

DOI: 10.17586/1023-5086-2024-91-10-80-93

УДК 535.361.22:577.3

Влияние жидкости для электронных сигарет на оптические свойства яичников в норме и при саркоме

АЛЕКСЕЙ АНДРЕЕВИЧ СЕЛИФОНОВ^{1✉}, ЕКАТЕРИНА ИГОРЕВНА СЕЛИФОНОВА²,
ГАЛИНА НИКОЛАЕВНА ВАРЛАМОВА³, ВАЛЕРИЙ ВИКТОРОВИЧ ТУЧИН⁴

^{1, 2, 3}Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

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

^{3, 4}Саратовский национальный исследовательский государственный университет 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>

²selif-ei@yandex.ru

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

³naumova.galinka.93@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3405-1255>

⁴tuchinvv@mail.ru

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

Аннотация

Предмет исследования. В данном исследовании методом отражательной спектроскопии изучалось влияние жидкости для электронных сигарет (е-жидкости) на оптические свойства яичников кошек в норме и при саркоме. **Цель работы.** Определение количественных характеристик молекулярной диффузии жидкости для электронных сигарет (70% глицерина и 30% пропиленгликоля) в тканях нормальных яичников кошек и в яичниках с саркомой. **Метод.** Оптические свойства исследованных образцов были изучены методом диффузной оптической спектроскопии отражения и пропускания в спектральном диапазоне от 200 до 800 нм. **Основные результаты.** Рассчитаны эффективные коэффициенты диффузии исследуемой жидкости для электронных сигарет: в тканях нормальных яичников кошек $D = (2,7 \pm 0,4) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$, а в тканях яичников кошек с саркомой $D = (2,9 \pm 0,5) \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$. Показано, что в процессе взаимодействия образцов ткани с жидкостью для электронных сигарет (е-жидкостью) наблюдается временное и обратимое снижение диффузного отражения и повышение полного пропускания по отношению к контрольным образцам в широком спектральном диапазоне длин волн от глубокого ультрафиолета до ближнего инфракрасного диапазона, что свидетельствует об обратимом снижении рассеяния оптического излучения в ткани и соответствующем изменении её структуры. В результате действия исследуемой е-жидкости коэффициент полного пропускания увеличивается в 22 раза для нормальной ткани яичников за время 100 минут при толщине образца порядка 1 мм. При стромальной саркоме увеличение пропускания составляет 2 раза при той же толщине образцов и времени действия порядка 40 минут. **Практическая значимость.** Полученные данные могут быть полезны при создании новых, более эффективных протоколов для проведения оптической эндоскопической диагностики репродуктивной системы, фотодинамической или фототермической терапии, хирургических вмешательств с применением лазерного скальпеля при лечении онкологических заболеваний яичников. Данные результаты также могут быть востребованы при криоконсервации.

ции органов, включая органы репродуктивной системы человека, поскольку глицерин и пропиленгликоль применяют в криобиологии.

Ключевые слова: ткань яичника, жидкости для электронных сигарет, оптические свойства, спектры полного пропускания, спектры диффузного отражения, коэффициент диффузии, эффективность оптического просветления

Благодарность: работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00287.

Ссылка для цитирования: Селифонов А.А., Селифонова Е.И., Варламова Г.Н., Тучин В.В. Влияние жидкости для электронных сигарет на оптические свойства яичников в норме и при саркоме // Оптический журнал. 2024. Т. 91. № 10. С. 80–93. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2024-91-10-80-93>

Код OCIS: 300.0300.

The effect of vaping on the optical properties of ovaries in normal conditions and in sarcoma

ALEXEY A. SELIFONOV¹✉, EKATERINA I. SELIFONOVA²,
GALINA N. VARLAMOVA³, VALERY V. TUCHIN⁴

^{1, 2, 3}Education and Research Institute of Nanostructures and Biosystems, Saratov State University, Saratov, Russia

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky of the Ministry of Health of Russia, Saratov

^{3, 4}Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, 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>

²selif-ei@yandex.ru

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

³naumova.galinka.93@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3405-1255>

⁴tuchinvv@mail.ru

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

Abstract

Subject of study. In this study, the effect of liquids for electronic cigarettes (e-liquid) on the optical properties of normal and sarcoma ovaries was studied using reflectance spectroscopy. **Aim of study.** Determination of quantitative characteristics of molecular diffusion of e-liquid (70% glycerol and 30% propylene glycol) in tissues of normal feline ovaries and cat ovaries with sarcoma. **Method.** The optical properties of the studied samples were studied by diffuse optical reflectance and transmission spectroscopy in the spectral range from 200 to 800 nm. **Main results.** The diffusion effective coefficients of the test liquid for electronic cigarettes were calculated: in the tissues of normal cat ovaries $D = (2.7 \pm 0.4) \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, and for ovaries with sarcoma $D = (2.9 \pm 0.5) \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$. It has been shown that during the interaction of tissue samples with e-liquids, a temporary and reversible decrease in diffuse reflection and an increase in total transmittance in relation to control samples is observed in a wide spectral range of wavelengths from deep UV to NIR, which indicates a reversible decrease in light scattering in the tissue and corresponding change in its structure. As a result of the action of the e-liquid under study, the total transmittance coefficient increases by 22 times for normal ovarian tissue in 100 minutes with a sample thickness of about 1 mm. In case of stromal sarcoma, the increase in transmission is 2 times with the same sample thickness and operating time of about 40 minutes. **Practical significance.** The data obtained may be useful in creating new, more effective protocols for optical endoscopic diagnostics of the reproductive system, photodynamic or photothermal therapy, and surgical interventions using a laser scalpel in the treatment of ovarian cancer. These results can also be used for cryopreservation of organs, including organs of the human reproductive system, since glycerin and propylene glycol are used in cryobiology.

Keywords: ovarian tissue, liquid for electronic cigarettes, optical properties, total transmittance spectra, diffuse reflectance spectra, diffusion coefficient, efficiency of optical clearing

Acknowledgment: the work was supported by the RSF Grant № 23-14-00287.

For citation: Selifonov A.A., Selifonova E.I., Varlamova G.N., Tuchin V.V. The effect of vaping on the optical properties of ovaries in normal conditions and in sarcoma [in Russian] // Opticheskii Zhurnal. 2024. V. 91. № 10. P. 80–93. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2024-91-10-80-93>

OCIS code: 300.0300.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальным направлением современной оптической биофизики, в частности, её медицинских клинических приложений, является развитие новых технологий спектроскопии биотканей. Однако при исследовании многих биологических тканей из-за их сильного рассеяния и наличия поглощающих хромофоров в среде оптическое излучение проникает лишь в поверхностные слои, поэтому почти все биологические ткани относятся к оптически мутным средам с поглощением [1]. Эффективным и перспективным вариантом решения данной проблемы является применение оптических просветляющих агентов (ОПА) с показателем преломления, превышающим показатель преломления межтканевой жидкости. Такие агенты при взаимодействии с биотканями, содержащими значительное количество воды, проникают в биоткань и частично обезвоживают её. Оба процесса способствуют выравниванию показателя преломления компонентов ткани, тем самым уменьшению её оптической неоднородности, снижению рассеяния и более глубокому проникновению света в ткань [1–8]. Применяются как гиперосмотические агенты, такие как глюкоза, сорбитол, глицерин, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, диметилсульфоксид, так и растворы, имеющие нормальную осмолярность, такие как рентген-контрастное вещество йогексол или МРТ-контрастное вещество гадобутрол [1–8]. Просветляющие агенты оказываются эффективными в широком диапазоне длин волн от УФ и до терагерцового диапазона.

