

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДОЗИМЕТРИЯ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Изучаются процессы релаксации долгоживущих фотовозбуждений флуорофоров в тканях в присутствии диффузионно-подвижного кислорода. Практический интерес эта тематика имеет в связи с активной разработкой методов фотодинамической терапии (ФДТ) и оптической диагностики (ОД) тканей.

Экспериментально *in vitro* исследовались особенности замедленной флуоресценции (ЗФ) и фосфоресценции (ФФ) эритрозина в тканях мышей линии BYRB (как с опухолями молочной железы, так и здоровых). Установлена определяющая роль диффузионно-подвижного молекулярного кислорода в процессах дезактивации триплет-возбужденных долгоживущих состояний молекул красителя в клетках. Обнаружен не описанный ранее эффект подавления ЗФ в процессе импульсно-периодического возбуждения люминесценции образца лазерными импульсами (Световое Тушение ЗФ, СТЗФ). Обнаружена статистически достоверная разница в характере ЗФ и в степени СТЗФ флуорофоров в здоровых тканях и в тканях с патологией.

Использование явления СТЗФ позволяет существенно упростить диагностику патологий и определение «дозы» излучения при фотодинамической терапии (ФДТ) непосредственно во время сеанса лечения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, оптическая диагностика патологий, флуорофоры, замедленная флуоресценция.

Сведения о вкладе различных конкурирующих каналов в релаксацию долгоживущих фотовозбуждений флуорофоров в биотканях важны для разработки методов ФДТ и оптической диагностики (ОД) состояния тканей. Для ФДТ наибольший интерес представляют процессы, сопровождающиеся генерацией синглетного кислорода $^1\Delta_g(O_2)$. Такой кислород образуется при тушении триплетных состояний фотосенсибилизаторов молекулярным кислородом [1]–[5].

Эффективность образования $^1\Delta_g(O_2)$ можно оценить, исследуя кинетику затухания ЗФ флуорофоров в среде. Если в качестве флуорофора выбрать соединение с небольшим синглет-триплетным расщеплением (например, органический краситель), то вклад в экспериментально регистрируемую ЗФ дадут [6]:

– термоактивированная замедленная флуоресценция (ТЗФ), вызванная обратной интеркомбинационной конверсией в молекулах;

– ЗФ, возникающая в результате аннигиляции двух триплет-возбужденных молекул флуорофора (триплет-триплетная аннигиляция, ТТА);

– ЗФ, возникающая в результате аннигиляции триплет-возбужденных молекул флуорофора с синглетным кислородом (синглет-триплетная аннигиляция, СТА).

Другой тип длительной люминесценции молекул – фосфоресценция (ФФ). Это свече-

ние обусловлено радиационной релаксацией при переходах между состояниями различной мультиплетности – для триплетных состояний люминофора это переход в основное синглетное состояние, для $^1\Delta_g(O_2)$ – переход в основное триплетное состояние.

Кинетику ЗФ можно описать следующей системой уравнений:

$$I_{pp} = A_1 n_T(t), \quad (1)$$

$$I_{DF} = B_1 n_T(t) + B_2 n_T^2(t) + B_3 n_T(t) n_\Delta(t), \quad (2)$$

$$I_\Delta = C_1 n_\Delta(t) \quad (3)$$

где I_{DF} – интенсивность ЗФ красителя, I_{pp} – интенсивность ФФ красителя, I_Δ – интенсивность ФФ синглетного кислорода, A_1, B_1, B_2, B_3, C_1 – независимые от времени коэффициенты, $n_T(t)$ – концентрация триплетных состояний молекул красителя, $n_\Delta(t)$ – концентрация синглетного кислорода.

Если в качестве экзогенного флуорофора использовать анионный краситель эритрозин, то вклад ТТА в общий сигнал ЗФ крайне мал и практически незаметен на фоне ТЗФ и СТА [6]. По-видимому, локализация молекул красителя на органеллах сильно ограничивает их подвижность и ТТА существенна только на очень коротких отрезках времени на начальной стадии процесса.

