

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

**«Исследование микроциркуляции крови методом анализа
контраста лазерных спеклов»**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 2 курса 254 группы

03.04.02 «Физика» (Физика оптических и лазерных явлений)

Физического факультета

Небритовой Ольги Александровны

Научный руководитель

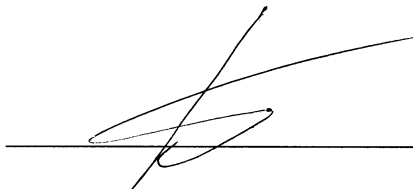
доцент, к.ф.-м.н.



И.В. Федосов

Заведующий кафедрой

профессор, д.ф.-м.н.



В.В. Тучин

Саратов 2017

Введение

Актуальность работы:

Наблюдение динамики микроциркуляции крови является важной задачей для современной медицинской диагностики. Это связано с тем, что многочисленные заболевания сердечно-сосудистой системы, хроническая венозная недостаточность, сахарный диабет и прочие, провоцируют изменения в капиллярном кровотоке. Дефекты на уровне микро- и макроциркуляции составляют базу для формирования стресс-индуцированных заболеваний. Выявление патологий гемодинамики и структуры капиллярного кровотока является необходимым условием для принятия медицинского решения, как на стадии диагностики, так и в процессе лечения[1][2]. В настоящее время методы контраста лазерных спекл привлекают все больший интерес [3][4]. Методы контраста лазерных спекл основаны на пространственной и временной статистике спекл. Движение частиц в освещенной среде приводит к отклонениям спекл на детекторе. Эти флуктуации интенсивности размывают изображение и уменьшает контраст до такой степени, что связаны со скоростью рассеивающих объектов. К примеру, перемещение эритроцитов. С помощью спекл-микроскопии проводится оценка изменений контраста спекл-картин для отдельных капилляров.

Целью выпускной квалификационной работы является изучение влияния лазерной окклюзии сосуда на микроциркуляцию крови в сосудистой системе методом анализа контраста лазерных спеклов.

Задачи работы:

- разработка оптической системы регистрации спекл - изображений отдельных сосудов;
- разработка программного обеспечения для регистрации и обработки экспериментальных данных;

- проведение экспериментов с тест – объектами и с живыми биологическими объектами.

Научная новизна работы: изучено влияние лазерной окклюзии сосуда на микроциркуляцию крови в сосудистой системе куриного эмбриона методом анализа контраста лазерных спеклов; разработана оптическая система регистрации спекл - изображений отдельных сосудов и программное обеспечение для регистрации и обработки экспериментальных данных; проведены эксперименты с тест – объектами и с живыми биологическими объектами.

Структура и объём ВКР.

Магистерская выпускная квалификационная работа состоит из введения, шести глав, заключения и списка литературы, состоящего из 58 наименований, приложения. Материалы работы изложены на 50 страницах, содержащих 20 рисунков.

В Главе 1 Оптические методы исследования микроциркуляции крови описаны существующие методы регистрации и визуализации микроциркуляции крови (раздел 1.1), методы, основанные на спекл-визуализации (раздел 1.2). Раздел 1.2.1 и 1.2.2 посвящены вопросу о контрасте спекл и связи спекл-контраста и распределением скоростей частиц.

Глава 2 Метод анализа контраста лазерных спеклов посвящен описанию метода, показан схематический общий вид установки lasca, ограничения метода, усовершенствования метода и экспериментальной установки, предложенные в научных публикациях.

В главе 3 Биомедицинские приложения описано применения метода анализа контраста лазерных спеклов *in vivo* для изучения кровотока на различных биологических объектах (таких как крыса, белая лабораторная мышь, хориоаллантойдная мембрана куриного эмбриона), для диагностирования глубины ожога, ретинального кровотока и т.д.

Глава 4 Экспериментальная установка описана оптическая система захвата и обработки изображения (рисунок 1), состоящую из цифрового микроскопа, одномерной фокусирующей подвижки, неподвижного основания, предметного столика, также для создания спекл-структуры на поверхности исследуемого объекта используется рассеянное лазерное излучение от лазера с длиной волны 650 нм и мощностью 30 мВ. Для создания локальной окклюзии микрососуда используется лазер с длиной волны 405 нм и мощностью 60 мВ. Система «микроскоп – лазер 405нм» съюстирована с помощью микрометрических винтов на подвижке, в которой закреплен лазер. Лазерный луч сфокусирован на микрососуд. Поле зрения микроскопа в плоскости объекта составляет 2400 x 2000 мкм. Изображение микрососудов регистрировалось при помощи микроскопа, состоящего из объектива (увеличение x3, числовая апертура NA = 0,11, $d = 3,6$ мкм, длина тубуса 160), цилиндрического тубуса и цифровой монохромной КМОП камеры DCC1545M (Thorlabs, Германия), разрешением 1280 x 1024 пикселей интерфейсом USB2.0. Камера подключалась к персональному компьютеру, при помощи которого осуществлялось отображение и обработка изображений микрососудов. Фокусировка микроскопа на исследуемом объекте производилась перемещением тубуса вдоль оптической оси при помощи винтового юстировочного устройства, установленного на неподвижном основании.