Способность гиперосмотических агентов, например, глицерина, диметилсульфоксида или пропиленгликоля, обезвоживать биологические ткани и тем самым защищать клеточные мембраны от повреждения кристаллами льда при замораживании используется при криоконсервации органов, которые готовят для дальнейшей пересадки или хранения [9, 10].

Ежегодно во всем мире наблюдается рост числа диагностированных онкологических за-

болеваний, в том числе среди пациентов репродуктивного возраста [11, 12]. При угрозе полной или частичной потери фертильности в результате комплексной химиотерапии, лучевой терапии, в результате врождённых заболеваний или при желании продлить репродуктивный возраст возможно использование метода криоконсервации здоровых тканей яичника с последующей трансплантацией после выздоровления [13].

Одним из наиболее информативных и надёжных оптических методов исследования ткани яичника *in vivo* является лапароскопия, которая широко применяется в гинекологии как с диагностическими, так и с хирургическими целями [14]. Используя оптическую систему лапароскопа, обычно получают изображение поверхности органа. В то же время более подробную информацию о поверхностной структуре ткани органа на глубину до нескольких миллиметров можно получить с помощью иммерсионного оптического просветления [1–7]. Широко используемые в настоящее время контрастные вещества для МРТ и рентгеновской визуализации также являются достаточно эффективными ОПА, что открывает возможность разработки мультимодальных методов диагностики [7, 15]. В частности, при сочетании гистеросальпингографии (рентгенографии репродуктивной системы) и гистероскопии (эндоскопической оптической визуализации с помощью волоконных световодов) [16, 17] можно будет получать высококачественные оптические и рентгенографические изображения.

Для изучения оптических свойств биологических тканей и кинетических процессов, происходящих в них при действии ОПА, широко востребованы методы отражательной спектроскопии. Так, волоконный флуоресцентно-отражательный многоканальный спектрометр позволяет одновременно регистрировать спектры диффузного отражения и флуоресцентной эмиссии, что может быть использовано для оценки содержания конечных

продуктов гликирования в коже и окислительно-восстановительных состояний различных тканей [18] и исследований влияния условий возбуждения автофлуоресценции на состояние метаболического статуса миокарда [19]. Отражательная спектроскопия применяется при исследовании других сильно рассеивающих сред, содержащих сильно поглощающие хромофоры, например для определения зрелости ягод земляники при анализе спектров диффузного отражения в видимой области (400–700 нм) [20]. Установлено, что в диапазоне длин волн 650–1000 нм интенсивность диффузно отражённого света образцов здоровых тканей значительно ниже, чем у образцов аденомы гипофиза [21]. Используя данные отражательной спектроскопии, определены оптические свойства тканей толстой кишки человека в спектральном диапазоне 350–2500 нм [22] и катарактальных хрусталиков глаза человека в видимом и ближнем ИК диапазонах [23]. Представленные исследования демонстрируют эффективность метода диффузионно-отражательной спектроскопии, в том числе в сочетании с ОПА. Однако требуются дальнейшие исследования возможностей метода в приложении к другим объектам с учётом их морфологических особенностей и перспектив применения в практической медицине.

В связи с этим, целью данного исследования является определение кинетических характеристик и влияния жидкости для электронных сигарет (70% глицерина и 30% пропиленгли-

коля), которая используется в качестве эффективного ОПА, на оптические свойства яичников кошек в норме и при саркоме методом спектроскопии диффузного отражения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Яичники кошек для *ex vivo* исследования были получены после овариоэктомии и овариогистерэктомии в условиях ветеринарного госпиталя. Образцами для оптических измерений служили срезы яичников: 6 срезов с диагнозом «нормальные», полученные от 6 яичников различных кошек возраста от 1 до 12 лет и 6 срезов с диагнозом «саркома», полученные от двух яичников одной кошки в возрасте 11 лет, которые хранились в замороженном виде до проведения измерений. Диагноз был установлен после гистологического исследования. Для этого часть проб фиксировали в 10% забуференном формалине. Образцы окрашивали гематоксилин-эозином для гистологии. Толщину срезов тканей (образцов) измеряли электронным микрометром (Union Source CO., Ltd., Китай, Нинбо). Нефиксированные образцы помещали по очереди между двумя предметными стеклами, затем измеряли толщину в нескольких точках и усредняли. Точность каждого измерения составляла $\pm 0,01$ мм. Средняя толщина срезов яичников составила $(0,90 \pm 0,10)$ мм. Для измерения спектров диффузного отражения (СДО) и полного пропускания (СПП) образцов тканей в спектральном диапазоне

Показатель преломления составных частей и смеси ОПА (70% глицерина и 30% пропиленгликоля)
Refractive index of the components and mixtures of optical brightening agents (70% glycerin and 30% propylene glycol)

Длина волны	Глицерин (ГЛ)	Пропиленгликоль (ПГ)	Смесь: 70% ГЛ и 30% ПГ (измеренный)	Смесь: 70% ГЛ и 30% ПГ (рассчитанный)
480	1,4768	1,4353	1,4610	1,4644
486	1,4765	1,4351	1,4602	1,4640
546	1,4727	1,4311	1,4567	1,4602
589	1,4705	1,4296	1,4552	1,4583
644	1,4688	1,4275	1,4533	1,4559
656	1,4680	1,4273	1,4528	1,4558
680	1,4666	1,4255	1,4511	1,4542
800	1,4658	1,4240	1,4496	1,4533

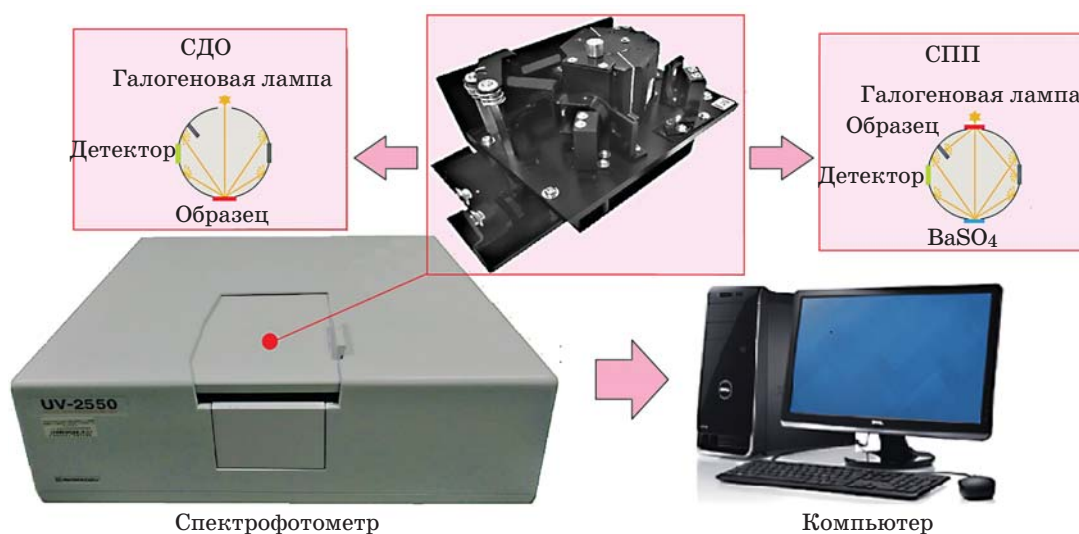


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для измерения спектров диффузного отражения (СДО) и спектров полного пропускания (СПП) образцов ткани яичников кошек

Fig. 1. Scheme of the experimental setup for measuring diffuse reflectance spectra (DRS) and total transmittance spectra (TTS) of cat ovary tissue samples

