

МЕТОД ХРОНІЧНОГО ВІКНА НАСКРІЗНОГО ІНТАКТНОГО ЧЕРЕПА (TIS) У МИШЕЙ

Вінницький національний технічний університет

Анотація

В даній роботі представлено огляд методу хронічного вікна наскрізного інтактного черепа (TIS) для спостереження за структурою та функцією кори головного мозку у мишей.

Ключові слова:

Вікно оптичного очищення черепа, довгострокова нейросудинна візуалізація, черепно-мозкова травма.

Abstract

This paper presents the review of the through-Intact-Skull (TIS) chronic window technique for cortical structure and function observation in mice.

Keywords:

Skull optical clearing window, long-term neurovascular imaging, traumatic brain injury.

Вступ

Сучасні методи оптичної візуалізації надають потужні інструменти для спостереження за структурою та функціями кори головного мозку з високою роздільною здатністю. Для різних застосувань зображень кори головного мозку були створені різні вікна черепа, і кожне з них має свої переваги та обмеження. Найважливішим з обмежень є те, що жодне з існуючих вікон черепа не підходить для спостереження за реакцією на деякі гострі черепно-мозкові травми у великому масштабі і з високою роздільною здатністю. Тому ми пропонуємо розглянути метод вікна "Through-Intact-Skull (TIS)", яке дозволяє спостерігати імунну відповідь у двосторонньому кортикальному масштабі та з роздільною здатністю на рівні окремих клітин після черепно-мозкової травми, не впливаючи на патологічне середовище мозку. Вікно TIS також має такі переваги, як відсутність краніотомії, сантиметрове поле зору, синаптична роздільна здатність, велика глибина зображення, можливість тривалого спостереження і придатність для неспанья мишей. Таким чином, TIS-вікно є багатообіцяючим новим підходом для прижиттєвої мікроскопії кори головного мозку в фундаментальних дослідженнях в галузі нейронаук. Даний огляд базується на матеріалах статті [1].

Матеріали дослідження

Спостереження за мозком *in vivo* з високою роздільною здатністю має фундаментальне значення для розуміння його фізіологічних функцій та вивчення внутрішніх механізмів, патогенезу і потенційного лікування різних захворювань, пов'язаних з мозком. Сучасні методи оптичної візуалізації надають потужні інструменти для спостереження за структурою та функціями кори головного мозку з високою роздільною здатністю та низькою інвазивністю, що дозволяє відстежувати зміни в здоровому або патологічному мозку *in vivo* [2]. Однак, розсіювання каламутного черепа під час процедур серйозно впливає на проникнення світла, обмежуючи якість і глибину зображення в корі головного мозку [3]. Тому оптична візуалізація кори головного мозку *in vivo* зазвичай потребує допомоги "вікон черепа".

Скляне вікно з відкритим черепом і вікно з потоншеним черепом є двома найбільш широко використовуваними техніками "черепного вікна" [4]. Скляне вікно відкритого черепа вимагає видалення черепа і накриття мозку прозорим скляним предметним склом [5], що дозволяє проводити тривале спостереження протягом місяців [6], серед яких вигнуте скляне вікно може забезпечити оптичний доступ до приблизно 800 000-1 100 000 окремих нейронів по всій дорсальній поверхні неокортексу [7]. Для вікна з потоншеним черепом частина черепа шліфується надзвичайно тонко (до 25 мкм), щоб забезпечити проникнення світла [8]. На додаток до цих двох хірургічних черепних вікон, в останні роки були розроблені черепні вікна на основі хімічних агентів, здатні зробити череп більш прозорим для світла: "Прозоре вікно для черепа" і "оптичне вікно для очищення черепа" - дві репрезентативні методики на основі агентів [9].

На жаль, жодне з цих черепних вікон не є адекватним для великомасштабного безперервного спостереження з високою роздільною здатністю за деякими моделями гострих захворювань головного мозку. Наприклад, підхід відкритого черепного вікна не підходить для оптичної візуалізації головного мозку з високою роздільною здатністю *in vivo* при гострій черепно-мозковій травмі (ЧМТ), яка спричинена зовнішніми силами і є поширеною як у мирний, так і у воєнний час [10], що трапляється приблизно у 69 мільйонів пацієнтів у всьому світі щороку [11], оскільки вона неминуче змінює внутрішньочерепний тиск, змінюючи природний стан мозку, і не підходить для негайної візуалізації відновлення мозку [4]. Вікно для потоншеного черепа краще підходить для вивчення реальних реакцій при специфічних патологічних станах одразу після ЧМТ, однак воно дозволяє спостерігати лише невелику ділянку, оскільки не здатне рівномірно відшліфувати велику ділянку черепа до 25 мкм [12] або визначити появу реакцій у різних ділянках мозку без глобального поля зору. Хоча прозоре вікно черепа і оптичне вікно черепа можуть забезпечити сантиметрове поле зору без краніотомії, перше не дозволяє відстежувати внутрішньочерепні імунні відповіді на рівні однієї клітини через свою обмежену прозорість, а друге не може забезпечити безперервне спостереження, оскільки агенти потрібно часто подавати, що перериває спостереження, тоді як процес імунної відповіді часто триває кілька годин або довше [13].

