

PACS 07.57.Pt; 42.62.Be; 87.19.Ff; 87.50.U–; 87.64.K–; 87.64.-t; 87.80.Dj

Мониторинг дегидратации мышечной ткани *in vitro* под действием гиперосмотических агентов в терагерцевом диапазоне

А.С.Колесников, Е.А.Колесникова, А.П.Попов, М.М.Назаров, А.П.Шкуринов, В.В.Тучин

*Исследования дегидратации мышечной ткани *in vitro* под действием биологически совместимых гиперосмотических агентов проведены на лазерном терагерцевом спектрометре в диапазоне частот 0.25–2.5 ТГц. Получены широкополосные терагерцевые спектры поглощения и отражения скелетной мышечной ткани быка под воздействием глицерина, полиэтиленгликоля с молекулярным весом 600 (ПЭГ-600) и пропиленгликоля. Представленные результаты предлагается применить для разработки методов повышения контраста изображений и увеличения глубины исследования биологических тканей с помощью излучения терагерцевого диапазона.*

Ключевые слова: импульсная терагерцевая спектрометрия, неинвазивная дегидратация, оптическое просвещение биотканей, гиперосмотические агенты.

1. Введение

Терагерцевый частотный диапазон относится к дальнему ИК оптическому диапазону частот и граничит с микроволновым диапазоном частот (1 ТГц → 1 пс → 300 мкм → 33 см⁻¹ → 4.1 мэВ → 47.6 К). Хотя этот диапазон сравнительно мало изучен, появление в нем широкополосных источников излучения, построенных на основе фемтосекундных лазеров, повлияло на развитие такого направления терагерцевых исследований, как импульсная терагерцевая спектроскопия (ИТС), с помощью которой была продемонстрирована перспективность терагерцевого излучения для различных применений, в том числе в спектроскопии [1] и медицине [2, 3]. Основными преимуществами терагерцевого диапазона применительно к медицинским и биологическим исследованиям являются малая частотная дисперсия в этом диапазоне биологических тканей и жидкостей, существование спектральных особенно-

стей большинства простых биомолекул в кристаллической фазе, а также низкое рассеяние излучения на неоднородностях менее 10 мкм. Использование сверхкоротких импульсов позволяет исследовать широкий диапазон частот за одно измерение, а также достичь высокого разрешения по времени и получить информацию о фазе и, соответственно, о коэффициенте преломления.

В настоящей работе проведен краткий обзор методов исследования биологических тканей с помощью терагерцевого излучения, показаны основные причины малой глубины зондирования и невысокого контраста терагерцевых изображений патологических неоднородностей биотканей и сделаны (экспериментально подтвержденные) предложения по увеличению глубины зондирования и дополнительного контрастирования изображений.

2. Обзор литературы и постановка задачи

Техника ИТС применима для спектроскопии жидкостей [4] и исследования биологических тканей благодаря чувствительности к концентрации и состоянию воды [5]. При этом глубина зондирования определяется степенью поглощения терагерцевого излучения. В медицине методика ИТС хорошо показала себя в исследовании раковых опухолей [6] и определении глубины и степени ожогов кожи [7, 8].

Методами ИТС были получены спектры поглощения различных жидкостей, включая биологические [9–11]. Поглощение в жидкостях терагерцевого излучения обусловлено поглощением диполей, как изначально имеющих в среде, так и наведенных полем внешнего излучения. По этой причине поглощение терагерцевого излучения в полярных жидкостях существенно больше, чем в неполярных.

В ранее опубликованных работах, помимо исследований спектров отдельных веществ, были исследованы спектры многокомпонентных биологических тканей. В работе [12] представлены результаты исследований ИК спектров здоровых и патологических клеток желудка и показаны различия в их спектрах поглощения. Авторами работы [13] представлены спектры поглощения различ-

А.С.Колесников, Е.А.Колесникова. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: aleksandr.s.kolesnikov@mail.ru

А.П.Попов. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; University of Oulu, 90014, Oulu, P.O. Box 4500, Finland; e-mail: dwelle@rambler.ru

М.М.Назаров. Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Россия, Московская обл., 140700 Шатура, ул. Святогорская, 1

А.П.Шкуринов. Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Россия, Московская обл., 140700 Шатура, ул. Святогорская, 1; Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, физический факультет и Международный учебно-научный лазерный центр МГУ им. М.В.Ломоносова, Россия, 119991 Москва, Воробьевы горы; e-mail: ashkurinov@gmail.com

В.В.Тучин. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; University of Oulu, 90014, Oulu, P.O. Box 4500, Finland; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая 24; e-mail: tuchinvv@mail.ru, tuchin@sgu.ru

Поступила в редакцию 12 марта 2014 г., после доработки – 19 мая 2014 г.

ных тканей в диапазоне 0.5–2 ТГц. Также были предприняты попытки создания статистической модели оптимизации обработки данных с целью классификации тканей по таким параметрам, как коэффициент поглощения и показатель преломления [14, 15].

Специфичность свойств веществ и тканей в терагерцевом диапазоне предполагает возможность проведения терагерцевой визуализации с достаточным для дифференцирования тканей контрастом [16, 17]. В первую очередь, эта специфичность определяется содержанием воды в тканях и ее свойствами. Вместе с тем проводятся исследования влияния терагерцевого излучения на ткани. Так, в работе [18] представлены данные, позволяющие говорить о возможном повреждении ДНК в структурах кожи при воздействии такого излучения. Однако в этой же работе отмечено, что при проведении наблюдений были выявлены изменения в белках, отвечающих за регуляцию и подавление роста опухолей, что говорит о процессе «ремонта» молекул ДНК. В работе [19] говорится о возможном нагреве воды и, следовательно, потенциальном нагреве тканей терагерцевым излучением. В то же время для медицинских целей обычно применяются источники излучения с мощностью, неспособной нанести вред живым организмам. Тема безопасности применения терагерцевого излучения в медицине представляет собой предмет для отдельных исследований [20].