200–800 нм использовали двухлучевой спектрофотометр Shimadzu UV-2550 (Япония, Токио) с интегрирующей сферой (рис. 1). Источником света служила галогенная лампа с фильтром в исследуемом спектральном диапазоне от 200 до 800 нм. Предельное разрешение спектрометра составляло 0,1 нм. Перед измерениями спектры нормировали с помощью эталонного отражателя BaSO₄ с равномерной отражательной способностью для всего спектрального диапазона, включая УФ. Все измерения проводились при комнатной температуре (около 25 °C) и нормальном атмосферном давлении. Каждый образец исследуемой ткани фиксировали двусторонним скотчем в специальной рамке с окном 0,5×0,5 см в кварцевой кювете таким образом, чтобы образец ткани был прижат к стенке кюветы, тогда проводили оптические измерения СДО или СПП. ОПА, использованный в данном исследовании, представляет собой раствор 70-процентного глицерина (ГЛ) и 30-процентного пропиленгликоля (ПГ), который соответствует типичному соотношению этих компонентов в жидкости для электронных сигарет. Для этого использовали глицерин ч.д.а., ГОСТ 6259-76 99,5% производства ООО «Акрихимфарм», Россия и пропиленгликоль пищевой USP высокой степени очистки 99,95% производства Германия. Глицерин

и пропиленгликоль смешали в указанном процентном соотношении и хранили в пластиковом контейнере с плотно закрывающейся крышкой. Для проведения исследований ОПА набирали стерильным шприцом, добавляли в кварцевую кювету с исследуемым образцом. Кинетические исследования процесса диффузии интерстициальной воды/смеси проводили с закрытым кюветным отделением спектрофотометра на протяжении времени до прекращения изменений в СДО. Для каждого исследуемого образца добавлялась новая порция ОПА.

Показатель преломления измеряли с помощью многоволнового рефрактометра DR-M2/1550 (Atago, Япония). Для измерений использовались интерференционные фильтры со средней длиной волны 480, 486, 546, 589, 644, 656, 680, 800 нм. Погрешность измерения составляла ±0,0002. При измерениях с использованием циркуляционного термостата температура поддерживалась на уровне 22 °C.

Протокол Локального этического комитета с разрешением на проведение исследований на животных (№ 4 от 1 ноября 2022 г.) выдан Саратовским государственным медицинским университетом имени В.И. Разумовского, ответственного за выдачу разрешительных документов на работу с биологическим материалом по Саратовской области.

ФОРМУЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ РАСЧЁТОВ

Определение коэффициента диффузии исследуемого ОПА/тканевой воды основано на измерении кинетики СПП или СДО. Процесс транспорта этих молекул в образце можно описать в рамках модели свободной диффузии [24, 25]. Для плоскопараллельного образца ткани конечной толщины, используя второй закон Фика и модифицированный закон Бугера–Бера–Ламберта в диффузионном приближении, 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 $A(t = 0, \lambda)$. Для измерений СПП

$$I(t, \lambda) = I_0 \exp[-\mu_{\text{eff}}(t, \lambda)L(\lambda)], \quad (1)$$

где $I(t, \lambda)$ — интенсивность прошедшего оптического излучения, I_0 — интенсивность падающего оптического излучения, а

$$\mu_{\text{eff}}(t, \lambda) = \sqrt{3\mu_a[\mu_a + \mu'_s t]}, \quad (2)$$

t — время в секундах, в течение которого воздействует ОПА, λ — длина волны в нанометрах, $\mu_{\text{eff}}(t, \lambda)$ — эффективный коэффициент ослабления света в ткани, 1/см; $\mu'_s(t) = \mu_s(1 - g)$, 1/см; g — коэффициент анизотропии рассеяния (варьируется от -1 до 1 , для многих биологических тканей $g \approx 0,9$) [25]; $L(\lambda)$ — средняя длина пробега фотонов, в режиме пропускания $L(\lambda) \cong l$, l — толщина образца, см.

Тогда,

$$\begin{aligned} \Delta A(t, \lambda) &= A(t, \lambda) - A(t = 0, \lambda) = \\ &= \Delta\mu_{\text{eff}}(t, \lambda)L(\lambda) = \\ &= [\mu_{\text{eff}}(t, \lambda) - \mu_{\text{eff}}(t = 0, \lambda)]L(\lambda) \approx \\ &\approx C_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \right] L(\lambda), \end{aligned} \quad (3)$$

где $\Delta\mu_{\text{eff}}(t, \lambda)$ — разность эффективного коэффициента ослабления света в ткани $\mu_{\text{eff}}(t, \lambda)$ в текущий момент времени и в начальный момент времени, 1/см;

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

D — эффективный коэффициент диффузии молекул ОПА/тканевой воды, см²/с; C_0 — ис-

ходная концентрация ОПА, моль/л. Для измерений СДО:

$$A = -\log R(t, \lambda), \quad (5)$$

где $R(t, \lambda)$ — коэффициент диффузного отражения, и

$$L(\lambda) \cong 2l_d, ; (l_d)^{-1} = \mu_{\text{eff}}. \quad (6)$$

Зарегистрированные СДО $R(\lambda)$ (%) с помощью стандартного алгоритма Кубелки–Мунка преобразуются в спектры оптической плотности $A(\lambda)$ (программное обеспечение для спектрофотометра Shimadzu UV-2550).

Глицерин и пропиленгликоль являются хорошо известными эффективными ОПА [2–4]. Для оценки эффективности оптического просветления (Q) образцов ткани *ex vivo* обычно используют измерения СПП, а параметр Q рассчитывается как:

$$Q(\%) = \left[\frac{T(t, \lambda) - T(t = 0, \lambda)}{T(t = 0, \lambda)} \right] \times 100, \quad (7)$$

где $T(t = 0, \lambda)$ — коэффициент полного 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:

$$\delta = \frac{(t_s \sigma)}{\sqrt{n}}, \quad (8)$$

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологические исследования

С помощью гистологического исследования определили наличие патологии или её отсутствие у исследуемых образцов: саркома яичника (рис. 2а и 2б) и здоровая ткань (рис. 2в и 2г).

Гистология яичника с диагнозом саркома

В обоих яичниках выявлена неинкапсулированная монофазная высококлеточная опухоль с инвазивным типом роста в правом яични-

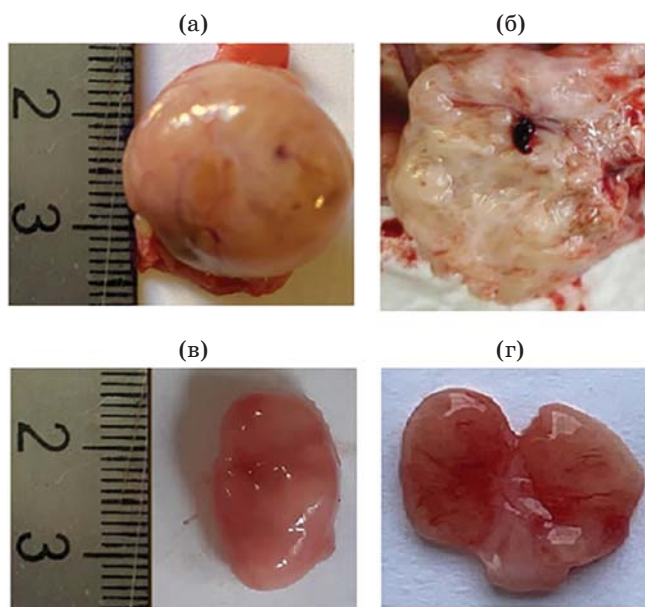


Рис. 2. Фотографии обследованных яичников кошек. Яичник с саркомой целиком (а) и в разрезе (б); здоровый яичник целиком (в) и в разрезе (г)

Fig. 2. Photos of the examined ovaries of cats. Ovary with stromal sarcoma: whole (a) and in section (б); healthy ovary: whole (в) and in section (г)

ке с псевдокистозным компонентом. Опухолевые клетки представлены популяцией цилиндрических клеток с чёткими межклеточными границами среднего размера, со скудной слабозозинофильной цитоплазмой и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Ядра клеток — неправильной формы, с 1–4 гипертрофированными ядрышками также неправильной формы (рис. 3а). Хроматин гиперхромный с неравномерным рисунком. Отмечается также большое количество митозов и разрушенных клеток. Опухолевые клетки образуют переплетающиеся пучки. Митотическая активность была очагово повышенной. Митотическая активность — 19 митозов на 10 полей зрения при увеличении 400 (2,81 мм²).