Тому розробка методу черепного вікна, здатного одночасно відповідати вимогам, включаючи збереження внутрішнього середовища і забезпечення широкого поля зору, високої роздільної здатності і довговічності, а також пропонувати інструмент для різних фізіологічних і патологічних досліджень, є надзвичайно важливою.

У дослідженні [1] було створено вікно хронічного оптичного очищення черепа, назване "Вікно через неушкоджений череп (TIS-вікно)", без краніотомії у мишей. Це перше вікно, яке забезпечує двостороннє кортикальне поле зору для відстеження імунних реакцій на гостру ЧМТ з роздільною здатністю на рівні однієї клітини. Крім того, було оцінено масштаб зображення, роздільну здатність, час роботи і можливість зображення неспальних мишей під вікном TIS, і результати показали, що його також можна використовувати в більшості застосувань, для яких придатні сучасні вікна для дослідження черепа. Таким чином, нова технологія може бути використана в різних додатках візуалізації кори головного мозку *in vivo* і має великий потенціал у дослідженнях мозку.

Висновок

У цьому дослідженні було проведено огляд методу наскрізного вікна для інтактного черепа, яке забезпечує високу прозорість черепа і велике поле зору для оптичної візуалізації без краніотомії. Використовуючи нове TIS-вікно, вперше була реалізована двостороння візуалізація кори головного мозку *in vivo* з роздільною здатністю до однієї клітини після гострої черепно-мозкової травми. Також були оцінені характеристики вікна TIS, які продемонстрували його глибину візуалізації до 900 мкм, здатність до роздільної здатності дендритного хребта, можливість довготривалого спостереження протягом тижнів і придатність для тварин, що не сплять. TIS-вікно без краніотомії з простими і швидкими кроками, як вікно для оптичного очищення черепа, має переваги над вікном для відкритого черепа, вікном для стоншеного черепа, вікном "прозорого черепа" і вікном для оптичного очищення черепа, і здатне здійснювати безперервний моніторинг кори головного мозку з високою роздільною здатністю і в сантиметровому масштабі, з мінімальним впливом на навколишнє середовище головного мозку. Таким чином, техніка TIS-вікна має великий потенціал для фізіологічних і патологічних досліджень у галузі науки про мозок.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Li, D., Hu, Z., Zhang, H. et al. A Through-Intact-Skull (TIS) chronic window technique for cortical structure and function observation in mice. *eLight* 2, 15 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43593-022-00022-2>
2. G.S. Hong, A.L. Antaris, H.J. Dai, Near-infrared fluorophores for biomedical imaging. *Nat. Biomed. Eng.* 1, 0010 (2017)
3. M. Kneipp et al., Effects of the murine skull in optoacoustic brain microscopy. *J. Biophotonics* 9, 117–123 (2016)
4. G. Yang et al., Thinned-skull cranial window technique for long-term imaging of the cortex in live mice. *Nat. Protoc.* 5, 201–208 (2010)

5. J. Fan et al., Video-rate imaging of biological dynamics at centimetre scale and micrometre resolution. *Nat. Photonics* **13**, 809–816 (2019)
6. S.W. Cramer et al., Through the looking glass: a review of cranial window technology for optical access to the brain. *J. Neurosci. Methods* **354**, 109100 (2021)
7. T.H. Kim et al., Long-term optical access to an estimated one million neurons in the live mouse cortex. *Cell Rep.* **17**, 3385–3394 (2016)
8. P.J. Drew et al., Chronic optical access through a polished and reinforced thinned skull. *Nat. Methods* **7**, 981–984 (2010)
9. J. Wang et al., An innovative transparent cranial window based on skull optical clearing. *Laser Phys. Lett.* **9**, 469–473 (2012)
10. L.G.F. Smith et al., Advanced neuroimaging in traumatic brain injury: an overview. *Neurosurg. Focus* **47**, E17 (2019)
11. M.C. Dewan et al., Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *J. Neurosurg.* **130**, 1080–1097 (2019)
12. X.J. Han et al., In vivo two-photon imaging reveals acute cerebral vascular spasm and microthrombosis after mild traumatic brain injury in mice. *Front. Neurosci* **14**, 210 (2020)
13. K. Blennow, J. Hardy, H. Zetterberg, The neuropathology and neurobiology of traumatic brain injury. *Neuron* **76**, 886–899 (2012)

Шереметьєва Альона Юрійєна – студентка групи БМІ- 216, факультет інформаційних електронних систем, Вінницький національний технічний університет.

Криворучко Іван Олександрович – асистент кафедри біомедичної інженерії та оптико-електронних систем, Вінницький національний технічний університет.

Sheremetieva Alyona Yu. – student of Faculty of Information Electronic Systems, Vinnytsia National Technical University, Vinnytsia.

Kkrivoruchko Ivan OL. – assistant, Associate Professorat the Department of Biomedical Engineering and Optoelectronic Systems, Vinnytsia National Technical University.