

АННОТАЦИЯ ПО ПРОЕКТУ

Государственный контракт № 02.740.11.0879 от 28 июня 2010 г.

Тема: «Разработка новых фотонных технологий анализа биофизических процессов в живых организмах на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях для задач неинвазивной и минимально-инвазивной диагностики и терапии»

Исполнитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского»
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

Ключевые слова: *Метод Монте-Карло, оптические параметры биотканей, коллоидные растворы, дентин, диффузия, дифракционный фазовый микроскоп, фотосенсибилизаторы, оптическая когерентная томография, кожа, антибиотики, индоцианиновый зеленый, фотолилиз жировых клеток, голографическая цифровая микроскопия*

1. Цель проекта

Целью НИР является решение фундаментальной научной проблемы создания новых технологий когерентно-оптического и спектроскопического анализа биофизических процессов в живых организмах и лазерного воздействия на них на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях с применением биосенсоров, наночастиц и красителей для развития методов неинвазивной и минимально-инвазивной диагностики и терапии.

Выполнение НИР должно обеспечивать достижение научных результатов мирового уровня, подготовку и закрепление в сфере науки и образования научных и научно-педагогических кадров, формирование эффективных и жизнеспособных научных коллективов, развитие международного сотрудничества в научно-технической сфере.

2. Основные результаты проекта

При выполнении НИР проведены комплексные исследования по разработке новых фотонных технологий анализа биофизических процессов в живых организмах на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях для задач неинвазивной и минимально-инвазивной диагностики и терапии. В частности в ходе выполнения госконтракта были выполнены следующие исследования и получены следующие результаты.

При выполнении этапа №1 «Разработка методов оптической диагностики и воздействия света на клетки, ткани и наночастицы» были:

Разработаны методы и экспериментальные системы формирования микроинтерференционных изображений клеток биологических систем, в частности, эритроцитов в мазках крови.

Разработана теоретическая модель формирования интерференционных изображений, учитывающая степень временной когерентности излучения, его спектральный состав, спектральные свойства матричного фотоприемника, спектральные свойства отражения и пропускания объекта контроля – биологической клетки.

Получены аналитические выражения для численного моделирования процессов формирования микроинтерференционных изображений в интерференционных системах микроскопии в белом свете. Выполнено численное моделирование поперечных интерференционных изображений (XY-изображений) биологических клеток различной формы и получены компьютерные полихроматические интерференционные изображения, аналогичные получаемым изображениям в натурном интерференционном эксперименте.

Выполнено численное моделирование интерференционных изображений продольных сечений биологических клеток (XZ и YZ-изображения) и получены компьютерные изображения этих продольных сечений в градациях серого.

Разработан лабораторный макет компьютеризированного сканирующего интерференционного микроскопа с источником белого света, позволяющего получать поперечные цифровые интерференционные изображения биологических клеток с поперечным разрешением в ≈ 1 мкм и цифровые изображения продольных сечений клетки с предельным продольным разрешением ≈ 0.05 мкм.

Разработаны алгоритмы для численной обработки цифровых интерференционных изображений клеток и формирования интерференционных изображений продольных сечений клеток, восстановления графических изображений трехмерного поверхностного рельефа клетки.

Разработаны методы и технологии изготовления наноструктурных материалов различной конфигурации, на базе которых можно проектировать сенсоры для биомедицинских применений. Разработанные технологические процессы позволяют производить единичные элементы преформ стеклянного структурного материала со следующими параметрами: внешний диаметр вытягиваемых трубок: от 1.0 мм до 50.0 мм; внутренний диаметр вытягиваемых трубок: от 0.2 мм до 49.0 мм; диаметр вытягиваемых стержней: от 0.2 до 50 мм; длина трубки или стержня до 1500 мм; точность поддержания наружного диаметра изделия: $\pm 0.5\%$; размеры стеклозаготовки: не более $250 \times 250 \times 450$ мм и не менее $150 \times 150 \times 300$ мм; температура в печи: до 900°C ; точность поддержания температуры: $\pm 1^\circ\text{C}$; скорость вытягивания: 0.4-2000 м/час. В конечном виде стеклянный

наноструктурный материал может иметь следующие параметры: размеры заготовки: диаметр от 1 мм до 40 мм, длина: до 1200 мм; размеры изделия: внешний диаметр 0.1 - 30.0 мм, длина: 1200 мм; диаметр внутренних каналов от 70 нм до 400 мкм, точность поддержания геометрических размеров световода: $\pm(0.5-1.0)\%$; скорость подачи заготовки: $(0.1-20.0)\pm 0.1\%$ мм/мин; скорость вытягивания: $(0.1-7.0)\pm 0.1\%$ м/мин; температура в печи: до 900°C; точность поддержания температуры: $\pm 1^\circ\text{C}$.

Проведена модификация экспериментальной установки для исследования воздействия лазерного излучения на коллоидные наночастицы. Данная модификация была направлена на повышение пространственной разрешающей способности и обеспечение возможности измерения локальной температуры наночастиц методом статистического слежения за частицами. Данные меры позволили повысить пространственную разрешающую способность экспериментальной установки в два раза – диаметр первого темного кольца дифракционно-ограниченного изображения наночастицы размером 40 нм уменьшился с 1,5 до 0,7.

Как было установлено в результате тестирования, модифицированная система позволяет измерять профиль скорости движения наночастиц с пространственным разрешением 600 нм и относительной ошибкой не более 5%. Ошибка измерения локальной температуры наночастиц не превышает 3°C при пространственном разрешении 5 мкм. Данные параметры были достигнуты впервые в мировой практике.

Разработана экспериментальная и вычислительная платформа для определения оптических параметров (коэффициента поглощения, коэффициента рассеяния и параметра анизотропии рассеяния) эпителиальных и фиброзных биологических тканей в широком диапазоне длин волн, от видимого до ближнего инфракрасного излучения.

Проведены соответствующие измерения и расчеты с учетом экспериментальных особенностей измерительной аппаратуры, состояния и формы образцов. Данные представлены в виде аппроксимирующих формул, удобных для пользователей.

Разработан метод измерения оптических параметров эпителиальных и фиброзных тканей на основе формирования ОКТ-сканов.

Визуальное наблюдение ОКТ изображений и анализ усредненных А-сканов показывает, что структура подногтевой ткани, в том числе толщина эпидермиса и дермы сильно зависит от расстояния до края ногтя. Глицерин в определенной степени снижает коэффициент ослабления (рассеяния). Аналогичный эффект производит компрессия ткани. Полученные данные для коэффициента ослабления (рассеяния) в области длин волн 930 ± 100 нм могут быть использованы при построении новых типов оптических

датчиков для мониторинга содержания глюкозы, гемоглобина и других аналитов в тканях, когда палец является информационным объектом.

