



## БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

УДК 535.8:535.36:57.085.2:57.013:53.06:76.03.29

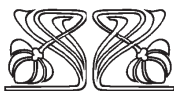
### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА ДИФфуЗИИ ГЛЮКОЗЫ В ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКЕ ЧЕЛОВЕКА

А. Н. Башкатов, Э. А. Генина, В. В. Тучин

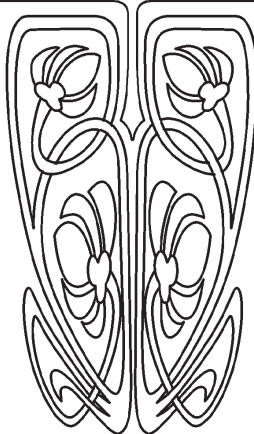
Башкатов Алексей Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры оптики и биофотоники, заведующий лабораторией биомедицинской оптики Научно-образовательного института оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; ведущий научный сотрудник междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет, a.n.bashkatov@mail.ru

Генина Элина Алексеевна, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры оптики и биофотоники, старший научный сотрудник лаборатории биомедицинской оптики Научно-образовательного института оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; ведущий научный сотрудник междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет, eagenina@yandex.ru

Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой оптики и биофотоники, директор Научно-образовательного института оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; научный руководитель междисциплинарной лаборатории биофотоники, Томский национальный исследовательский государственный университет; заведующий лабораторией лазерной диагностики технических и живых систем, Институт проблем точной механики и управления РАН (Саратов), tuchinv@mail.ru



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



**Объект и цель исследования.** Оптическое просветление твердой мозговой оболочки за счет применения гиперосмотических иммерсионных жидкостей важно для развития неинвазивных методов оптической томографии мозга и при исследовании микроциркуляции и гомеостаза тканевых жидкостей. Оно позволяет значительно увеличить пространственное разрешение и глубину зондирования тканей. Очевидно, что количественное описание процессов оптического просветления требует разработки надежных физико-математических моделей, которые, в свою очередь, требуют знания параметров скорости диффузии иммерсионных агентов в биотканях. И хотя диффузия многих биологически совместимых веществ, в частности глюкозы, в водных растворах достаточно хорошо описана, их диффузия в биотканях продолжает оставаться малоизученной областью исследований. Таким образом, целью данной работы является измерение относительного коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке человека.

**Материалы и методы.** Исследования были выполнены *in vitro* на 10 образцах твердой мозговой оболочки человека. Метод оценки относительного коэффициента диффузии иммерсионных жидкостей в биоткани основан на анализе кинетики изменения коллимированного пропускания образца биоткани под действием данных жидкостей. Кинетика замещения внутритканевой жидкости регистрировалась путем последовательной записи спектров коллимированного пропускания в диапазоне 400–700 нм на спектрометре USB4000-Vis-NIR (Ocean Optics, США). Для количественного описания процесса замещения предложена модель, предполагающая постоянство коэффициента диффузии во всем объеме образца биоткани. В работе представлены результаты экспериментов, выполненных для 40%-ного раствора глюкозы. Определение коэффициента диффузии глю-



kozy выполнено путем аппроксимации экспериментальных данных в рамках предложенной модели. **Результаты.** Было получено, что значение коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке равно  $6.08 \times 10^{-6} \pm 2.26 \times 10^{-8}$  см<sup>2</sup>/с. Коэффициент проницаемости твердой мозговой оболочки для глюкозы, рассчитанный с использованием 1-го закона Фика, равен  $(1.3 \pm 0.13) \times 10^{-4}$  см/с. Полученные результаты могут быть использованы как при разработке новых и оптимизации существующих неинвазивных методов оптической томографии, так и для развития методов лазерной терапии различных заболеваний мозга.

**Ключевые слова:** коэффициент диффузии, твердая мозговая оболочка, глюкоза, управление оптическими параметрами биотканей.

DOI: 10.18500/1817-3020-2018-18-1-32-45

### Введение

Развитие оптики биотканей стимулирует постоянное совершенствование как методов неинвазивной оптической визуализации неоднородностей, скрытых в толще биоткани, так и методов лазерной терапии и хирургии. Интерес к использованию оптических методов для диагностики и лечения различных заболеваний возрастает в связи с их относительной простотой, достаточно низкой себестоимостью и безопасностью для пациента. В то же время серьезной проблемой современной лазерной медицины продолжает оставаться транспорт зондирующего излучения через поверхностные слои биоткани. В частности, при диагностике заболеваний мозга оптическими методами значительное рассеяние излучения видимого и ближнего инфракрасного спектрального диапазона кожей, костями черепа и твердой мозговой оболочкой ограничивает пространственное разрешение и глубину зондирования тканей мозга [1–19].

Хорошо известно, что основной причиной рассеяния оптического излучения в клеточных структурах и биотканях является различие показателей преломления между структурными компонентами ткани (в частности, коллагеновыми и эластиновыми волокнами) и внутритканевой средой, а также между клеточными органеллами и цитоплазмой клеток [20, 21]. Как показано в работах [1–19, 22–30], рассеивающими свойствами соединительных тканей можно достаточно эффективно управлять путем воздействия на ткань с помощью гиперосмотических иммерсионных агентов, которые вызывают диффузию воды из внутритканевого пространства и частично замещают собой внутритканевую жидкость. Введение в биоткань иммерсионного агента, обладающего более высоким показателем преломления, чем у внутритканевой жидкости, согласует показатели преломления рассеивателей и внутритканевой

среды, что значительно снижает рассеяние света в биоткани. Такое управление важно как для выяснения фундаментальных закономерностей метаболизма биотканей, так и при реализации методов оптической и лазерной диагностики, терапии и хирургии. В частности, снижение светорассеяния в твердой мозговой оболочке за счет применения гиперосмотических иммерсионных жидкостей важно для развития неинвазивных методов оптической томографии мозга и при индикации гомеостаза тканевых жидкостей.

Необходимо отметить, что применение иммерсионных жидкостей может вызывать как дегидратацию, так и набухание биотканей, в зависимости от pH используемых растворов [2–6, 15, 31, 32]. Хорошо известно, что изменение pH среды в более кислую или щелочную сторону от изоэлектрической точки коллагена (pH = 7.4) [31, 32] увеличивает степень его набухания. Это объясняется появлением положительного или отрицательного заряда у высокомолекулярных коллагеновых волокон и, следовательно, повышением степени их гидратации. Увеличение гидратации, в свою очередь, разделяет волокна, в пространство между ними проникает иммерсионный раствор, что и приводит к увеличению объема биоткани.

Знание коэффициентов диффузии необходимо для построения математических моделей, адекватно описывающих процессы взаимодействия иммерсионных жидкостей с биотканями. И хотя диффузия многих биологически совместимых жидкостей в водных растворах достаточно хорошо описана, их диффузия в биотканях продолжает оставаться малоизученной областью исследований.

В настоящее время в качестве иммерсионных агентов используются различные биологически совместимые гиперосмотические жидкости, такие как растворы глицерина, пропиленгликоля, полиэтиленгликоля, рентгеноконтрастные вещества (Тразограф<sup>TM</sup>, Верографин<sup>TM</sup>, Омнипак<sup>TM</sup>), диметилсульфоксид и другие [1–18]. Оптическое просветление кожи исследовалось в работах [1–6, 8, 11, 22]. Влияние иммерсионных жидкостей на оптические характеристики костей черепа было показано в работах [12–14]. Оптическое просветление твердой мозговой оболочки под действием водных растворов глицерина, маннитола и глюкозы относительно малой концентрации ранее было исследовано в работах [7, 9, 15–18]. Однако поскольку при оптическом просветлении эффективность данного процесса, т.е. степень снижения светорассеяния, определяется в первую очередь



значением показателя преломления иммерсирующей жидкости по отношению к значению показателя преломления рассеивающих частиц биоткани, возникает необходимость использования иммерсионных жидкостей с максимально возможным значением показателя преломления. При этом для их клинического применения необходимо учитывать как их биосовместимость, так и скорость диффузии в биотканях. Один из возможных кандидатов на роль такого агента водный 40%-ный раствор глюкозы, который разрешен к клиническому применению [33], имеет достаточно высокий показатель преломления и, как показали исследования на других биотканях [1–6], достаточно быстро диффундирует в биоткань.

