицерином, затем диффузионный процесс завершается и зависимость насыщается.

СДО исследуемых образцов яичников были усреднены по 6 здоровым и 6 образцам с онкологией до и после взаимодействия с 99,5-процентным глицерином в течение времени, требуемого

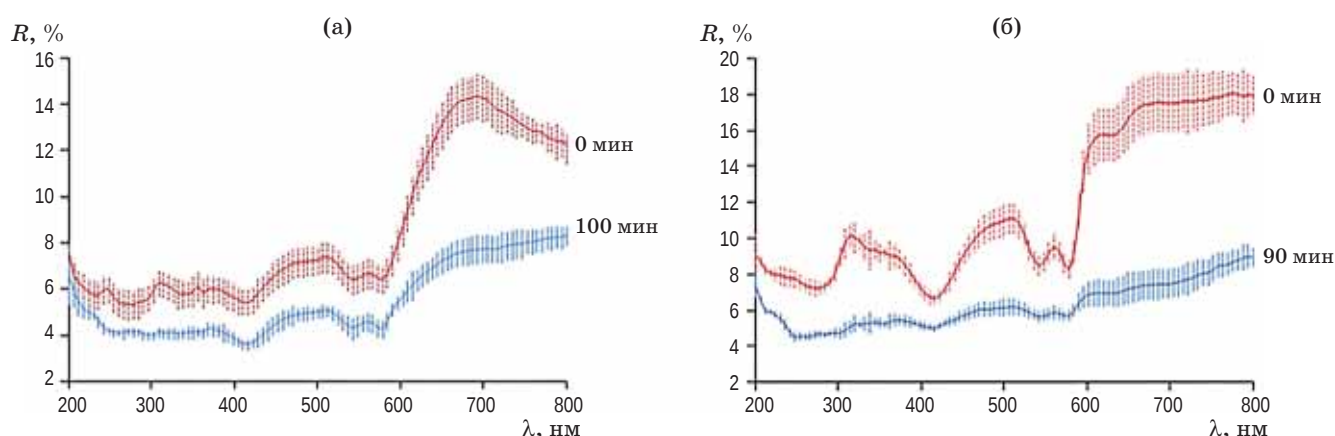


Рис. 4. СДО в диапазоне от 200 до 800 нм ткани яичника кошки до и после погружения в 99,5-процентный глицерин: яичники в норме ($n = 6$) (а), яичники с гранулёзноклеточной опухолью ($n = 6$) (б)

Fig. 4. DRS in the range from 200 to 800 nm of cat ovarian tissue before and after immersion in 99.5% glycerol: normal ovaries ($n = 6$) (a), ovaries with granulosa cell tumor ($n = 6$) (b)

для полной иммерсии исследуемых образцов (рис. 4).

На рис. 4 представлены СДО исследуемых образцов яичников, которые были усреднены для 6 образцов в норме и 6 — с раковыми опухолями до и после взаимодействия с 99,5-процентным глицерином в течение времени, требуемого для полной иммерсии исследуемых образцов, которое составило 100 минут для нормальной ткани и 90 минут для ткани с патологией.

В результате взаимодействия глицерина с исследуемыми образцами здоровой и патологической тканями яичников происходит постепенное снижению коэффициента отражения во всём диапазоне исследованных длин волн за счёт уменьшения рассеяния ткани, а также некоторого уменьшения её поглощения. Уменьшение рассеяния обеспечивается за счёт согласования показателей преломления тканевых рассеивателей и интерстициальной жидкости, обезвоживания тканей и лучшей упаковки коллагеновых волокон [14–17]. Эти эффекты обусловлены двумя факторами: оттоком интерстициальной воды вместе с гемоглобином из ткани за счёт осмоса и диффузией глицерина в ткань.

Анализируя изменения СДО во времени можно определить эффективный коэффициент диффузии глицерина/интерстициальной воды в ткани здорового яичника и яичника с гранулёзноклеточной опухолью. Используя уравнение (3), можно найти τ (время диффу-