Уже на сегодняшний день показано, что терагерцевое излучение перспективно для медицинской диагностики [21] и получения изображений патологических тканей, в частности, для диагностики рака кожи на ранних стадиях [22, 23]. Пораженные участки трудно определить на глаз, поскольку 85% раковых клеток лежат в эпителии под поверхностью кожи. Терагерцевые волны достаточно хорошо проникают в верхние слои кожи через слои обезвоженных мертвых клеток рогового слоя и дают возможность контролировать развитие злокачественных процессов на самых ранних стадиях. По сравнению со здоровыми клетками раковые содержат больше воды [24], которая интенсивно поглощает излучение в диапазоне частот 100 ГГц–3 ТГц. По пространственному распределению интенсивности терагерцевого излучения можно строить полную карту зоны поражения. В связи с этим различными исследовательскими группами было предложено множество методик визуализации: визуализация по отражению [25], непрерывная визуализация по пропусканию [26], волоконно-сканирующая микроскопия ближнего поля [27, 28], молекулярная визуализация [29, 30]. Данное направление получило развитие, в том числе благодаря своей эффективности. Так, в работе [31] при помощи терагерцевой визуализации осуществлено определение границ опухоли в молочных железах, в работе [32] показана возможность дифференцирования здоровых и патологических тканей, а в работе [25] отмечено успешное определение местоположения, границ и размеров метастаз с характерным размером до 3 мм в лимфатических узлах.

Активно изучаются свойства водных растворов белков в терагерцевом диапазоне [33, 34]. Предлагаются модели взаимодействия молекул белка и воды [35]. Это связано со способностью белков «упорядочивать» слои молекул воды, непосредственно прилегающих к молекуле белка, а также снижать подвижность молекул воды и их способность к образованию водородных связей, внося таким образом изменения в терагерцевые спектры поглощения воды по сравнению со спектрами поглощения «чи-

стой» воды [36–38]. Из-за этого существуют понятия свободной и связанной воды (в некоторых случаях говорят также об объемной воде, но ее свойства близки к свойствам свободной воды). Изучается степень гидратации тканей, корреляция между оптическими параметрами и содержанием воды в тканях [39, 40]. Таким образом, чувствительность электромагнитных волн терагерцевого диапазона к наличию молекул воды позволяет применить это излучение для диагностики рака [41–43]. Повышенное содержание воды вместе с другими структурными изменениями ткани приводит к увеличению коэффициентов поглощения и уменьшению отражения тканей с опухолями на терагерцевых частотах [24]. Однако, несмотря на разное соотношение воды в здоровых и патологических тканях, проведение визуализации и диагностики опухолей затруднено именно из-за значительного содержания воды и сильного поглощения терагерцевого излучения в тканях, поскольку поглощение излучения в верхних слоях ткани не позволяет получать информацию от нижних слоев, где идет развитие опухоли. Это дает толчок к разработке различных методов повышения контраста изображений, получаемых при терагерцевой визуализации.

В работе [44] предлагается совмещение поляризационно-чувствительных методов визуализации в оптическом и терагерцевом диапазонах для более точного диагностирования немеланомного рака кожи (НМРК). В результате было показано, что изображения, полученные в скрещенных поляризаторах в терагерцевом диапазоне, позволяют правильно определить расположение опухоли, в то время как в оптическом диапазоне разница изображений в скрещенных и параллельных поляризаторах хорошо отображает морфологические особенности. Терагерцевые изображения в скрещенных поляриоидах продемонстрировали более низкую отражательную способность кожи с опухолью по сравнению со здоровой кожей. Комбинация методов оптической и терагерцевой визуализации является многообещающим подходом в интраоперационной диагностике НМРК. При всех достоинствах такой диагностики одновременное использование этих методов требует наличия уникального оборудования, что затрудняет повсеместное проведение таких исследований.

Кроме того, многие исследовательские группы показали возможность повышения контраста изображений путем дегидратации тканей. В работе [45] предлагается использовать глубокую дегидратацию биоткани, для чего применяют лиофилизацию методом замораживания. Лيوфилизация приводит к существенной потере воды и дает возможность поддерживать параметры исследуемой биоткани неизменными в процессе исследования, т.е. обеспечивать хорошую воспроизводимость результатов. Данный метод позволяет существенно уменьшить поглощение терагерцевого сигнала и тем самым увеличить отраженный сигнал. Недостатки этого метода очевидны, поскольку он не допускает проведения исследований *in vivo*. Кроме того, глубокое и продолжительное замораживание ткани приводит к существенным изменениям ее структуры. Дегидратацию биоткани можно осуществить при тепловом воздействии на ткань (с помощью фена), фактически высушить ее [46]. Этот метод обладает теми же недостатками, что и представленный выше. В работе [47] предложено решение проблемы повышения контраста на основе использования метода САТНІ (contrast-agent-enabled terahertz imaging). Его суть состоит в том, что для повышения контраста используются золотые на-

ностержни (GNRs), которые являются метками раковых клеток и нагревают в них воду при воздействии ИК излучением. Такой метод позволяет усилить на 20% отраженный терагерцевый сигнал именно от тех областей ткани, где сосредоточены раковые клетки.

Снижение способности связывать молекулы воды белками пораженных тканей позволяет говорить об изменении соотношения свободной и связанной воды в опухолевых тканях в пользу свободной воды [48]. Таким образом, предоставляется новая возможность различать здоровые и патологические ткани не только по общему содержанию воды, но и по соотношению свободной и связанной воды. В работе [37] при проведении исследований было показано, кроме всего прочего, что при удалении белка из раствора вместе с ним удаляется и связанная вода, а в работе [49] приведены различия между здоровой и патологической тканью, вызванные различным содержанием воды, даже после обработки образцов формалином. Это указывает на сильную связь между молекулой белка и близлежащими молекулами воды. Все вышесказанное позволяет предположить, что временное удаление свободной воды из ткани при помощи дегидратирующих агентов (т.е. оптических просветляющих агентов (ОПА), иммерсионных жидкостей) даст возможность изменить содержание воды в опухолях и тем самым повысить контраст изображения не только за счет снижения общего количества воды в тканях, но и за счет изменения соотношения свободной и связанной воды. Это позволит классифицировать ткани по содержанию в них свободной и связанной воды и, в частности, диагностировать раковые опухоли.