В настоящей работе выполнена оценка как относительного коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке человека на основе *in vitro* экспериментальных исследований изменения оптических свойств при воздействии на биоткань водного 40%-ного раствора глюкозы, так и коэффициента проницаемости твердой мозговой оболочки для исследуемого раствора глюкозы.

### Материалы и методы

Образцы твердой мозговой оболочки человека были получены методом аутопсии не позднее 24 часов *post mortem* и хранились в течение суток при температуре  $-12^{\circ}\text{C}$ . Перед проведением измерений твердая мозговая оболочка размораживалась, и из нее вырезались образцы размером  $10 \times 15$  мм. Непосредственно перед проведением экспериментальных исследований и после них у образцов измерялась толщина. Для исследования кинетики изменения коллимированного пропускания твердой мозговой оболочки в процессе ее просветления под действием иммерсионной жидкости использовались десять образцов биоткани, толщина которых варьировала в диапазоне от 0.5 до 0.9 мм (измерения толщины образцов производились с помощью микрометра; точность измерений  $\pm 10$  мкм).

Измерение спектров коллимированного пропускания образцов биотканей проводилось с помощью многоканального спектрометра USB4000-Vis-NIR (Ocean Optics, США). Образец ткани закреплялся на пластиковой пластине площадью  $3.5 \times 1.5$  см<sup>2</sup> с отверстием в центре площадью  $8 \times 8$  мм<sup>2</sup> и помещался в стеклянную кювету объемом 5 мл с раствором глюкозы. Кювета устанавливалась между двумя оптическими волокнами QP400-1-VIS-NIR (Ocean Optics,

США) с внутренним диаметром 400 мкм. Для обеспечения коллимированности пучка на торцах волокон с помощью стандартных разъемов SMA-905 закреплялись коллиматоры 74-ACR (Ocean Optics, США). В качестве источника излучения использовалась галогенная лампа HL-2000 (Ocean Optics, США). Спектры коллимированного пропускания регистрировались в области 400–700 нм каждые 1–2 мин в течение 20–25 мин с момента помещения образца твердой мозговой оболочки в раствор глюкозы. Ошибка измерений не превышала 5% от измеряемой величины в диапазоне длин волн выше 500 нм и 10% в более коротковолновой области спектра. До и после окончания спектральных измерений измерялись толщина и вес образцов. Все измерения проводились при комнатной температуре  $\sim 20^{\circ}\text{C}$ .

В качестве иммерсионного агента использовался водный 40%-ный раствор глюкозы для инъекций (ОАО «Дальхимфарм», Россия); pH раствора 3.5. Показатель преломления раствора 1.391. Измерение показателя преломления раствора было выполнено на рефрактометре Аббе ИРФ-454Б2М (ЛОМО, Россия) на длине волны 589 нм. Измерения pH раствора проводились на pH-метре «Hanna» (Германия).

Для исследования кинетики набухания образцов твердой мозговой оболочки под действием раствора глюкозы выполнялись весовые измерения пяти образцов ткани с помощью электронных весов SA210 (Scientech, США) с точностью  $\pm 1$  мг. Для этого образцы твердой мозговой оболочки помещались в кювету с 40%-ным раствором глюкозы, а затем с интервалом в 1 мин вынимались из раствора и взвешивались в течение 30 мин.

Временная зависимость степени набухания биоткани  $H(t)$  аппроксимировалась феноменологическим выражением [15, 34]:

$$H(t) = \frac{M(t) - M(t=0)}{M(t=0)} = A_w (1 - \exp(-t/\tau_{sw})), \quad (1)$$

где  $M(t)$  – масса образца биоткани в различные моменты времени;  $A_w$  и  $\tau_{sw}$  – феноменологические константы, описывающие процесс изменения массы образца под действием раствора глюкозы. Тогда изменение объема биоткани можно записать в следующем виде:

$$V(t) = V(t=0) + H(t)M(t=0)/\rho_{gl} = \\ = V(t=0) + \frac{M(t=0)}{\rho_{gl}} A_w (1 - \exp(-t/\tau_{sw})), \quad (2)$$



где  $\rho_{gl} = 1.157$  г/мл – плотность раствора глюкозы [35]. Уравнение (2) можно переписать в более простой форме:

$$V(t) = V(t=0) + A(1 - \exp(-t/\tau_{sw})), \quad (3)$$

где  $A = \frac{M(t=0)}{\rho_{gl}} A_w$ . Поскольку изменение объема образца твердой мозговой оболочки происходит в основном за счет изменения его толщины  $l(t)$ , то оно может быть выражено следующим образом:

$$l(t) = l(t=0) + A^*(1 - \exp(-t/\tau_{sw})), \quad (4)$$

где  $A^* = A/S$ , а  $S$  – площадь образца, см<sup>2</sup>.

Толщина образца  $l$  вычислялась в каждый момент времени с помощью уравнения (4). Для оценки констант  $A^*$  и  $\tau_{sw}$  использовались весовые измерения образцов твердой мозговой оболочки.

Рассеивающие свойства твердой мозговой оболочки определяются ее структурой и отношением показателей преломления рассеивающих свет неоднородностей (коллагеновых волокон) и внутриклеточной жидкости твердой мозговой оболочки, заполняющей межфибрилярное пространство.

При исследовании взаимодействия водного раствора глюкозы с образцами твердой мозговой оболочки предполагалось, что в результате этого взаимодействия изменяется только показатель преломления внутриклеточной жидкости твердой мозговой оболочки, вследствие диффузии в биоткань иммерсионной жидкости и осмотического оттока воды из биоткани. При диффузии внутрь биоткани вещества с показателем преломления бóльшим, чем у внутриклеточной жидкости, и оттока воды из биоткани происходит согласование показателей преломления рассеивателей и внутриклеточной жидкости, что приводит к уменьшению коэффициента рассеяния биоткани. Исследование кинетики данного процесса позволяет оценить коэффициент диффузии как меру средней скорости обменного потока гиперосмотической жидкости в биоткань и воды из биоткани [34].

В данном случае коэффициент диффузии характеризует среднюю скорость обменного потока просветляющего агента (молекул глюкозы) в биоткань и воды из биоткани, т.е. относительный коэффициент диффузии. Поскольку с большой степенью достоверности соединительные ткани (и в особенности внутриклеточный матрикс

этих тканей) могут быть представлены как полиэлектролитные гели [32, 36–38], то в силу этого описание процесса диффузии может быть выполнено с привлечением хорошо развитого аппарата физической и коллоидной химии [39, 40]. Согласно данному подходу подвижность молекул в бинарных системах характеризуется парциальными коэффициентами самодиффузии молекул растворителя (в нашем случае воды) и молекул растворенного вещества (глюкозы). При этом потоки молекул растворителя и растворенного вещества взаимодействуют друг с другом, и соответствующие коэффициенты диффузии называются связанными друг с другом коэффициентами взаимодиффузии [39, 40]. К сожалению, в настоящее время не существует надежных методов отдельного измерения этих коэффициентов или они могут быть измерены только в отдельных частных случаях. Тогда при анализе диффузии высококонцентрированных веществ в биотканях можно говорить лишь об относительном коэффициенте диффузии, характеризующем среднюю скорость обменного потока просветляющего агента в биоткань и воды из биоткани.

Процесс транспорта глюкозы в твердую мозговую оболочку описывался в рамках модели свободной диффузии. Были сделаны следующие допущения относительно процесса переноса: 1) имеет место только концентрационный диффузия, т.е. обменный поток глюкозы в биоткань и воды из ткани в данной точке пропорционален градиенту концентрации глюкозы в этой точке; 2) коэффициент диффузии постоянен во всех точках внутри исследуемого образца биоткани.

Геометрически образец твердой мозговой оболочки представлен плоско-параллельной пластиной конечной толщины. Так как площадь верхней и нижней поверхностей данной пластины намного превышает площадь ее боковых сторон, то можно пренебречь краевыми эффектами и решать одномерную задачу диффузии, т.е. уравнение

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2},$$

где  $C(x,t)$  – концентрация глюкозы в твердой мозговой оболочке, г/мл;  $D$  – коэффициент диффузии, см<sup>2</sup>/с;  $t$  – время, в течение которого происходит процесс диффузии, с;  $x$  – пространственная координата по толщине образца биоткани, см. Поскольку в экспериментах объем раствора глюкозы ( $\approx 3000$  мм<sup>3</sup>) значительно превышал объем



образца твердой мозговой оболочки ( $\approx 100 \text{ мм}^3$ ), то соответствующие граничные условия имеют вид:  $C(0, t) = C(l, t) = C_0$ , где  $C_0$  – концентрация глюкозы в растворе;  $l$  – толщина образца биоткани, см. Начальные условия отражают факт отсутствия глюкозы во всех внутренних точках образца твердой мозговой оболочки до его инкубации в раствор, т.е.  $C(x, 0) = 0$ .

