

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

Кафедра физиологии человека и животных

**Разработка метода просветления кожи головы новорожденных мышей
для оптической визуализации церебрального кровотока**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

по направлению 06.03.01 Биология
студентки 4 курса биологического факультета
Сагатовой Мадины Магазовны

Научный руководитель
ассистент кафедры физиологии
человека и животных

(подпись, дата)

29.05.17

Е. М. Зинченко

Зав. кафедрой
физиологии человека и животных
д. б. н., доцент

(подпись, дата)

29.05.17

О. В. Семячкина-Глушковская

Саратов 2017

Введение

Актуальность темы. В настоящее время нарушение мозгового кровообращения приводит к образованию мозговых геморрагий. Разрывы сосудов коры головного мозга у новорожденных сказываются на здоровье и развитии таких детей. Для того чтобы выявить эти геморрагии на ранних этапах, используют оптические методы диагностики, которые становятся все более распространенными и широко применяются в биологии и медицине. Эти методы безопасны и дают возможность неинвазивно получать ряд параметров в режиме реального времени, что расширяет сферы их применения в области медицины. Но главным преимуществом является то, что излучение видимого и ближнего ИК - диапазона способно достаточно глубоко проникать в биоткани.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является оценить качество визуализации мозгового кровотока и воздействие на церебральную гемодинамику оптических просветляющих агентов (ПА).

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Исследовать просветляющие способности различных ПА с помощью лазерной спекл-контрастной визуализацией.
2. Изучить влияние водного 60% - раствора глицерина на гемодинамические параметры мышей (диаметр сагиттального синуса и скорость кровотока в нем) с помощью ДОКТ.

Научная новизна. В ходе проведенных исследований детально изучено воздействие на церебральную гемодинамику оптических просветляющих агентов и составлена оценка качества визуализации мозгового кровотока. Результаты показывают эффективность применения глицерина и Омнипака в качестве оптических просветляющих агентов.

Практическая значимость. Полученные данные работы могут оказаться полезными для выявления мозговых геморрагий на ранних стадиях развития у новорожденных детей с помощью доплеровской

оптической когерентной томографией, лазерной спекл-контрастной визуализацией и оптических просветляющих агентов.

Структура и объем. Работа состоит из введения, основной части, включающий, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, выводов, заключения, списка использованных источников. Бакалаврская работа изложена на 43 страницах, содержит 2 таблицы и 10 рисунков. Список литературы включает 56 источников.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Структура и физические свойства кожи. Кожа представляет собой сложный многокомпонентный орган, содержащий как фиброзные, так и клеточные компоненты. Толщина и особенности кожи сильно различаются в зависимости от анатомического расположения. А также, наблюдаются значительные возрастные изменения в структуре, свойствах и составе кожи.

Кожа состоит из двух слоев: надкожицы, эпидермиса, *epidermis*; собственно кожи, *corium* (греч. *derma*) с подкожной основой, *tela subcutanea*.

Доплеровская оптическая когерентная томография. ДОКТ – метод исследования, который позволяет отображать структуру биологической ткани с высоким уровнем разрешения. Действие ДОКТ основано на принципе низкокогерентной интерферометрии. Метод позволяет оценить величину и глубину светового сигнала, отраженного по оптическим свойствам тканей. Основной областью применения ДОКТ является биомедицинская диагностика. Доплеровская оптическая когерентная томография регистрирует обратное рассеяние от микронеоднородностей в объекте, связанное с пространственным распределением показателя преломления. Такое распределение определяет макроскопические оптические параметры: коэффициент рассеяния m_s , коэффициент поглощения m_a и фактор анизотропии g . Изменяя распределение показателя преломления можно управлять оптическими характеристиками объекта. Это управление можно осуществлять введением просветляющих или контрастирующих агентов, а также компрессией биоткани

Метод лазерной спекл-контрастной визуализации. Этот метод является одним из популярных диагностических методов в биологии и медицине. Широкое применение этот метод получил из-за простого высококогерентного источника излучения и камеры для регистрации спекл-картины. Также лазерная спекл-визуализация является неинвазивным бесконтактным методом и позволяет в режиме реального времени визуализировать капиллярный кровоток без сканирования лазерного пучка. Его работа основана на конечности захвата кадра (времени экспозиции элемента КМОП или ПЗС) и на наличии флуктуации интенсивности в рассеянном объектом спекл-поле.