Продемонстрирована эффективность мониторинга микрогемодинамики внутренних органов методом спекл-коррелометрии полного поля с использованием волоконно-оптических жгутов для передачи лазерного излучения к зондируемой области и доставки рассеянного света к детектору, достаточная для применения данного метода в лабораторных и клинических условиях. Контраст усредненных по времени динамических спеклов, используемый в качестве диагностического параметра, характеризуется достаточно высокой чувствительностью к изменениям микроциркуляции крови в поверхностных слоях внутренних органов, обусловленных патологическими изменениями или воздействием внешних факторов.

Предложена и апробирована методика фотообесцвечивания коллагенсодержащих структур излучением длиной волны 405 нм без использования каких-либо химических окислителей. Предложенная методика позволяет избежать неудобств и побочных эффектов применения жидких (гелеобразных) окислительных (пероксидных) препаратов. Фотоокисление, сенсibilизированное самими хромофорами, поглощающими в фиолетовой области и приводящее к их деградации, позволяет избежать присущих стандартному химическому методу ошибки дозировки окислительного агента и потерь и разрушительных побочных эффектов при его доставке в объем локализации желтой окраски.

Разработана технология изготовления динамических (с протекающей по ним кровью) фантомов для калибровки рассеивающих и поглощающих свойств многослойных биотканей в ИК диапазоне длин волн близки 830 нм.

Показано, что для успешного внедрения индоцианина зеленого (ИЗ) в жировую ткань возможно использовать микро-контейнеры из полиэлектролитных материалов с целью повышения стабильности молекул ИЗ, уменьшения токсичности и связывания с белками ткани в процессе введения.

Разработаны методики оценки антибактериальной эффективности двух типов инфракрасных красителей, разрешенных для применения в клинических исследованиях, при воздействии инфракрасного лазерного излучения 808 нм на стафилококки.

Оптимальная для обработки бактериальных клеток концентрация индоцианина зеленого с максимумом поглощения 775 нм составляет 0.001%, индоцианина зеленого с максимумом поглощения 800 нм составляет 0.0001%.

Наиболее выраженный фотодинамический эффект действия инфракрасного излучения на *S. aureus* 209 P и *S. epidermidis* MS отмечен при использовании в качестве фотосенсибилизатора индоцианина зеленого с максимумом поглощения 775 нм.

Инфракрасное лазерное излучение более эффективно подавляет рост клеток *S. epidermidis* MR, обработанных индоцианином зеленым с максимумом поглощения 800 нм.

Исследованы физико-химические характеристики ряда поверхностно-активных веществ, а также процессы мицеллообразования с целью выявления оптимальных условий использования процессов сенсibilизированной люминесценции в мицеллах для обнаружения малых количеств антибиотиков в исследуемых образцах. Рассмотрено также влияние ионных и неионных поверхностно-активных веществ на процессы солюбилизации хелатных соединений.

Для выбранных неионных поверхностно-активных веществ изучены оптические свойства, обусловленные изменением концентрации ПАВ, а также наличия дополнительных компонентов в растворе. Для антибиотика фторхинолонового ряда — энрофлоксацина показано, что его солюбилизация в мицеллы Твин-80 сопровождается возрастанием флуоресценции практически в 2 раза и батохромным смещением полосы ~ 5 нм. Флуоресцентные свойства антибиотика не меняются в присутствии мицелл Бридж-35, что связано, по-видимому, с отсутствием процесса солюбилизации. Солюбилизация в мицеллы Тритон X-100 антибиотика вызывает увеличение его флуоресценции на 30%. Таким образом, показано, что интенсивности флуоресценции энрофлоксацина зависят от природы мицелл ПАВ и увеличивается в ряду Бридж-35 < Тритон X-100 < Твин 80.

При выполнении этапа №2 «Разработка комплекса программ, оборудования и лабораторных технологий» были:

Разработан комплекс программ для определения поглощающих и рассеивающих характеристик биотканей.

Проведено изучение состояния микроциркуляции ногтевого ложа посредством комбинации методов компьютерной капилляроскопии и анализа пространственного контраста лазерных спеклов с одновременным применением техники иммерсионного подавления светорассеяния, что позволяет проводить визуализацию структурных изменений капиллярного русла и оценивать изменения скорости кровотока с высокой чувствительностью в режиме реального времени.

Для реализации данного подхода была проведена модификация алгоритма обработки спекл-картин. Добавлен модуль автоматического выбора оптимальных параметров камеры.

Проведена оценка изменения функционального состояния мембраны эритроцитов в процессе внутривенной нагрузки глюкозой. Полученные результаты выявили диаметрально противоположную динамику изученных параметров, что может свидетельствовать о принципиальных различиях патогенетического механизма формирования перфузионных расстройств при ишемической болезни сердца и сахарном диабете 2-го типа.

Разработана методика, позволяющая в автоматическом режиме проводить исследование образцов крови на покровных стеклах. Высокая степень автоматизации обеспечивает исключение человеческого фактора при обработке результатов, а возможность изучения образцов, стандартно используемых в медицинской практике, делает возможным интеграцию предложенной методики с обычно проводимыми медицинскими исследованиями.

Показана возможность применения полнопольной сканирующей микроинтерферометрии в белом свете для изучения биологических объектов на клеточном уровне.

На основе разработанных новых волоконных технологий были получены новые образцы наноструктурного материала, которые будут использоваться для построения на их основе чувствительных элементов оптических биологических сенсоров. Наноструктурный материал имеет следующие параметры: полая сердцевина обрамлена 30 шестигранниками по 37 капилляров (1100 шт.), наружный размер волокна 336 мкм, 250 мкм, 224 мкм, 196 мкм, 175 мкм, 150 мкм, размер полой сердцевины по двойной апофеме составляет 153 мкм, 114 мкм, 102 мкм, 89 мкм, 80 мкм и 68 мкм, соответственно. Диаметр капилляров, прилегающих к полой сердцевине, составляет 3,56 мкм, 2,65 мкм, 2,37 мкм, 2,07 мкм, 1,85 мкм и 1,59 мкм.

Разработан оригинальный метод диагностики лазерного пучка осветителя селективного планарного освещения, позволяющий количественно оценивать трехмерное распределение интенсивности в лазерном пучке и определять его положение относительно предметной плоскости микроскопа селективного освещения. Пространственная разрешающая способность при оценке профиля распределения интенсивности в поперечном сечении лазерного пучка 0,5 мкм, точность измерения: отклонения оси лазерного пучка от предметной плоскости микроскопа 0,5 мкм; относительная ошибка измерения мощности лазерного пучка, не более 10%; разрешающая

способность при измерении распределения интенсивности по полю зрения микроскопа: вдоль лазерного пучка 1 мкм, поперек лазерного пучка 0,5 мкм.

