

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра физиологии человека и животных

**ТЕХНОЛОГИЯ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЕГО
ОБОЛОЧЕК**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентов 4 курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Крановой Дарьи Ивановны

Крылова Максима Владимировича

Малышевой Марии Александровны

Научный руководитель:

доцент, док. биол. наук _____ О. В. Семячкина-Глушковская
дата, подпись

Зав. кафедрой:

доцент, док. биол. наук _____ О. В. Семячкина-Глушковская
дата, подпись

Саратов 2026

ВВЕДЕНИЕ

Фотостимуляция (ФС) — перспективный неинвазивный метод лечения, использующий лазерное излучение в качестве терапии нейродегенеративных заболеваний. ФС уменьшает воспаление, боль и стимулирует регенерацию тканей, демонстрируя высокую эффективность при болезни Альцгеймера, Паркинсона, черепно-мозговых травмах, депрессивных расстройствах и меланоме [1, 2]. Однако применение метода в доклинических исследованиях на животных ограничено. Коммерческие лазерные установки, преимущественно зарубежные, имеют крупные габариты, что затрудняет их совместное использование с другими технологиями. В условиях необходимости импортозамещения актуальна разработка отечественных устройств. Современные экспериментальные физиологические исследования требуют одновременного применения ФС с мониторингом электроэнцефалографии (ЭЭГ) для контроля глубокого сна, улучшающего терапевтический эффект. Для минимизации стресса у животных и повышения качества результатов необходимы уменьшение размеров устройства и создание программного обеспечения для удалённого управления.

Таким образом, целью работы является: разработка отечественного аппаратно-программного комплекса для ФС головного мозга с одновременным мониторингом ЭЭГ для мелких грызунов.

Для решения этой проблемы были поставлены следующие задачи:

1. Разработать устройство для ФС с одновременным мониторингом ЭЭГ, обладающего удаленным доступом, за счет программного обеспечения.
2. Опробовать работоспособность устройства для ФС в эксперименте по оценке влияния ФС во время сна и бодрствования на дренажную функцию головного мозга при помощи конфокальной микроскопии.
3. Оценить влияние фотостимуляции во время сна и бодрствования на изменения когнитивного статуса животных при помощи разработанного

устройства для ФС под контролем ЭЭГ.

1 Основная часть

В 18 веке итальянский ученый анатом Паоло Масканьи исследовал и нашел лимфатические сосуды с помощью введения ртути в *cisternamagna*. В дальнейшем никто из ученых не смог повторить опыт так как лимфатические сосуды практически не видны и труднодоступны. Только спустя несколько столетий благодаря мультифотонной и конфокальной микроскопии американский ученый доказал наличие лимфатических сосудов в оболочках мозга [3].

Одним из основных методов визуализации лимфатической системы головного мозга является световая флуоресцентная микроскопия. Данный метод заключается в введение мышам флуоресцентных трассеров в кровоток после чего можно наблюдать свечение менингеальных лимфатических сосудов (МЛС) вдоль оболочек спинного и головного мозга.

Лимфатическая система выполняет функцию выведения метаболитов и токсических веществ из тканей головного мозга в глубокие шейные лимфатические узлы (ГШЛУ) [4].

Основной задачей МЛС является дренаж метаболитов, токсических веществ и ликвора из тканей мозга. Но кроме того МЛС могут выступать в роли иммунных клеток. Было выявлено, что менингеальные Т-клетки выделяют цитокины интерлейкин-4 и интерферон- γ , которые регулируют когнитивные функции и социальное поведение [5].

В настоящее время распространены нейродегенеративные заболевания. БА – это прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся потерей памяти, поведенческими и когнитивными нарушениями. Окончательной стадией заболевания является деменция. Основной причиной появления данного заболевания является появление патологических внеклеточных бляшек в ткани головного мозга, которые образуются из разных форм бета-амилоида ($A\beta$).