Очевидно, что для применения методов дегидратации *in vivo* необходим временный и обратимый характер изменений в тканях, происходящих при использовании этих методов. В настоящей работе предлагается проводить дегидратацию при помощи гиперосмотических агентов, применение которых основано на их способности формировать поток свободной воды из ткани наружу, а также проникать в ткань, временно замещая свободную воду. Такими перспективными агентами являются глицерин, полиэтиленгликоль, раствор глюкозы [50]. Эти вещества нетоксичны и, как показано ниже, не вносят существенных погрешностей при проведении измерений. Кроме того, они имеют достаточно высокие коэффициенты диф-

фузии в тканях, что необходимо для успешного применения этих веществ в процессе дегидратации тканей человека в клинических условиях [50–57]. Мониторинг содержания воды удобно проводить с помощью терагерцевого излучения (ввиду его чувствительности к присутствию воды) путем снятия спектров поглощения и отражения.

Цель настоящей работы – применение метода ИТС и лазерного терагерцевого спектрометра для изучения влияния дегидратирующих агентов на эффективность распространения и отражения терагерцевого излучения в тканях. В качестве объекта исследования выбрана мышечная ткань как модель волокнистой мягкой ткани с большим содержанием свободной воды.

3. Материалы и методы

В работе использовалось импульсное терагерцевое излучение, получаемое путем преобразования сверхкоротких импульсов лазерного излучения на поверхности полупроводника. В этом случае генерация излучения обусловлена созданием нестационарной электронно-дырочной фотопроводимости полупроводника (GaAs) под действием импульсов света и всплеском фототока под действием внутреннего электрического поля. Детектирование терагерцевого импульса (ТГИ) осуществлялось в электрооптическом кристалле (ZnTe). Основой экспериментальной установки служил терагерцевый спектрометр, схема которого приведена на рис. 1 [52]. Установка позволяла получать временные профили отраженных или прошедших через образец сигналов после взаимодействия с биотканями и после преобразования Фурье вычислять спектры поглощения и преломления объекта исследования.

В качестве просветляющих агентов использовались полиэтиленгликоль с молекулярным весом 600 (ПЭГ-600), глицерин дегидратированный (99.9%) и пропиленгликоль (ПГ) (99.9%). В качестве исследуемых объектов были взяты образцы мышечной ткани быка. Толщина образцов до и после эксперимента измерялась микрометром, для чего образцы помещались между двумя предметными стеклами. Измерения выполнялись в нескольких точках образца; погрешность каждого измерения составляла ± 50 мкм.

Измерения проводились при температуре $+21^\circ\text{C}$ как на свежих образцах, так и на образцах, хранившихся в

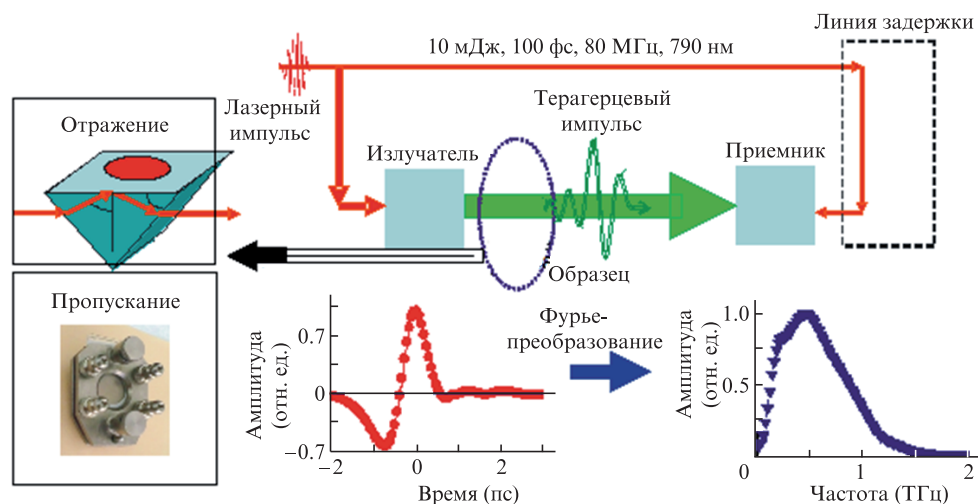


Рис. 1. Схема импульсного терагерцевого спектрометра. В конфигурации «на отражение» использовалась призма из кремния, «на пропускание» – металлическая оправа с полистирольными окнами.

бытовой морозильной камере при температуре -18°C в течение 3–72 ч.

3.1. Измерение спектров поглощения

При измерениях спектров поглощения образец биоткани укладывался в металлическую оправу с окнами (рис. 1, конфигурация «на пропускание») и зажимался между двумя пластинами из полистирола толщиной 750 мкм каждая. Для фиксации толщины образца в кювету помещался спейсер. При измерении спектров жидкостей использовался спейсер толщиной 0.2 мм, при измерении спектров тканей – спейсеры толщиной 0.2 и 0.5 мм.

Перед началом измерений на образце биоткани снимали спектр фона, на который впоследствии нормировался спектр самого образца. Спектр фона представлял собой спектр пустой кюветы и включал индивидуальные особенности оптической системы используемой экспериментальной установки. Далее в кювету помещался исследуемый образец биоткани таким образом, чтобы он полностью покрывал измерительное окно, размер которого превышал размер сфокусированного терагерцевого пучка. После снятия полной серии спектров одного образца кювета тщательно протиралась изопропиловым спиртом для удаления исследуемых веществ с измерительного окна.

Сначала снимался спектр интактного образца, затем кювета разбиралась и с помощью бумажной салфетки удалялись следы воды с обеих сторон образца. Затем на одну из сторон образца (всегда одну и ту же) наносился иммерсионный агент в количестве 200 мкл, сверху помещалось покровное стекло и в таком состоянии ткань выдерживалась 1–5 мин, после чего снова с помощью бумажной салфетки устранялось избыточное количество агента, образец укладывался в кювету и проводились измерения. Каждое измерение занимало около 3 мин.