Решение уравнения диффузии позволяет оценить среднюю концентрацию раствора глюкозы внутри образца в каждый момент времени [34]:

$$C(t) = C_0 \left( 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{i=0}^{\infty} \frac{1}{(2i+1)^2} \exp\left(- (2i+1)^2 t \pi^2 D / l^2\right) \right) \quad (5)$$

или в первом приближении

$$C(t) = C_0 \left( 1 - \exp\left(- t \pi^2 D / l^2\right) \right). \quad (6)$$

Использование уравнения (6) позволяет, воспользовавшись соотношением  $n_{gl} = n_{\text{H}_2\text{O}} + 0.1515 \cdot C_{gl}$  [41], для водных растворов глюкозы, где  $n_{gl}$  – показатель преломления раствора глюкозы,  $n_{\text{H}_2\text{O}}$  – показатель преломления воды и  $C_{gl}$  – концентрация глюкозы в растворе, г/мл, оценить временную зависимость изменения показателя преломления внутритканевой жидкости:  $n_t(t) = n_{t0} + 0.1515 C(t) / (1 - \varphi)$ , где  $n_t(t)$  – показатель преломления внутритканевой жидкости раствором глюкозы;  $n_{t0}$  – показатель преломления внутритканевой жидкости в начальный момент времени и  $\varphi$  – объемная доля рассеивателей в биоткани для твердой мозговой оболочки  $\varphi = 0.3$  [15].

Изменение  $n_t$  приводит к уменьшению коэффициента рассеяния твердой мозговой оболочки  $\mu_s$ , который для системы рассеивателей в виде бесконечных цилиндров имеет вид [34, 42–44]:

$$\mu_s(t) = \frac{\varphi}{\pi a^2} \sigma_s(t) \frac{(1 - \varphi)^3}{1 + \varphi}, \quad (7)$$

где  $\sigma_s$  – сечение рассеяния, которое в приближении Рэлея–Ганса для системы бесконечных цилиндров [43, 44] описывается выражением:

$$\sigma_s(t) = \frac{\pi^2 a x(t)^3}{8} \left( m(t)^2 - 1 \right)^2 \left( 1 + \frac{2}{\left( m(t)^2 + 1 \right)^2} \right), \quad (8)$$

где  $x(t) = 2\pi a n_t(t) / \lambda$  – параметр дифракции,  $m(t) = n_c / n_t(t)$  – относительный показатель преломления рассеивателей,  $n_c$  – показатель преломления коллагеновых волокон твердой мозговой оболочки и  $a \approx 50 \text{ нм}$  [15] – средний радиус цилиндров (рассеивателей).

Очевидно, что набухание образцов биоткани будет приводить к изменению объемной доли рассеивателей и соответственно фактора упаковки и числа рассеивателей в единице объема (см. уравнение (7)). С учетом уравнения (3) кинетика изменения объемной доли рассеивателей будет описываться выражением [15]

$$\varphi(t) = \frac{\varphi(t=0) \times V(t=0)}{V(t=0) + A(1 - \exp(-t/\tau_{sw}))}. \quad (9)$$

Зависимость коэффициента коллиммированного пропускания образца твердой мозговой оболочки, помещенного в раствор глюкозы, от времени имеет вид

$$T_c(t) \approx \exp\left(-(\mu_a + \mu_s(t))l(t)\right), \quad (10)$$

где  $\mu_a$  – коэффициент поглощения образца твердой мозговой оболочки. При расчетах использовались значения коэффициентов поглощения, измеренные в работе [16].

Уравнения (4)–(10) определяют зависимость коэффициента коллиммированного пропускания от концентрации раствора глюкозы внутри образца твердой мозговой оболочки, т.е. формируют прямую задачу. Обратной задачей в данном случае является восстановление значения относительного коэффициента диффузии по кинетике коллиммированного пропускания. Эта задача была решена путем минимизации целевой функции:

$$f(D) = \sum_{i=1}^{N_t} \left( T_c(D, t_i) - T_c^*(t_i) \right)^2, \quad (11)$$

где  $N_t$  – общее количество экспериментальных точек, полученное при регистрации кинетики коллиммированного пропускания на фиксированной длине волны;  $T_c(D, t)$  – значение коэффициента пропускания, рассчитанное по формуле (10) в момент времени  $t$  при заданном значении  $D$ ;  $T_c^*(t)$  – экспериментально измеренное значение коэффициента пропускания в момент времени  $t$ .

Для минимизации целевой функции (11) использовался симплекс-метод, подробно описанный в работе [45]. Итерационная процедура повторялась до согласования между собой экспериментальных и расчетных данных. В качестве критерия завершения итерационного процесса использовалось условие

$$\frac{1}{N_t} \sum_{i=1}^{N_t} \left| \frac{T_c(D, t_i) - T_c^*(t_i)}{T_c^*(t_i)} \right| \leq 0.01.$$

Коэффициент проницаемости является одной из важнейших характеристик, который наряду с коэффициентом диффузии используется для



анализа транспорта лекарственных препаратов через биологические мембраны (в данном случае твердую мозговую оболочку). Значение коэффициента проницаемости определяется выражением  $P = D/l$ , где  $P$  – коэффициент проницаемости мембраны, см/с [46].

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлена кинетика степени набухания образцов твердой мозговой оболочки (экспериментальные данные усреднялись по всем образцам), помещенных в 40%-ный раствор глюкозы. Из рис. 1 видно, что экспе-

риментальные данные достаточно хорошо аппроксимируются уравнением (1). Параметры аппроксимации были найдены с помощью метода наименьших квадратов [45]:  $A_w = 0.581 \pm 0.003$  и  $\tau_{sw} = 1.964 \pm 0.106$  мин. Данные параметры позволяют оценить значение параметра  $A^*$  как  $0.024 \pm 1.35 \times 10^{-4}$  см и использовать уравнение (4) для определения толщины исследуемых образцов в каждый момент времени в процессе взаимодействия твердой мозговой оболочки с раствором глюкозы и параметра  $A$  как  $0.036 \pm 2.03 \times 10^{-4}$  см<sup>3</sup> для оценки изменения объемной доли рассеивателей (см. уравнение (10)).

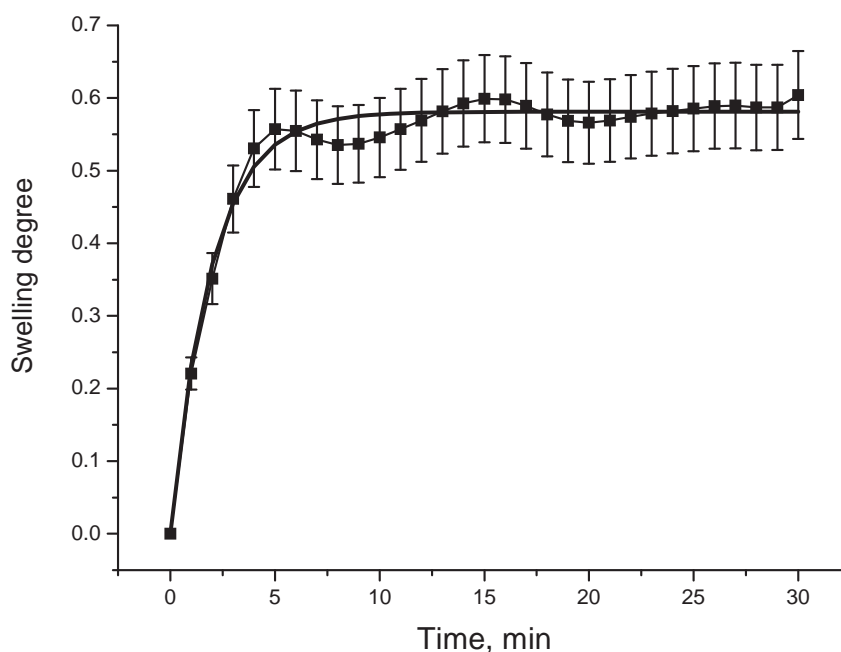


Рис. 1. Кинетика набухания твердой мозговой оболочки под действием 40%-ного раствора глюкозы. Точки соответствуют экспериментальным данным, сплошная линия – аппроксимации согласно уравнению (1)