зии), которое для образцов ткани здоровых яичников составило $19,4 \pm 2,3$ мин, а для образцов яичников с патологией — $16,6 \pm 1,8$ мин. В литературе имеются сходные различия в результатах исследований значений τ для здоровой и патологической слизистой оболочки толстой кишки человека: 3,9 мин для колоректальной карциномы и 5,0 мин для здоровой ткани [20]. В работе [21] также определено время диффузии глицерина/интерстициальной воды: 22,3 мин для здоровых тканей яичников кошек в фолликулярную фазу и 17,7 мин для яичников в лютеиновую фазу. Из экспериментальных данных, представленных на рис. 3б и 3г, средний эффективный коэффициент диффузии при действии 99,5-процентного глицерина в образцах здоровых яичников ($n = 3$) был определён как $D = (2,2 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$, а для яичников с патологией ($n = 3$) — как $D = (2,6 \pm 0,6) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. В работе [21] определены эффективные коэффициенты диффузии глицерина/интерстициальной воды для образцов здоровых яичников в фолликулярной фазе, как $D = (1,9 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ и яичников в лютеиновой фазе, как $D = (2,4 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Для сравнения эффективный коэффициент диффузии 40% глюкозы/тканевой воды в ткань яичника лютеиновой фазы составил $D = (8,6 \pm 1,4) \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$, а эффективное время диффузии $\tau = 50,4 \pm 1,7$ мин [22]. СПП образцов с гранулёзноклеточной опухолью и здоровой тканью до и после взаимодействия с 99,5-процентным глицерином представлены на рис. 5.

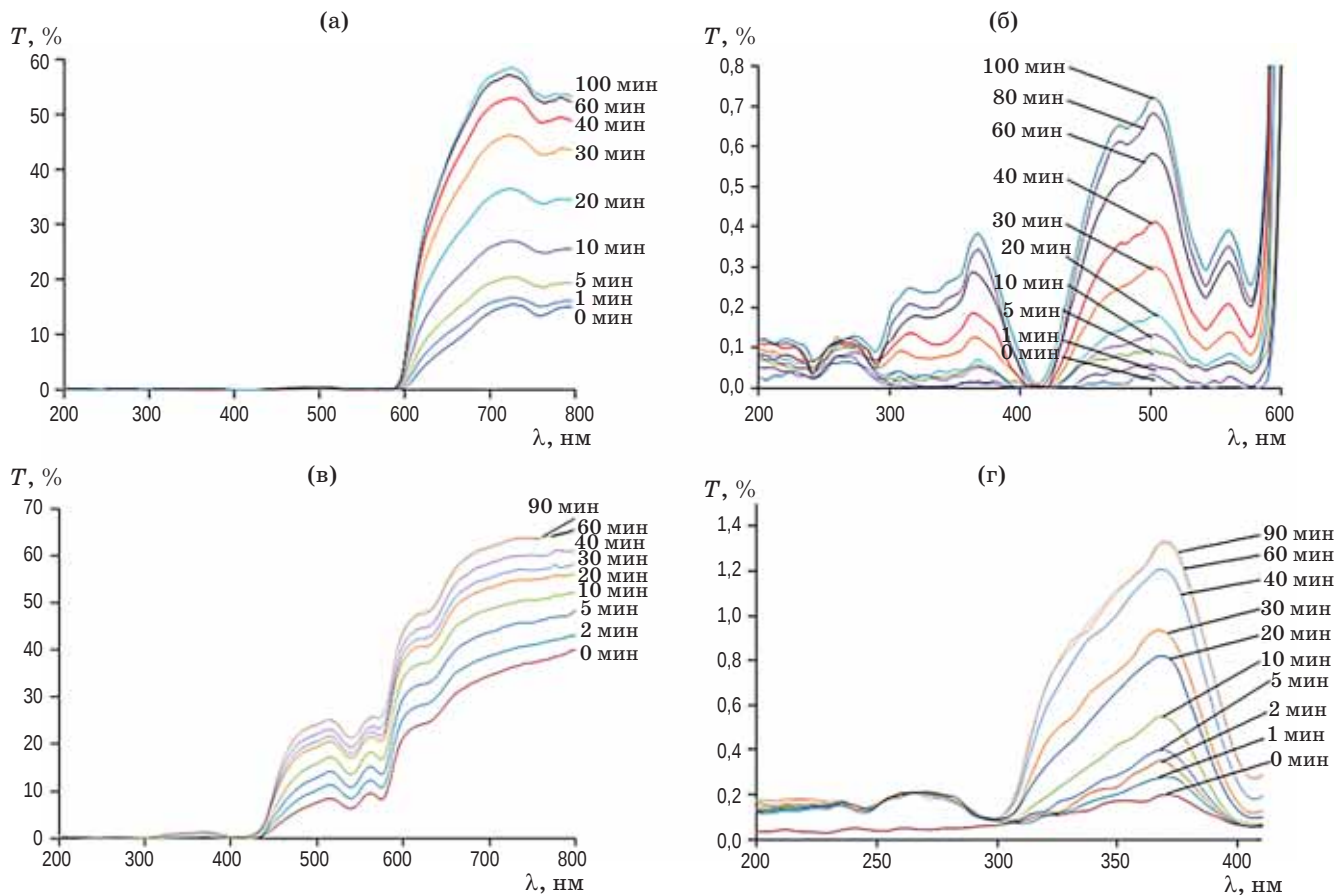


Рис. 5. СПП ткани яичника кошки при погружении в 99,5-процентный глицерин в течении времени: здоровые яичники ($n = 6$) (а, б), яичники с гранулёзноклеточной опухолью ($n = 6$) (в, г)