Показано, что бактерии *E. coli* устойчивы к облучению синим светом как в естественных условиях, так и в присутствии наночастиц. Клетки *E. coli* имеют клеточную стенку грамотрицательного типа: на поверхности содержится липополисахарид, образующий труднопроницаемую внешнюю мембрану. Ввиду подобного строения взаимодействие наночастиц с поверхностью клетки затруднено. Время существования активных форм кислорода, образующихся в окружающей среде, недостаточно для того, чтобы проникнуть внутрь клетки и вызвать ее гибель.

Комбинированное излучение не оказывало существенного угнетающего воздействия на дрожжи *S. albicans*. Фотодинамический эффект при использовании наночастиц также был недостаточен выражен для угнетения клеток данного микроорганизма. Дрожжи *Candida* являются эукариотическими организмами: их ядерный аппарат заключен в собственную оболочку. Количество молекул синглетного кислорода, образующихся при действии излучения с данными параметрами, недостаточно, чтобы вызвать существенные изменения в структуре клеточной мембраны, органелл или генетического аппарата. Таким образом, было установлено, что реакция микроорганизмов на действие синего излучения в сочетании с наночастицами зависит от строения их клеток и физиологических особенностей.

Изучение методами спекл-имиджинга изменений кровотока в микрососудах головного мозга морских свинок показало, что топология капиллярной сети до и после введения взвеси фотоинактивированных клеток туляремии остается практически идентичной. Изменений количества микрососудов с интенсивным кровотоком не наблюдалось. Это означает, что токсическое действие изучаемых препаратов на сосуды головного мозга невелико. В результате проведенных экспериментальных исследований было выявлено, что бактериальные взвеси, прошедшие разные режимы фотоинактивации при различных концентрациях фотосенсибилизатора, не оказывают длительного токсического действия на лабораторных животных при аппликации на брыжейку и при парентеральном введении.

Методом спекл-микроскопии проведена оценка действия фотоинактивированной взвеси бактерий туляремии на микроциркуляцию крови в уединенном сосуде брыжейки. Установлено, что при аппликации фотоинактивированной бактериальной взвеси на брыжейку наблюдается замедление кровотока. Проведенные опыты позволяют сделать заключение о том, что вакцинный штамм возбудителя туляремии после фотоинактивации проявляет токсичность. Однако она находится в пределах допустимой нормы, поскольку

нарушения микроциркуляции, вызванные действием препарата, носят обратимый характер.

После аппликации инактивированных клеток вакцинного штамма бруцеллеза на брыжейку морской свинки скорость кровотока значительно увеличилась. В ряде случаев наблюдали пятикратное увеличение скорости кровотока. Это происходит вследствие значительного уменьшения просвета сосуда (именно в этом и состоит токсическое действие препарата). С течением времени ширина спектра и соответственно скорость кровотока постепенно снижаются, и он полностью восстанавливает свои нормальные показатели на 5–7-й мин после применения препарата.

Методом спекл-микроскопии удалось определить не только продолжительность токсического действия фотоинактивированных вакцин, но и характер их действия. Вероятно, что туляремийная и бруцеллезная вакцины, прошедшие фотоинактивацию, возбуждают нервные окончания разных отделов нервной системы. Однако, туляремийная вакцина действует на парасимпатическую нервную систему, вызывая дилатацию сосудов брыжейки. В свою очередь, бруцеллезная вакцина возбуждает нервные окончания симпатического отдела нервной системы, о чем свидетельствует четко выраженная констрикция сосудов брыжейки.

Показана принципиальная возможность использования оптической когерентной томографии для мониторинга и определения времени диффузии воды в образцах дентина зуба человека. Предварительные результаты показывают, что серия ОКТ-изображений, полученных через равные промежутки в течение длительного времени позволяет проследить за распространением воды в толще образца, а выбранный диагностический параметр – средний наклон сигнала ОКТ – во всех случаях демонстрирует насыщение, характерное время которого позволяет оценить время диффузии и соответственно проницаемость.

Подтверждена принципиальная возможность использования ОКТ для наблюдения диффузии химических агентов в дентине зуба *in vitro*. Таким образом, ОКТ может успешно применяться для исследования процесса диффузии воды в биологических тканях и, в конечном счете, для решения проблем связанных с физиологией зубов, их лечением и уходом за ними. Разработанная методика измерений позволяет изучать диффузию различных агентов, включая лекарственные препараты, в дентине и других тканях зуба, в частности, в эмали *ex vivo* и *in vivo*.

Показано, что метод поляризационной отражательной спектроскопии перспективен для локализации красителей в биотканях. Разностный поляризационный спектр может быть использован для анализа глубины локализации красителей индоцианина зеленого и

метиленового синего в биоткани (кожа крысы). Получены значения коэффициентов диффузии красителей, растворенных в воде, физрастворе и растворах этилового спирта, пропиленгликоля и глицерина. Показано, что добавление спирта облегчает диффузию красителей через роговой слой эпидермиса кожи.

Показано, что при связывании молекул индоцианина зеленого (ИЗ) и капсулированного ИЗ с компонентами кожной и жировой тканей происходит изменение спектральных свойств красителя, что необходимо учитывать, особенно при использовании ИЗ для целей фототерапии. Для успешного внедрения индоцианина зеленого в жировую ткань необходимо использовать микро-контейнеры из полиэлектролитных материалов с целью повышения стабильности молекул ИЗ, уменьшения токсичности и связывания с белками ткани.

Изучено влияния типа ПАВ и растворителя на эффективность передачи энергии при возбуждении сенсбилизированной флуоресценции.

При выполнении этапа №3 «Исследование структурно-морфологических характеристик и фотодеструкции клеток, тканей, а также исследование биосовместимых покрытий, флуоресценции сложных молекулярных комплексов и градиентов температуры коллоидных растворов» были:

Проведено исследование параметров поглощения и рассеяния биотканей в широком диапазоне длин волн. Проведено сравнение их оптических характеристик и показана связь со структурно-морфологическими параметрами исследованных тканей: пористостью, содержанием воды и т.д.

Проведено экспериментальное исследование влияния структурно-морфологических изменений в биотканях, вызванных развитием патологий, на их оптические параметры для интерпретации результатов, полученных при спекл-корреляционном мониторинге состояния микроциркуляции в головном мозге и поджелудочной железе лабораторных крыс.