В неживых однородных средах эти процессы довольно подробно изучены как экспериментально, так и теоретически [1–5]. Результаты этих исследований можно применять для развития ОД и ФДТ, однако неоднородность биологических структур и нелинейность оптических свойств флуорофоров в них существенно ограничивают возможности применения простых моделей. Определение механизмов релаксации триплетных состояний эндогенных или экзогенных флуорофоров *in vivo* осложняется широким спектром возможных локализаций флуорофоров и тушителей их возбуждений, включая кислород.

Важнейшая проблема ФДТ - подбор оптимальной дозы облучения, т.к. здоровые ткани также подвержены фотодинамическому действию, и поэтому эффективная доза во время сеанса ФДТ должна быть контролируемо ограничена. Решению этой проблемы посвящено немало работ [7]–[10]. Главной задачей является определение выхода главного фотодинамического агента – синглетного кислорода.

Прямой метод детектирования $^1\Delta_g(O_2)$ основан на регистрации его фосфоресценции [11]–[14], интенсивность которой пропорциональна $n_\Delta(t)$ (3). К сожалению, этот метод имеет ограниченные возможности из-за низкого квантового выхода ФФ синглетного кислорода и малой эффективности фотоприемников в ближнем ИК-диапазоне.

Среди косвенных методов дозиметрии выделяют использование особых молекулярных зондов-индикаторов [15]–[18], фотофизические свойства которых меняются в ходе химических реакций с синглетным кислородом, однако такие индикаторы выводят часть синглетного кислорода из целевого процесса ФДТ. Кроме того, часто локализация таких зондов в клетке не совпадает с локализацией сенсibilизатора.

Косвенно оценить количество произведенного синглетного кислорода можно вычислительным путем [19]–[22], имея в распоряжении табулированные кривые замедленной флуоресценции и фосфоресценции красителя, которые можно наблюдать во время сеанса ФДТ при импульсном лазерном возбуждении. В этой методике не требуется регистрировать слабое ИК свечение синглетного кислорода или использовать дополнительные реагенты с отдельным

измерением их характеристик. Однако для расчетов требуется значительное время и поэтому использовать такую методику непосредственно во время лечения затруднительно.

В связи с этим поиск новых эффективных методик дозиметрии в ФДТ остается актуальным.

Привлекательностью метода дозиметрии, основанного только на анализе длительной люминесценции сенсibilизатора, инициировано продолжение серии экспериментов, начатых в работах [6], [23]–[25] по регистрации длительной люминесценции эритрозина в нормальных и сапсег-тканях мышей. Обнаружено явление, на основе которого может быть построена *real-time* методика дозиметрии в ФДТ, в которой доза израсходованного в химических реакциях кислорода оценивается по характеристикам люминесценции фотосенсibilизатора.

Материалы и методы

Исследовались ткани лабораторных мышей линии BYRB, у самок которых на определенной стадии возникают спонтанные однотипные злокачественные опухоли молочных желез. Исследования проводились *in vitro*, образцы получали хирургическим путем из тканей молочных желез, печени и легких больных и здоровых животных. Окрашивание тканей проводилось на стеклах с использованием водного раствора фотосенсibilизатора с концентрацией $\sim 10^{-3}$ М. Образцы помещались в специальную герметизированную камеру, в которой можно регулировать температуру и содержание кислорода в воздухе.

В качестве фотосенсibilизатора использовался эритрозин – витальный ксантеновый краситель, который широко используется в гистологии и рассматривается в качестве фотосенсibilизатора для ФДТ опухолей полости рта. Особенности такого красителя являются хорошая растворимость в воде, способность проникать через цитоплазматические мембраны внутрь клеток, накапливание в ткани за счет связывания с белками, высокий квантовый выход в триплетное состояние [26]–[27].