Fig. 1. Dura mater swelling kinetics under action of 40%-glucose solution. The symbols correspond to the experimental data; the solid line corresponds to the approximation by Eq. (1)

Хорошо видно, что набухание ткани происходит в основном в течение первых пяти минут, а потом процесс стабилизируется и степень набухания практически не изменяется, хотя и наблюдаются незначительные осцилляции. Для объяснения набухания твердой мозговой оболочки может быть использована модель полиэлектролитного геля [32, 36–38]. Если рН ткани соответствует изоэлектрической точке, то силы притяжения, возникающие между одинаковым количеством положительных и отрицательных зарядов (цвиттер-ионами парами) [47], удерживают ткань в наиболее плотном состоянии, степень набухания

в данном случае минимальна [32]. Так, например, ранее было показано, что коллаген роговицы обладает максимальной степенью набухания при рН = 4, а минимальной – при рН = 7 [48]. Близкие результаты были получены для невысушенной роговицы вола [31]. Известно, что рН внутритканевой жидкости в среднем равен ~7.4 [37] и, таким образом, при смещении значения рН от изоэлектрической точки гидратация ткани увеличивается за счёт уменьшения количества пар цвиттер-ионов и соответственно увеличения результирующего статического заряда. Выше изоэлектрической точки результирующий заряд является отрица-



тельным, ниже – положительным и может влиять на набухание ткани двумя способами. Во-первых, для поддержания электрической нейтральности в строме статический заряд будет притягивать большее количество противоположных ионов, что приведёт к накоплению во внутритканевом пространстве мелких ионов. Это вызовет избыточное внутреннее осмотическое давление и увеличит набухание. Во-вторых, уменьшение числа пар цвиттер-ионов приведёт к уменьшению силы притяжения и тем самым ослабит плотность упаковки фибрилл, что тоже вызовет увеличение набухания [48].

Кроме того, известно, что глюкоза обладает достаточно большой гигроскопичностью, каждая молекула глюкозы может связывать до 10 молекул воды [49].

Таким образом, увеличение веса образцов твердой мозговой оболочки может быть связано с замещением в ткани молекул воды молекулами глюкозы, за счёт, во-первых, большей молекулярной массы молекул глюкозы, а во-вторых, допол-

нительной гидратации ткани при снижении рН внутритканевой жидкости и, наконец, в-третьих, связывания молекул воды молекулами глюкозы внутри ткани.

На рис. 2, 3 представлены типичные спектры и кинетика коллимированного пропускания на отдельных длинах волн, характеризующие изменение оптических свойств образца твердой мозговой оболочки под действием водного 40%-ного раствора глюкозы. Из рис. 2 видно, что в начальный момент времени образец твердой мозговой оболочки представляет собой малопрозрачную для оптического излучения биоткань. Под действием раствора глюкозы происходит замещение внутритканевой жидкости на раствор глюкозы и, как следствие, уменьшение светорассеяния и увеличение коллимированного пропускания. Из представленного рис. 2 видно, что оптическое просветление образца твердой мозговой оболочки происходит во всем видимом диапазоне длин волн с преобладанием просветления в красной области спектра.

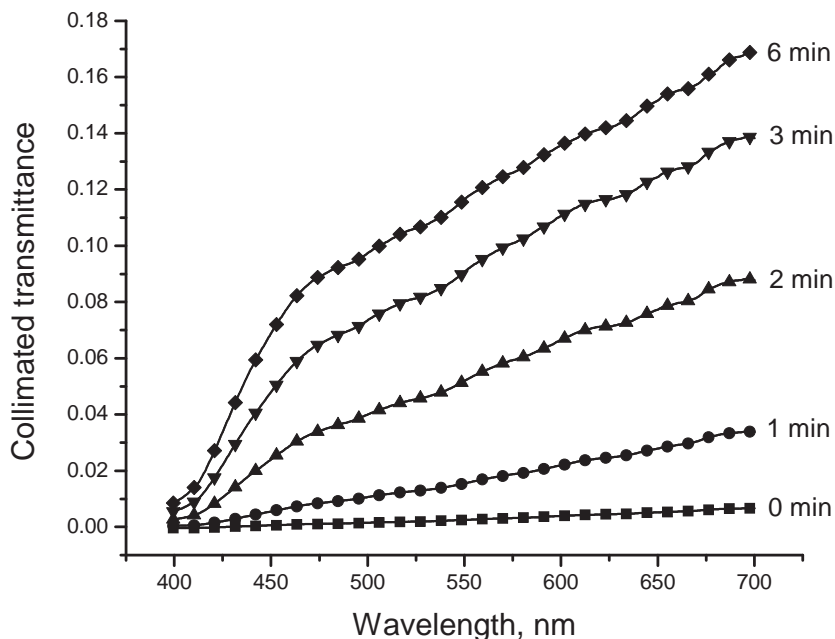


Рис. 2. Спектры коллимированного пропускания образца твердой мозговой оболочки человека, измеренные в разные моменты времени, под действием водного раствора глюкозы. Точки соответствуют экспериментальным данным

Fig. 2. Spectra of collimated transmittance of dura mater sample measured in different time intervals under action of aqueous glucose solution. The symbols correspond to the experimental data

На рис. 3 видно хорошее согласование между экспериментальными данными (точки) и аппроксимирующими кривыми (сплошные

линии), рассчитанными в рамках предложенной модели. Незначительные расхождения между экспериментальными и теоретическими данны-

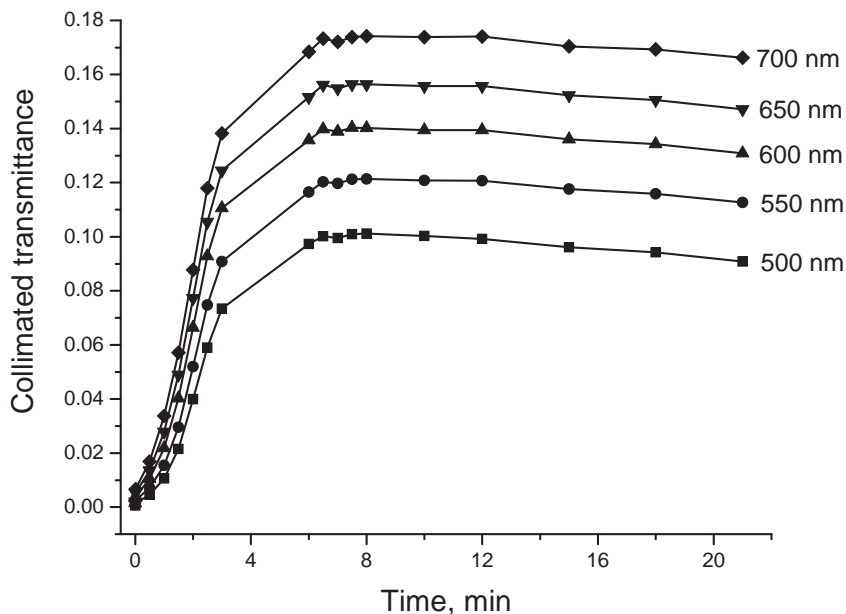


Рис. 3. Кинетика изменения коллимированного пропускания образца твердой мозговой оболочки человека, измеренная на разных длинах волн, под действием водного раствора глюкозы. Точки соответствуют экспериментальным данным, сплошные линии представляют аппроксимацию экспериментальных данных в рамках предложенной модели

Fig. 3. Kinetics of the change of collimated transmittance of dura mater sample measured at different wavelengths under action of aqueous glucose solution. The symbols correspond to the experimental data; the solid lines correspond to the present approximation of the experimental data in the framework of the proposed model

ми могут частично объясняться погрешностью экспериментальных измерений и упрощенностью используемой модели, поскольку коэффициент диффузии может несколько меняться в ходе проникновения молекул глюкозы в твердую мозговую оболочку из-за неоднородности по объему исследуемых образцов биоткани.