Строма соединительно-тканная — со слабой васкуляризацией за счёт толстостенных сосудов среднего размера. Признаков лимфоваскулярной инвазии в исследуемом материале не обнаружено. В инфильтрате определяются макрофаги, плазматические клетки, фибробласты.

Гистологическое заключение — морфологическая картина в наибольшей степени соответствует стромальной саркоме.

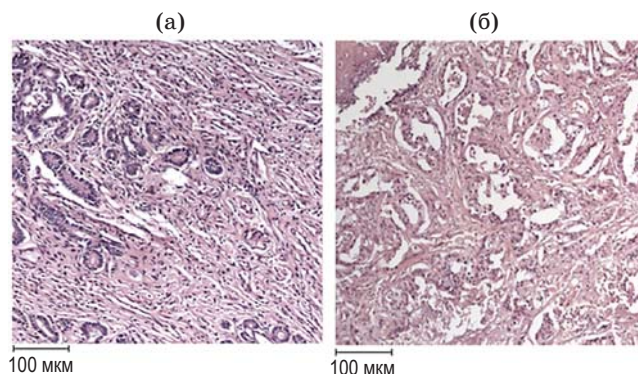


Рис. 3. Фото фрагмента гистологического препарата яичника: саркома (а); здоровая ткань (б)

Fig. 3. Photo of a fragment of the histological preparation of the ovary: stromal sarcoma (a); healthy tissue (б)

Гистология здорового яичника

Яичник имеет сохранный гистологическую структуру (рис. 3б). Коровое вещество хорошо развито, преобладает над стромой в соотношении 2:1. Визуализируются многочисленные фолликулы на разных стадиях созревания. Жёлтое тело не визуализируется. Строма представлена типичной тека-тканью без явлений отёка, слабо развита, отмечаются единичные мелкоочаговые кровоизлияния. Сосуды тонкостенные, неравномерно полнокровные. Заключение — яичник здорового гистологического строения.

Спектрофотометрические исследования

СДО образцов здоровых и злокачественных яичников кошек, измеренные до и после взаимодействия с ОПА, показаны на рис. 4а и 4в. В УФ диапазоне исходные СДО образцов яичников имеют явные провалы, характерные для полос поглощения аминокислотных остатков белков соединительной ткани в виде коллагеновых и ретикулярных волокон, гемоглобина и порфиринов. В области около 415–420 нм и 540–580 нм наблюдаемые провалы соответствуют полосам поглощения оксигемоглобина (415, 542 и 576 нм). Поглощение воды в исследуемом диапазоне 200–800 нм незначительное. Коэффициент диффузии глюкозы/тканевой воды в пробах определяли методом наименьших квадратов на участке экспериментальной кривой, характеризующей изменение оптической плотности от времени воздействия исследуемого ОПА на выбранных

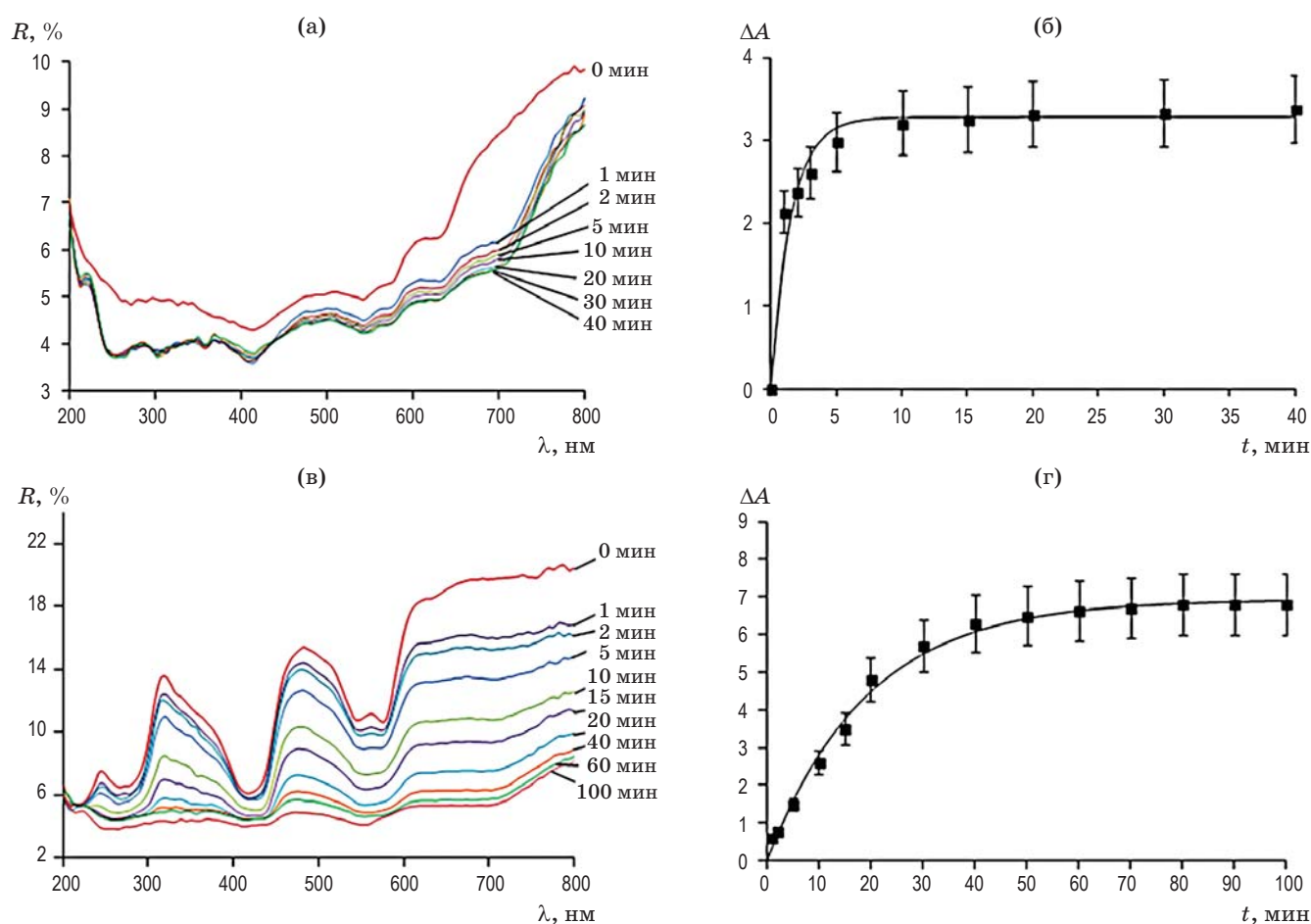


Рис. 4. Спектры диффузного отражения (СДО) образцов ткани яичников кошек при погружении в жидкость для электронных сигарет (70% ГЛ и 30% ПГ): саркома (а), здоровая ткань (б); аппроксимация экспериментальных данных по кинетике СДО: саркома (в), здоровая ткань (г)

Fig. 4. Diffuse reflectance spectra (DRS) of cat ovarian tissue samples when immersed in e-liquid (70% GL and 30% PG): sarcoma (a), healthy tissue (в); approximation of experimental data for DRS kinetics: sarcoma (б), healthy tissue (г)

длинах волн. На рис. 4б и 4г представлена кинетика СДО при взаимодействии с исследуемым ОПА для одного из образцов здорового яичника и одного из образцов с диагнозом саркома. Разницу между эффективной оптической плотностью в текущий момент времени и в начальный момент времени ΔA рассчитывали по экспериментальным данным для каждого образца и затем усредняли для трёх наиболее чувствительных к изменению рассеяния длин волн вдали от линий поглощения 600, 700 и 800 нм.