Для возбуждения длительной люминесценции использовалась вторая гармоника (532 нм) импульсного твердотельного лазера LQ-129 на YAG:Nd³⁺. В качестве фотоприемника исполь-

зовался фотоумножитель ФЭУ-84-3, имеющий специальный электрод для управления чувствительностью.

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 показаны нормированные кинетические кривые ЗФ (кривая ЗФ, $\lambda = 570$ нм) и ФФ (кривая ФФ, $\lambda = 680$ нм) окрашенной эритрозином ткани молочной железы мыши.

На участке $t > 100$ мкс кривые имеют моноэкспоненциальный характер. Подобное поведение характерно для ситуации, когда триплетные возбуждения релаксируют независимо друг от друга. В рассматриваемой ситуации характер кривых можно интерпретировать как естественный распад триплетных состояний в присутствии тушителей. При этом в выражении (2) остается только первое слагаемое, и интенсивность ЗФ становится пропорциональной интенсивности ФФ, что и определяет одинаковый наклон кривых на рисунке 1. Заметим, что соответствующее этому наклону время жизни составляет ~ 350 мкс, что неожиданно много для среды, открытой на атмосферу и на 80 % состоящей из воды, в которой послесвечение эритрозина без деаэрации наблюдать обычно не удается. На начальном участке $t < 100$ мкс кинетика ЗФ и ФФ различна, т.е. возникновение ЗФ на этом участке не может быть объяснено только термоактивированной обратной интерконверсией из триплетных состояний.

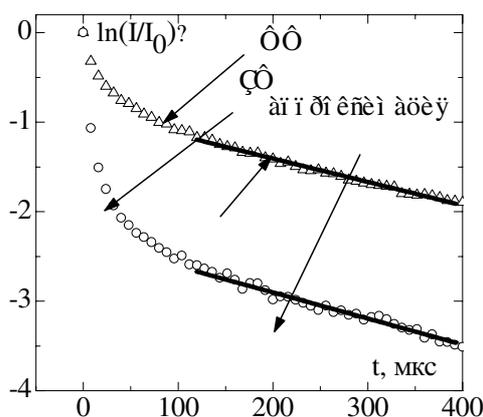


Рисунок 1. Кинетические кривые длительной люминесценции окрашенных образцов молочной железы мыши

Характер затухания длительной люминесценции на начальной стадии процесса в основном обусловлен реакциями СТА. Прямым доказательством участия кислорода в указанных процессах являются данные, приведенные на рисунке 2, где показаны кривые ЗФ эритрозина в тканях ($\lambda = 570$ нм) при разных временах инкубации образца в проточном газообразном азоте. С увеличением времени инкубации концентрация кислорода в клетках постепенно уменьшается.

Из рисунка видно, что на начальном участке кинетики (примерно до 20 мкс) интенсивность ЗФ падает по мере уменьшения насыщения тканей кислородом. В условиях наших экспериментов после 180 с инкубации интенсивность ЗФ составляет всего 10% от исходной величины. После замены азота атмосферным воздухом форма кривой и интенсивность ЗФ практически полностью восстанавливаются.

Это свидетельствует об определяющей роли кислорода в процессе формирования сигнала ЗФ на начальном участке (до 10–20 мкс) (третье слагаемое в (2)). Другой вывод состоит в том, что биологические ткани наших образцов являются в определенной степени кислородопроницаемыми. Однако для их заметного насыщения (обеднения) кислородом требуется время порядка несколько секунд, что много больше, чем наблюдаемая длительность ЗФ флуорофоров (десятки микросекунд).

Известно, что синглетный кислород в ходе ФДТ расходуется на химическое окисление тка-

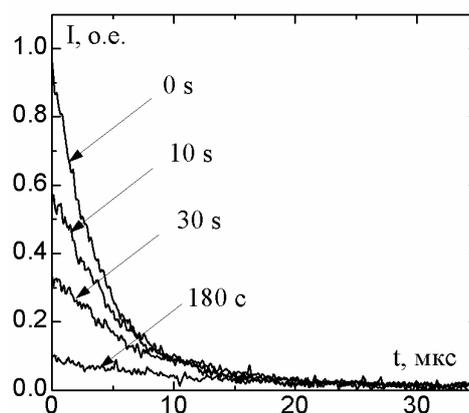


Рисунок 2. Зависимость вида кинетических кривых затухания флуоресценции эритрозина в тканях молочной железы от продолжительности инкубации образца в азоте.

