

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Анализ эффективности применения магнитно-резонансных и
рентгеноконтрастных агентов для снижения рассеяния кожи в условиях
развития патологии

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 4082 группы
направления 12.03.04 Биотехнические системы и технологии
код и наименование направления (специальности)

Института физики

наименование факультета, института, колледжа

Ковалева Александра Дмитриевича

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель (руководитель)

Доцент, к.ф.-м.н.



П.А. Тимошина

Зав. кафедрой оптики и биофотоники

Проф. д.ф.-м.н., чл.-корр. РАН



В.В. Тучин

Саратов 2025 г

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Сахарный диабет — это нарушение работы эндокринной системы человека, главным признаком которого становится избыточное содержание сахара в крови.

Осложнения в организме, вызванные сахарным диабетом связаны с процессом, который называется гликированием белков. Это, в свою очередь, может вызвать метаболический дисбаланс и в конечном итоге привести к проблемам с работой органов. Поскольку структура биологических тканей определяет их оптические свойства, мониторинг этих изменений с помощью оптических методов становится возможным.

В последние годы возрос интерес к использованию оптических методов диагностики. Безопасность оптического подхода к исследованию позволяет изучать ткани *in vivo*, избегая лишней травматизации. Это способствует повышению интереса к оптическим методам и их более активному применению в медицине.[1].

Известно, что различные слои кожи имеют отличия по своему строению и структурному составу [2]. Эти особенности являются главным фактором, затрудняющим проникновение света и оптическую диагностику кожи.

Данную проблему помогает решить методика оптического просветления ткани. Для применения данной техники используются оптические просветляющие агенты (далее – ОПА). Их задача – согласование показателей преломления между исследуемой биотканью и межклеточной жидкостью.

Рентгеноконтрастные (РК) и магнитно-резонансные (МРК) агенты — это оптически плотные вещества, которые уменьшают рассеяние рентгеновского излучения кожей и улучшают визуализацию внутренних органов при лучевой диагностике. Они обеспечивают более контрастные изображения, повышая информативность и точность исследований [2].

Метод оптической когерентной томографии (ОКТ) это современный неинвазивный способ визуализации внутренних структур тканей. ОКТ основана на интерференции света, что позволяет измерять различия в оптической

плотности тканей и получать детальные изображения первых нескольких миллиметров органов.

В результате этого актуальной становится тема исследования эффективности использования РК и МРК агентов для снижения рассеяния кожи при неинвазивной диагностике.

Целью данной выпускной квалификационной работы стало исследование эффективности применения РК и МРК агентов для снижения рассеяния кожи методом ОКТ. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Анализ принципа и особенностей применения оптического просветления.

2. Анализ принципа работы оптической когерентной томографии и методов обработки данных.

3. Проведение экспериментального исследования эффективности применения рентгеноконтрастных (РК) и магнитно-резонансных контрастных (МРК) агентов для снижения рассеяния кожи ушей лабораторных крыс *in vivo* с помощью ОКТ.

4. Проведение исследований влияния экспериментальной модели диабета 1 типа на рассеяние кожи ушей лабораторных крыс *in vivo* при применении РК и МРК с помощью ОКТ.

По полученным результатам проведен сравнительный анализ просветляющих свойств рентгеноконтрастных и магнитно-резонансных агентов, таких как Гадовист®, Магневист® и Аккупак-300 для условно здоровых крыс и в условиях развития диабета 1 типа.

Структура и объем работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, основной части, состоящей из теоретического и экспериментального раздела, включающих в себя 5 глав, заключения и списка используемой литературы. Всего в работе 51 страница.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 посвящена структуре и оптическим свойствам кожи. Рассматривается ее строение и влияние сахарного диабета на свойства кожи.

1.1 Структура кожи

С оптической точки зрения, все биоткани подразделяются на две большие группы:

1) Сильно рассеивающие или оптически мутные. Эта группа включает в себя кожу, мозговые клетки, стенки сосудов, склеру и кровь. Их оптические свойства могут быть описаны в модели многократного рассеяния;

2) Слабо рассеивающие или прозрачные. В эту группу входит например роговица и глазной хрусталик. Оптические свойства этой группы, принято описывать моделью однократного (или малократного) рассеяния [2].