Соответствующая кинетика разницы эффективной оптической плотности $\Delta A(t, \lambda)$ при 600, 700 и 800 нм и затем усреднённая (см. уравнение (3)) для исследуемых образцов яичников (показана на рис. 4б и 4г). Симво-

лы — экспериментальные данные, сплошные кривые — соответствующая аппроксимация экспериментальных данных в рамках модели свободной диффузии с саркомой (б), (г) — здоровая ткань. Выявлено, что взаимодействие исследуемого ОПА с образцами здоровой и патологической ткани приводит к постепенному снижению коэффициента отражения во всём исследованном диапазоне длин волн, в основном за счёт уменьшения рассеяния ткани, а также некоторого уменьшения её поглощения за счёт снижения эффективной длины пути фотонов в ткани. В процессе диффузии ОПА, имеющего более высокий показатель преломления, внутри ткани образца происходит выравнивание показателей преломления рассеивателей (компонентов матрикса ткани) и межтканевой

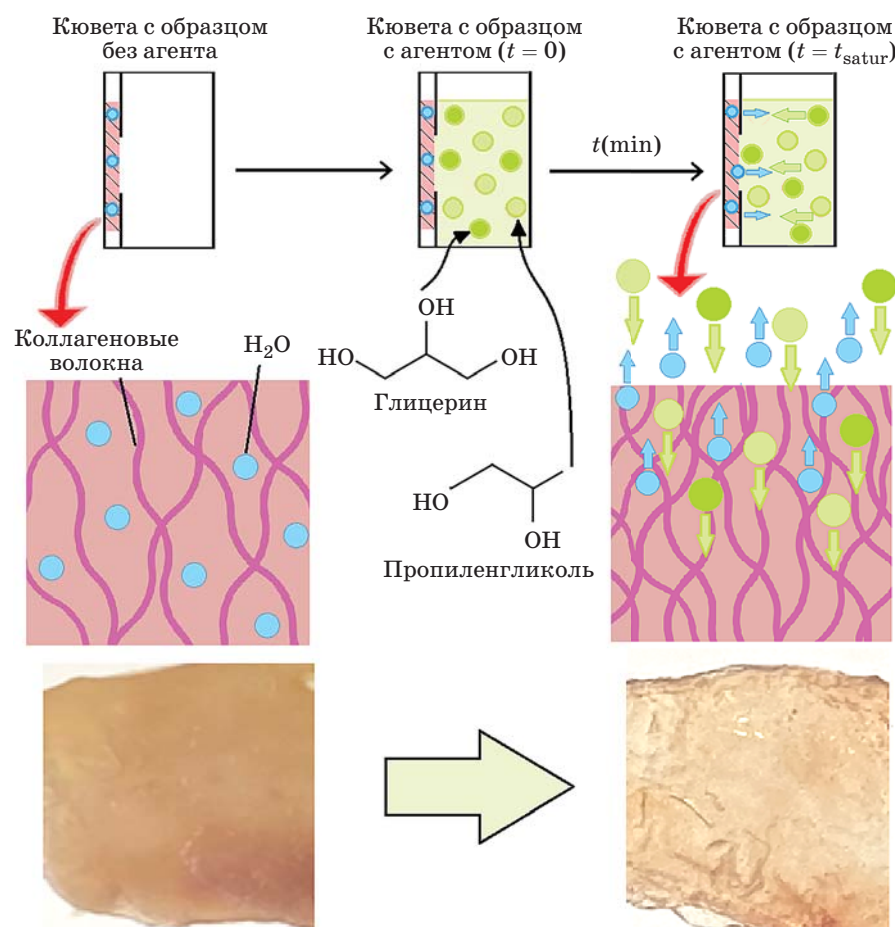


Рис. 5. Схема, показывающая взаимодействие е-жидкости (70% ГЛ и 30% ПГ) с тканью яичника
Fig. 5. Scheme showing the interaction of e-liquid (70% GL and 30% PG) with ovarian tissue

жидкости. Так как глицерин и пропиленгликоль являются гипертоническими агентами, происходит временное и обратимое обезвоживание образцов и как следствие уплотнение коллагеновой матрицы [4]. В результате оттока внутриклеточной воды и растворённого в ней гемоглобина из ткани за счёт осмоса и проникновения ОПА внутрь ткани происходит изменение оптических свойств образцов. Как следствие, происходит уменьшение рассеяния и поглощения и увеличение пропускания, в результате чего ткань исследуемых образцов становится более прозрачной (рис. 5).

Анализируя изменения СДО во времени, можно определить коэффициент диффузии ОПА в ткани здорового яичника и с саркомой. Используя уравнение (3), находим время диффузии τ , которое для образцов ткани яичников с саркомой составило $1,9 \pm 0,3$ мин, а для образцов здоровых яичников $20 \pm 2,3$ мин. При исследовании здоровой и патологической

слизистой оболочки толстой кишки человека обнаружены качественно сходные различия в значениях τ : 3,9 мин (колоректальная карцинома) и 5,0 мин (здоровая ткань) [26]. Также установлено время диффузии глицерина/тканевой воды 22,3 мин в здоровой ткани яичников кошек в фолликулярной фазе и 17,7 мин — в лютеиновой фазе [27]. Из экспериментальных данных, представленных на рис. 5б и 5г, средний эффективный коэффициент диффузии для жидкости для электронных сигарет (70% ГЛ и 30% ПГ) в образцах яичников с саркомой ($n = 3$) был определён как $D = (2,9 \pm 0,5) \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$, а для здоровой ткани ($n = 3$) — как $D = (2,7 \pm 0,4) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Для сравнения, эффективный коэффициент диффузии 40% глюкозы/тканевой воды в ткань яичника лютеиновой фазы составил $D = (8,6 \pm 1,4) \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ [28]. Эффективные коэффициенты диффузии глицерин/тканевая вода в образцах здоровых яичников

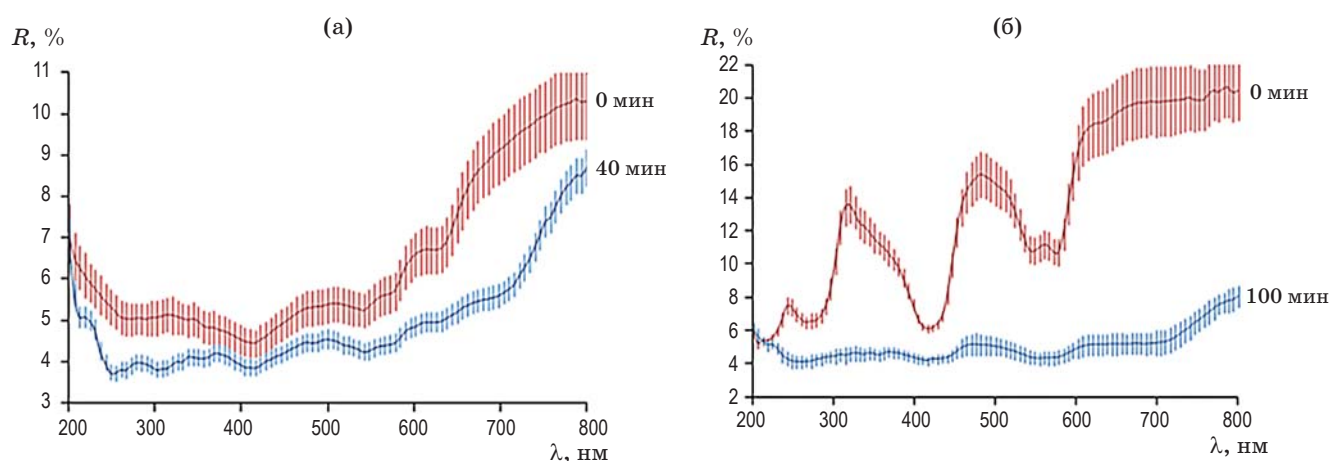


Рис. 6. СДО в диапазоне от 200 до 800 нм ткани яичника кошки до и после погружения в е-жидкость (70% ГЛ и 30% ПГ). Яичники с саркомой ($n = 6$) (а), здоровые яичники ($n = 6$) (б)