На основе экспериментальных спектров пропускания и данных о толщине образца рассчитывались спектры поглощения и показателя преломления исследуемых образцов [14, 52] при воздействии гиперосмотических иммерсионных агентов. Как будет показано ниже для экспериментов в конфигурации «на отражение», общая тенденция для всех агентов является схожей. В связи с этим, а также принимая во внимание схожесть спектров поглощения агентов, в экспериментах «на пропускание» использовался только глицерин.

Экспериментально исследованы только по одному образцу с каждым агентом, поэтому на спектрах статистические ошибки не приведены. Тем не менее, вводится понятие инструментальной ошибки, которая складывается из следующих составляющих: отношение сигнал/шум (шумы детектора), повторяемость опорного сигнала (шумы источника), точность измерения толщины образца (в случае работы с образцом).

Распределение такой ошибки приведено на примере спектров поглощения агентов.

3.2. Измерения спектров отражения

Конфигурация измерения «на поглощение» позволяет непосредственно рассчитать поглощение и преломление, но при этом есть два существенных недостатка: сильное ослабление информативного сигнала и необходимость работать *in vitro*. Конфигурация установки «на отражение» [52] лишена этих недостатков.

При измерении отраженного сигнала использовалась кремниевая призма, на которую помещался исследуемый образец. Капля (или ткань) удерживалась на поверхности силой тяжести и поверхностным натяжением, толщина капли (0.2–1 мм) заведомо превосходила глубину проникновения вертикально поляризованного терагерцевого поля в образец (около 0.1 мм в зависимости от частоты). Прилегание образца к призме контролировалось по форме терагерцевого импульса – в случае появления воздушного зазора максимум импульса «раздваивался». Это вызвано его переотражением в воздушном зазоре. Схема прохождения пробного пучка терагерцевого излучения через призму представлена на рис. 1. Полученные данные нормировались на показания, снятые при отсутствии образца.

4. Результаты и их обсуждение

На рис.2–4 приведены экспериментальные данные, полученные в конфигурации «на поглощение» для спектральных и кинетических зависимостей коэффициента поглощения и показателя преломления иммерсионных агентов, а также мышечной ткани быка при воздействии глицерина.

С течением времени наблюдалось уменьшение как коэффициента поглощения, так и показателя преломления образцов биоткани, что можно объяснить уменьшением содержания воды и увеличением содержания агента в

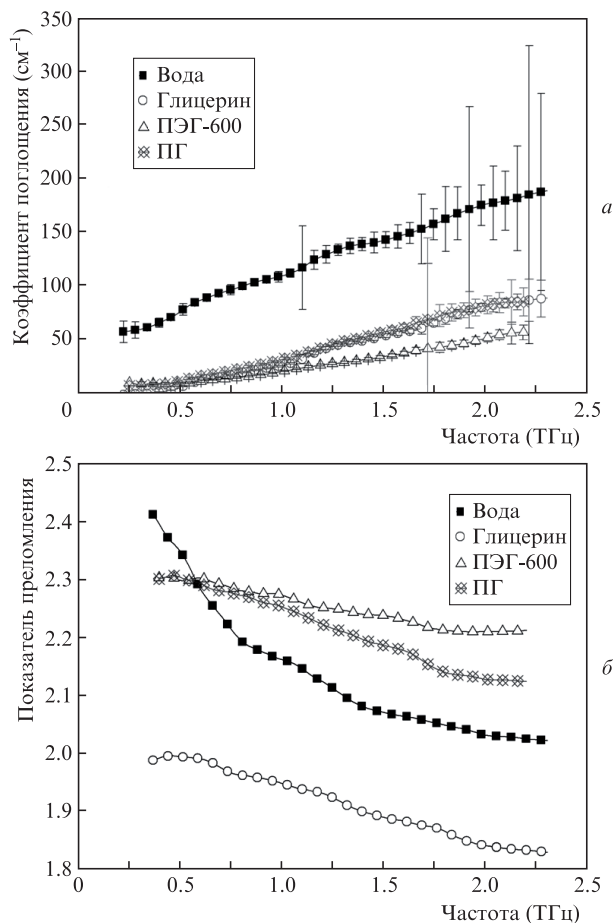


Рис.2. Спектральные зависимости коэффициента поглощения (а) и показателя преломления (б) дистиллированной воды, глицерина, ПЭГ-600 и ПГ.

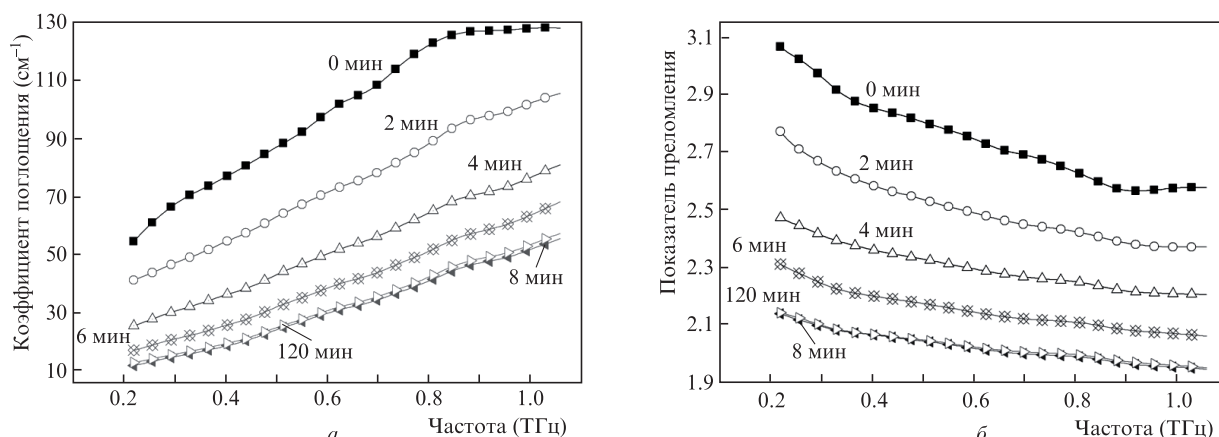


Рис.3. Спектральные зависимости для коэффициента поглощения (а) и показателя преломления (б) мышечной ткани быка при воздействии глицерина. Время соответствует кумулятивному времени выдерживания образца с нанесенным агентом.