Рассмотрен процесс развития острых геморрагий в головном мозге (при моделировании инсульта) и в поджелудочной железе (при моделировании панкреатита).

Продемонстрирована эффективность мониторинга состояния микроциркуляции при развитии структурно-морфологических тканей методом спекл-капилляроскопии полного поля. Контраст усредненных по времени динамических спеклов, используемый в качестве диагностического параметра, характеризуется достаточно высокой чувствительностью к изменениям микроциркуляции крови в поверхностных слоях

внутренних органов, обусловленных патологическими изменениями или воздействием внешних факторов.

Разработана методика исследования градиентов температуры жидкости создаваемых при лазерном нагреве микрообъектов, помещенных в коллоидный раствор наночастиц, обеспечивающая одновременное бесконтактное измерения поля скорости и температуры с пространственным разрешением около 10 мкм.

Рассмотрена возможность моделирования области биологической ткани, контрастированной наночастицами, при помощи металлического микрообъекта, нагреваемого излучением лазера. Установлено возникновение течений в жидкости в процессе лазерного нагрева микрообъекта.

Сделано предположение о механизме фотодеструкции жировых клеток с использованием препаратов ИЗ, за счет образования пор в мембранах после облучения источников сенсibilизированных образцов ткани, т.е. липолиза клеток, который способствовал просветлению жировой ткани. Для успешного внедрения индоцианина зеленого в жировую ткань необходимо использовать микро-контейнеры из полиэлектролитных материалов с целью повышения стабильности молекул ИЗ, уменьшения токсичности и связывания с белками ткани.

Проведено изучение влияния второго лиганда на интенсивность сенсibilизированной флуоресценции лантаноидов с биологически активными веществами.

Установлено, что введение второго лиганда в бинарные системы лантаноид – биологически активное вещество сопровождается образованием смешанолигандных комплексов и двумя типами эффектов. При этом наиболее часто образование смешанолигандного комплекса сопровождается увеличением интенсивности сенсibilизированной флуоресценции в результате замещения остаточных молекул воды (тушителей флуоресценции) в координационной сфере иона металла в результате присоединения дополнительного лиганда.

Показано, что для гидрофобных фторхинолонов энрофлоксацина и флюмеквина смешанолигандное комплексообразование сопровождается удалением молекул воды из ближайшего окружения иона комплексообразователя.

Установлена корреляция между индексом липофильности биологически активных веществ в смешанолигандных хелатах лантаноидов с фторхинолонами и 1,10-фенантролином. С ростом коэффициента липофильности ($\log P$) биологически активного вещества вероятность безызлучательных переходов в смешанолигандных комплексах уменьшается. Гидрофобные эффекты, наиболее ярко проявляющиеся для липофильных

фторхинолонов, способствуют более эффективному удалению молекул воды из ближайшего окружения лантаноида, что сопровождается увеличением интенсивности сверхчувствительного перехода.

Показано, что использование лазерной многоточечной оптопорации позволяет эффективно внедрять наночастицы в дерму кожи. При используемой энергии импульсов ~3 Дж, микроканалы, создаваемые в ткани, позволяли внедрять наночастицы в дерму на глубину до 400 мкм. Изменяя энергию импульса и используемые насадки, можно изменять глубину и форму микроканалов и, тем самым, варьировать параметры доставки частиц в кожу.

Показано, что многоточечная оптопорация жировой ткани позволяет повреждать клеточные стенки на глубине от 100 до 200 мкм.

Показано, что красное (625 нм) излучение стимулирует бактерии *S. epidermidis*: рост метициллин-чувствительного штамма - на 35%, рост метициллин-устойчивого штамма – на 25%.

Показано, что красное (625 нм) излучение подавляет рост бактерий *P. acnes* – на 20-60%, метициллин-чувствительного *S. aureus* – на 10-35%, метициллин-устойчивого *S. aureus* – на 2-30%.

Показано, что фотосенсибилизатор метиленовый синий в концентрации 0.0025% в сочетании с действием красного (625 нм) излучения в течение 30 мин приводит к гибели 90-98% бактериальной популяции всех исследованных микроорганизмов.

Проведена серия предварительных экспериментов по воздействию лазерного излучения на ансамбли наночастиц гидроксиапатита. Установлено, что лазерное излучение не вызывает плавления частиц, но способствует образованию кластеров размеры которых сравнимы с размерами тубул дентина и микротрещин эмали, что затрудняет проникновение частиц в ткани зуба.

Разработаны методы и средства получения информации об оптических характеристиках стеклянного наноструктурного материала, которые будут использоваться для построения на их основе чувствительных элементов оптических биологических сенсоров.

Показано, что метод интерференционной микроскопии в исследовании пространственной структуры и геометрических параметров микрообъектов обеспечивает возможность количественного измерительного контроля оптической и геометрической структуры форменных элементов крови с микронным поперечным разрешением и с субмикронным продольным разрешением микрорельефа поверхности эритроцитов и их объемной внутренней структуры.

Продемонстрированы следующие возможности функциональной диагностики состояния отдельных клеток крови при помощи методов интерференционной микроскопии и голографической фазовой микроскопии:

- восстановление геометрического профиля поверхности эритроцита;
- восстановление фазового профиля эритроцита;
- восстановление оптической толщины эритроцита;
- измерение показателя преломления эритроцита.

При выполнении этапа №4 «Разработка оптических методов измерения параметров биообъектов, технологии изготовления сенсоров и фотодеструкции клеток» были:

Проведен анализ методов определения содержания свободной и связанной воды в биотканях. Определена спектральная полоса поглощения воды, наиболее оптимальная для анализа содержания воды и разделения ее на свободную и связанную.

Разработан алгоритм и комплекс программ для разделения содержания свободной и связанной воды в биотканях.

Исследована возможность применения метода гильбертовской фазовой микроскопии для исследования геометрической и оптической структуры биологических клеток на примере эритроцитов крови человека.

Было реализовано два способа получения микроинтерференционных изображений: метод интерференционной микроскопии и метод дифракционной фазовой микроскопии. В первом случае обработка микроинтерференционных изображений дает геометрический микропрофиль поверхности объекта, во втором случае – распределение фазового набега объектной волны.

Разработан лабораторный макет дифракционного фазового микроскопа.

Разработан алгоритм обработки микроинтерференционных изображений клеток крови и восстановления комплексной структуры объектного поля на основе численного преобразования Гильберта.

Разработанный алгоритм реализован в форме пользовательского приложения на платформе NI LabVIEW Development Studio.