Fig. 6. DRS in the range from 200 to 800 nm of cat ovarian tissue before and after immersion in e-liquid (70% GL and 30% PG): ovaries with sarcoma ($n = 6$) (а), healthy ovaries ($n = 6$) (б)

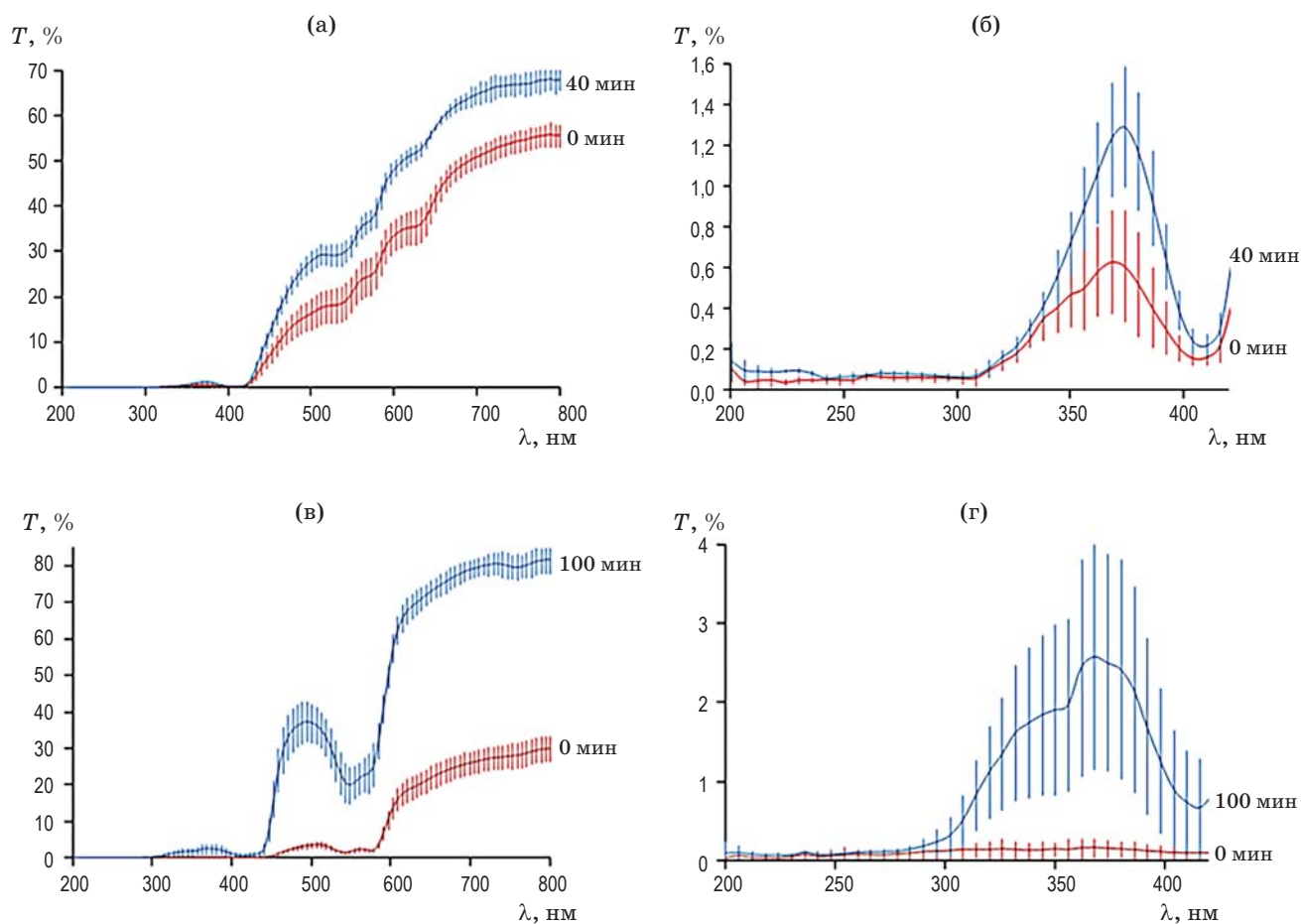


Рис. 7. Усреднённые СПП ткани яичника кошки до и после погружения в е-жидкость (70% ГЛ и 30% ПГ). Яичники с саркомой ($n = 6$) (а, б), здоровые яичники ($n = 6$) (в, г)

Fig. 7. Average total transmittance spectra (TTS) of cat ovarian tissue before and after immersion in e-liquid (70% GL and 30% PG): ovaries with sarcoma ($n = 6$) (а, б), healthy ovaries ($n = 6$) (в, г)

в фолликулярной фазе определялись как $D = (1,9 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$, а в лютеиновой фазе как $D = (2,4 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ [27].

СДО исследуемых образцов яичников были усреднены по 6 здоровым и 6 злокачественным образцам до и после взаимодействия с е-жидкостью (70% ГЛ и 30% ПГ), которые представлены на рис. 6.

СПП образцов с саркомой и здоровой тканью до и после взаимодействия с исследуемым ОПА представлены на рис. 7. Спектры пропускания исследуемых образцов имеют характерные полосы поглощения белков в УФ области и гемоглобина крови на 415, 542 и 576 нм. Суммарный коэффициент пропускания для саркомы больше по сравнению со здоровой тканью во всём исследованном диапазоне длин волн. Однако в образцах здоровой ткани яичников полосы поглощения на 542 и 576 нм более выражены, что может быть связано с меньшим содержанием гемоглобина и его оксигенированной формы в образцах с саркомой. В УФ области коэффициент пропускания исходных образцов с саркомой принимает значения до 0,11% в области от 200 до 300 нм и до 0,63% в области 300 до 400 нм. Для образцов здоровой ткани яичников коэффициент пропускания во всей УФ области почти не изменяется и достигает значения 0,16%. После взаимодействия исследуемых тканей с е-жидкостью суммарный коэффициент пропускания увеличивается во всём диапазоне длин волн относительно исходного состояния образца (до погружения в ОПА), что свидетельствует об уменьшении рассеяния оптического излучения. Так в образцах с саркомой в области 200–300 нм абсолютное значение коэффициента пропускания для исследуемых толщин образцов ($0,90 \pm 0,10$) мм достигает значения 0,15%, а в области 300–400 нм — 1,29%. В области 400–800 нм абсолютные значения коэффициента пропускания после взаимодействия с ОПА варьируются от 16,3 до 27,9% (для длины волны 500 нм), от 33,7 до 48,5% (600 нм), от 50,6 до 64,5% (700 нм) и от 55,6 до 67,9 (800 нм). В образцах со здоровой тканью яичника в УФ области абсолютное значение коэффициента пропускания достигает значения 2,58%. В случае взаимодействия ОПА со здоровой тканью яичника в области 400–800 нм абсолютные значения коэффициента пропускания варьируется от 3,6 до 37,1% (500 нм),

