

07;12

Лазерный мониторинг скорости потока в лимфатических микрососудах с использованием пространственно-временной корреляции динамического спекл-поля

© И.В. Федосов, Е.И. Галанжа, А.В. Соловьева, В.В. Тучин

Саратовский государственный университет

E-mail: fedosoviv@info.sgu.ru

Поступило в Редакцию 19 марта 2002 г.

Описан способ и экспериментальная установка для лазерного *in vivo* мониторинга временных изменений скорости и направления потока лимфы в микрососудах брюжейки крысы. Способ основан на анализе статистических свойств динамических спекл-полей, имеет высокое пространственное разрешение. Представленные результаты измерений скорости лимфотока находятся в хорошем соответствии с данными функциональной трансмиссионной микроскопии.

Введение. Лимфатическая сосудистая система играет важную роль в поддержании тканевого гомеостаза в организме. Изучение локального возвратно-поступательного движения лимфы в микрососудах представляет значительный интерес с точки зрения физиологии, так как отток лимфы от органов и тканей обеспечивает их нормальное функционирование за счет постоянного удаления избытка жидкости, протеинов и клеток из интерстициального пространства и их возвращения в кровотоки [1–5].

В настоящее время известны два основных способа измерения скорости потока с учетом его направления, которые в принципе могут быть применены для *in vivo* исследований движения лимфы в микрососудах. Одним из таких методов является функциональная биомикроскопия с видеозаписью исследуемого участка сосуда и покадровым анализом изображений [5,6]. Однако этот метод применим при сравнительно невысоких концентрациях клеток в потоке и требует больших затрат времени на обработку видеоизображений. Другой способ — лазерная

доплеровская анемометрия — основан на использовании оптического гетеродинамирования для определения доплеровского сдвига частоты лазерного излучения, рассеянного движущимися частицами [7]. Основным недостатком этого метода является необходимость применения сложных и дорогих устройств однополосной модуляции оптического излучения, необходимых для измерения малых скоростей биологических потоков и определения их направления [8,9]. Проведенные ранее исследования показали перспективность применения спекл-интерферометрии для локальной оценки лимфотока *in vivo* [5,10,11]. Метод обеспечивает быстрое и достаточно простое измерение скорости лимфотока, но при этом вычисляется только относительная величина средней скорости и не регистрируется направление движения лимфы.

В настоящей работе впервые описаны способ и экспериментальная установка для лазерного *in vivo* мониторинга временных измерений скорости и направления потока лимфы в микрососудах брыжейки крысы. Способ обладает высоким пространственным разрешением и основан на анализе статистических свойств динамических спекл-полей, образованных сфокусированным лазерным пучком. Результаты измерений скорости лимфотока находятся в хорошем соответствии с данными функциональной трансмиссионной микроскопии. Использование нового метода в сочетании с функциональной микроскопией существенно расширяет диагностические возможности при изучении потоков клеток со сложной динамикой.

Пространственно-временная корреляция динамического спекл-поля. Одной из приближенных оптических моделей потока лимфы в микрососуде диаметром порядка $100 \mu\text{m}$ при концентрации клеток в потоке около 10% может служить случайный фазовый экран (СФЭ) [10,11]. Рассмотрим рассеяние пучка когерентного излучения на движущемся СФЭ. Пространственно-временная корреляционная функция интенсивностей рассеянного света, зарегистрированных в двух точках, будет иметь вид [12]:

$$g_1(\mathbf{r}, \tau) - 1 = \exp\left(-\frac{|\mathbf{v}|^2}{w^2} \tau^2\right) \exp\left(-\frac{1}{r_s^2} \left| \mathbf{r} - \left(1 + \frac{l}{\rho}\right) \mathbf{v}\tau \right|^2\right), \quad (1)$$

где \mathbf{r} — разность координат точек регистрации в плоскости наблюдения, τ — временная задержка, \mathbf{v} — скорость движения СФЭ, w — радиус освещенной области СФЭ, ρ — радиус кривизны волнового фронта

в плоскости СФЭ, l — расстояние от плоскости СФЭ до плоскости наблюдения, $r_s = 2l/(k_0 w)$ — средний размер спекла и k_0 — волновое число падающего излучения. Как видно из (1), спекл-поле в плоскости наблюдения будет транслироваться со скоростью:

$$\mathbf{v}_s = \frac{\mathbf{r}}{\tau_d} = \left(1 + \frac{l}{\rho}\right) \mathbf{v}, \quad (2)$$

где τ_d — положение максимума корреляционной функции. При этом спекл-поле будет непрерывно изменять свою структуру и при прохождении им расстояния

$$r_T = \left(1 + \frac{l}{\rho}\right) w \quad (3)$$

корреляция уменьшится в e раз. В случае если \mathbf{r} параллельно \mathbf{v} , $|\mathbf{r}| \ll r_T$ и $\rho \ll l$, можно, используя (2), получить следующее выражение для скорости потока:

$$v \approx \frac{\rho}{l} \frac{r}{\tau_d}. \quad (4)$$

Таким образом, в приближении равномерно движущегося одиночного тонкого СФЭ при фиксированной геометрии рассеяния положение максимума взаимной корреляционной функции динамического спекл-поля τ_d будет обратно пропорционально скорости потока.