невых компонентов [28]–[31]. В результате количество свободного диффузионно-подвижного кислорода, необходимого для реакции СТА, уменьшается.

Поэтому можно ожидать снижения интенсивности ЗФ, если убыль подвижного кислорода в ходе химических реакций окисления в процессе ФДТ не будет компенсирована за счёт диффузии из близлежащих областей.

На рисунке 3 показаны кинетические кривые ЗФ эритрозина в опухоли молочной железы мыши, полученные в серии ограниченного числа возбуждающих лазерных импульсов, следующих через равные временные промежутки в 200 мс.

Каждая последующая кривая ЗФ по амплитуде меньше предыдущей – четвертая по амплитуде составляет лишь 60 % от первой. При повторном (после паузы в несколько секунд) облучении окрашенной ткани той же серией импульсов все кривые ЗФ воспроизводятся. Это свидетельствует о том, что фотохимическое «выгорание» красителя не играет существенной роли в наблюдаемом тушении ЗФ, и концентрация люминофора в течение нескольких актов облучения остаётся практически неизменной.

Эффект тем заметнее, чем больше энергия возбуждающих импульсов и чем меньше период их следования. Если временной промежуток между импульсами в серии превышает 10 секунд, то «проседание» ЗФ исчезает. В атмосфере азота интенсивность кинетических кривых не меняется от импульса к импульсу и описанное явление СТЗФ не наблюдается.

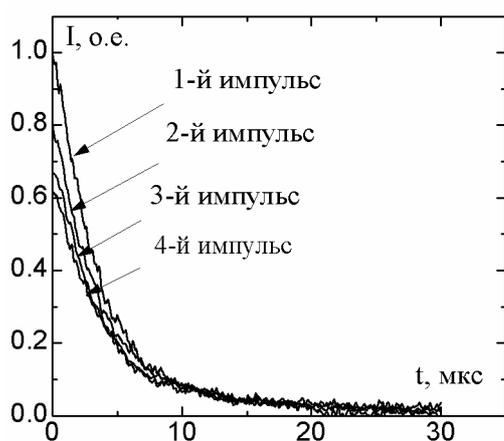


Рисунок 3. Кинетика затухания ЗФ эритрозина в ткани опухоли молочной железы мыши. Кривые получены в серии импульсов возбуждения с периодом $T = 0.2$ с.

Поскольку интенсивность ЗФ в образце на коротких временах определяется в основном эффективностью СТА, то причиной СТЗФ может быть нарастающий с каждым импульсом дефицит концентрации молекулярного кислорода в тканях по аналогии с эффектом, изображенным на рисунке 2. Поэтому можно утверждать, что СТЗФ обусловлено:

- быстрым расходом синглетного кислорода (в т. ч. на окисление внутриклеточных элементов) в течение 10-15 мкс после каждого импульса возбуждения;
- сравнительно медленным восстановлением исходной концентрации кислорода в непосредственной близости от триплет-возбужденных молекул красителя в течение паузы между импульсами.

Таким образом, последовательное изменение амплитуды и формы сигнала ЗФ после каждого импульса можно сопоставить затратам кислорода на окисление окружения. Иначе говоря, СТЗФ может служить индикатором эффективности фотодинамического действия, причем оценка эффективности возможна в процессе самого лечения.

В подавляющем большинстве экспериментов описанный эффект СТЗФ регистрировался в пораженных тканях. В тканях с отсутствием видимой патологии при таком же характере возбуждения в 90% случаев изменений в характере серии кривых ЗФ не наблюдалось, что может позволить обнаруживать опухоли на самой ранней стадии их зарождения.