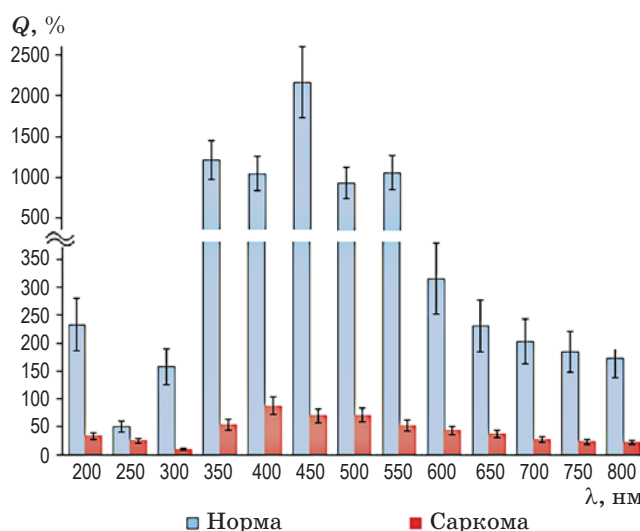


Рис. 8. Эффективность (Q , %) оптического просветления тканей после воздействия е-жидкости (70% ГЛ и 30% ПГ) в течение 40 мин для стромальной саркомы и 100 мин для здоровой ткани

Fig. 8. Efficiency (Q , %) of tissue optical clearing after exposure to e-liquid (70% GL and 30% PG) for 40 min for stromal sarcoma and 100 min for healthy tissue

от 13,8 до 57,5% (600 нм), от 26,0 до 79,1% (700 нм) и от 30,0 до 81,8 (800 нм).

Одним из параметров количественного определения эффективности оптического просветления биологической ткани является параметр Q , который можно определить из уравнения (7). Полученные значения Q для исследуемых образцов при взаимодействии с е-жидкостью (70% ГЛ и 30% ПГ) представлены на рис. 8.

В образцах здоровых яичников значения эффективности оптического просветления значительно выше во всем исследуемом диапазоне по сравнению с образцами с саркомой. Максимальное значение эффективности оптического просветления для образцов с саркомой оказалось вблизи длины волны 400 нм и составило 88%. Для здоровых тканей в УФ области Q достигает 1211% (350 нм), а максимума, равного 2167%, на 450 нм. На 500 нм эффективность оптического просветления составляет 944% для здоровых образцов и 71% для образцов с саркомой. В области от 600 до 800 нм значения Q не превышают 315% в здоровых образцах и 43% в образцах с саркомой. При оптическом просветлении здоровых и по-

липозных тканей толстой кишки человека, а также тканей десны при воздействии высококонцентрированного глицерина получены качественно аналогичные результаты [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования было показано, что е-жидкость (70% ГЛ и 30% ПГ) оказывает влияние на ткань яичников, которое проявляется в виде её оптического просветления. Эффективность оптического просветления была оценена количественно в процентах с помощью параметра Q , который определён как относительное изменение интенсивности прошедшего излучения определённой длины волны до и после действия е-жидкости. Было выявлено, что оптическое просветление значительно выше в здоровой ткани, по сравнению с тканью яичника с саркомой. Для образцов толщиной $(0,90 \pm 0,10)$ мм у здоровых тканей параметр Q достигал максимума в 2167% на длине волны 450 нм за время 100 минут, то есть интенсивность прошедшего оптического излучения увеличивалась более чем в 22 раза, а у образцов с саркомой параметр Q был максимален вблизи длины волны 400 нм и равен 88%, то есть увеличение прошедшей интенсивности немного менее двух раз за время 40 минут.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tuchin V.V. Tissue optics: Light scattering methods and instruments for medical diagnostics. 3rd ed. Bellingham, WA, USA: SPIE Press, 2015. 864 p.
2. Tuchin V.V. Optical clearing of tissues and blood. USA, WA, Bellingham: SPIE Press, 2006. 659 p.
3. Oliveira L.M.C., Tuchin V.V. The optical clearing method — a new tool for clinical practice and biomedical engineering. Cham, Switzerland: Springer, 2019. 852 p.
4. Tuchin V.V., Zhu D., Genina E.A. Handbook of tissue optical clearing: New prospects in optical imaging. USA, FL, Boca Raton: CRC Press, 2022. 855 p.
5. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. Tissue optical immersion clearing // *Expert Rev. Med. Devices*. 2010. V. 6. P. 825–842. <https://doi.org/10.1586/erd.10.50>
6. 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>
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>
7. Oliveira L.R., Ferreira R.M., Pinheiro M.R., Silva H.F., Tuchin V.V., Oliveira L.M. Broadband spectral verification of optical clearing reversibility in lung tissue // *J. Biophotonics*. 2022. V. 16. Article number. e202200185. <https://doi.org/10.1002/jbio.202200185>.
8. Musina G.R., Gavdush A.A., Chernomyrdin N.V., Dolganova I.N., Ulitko V.E., Cherkasova O.P., Kurlov V.N., Komandin G.A., Zhivotovskii I.V., Tuchin V.V., Zaytsev K.I. et al. Optical properties of hyperosmotic agents for immersion clearing of tissues in terahertz spectroscopy // *Opt. Spectrosc.* 2020. V. 128. P. 1026–1035. <https://doi.org/10.1134/S0030400X20070279>.
9. Lee S., Ozkavukcu S., Ku S.Y. Current and future perspectives for improving ovarian tissue cryopreservation and transplantation outcomes for cancer patients // *Reprod. Sci.* 2021. V. 28. P. 1746–1758. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00517-2>
10. VonWolff M., Donnez J., Hovatta O., Keros V., Maltaris T., Montag M., Salle B., Sonmezer M., Andersen C.Y. Cryopreservation and autotransplantation of human ovarian tissue prior to cytotoxic therapy — a technique in its infancy but already successful in fertility preservation // *Eur. J. Cancer*. 2009. V. 45. P. 1547–1553. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2009.01.029>

Анализ кинетики спектров диффузного отражения позволил оценить количественно диффузию е-жидкости в исследуемых образцах яичников. Было определено время диффузии τ , которое для образцов ткани яичников с саркомой составило $1,9 \pm 0,3$ мин, а для образцов здоровых яичников — $20,0 \pm 2,3$ мин. По этим данным определялся эффективный коэффициент диффузии смеси глицерин/пропиленгликоль и тканевой воды, который для яичника с саркомой составил $(2,9 \pm 0,5) \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$, а для здоровой ткани — $(2,7 \pm 0,4) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$.

Полученные данные представляют интерес для создания новых более эффективных протоколов для проведения оптической эндоскопической диагностики репродуктивной системы, фотодинамической или фототермической терапии, хирургических вмешательств с применением лазерного скальпеля при лечении онкологических заболеваний яичников, поскольку процессы взаимодействия е-жидкостей с тканями при однократном воздействии являются обратимыми. Другое важное применение полученных результатов заключается в их потенциальной востребованности для криопрезервации органов, включая органы репродуктивной системы человека, поскольку глицерин и пропиленгликоль используются в криобиологии.