Fig. 5. TTS of cat ovarian tissue when immersed in 99.5% glycerol over time: healthy ovaries ($n = 6$) (а, б), ovaries with granulosa cell tumor ($n = 6$) (в, г)

Из анализа данных рис. 5 видно, что коэффициенты пропускания исследуемых образцов биологических тканей увеличиваются во всём исследуемом диапазоне длин волн (200–800 нм) при увеличении времени взаимодействия с глицерином. Образцы становятся более прозрачными за счёт в основном уменьшения рассеяния образцов. При уменьшении рассеяния поглощение в среде также уменьшается за счёт меньшей вероятности для фотона встретить поглотитель благодаря уменьшению длины его свободного пробега. Это особенно хорошо видно по выравниванию спектров отражения со временем (рис. 4).

Пропускание обоих типов исходных образцов в УФ области спектра близко к нулю и увеличивается в процессе взаимодействия с 99,5-процентным глицерином. Для СПП здоровой ткани яичников в лютеиновой фазе пропускание практически равно нулю от 200

до 600 нм, что связано с тем, что этот тип ткани яичника в значительной степени снабжён капиллярной сетью, заполненной кровью (рис. 5а, 5б). На СПП образцов с раковой опухолью в видимой области спектра наблюдаются полосы поглощения гемоглобина крови, коррелирующие с СДО (рис. 5в, 5г). Так на СПП хорошо видны спектральные полосы поглощения на 542 и 576 нм, что может быть связано с меньшим содержанием гемоглобина и его оксигенированных форм в образцах с гранулёзноклеточной патологией. Начальные и конечные усреднённые СПП для всех исследуемых образцов показаны на рис. 6.

Важной характеристикой оптического просветления биологических тканей является параметр эффективности Q (%). Используя экспериментальные данные и уравнение (3), были рассчитаны параметр Q для действия 99,5-глицерина на здоровые ткани яичников