Оптические свойства биологических тканей непосредственно зависят от их строения. Кожа представляет собой сложную гетерогенную ткань, в которой содержание поглотителей и рассеивателей распределяется по-разному в зависимости от глубины исследуемой области. Она состоит из трех слоев: эпидермиса, дермы и подкожно-жировой клетчатки. [3-5]

1.2 Структура кожи в условиях развития диабета

Структура кожи в условиях развития сахарного диабета претерпевает значительные изменения, обусловленные как последствиями гипергликемии, так и вторичными нарушениями обмена веществ, сосудистыми и неврологическими ограничениями. Кожа, являясь важнейшим органом человеческого тела, особенно чувствительна к метаболическим проблемам, характерным для диабета, и часто становится одним из первых индикаторов патологического процесса.

1.3 Оптические свойства слоев кожи

Оптические свойства слоев кожи характеризуются коэффициентами поглощения μ_a и рассеяния μ_s , которые определяют форму спектра пропускания кожи [6]. Различия во вклад поглощения и рассеяния света кожей обуславливаются тем, что кожа имеет неоднородное строение и различное

содержание компонент в своем составе и каждый из этих факторов оказывает влияние на пропускную способность света.

Рассеяние света на поверхности кожи представляет собой отклонение направления распространения света, а также изменение его фазы и поляризации. Его принято считать за эффект, схожий с отражением и преломлением или влияние на малую зону поверхности, которая имеет отличные оптические свойства от окружающей ее среды [7].

Глава 2 посвящена методам оптического просветления. В ней рассматриваются основные принципы и положения при использовании данной методики.

2.1 Оптическое просветление кожи

Суть метода оптического просветления заключается в согласовании показателей преломления между рассеивателями (такими как коллагеновые и эластиновые волокна, и их клеточные компоненты) и межклеточной жидкостью или цитоплазмой, а также гемоглобином и другими компонентами, входящими в состав крови, что оказывает воздействие нанесенного ОПА [8].

На сегодняшний день найдены три основных механизма, объясняющих снижение светорассеяния в биотканях под воздействием ОПА, включая кожу:

1. Выравнивание показателей преломления между различными структурными элементами тканей и интерстициальными жидкостями за счет проникновения оптического просветляющего агента вглубь структур.
2. Дегидратация тканей, вызванная гиперосмолярным действием оптических просветляющих агентов, что способствует уменьшению количества воды в составе биоткани.
3. Обратимая диссоциация коллагеновых волокон в дерме, приводящая к нарушению стабильности коллагеновой структуры и уменьшению размера рассеивающих частиц, что выражается в значительном уменьшении светорассеяния [8].

2.2 Применение оптического просветления ткани

С развитием технологий оптического просветления кожи началось активное изучение различных веществ, способных выступать в роли оптических просветляющих агентов (ОПА). Эти вещества временно изменяют оптические свойства тканей, улучшая визуализацию и повышая проницаемость света.

Такой агент обычно обладает высокой осмолярностью и показателем преломления, превышающим таковой у внутритканевой жидкости. При введении в ткань иммерсионного раствора с более высоким показателем преломления происходит частичное замещение внутритканевой жидкости, что выравнивает оптические свойства рассеивателей (например, коллагеновых волокон) и окружающей среды, значительно снижая светорассеяние [9].

Глава 3 рассматривает оптическую когерентную томографию, ее принципы и ограничения.

3.1 Принцип оптической когерентной томографии

Оптический когерентный томограф (далее - ОКТ) — это неинвазивное визуализирующее устройство, использующее свет для получения поперечных изображений разнообразных биологических тканей и внутренних органов. Его работа основана на принципе интерферометрии с низкой когерентностью.

Физической основой метода является низкокогерентная интерферометрия, позволяющая получать информацию о распределении отражающих свойств ткани по глубине [10].

Типичный оптический когерентный томограф использует волоконно-оптический интерферометр Майкельсона с возбуждением от широкополосного источника света, излучающего свет с центральной длиной волны 820 или 1300 нм и шириной полосы 25–50 нм. Такая система ОКТ обеспечивает аксиальное и поперечное разрешение 10–20 мкм в свободном пространстве с отношением сигнал–шум до 100 дБ (рис. 1).