В последние десятилетия ФС начали применять в качестве немедикаментозного лечения нейродегенеративных заболеваний. Проникая в ткани и оболочки головного мозга, свет запускает каскад реакций, который увеличивает количество кислорода, уменьшает воспаление и ингибирует процесс перекисного окисления липидов, тем самым уменьшая разрушение клеток [6]. Кроме перечисленных положительных реакций, фотоны активируют лимфодренажную функцию головного мозга, за счет образования синглетного кислорода. Эндотелий сосудов, находясь непосредственно под черепом, способен улавливать подаваемый поток света. Кислород O_2 , циркулирующий по лимфатической жидкости, переходит в возбужденное состояние. Синглетный кислород воздействует на работу клеток МЛС и увеличивает их сократимость, тем самым активировав дренажную функцию головного мозга. Это способствует удалению различных токсинов и вредных метаболитов ГШЛУ, например, $A\beta$, активно накапливающийся при БА [7].

В настоящее время, появляется все больше данных о применении терапии в естественных состояниях организма, оказывающих стимулирующее действие на терапию. Глубокий медленный сон в настоящее время рассматривается как период максимальной активации системы удаления продуктов метаболизма из мозга, во время которого медленно волновая активность ассоциируется с расширением интерстициального и периваскулярного пространств и более эффективным очищением метаболитов из мозга [8-10].

Применение ЭЭГ-контроля позволило сделать ключевое открытие. Было установлено, что ФС, проводимая во время глубокого сна, значительно увеличила лимфатический клиренс $A\beta$ из головного мозга мышей, по сравнению с ФС в период бодрствования. В эксперименте на здоровых мышцах накопление меченого амилоида в шейных лимфатических узлах было в два с лишним раза выше у животных, получавших ФС облучение именно в фазу глубокого сна [11]

2 Материалы и методы исследования

2.1 Материалы исследования

2.1.1 Объекты исследования

Во всех экспериментах использовались мыши-самцы линии C57BL/6 (25-28 г, возраст 3 месяца), не содержащие патогенных организмов, полученные из Национального центра ресурсов лабораторных животных (Пушино, Москва, Россия).

В ходе эксперимента мыши были разделены на следующие группы:

1. Без ФС в бодрствовании: мыши, не проходящие однократную ФС, в состоянии бодрствования под контролем ЭЭГ, $n=7$
2. Без ФС во сне: мыши, не проходящие однократную ФС, в состоянии сна под контролем ЭЭГ, $n=7$
3. ФС в период бодрствования: мыши, проходившие однократную ФС, в состоянии бодрствования под контролем ЭЭГ, $n=7$
4. ФС в период сна: мыши, проходившие однократную ФС, в состоянии бодрствования под контролем ЭЭГ, $n=7$

2.1.2 Комплектующие использованные для создания системы фотостимуляция и модуля электроэнцефалографии

В рамках проведения научно-исследовательской работы по разработке аппарата ФС с одновременной регистрацией ЭЭГ был осуществлен комплексный анализ рынка компонентов и готовых решений. В результате проведенного анализа были выявлены ключевые модули, необходимые для создания системы.

На основании проведенного анализа был сформирован перечень необходимых комплектующих, включающий специализированные микросхемы для усиления и фильтрации сигналов, микроконтроллеры,

светодиоды с высокой скоростью отклика, пассивные компоненты и элементы корпуса.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Имплантация системы регистрации электроэнцефалографии

Вживление ЭЭГ электродов осуществлялось в подготовленные трепанационные отверстия на глубину 150 мкм, которые фиксировались стоматологическим акрилом. После затвердевания стоматологического акрила, ЭЭГ датчик фиксировался на ЭЭГ электродах.

2.2.2 Введение флуоресцентного бета- амилоида

Для изучения влияния ФС на дренажную систему головного мозга проводилось введение флуоресцентного β -амилоида (ФА β) в правый боковой желудочек (координаты: AP = -0,5 мм, ML= 1,2 мм, DV= -2,2 мм) со скоростью 0,1 мкл/мин. Визуализация проводилась с использованием конфокального микроскопа (NikonA1RMP, NikonInstrumentsInc.) с объективом $\times 20$ (0,75 NA).

2.2.3 Фотостимуляция

После введения ФА β был проведен разовый курс ФС с под контролем ЭЭГ. Разовое воздействие осуществлялось в течение 61 мин, где чередовалось 17 минут облучения и 5 минут паузы. Для ФС использовался светодиод с длиной волны 1050 нм.