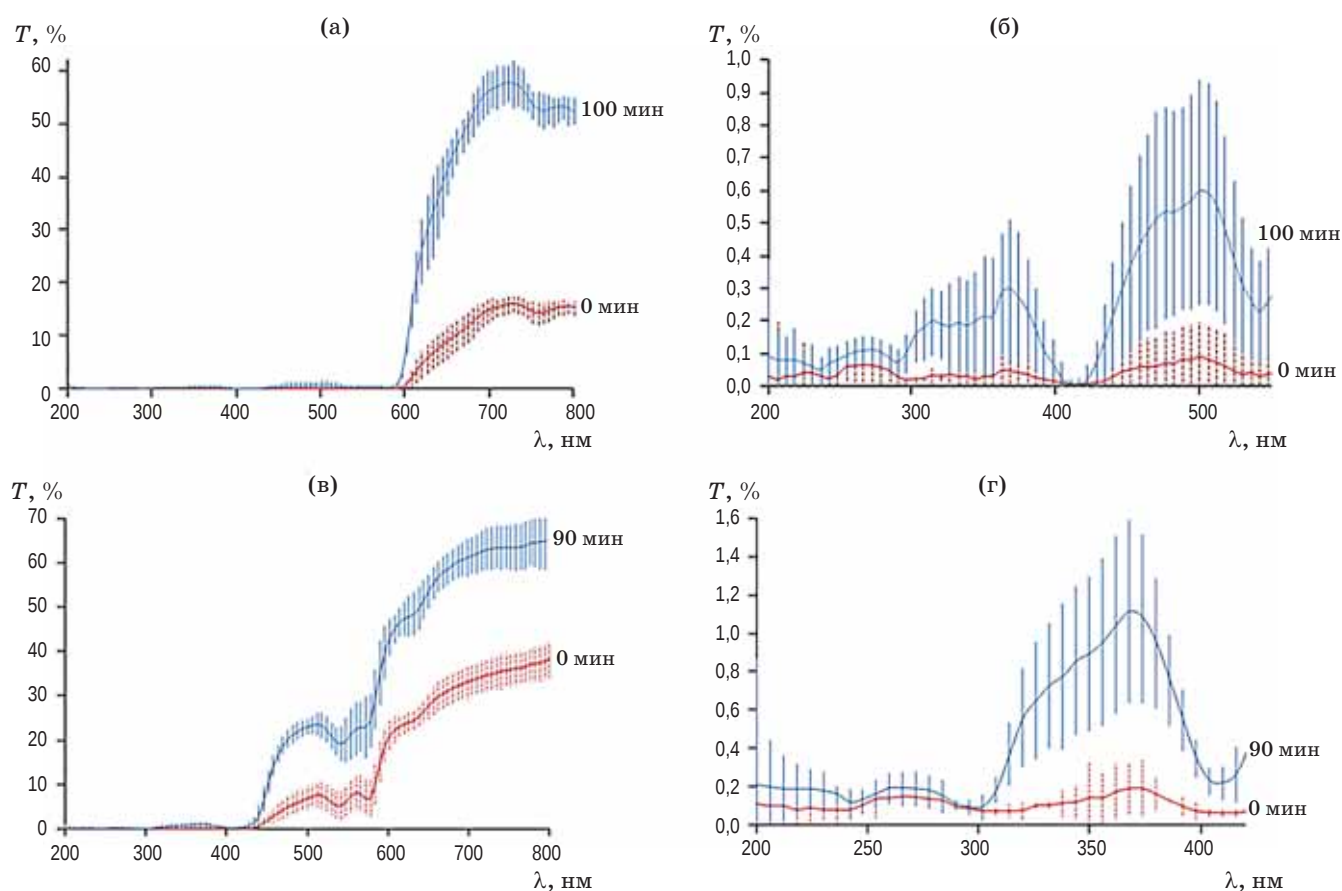


Рис. 6. Средние СПП ткани яичников кошки до и после погружения в 99,5-процентный глицерин: здоровые яичники ($n = 6$) (а, б), яичники с гранулёзочелочной опухолью ($n = 6$) (в, г)

Fig. 6. Average TTS of cat ovarian tissue before and after immersion in 99.5% glycerol: healthy ovaries ($n = 6$) (а, б), ovaries with granulosa cell tumor ($n = 6$) (в, г)

и яичники с гранулёзно-клеточной патологией (рис. 7).

Полученные значения эффективности оптического просветления для здоровых тканей яичников во всём исследуемом диапазоне превышают значения для яичников с гранулёзочелочной патологией. В УФ диапазоне эффективность оптического просветления ткани яичников кошек глицерином достигает максимума при 350 нм и составляет 600% для яичников с патологией и 512% для здоровых яичников. В видимой области спектра значения Q для здоровой ткани яичника достигают максимальных значений 650% при 450 и 550 нм, а для ткани с патологией эффективность оптического просветления достигает в этой области 400%. В ближней инфракрасной области в так называемом «первом терапевтическом окне прозрачности» при 650–800 [14, 15] эффективность оптического просветления

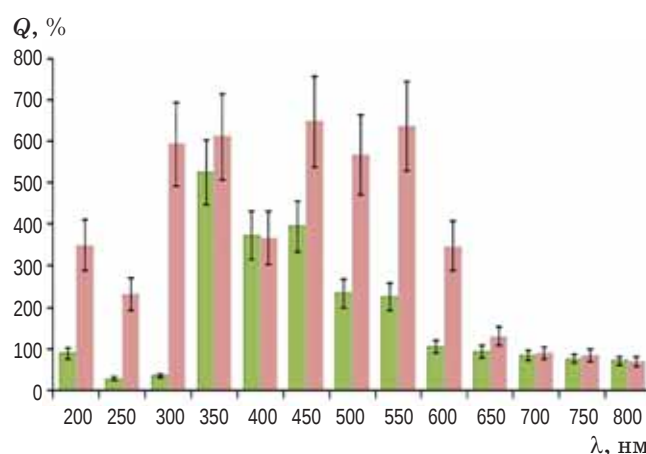


Рис. 7. Эффективность (Q , %) оптического просветления исследуемых тканей яичников после взаимодействия с 99,5-процентным глицерином

Fig. 7. Efficiency (Q , %) of optical clearing of the studied ovarian tissues after interaction with 99.5% glycerol