Измеренное на основе анализа кинетики коллимированного пропускания образцов твердой мозговой оболочки с помощью представленного выше алгоритма значение относительного коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке составляет  $(6.08 \pm 0.02) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ , что позволяет оценить значение коэффициента проницаемости твердой мозговой оболочки для молекул глюкозы как  $(1.3 \pm 0.13) \times 10^{-4} \text{ см}/\text{с}$ . Полученное значение коэффициента диффузии достаточно хорошо согласуется с данными, представленными в работах [15, 18, 25, 34, 50–53]. Так, при использовании в качестве диффундирующего агента 20%-ного водного раствора глюкозы значение коэффициента диффузии составляет  $(1.63 \pm 0.29) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$  [15]. В работе [18] для 27%-ного раствора глюкозы значение

коэффициента диффузии было измерено как  $(1.1 \pm 0.1) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ ; для 54%-ного раствора глюкозы это значение составило  $(2.0 \pm 0.2) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ . Поскольку твердая мозговая оболочка является типичной соединительной тканью, то правомочно сравнение коэффициентов диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке со значениями коэффициентов диффузии глюкозы в других соединительных тканях, таких как склера глаза и дерма кожи. В работе [50] было показано, что при использовании водных растворов глюкозы с концентрациями 0.18, 0.3 и 0.4 г/мл значения коэффициентов диффузии глюкозы в склере глаза человека *in vitro* составляют соответственно  $(0.57 \pm 0.09) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ ,  $(1.47 \pm 0.36) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$  и  $(1.52 \pm 0.09) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ . Значение коэффициента диффузии глюкозы в дерме кожи человека *in vitro*, измеренное в работе [51], равно  $(2.64 \pm 0.42) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ . Коэффициент диффузии глюкозы в мышечной ткани *in vitro* (при использовании водного 40%-ного раствора глюкозы) равен  $8.36 \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$  [52]. В случае *in vivo* измерений было получено значение коэффициента диффузии глюкозы в склере глаза





кролика, равное  $(0.54 \pm 0.1) \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с [25]. Значение коэффициента диффузии глюкозы в дерме кожи человека *in vivo*, измеренное в работе [53], составляет  $(2.56 \pm 0.13) \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с.

Полученное нами значение коэффициента проницаемости твердой мозговой оболочки также хорошо согласуется со значениями коэффициентов проницаемости других тканей со сходным структурно-морфологическим строением. Так, для дермы кожи в работе [54] было получено значение коэффициента проницаемости, равное  $(1.29 \pm 1.06) \times 10^{-4}$  см/с. Значение коэффициента проницаемости стенки пищевода для молекул глюкозы составляет  $(1.74 \pm 0.04) \times 10^{-5}$  см/с [55]. Для стенки аорты –  $(2.32 \pm 0.46) \times 10^{-5}$  см/с [56]. Для тканей стенки желудка –  $(0.94 \pm 0.04) \times 10^{-5}$  см/с [57]. Наблюдаемые различия в значениях коэффициентов проницаемости разных тканей связаны с особенностями в строении и свойствах различных типов биотканей.

Представленные результаты хорошо согласуются с изначально сделанным предположением о преобладающем влиянии концентрационной диффузии, при которой скорость обменного потока молекул глюкозы в биоткань и внутритканевой жидкости из биоткани определяется градиентом концентрации. Полученное численное значение относительного коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке меньше, чем значение коэффициента диффузии глюкозы в воде, составляющее по разным данным  $6.4 \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с [58] или  $6.73 \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с [59], что объясняется сложным структурно-морфологическим строением твердой мозговой оболочки, затрудняющим диффузию.

### Заключение

В работе представлены результаты экспериментов по измерению относительного коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке человека *in vitro*. Полученное значение коэффициента диффузии составляет  $(6.08 \pm 0.02) \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с, что позволило оценить значение коэффициента проницаемости твердой мозговой оболочки для молекул глюкозы как  $(1.3 \pm 0.13) \times 10^{-4}$  см/с. Метод основан на анализе кинетики изменения коллимированного пропускания образца биоткани под действием биологически совместимых иммерсионных жидкостей. В качестве иммерсионной жидкости использовался водный 40%-ный раствор глюкозы. Для количественного описания процесса замещения предложена модель, предполагающая постоянство

коэффициента диффузии во всем объеме образца биоткани. Оценка коэффициента диффузии глюкозы выполнена путем аппроксимации экспериментальных данных в рамках предложенной модели.

Полученные результаты могут быть использованы как при разработке новых и оптимизации существующих неинвазивных методов оптической томографии мозга для визуализации неоднородностей, скрытых в толще биоткани, и индикации гомеостаза тканевых жидкостей, так и для развития методов лазерной терапии и хирургии различных заболеваний.

### Благодарности

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 12.1223.2017/ПЧ) (Башкатов А. Н., Генина Э. А.) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-02-00358 А) (Тучин В. В.).*

### Список литературы

1. Tuchin V. V. Optical clearing of tissues and blood. Bellingham, WA, USA : SPIE Press, 2005. Vol. PM 154. 254 p.
2. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Tissue optical immersion clearing // Expert Review of Medical Devices. 2010. Vol. 7, № 6. P. 825–842.
3. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Yanina I. Yu., Tuchin V. V. Optical clearing of biological tissues : prospects of application in medical diagnostics and phototherapy // J. Biomed. Photonics & Eng. 2015. Vol. 1, № 1. P. 22–58.
4. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Yanina I. Yu., Tuchin V. V. Optical clearing of tissues : benefits for biology, medical diagnostics, and phototherapy // Handbook of Optical Biomedical Diagnostics / ed. Valery V. Tuchin. 2nd ed. : in 2 vol. Vol. 2. Methods. Bellingham, WA, USA, SPIE Press, 2016. Ch. 10. P. 565–637.
5. Genina E. A., Bashkatov A. N., Larin K. V., Tuchin V. V. Light-tissue interaction at optical clearing // Laser Imaging and Manipulation in Cell Biology / ed. Francesco S. Pavone. Weinheim, Germany, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2010. Ch. 7. P. 115–164.
6. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Glucose-induced optical clearing effects in tissues and blood // Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues / ed. Valery V. Tuchin. Taylor & Francis Group LLC ; CRC Press, 2009. Ch. 21. P. 657–692.
7. Cheng H., Luo Q., Zeng S., Chen S., Luo W., Gong H. Hyperosmotic chemical agent's effect on *in vivo* cerebral blood flow revealed by laser speckle // Appl. Opt. 2004. Vol. 43, № 31. P. 5772–5777.
8. Zhu D., Larin K., Luo Q., Tuchin V. V. Recent progress in tissue optical clearing // Laser & Photonics Reviews. 2013. Vol. 7, № 5, P. 732–757.



