

Применение имплантируемых оптических сенсоров для мониторинга pH в различных тканях гидробионтов

Щапова Е.П. (НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ»), **Гурков А.Н.** (НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ»), **Помазкин В.К.** (НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ»)

Научный руководитель – доктор биологических наук, Тимофеев М.А. (НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ»)

Введение. Различные имплантируемые сенсоры и датчики, способные отслеживать физиологические параметры прямо из тканей организма, вызывают значительный интерес во многих областях науки и техники. Эти устройства могут упростить процедуры анализа, сокращая необходимость взятия образцов из организма. Использование имплантируемых оптических сенсоров может повысить эффективность анализа состояния живых организмов, особенно гидробионтов. Гидробионты небольших размеров широко используются в исследованиях в областях экотоксикологии, экологической физиологии, аквакультуры и при экологическом мониторинге пресноводных экосистем [1]. Применение имплантируемых сенсоров на гидробионтах малого размера позволит не только ускорить проводимые исследования, но и предоставит возможность изучения индивидуальных реакций небольших животных на разнообразные негативные факторы в реальном времени.

Ранее pH-чувствительные имплантируемые сенсоры на основе микроинкапсулированного красителя SNARF-1 показали свою эффективность в системе кровообращения и тканях рыб и ракообразных в течение нескольких часов [2]. Флуоресценцию данного красителя детектировали и анализировали с использованием микроскопа, снабженного спектрометром. Установлено, что pH внутренней среды организма представляет собой перспективный маркер для оценки негативного воздействия гипоксических условий, возникающих, например, при транспортировке животных в аквакультуре и при эвтрофикации водоемов. Также сдвиги в pH связаны с возможными дисфункциями печени и почек, что является ключевым аспектом при интоксикации. Таким образом, этот параметр может иметь важное значение и для задач аквакультуры, и для оценки токсичности различных веществ для гидробионтов, особенно в рамках экотоксикологических исследований и контроля качества воды и сточных вод.

Основная часть. Целью данной работы была оценка возможности продления срока службы pH-сенсоров на основе SNARF-1 благодаря использованию гидрогелевых носителей, замедляющих инкапсуляцию импланта в рамках иммунного ответа. В качестве объектов исследования были выбраны байкальский эндемичный вид амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* Gerstfeldt, 1858, модельный организм во многих областях биомедицинских исследований *Danio rerio* (Hamilton, 1822) и радужная форель *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) как объект аквакультуры.

В качестве основного материала для создания гидрогелевых сенсоров на pH был использован полиакриламид. Внутри этого гидрогеля на стадии полимеризации были внедрены микрокапсулы [3], в которых содержится pH-чувствительный SNARF-1-декстран Thermo Fisher Scientific, D-3304). После изготовления гидрогель вводили в организм животного с помощью инъекций. Снятие показаний производили с помощью флуоресцентного микроскопа или портативного устройства, к которым подключали спектрометр QE Pro (OceanOptics, США) [4].

В течение пяти суток (n=10) производили отслеживание показаний pH-чувствительного сенсора в тканях амфипод в контрольных условиях. В первые двое суток медианные значения pH колебались от 8,01 до 8,3, что соответствует ранее опубликованным данным [5]. В ходе исследования было обнаружено, что нити полиакриламида, использованные при работе с амфиподами, непригодны для внедрения в ткани небольших рыб из-за высокой

плотности мышечной ткани, что затрудняет введение сенсорных нитей. В связи с этим, для внедрения в мышцы рыбы *D. rerio* был выбран аморфный гидрогель низкой плотности в качестве носителя. В течение двух дней после инъекции гидрогеля в мышечную ткань рыбы *D. rerio* (n=10) медианный pH внутри гелей составил 7,55, и сохранялся на уровне 7,4-7,5 в течение указанного периода, что соответствует данным о pH межклеточной жидкости *D. rerio* из литературы [6]. Анализ pH внутри жирового плавника радужной форели с помощью сенсоров на основе плотных гидрогелевых нитей показал относительно высокий средний уровень, достигавший 7,9 на следующий день после инъекции, с последующим медленным снижением и стабилизацией на уровне 7,3-7,4 через пять дней после инъекции. В случае именно форели потребовалось применение компактного аналога флуоресцентного микроскопа для снятия показаний без анестезии рыбы непосредственно в ёмкостях с водой.

Наконец, чувствительность подготовленных сенсоров к изменениям pH межклеточной среды проверяли с помощью экспозиций в гиперкапнических условиях. Для эксперимента воду насыщали CO₂ и после одного часа экспозиции измеряли сигнал. Уровень CO₂ определяли с помощью набора Tetra (Water Test Set, Германия) и теста Нилпа (Россия), во время эксперимента он находился в диапазоне 55–97 мг/л. Контрольные значения уровня CO₂ в воде составляли 2 мг/л для рыб и 6 мг/л для амфипод. Как и ожидалось, данная экспозиция привела к статистически значимому снижению медианного значения pH внутри гидрогеля с 8,1 до 6,9 у амфипод, с 7,44 до 7,18 в мышцах рыб *D. rerio* и с 7,4 до 7,04 в жировом плавнике *O. mykiss*.

Выводы. Полученные результаты подтверждают эффективность разработанных сенсоров на основе гидрогелевых имплантов для непрерывного мониторинга уровня pH в различных тканях гидробионтов в течение не менее чем нескольких дней. Гидрогели данного типа могут эффективно применяться как на крупных, таких как радужная форель, так и на мелких объектах исследования, включая ракообразных. Таким образом, проведенное исследование закладывает методологический фундамент для последующей разработки имплантируемых устройств с разнообразными функциональными применениями, основанных на разработанных гидрогелевых носителях. Этот результат может иметь большое значение в развитии имплантируемых технологий для гидробионтов в таких отраслях как аквакультура, экологический мониторинг водоёмов, проверка токсичности сточных вод и новых соединений.

Список использованных источников:

1. Osuna-Flores I. et al. Effect of organophosphorus pesticides in juveniles of *Litopenaeus vannamei*: alteration of glycogen, triglycerides, and proteins // *Ecotoxicology*. – 2019. – С. 1-9.
2. Borvinskaya E. et al. Parallel in vivo monitoring of pH in gill capillaries and muscles of fishes using microencapsulated biomarkers // *Biology open*. – 2017. – Vol. 6. – №. 5. – P. 673-677.
3. Gurkov A. et al. Microencapsulated fluorescent pH probe as implantable sensor for monitoring the physiological state of fish embryos // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12. – №. 10. – P. e0186548.
4. Rzhchitskiy Y. et al. Adipose Fin as a Natural “Optical Window” for Implantation of Fluorescent Sensors into Salmonid Fish // *Animals*. – 2022. – Vol. 12. – №. 21. – P. 3042.
5. Jakob L. et al. Lake Baikal amphipods under climate change: thermal constraints and ecological consequences // *Ecosphere*. – 2016. – Vol. 7. – №. 3. – P. e01308.
6. Kwong R. W. M., Kumai Y., Perry S. F. The physiology of fish at low pH: the zebrafish as a model system // *Journal of Experimental Biology*. – 2014. – Vol. 217. – №. 5. – P. 651-662.