достигает 112% для образцов с патологией и до 100% для здоровых образцов. Однако из-за отсутствия в этой области сильных полос поглощения эндогенных хромофоров абсолютное пропускание достаточно велико и составляет около 60% (рис. 5а, 5в).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были получены перфузионно-кинетические параметры здоровых яичников и яичников с патологией под действием 99,5-процентного глицерина. В результате проведённого гистологического анализа были подтверждены предварительные диагнозы исследованных яичников: здоровые яичники в лютеиновой фазе и яичники с гранулёзоклеточной опухолью. Измерены спектры диффузного отражения и общего пропускания исследованных образцов. Изучена кинетика этих спектров при действии глицерина на исследуемые образцы яичников и оценён коэффициент диффузии тканевой воды, как $D = (2,2 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ для здоровых яичников и $D = (2,6 \pm 0,6) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ для яичников с гранулёзоклеточной патологией. Используя полученные коэффициенты диффузии, определили время полного обезвоживания исследованных образцов при действии глицерина.

Время полной дегидратации срезов здоровых яичников в лютеиновой фазе составило 19,4 мин, а для гранулёзоклеточной опухоли — 16,6 мин. Эти данные можно использовать для оценки общего обезвоживания яичников при применении концентрированного глицерина, а также для разработки протоколов доставки лекарственных препаратов и криоконсервации органов. Выявлено, что действие высококонцентрированного глицерина различно для здоровых тканей и яичников с диагнозом гранулёзоклеточная опухоль. Эффективность оптического просветления при действии глицерина оказалась значительно больше в здоровых тканях, что напрямую связано с особенностями морфологической структуры исследуемых органов. Технология оптического просветления с использованием гиперосмотических агентов, в частности глицерина, уменьшает рассеяние оптического излучения и, как следствие, увеличивает глубину его проникновения. Этот эффект может быть использован в терапевтических и диагностических клинических приложениях для изучения глубоколежащих молекулярных структур в тканях. Описанный эффект улучшения прозрачности тканей в УФ диапазоне может быть использован в УФ биомедицинской спектроскопии и фототерапии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. D’Oria O., D’Auge T.G., Baiocco E., Vincenzoni C., Mancini E., Bruno V., Chiofalo B., Mancari R., Vizza R., Cutillo G., Giannini A. The role of preoperative frailty assessment in patients affected by gynecological cancer: a narrative review // *Italian J. Gynaecology Obstet.* 2022. V. 34. № 2. P. 76–83. <https://doi.org/jog.2022.34>
2. Beachler D.C., Lamy F.-X., Russo L., Taylor D.H., Dinh J., Yin R., Jamal-Allial A., Dychter S., Lanes S., Verpillat P. A real-world study on characteristics, treatments and outcomes in US patients with advanced stage ovarian cancer // *Journal of Ovarian Resear.* 2020. V. 13. № 1. P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00691-y>
3. Al Harbi R., McNeish I.A., El-Bahrawy M. Ovarian sex cord-stromal tumors: an update on clinical features, molecular changes, and management // *International Journal of Gynecologic Cancer.* 2021. V. 31. № 2. P. 161–168. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-002018>
4. Huvila J., Gilks C.B. Granulosa cell tumor-juvenile [Electronic resource]. Access mode: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/ovarytumor/gctjuv.html> (accessed 13/11/2023)
5. Bian X., Xia J., Wang K., Wang Q., Yang L., Wu W., Li L. The effects of a prior malignancy on the survival of patients with ovarian cancer: a population-based study // *Journal Cancer.* 2020. V. 11. № 21. P. 6178–6187. <https://doi.org/10.7150/jca.46584>

REFERENCE

1. D’Oria O., D’Auge T.G., Baiocco E., Vincenzoni C., Mancini E., Bruno V., Chiofalo B., Mancari R., Vizza R., Cutillo G., Giannini A. The role of preoperative frailty assessment in patients affected by gynecological cancer: a narrative review // *Italian J. Gynaecology Obstet.* 2022. V. 34. № 2. P. 76–83. <https://doi.org/jog.2022.34>
2. Beachler D.C., Lamy F.-X., Russo L., Taylor D.H., Dinh J., Yin R., Jamal-Allial A., Dychter S., Lanes S., Verpillat P. A real-world study on characteristics, treatments and outcomes in US patients with advanced stage ovarian cancer // *Journal of Ovarian Resear.* 2020. V. 13. № 1. P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00691-y>
3. Al Harbi R., McNeish I.A., El-Bahrawy M. Ovarian sex cord-stromal tumors: an update on clinical features, molecular changes, and management // *International Journal of Gynecologic Cancer.* 2021. V. 31. № 2. P. 161–168. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-002018>
4. Huvila J., Gilks C.B. Granulosa cell tumor-juvenile [Electronic resource]. Access mode: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/ovarytumor/gctjuv.html> (accessed 13/11/2023)
5. Bian X., Xia J., Wang K., Wang Q., Yang L., Wu W., Li L. The effects of a prior malignancy on the survival of patients with ovarian cancer: a population-based study // *Journal Cancer.* 2020. V. 11. № 21. P. 6178–6187. <https://doi.org/10.7150/jca.46584>