Проанализирована работа алгоритма восстановления комплексной структуры объектного поля на примере микроинтерференционных изображений, полученных методом интерференционной микроскопии и дифракционной фазовой микроскопии.

Проанализирована временная стабильность лабораторного макета дифракционного фазового микроскопа.

Установлено соответствие результатов обработки микроинтерференционных изображений, полученных методом интерференционной микроскопии и дифракционной фазовой микроскопии.

Изготовлены образцы фотонно-кристаллических волноводов с различными размерами внутренней структуры волновода (диаметр полой сердцевины, диаметр капилляров структурной оболочки) и, соответственно, различными спектральными характеристиками.

Произведен отбор образцов волноводов с оптимальной геометрией внутренней структуры, и спектральными характеристиками, обеспечивающими максимальную чувствительность при определении концентрации анализируемого раствора.

Были определены границы чувствительности метода. Показана возможность регистрации изменения концентрации растворов (на примере водного раствора рибофлавина) на величину 10^{-7} моль/л (10^{-4} %) и обнаружения растворенного в жидкости вещества при концентрации 10^{-8} моль/л.

Разработан и успешно апробирован новый метод измерения теплопроводности коллоидных систем в пространственном масштабе 10–100 мкм.

Выполнена оценка максимальной пространственной разрешающей способности метода измерения температуры, которая в описанных экспериментах достигает величины 1,2 мкм.

Показана принципиальная возможность использования оптической когерентной томографии и спекл-коррелометрии полного поля для мониторинга и определения скорости диффузии воды и химических агентов в образцах дентина зуба человека.

Показано, что анализ динамики контраста спеклов позволяет проследить за распространением воды в толще образца, а выбранный нами диагностический параметр – средний наклон сигнала ОКТ и время изменения контраста спеклов – во всех случаях демонстрирует насыщение, характерное время которого позволяет оценить время диффузии и соответственно проницаемость.

Предложена модификация спекл-коррелометрического метода применительно к анализу процесса нестационарного массопереноса в гетерогенных нестационарных системах.

Показано, что метициллин-чувствительный штамм *S. aureus* более восприимчив к действию излучения при всех экспериментальных вариантах (комбинированное излучение (405 ± 20 и 625 ± 15 нм), использование фотосенсибилизаторов метиленового синего и бриллиантового зеленого с последующим облучением, и суспензии TiO_2 с

фотосенсибилизацией и последующим облучением) чем метициллин-устойчивый штамм *S. aureus*.

Показано, что использование красителя бриллиантового зеленого приводит к более выраженному формированию к клеткам активных форм кислорода и, соответственно, их гибели.

Показано, что обработка клеток метициллин-чувствительного штамма *S. aureus* диоксидом титана и бриллиантовым зеленым с последующим действием комбинированного излучения приводит к сокращению числа КОЕ на 97%, в то время как на метициллин-устойчивый штамм *S. aureus* излучение в сочетании с наночастицами и сенсибилизаторами оказывает на 10-15% меньшее воздействие.

Показана эффективность фотодинамического воздействия низкоинтенсивного излучения в красном (660 ± 10 нм) и ближнем ИК (810 ± 10 нм) диапазонах и фотосенсибилизаторов с максимумами полосы поглощения на длинах волн соответственно 668 и 810 нм на патогенную микрофлору *acne vulgaris*.

С использованием оптической когерентной томографии выявлены изменения эффективного показателя преломления жировой ткани в результате фотодинамического действия света, возникающие как непосредственно после облучения, так и в процессе биологического отклика системы. Наблюдаемые изменения эффективного показателя преломления можно интерпретировать как уменьшение относительного показателя преломления рассеивателей, которое можно связать с иммерсионным оптическим просветлением.

Показано, что оптическое просветление кожи является перспективным методом повышения эффективности лазерного фототермического липолиза за счет снижения уровня плотности энергии (до 3.5 раз), необходимой для проведения операции, и повышения точности локализации обрабатываемого участка.

Разработана теоретическая модель формирования изображения слоистой структуры в модифицированном голографическом микроскопе с источником света с перестраиваемой частотой.

Разработана компьютерная модель формирования изображения слоистой структуры в модифицированном голографическом микроскопе с источником света с перестраиваемой частотой.

Показано, что данная модель учитывает эффекты продольной селекции когерентным окном элементов объекта, расположенных на различной глубине, эффекты взаимного смещения окна временного спектра и окна углового спектра, а также позволяет анализировать эффекты численной коррекции.

На примере хелатов европия с хинолонами и фторхинолонами показано, что существует некоторая критическая разность между энергией триплета органического лиганда и резонансным уровнем иона металла при превышении которой, интенсивность сенсibilизированной флуоресценции иона лантаноида резко уменьшается.

Выявлены факторы, влияющие на эффективность переноса энергии возбуждения в бинарных и разнолигандных хелатах лантаноидов.

Показано, что эффективность переноса энергии зависит от числа координируемых лигандов в комплексе. На примере системы Eu^{3+} -Нор установлено, что при возрастании концентрации лиганда (Нор) величина η ($I_{\text{счп}}/I_{\text{мдп}}$), равная соотношению интенсивности полос соответствующих сверхчувствительному ($I_{\text{счп}}$) и магнитно-дипольному ($I_{\text{мдп}}$) переходам увеличивается, что свидетельствует об увеличении интенсивности флуоресценции и уменьшении вероятности безызлучательных переходов.

Установлено, что с повышением основности лиганда (рК) соотношение η также увеличивается, а интенсивности сверхчувствительных переходов полос спектров люминесценции возрастают.

Эффективность переноса энергии в бинарных комплексах зависят от липофильных свойств лигандов и выше для антибиотиков с более высокой гидрофобностью.

Введение второго лиганда в бинарные системы лантаноид – БАВ сопровождается образованием разнолигандных комплексов и двумя типами эффектов. Первый эффект связан с увеличением интенсивности сенсibilизированной флуоресценции в результате замещения остаточных молекул воды (тушителей флуоресценции) в координационной сфере иона металла в результате присоединения дополнительного лиганда. Второй эффект проявляется в присутствии хелатообразующего хромофорного второго лиганда и заключается в дополнительном переносе энергии возбуждения со второго лиганда на лантаноид, что также вызывает рост флуоресценции. Апробированные лиганды можно разделить на две группы: содержащие и не содержащие ароматические хромофорные группы. Органические лиганды не содержащие хромофорные группы: ТОФО (гидрофобный монодентатный) и ЭДТА (гидрофильный полидентатный) не участвуют в процессе переноса энергии. Их роль состоит только в дополнительном вытеснении остаточных молекул воды из гидратной оболочки иона лантаноида и уменьшении доли безызлучательных потерь энергии возбуждения. Однако максимальное увеличение сенсibilизированной флуоресценции лантаноидов наблюдается в присутствии хромофорных лигандов.