Влияние просветляющих агентов на кожу. Оптическими свойствами биотканей можно достаточно эффективно управлять, используя для этого биологически совместимые гиперосмотические жидкости (просветляющие агенты), примером которых являются водные растворы глюкозы или глицерин. В наши дни снижение светорассеяния биотканей под влиянием просветляющих агентов (ПА) связывают с тремя основными процессами: осмотической дегидратацией биоткани, частичным замещением иммерсионным агентом внутритканевой жидкости, при котором происходит согласование показателей преломления структурных компонентов биоткани и структурной модификацией или диссоциацией волокон коллагена биоткани. Первые два процесса обычно проявляются одновременно. Вклад каждого из них в эффект просветления определяется типом ПА и свойствами биоткани. Влияние третьего процесса становится заметным только при длительном воздействии ПА на биоткань

Материалы и методы исследования

Объект исследования. Исследования проводились в районе родничка белых беспородных новорожденных мышей, возрастом 2-3 дней. В эксперименте было задействовано 30 мышей. Животные были поделены на экспериментальную и контрольную группы. В свою очередь, животные в

экспериментальной группе были поделены еще на 3 группы, в зависимости от ОПА, который наносился на кожу новорожденной мыши:

1. в первой группе были мыши, на кожу которых воздействовался водный 60% - раствор глицерина;
2. во второй группе были животные, на которых воздействовали водным 70% - раствором Омнипака;
3. третью группу составляли мыши, на кожу которых наносился водный 70% - раствор Омнипака с добавлением ДМСО.

Эксперимент проводился в соответствии с принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным.

Методы исследования. В качестве оптических просветляющих агентов (ОПА) были использованы три просветляющих агента. Первый - водный 60%- раствор глицерина (показатель преломления $n=1.415$), который обладает хорошей эффективностью просветления, биологической совместимостью и небольшой вязкостью (10.8 сП при 20°C). В качестве двух других ОПА были выбраны водный 70%-раствор Омнипака (300 мг йода/мл) (Amersham Health, Ирландия) ($n=1.407$), водный 70%-раствор Омнипака с добавлением ДМСО (диметилсульфоксид 5%) ($n=1.414$). Омнипак является рентгеноконтрастным средством – биосовместимым осмотически активным раствором для инъекций. Вязкость Омнипака (11.8 сП при 20°C) снизили путем добавления воды. Для усиления эффективности ОП к раствору Омнипака был добавлен ДМСО, который часто используется в качестве химического усилителя проницаемости ОПА. Все ОПА наносились на кожу новорожденной мыши в область переднего родничка.

Для количественной оценки скорости мозгового кровотока был использован коммерческий оптический когерентный томограф с перестраиваемой частотой источника OCS1300SS (Thorlabs Inc. USA), центральная длина волны которого составляет 1325 нм а ширина спектра - 100 нм. Пакет программного обеспечения, поставляемый вместе с томографом, был использован для восстановления доплеровской фазы в

комплексной форме из интерференционного сигнала интерферометра, посредством Фурье преобразования.

Для оценки влияния оптических просветляющих агентов на церебральную гемодинамику новорожденных мышей использовалась спекл – контрастная визуализация, которая является неинвазивным бесконтактным методом, позволяет получать и анализировать изображения кровотока в режиме реального времени.

Протокол производимых измерений. Регистрация спекл-изображений в экспериментальных группах производилась следующим образом: сначала до воздействия агента, далее агент наносился на 5 мин, после чего агент удаляли и производили повторные измерения. Измерения проводились каждые 5 мин в течении 10-20 мин.