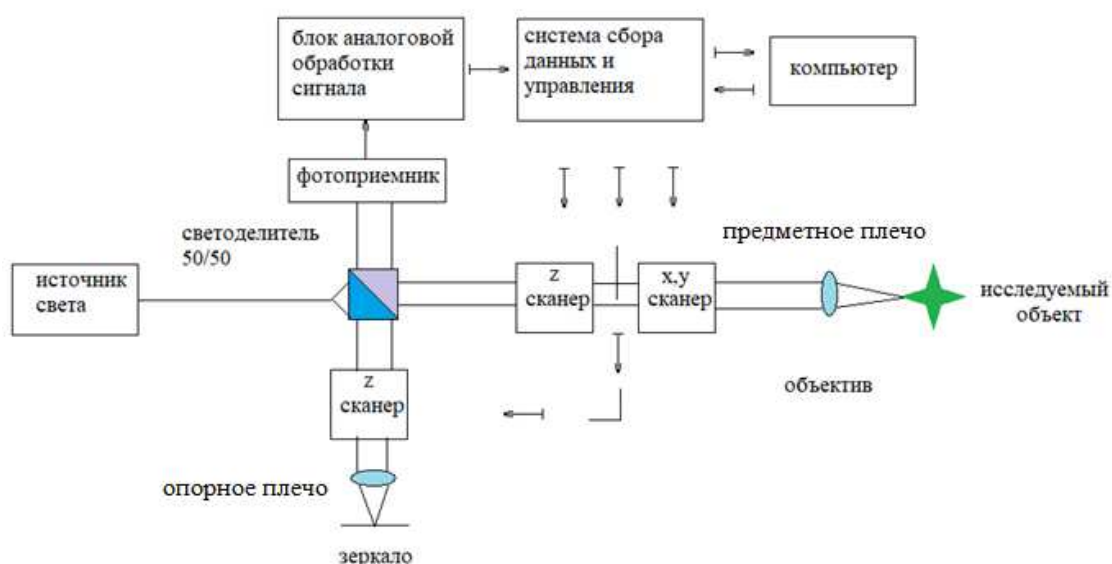


Рисунок 1 - Функциональная схема ОКТ устройства.

Пункт 3.2 посвящен ограничениям и преимуществам метода ОКТ и подробно раскрыт в тексте выпускной квалификационной работы.

Глава 4 посвящена Материалам и методам работы.

4.1 Оптические просветляющие агенты

Для оценки эффективности применения РК и МРК агентов для снижения рассеяния кожи использовались растворы: Гадовист® (Гадобутрол м.м. 604,72 г/моль, 1,0 ммоль/мл, Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Германия), Магневист® (Гадопентетат димеглюмин 938,02 г/моль, 0,5 ммоль/мл, Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Германия), а также Аккупак-300® (действующее вещество Iohexol 647мг/мл, GE Healthcare Buchler GmbH & Co.KG, Германия) [11].

В качестве объекта исследования в проводимом эксперименте выступали участки кожи ушей лабораторных крыс полученных из вивария Центра коллективного пользования СГМУ им. В.И. Разумовского. На исследуемых участках кожи шерсть удалялась с помощью крема для депиляции и бритвенных принадлежностей. Использованный объем для каждого ОПА составлял 100 мкл. Под общим обезболиванием животное помещалось под детектор ОКТ и в течение 15 минут проводилась запись ОКТ сканов при ОП.

После чего животное помещалось в специальный бокс для восстановления после анестезии.

4.2 Визуализация кожи

Оптическая когерентная томография в спектральной области (SD-OCT) основывается на отслеживании несоответствия в длине пути проходящего света.

Результаты, полученные при данном методе, представляют собой А-сканы, которые создаются путем обработки данных, снятых со спектрометра.

4.3 Описание установки

В ходе эксперимента регистрация ОКТ-изображений участка кожи уха лабораторной беспородной крысы (полученный из вивария Центра коллективного пользования СГМУ им. В.И. Разумовского) производилась при помощи OCTG-900 сканнера и ОКТ GAN930V2-BU работающего на центральной длине волны 930 нм (рис.2).



Рисунок 2 - Схема экспериментальной ОКТ установки

Для анализа оптических изменений, вызванных растворами ОПА, оценивался коэффициент рассеяния кожи уха с разрешением по глубине. Программное обеспечение для анализа ОКТ-изображений и реконструкции

коэффициента рассеяния было разработано на языке Python, алгоритм представлен на рисунке 3.