Экспериментальная установка. Установка для *in vivo* мониторинга скорости потока биологических жидкостей в микрососудах, собранная на базе биологического микроскопа, показана на рис. 1. Излучение He-Ne лазера ЛГ-207 ($\lambda = 633 \text{ nm}$) вводится через канал осветителя и фокусируется объективом микроскопа в плоскости, расположенной на расстоянии порядка $100 \mu\text{m}$ от оси исследуемого микрососуда. Рассеянное на потоке лимфы лазерное излучение направляется на два фотоприемника, расположенных на расстоянии 300 mm от предметной плоскости микроскопа. Диаметр светочувствительной области каждого фотоприемника равен 3 mm , что соответствует среднему диаметру спекла в плоскости наблюдения. Расстояние между центрами фотоприемников составляет 7 mm , что существенно меньше величины r_T , определяемой соотношением (3). Центры фотоприемников располагаются на прямой, параллельной направлению трансляции спекл-поля. Сигналы фотоприемников усиливаются с помощью преобразователей фототока и оцифровываются двухканальным 16-разрядным аналого-цифровым

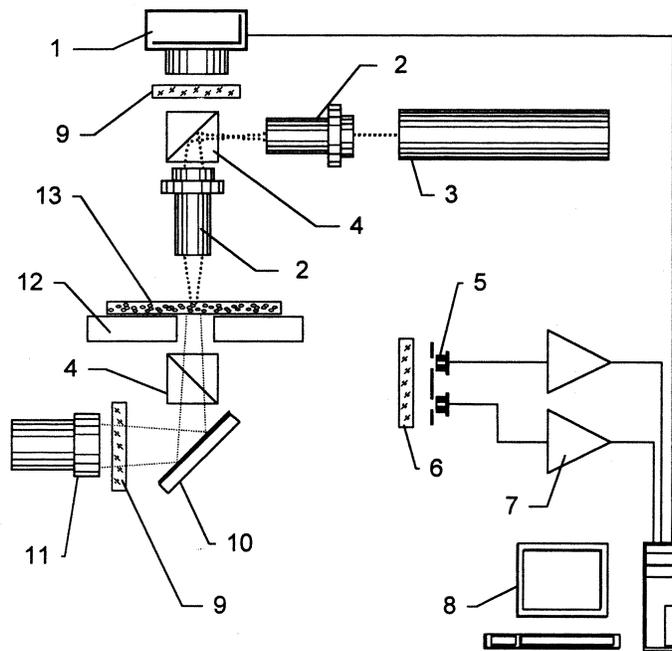


Рис. 1. Схема установки для *in vivo* мониторинга динамики лимфотока в микрососудах: 1 — цифровая видеокамера, 2 — микрообъектив, 3 — He-Ne лазер, 4 — делитель пучка, 5 — фотодиод, 6 — красный светофильтр, 7 — преобразователь фототока, 8 — персональный компьютер, 9 — зеленый светофильтр, 10 — зеркало, 11 — осветитель, 12 — термостатированный столик, 13 — лимфатический микрососуд брыжейки.

преобразователем. Частота квантования выбирается в зависимости от диапазона измеряемых скоростей. С помощью персонального компьютера строится оценка взаимной корреляционной функции сигналов фотоприемников, определяется положение ее максимума и вычисляется скорость потока. Установленная на микроскопе цифровая видеокамера позволяет одновременно с регистрацией спекл-сигнала осуществлять видеосъемку исследуемого участка брыжейки, определять среднюю скорость лимфотока в $\mu\text{m/s}$, его направление, а также другие парамет-

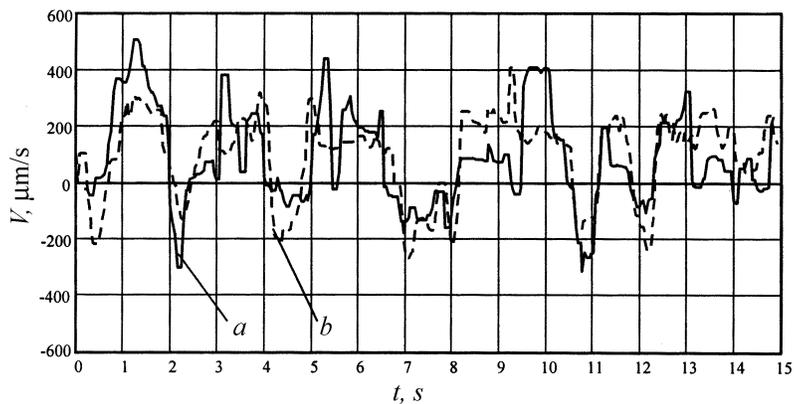


Рис. 2. Зависимость скорости лимфотока в микрососуде от времени. Данные, полученные с помощью лазерного измерителя скорости (*a*) и методом функциональной трансмиссионной микроскопии (*b*).