Выявлены некоторые аспекты прикладного использования влияния второго лиганда, второго иона лантаноида и организованных сред в флуориметрическом анализе при использовании разнолигандных хелатов европия и тербия.

Получен сверхширокополосный источник излучения (от 180 нм до 1800 нм), который может найти свое применение во множестве применений, таких как фотодинамическая терапия, когерентная томография, стандарты частоты, прецизионная метрология и т.д.

При выполнении этапа №5 «Исследования механизмов фототермолиза, фотодинамической и фотокаталитической терапии, лабораторные и клинические исследования» были:

Разработан комплекс программ позволяющих, на основе измеренных оптических характеристик, рассчитать распределение оптического излучения внутри биотканей в приложении к задачам фотодинамической терапии, лазерного фототермолиза и оптической томографии. В частности: представлен алгоритм расчета распределения оптического излучения внутри биотканей; представлены оптические параметры биологических тканей измеренные (или уточненные) в рамках выполнения данного проекта или полученные из литературных источников; разработан алгоритм анализа нестационарных световых и температурных полей, формирующихся под действием лазерного излучения в среде с композитными наноразмерными частицами; проведено сравнение неоднородности поглощения лазерного излучения в наноболочках с ядром из плавленого кварца и покрытием из золота и окиси железа в рамках квазиэлектростатического приближения; разработаны программы расчета локального поглощения лазерного излучения в наноболочках, основанные на строгой теории Ми; развит алгоритм расчета нестационарного температурного поля в среде с поглощающими наноразмерными частицами, уточняющий ранее разработанный двухмасштабный подход.

Произведена комплексная оптимизация алгоритмов статистического слежения за частицами, позволившая значительно снизить затраты машинного времени для обработки серии изображений наночастиц.

Предложен новый метод исследования локального лазер индуцированного нагрева и теплопереноса в многофазных (многокомпонентных) коллоидных системах, основанный на использовании частиц с малым сечением поглощения в качестве датчиков локальной температуры.

Разработана методика лабораторного тестирования контрастирующих агентов на основе коллоидных частиц благородных металлов и органических красителей.

Обобщены основные закономерности, эффекты и особенности в системах антибиотик хинолонового и тетрациклинового рядов-организованные среды, лантанид - антибиотик хинолонового и тетрациклинового рядов - лиганд₂, лантанид-антибиотик хинолонового и тетрациклинового рядов - лиганд₂-ПАВ в водной среде, мицеллярных растворах, позволяющие существенно улучшить метрологические характеристики флуориметрического определения.

Показано, что основным источником формирования аналитического сигнала флуоресценции лантанида в его хелатах с антибиотиками во всех указанных случаях является внутримолекулярный перенос энергии электронного возбуждения с лиганда на европий или тербий (эффект антенны). Перенос энергии электронного возбуждения наблюдается только при условии $E_d > E_A$, когда энергия триплета донора выше энергии резонансного уровня акцептора примерно на $500-2500 \text{ см}^{-1}$.

Показано, что дополнительный рост интенсивности флуоресценции европия и тербия с антибиотиками определяют три фактора: использование второго лиганда; использование второго иона РЗЭ; проведение реакции в мицеллярном растворе или использование глобулярных биополимеров, формирующих более «жесткую» структуру флуоресцирующего центра. Их совместное использование позволяет получить максимальную величину аналитического сигнала.

Экспериментально показано, что результатом влияния второго лиганда и солюбилизации в мицеллах ПАВ является уменьшение числа остаточных молекул воды, координированных металлом в бинарном хелате лантанид-антибиотик, и скорости безызлучательных переходов в бинарных и разнолигандных хелатах. На указанные характеристики влияют также липофильность, основность лиганда и кислотность среды.

Определены и сопоставлены времена жизни возбужденных состояний, скорости безызлучательных и излучательных процессов в водной и мицеллярной средах в присутствии и в отсутствие второго лиганда.

Установлено, что при использовании вторых лигандов, содержащих хромофорные группы, увеличение интенсивности флуоресценции может быть связано не только с замещением остаточных молекул воды, но и дополнительным лиганд-лигандным или лиганд-металльным внутримолекулярным переносом энергии возбуждения (усилением эффекта антенны).

Определены основные направления прикладного использования влияния второго лиганда, организованных сред в хелатах лантанидов антибиотиков. Показано использование синергетического эффекта увеличения сенсibilизированной флуоресценции лантанидов в присутствии второго лиганда и организованных сред для

флуориметрического определения антибиотиков тетрациклинового, хинолонового и фторхинолонового рядов. Предложено около 20 методик их определения в различных объектах.

В результате исследования спектров флуоресценции различных биотканей здоровых и раковых крыс, сенсibilизированных раствором гематопорфирина и суспензией нанокompозита, показано, что: при внутривенном введении фотосенсibilизаторов концентрация их в опухолевой ткани выше, чем при интратуморальном введении; флуоресценция экзогенных фотосенсibilизаторов в печени маскируется автофлуоресценцией эндогенных порфиринов.

Показано, что как при внутривенном введении суспензии нанокompозита, так и при интратуморальном интенсивность его флуоресценции в коже максимальна по сравнению с мышечной и опухолевой тканями.

Получены выражения, связывающие интенсивность сигнала ОКТ с параметрами, определяющими динамику заполнения образца дентина жидкостью.

Показаны отличия процессов диффузии просветляющего агента (иммерсионной жидкости) в дентине, заполненном водой (ликвором), и заполнения сухого дентина жидкостью, а также процессов проникновения жидкости в целый зуб (в том числе живой) от таковых в образце (срезе).

Разработана теория голографической цифровой микроскопии на основе реализованного метода регистрации цифровой голограммы сфокусированного изображения фазового объекта с большим увеличением, с опорным точечным источником в фурье-плоскости микрообъектива, формирующего изображение исследуемого объекта, и с делением исходного светового поля по волновому фронту.

Разработано программное обеспечение, осуществляющее двойное фурье-преобразование для численной реконструкции восстановленного предметного светового поля в плоскости изображения объекта и для интерференционного сравнения световых полей, соответствующих различным состояниям исследуемого объекта.

Апробирована методика цифровой голографической фазовой микроскопии для контроля изменения размера и формы эритроцитов в ходе их темнового взаимодействия с суспензией гидрофилизированных наночастиц фуллероидного типа и показано, что в интервале времени наблюдения 4-5 часов происходят увеличение размера клеток суспензии и перераспределение связанных с мембраной наночастиц.