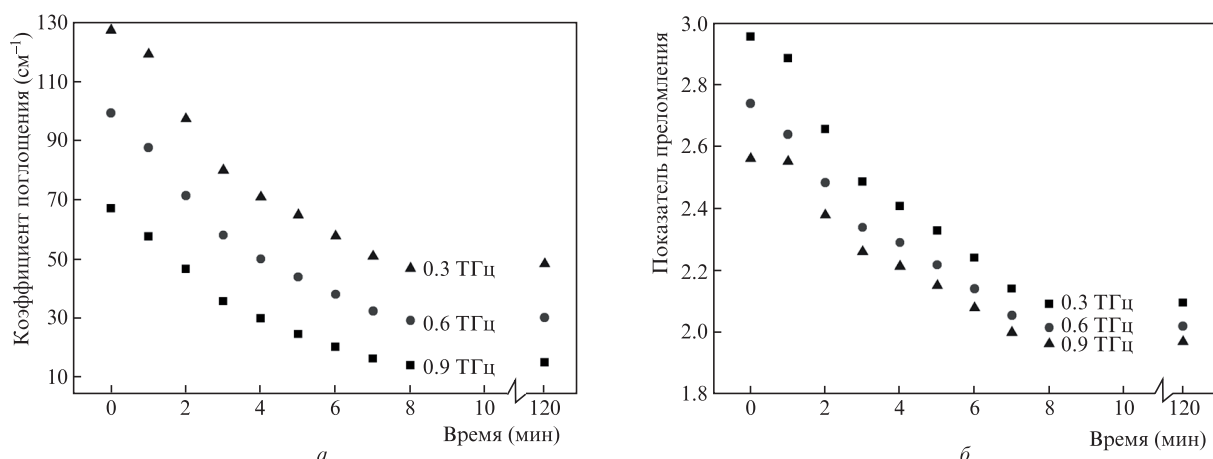


Рис.4. Кинетика изменения коэффициента поглощения (а) и показателя преломления (б) мышечной ткани быка при воздействии глицерина на частотах 0,3, 0,6 и 0,9 ТГц. Время соответствует кумулятивному времени выдерживания образца с нанесенным агентом. Характер изменения коэффициента поглощения и показателя преломления показывает изменение содержания свободной воды.

ткани, т. к. агенты имеют более низкие значения исследуемых параметров, чем вода. Таким образом, на модели мышечной ткани однозначно доказана возможность уменьшения поглощения излучения в диапазоне 0,25–2,5 ТГц при его распространении в биологической ткани во время аппликации гипертонических агентов. В зависимости от частоты излучения коэффициент поглощения уменьшался в 3–5 раз, при этом необходимое время аппликации составило ~8–10 мин. Именно в этот промежуток времени достигается максимальное влияние агента, что согласуется с данными работ [53–56].

На рис.5 приведены спектры амплитуды и фазы, измеренные в геометрии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) для дистиллированной воды и использованных иммерсионных жидкостей.

На рис.6 и 7 представлены спектры НПВО для образцов нормальной ткани и ткани при аппликации дегидратирующих жидкостей. При этом агент в избыточном количестве наносился сверху на слой ткани и последовательно снималась серия спектров без изменения конфигурации образца. Кинетические кривые использовались для определения скорости диффузии различных иммерсионных жидкостей. Как видно из рис.6, сигнал от ткани без воздействия на нее агентами практически не изменя-

ется, тогда как после нанесения агента замечен рост сигнала, отраженного от ткани (рис.7).

Для получения данных, представленных на рис.8, 9, проводились измерения не временного профиля импульса, а максимальной амплитуды импульса во времени без сканирования линии задержки (рис.1). В этом случае амплитуда сигнала соответствует усредненному по спектру коэффициенту отражения, а данные о частотной зависимости теряются, но при этом появляется возможность быстро и подробно получать информацию о динамике дегидратации. Как видно из рисунков, спустя некоторое время кривые насыщаются, причем момент насыщения наступает через 20–60 мин в зависимости от используемого агента и толщины образца.

Целью исследования было изучение спектральных особенностей и получение достаточного количества спектров в области 0,2–1,6 ТГц с тем, чтобы определить целесообразность использования гипертонических агентов для временной обратимой дегидратации тканей.

Усредненный коэффициент диффузии D для потоков молекул дегидратирующего агента и внутритканевой воды рассчитывался по следующей формуле, справедливой для случая действия агента с одной стороны плоского образца [50]:

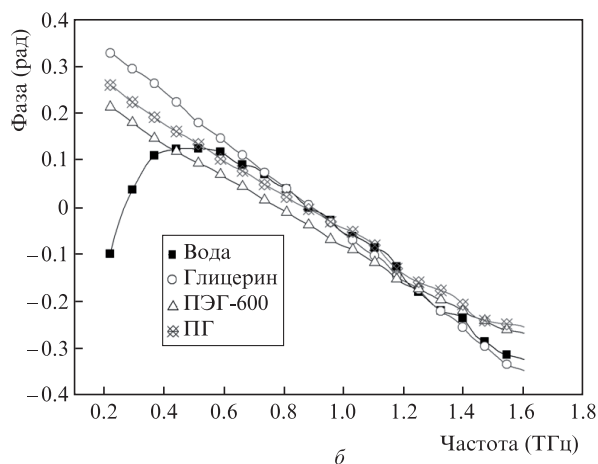
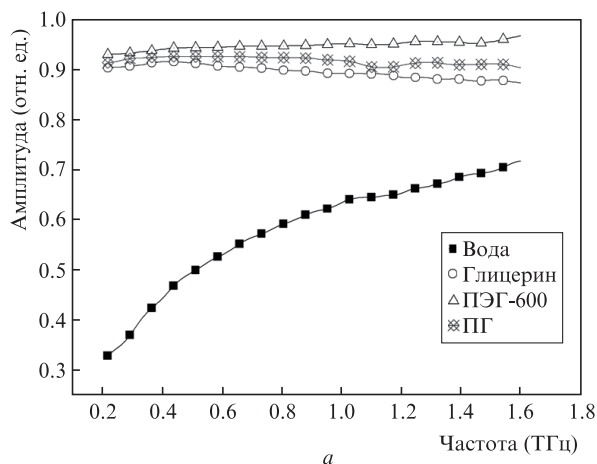


Рис.5. Спектр НПВО амплитуды (а) и фазы (б) для дистиллированной воды и использованных в работе иммерсионных жидкостей.