2.2.4 Когнитивное тестирование на запоминание местоположения объектов

В тестировании было использовано два разных объекта одновременно. Тестирование проводилось в три последовательных этапа – привыкание, обучение и тестирование. Считывалось, что мышь исследует объект, когда ее нос находился в пределах 2 см от объекта.

Во время теста были измерены время изучения знакомого объекта (T1), время изучения объекта с измененным местоположением (T2), а также общее время знакомого объекта и объекта с измененным местоположением. Кроме того, был рассчитан индекс различия по местоположению объекта с использованием формулы $(T2/(T1+T2)) \times 100$, которая была выражена в процентах.

3 Результаты исследования

3.1 Разработка устройства для фотостимуляции головного мозга и его оболочек под контролем электроэнцефалографии

В ходе выполнения стартап проекта был разработан отечественный аппаратно-программный комплекс для ФС у мелких животных с одновременным мониторингом ЭЭГ, позволяющий минимизировать стресс воздействие на экспериментальное животное.

Спроектированное устройство представляет собой комплекс из трех основных модулей: управляющий модуль, модуль излучения и модуль ЭЭГ. Модуль излучения состоит из светоизлучающего диода с длиной волны 1050 нм и весом 3 грамма, что позволяет экспериментальному животному свободно передвигаться в домашней клетке. С помощью 3Д-печати была изготовлена рамка, объединяющая диод и датчик ЭЭГ в одну общую конструкцию. Данное конструкторское решение позволяет уменьшить размеры устройства и обеспечивает точность установки компонентов.

Управляющий модуль построен на базе ArduinoUno. Он содержит 3Д-печатный корпус, выполненный из легкого ПЛА-пластика. Данные, попадающие в управляющий модуль, передаются на компьютер за счет наличия в плате модуля Bluetooth LE JDY-16, что позволяет минимизировать воздействие на поведение животного.

Для реализации удалённой работы устройства, потребовалось создание программного обеспечения (ПО), которое бы объединяло управление светодиодами и чтением биопотенциалов головного мозга. С помощью ПО можно отслеживать ЭЭГ мелкого грызуна, а также наблюдать ритмы головного мозга, что позволяет проводить лечение не только во время бодрствования, но и в NREM-фазу сна.

Преимуществом нашего устройства является локализация разработки и производства на территории России, что упрощает продажу и транспортировку аппарата к заказчику. В отличие от аналогичных

зарубежных разработок, себестоимость нашей установке в 16,5 раз меньше и составляет 18188 рублей.

3.2 Оценка влияния фотостимуляции во время сна и бодрствования на дренажную функцию головного мозга мышей при конфокальной микроскопии

В ходе работы было проанализировано влияние 10-дневного курса ФС во время сна и бодрствование на присутствие ФАβ в оболочках головного мозга и ГШЛУ.

Было выявлено увеличение интенсивности сигнала Фаβ в дорсальной и вентральной части мозга и в ГШЛУ у мышей во время NREM-фазы сна без ФС, в отличие от мышей во время бодрствования без ФС. Это объясняется тем, что в фазе быстрого сна активируется естественная дренажная система мозга, а однократная терапия дополнительно стимулирует этот механизм.

Во время ФС происходит активация клиренса головного мозга, поэтому у мышей с ФС во время бодрствования и NREM-фазы сна наблюдается повышение флуоресцентного сигнала. Было выявлено, что у мышей с воздействием ФС, по сравнению с мышами без ФС, увеличивается распределение ФАβ в головном мозге и ГШЛУ.

3.3 Изучение влияния фотостимуляции во время сна и бодрствования на когнитивные способности и пространственную память у здоровых мышей

На последнем этапе исследования было проанализировано влияние курса ФС на пространственную память и когнитивные способности у здоровых мышей, с помощью теста на запоминание местоположения двух объектов.