Проведено экспериментальное исследование темнового взаимодействия углеродных наночастиц фуллероидного типа с эритроцитами методом цифровой голографической микроскопии.

Разработана теория трехмерной визуализации объектов на основе принципа синтетической голограммы в конфокальной оптической когерентной микроскопии в Фурье-области.

Проведен анализ передачи различных пространственных частот структуры объекта системой данного микроскопа при различных величинах дефокусировки.

Показано, что в отличие от обычной цифровой голографической микроскопии, в данном микроскопе возможна лишь частичная коррекция сигнала для увеличения глубины поля зрения.

Проведено численное моделирование, показывающее, что процедура цифровой коррекции не только повышает резкость изображения расфокусированных частей объекта, но и повышает соотношение сигнал/шум.

Исследована возможность использования голографического метода дифракционной фазовой микроскопии для изучения и анализа геометрической и оптической структуры биологических клеток на примере эритроцитов крови человека. Проведено сравнение методов ДФМ в лазерном и частично когерентном свете.

Показана высокая эффективность метода в задачах изучения оптико-геометрических параметров биологических объектов клеточного масштаба.

Показано, что благодаря применению низкокогерентного излучения была увеличена стабильность интерференционной системы, повышена надежность проводимых измерений.

Разработан лабораторный макет дифракционного фазового микроскопа в частично когерентном свете.

Разработан алгоритм обработки микроинтерференционных изображений клеток крови и восстановления комплексной структуры объектного поля на основе численного преобразования Гильберта.

Разработанный алгоритм реализован в форме пользовательского приложения на платформе NI LabVIEW Development Studio.

Проанализирована временная стабильность лабораторного макета дифракционного фазового микроскопа.

Установлено соответствие результатов обработки микроинтерференционных изображений, полученных методом интерференционной микроскопии и дифракционной фазовой микроскопии.

Показано, что гипертермия адипоцитов под действием лазерного излучения может быть использована, чтобы вызвать липолиз; процесс может быть ускорен путем

фотодинамической терапии, а так же что данный метод возможно применять для минимальной или неинвазивной инженерии жировых отложений *in vivo*.

Проведена серия предварительных экспериментов по воздействию лазерного излучения на ансамбли наночастиц коллоидного золота. Установлено, что лазерное излучение вызывает плавление частиц и способствует образованию кластеров, размеры которых сравнимы с размерами тубул дентина и микротрещин эмали, что обеспечивает их закупорку после проникновения частиц в ткани зуба.

Показано, что в качестве индикатора разрушения бактериальных клеток при фотодинамическом/фотокаталитическом воздействии можно использовать пик комбинационного рассеяния на частоте 977 см^{-1} , принадлежащий глюкозо-6-фосфату.

В ходе выполнения работ по клиническому исследованию фотомолекулярного отбеливания зубов с целью выбора протокола клинических исследований и подходов к интерпретации экспериментальных результатов был проведен анализ результатов ранее (на первом этапе госконтракта) выполненных измерений *in vitro*; для чего была проведена обработка изображений образцов и получены их цветовые карты в индексах белизны WIO.

По значениям индексов белизны выбранных для усреднения зон образцов были построены дозовые кривые процесса фотомолекулярного отбеливания — зависимости индекса белизны от времени облучения (экспозиционной дозы).

Отмечена характерная форма дозовых кривых, имеющих «насыщение», обнаружена связь величины дозы достижения насыщения и скорости обесцвечивания в начале процесса с начальным уровнем индекса белизны образца.

Проведены исследования фотомолекулярного отбеливания на добровольцах. Результаты фотографической регистрации фотомолекулярного отбеливания были обработаны и получены карты распределения индексов белизны. На основании анализа динамики индекса белизны выбранных зон на поверхности зубов добровольцев установлено, что эффект фотомолекулярного отбеливания *in vivo* наблюдается, но зарегистрированные значения повышения индекса белизны существенно ниже, чем в проведенных ранее экспериментах *in vitro*. При этом для зубов с зарегистрированными выраженными увеличениями индекса белизны получено оценочное значение снижения дозовой эффективности фотомолекулярного отбеливания - в 1.7 раз по сравнению с эффективностью на начальном этапе отбеливания образцов зубов *in vitro*.

Разработана программа внедрения результатов НИР в образовательный процесс.

3. Назначение и область применения результатов проекта

1) *Описание областей применения полученных результатов (области науки и техники; отрасли промышленности и социальной сферы, в которых могут или уже используются полученные результаты или созданная на их основе инновационная продукция);*

Полученные результаты могут быть использованы в биологии и медицине, оптических когерентных измерениях в биомедицинских исследованиях; биофотонике, технологии биоимиджинга субклеточных структур, нанотехнологии в биомедицине.

2) *Описание направлений практического внедрения полученных результатов или перспектив их использования;*

Выполнение НИР должно обеспечивать достижение научных результатов мирового уровня, подготовку и закрепление в сфере науки и образования научных и научно-педагогических кадров, формирование эффективных и жизнеспособных научных коллективов, развитие международного сотрудничества в научно-технической сфере.

3) *Оценка или прогноз влияния полученных результатов на развитие научно-технических и технологических направлений; разработка новых технических решений; на изменение структуры производства и потребления товаров и услуг в соответствующих секторах рынка и социальной сферы.*

Разработанные методики позволят производить оценку морфо-функциональных свойств биологических тканей, что позволяет создавать производство измерительных комплексов на малых предприятиях.

4) *Описание ожидаемых социально-экономических и др. эффектов от использования товаров и услуг, созданных на основе полученных результатов (повышение производительности труда, снижение материало- и энергоёмкости производства, уменьшение отрицательного техногенного воздействия на окружающую среду, снижение риска смертности, повышение качества жизни и т.п.).*

Повышение эффективности анализа состояния живых систем в нормальном состоянии и при различных патологиях, что в будущем позволит повысить качество жизни.

5) *Описание существующих или возможных форм коммерциализации полученных результатов: организация производства продукции и/или оказание услуг, в том числе с образованием нового юридического лица или без него; заключение лицензионных договоров, заключение договоров уступки прав на РИД, либо указать: «Коммерциализация проектом не предусмотрена».*

Коммерциализация проектом не предусмотрена.