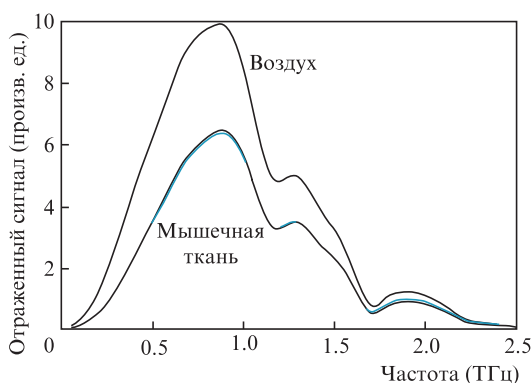


Рис.6. Спектр отраженного от воздуха и мышечной ткани быка терагерцевого сигнала (в течение 9 мин) без воздействия оптически просветляющего агента.

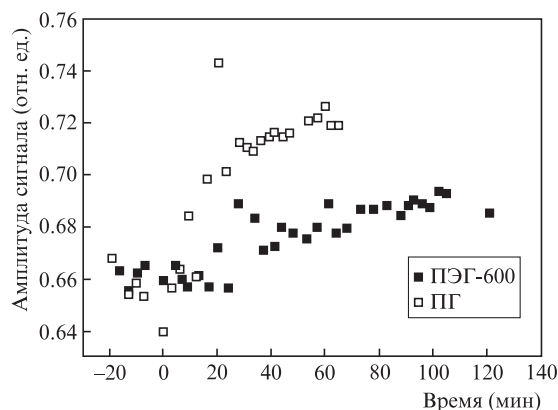


Рис.8. Кинетика сигнала, отраженного от образца мышечной ткани под действием ПЭГ-600 и ПГ (толщина образца 1.25 и 0.6 мм соответственно, количество наносимого агента – 50 мкл в обоих случаях).

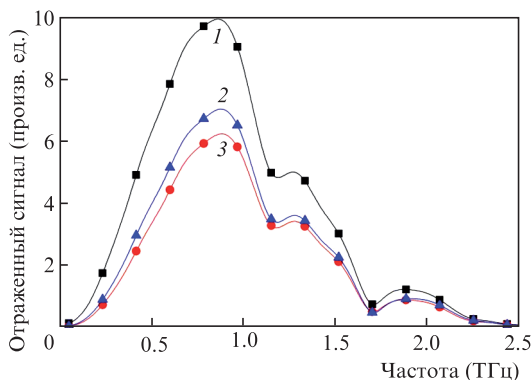


Рис.7. Спектр отраженного от воздуха (1) и мышечной ткани быка (2, 3) терагерцевого сигнала под действием ПГ в течение 3 мин (3) и 90 мин (2). Сигнал от ткани постепенно увеличивается со временем, что указывает на потерю воды в области интерфейса призма – образец и на увеличение содержания ПГ.

$$D = d^2/t, \tag{1}$$

где d – толщина образца, t – характерное время диффузии молекулярных потоков. Квадратичная зависимость времени диффузии от толщины подтверждается данными рис.9, где для толщин $d_1 = 0.75$ мм и $d_2 = 1$ мм получились времена насыщения $t_1 = 40$ мин и $t_2 = 70$ мин. Таким образом, этот параметр позволяет оценивать скорость воздействия агента на ткань, результатом которого является гидратация. Рассчитанные по формуле (1) усредненные

коэффициенты диффузии D при воздействии ПГ, ПЭГ и глицерина на мышечную ткань составили 2.0×10^{-6} , 3.2×10^{-6} и 2.9×10^{-6} $\text{см}^2/\text{с}$ соответственно. Таким образом, можно утверждать, что глицерин и ПЭГ-600 быстрее диффундируют в ткань, и, следовательно, сокращается время просветления ткани. Для сравнения приведем коэффициенты диффузии в воде глицерина (при температуре 15°C и малой его концентрации) и воды (при температуре 20°C): $D_{\text{glyc}} = 7.2 \times 10^{-6}$ $\text{см}^2/\text{с}$ [58] и $D_{\text{H}_2\text{O}} = 8.9 \times 10^{-6}$ $\text{см}^2/\text{с}$

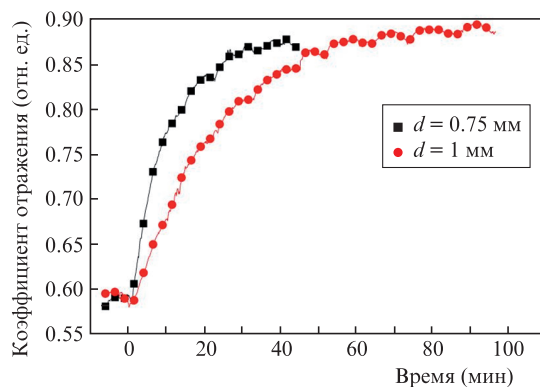


Рис.9. Кинетика усредненного по спектру сигнала, отраженного от образца мышечной ткани под действием глицерина, для толщин слоя ткани 0.75 и 1 мм (количество наносимого агента – 50 мкл в обоих случаях).

[59]. Поскольку мягкие биологические ткани содержат значительное количество воды (в среднем 75%), то диффузия в воде молекул глицерина и воды является хорошей моделью для исследования диффузии этих молекул в мягких тканях. Примерно 2–3-кратное уменьшение скорости диффузии можно объяснить затрудненной диффузией, обусловленной взаимодействием с органическим матриксом и ограниченной проницаемостью биологических мембран клеток ткани.

5. Выводы

Представленные экспериментальные результаты по исследованию спектров поглощения и отражения ткани позволяют сделать следующие выводы.

1. На модели мышечной ткани однозначно доказана возможность уменьшения поглощения излучения в диапазоне 0.25–1.6 ТГц при его распространении в биологической ткани в случае аппликации гиперосмотических агентов, что открывает возможность существенного увеличения глубины зондирования ткани таким излучением.