Эффективность фотодинамического действия, вызванного коротким одиночным лазерным импульсом можно оценить как

$$\Delta E = Q \int_{\Delta t} n_{\Delta}(t) dt, \quad (4)$$

где E - масса окисленного содержимого, Q - размерный коэффициент, $n_{\Delta}(t)$ – концентрация синглетного кислорода, Δt – время присутствия синглетного кислорода в клетке. Здесь предполагается, что концентрация мишеней для окисления остается неизменной.

Если обозначить через E^* массу содержимого, окисленного следующим импульсом, то

$$\Delta E = E - E^* \quad (5)$$

дает изменение эффективности фотодинамического действия во время импульсной лазерной последовательности, применяемой при лечении. Учитывая, что в клетках имеются места локализации, различающиеся по доступности молекулярного кислорода к фотосенсибилизатору, можно показать, что

$$\Delta E = Q \int_{\Delta t} [n_{\Delta}(t) - n_{\Delta}^*(t)] dt = \frac{Q}{B_3 \Delta t} \int \frac{I_{DF}(t) - I_{DF}^*(t)}{n_{T-L}(t)} dt,$$

где n_{T-L} - концентрация триплетных возбужденных, локализованных в малодоступных для кислорода областях. Звездочкой помечены концентрация синглетного кислорода и интенсивность ЗФ, соответствующие второму импульсу возбуждения.

Это выражение не дает непосредственного значения эффективности процесса ФДТ, однако из него видно, что наблюдая за разницей $I_{DF}(t) - I_{DF}^*(t)$, можно судить о влиянии параметров облучения (энергия и частота импульсов) на эффективность лечения.

Таким образом, использование явления СТЗФ в фотодинамической терапии может ока-

заться продуктивным. Поскольку измерение $I_{DF}(t) - I_{DF}^*(t)$ не представляет технических трудностей, предлагаемая методика дает возможность оценки эффективности лечения прямо во время сеанса.

Заключение

Незначительный вклад триплет-триплетной аннигиляции в ЗФ флуорофоров в биотканях дает основания считать большую часть красителя связанным органеллами клеток и лишенным подвижности. Среди процессов, определяющих кинетику ЗФ Эр в биотканях, заметными остаются только термоактивированная обратная интерконверсия в синглетное состояние и синглет-триплетная аннигиляция с участием синглетного кислорода.

По-видимому, в окрашенных тканях имеются по меньшей мере два типа локализаций молекул эритрозина, чем и обусловлен их различный вклад в длительную люминесценцию. Условия локализации определяют разницу в скорости безызлучательной дезактивации триплетных состояний и доступности молекулярного кислорода к красителю.

09.10.2015

Список литературы:

1. Красновский А.А. (мл.) Фотодинамическое действие и синглетный кислород // Биофизика. - 2004. - Т.49. - вып.2. - С. 305-321.
2. Егоров С.Ю., Зинуков С.В., Камалов В.Ф., Коротеев Н.И., Красновский А.А. (мл.), Толеутаев Б.Н. Измерение кинетики фотосенсибилизированной люминесценции синглетного молекулярного кислорода с наносекундным разрешением // Оптика и спектроскопия. - 1988. - Т.65. - вып.4. - С. 899-903.
3. Красновский А.А. (мл.) Фотосенсибилизированная фосфоресценция синглетного молекулярного кислорода: методы измерения и применение к анализу механизмов фотодеструктивных процессов в клетках // Успехи биологической химии. - 1999. - Т.39. - С. 255-288.
4. Кучеренко М.Г. Кинетика нелинейных фото процессов в конденсированных молекулярных системах / Оренбург: ОГУ, 1997. - 386 с.
5. Кучеренко М.Г. О кинетике реакции синглетного кислорода с неподвижными сенсibilизаторами // Хим. физ. - 2001. - Т. 20. - № 3. - С. 31-36.
6. Letuta S.N., Kuvandykova A.F., Pashkevich S.N., Saletskii A.M. Features of the delayed fluorescence kinetics of exogenous fluorophores in biological tissues // Russian Journal of Physical Chemistry A. - 2013. - V. 87. - P. 1582-1587.
7. Woodhams J.H., MacRobert A.J., Bown S.G. The role of oxygen monitoring during photodynamic therapy and its potential for treatment dosimetry // Photochem. Photobiol. Sci. - 2007. - V. 6. - P. 1246-1256.
8. Jarvi M.T., Patterson M.S., Wilson B.C. Singlet Oxygen Luminescence Dosimetry (SOLD) for Photodynamic Therapy: Current Status, Challenges and Future Prospects // Biophys. J. - 2012. - V. 102. - P. 661-671.
9. Mallidi S., Anbil S., Lee S., Manstein D., Elrington S., Kosiratna G., Schoenfeld D., Pogue B., Davis S.J., Hasan T. Photosensitizer fluorescence and singlet oxygen luminescence as dosimetric predictors of topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy induced clinical erythema // J. Biomed. Opt. - 2014. - V. 19(2). - P. 028001.
10. Celli J.P., Spring B.Q., Rizvi I., Evans C.L., Samkoe K.S., Verma S., Pogue B.W., Hasan T. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization // Chem. Rev. - 2010. - V. 110. - P. 2795-2838.
11. Niedre M., Patterson M. S., Wilson B.C. Imaging of photodynamically generated singlet oxygen luminescence in vivo // Photochem. Photobiol. - 2002. - V. 75. - P. 382-391.
12. Snyder J.W., Skovsen E., Lambert J.D.C., Poulsen L., Ogilby P.R. Optical detection of singlet oxygen from single cells // Phys. Chem. Chem. Phys. - 2006. - V. 8. - P. 4280-4293.
13. Li B., Lin H., Chen D., Wilson B.C., Gu Y. Singlet oxygen detection during photosensitization // J. Innov. Opt. Health Sci. - 2013. - V. 6. - P. 1330-1332.
14. Mik E.G., Johannes T., Zuurbier C.J., Heinen A., Houben-Weerts J.H.P.M., Balestra G.M., Stap J., Beek J.F., Ince C. In vivo mitochondrial oxygen tension measured by a delayed fluorescence lifetime technique // Biophys. J. - 2008. - V. 95. - P. 3977-3990.
15. Ragas X., Jimenez-Banzo A., Sanchez-Garcia D., Batllori X., Nonell S. Singlet oxygen photosensitisation by the fluorescent probe Singlet Oxygen Sensor Green // Chem. Commun. - 2009. - V. 20. - P. 2920-2922.