6) *Описание видов новой и усовершенствованной продукции (услуги), которые могут быть созданы или уже созданы на основе полученных результатов интеллектуальной деятельности (РИД); указание предполагаемых или фактических рынков сбыта (с указанием сегмента, емкости и доли рынка и прогноза развития рынков сбыта на 5 лет), прогнозируемых или фактических объемов продаж на внутреннем и внешних рынках, предполагаемых сроков окупаемости.*

На основе полученных результатов может проводиться диагностика состояния биологических тканей. Прогнозировать развитие рынка достаточно сложно ввиду необходимости проведения клинических испытаний и получения разрешения министерства здравоохранения на применение препаратов и методик.

4. Достижения молодых исследователей – участников Проекта

«В проекте принимал участие молодой исследователь Янина Ирина Юрьевна, аспирант. При ее непосредственном участии удалось осуществить липолиз жировой ткани методом фотодинамической терапии, а также разработать методики контроля липолиза, соответствующие мировому уровню в области медицины, что позволит использовать полученные результаты в медицине и продолжить исследования в направлении фотодинамической терапии»

«В проекте принимали участие молодые исследователи Скибина Юлия Сергеевна, с.н.с., Малинин Антон Владимирович, студент, аспирант, Занишевская Анастасия Андреевна, студент. При их непосредственном участии удалось осуществить разработку технологии и конструкции датчика концентрации глюкозы на основе фотонно-кристаллического волокна, а также методику контроля концентрации глюкозы в плазме крови, соответствующие мировому уровню в области медицины, что позволит использовать полученные результаты в медицине и продолжить исследования в направлении медицинской диагностики»

«В проекте принимал участие молодой исследователь Виленский Максим Алексеевич, вед. инженер. При его непосредственном участии удалось осуществить разработку метода спекл-коррелометрии полного поля для мониторинга микроциркуляции, полученные результаты соответствуют мировому уровню в области медицины, что позволит использовать полученные результаты в медицине и продолжить исследования в направлении медицинской оптики»

В проекте принимал участие молодой исследователь Лычагов Владислав Валерьевич, зав. лабораторией. При его непосредственном участии удалось осуществить разработку макета лабораторный макет дифракционного фазового микроскопа в частично когерентном свете для контроля изменения размера и формы эритроцитов, полученные результаты соответствуют мировому уровню в области медицины, что позволит использовать полученные результаты в медицине и продолжить исследования в направлении медицинской оптики».

5. Опыт закрепления молодых исследователей – участников Проекта (этапа проекта) в области науки, образования и высоких технологий

Информация о закреплении молодых исследователей – участников Проекта (зачисление в аспирантуру или принятие на работу в учреждения высшего профессионального образования, научные организации, предприятия оборонно-промышленного комплекса, энергетической, авиационно-космической, атомной отраслей и иных приоритетных для Российской Федерации отраслей промышленности, а также другие используемые формы закрепления кадров). Описание проблем, возникших в ходе закрепления молодых исследователей.

За время выполнения проекта принято в аспирантуру 12 человек, принято в научно-исследовательскую часть университета в качестве лаборантов и младших научных сотрудников 9 человек, принято на малое предприятие г. Саратова 2 чел.

6. Перспективы развития исследований

1) Информация о том, насколько участие в ФЦП способствовало формированию новых исследовательских партнерств. Участвует ли НОЦ в проектах по 7-й рамочной Программе Евросоюза (с указанием названия проектов и перечня партнеров по ним).

Исследования проходили в контакте с учеными США, Англии, Австралии, Кореи, Германии, Китая, Бельгии, Ирландии и других. Институт оптики и биофотоники СГУ – ассоциированный партнер-Center of Biophotonics Science and Technology (CBST) and

Canadian Institute for Photonics Innovation (CIPI). Выполняется проект «Network of excellence for biophotonics» по 7-й рамочной программе (Grant № 224014 PHOTONICS4LIFE of FP7-ICT-2007-2).

2) *Краткая информация о проектах НОЦ по аналогичной тематике.*

- «The developing of research infrastructure and approaches to optical point-of-care medical diagnostics», программа: Institutional Partnership (SCOPEs) EC Project Adkhamjon Paiziev, Uzbek Academy of Science, Uzbekistan, Martin Wolf, University Hospital Zurich, Switzerland
- «Biophotonic technologies for novel diagnostic and therapeutic applications», программа: FiDiPro Professor (Finland Distinguished Professor Program, awarded by TEKES for the period **2011-2014**, decision Dnro 3081/31/2010, § 32.20.40.2.4/11). Партнер: Risto Myllylä, University of Oulu
- Издание коллективной монографии – 20 глав, написанных ведущими специалистами из США, Европы, России, Китая, Индии Stoyan Tanev, Wenbo Sun, James Pond, Valery V. Tuchin, Vladimir P. Zharov, Optical Imaging of Cells with Gold Nanoparticle Clusters as Light Scattering Contrast Agents: A Finite-Difference Time-Domain Approach to the Modeling of Flow Cytometry Configurations, pp. 35-62. V.V. Tuchin, E.I. Galanzha, and V.P. Zharov, In vivo Image Flow Cytometry, pp. 387-433. V.V. Tuchin, E.I. Galanzha, and V.P. Zharov, In vivo Photothermal and Photoacoustic Flow Cytometry, pp. 501-571. Douplik A., Stratonnikov A., Zhernovaya O., Loshchenov V. “Modifications of Optical Properties of Blood during Photodynamic Reactions *In vitro* and *In vivo*”, pp. 627-698. Valery V. Tuchin (ed.), *Advanced Optical Cytometry: Methods and Disease Diagnoses*: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2011-2012

3) *Информация о том, сотрудничество с какими странами и исследовательскими центрами может способствовать наибольшей отдаче для развития в России технологий в области исследования, а также для выхода российской продукции на региональные и глобальные рынки.*

США, университет Хьюстона; научный центр Бельгии; LG Electronics (Республика Корея); Институт прикладной физики, Италия

7. Сведения в табличном формате:

Сведения о результатах интеллектуальной деятельности, полученных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)	Приложение 1 к аннотации
Сведения о публикациях, выпущенных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)	Приложение 2 к аннотации
Сведения о диссертациях, подготовленных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)	Приложение 3 к аннотации
Сведения о выступлениях на конференциях, проведенных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)	Приложение 4 к аннотации
Сведения о внедрении результатов проекта в образовательный процесс, полученных в ходе исполнения Государственного контракта (этапа проекта)	Приложение 5 к аннотации
Сведения об исполнителях	Приложение 6 к аннотации

Государственного контракта (этапа проекта)	
--	--

Руководитель работ по проекту

Заведующий кафедрой
оптики и биофотоники СГУ

_____ В.В. Тучин

Руководитель организации-исполнителя:

Ректор Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
профессионального образования
«Саратовский государственный университет
имени Н.Г.Чернышевского»

_____ Коссович Л.Ю.