

УДК 535.341+ 535.361

## **СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СРЕЗОВ ТКАНИ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ ПОСЛЕ ПРОЦЕДУРЫ ПЕРФУЗИРОВАНИЯ**

**Кандурова К.Ю.** (Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия), **Серёгина Е.С.**

(Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия), **Палалов А.А.** (Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия)

**Научный руководитель – к.т.н., доцент Потапова Е.В.**

(Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия)

В докладе представлены результаты эксперимента по измерению спектральных характеристик печени крысы после процедуры перфузирования органа. Данный подход рассматривается с точки зрения получения более точных значений оптических параметров для дальнейшего применения в разработке методов оптической экспресс-диагностики в хирургии.

**Введение.** В настоящее время оптические методы диагностики остаются актуальным направлением биотехнических исследований, постепенно находя все большее применение в хирургии. Одним из важных этапов разработки при подборе параметров источников и приемников излучения является моделирование распространения света в тканях. Для этого требуется не только знать ряд оптических характеристик биологических тканей, но и иметь возможность регулировать их в зависимости от предполагаемого содержания определенных хромофоров (гемоглобин, вода, липиды и т.д.), чтобы точнее воспроизводить нормальные и патологические состояния тканей. В связи с этим получение более «чистых» спектров биологических тканей представляет особый интерес и в то же время непростую задачу.

В частности, одним из таких органов, где проблема кровенаполнения имеет высокую актуальность, является печень. Гемоглобин крови хорошо поглощает оптическое излучение, особенно в диапазоне 400-600 нм. В качестве меры по снижению содержания крови в данном исследовании предлагается перфузирование печени. Данная процедура также применяется в биомедицинских исследованиях для моделирования влияния ишемии и реперфузии в трансплантологии и для подготовки печени перед выделением гепатоцитов или получением биоматрикс для тканевой инженерии.

Таким образом, целью работы явилось рассмотрение влияния перфузирования печени на оптические характеристики тканей в ходе их подготовки к спектрофотометрическим измерениям.

**Основная часть.** Эксперименты были одобрены этическим комитетом Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева (протокол заседания №18 от 21.02.2020).

В исследовании были использованы самцы крыс линии Wistar (n=3 в экспериментальной группе, n=1 – контрольное животное). Для наркотизации животного использовались препараты Zoletil 100 (Vibrac, Франция) и Xyla (Interchemie, Нидерланды) в стандартных дозировках. В ходе срединной лапаротомии выделялась воротная вена печени и под нее проводились лигатуры, одна из которых затягивалась для остановки притока крови. В вену вводили сосудистый катетер 22 G, заполненный раствором гепарина (5000 ед/мл). Катетер фиксировался лигатурами и подключался к инфузионной системе, по которой вводился раствор Хэнкса (HBSS, pH=7.4, 37°C). Затем перфорировали нижнюю полую вену. Скорость потока раствора составляла 1000 мл/ч, объем – около 1,5 л. Достаточная степень перфузирования определялась визуально по изменению цвета поверхности и консистенции органа. После процедуры печень выделялась из брюшной полости для получения срезов

толщиной около 1 мм. У контрольного животного подготовка срезов проводилась без предварительного перфузирования.

Образцы тканей (N=8 – экспериментальная группа, N=3 – контрольная) помещались между двумя стандартными предметными стеклами толщиной 1 мм с фиксированным расстоянием 0,95 мм. Для измерений характеристик образцов тканей в диапазоне 220-1400 нм использовался спектрофотометр Shimadzu UV-2600 с интегрирующей сферой ISR-2600Plus (Shimadzu Corporation, Япония). Расчет зависимостей коэффициента поглощения и транспортного коэффициента рассеяния проводился методом обратного добавления-удвоения.

По результатам измерений полного пропускания и отражения отмечалось, что значительную роль в спектральный состав вносит содержание в тканях крови и воды. После перфузирования наблюдалось общее повышение полного пропускания и отражения, при этом наименьший разброс проявлялся в диапазоне 500-600 нм, снижение показателей в котором обусловлено присутствием гемоглобина. По сравнению с контрольными срезами отмечалось примерно одинаковое поглощение света гемоглобином в зеленой части спектра. Однако в группе контрольных срезов отмечается форма спектра, более характерная для печени *in vivo* с дезоксигенированной кровью (полосы 560 и 760 нм), а в экспериментальной группе – наблюдается общее повышение отражения, отсутствие характерной полосы поглощения дезоксигемоглобина 760 нм и проявление двух пиков поглощения оксигемоглобина (540 и 580 нм, но со смещением в сторону уменьшения длины волны на 15-20 нм). По этим изменениям, а также по значительному спаду обоих показателей в диапазоне 400-450 нм можно судить о том, что несмотря на перфузирование некоторое количество крови остается в мелких сосудах. В случае полного поглощения наблюдается снижение в экспериментальной группе в ближнем ИК диапазоне из-за увеличения содержания воды из раствора HBSS. Характерная форма спектра для воды (провалы на длинах волн 970 и 1190 нм) сохранялась в обеих группах.

Результаты расчета зависимости коэффициента поглощения от длины волны указывают на наибольшие различия (снижение почти в 2 раза в экспериментальной группе) в полосе 540-560 нм, что указывает на эффективность перфузирования. В целом, коэффициент поглощения демонстрирует наибольшую воспроизводимость по сравнению с остальными показателями и более точно соотносится с литературными данными. Средние значения и разброс транспортного коэффициента рассеяния увеличились после перфузирования. На остаточное присутствие крови в сосудах также указывало значительное повышение коэффициента поглощения на длинах волн 400-450 нм. При этом для зависимости транспортного коэффициента рассеяния, несмотря на характерное снижение при увеличении длины волны, наблюдалось нетипичное снижение в том же диапазоне, а также в полосе поглощения гемоглобина.

**Выводы.** Таким образом, описанные результаты исследования показали возможности и перспективы применения перфузирования тканей для увеличения воспроизводимости результатов и получения более корректных зависимостей оптических характеристик от длины волны. Отмеченные выше особенности получения и интерпретации показателей указывают на влияние таких факторов как: трудности объективной оценки степени перфузирования ткани, неравномерность площади и толщины срезов при ручной подготовке, неравномерность структуры, трудности установки и закрепления образца на сфере. Результаты, полученные в рамках данной работы, лягут в основу модификации методологии для дальнейших исследований, которые станут одним из этапов разработки новых технических средств и подходов для внедрения оптических технологий в клиническую практику.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 21-15-00325.