Для оценки влияния водного раствора глицерина на гемодинамические параметры была выделена контрольная группа животных. Для этого у мышей с помощью докт сначала производились измерения через кожу, потом кожу срезали и проводили повторные измерения. Исследование проводилось без нанесения ПА.

Статистический анализ. Полученные данные подверглись статистической обработке по критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0.05$. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты исследования

Оценка качества визуализации сосудов с помощью водных растворов Омнипака и Омнипака с ДМСО методом лазерной спекл-контрастной визуализацией. Сканирование кожи, полученное с использованием ОКТ, использовалось для расчета средней толщины кожи новорожденной мыши (в возрасте 2 дней). Толщина скальпа в области родничка составляет приблизительно 160 ± 15 мкм.

В работе представлены спекл - изображения сосудов головы мыши при воздействии на поверхность кожи водного 70% - раствора Омнипака и водного 70% - раствора Омнипака с добавлением ДМСО (5%), полученные при регистрации отраженного света от объекта

Оценка качества визуализации сосудов водным раствором глицерина с помощью методов спекл-контрастной визуализации и ДОКТ. Представлен доплеровский сигнал сосудов головного мозга мыши до и при воздействии на кожу исследуемого оптического просветляющего агента. Из полученных данных видно, что эффект просветления наступает уже на 5-10 мин воздействия раствора глицерина.

Результаты воздействия водного раствора глицерина, Омнипака и Омнипака с ДМСО на показатели церебральной гемодинамики с помощью метода ДОКТ. Представлены индивидуальные значения скорости кровотока и диаметры сосудов в контрольной и экспериментальной группах, полученные с помощью ДОКТ. В контрольной группе диаметр сосудов с кожей составляет 0.18 ± 0.06 мм, а скорость кровотока 5.83 ± 2.61 мм/с, без кожи диаметр составил 0.32 ± 0.03 мм и скорость 6.03 ± 2.99 мм/с, соответственно. В экспериментальной группе до нанесения ОПА диаметр сосудов составил 0.25 ± 0.07 мм и сохранялся на таком уровне в течении всего эксперимента, после удаления кожи данный показатель равен 0.32 ± 0.05 мм. Скорость кровотока без нанесения водного 60% - раствора глицерина была 5.96 ± 2.38 мм/с, после нанесения она составила 6.03 ± 2.43 мм/с, без кожи результат был следующим: 6.74 ± 3.03 мм/с. Достоверных различий не наблюдалось. Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что водный 60% - раствор глицерина не влияет на гемодинамические параметры у мышей.

ВЫВОДЫ

1. Эффект просветления лучше выражен у водного 60%-раствора глицерина.

2. Качество визуализации ОПА Омнипака выше с добавлением ДМСО, по сравнению с раствором без ДМСО.

3. Максимальный эффект просветления кожи головы с помощью ОПА достигается через 5-10 мин.

4. Водный 60%-раствор глицерина не оказывает воздействия на церебральную гемодинамику мышей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время остро стоит вопрос лечения мозговых геморрагий у новорожденных детей, а также их выявление на ранних стадиях развития. С возрастом, у таких детей возникают когнитивные расстройства и проблемы с адаптацией к высоким ритмам современного общества. Использование оптических методов и оптических просветляющих агентов позволит на ранних этапах выявить данные геморрагии. Выбор использования оптических методов заключается в том, что они неинвазивны и бесконтактны с высоким уровнем разрешения. А применение ОПА позволяет улучшить качество визуализации мозгового кровотока.

Таким образом, проведенные эксперименты были выполнены с целью исследования воздействия на церебральную гемодинамику оптических просветляющих агентов, а также оценить качество визуализации мозгового кровотока.

Полученные результаты показывают эффективность применения глицерина и Омнипака в качестве оптических просветляющих агентов. Эффективность применения этих ОПА обусловлена возможностью согласования показателей преломления рассеивателей биоткани и окружающей их среды.

Данные работы могут оказаться полезными для выявления мозговых геморрагий с помощью доплеровской оптической томографией, спекл-визуализацией и оптических просветляющих агентов.