9. Cheshire E. C., Malcomson R.D.G., Joseph S., Biggs M.J.B., Adlam D., Rutty G. N. Optical clearing of the dura mater using glycerol : a reversible process to aid the post-mortem investigation of infant head injury // *Forensic Science, Medicine, and Pathology*. 2015. Vol. 11, № 3. P. 395–404.
10. Susaki E. A., Tainaka K., Perrin D., Kishino F., Tawara T., Watanabe T. M., Yokoyama C., Onoe H., Eguchi M., Yamaguchi S., Abe T., Kiyonari H., Shimizu Y., Miyawaki A., Yokota H., Ueda H. R. Whole-brain imaging with single-cell resolution using chemical cocktails and computational analysis // *Cell*. 2014. Vol. 157. P. 726–739.
11. Wang J., Zhang Y., Li P., Luo Q., Zhu D. Review : tissue optical clearing window for blood flow monitoring // *IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics*. 2014. Vol. 20, № 2. 6801112.
12. Zhang Y., Zhang C., Zhong X., Zhu D. Quantitative evaluation of SOCS-induced optical clearing efficiency of skull // *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2015. Vol. 5, № 1. P. 136–142.
13. Генина Э. А., Башкатов А. Н., Семьячкина-Глушкова О. В., Тучин В. В. Оптическое просветление черепной кости многокомпонентными иммерсионными растворами и визуализация церебрального венозного кровотока // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика*. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 98–110.
14. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of cranial bone // *Advances in Optical Technologies*. 2008. Vol. 2008. 267867.
15. Bashkatov A. N., Genina E. A., Sinichkin Yu. P., Kochubey V. I., Lakodina N. A., Tuchin V. V. Glucose and mannitol diffusion in human *dura mater* // *Biophys. J.* 2003. Vol. 85, № 5. P. 3310–3318.
16. Генина Э. А., Башкатов А. Н., Кочубей В. И., Тучин В. В. Оптическое просветление твердой мозговой оболочки человека // *Оптика и спектроскопия*. 2005. Т. 98, № 3. С. 515–521.
17. Yao L., Cheng H., Luo Q., Zhang W., Zeng S., Tuchin V. V. Control of rabbit *dura mater* optical properties with osmotic liquids // *Proc. SPIE*. 2002. Vol. 4536. P. 147–152.
18. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of human *dura mater* by glucose solutions // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. 2017. Vol. 3, № 1. 010309.
19. Boas G. Immersion liquids increase optical penetration of brain tissue // *Biophotonics Research*. 2004. Vol. 1. P. 61–63.
20. Mourant J. R., Freyer J. P., Hielscher A. H., Eick A. A., Shen D., Johnson T. M. Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to non-invasive optical tissue diagnostics // *Appl. Opt.* 1998. Vol. 37, № 16. P. 3586–3593.
21. Tuchin V. V. *Tissue optics : Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. 3rd ed. Bellingham, WA, USA : SPIE Press, 2015. Vol. PM254. 934 p. (SPIE Tutorial Text in Optical Engineering).
22. Genina E. A., Bashkatov A. N., Korobko A. A., Zubkova E. A., Tuchin V. V., Yaroslavsky I., Altshuler G. B. Optical clearing of human skin : comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin // *J. Biomed. Opt.* 2008. Vol. 13, № 2. 021102.
23. Yu T., Qi Y., Zhu J., Gong H., Luo Q., Zhu D. Elevated-temperature-induced acceleration of PACT clearing process of mouse brain tissue // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. 38848. DOI: 10.1038/srep38848.
24. Larin K. V., Ghosn M. G., Bashkatov A. N., Genina E. A., Trunina N. A., Tuchin V. V. Optical clearing for OCT image enhancement and in-depth monitoring of molecular diffusion // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. 2012. Vol. 18, № 3. P. 1244–1259.
25. Генина Э. А., Башкатов А. Н., Синичкин Ю. П., Тучин В. В. Оптическое просветление склеры глаза *in vivo* под действием глюкозы // *Квантовая Электроника*. 2006. Т. 36, № 12. С. 1119–1124.
26. Richardson D. S., Lichtman J. W. Clarifying tissue clearing // *Cell*. 2015. Vol. 162. P. 246–257.
27. Yu T., Qi Y., Wang J., Feng W., Xu J., Zhu J., Yao Y., Gong H., Luo Q., Zhu D. Rapid and prodium iodide-compatible optical clearing method for brain tissue based on sugar/sugar-alcohol // *J. Biomed. Opt.* 2016. Vol. 21, № 8. 081203.
28. Silvestri L., Mascaro A.L.A., Lotti J., Sacconi L., Pavone F. S. Advanced optical techniques to explore brain structure and function // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. 2013. Vol. 6, № 1. 1230002.
29. d'Esposito A., Nikitichev D., Desjardins A., Walker-Samuel S., Lythgoe M. F. Quantification of light attenuation in optically cleared mouse brains // *J. Biomed. Opt.* 2015. Vol. 20, № 8. 080503.
30. Hama H., Kurokawa H., Kawano H., Ando R., Shimogori T., Noda H., Fukami K., Sakae-Sawano A., Miyawaki A. Scale : a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain // *Nature Neuroscience*. 2011. Vol. 14, № 11. P. 1481–1488.
31. Пирс А., Гейнинген Р. ван. *Биохимия глаза*. М. : Медицина, 1968. 400 с.
32. Huang Y., Meek K. M. Swelling studies on the cornea and sclera : the effects of pH and ionic strength // *Biophysical J.* 1999. Vol. 77. P. 1655–1665.
33. Розентул М. А. *Общая терапия кожных болезней*. М. : Медицина, 1970. 470 с.
34. Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Measurement of glucose diffusion coefficients in human tissues // *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues / Ed. Valery V. Tuchin*. Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009. Ch. 19. P. 587–621.
35. Alves L. A., Silva J.B.A., Giuliatti M. Solubility of D-glucose in water and ethanol/water mixtures // *J. Chem. Eng. Data*. 2007. Vol. 52, № 6. P. 2166–2170.
36. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. *Биологическая химия*. М. : Медицина, 1998. 704 с.
37. Равич-Шербо М. И., Новиков В. В. *Физическая и коллоидная химия*. М. : Высш. шк., 1975. 255 с.
38. Culav E. M., Clark C. H., Merrilees M. J. *Connective tissue : matrix composition and its relevance to physical therapy* // *Physical Therapy*. 1999. Vol. 79. P. 308–319.



39. Малкин А. Я., Чалых А. Е. Диффузия и вязкость полимеров. Методы измерения. М. : Химия, 1979. 304 с.
40. Чалых А. Е. Диффузия в полимерных системах. М. : Химия, 1987. 312 с.
41. Maier J. S., Walker S. A., Fantini S., Franceschini M. A., Gratton E. Possible correlation between blood glucose concentration and the reduced scattering coefficient of tissues in the near infrared // Opt. Lett. 1994. Vol. 19, № 24. P. 2062–2064.
42. Schmitt J.M., Kumar G. Optical scattering properties of soft tissue : a discrete particle model // Appl. Opt. 1998. Vol. 37, № 13. P. 2788–2797.
43. Борен К., Хафмен Д. Поглощение и рассеяние света малыми частицами. М. : Мир, 1986. 664 с.
44. Cox J. L., Farrell R. A., Hart R. W., Langham M. E. The transparency of the mammalian cornea // Journal of Physiology. 1970. Vol. 210, № 3. P. 601–616.
45. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P. Numerical recipes in C : the art of scientific computing. Cambridge : Cambridge University Press, 1992. 994 p.
46. Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. М. : Мир, 1980. 341 с.
47. Katchalsky A. Polyelectrolyte gels // Prog. Biophys. Chem. 1954. Vol. 4. P. 1–59.
48. Pitie A. The action of mustard gas on ox cornea collagen // Biochem. J. 1947. Vol. 41. P. 185–190.
49. Molteni C., Parrinello M. Glucose in aqueous solution by first principles molecular dynamics // Journal of the American Chemical Society. 1998. Vol. 120. P. 2168–2171.
50. Башкатов А. Н., Генина Э. А., Синичкин Ю. П., Кочубей В. И., Лакодина Н. А., Тучин В. В. Определение коэффициента диффузии глюкозы в склере глаза человека // Биофизика. 2003. Т. 48, № 2. С. 309–313.
51. Khalil E., Kretsos K., Kasting G.B. Glucose partition coefficient and diffusivity in the lower skin layers // Pharmaceutical Res. 2006. Vol. 23, № 6. P. 1227–1234.
52. Oliveira L. M., Carvalho M. I., Nogueira E., Tuchin V. V. The characteristic time of glucose diffusion measured for muscle tissue at optical clearing // Laser Physics. 2013. Vol. 23, № 7. 075606.
53. Тучин В. В., Башкатов А. Н., Генина Э. А., Синичкин Ю. П., Лакодина Н. А. *In vivo* исследование динамики иммерсионного просветления кожи человека // Письма в ЖТФ. 2001. Т. 27, № 12. С. 10–14.
54. Tuchina D. K., Shi R., Bashkatov A. N., Genina E. A., Zhu D., Luo Q., Tuchin V. V. Ex vivo optical measurements of glucose diffusion kinetics in native and diabetic mouse skin // J. Biophotonics. 2015. Vol. 8, № 4. P. 332–346.
55. Zhao Q. L., Si J. L., Guo Z. Y., Wei H. J., Yang H. Q., Wu G. Y., Xie S. S., Li X. Y., Guo X., Zhong H. Q., Li L. Q. Quantifying glucose permeability and enhanced light penetration in *ex vivo* human normal and cancerous esophagus tissues with optical coherence tomography // Laser Physics Letters. 2011. Vol. 8, № 1. P. 71–77.
56. Ghosn M. G., Mashiatulla M., Mohamed M. A., Syed S., Castro-Chavez F., Morrisett J. D., Larin K. V. Time dependent changes in aortic tissue during cold storage in physiological solution // Biochimica et Biophysica Acta. 2011. Vol. 1810, № 5. P. 555–560.
57. Xiong H., Guo Z., Zeng C., Wang L., He Y., Liu S. Application of hyperosmotic agent to determine gastric cancer with optical coherence tomography *ex vivo* in mice // J. Biomed. Opt. 2009. Vol. 14, № 2. 024029.
58. Amsden B. Solute diffusion within hydrogels. Mechanisms and models // Macromolecules. 1998. Vol. 31, № 23. P. 8382–8395.
59. Beck R. E., Schultz J. S. Hindrance of solute diffusion within membranes as measured with microporous membranes of known pore geometry // Biochimica et Biophysica Acta. 1972. Vol. 255. P. 273–303.