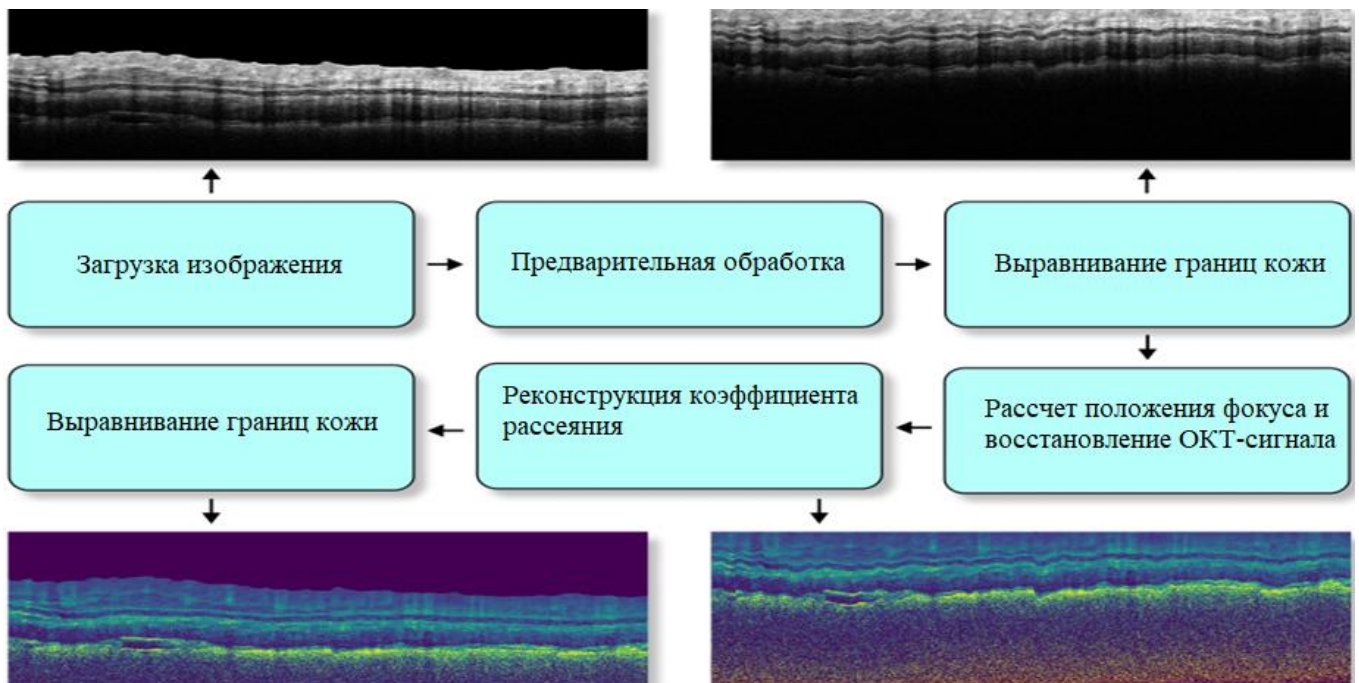


Рисунок 3 - Блок диаграмма для реконструкции коэффициента рассеяния для ОКТ-визуализации

Для расчета коэффициента рассеяния использовалась формула, предложенная Веермеером [12]:

$$\mu[z] = \frac{I[z]}{2\Delta \sum_{i=z+1}^{\infty} I[i]} \quad (1),$$

где $I[z]$ -ОКТ сигнал пикселя, $\mu[z]$ -коэффициент рассеяния света по глубине z , Δ - размер пикселя, связанный с разрешением ОКТ-системы

С помощью уравнения (1), устанавливается зависимость между интенсивностью сигнала ОКТ и коэффициентом рассеяния. В данном методе количество пикселей, доступных для расчета, ограничено из-за ограниченной глубины обнаружения системы ОКТ. Поэтому коэффициент ослабления света рассчитывается как:

$$\mu[z] = \frac{I[z]}{2\Delta \sum_{i=z+1}^N I[i]} \quad (2),$$

где N - количество пикселей в пределах ограниченной глубины.

4.4 Описание экспериментов

В ходе проведения эксперимента были сформированы две группы лабораторных крыс. В первую группу вошли здоровые особи, а во вторую — животные с искусственно вызванным аллоксановым диабетом.

Для создания диабета у лабораторных крыс им был введён аллоксан (Acros Organic, Бельгия). Это вещество вводилось однократно подкожно в дозе 220 мг на килограмм массы тела. Через две недели после инъекции аллоксан вызывает разрушение бета-клеток в организме здоровой крысы, что приводит к развитию диабета первого типа.