6. Cabasag C.J., Butler .J, Arnold M., Rutherford .M, Bardot A., Ferlay J., Morgan E., Mller B., Gavin A., Norell C.H., Harrison S., Saint-Jacques N., Eden M., Rous B., Nordin A., Hanna L., Kwon J., Cohen P.A., Altman A.D., Shack L., Kozie S., Engholm G., De P., Sykes P., Porter G., Ferguson S., Walsh P., Trevithick R., Tervonen H., O'Connell D., Bray F., Soerjomataram I. Exploring variations in ovarian cancer survival by age and stage (ICBP SurvMark-2): a population-based study // *Gynecologic Oncology*. 2020. V. 157. № 1. P. 234–244. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.12.047>
7. Tuchin V.V. Handbook of optical biomedical diagnostics. Second Edition. V.1: Light-Tissue Interaction. WA, Bellingham: SPIE Press, 2016. 864 p.
8. Фролов О.О., Тимченко П.Е., Тимченко Е.В., Волова Л.Т., Магсумова О.А., Постников М.А. Применение рамановской спектроскопии для оценки изменения состава эмали и дентина после офисного отбеливания // *Оптический журнал*. 2023. Т. 90. № 6. С. 100–106. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2023-90-06-100-106>
9. Тимченко Е.В., Тимченко П.Е., Писарева Е.В., Власов М.Ю., Волова Л.Т., Федотов А.А., Федорова Я.В., Тюмченкова А.С., Романова Д.А., Даниэль М.А., Субатович А.Н. Оптический анализ костной ткани методом спектроскопии комбинационного рассеяния при экспериментальном остеопорозе и его коррекции с помощью аллогенного гидроксиапатита // *Оптический журнал*. 2020. Т. 87. № 3. С. 37–45. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2020-87-03-37-45>
10. Селифонов А.А., Тучин В.В. Оптические свойства дентина зуба человека при иммерсии in vitro в глюкозе и кинетика этого процесса // *Оптический журнал*. 2020. Т. 87. № 3. С. 46–55. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2020-87-03-46-55>
11. Петрицкая Е.Н., Куликов Д.А., Рогаткин Д.А., Гусева И.А., Куликова П.А. Использование флуоресцентной спектроскопии для диагностики гипоксии и воспалительных процессов в тканях // *Оптический журнал*. 2015. Т. 82. № 12. С. 41–46.
12. Kang U., Papayan G.B., Obukhova N.A., Bae S.J., Lee D.S., Jung M.W., Berezin V.B., Motyko A.A., Plokhikh D.P., Slobodenyuk S.A. Комплекс для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии заболеваний шейки матки // *Оптический журнал*. 2015. Т. 82. № 12. С. 47–59.
13. Yang Y., Li X., Wang T., Kumavor P.D., Aguirre A., Shung K.K., Zhou Q., Sanders M., Brewer M., Zhu Q. Integrated optical coherence tomography, ultrasound and photoacoustic imaging for ovarian tissue characterization // *Biomed Opt Express*. 2011. V. 9. № 2. P. 2551–61. <https://doi.org/10.1364/BOE.2.002551>
14. Schwartz D., Sawyer T.W., Thurston N. Ovarian cancer detection using optical coherence tomography and convolutional neural networks // *Neural Comput & Applic.* 2022. V. 34. P. 8977–8987. <https://doi.org/10.1007/s00521-022-06920-3>
15. Tuchin V.V. Tissue optics: Light scattering methods and instruments for medical diagnostics. 3rd ed. Bellingham. WA, USA: SPIE Press, 2015. 934 p.
16. Tuchin V.V., Zhu D., Genina E.A. (eds.). Handbook of tissue optical clearing: New prospects in optical imaging. Boca Raton: CRC Press, 2022. 688 p.
17. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., Selifonov A., Oliveira L., Tuchin V.V. Enhanced ultraviolet spectroscopy by optical clearing for biomedical applications // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*.
6. Cabasag C.J., Butler .J, Arnold M., Rutherford .M, Bardot A., Ferlay J., Morgan E., Moller B., Gavin A., Norell C.H., Harrison S., Saint-Jacques N., Eden M., Rous B., Nordin A., Hanna L., Kwon J., Cohen P.A., Altman A.D., Shack L., Kozie S., Engholm G., De P., Sykes P., Porter G., Ferguson S., Walsh P., Trevithick R., Tervonen H., O'Connell D., Bray F., Soerjomataram I. Exploring variations in ovarian cancer survival by age and stage (ICBP SurvMark-2): a population-based study // *Gynecologic Oncology*. 2020. V. 157. № 1. P. 234–244. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.12.047>
7. Tuchin V.V. Handbook of optical biomedical diagnostics. Second Edition. V.1: Light-Tissue Interaction. WA, Bellingham: SPIE Press, 2016. 864 p.
8. Frolov O.O., Timchenko P.E., Timchenko E.V., Volova L.T., Magsumova O.A., Postnikov M.A. Use of Raman spectroscopy for assessment of changes in enamel and dentin composition after in-office whitening // *Journal of Optical Technology*. 2023. V. 90(6). P. 349–352. <https://doi.org/10.1364/JOT.90.000349>
9. Timchenko E.V., Timchenko P.E., Pisareva E.V., Vlasov M.Yu., Volova L.T., Fedotov A.A., Fedorova Ya.V., Tyumchenkova A.S., Romanova D.A., Daniel M.A., Subatovich A.N. Optical analysis of bone tissue by Raman spectroscopy in experimental osteoporosis and its correction using allogeneic hydroxyapatite // *Journal of Optical Technology*. 2020. V. 87. № 3. P. 161–167. <https://doi.org/10.1364/JOT.87.000161>
10. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Optical properties of human dentin when it is immersed in glucose in vitro and the kinetics of this process // *Journal of Optical Technology*. 2020. V. 87. № 3. P. 168–174. <https://doi.org/10.1364/JOT.87.000168>
11. Petritskaya E.N., Kulikov D.A., Rogatkin D.A., Guseva I.A., Kulikova P.A. Use of fluorescence spectroscopy for diagnosis of hypoxia and inflammatory processes in tissue // *Journal of Optical Technology*. 2015. V. 82. № 12. P. 810–814. <https://doi.org/10.1364/JOT.82.000810>
12. Kang U., Papayan G.V., Obukhova N.A., Bae S.J., Lee D.S., Jung M.W., Berezin V.B., Motyko A.A., Plokhikh D.P., Slobodenyuk S.A. System for fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of cervical disease // *Journal of Optical Technology*. 2015. V. 82. № 12. P. 815–823. <https://doi.org/10.1364/JOT.82.000815>
13. Yang Y., Li X., Wang T., Kumavor P.D., Aguirre A., Shung K.K., Zhou Q., Sanders M., Brewer M., Zhu Q. Integrated optical coherence tomography, ultrasound and photoacoustic imaging for ovarian tissue characterization // *Biomed Opt Express*. 2011. V. 9. № 2. P. 2551–61. <https://doi.org/10.1364/BOE.2.002551>
14. Schwartz D., Sawyer T.W., Thurston N. Ovarian cancer detection using optical coherence tomography and convolutional neural networks // *Neural Comput & Applic.* 2022. V. 34. P. 8977–8987. <https://doi.org/10.1007/s00521-022-06920-3>
15. Tuchin V.V. Tissue optics: Light scattering methods and instruments for medical diagnostics. 3rd ed. Bellingham. WA, USA: SPIE Press, 2015. 934 p.
16. Tuchin V.V., Zhu D., Genina E.A. (eds.). Handbook of tissue optical clearing: New prospects in optical imaging. Boca Raton: CRC Press, 2022. 688 p.
17. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., Selifonov A., Oliveira L., Tuchin V.V. Enhanced ultraviolet spectroscopy by optical clearing for biomedical Applications // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*.