#### Образец для цитирования:

Башкатов А. Н., Генина Э. А., Тучин В. В. Определение коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке человека // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2018. Т. 18, вып. 1. С. 32–45. DOI: 10.18500/1817-3020-2018-18-1-32-45.

#### Estimation of Glucose Diffusion Coefficient in Human *Dura Mater*

A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. V. Tuchin

Alexey N. Bashkatov, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, a.n.bashkatov@mail.ru

Elina A. Genina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, eagenina@yandex.ru

Valery V. Tuchin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, tuchinv@mail.ru

**Background and Objectives:** Optical clearing of *dura mater* caused by hyperosmotic immersion liquids is important for the

development of noninvasive methods of brain optical tomography and for the study of microcirculation and homeostasis of tissue fluids. It allows significantly increasing the spatial resolution and the probing depth of brain. Obviously, a quantitative description of the optical clearing processes requires the development of reliable physicomathematical models, which in turn requires the knowledge of the diffusion rate parameters of immersion agents in tissues. In spite of the fact that diffusion of many biocompatible chemicals, in particular glucose, in aqueous solutions is well described, their diffusion in tissues continues to be poorly investigated. Thus, the goal of the study is estimation of the relative glucose diffusion coefficient in the human *dura mater in vitro*. **Materials and Methods:** The method of estimating the relative diffusion coefficient of immersion liquids in tissues was based on the analysis of the kinetics of the change in the collimated transmittance of a tissue sample under the action of these liquids. The kinetics of the interstitial fluid replace-



ment by immersion liquid was measured by successive recording of collimated transmittance spectra in the spectral range of 400–700 nm. For a quantitative description of the process, a corresponding model that assumed a constant diffusion coefficient in the entire volume of the tissue sample was developed. **Results:** In the study the results of the experiments, performed for a 40%-glucose solution, are presented. The relative diffusion coefficient of glucose in *dura mater* obtained using the approximation of the experimental data within the framework of the proposed model, was  $6.08 \times 10^{-6} \pm 2.26 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ . Based on Fick's first law, the coefficient of permeability of the *dura mater* for the glucose solution was calculated, the value of which was  $(1.3 \pm 0.13) \times 10^{-4} \text{ cm/s}$ . **Conclusion:** The obtained results can be used in the development of new and optimization of existing non-invasive methods of optical tomography as well as for the development of methods of laser therapy and surgery of various brain diseases. **Key words:** diffusion coefficient, *dura mater*, glucose, control of tissue optical properties.

**Acknowledgements:** ANB and EAG were supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project no. 12.1223.2017/PCh) and VVT was supported by the Russian Foundation for Basic Researches (project no. 17-02-00358 A).

## References

1. Tuchin V. V. *Optical clearing of tissues and blood*. Bellingham, WA, USA, SPIE Press, 2005, vol. PM 154. 254 p.
2. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Tissue optical immersion clearing. *Expert Review of Medical Devices*, 2010, vol. 7, no. 6, pp. 825–842.
3. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Yanina I. Yu., Tuchin V. V. Optical clearing of biological tissues: prospects of application in medical diagnostics and phototherapy. *J. Biomed. Photonics & Eng.*, 2015, vol. 1, no. 1, pp. 22–58.
4. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Yanina I. Yu., Tuchin V. V. Optical clearing of tissues: benefits for biology, medical diagnostics, and phototherapy. In: *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*. Ed. Valery V. Tuchin. 2nd ed. Vol. 2. Methods. Bellingham, WA, USA, SPIE Press, 2016, ch. 10, pp. 565–637.
5. Genina E. A., Bashkatov A. N., Larin K. V., Tuchin V. V. Light-tissue interaction at optical clearing. In: *Laser Imaging and Manipulation in Cell Biology*. Ed. Francesco S. Pavone. Weinheim, Germany, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2010, ch. 7, pp. 115–164.
6. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Glucose-induced optical clearing effects in tissues and blood. In: *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues*. Ed. Valery V. Tuchin. Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009, ch. 21, pp. 657–692.
7. Cheng H., Luo Q., Zeng S., Chen S., Luo W., Gong H. Hyperosmotic chemical agent's effect on in vivo cerebral blood flow revealed by laser speckle. *Appl. Opt.*, 2004, vol. 43, no. 31, pp. 5772–5777.
8. Zhu D., Larin K., Luo Q., Tuchin V.V. Recent progress in tissue optical clearing. *Laser & Photonics Reviews*, 2013, vol. 7, no. 5, pp. 732–757.
9. Cheshire E. C., Malcomson R.D.G., Joseph S., Biggs M.J.B., Adlam D., Ruttly G. N. Optical clearing of the *dura mater* using glycerol: a reversible process to aid the post-mortem investigation of infant head injury. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 2015, vol. 11, no. 3, pp. 395–404.
10. Susaki E. A., Tainaka K., Perrin D., Kishino F., Tawara T., Watanabe T. M., Yokoyama C., Onoe H., Eguchi M., Yamaguchi S., Abe T., Kiyonari H., Shimizu Y., Miyawaki A., Yokota H., Ueda H. R. Whole-brain imaging with single-cell resolution using chemical cocktails and computational analysis. *Cell*. 2014, vol. 157, pp. 726–739.
11. Wang J., Zhang Y., Li P., Luo Q., Zhu D. Review : tissue optical clearing window for blood flow monitoring. *IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics*, 2014, vol. 20, no. 2, 6801112.
12. Zhang Y., Zhang C., Zhong X., Zhu D. Quantitative evaluation of SOCS-induced optical clearing efficiency of skull. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 136–142.
13. Genina E. A., Bashkatov A. N., Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Tuchin V. V. Optical clearing of cranial bone by multicomponent immersion solutions and cerebral venous blood flow visualization. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 98–110. DOI: 10.18500/1817-3020-2017-17-2-98-110 (in Russian).
14. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of cranial bone. *Advances in Optical Technologies*, 2008, vol. 2008, 267867.
15. Bashkatov A. N., Genina E. A., Sinichkin Yu. P., Kochubey V. I., Lakodina N. A., Tuchin V. V. Glucose and mannitol diffusion in human *dura mater*. *Biophys. J.*, 2003, vol. 85, no. 5, pp. 3310–3318.
16. Genina E. A., Bashkatov A. N., Kochubey V. I., Tuchin V. V. Optical clearing of human *dura mater*. *Optics and Spectroscopy*, 2005, vol. 98, no. 3, pp. 470–476.
17. Yao L., Cheng H., Luo Q., Zhang W., Zeng S., Tuchin V. V. Control of rabbit *dura mater* optical properties with osmotic liquids. *Proc. SPIE.*, 2002, vol. 4536, pp. 147–152.
18. Genina E. A., Bashkatov A. N., Tuchin V. V. Optical clearing of human *dura mater* by glucose solutions. *J. Biomed. Photonics & Eng.*, 2017, vol. 3, no. 1, 010309.
19. Boas G. Immersion liquids increase optical penetration of brain tissue. *Biophotonics Research*, 2004, vol. 1, pp. 61–63.
20. Mourant J. R., Freyer J. P., Hielscher A. H., Eick A. A., Shen D., Johnson T. M. Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to non-invasive optical