16. Gollmer A., Arnbjerg J., Blaikie F. H., Pedersen B. W., Breitenbach T., Daasbjerg K., Glasius M., Ogilby P. R. Singlet Oxygen Sensor Green: photochemical behavior in solution and in a mammalian cell // *Photochem. Photobiol.* - 2011. - V. 87. - P. 671–679.
17. Flors C., Fryer M. J., Waring J., Reeder B., Bechtold U., Mullineaux P. M., Nonell S., Wilson M. T., Baker N. R. Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor // *J. Exp. Bot.* - 2006. - V. 57. - P. 1725–1734.
18. Shen Y., Lin H., Huang Z., Chen D., Li B., Xie S. Indirect imaging of singlet oxygen generation from a single cell // *Laser Phys. Lett.* - 2011. - V. 8. - P. 232–238.
19. Piffaretti F., Novello A. M., Kumar R. S., Forte E., Paulou C., Nowak-Sliwinska P., van den Bergh H., Wagnieres G. Real-time, in vivo measurement of tissular pO₂ through the delayed fluorescence of endogenous protoporphyrin IX during photodynamic therapy // *Journal of Biomedical Optics.* - 2012. - V. 17 (11). - P. 115007.
20. Kor?nek M., Dedic R., Molnar A., Hala J. The Influence of Human Serum Albumin on The Photogeneration of Singlet Oxygen by meso-Tetra(4-Sulfonatophenyl)Porphyrin. An Infrared Phosphorescence Study // *Journal of Fluorescence.* - 2006. - V. 16. - P. 355–359.
21. Scholz M., Dedic R., Breitenbach T., Hala J. Singlet oxygen-sensitized delayed fluorescence of common water-soluble photosensitizers // *Photochem. Photobiol. Sci.* - 2013. - V. 12. - P. 1873–1884.
22. Sterenborg H. J. C. M., de Wolf J. W., Koning M., Kruijt B., van den Heuvel A., Robinson D. J. Phosphorescence-Fluorescence ratio imaging for monitoring the oxygen status during photodynamic therapy // *Optics Express.* - 2004. - V. 9 (12). - P. 1873–1878.
23. Летуа С.Н., Кувандыкова А.Ф., Пашкевич С.Н., Салецкий А.М. Лазерное инициирование замедленной флуоресценции экзогенных флуорофоров в биологических тканях // *Вестник ОГУ.* - 2012. - Т. 12 (148). - С. 117–121.
24. Летуа С.Н., Маряхина В.С., Пашкевич С.Н., Рахматуллин Р.Р. Кинетика длительной люминесценции молекулярных зондов в клетках биологических тканей // *Вестник ОГУ.* - 2011. - Т. 1 (120). - С. 182–186.
25. Летуа С.Н., Маряхина В.С., Пашкевич С.Н., Рахматуллин Р.Р. Длительная люминесценция органических красителей в клетках биологических тканей // *Оптика и спектроскопия.* - 2011. - Т. 110. - С. 72–75.
26. Redmond R. W., Gamlin J. N. A Compilation of Singlet Oxygen Yields from Biologically Relevant Molecules // *Photochem. and Photobiol.* - 1999. - V. 70(4). - P. 391-475.
27. Veuthey T., Herrera G., Doderio V. I. Dyes and Stains: from molecular structure to histological application // *Frontiers in Bioscience.* - 2014. - V. 19. - P. 91–112.
28. Узденский А.Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии / СПб.: Наука. - 2010. - С. 20.
29. Baker A., Kanofsky Jr. Quenching of singlet oxygen by biomolecules from L1210 leukemia cells // *Photochem Photobiol.* - 1992. - V. 55. - P. 523-528.
30. Baraton M. I. *Sensors for Environment, Health and Security* / Springer Science + Business Media B.V. - 2009. - P. 295-309.
31. Buettner G. R. Molecular targets of photosensitization // *Free radical and Radiation Biology & ESR Facility, MEd labs B180, 14/04/11.* Режим доступа: <http://www.photobiology.info/Buettner.html>

Сведения об авторах:

Летуа Сергей Николаевич, проректор по научной работе Оренбургского государственного университета, доктор физико-математических наук, профессор, e-mail: letuta@com.osu.ru

Ишемгулов Азамат Толгатович, аспирант Оренбургского государственного университета, e-mail: darium@bk.ru

Пашкевич Сергей Николаевич, директор ЦКП ИМНТ Оренбургского государственного университета, кандидат физико-математических наук, доцент, e-mail: ppsnya@yandex.ru.

Лантух Юрий Дмитриевич, доцент кафедры биофизики и физики конденсированного состояния Оренбургского государственного университета, кандидат физико-математических наук, доцент, e-mail: lantukh@yandex.ru.

Алиджанов Эскендер Куртаматович, доцент кафедры биофизики и физики конденсированного состояния Оренбургского государственного университета, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, e-mail: ekaalid@yandex.ru.

Сокабаева Саня Серекбаевна инженер кафедры биофизики и физики конденсированного состояния Оренбургского государственного университета, e-mail: sania.sokabaeva@gmail.com

460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, ауд. 2131, e-mail: ppsnya@yandex.ru