ры лимфомикроциркуляции (диаметр микрососуда, показатели фазной сократительной активности и работы клапана). Для предотвращения засветки видеокамеры излучением лазера и засветки фотоприемников осветителем микроскопа на объективе камеры и осветителе установлены зеленые светофильтры, а на фотоприемниках — красный светофильтр. В экспериментах использовались беспородные белые крысы. Наркотизированное животное помещалось на термостатируемый столик микроскопа. Лимфатические микрососуды изучали на брыжейке тонкого кишечника *in vivo* в проходящем свете.

Результаты. Описанная установка позволяет регистрировать в реальном времени изменения скорости и направления движения клеток в области пересечения лазерного пучка и лимфатического сосуда с временным разрешением 20 мс в диапазоне скоростей от 10 мкм/с до 10 мм/с. На рис. 2 показана зависимость скорости потока лимфы от времени в лимфатическом сосуде диаметром 150 мкм в брыжейке белой крысы, зарегистрированная лазерным измерителем скорости (*a*) и полученная при обработке видеозаписи (*b*). На рисунке видно хорошее взаимное соответствие результатов измерений, выполненных одновременно двумя независимыми способами. Некоторый разброс значений

скорости объясняется тем, что при обработке видеозаписи рассчитывалась средняя скорость движения клеток в пределах всего поперечного сечения сосуда, а лазерный измеритель регистрировал только скорость клеток, проходивших через измерительный объем диаметром $40\ \mu\text{m}$, локализованный в центральной части лимфатического сосуда. Следует заметить, что измерения скорости с помощью видеозаписи очень трудоемки, так как требуют измерения положения клеток в каждом кадре с последующим усреднением скорости от кадра к кадру. Вместе с тем трансмиссионная микроскопия, дающая абсолютные значения скорости лимфотока, позволяет калибровать относительные значения скорости, полученные при спекл-интерферометрии.

Заключение. Описанный в данной работе способ измерения скорости движения лимфы с учетом направления потока отличается простотой реализации и позволяет осуществлять *in vivo* мониторинг динамики лимфотока в реальном масштабе времени. Применение лазерного измерителя для регистрации временных измерений скорости потока позволяет существенно расширить возможности функциональной микроскопии, которая в настоящее время является одним из основных средств исследования микроциркуляции биологических жидкостей [6].

Исследования поддержаны грантом РФФИ „Ведущие научные школы“ N 00-15-96667 и грантом U.S.Civilian Research & Development Foundation for the Independent States of the Former Soviet Union, Award # REC-006.

Список литературы

- [1] *McHale N.G.* // NIPS. 1995. V. 10. P. 112–117.
- [2] *Буянов В.М., Алексеев А.А.* Лимфология эндотоксикоза. М.: Медицина, 1990. 272 с.
- [3] *Гашев А.А.* // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. 1991. Т. 77. № 7. С. 63–69.
- [4] *Berk D.A., Swartz M.A., Leu A.J., Jain R.K.* // Am. J. Physiol. 1996. V. 270. (Heart Circ. Physiol. 39). P. H330.
- [5] *Бриль Г.Е., Галанжа Е.И., Ульянов С.С.* и др. // Российский Физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87. № 5. С. 600–607.
- [6] *Гурфинкель Ю.И., Любимов В.В., Ораевский В.Н.* и др. // Биофизика. 1995. Т. 40. В. 4. С. 793–799.

- [7] *Ринкевичюс Б.С.* Лазерная диагностика потоков. М.: Изд-во МЭИ, 1990. 287 с.
- [8] *Eiji T., Nagai M., Matsuda K.* et al. // Opt. Eng. 1993. V. 32. N 1. P. 15.
- [9] *Левенко Б.А., Приезжев А.В., Проскурин С.Г.* и др. // Изв. АН. Сер. Физ. 1995. Т. 59. № 6. С. 162.
- [10] *Ulyanov S.S., Tichin V.V., Bednov A.A.* et al. // Lasers in Medical Sciences. 1997. V. 12. P. 31–41.
- [11] *Ulyanov S.S.* // Journal of Biomedical Optics. 1998. V. 3. N 3. P. 227.
- [12] *Yoshimura T.* // J. Opt. Soc. Am. A. 1986. V. 3. N 7. P. 1032–1054.