2. В зависимости от частоты излучения в диапазоне 0.25–1.6 ТГц уменьшение коэффициента поглощения составляет 60%, необходимое время аппликации 8–10 мин, что приемлемо при использовании такой технологии в медицинской практике.

3. Важно, что показатель преломления биоткани также снижается и в меньшей степени зависит от частоты излучения, что способствует более глубокому проникновению терагерцевого излучения внутрь ткани за счет меньшего френелевского отражения на слоях внутри ткани.

4. Из дополнительных измерений известно, что время просветления для здорового и патологического участков ткани отличается на 20%–40% (патологическая ткань просветляется быстрее). Следовательно, выбрав время получения изображения, вдвое меньшее времени насыщения просветления для здоровой ткани, получим заметное улучшение контраста для выделения участка с патологией в терагерцевом изображении.

Из полученных данных по исследованию агентов можно сформулировать несколько положений. Во-первых, коэффициент отражения агентов существенно отличается от аналогичного показателя для воды. В то же время спектры отражения агентов различаются между собой несущественно: среднее значение коэффициента отражения составило 0.895 для глицерина, 0.948 для пропиленгликоля и 0.917 для ПЭГ-600. Для воды среднее значение коэффициента отражения равно 0.582. Во-вторых, на графике зависимости фазы сигнала от частоты заметен изгиб характеристики в низкочастотной области, характерный для воды и потенциально являющийся маркером содержания воды в ткани. Увеличение амплитуды отраженного сигнала составило 45% для глицерина, 12.5% для ПГ и 6% для ПЭГ-600 по сравнению с началом эксперимента. Следовательно, учитывая данные по коэффициенту диффузии, можно сделать вывод, что наиболее предпочтительным для использования в просветлении является глицерин.

Таким образом, можно утверждать, что все выбранные агенты имеют спектральные характеристики и гиперосмотические свойства, удовлетворяющие условиям использования их для дегидратации ткани при терагерцевой визуализации и спектроскопии.

Авторы выражают благодарность О.П.Черкасовой (лаборатория биофизики Института лазерной физики СО РАН, Новосибирск) за ценные замечания и помощь в написании статьи.

Работа выполнена в рамках осуществления Научно-исследовательского проекта под руководством ведущего ученого (№ 14.Z50.31.0004), поддержанного правительством РФ, при частичной поддержке грантом Президента РФ государственной поддержки ведущих научных школ РФ № НШ-703.2014.2, грантом FiDiPro TEKES № 40111/11 (Финляндия), а также в рамках проведения части работ по Госконтракту № 14.512.11.0022.

1. Brandt N.N., Chikishev A.Yu., Kargovsky A.V., Nazarov M.M., Parashchuk O.D., Sapozhnikov D.A., Smirnova I.N., Shkurinov A.P., Sumbatyan N.V. *Vibrational Spectros.*, **47**, 53 (2008).
2. Бецкий О.В., Креницкий А.П., Майбородин А.В. *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника*, **12**, 6 (2003).
3. Чекрыгин В.Э. *Изв. ЮФУ. Техн. науки*, **7**, 102 (2009).
4. Pedersen J., Keiding S. *IEEE J. Quantum Electron.*, **28**, 2518 (1992).
5. Jung E., Choi H.J., Lim M., Kang H., Park H., Han H., Min B., Kim S., Park I., Lim H. *Biomed. Opt. Express*, **3**, 1115 (2012).
6. Lofer T., Bauer T. *Opt. Express*, **9**, 616 (2001).
7. Mittleman D.M., Gupta M., Neelamani R. *Appl. Phys. B*, **68**, 1085 (1999).
8. Hassan Arbab M., Dickey T.C., Winebrenner D.P., Chen A., Klein M.B., Mourad P.D. *Biomed. Opt. Express*, **2** (8), 2339 (2011).
9. Møller U., Cooke D.G., Tanaka K., Jepsen P.U. *J. Opt. Soc. Am. B*, **26** (9), A113 (2009).
10. Kind J., Schmuttenmaer C. *J. Phys. Chem.*, **100**, 10373 (1996).
11. Globus T.R., Woolard D.L., Smuels A.C. *J. Appl. Phys.*, **91** (9), 6105 (2002).
12. Fujioka N., Morimoto Y., Arai T., Takeuchi K., Yoshioka M., Kikuchi M. *Spectrosc. Int. J.*, **18**, 59 (2004).
13. Nazarov M., Shkurinov A., Tuchin V., Zhang X.-C., in *Handbook of Photonics for Biomedical Science* (Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010, p. 591).
14. Eadie L.H., Reid C.B., Fitzgerald A.J., Wallace V.P. *Expert Syst. Appl.*, **40**, 2043 (2013).
15. Reid C.B., Fitzgerald A., Reese G., Goldin R., Tekkis P., O'Kelly P.S., Pickwell-MacPherson E., Gibson A.P., Wallace V.P. *Phys. Med. Biol.*, **56**, 4333 (2011).
16. Löffler T., Siebert K., Czasch S., Bauer T., Roskos H.G. *Phys. Med. Biol.*, **47**, 3847 (2002).
17. Nakajima S., Hoshina H., Yamashita M., Otani C., Miyoshi N. *Appl. Phys. Lett.*, **90**, 41102 (2007).
18. Titova L.V., Ayesheshim A.K., Golubov A., Fogen D., Rodriguez-Juarez R., Hegmann F.A., Kovalchuk O. *Biomed. Opt. Express*, **4** (4), 559 (2013).
19. Kristensen T.T.L., Withayachumnankul W., Jepsen P.U., Abbott D. *Opt. Express*, **18** (5), 4727 (2010).
20. Ангелуц А.А., Гапеев А.Б., Есаулкин М.Н., Косарева О.Г., Матюнин С.Н., Назаров М.М., Пашовкин Т.Н., Солянкин П.М., Черкасова О.П., Шкуринов А.П. *Квантовая электроника*, **44** (3), 247 (2014).
21. Pickwell-MacPherson E., Huang S., Kan K.W.C., Sun Y., Zhang Y.T. *J. Innovation Opt. Health Sci.*, **1** (1), 29 (2008).
22. Woodward R.M., Wallace V.P., Arnone D.D., Linfield E.H., Pepper M. *J. Biol. Phys.*, **29** (2/3), 257 (2003).
23. Pickwell E., Fitzgerald A.J., Cole B.E., Taday P.F., Pye R.J., Ha T., Pepper M., Wallace V.P. *J. Biomed. Opt.*, **10**, 64021 (2005).
24. Wallace V.P., Fitzgerald A.J., Pickwell E., Pye R.J., Taday P.F., Flanagan N., Ha T. *Appl. Spectrosc.*, **60**, 1127 (2006).
25. Jung E.A., Lim M., Moon K., Do Y., Lee S., Han H., Choi H., Cho K., Kim K. *J. Opt. Soc. Korea*, **15**, 155 (2011).
26. Joseph C.S., Yaroslavsky A.N., Neel V.A., Goyette T.M., Giles R.H. *Laser Surg. Med.*, **43**, 457 (2011).
27. Chen H., Lee W. J., Huang H.Y., Chiu C.M., Tsai Y.F., Tseng T.F., Lu J.T., Lai W.L., Sun C.K. *Opt. Express*, **19**, 19523 (2011).
28. Chen H., Ma S., Yan W., Wu X., Wang X. *Chin. Phys. Lett.*, **30**, 30702 (2013).
29. Oh S.J., Choi J., Maeng I., Park J.Y., Lee K., Huh Y.-M., Suh J.-S., Haam S., Son J.-H. *Opt. Express*, **19** (5), 4009 (2011).