2021. V. 27. № 4. P. 1–8. <https://doi.org/10.1109/JSTQE.2020.3012350>
18. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. Tissue optical immersion clearing // *Expert Rev Med Devices*. 2010. V. 7. № 6. P. 825–842. <https://doi.org/10.1586/erd.10.50>
 19. Kotyk A., Janacek K. Cell membrane transport: An interdisciplinary approach. New York: Plenum Press, 1977. 348 p.
 20. Carvalho S., Gueiral N., Nogueira E., Henrique R., Oliveira L., Tuchin V.V. Glucose diffusion in colorectal mucosa — a comparative study between normal and cancer tissues // *Journal of Biomedical Optics*. 2017. V. 22. № 9. P. 091506. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.9.091506>
 21. Selifonov A.A., Rykhlov A.S., Tuchin V.V. The glycerol-induced perfusion-kinetics of the cat ovaries in the follicular and luteal phases of the cycle // *Diagnostics*. 2023. V. 13. № 3. P. 490–499. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13030490>
 22. Selifonov A.A., Rykhlov A.S., Tuchin V.V. Ex vivo study of the kinetics of ovarian tissue optical properties under the influence of 40%-glucose // *Izvestiya of Saratov University. Physics*. 2023. V. 23. № 2. P. 120–127. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2023-23-2-120-127>
 2021. V. 27. № 4. P. 1–8. <https://doi.org/10.1109/JSTQE.2020.3012350>
 18. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. Tissue optical immersion clearing // *Expert Rev Med Devices*. 2010. V. 7. № 6. P. 825–842. <https://doi.org/10.1586/erd.10.50>
 19. Kotyk A., Janacek K. Cell membrane transport: An interdisciplinary approach. New York: Plenum Press, 1977. 348 p.
 20. Carvalho S., Gueiral N., Nogueira E., Henrique R., Oliveira L., Tuchin V.V. Glucose diffusion in colorectal mucosa — a comparative study between normal and cancer tissues // *Journal of Biomedical Optics*. 2017. V. 22. № 9. P. 091506. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.9.091506>
 21. Selifonov A.A., Rykhlov A.S., Tuchin V.V. The glycerol-induced perfusion-kinetics of the cat ovaries in the follicular and luteal phases of the cycle // *Diagnostics*. 2023. V. 13. № 3. P. 490–499. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13030490>
 22. Selifonov A.A., Rykhlov A.S., Tuchin V.V. Ex vivo study of the kinetics of ovarian tissue optical properties under the influence of 40%-glucose // *Izvestiya of Saratov University. Physics*. 2023. V. 23. № 2. P. 120–127. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2023-23-2-120-127>