11. Del-Pozo-Lerida S., Salvador C., Martínez-Soler F., Tortosa A., Perucho M., Gimenez-Bonaf P. Preservation of fertility in patients with cancer (Review) // *Oncol. Rep.* 2019. V. 41. P. 2607–2614. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7063>
12. Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., Jemal A. Cancer statistics // *CA Cancer J. Clin.* 2022. V. 72. P. 7–33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
13. Del Valle L., Corchon S., Palop J., Rubio J.M., Celda L. The experience of female oncological patients and fertility preservation: A phenomenology study // *Eur. J. Cancer Care.* 2022. V. 31. Article number. e13757. <https://doi.org/10.1111/ecc.13757>
14. Tuchina D.K., Meerovich I.G., Sindeeva O.A., Zherdeva V.V., Savitsky A.P., Bogdanov A.A., Tuchin V.V. Magnetic resonance contrast agents in optical clearing: Prospects for multimodal tissue imaging // *J. Biophotonics.* 2020. V. 13. Article number: e201960249. <https://doi.org/10.1002/jbio.201960249>
15. Vignarajan C.P., Malhotra N., Singh N. Ovarian reserve and assisted reproductive technique outcomes after laparoscopic proximal tubal occlusion or salpingectomy in women with hydrosalpinx undergoing in vitro fertilization: A randomized controlled trial // *J. Minim. Invasive Gynecol.* 2019. V. 26. P. 1070–1075. <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2018.10.013>
16. Целкович Л.С., Балтер Р.Б., Богданова М.А., Борисова О.В., Шатунова Е.П., Верховникова Т.С., Прибыткова Е.И., Никулина И.Е., Иванова Т.В., Ильченко О.А., Саловаров Д.А. Гистероскопия и гистеросальпингография как методы выявления внутриматочной патологии при подготовке пациенток к процедуре ЭКО // *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ».* 2018. № 3. С. 112–120.
Tselkovich L.S., Balter R.B., Bogdanova M.A., Borisova O.V., Shatunova E.P., Verkhovnikova T.S., Pribytkova E.I., Nikulina I.E., Ivanova T.V., Ilchenko O.A., Salovarov D.A. Hysteroscopy and hysterosalpingography as methods for identifying intrauterine pathology when preparing patients for the IVF procedure [in Russian] // *Bulletin of the REAVIZ Medical Institute.* 2018. № 3. P. 112–120.
17. Kang Uk, Папаян Г.В., Березин В.Б., Петрищев Н.Н., Галагудза М.М. Спектрометр для флуоресцентно-отражательных биомедицинских исследований // *Оптический журнал.* 2013. Т. 80. № 1. С. 56–67.
Kang Uk, Papayan G.V., Berezin V.B., Petrishchev N.N., Galagudza M.M. Spectrometer for fluorescence-reflection biomedical research // *Journal of Optical Technology.* 2013. V. 80(1). P. 40–48. <https://doi.org/10.1364/JOT.80.000040>
18. Папаян Г.В., Журба В.М., Кишалов А.А., Петрищев Н.Н., Галагудза М.М. Волоконный флуоресцентно-отражательный спектрометр с многоволновым возбуждением // *Оптический журнал.* 2014. Т. 81. № 1. С. 38–43.
Papayan G. V., Petrishchev N. N., Zhurba V. M., Kishalov A. A., Galagudza M. M. Fiber fluorescence-reflection spectrometer with multiwave excitation. // *Journal of Optical Technology.* 2014. V. 81. № 1. P. 29–32. <https://doi.org/10.1364/JOT.81.000029>
19. Будаговская О.Н., Козлова И.И. Простой оптический критерий степени зрелости плодов земляники // *Оптический журнал.* 2022. Т. 89. № 1. С. 17–23. <http://doi.org/10.17586/1023-5086-2022-89-01-17-23>
- Budagovskaya O.N., Kozlova I.I. Simple optical criterion of the ripeness level of strawberries // *Journal of Optical Technology.* 2022. V. 89. № 1. P. 12–16. <https://doi.org/10.1364/JOT.89.000012>
20. Немкович Н.А., Шанько Ю.Г., Собчук А.Н., Рубинов А.Н., Крученюк Ю.В., Чухонский А.И. Система оптической диагностики опухолей и идентификация с ее помощью аденомы гипофиза // *Оптический журнал.* 2014. Т. 81. № 10. С. 30–41.
Nemkovich N.A., Sobchuk A.N., Rubinov A.N., Kruchenok Yu.V., Shan'ko Yu.G., Chukhonski A.I. System for the optical diagnosis of tumors, and using it to identify pituitary adenoma // *Journal of Optical Technology.* 2014. V. 81. № 10. P. 578–585. <https://doi.org/10.1364/JOT.81.000578>
21. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Кочубей В.И., Рубцов В.С., Колесникова Е.А., Тучин В.В. Оптические свойства тканей толстой кишки человека в спектральном диапазоне 350–2500 нм // *Квантовая электроника.* 2014. Т. 44. № 8. С. 779–784.
Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Kolesnikova E.A., Tuchin V.V., Rubtsov V.S. Optical properties of human colon tissues in the 350–2500 nm spectral range // *Quantum Electronics.* 2014. V. 44. № 8. P. 779–784.
22. Беликов А.В., Загорулько А.М., Смирнов С.Н., Сергеев А.Н., Михайлова А.А., Шимко А.А. Оптические свойства in vitro катарактальных хрусталиков глаза человека в видимом и ближнем ИК диапазонах // *Оптика и спектроскопия.* 2019. Т. 126. № 5. С. 656–664. <https://doi.org/10.21883/OS.2019.05.47667.16-19>
Belikov A.V., Smirnov S.N., Sergeev A.N., Zagorul'ko A.M., Mikhailova A.A., Shimko A.A. Optical properties of human eye cataractous lens in vitro in the visible and near-ir ranges of the spectrum // *Opt. Spectr.* 2019. V. 126. № 5. P. 574–579. <https://doi.org/10.1134/S0030400X19050035>
23. Kotyk A., Janacek K. Cell membrane transport: An interdisciplinary approach. New York: Plenum Press, 1977. 348 p.
24. Tuchin V.V. (ed.). Handbook of optical biomedical diagnostics. Second Edition. V. 1. Light-tissue interaction. WA, Bellingham: SPIE Press, 2016. 864 p.
25. 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>
26. 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. 490–506. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13030490>
27. 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>
28. 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>

АВТОРЫ

Алексей Андреевич Селифонов — канд. физ.-мат. наук, ассистент кафедры основ медицины и медицинских технологий Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6270-93951>, peshka029@gmail.com

Екатерина Игоревна Селифонова — канд. хим. наук, старший научный сотрудник отдела химической технологии наноматериалов образовательного-научного института наноструктур и биосистем Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2497-5489>, selif-ei@yandex.ru

Галина Николаевна Варламова — инженер отдела химической технологии наноматериалов образовательного-научного института наноструктур и биосистем Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3405-1255>, naumova.galinka.93@mail.ru

Валерий Викторович Тучин — член-корреспондент РАН, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой оптики и биофотоники Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>, tuchinvv@mail.ru

Статья поступила в редакцию 15.11.2023

Одобрена после рецензирования 15.05.2024

Принята к печати 30.08.2024

AUTHORS

Alexey A. Selifonov — PhD in Physics and Mathematics, Assistant Professor at the Department of Fundamentals of Medicine and Medical Technologies at Saratov State University, 410012, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6270-93951>, peshka029@gmail.com

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

Galina N. Varlamova — Engineer of the Department of Nanoanalytics, Educational and Scientific Institute of Nanostructures and Biosystems SSU, 410012, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3405-1255>, naumova.galinka.93@mail.ru

Valery V. Tuchin — Corresponding Member of the RAS, Doctor of Sciences (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Department of Optics and Biophotonics at Saratov State University, <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>, tuchinvv@mail.ru

The article was submitted to the editorial office 15.11.2023

Approved after review 15.05.2024

Accepted for publication 30.08.2024