Анализ полученных показал, что во всех тестируемых группах мыши тратили больше времени на изучение незнакомого объекта, чем на изучение знакомого. Проведение ФС во время NREM-фазы сна, сопровождалось увеличением индекса распознавания по сравнению с контролем, что свидетельствует о том, что ФС во время сна способствует лучшему

запоминанию пространства, расположения и перемещения объектов в нем ($p = 0,002117$ между сном +ФС и контролем; $p = 0,140801$ между бодрствованием +ФС и контролем). Таким образом, ФС во время сна по сравнению с бодрствованием эффективнее улучшает память у здоровых мышей.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования было разработано устройство для ФС головного мозга и его оболочек у мелких грызунов с одновременным мониторингом ЭЭГ. За счет закупки эргономичных комплектующих, установка имеет малые размеры и минимизирует влияние на естественное поведение животного, тем самым улучшая терапевтический результат ФС. Себестоимость устройства составляет 18188 рублей, что в 16,5 раз меньше себестоимости аналогов. А также, было разработано компьютерное ПО для удаленной работы устройства для ФС с одновременным мониторингом ЭЭГ. В данном приложении можно управлять устройством для ФС на расстоянии, тем самым минимизировав контакт исследователя с животным, что значительно снижает стресс у грызуна. Также в приложении есть возможность отслеживания электрической активности головного мозга, что открывает новые перспективные возможности, позволяющие проводить исследования по изучению процессов, происходящих не только во время бодрствования, но и во время NREM-фазы сна.

2. Исследование дренажной функции головного мозга с применением конфокальной микроскопии на мышах демонстрирует высокий терапевтический ответ ФС, что позволяет сделать вывод об эффективности работы устройства ФС. Применения ФС во время ЭЭГ-мониторинга NREM-фазы сна сопровождается более активным клиренсом Фаß из головного мозга в ГШЛУ, в отличие от ФС во время бодрствования.

3. При оценке влияния ФС во время сна и бодрствования на изменения когнитивного статуса животных с помощью разработанного устройства для ФС было выявлено, что при проведении ФС в фазу NREM-сна тестируемые животные показали лучшие результаты запоминания и распознавания объекта. Из чего можно сделать вывод, что ФС во время сна эффективно улучшает память у здоровых мышей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Brain photobiomodulation therapy on neurological and psychological diseases / H. Chamkouri[et al.] // Journal of Biophotonics. – 2024. – V. 17. N. 1. – P. e202300145.
- 2 Транскраниальная фотобиомодуляция в лечении депрессии и посттравматического стрессового расстройства: фундаментальные и клинические аспекты / А. К. Мартусевич [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2025. – Т. 32, № 3. – С. 110–115.
- 3 Лимфодренажная система мозга: новый игрок в нейронауке / О. В. Семячкина-Глушковская [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2023. – Т. 59, № 1. – С. 3–19.
- 4 Семячкина-Глушковская, О. В. Лимфатическая система в оболочках мозга: новые открытия в нейрофизиологии / О. В. Семячкина-Глушковская // Сибирское медицинское обозрение. – 2017. – № 6. – С. 39–50.
- 5 Emerging Roles of Meningeal Lymphatic Vessels in Alzheimer's Disease / G. Xiaodi [et al.] // Journal of Alzheimer's Disease. – 2023. – V. 94. N. S1. – P. 355–366.
- 6 Семячкина-Глушковская, О. В. Фотостимуляция как метод терапии контузии спинного мозга во время сна и бодрствования / О. В. Семячкина-Глушковская, Е. И. Саранцева, Т. Д. Искра // Изв. Сарат. ун-та Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2024. – Т. 24, №. 4. – С. 439–447.
- 7 Zein, R. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. / R. Zein, W. Selting, M. R. Hamblin // Journal of Biomed Opt. – 2018. – V. 23. N. 12. – P. 1–17.
- 8 Jiang-Xie, L. F. Clearance shapes aging brain health / L. F. Jiang-Xie, A. Drieu, J. Kipnis. // Neuron. – 2025. – V. 113, N. 1. – P. 71–81.
- 9 Sleep drives metabolite clearance from the adult brain / L. Xie [et al.] // Science. – 2013. – V. 342, N. 6156. – P. 373–377.

10 Coupled electrophysiological, hemodynamic, and cerebrospinal fluid oscillations in human sleep / N. E. Fultz [et al.] // Science. – 2019. – V. 366, N. 6465. – P. 628–631.

11 Semyachkina-Glushkovskaya, O. Night Photostimulation of Clearance of Beta-Amyloid from Mouse Brain: New Strategies in Preventing Alzheimer's Disease / O. Semyachkina-Glushkovskaya // Cells. – 2021. – V. 10. N. 12. – P. 14.