АВТОРЫ

Алексей Андреевич Селифонов — канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник отдела наноаналитики образовательно-научного института наноструктур и биосистем СГУ; 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6270-93951>, peshka029@gmail.com

Андрей Сергеевич Рыхлов — доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Болезни животных и ветсанэкспертиза» Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, директор Ветеринарного госпиталя, 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1194-9548>, ryhlov.andrej@yandex.ru

Екатерина Игоревна Селифонова — канд. хим. наук, старший научный сотрудник отдела наноаналитики образовательно-научного института наноструктур и биосистем СГУ, 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2497-5489>, selif-ei@yandex.ru

Валерий Викторович Тучин — член-корреспондент РАН, доктор физ.-мат. наук, профессор, заведующий кафедрой оптики, руководитель научного медицинского центра в Саратовском национальном исследовательском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Саратов, Россия; Лаборатория лазерной молекулярной визуализации и машинного обучения, Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634031, Томск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>, tuchinvv@mail.ru

AUTHORS

Alexey A. Selifonov — PhD in Physics and Mathematics, Senior Researcher of Department of Nanoanalytics of the Educational and Scientific Institute of Nanostructures and Biosystems at Saratov State University, 410012, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6270-93951>, peshka029@gmail.com

Andrey S. Rykhlov — Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary Sanitary Expertise, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Director of the Veterinary Hospital, 410012, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1194-9548>, ryhlov.andrej@yandex.ru

Ekaterina I. Selifonova — PhD in Chemistry, Senior Researcher of Department of Nanoanalytics, Educational and Scientific Institute of Nanostructures and Biosystems at Saratov State University, 410012, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2497-5489>, selif-ei@yandex.ru

Valery V. Tuchin — Corresponding Member of the RAS, Doctor of Physics and Mathematics Sciences, Professor, Head of the Department of Optics and Biophotonics, Head of the Scientific Medical Center at SSU, 410012, Saratov, Russia; Laboratory of Laser Molecular Imaging and Machine Learning, Tomsk State University, Tomsk, 634050, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>, tuchinvv@mail.ru

Статья поступила в редакцию 15.11.2023
Одобрена после рецензирования 09.04.2024
Принята к печати 28.06.2024

The article was submitted to the editorial office 15.11.2023
Approved after review 09.04.2024
Accepted for publication 28.06.2024