Средние значения уровня свободной глюкозы в крови крыс, взятой из хвостовой вены, измеренные натощак с помощью глюкометра Accu-Chek Performa (Roche Diagnostics, Германия) до введения аллоксана и через 2 недели после инъекции в день эксперимента составили 4,2 и 25 mmol/литр соответственно. Таким образом, уровень глюкозы в крови животных увеличился в 6 раз.

После реконструкции всего набора изображений коэффициента рассеяния μ_s усреднялся по всей ширине окна сканирования ОКТ, от поверхности кожи до глубины 160 мкм для каждой временной точки. Эффективность оптического просветления (OC_{eff}) рассчитывалась следующим образом

$$OC_{eff} = \frac{\mu_{s_0} - \mu_{s_{final}}}{\mu_{s_0}} \times 100\%, \quad (3)$$

где μ_{s_0} - значение коэффициента рассеяния ткани без просветления и $\mu_{s_{final}}$ - через 15 минут после просветления.

Глава 5 посвящена результатам и обсуждению работы.

По полученным в ходе работы программы данным, исследовалось изменение глубины сканирования ОКТ-сигнала в течение 15 минут для агентов Гадовист®, Магневист® и Аккупак-300®. Для обработки данных, построения графиков и статистического анализа использовались стандартные пакеты MS Office и Origin Pro.