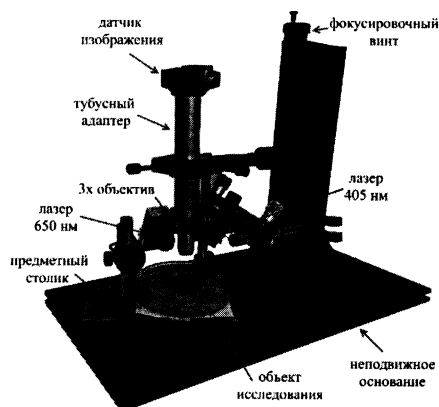


Рисунок 1 – Экспериментальная установка для визуализации микрососудов

На данном этапе исследований отработка методов регистрации и обработки изображений производилась на поверхностных микрососудах куриного эмбриона. Шестидневный куриный эмбрион, после извлечения из скорлупы, помещается в чашу Петри, после чего на подвижный предметный столик (рисунок 2).

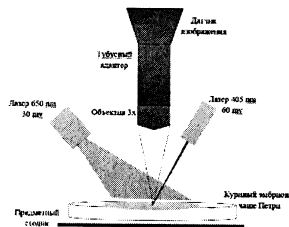


Рисунок 2 - Схематичное изображение исследования куриного эмбриона.

Выбор исследуемого участка сосудистой системы осуществлялся перемещением всей оптической части микроскопа в трёхмерной плоскости. Перемещения осуществлялись посредством вращения микрометрических винтов. Регистрация изображений микрососудов производилась с помощью программного обеспечения (рисунок 3), разработанного в среде программирования LabVIEW 8.5 Professional Development System (National Instruments, США).

В Главе 5 Объект исследования описана система для исследования зависимости контраста от скорости с применением стеклянного капилляра и живой объект для исследования - куриный эмбрион 5-го – 7-го дня инкубации.

Глава 6 Результаты и обсуждения содержит три подпункта.

В 6.1 Исследование зависимости контраста от скорости при разных значениях экспозиции выводится зависимость контраста от скорости при различных значениях экспозиции (рисунок 3) . По рисунку 3 можно сделать вывод, что значение скорости максимально при самой минимальной экспозиции.

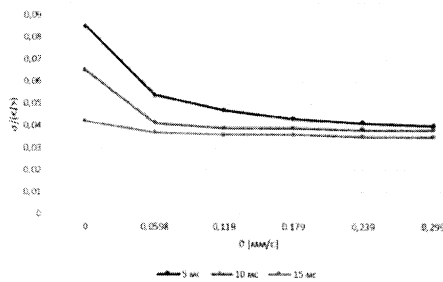


Рисунок 3 – Зависимость контраста от скорости при различных значениях экспозиции

В 6.2 Исследование профиля скорости представлен профиль (рисунок 4б) спекл-контраста вдоль зеленой линии изображенной на рисунке 4 а. Видно, что в пристеночной области скорость жидкости уменьшается, во всей остальной области прослеживается равномерное распределение скорости жидкости. Результат согласуется с теоретической моделью для капилляра заданного диаметра.

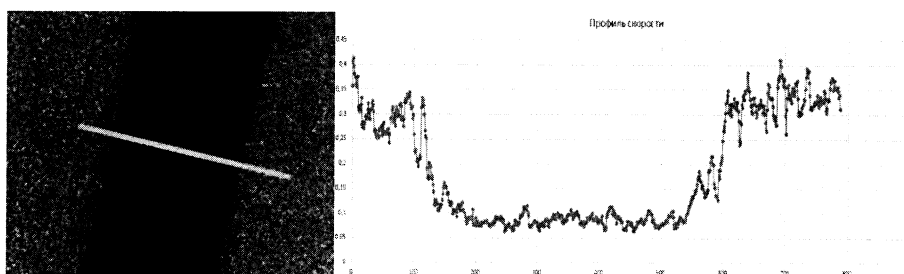


Рисунок 4 а – стеклянный капилляр как тест-объект; Рисунок 4 б - Профиль спекл-контраста вдоль зеленой линии.