30. Oh S.J., Huh Y.-M., Suh J.-S., Choi J., Haam S., Son J.-H. *J. Infrared, Millimeter Terahertz Waves*, **33**, 74 (2012).
31. Fitzgerald A.J., Wallace V.P., Jimenez-Linan M., Bobrow L., Pye R.J., Purushotham A., Amone D.D. *Radiology*, **239** (2), 533 (2006).
32. Zhang C.H., Zhao G.F., Jin B.B., Hou Y.Y., Jia H.H., Chen J., Wu P.H. *Terahertz Sci. Technol.*, **5** (3), 114 (2012).
33. Kaatz U. *Phys. Med. Biol.*, **35** (12), 1663 (1990).
34. Xu J., Plaxco K.W., Allen S.J. *J. Phys. Chem. B*, **110**, 24255 (2006). DOI: 10.1002/9780470027318.a9162.
35. Лобышев В.И., Соловей А.Б. *Биофизика*, **56** (5), 848 (2011).
36. Mickan S.P., Dordick J., Munch J., Abbott D., Zhang X.-C. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4937**, 49 (2002).
37. Xu J., Plaxco K.W., Allen S.J. *Protein Sci.*, **15**, 1175 (2006).
38. Gilard V., Martino R., Malet-Martino M., Riviere M., Gournay A., Navarro R. *Intern. J. Cosmetic Sci.*, **20**, 117 (1998).
39. Schulz B., Chan D., BaËckstroËm J., RuËbhausen M. *Thin Solid Films*, **455–456**, 731 (2004).
40. Ashworth P.C., Pickwell-MacPherson E., Provenzano E., Pinder S.E., Purushotham A. D., Pepper M., Wallace V.P. *Opt. Express*, **17** (15), 12444 (2009).
41. Wahaia F., Valusis G., Bernardo L.M., Almeida A., Moreira J.A., Lopes P.C., Macutkevic J., Kasalynas I., Seliuta D., Adomavicius R., Henrique R., Lopes M. *J. Mol. Struct.*, **1006**, 77 (2011).
42. Ross K.F., Gordon R.E. *J. Microscopy*, **128**, 7 (1982).
43. DOI: 10.1002/jbio.201200111.
44. Png G.M., Choi J.W., Ng B.W.-H., Mickan S.P., Abbott D., Zhang X.-C. *Phys. Med. Biol.*, **53**, 3501 (2008).
45. Yu T., Wen X., Tuchin V.V., Luo Q., Zhu D. *J. Biomed. Opt.*, **16**, 095002 (2011).
46. Oh S.J., Kang J., Maeng I., Suh J.-S., Huh Y.-M., Haam S., Son J.-H. *Opt. Express*, **17** (5), 3469 (2009).
47. Chung S.H., Cerussi A.E., Klifa C., Baek H.M., Birgul O., Gulsen G., Merritt S.I., Hsiang D., Tromberg B.J. *Phys. Med. Biol.*, **53**, 6713 (2008).
48. Sy S., Huang S., Wang Y., Yu J., Ahuja A. T., Zhang Y.T., Pickwell-MacPherson E. *Phys. Med. Biol.*, **55**, 7587 (2010).
49. Тучин В.В. *Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике* (М.: Физматлит, 2013).
50. Oliveira L.M., Carvalho M.I., Nogueira E.M., Tuchin V.V. *Laser Phys.*, **23**, 075606 (2013).
51. Назаров М.М., Шкуринов А.П., Кулешов Е.А., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **38** (7), 647 (2008).
52. Колесникова К.Н., Галкина Е.М., Каракаева А.В., Утц С.Р., Колесникова Е.А., Тучин В.В. В сб. *Проблемы оптической физики и биофотоники (SFM-2013), Материалы 17-й Международной молодежной научной школы по оптике, лазерной физике и биофотонике* (Саратов: «Новый ветер», 2013, с. 74).
53. Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V., in *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues* (Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2009, pp 587–621).
54. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. *Expert Rev. Med. Devices*, **7** (6), 825 (2010).
55. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Тучин В.В., Гхосн М.Г., Ларин К.В., Каменских Т.Г. *Квантовая электроника*, **41** (5), 407 (2011).
56. Zhu D., Larin K.V., Luo Q., Tuchin V.V. *Laser Photon. Rev.*, **7** (5), 732 (2013).
57. Григорьев И.С., Мейлихов Е.З. *Физические величины. Справочник* (М.: Энергоатомиздат, 1991).
58. Кикоин И.К. *Таблицы физических величин. Справочник* (М.: Атомиздат, 1976).