- tissue diagnostics. *Appl. Opt.*, 1998, vol. 37, no. 16, pp. 3586–3593.
21. Tuchin V. V. *Tissue optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. 3rd ed. Bellingham, WA, USA, SPIE Press, 2015, vol. PM254. 934 p. (SPIE Tutorial Text in Optical Engineering).
  22. Genina E. A., Bashkatov A. N., Korobko A. A., Zubkova E. A., Tuchin V. V., Yaroslavsky I., Altshuler G. B. Optical clearing of human skin : comparative study of permeability and dehydration of intact and photothermally perforated skin. *J. Biomed. Opt.* 2008, vol. 13, no. 2, 021102.
  23. Yu T., Qi Y., Zhu J., Gong H., Luo Q., Zhu D. Elevated-temperature-induced acceleration of PACT clearing process of mouse brain tissue. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, 38848. DOI: 10.1038/srep38848.
  24. Larin K. V., Ghosn M. G., Bashkatov A. N., Genina E. A., Trunina N. A., Tuchin V. V. Optical clearing for OCT image enhancement and in-depth monitoring of molecular diffusion. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2012, vol. 18, no. 3, pp. 1244–1259.
  25. Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Yu. P., Tuchin V. V. Optical clearing of the eye sclera *in vivo* caused by glucose. *Quantum Electronics*, 2006, vol. 36, no. 12, pp. 1119–1124.
  26. Richardson D. S., Lichtman J. W. Clarifying tissue clearing. *Cell*. 2015, vol. 162, pp. 246–257.
  27. Yu T., Qi Y., Wang J., Feng W., Xu J., Zhu J., Yao Y., Gong H., Luo Q., Zhu D. Rapid and prodium iodide-compatible optical clearing method for brain tissue based on sugar/sugar-alcohol. *J. Biomed. Opt.*, 2016, vol. 21, no. 8, 081203.
  28. Silvestri L., Mascaro A.L.A., Lotti J., Sacconi L., Pavone F. S. Advanced optical techniques to explore brain structure and function. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2013, vol. 6, no. 1, 1230002.
  29. d'Esposito A., Nikitichev D., Desjardins A., Walker-Samuel S., Lythgoe M. F. Quantification of light attenuation in optically cleared mouse brains. *J. Biomed. Opt.*, 2015, vol. 20, no. 8. 080503.
  30. Hama H., Kurokawa H., Kawano H., Ando R., Shimogori T., Noda H., Fukami K., Sakaue-Sawano A., Miyawaki A. Scale: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain. *Nature Neuroscience*, 2011, vol. 14, no. 11, pp. 1481–1488.
  31. Pirie A. van Heiningen R. *Biochemistry of the eye*. Blackwell Scientific Publications, 1956. 323 p.
  32. Huang Y., Meek K. M. Swelling studies on the cornea and sclera: the effects of pH and ionic strength. *Biophysical J.* 1999, vol. 77, pp. 1655–1665.
  33. Rosentul M. A. *Obshchaia terapiia kozhnykh boleznei* [General therapy of skin diseases]. Moscow: Meditsina, 1970. 470 p. (in Russian).
  34. Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Measurement of glucose diffusion coefficients in human tissues. In: *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues*. Ed. Valery V. Tuchin. Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009, ch. 19, pp. 587–621.
  35. Alves L. A., Silva J. B. A., Giuliatti M. Solubility of D-glucose in water and ethanol/water mixtures. *J. Chem. Eng. Data*. 2007, vol. 52, no. 6, pp. 2166–2170.
  36. Berezov T. T., Korovkin B. F. *Biologicheskaja khimiia* [Biological chemistry]. Moscow, Meditsina, 1998. 704 c. (in Russian).
  37. Ravich-Szherbo M. I., Novikov V. V. *Fizicheskaja i kolloidnaia khimiia* [Physical and colloid chemistry]. Moscow, Vysshaya Shkola, 1975. 255 p. (in Russian).
  38. Culav E. M., Clark C. H., Merrilees M. J. Connective tissue: matrix composition and its relevance to physical therapy. *Physical Therapy*, 1999, vol. 79, pp. 308–319.
  39. Malkin A. Y., Chalykh A. E. *Diffuziia i viazkost' polimerov. Metody izmereniia* [Diffusion and viscosity of polymers. Measurement methods]. Moscow, Khimiia, 1979. 304 c. (in Russian).
  40. Chalykh A. E. *Diffuziia v polimernykh sistemakh* [Diffusion in polymer systems]. Moscow, Khimiia, 1987. 312 p. (in Russian).
  41. Maier J. S., Walker S. A., Fantini S., Franceschini M. A., Gratton E. Possible correlation between blood glucose concentration and the reduced scattering coefficient of tissues in the near infrared. *Opt. Lett.*, 1994, vol. 19, no. 24, pp. 2062–2064.
  42. Schmitt J. M., Kumar G. Optical scattering properties of soft tissue: a discrete particle model. *Appl. Opt.*, 1998, vol. 37, no. 13, pp. 2788–2797.
  43. Bohren C. F., Huffman D. R. *Absorption and scattering of light by small particles*. New York, John Wiley & Sons Inc., 1983. 530 p.
  44. Cox J. L., Farrell R. A., Hart R. W., Langham M. E. The transparency of the mammalian cornea. *Journal of Physiology*, 1970, vol. 210, no. 3, pp. 601–616.
  45. Press W. H., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., Flannery B. P. *Numerical recipes in C: the art of scientific computing*. Cambridge, Cambridge University Press, 1992. 994 p.
  46. Kotyk A., Janacek K. *Membrane Transport: An Interdisciplinary Approach*. New York, Plenum Press, 1977. 348 p.
  47. Katchalsky A. Polyelectrolyte gels. *Prog. Biophys. Chem.*, 1954, vol. 4, pp. 1–59.
  48. Pitie A. The action of mustard gas on ox cornea collagen. *Biochem. J.*, 1947, vol. 41, pp. 185–190.
  49. Molteni C., Parrinello M. Glucose in aqueous solution by first principles molecular dynamics. *Journal of the American Chemical Society*, 1998, vol. 120, pp. 2168–2171.
  50. Bashkatov A. N., Genina E. A., Sinichkin Yu. P., Kochubei V. I., Lakodina N. A., Tuchin V. V. Estimation of the glucose diffusion coefficient in human eye sclera. *Biophysics*, 2003, vol. 48, no. 2, pp. 292–296.



51. Khalil E., Kretsos K., Kasting G.B. Glucose partition coefficient and diffusivity in the lower skin layers. *Pharmaceutical Res.* 2006, vol. 23, no. 6, pp. 1227–1234.
52. Oliveira L. M., Carvalho M. I., Nogueira E., Tuchin V. V. The characteristic time of glucose diffusion measured for muscle tissue at optical clearing. *Laser Physics*, 2013, vol. 23, no. 7, 075606.
53. Tuchin V. V., Bashkatov A. N., Genina E. A., Sinichkin Yu. P., Lakodina N. A. *In vivo* investigation of the immersion-liquid-induced human skin clearing dynamics. *Technical Physics Letters*, 2001, vol. 27, no. 6, pp. 489–490.
54. Tuchina D. K., Shi R., Bashkatov A. N., Genina E. A., Zhu D., Luo Q., Tuchin V. V. Ex vivo optical measurements of glucose diffusion kinetics in native and diabetic mouse skin. *J. Biophotonics*, 2015, vol. 8, no. 4, pp. 332–346.
55. Zhao Q. L., Si J. L., Guo Z. Y., Wei H. J., Yang H. Q., Wu G. Y., Xie S. S., Li X. Y., Guo X., Zhong H. Q., Li L. Q. Quantifying glucose permeability and enhanced light penetration in ex vivo human normal and cancerous esophagus tissues with optical coherence tomography. *Laser Physics Letters*, 2011, vol. 8, no. 1, pp. 71–77.
56. Ghosn M. G., Mashiatalulla M., Mohamed M.A., Syed S., Castro-Chavez F., Morrisett J. D., Larin K.V. Time dependent changes in aortic tissue during cold storage in physiological solution. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, vol. 1810, no. 5, pp. 555–560.
57. Xiong H., Guo Z., Zeng C., Wang L., He Y., Liu S. Application of hyperosmotic agent to determine gastric cancer with optical coherence tomography ex vivo in mice. *J. Biomed. Opt.* 2009, vol. 14, no. 2, 024029.
58. Amsden B. Solute diffusion within hydrogels. Mechanisms and models. *Macromolecules*, 1998, vol. 31, no. 23, pp. 8382–8395.
59. Beck R. E., Schultz J. S. Hindrance of solute diffusion within membranes as measured with microporous membranes of known pore geometry. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1972, vol. 255, pp. 273–303.

**Cite this article as:**

Bashkatov A. N., Genina E. A., Tuchin V. V. Estimation of Glucose Diffusion Coefficient in Human *Dura Mater*. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Physics*, 2018, vol. 18, iss. 1, pp. 32–45 (in Russian). DOI: 10.18500/1817-3020-2018-18-1-32-45.