В 6.3 Исследование микроциркуляции крови куриного эмбриона методом анализа контраста лазерных спеклов описана серия экспериментов до и после окклюзии сосуда. Окклюзия сосуда совершается лазером (длиной волны 405 нм и мощностью 60 мВ) . Показано перераспределение крови в сосуде после окклюзии на основании значения контраста спекл в контрольных точках (рисунок 5 а, б). Значение контраста было получено усреднением

значения контраста по 100 кадрам. Усреднение результатов используется для учета влияния изменения крови при пульсации.



Рисунок 5 а, б – Сосудистое ветвление со значениями контраста до и после окклюзии.

Также из полученных экспериментальных данных можно определить частоту пульса по динамике изменения контраста спеклов во времени (рисунок 6).

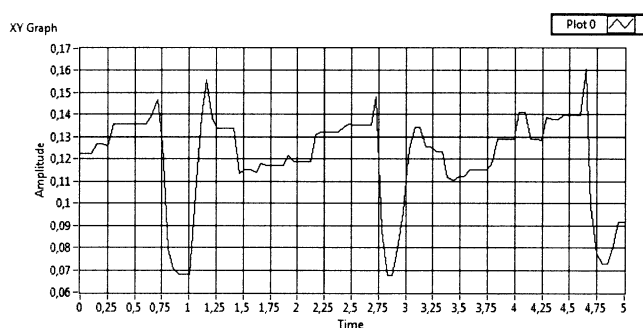


Рисунок 6 – Биение сердца куриного эмбриона 6-го дня инкубации

На другом участке сосудистой системы анализировали изменение контраста во времени в трех различных точках вдоль одного сосуда до и после окклюзии. Изменения скорости крови на данном участке сосуда происходят без значительной временной задержки.

Заключение

В данной выпускной квалификационной работе применяется оптический *in-vivo* метод измерения микроциркуляции крови. Представлены результаты исследования поверхностных микрососудов куриного эмбриона 5го – 7-го дня инкубации, проведенные с использованием метода анализа контраста лазерных спеклов.

Цель выпускной квалификационной работы изучение влияния лазерной окклюзии сосуда на микроциркуляцию крови в сосудистой системе методом анализа контраста лазерных спеклов достигнута в полном объеме.

В ходе выполнения работы:

- разработана оптическая система регистрации спекл - изображений отдельных сосудов;
- разработано программное обеспечение для регистрации и обработки экспериментальных данных;
- проведены эксперименты с тест – объектами и с живыми биологическими объектами.

В ходе проведенных экспериментов были получены результаты:

- значение скорости максимально при самой минимальной экспозиции;
- в пристеночной области скорость жидкости уменьшается, во всей остальной области прослеживается равномерное распределение скорости жидкости. Результат согласуется с теоретической моделью для капилляра заданного диаметра;
- значение контраста было получено усреднением значения контраста по 100 кадрам. Усреднение результатов используется для учета влияния изменения крови при пульсации.
- сосуд, который подвергался лазерной окклюзии виден на исходном изображении, однако изображение, обработанное методом анализа контраста лазерных спеклов указывает на отсутствие кровотока в нём. По значениям контраста можно судить о перераспределении крови в сосудистой системе после окклюзии;

Методы, основанные на спекл-контрасте, имеют преимущества по сравнению с лазерной доплеровской визуализации перфузии (LDPI). Для метода спекл-контраста требуется только один или несколько кадров, чтобы определить перфузии тканей, что делает его быстрым методом. Также требуется камера с низкой частотой кадров, что делает метод недорогим.

Таким образом, LASCA представляет собой работающий в реальном времени полнополевой, неинвазивный и бесконтактный метод изображения потоков, таких как капиллярный кровоток. В методе используется доступное оборудование и удобное для пользователя математическое обеспечение.

Основной недостаток LASCA — потеря разрешения, связанная с необходимостью усреднения по блоку пикселей с целью набора пространственной статистики, используемой в анализе.

Однако преимущество работы в реальном времени без сканирования перевешивает проблемы потери разрешения, особенно в биомедицинских приложениях.

Данная выпускная квалификационная работа может быть полезна студентам технических специальностей.

Список литературы

1. J.B. Dixon, D.C. Zawieja, A.A. Gashev, G.L. Cotre, J. Biomed. Opt., 10, 064016 (2005).
2. P.R. Schvartzman, R.D. White, Textbook of Cardiovascular Medicine Topol EJ, ed. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 213–1256, (2002).
3. Briers JD (2001) Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas* 22:R35–R66 [PubMed]
4. Briers JD (2007) Laser speckle contrast imaging for measuring blood flow. *Opt Appl XXXVII*:139–152