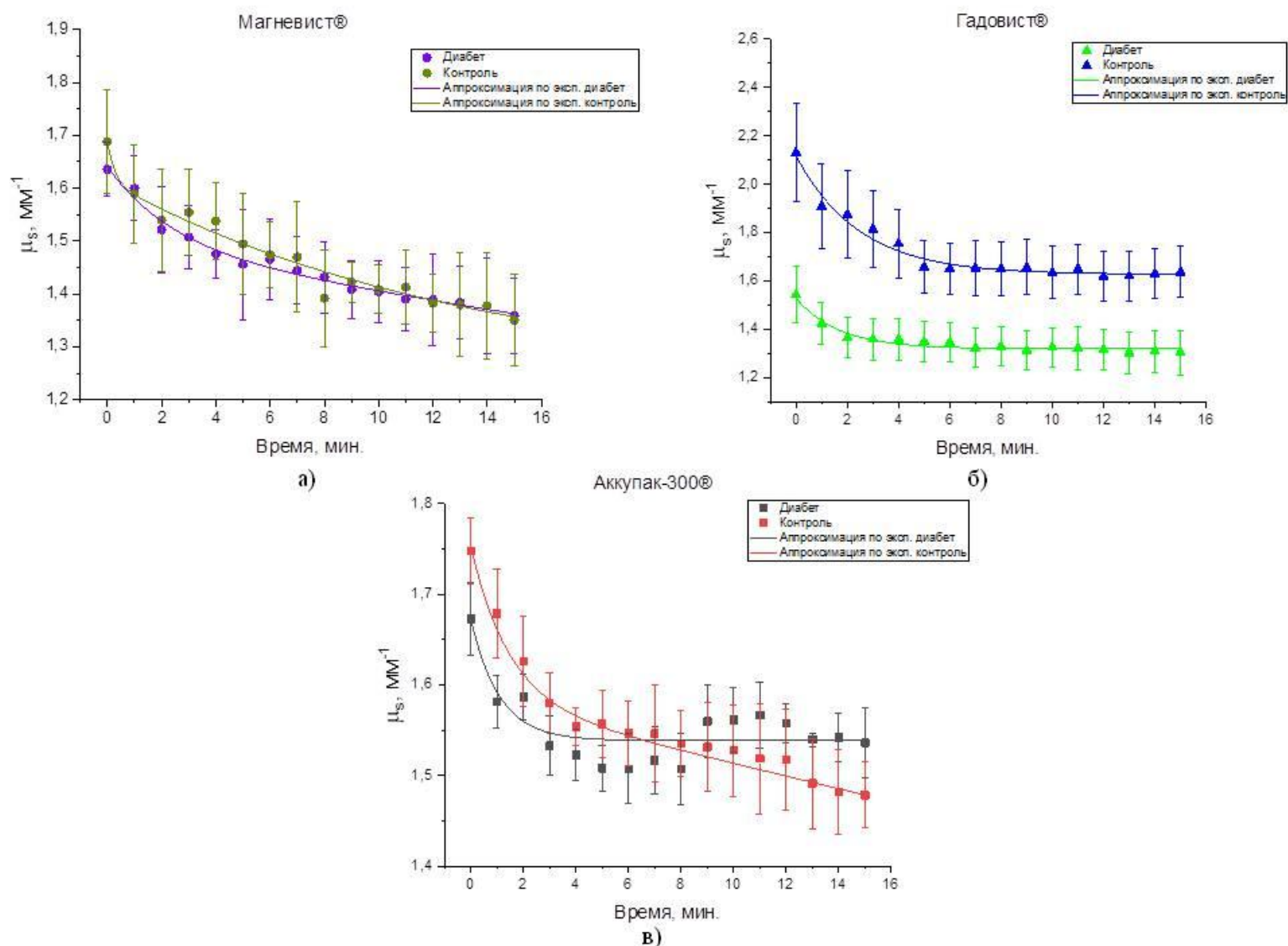
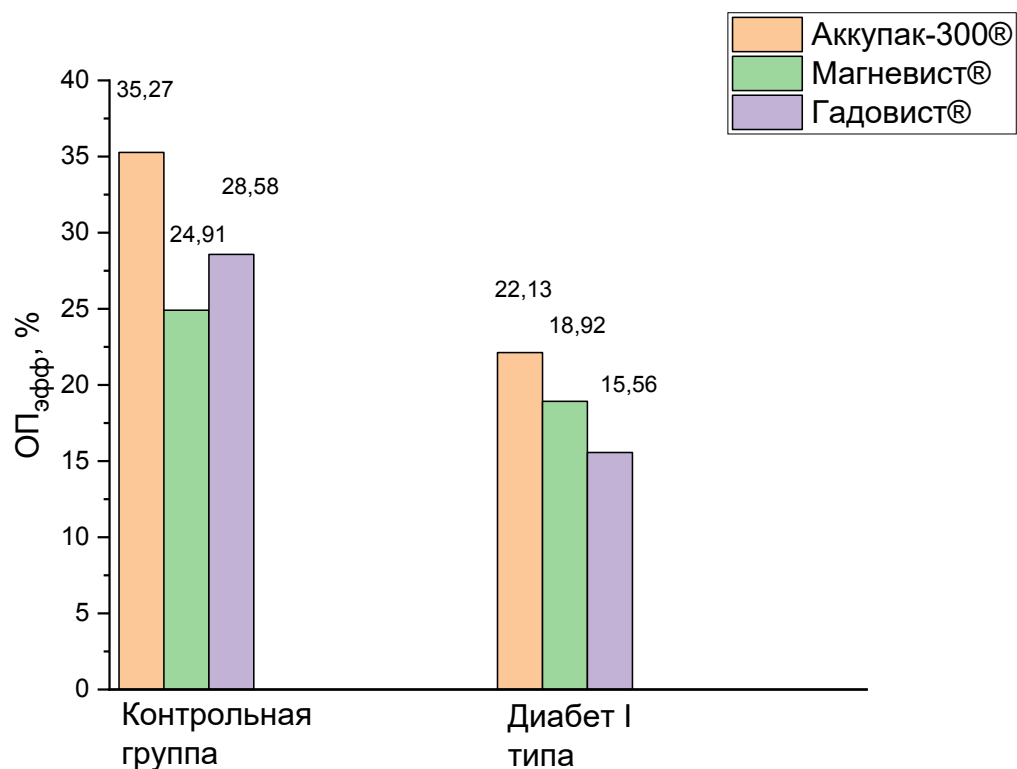


Рисунок 4 - Изменение глубины сканирования ОКТ-сигнала с течением времени для а) Магневист®, б) Гадовист®, в) Аккупак-300®

На рисунке 4 представлены изменения коэффициента рассеяния μ_s для контрольной группы крыс и крыс с развивающимся диабетом 1 типа при использовании агента Магневист®(рис.4 а), Гадовист® (рис.4 б), Аккупак-300® (рис. 4 в).

Расчеты для анализа эффективности применения РК и МРК агентов в условии развития патологии производились согласно формуле (3) для эффективности оптического просветления.



Полученные результаты согласуются с работой [11], в результате которой исследователи получили более чем 12-кратное увеличение пропускания света

Рисунок 5 – Сравнение эффективности оптического просветления для контрольной группы и группы с развивающимся диабетом 1 типа через 10 минут после нанесения гадобутрола (гадовиста).

В **заключении** дан перечень основных выводов, полученных в результате проведенных исследований, приводится краткая оценка основных результатов, полученных при выполнении работы.

ВЫВОДЫ

После анализа полученных данных по РК и МРК оптическим просветляющим агентам мы получили, что наиболее эффективным агентом оказался раствор Аккупакк-300®, который показал снижение коэффициента рассеяния на исследуемом участке кожи уха лабораторной крысы в 35% для контрольной группы и в 22% для группы с диабетом 1 типа. Агент Магневист® показал результат 25% уменьшения коэффициента рассеяния для контрольной группы и 21% для диабетической группы лабораторных крыс. Гадовист® же, показал эффективность оптического просветления в 28% для здоровой группы и 16% для группы с развивающимся диабетом 1 типа. Можно сделать вывод, что РК и МРК агенты в качестве ОПА способствуют усилению эффекта прохождения света вглубь исследуемого объекта.

Как можно заметить, эффективность выше у контрольной группы, по нашим предположениям, это связано с тем, что диабет вызывает гликирование белков, в том числе коллагена. Это приводит к образованию поперечных сшивок в коллагене, что уменьшает пластичность тканей, и делает их изначально более прозрачными для оптических исследований [11]. Биологические ткани, подверженные влиянию диабета 1 типа становятся более тонкими, из-за чего и появляется разница в эффективности применения РК и МРК агентов. Из этого мы делаем вывод, что разница в эффективности применения оптических просветляющих агентов позволят дифференцировать здоровые и патологические ткани между собой.

Полученные результаты имеют большое значение для разработки мультимодальных подходов в медицинской визуализации. Использование методов ОКТ-визуализации в сочетании с другими методами, такими как магнитно-резонансная томография или ультразвуковая визуализация, может значительно расширить диагностические возможности и улучшить качество медицинских исследований.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tuchin V. V. Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues / V.V.Tuchin. — Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009
2. Артемина Е.М., Утц С.Р., Ювченко С.А, Зимняков Д.А., Алонова М.В. Сравнительная оценка просветляющих агентов с целью повышения качества дальней длинноволновой ультрафиолетовой терапии хронических дерматозов // Саратовский научно-медицинский журнал. 2016. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnaya-otsenka-prosvetlyayuschih-agentov-s-tselyu-povysheniya-kachestva-dalney-dlinnovolnovoy-ultrafioletovoy-terapii> (дата обращения: 13.05.2025)
3. Сдобнов А.Ю., Ладеманн Ю., Дарвин, М.Е., Тучин В.В. Методы молекулярной оптической визуализации в дерматологии при оптическом просветлении кожи // Успехи биологической химии. — 2019. — V.59.
4. G.F. Odland, “Structure of the skin,” in Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin //Vol. 1, L.A. Goldsmith (ed.), Oxford University Press, Oxford —1991 — P. 3–62.
5. T.J. Ryan, “Cutaneous Circulation”. Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin, Vol. 2, L.A. Goldsmith (ed.), Oxford University Press, Oxford, 1019–1084 (1991).
6. Bashkatov A. N., Genina E. A., Kochubey V. I., Tuchin V. V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm // Journal of Physics D: Applied Physics. – 2005. – V.38, № 15.
7. Kaxiras E., Tsolakidis A., Zonios G., Meng S. Structural model of eumelanin // Physical Review Letters. — 2006.
8. Larin K. V, Ghosn M. G., Bashkatov A. N., Genina E. A., Trunina N. A., Tuchin V. V. Optical clearing for OCT image enhancement and in-depth monitoring of molecular diffusion // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. — 2011. — V.18, № 3.
9. Selvin E., Steffes M. W., Zhu H., Matsushita K., Wagenknecht L., Pankow J., Coresh J., Brancati F.L., Glycated Hemoglobin, Diabetes, and Cardiovascular Risk in

Nondiabetic Adults // The New England Journal of Medicine. — 2010. — V.362, №9. — P.800–811.

10. Drexler, W., Fujimoto, J.G. Optical Coherence Tomography: Technology and Applications. - 3rd ed. - Springer, 2023. - 568 p.

11. D. K. Tuchina et al. “Magnetic resonance contrast agents in optical clearing: Prospects for multimodal tissue imaging”, // J Biophotonics, vol. 13, no. 11, p. e201960249, 2020.

12. K. A. Vermeer et al., Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography // Biomed. Opt. Express. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 322–337.