

ОБОСНОВАНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ТОЧЕК ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Е.С. Серёгина, О.А. Стельмашук
(ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл)
Научный руководитель – А.И. Жеребцова
(ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл)

Исследования метаболических процессов, происходящие в организме человека и животных, представляется крайне актуальным направлением для исследования в современной научной практике. В качестве метода оценки был выбран метод флуоресцентной спектроскопии (ФС). Данный метод основан на возбуждении флуоресценции эндогенных и экзогенных флуорофоров биоткани и записи излучения в видимой области спектра. Также метод флуоресцентной спектроскопии обладает высокой чувствительностью и позволяет проводить неинвазивную диагностику состояния кислородного метаболизма тканей.

Цель данной работы заключалась в поиске наиболее информативных точек на различных участках кожи тела крысы для исследования и мониторинга динамики процессов, происходящих в тканях, а также для последующего моделирования предполагаемого поведения биологической системы.

Экспериментальные исследования были проведены методом ФС при помощи многофункционального лазерного неинвазивного диагностического комплекса «ЛАКК-М» (ООО НПП, «ЛАЗМА», г. Москва) с измерительным каналом флуоресцентной спектроскопии на длинах волн возбуждения 365 нм, 450 нм, 532 нм и 637 нм. Для регистрации максимальной интенсивности эндогенной флуоресценции было использовано возбуждение зелёным светом с длиной волны 532 нм, так как у выбранного для дальнейших исследований контрастного вещества явление флуоресценции наиболее ярко выражено на данной длине волны. Работа была проведена на 6 крысах линии Wistar в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики GLP (согласно ГОСТ, 2012). Животных содержали в контролируемых по температуре воздуха, влажности, бактериальной чистоте с 12 часовым суточным освещением в условиях карантина в течение 2 недель с ежедневным осмотром ветврача. Во время исследования все крысы были подвергнуты анестезии препаратом Золетил 100 (Vibrac, Франция) соответственно стандартным дозировкам. Согласно свой выбор с данными литературы, было отобрано 5 участков (точек) на поверхности кожи крысы, в которых сосуды микроциркуляции наиболее близко расположены к поверхности. Участками выбора стала поверхность кожи на ушной раковине, бедре, в области плюсны конечности, область в самой толстой части хвоста и в основании хвоста. Участки кожи с наличием волосяного покрова предварительно выбривали и обезжиривали, чтобы минимизировать создание помех при измерении.

Первый этап заключался в анализе выбранных точек. В участке толстой части хвоста было обнаружено, что порфирин, выделяющийся у крыс и оседающий на покрытом кольцеобразными чешуйками хвосте, сильно влияет на спектры получаемой флуоресценции. В области плюсны отсутствует волосяной покров, а на поверхности ушной раковины хорошо видны сосуды, однако в данных участках тела сложно обеспечить неподвижность волокна прибора, что создает дополнительные помехи при измерении. Исходя из проведенных практических испытаний, был сделан вывод о том, что точки на бедре и в основании хвоста являются наиболее оптимальными участками для проведения исследования.

Следующий этап исследования заключался в регистрации спектра флуоресценции в выбранных точках и анализа в полученном спектре интенсивности сигнала флуоресценции $I_f(\lambda_f)$ на длине волны флуоресценции λ_f и максимума интенсивности обратно рассеянного

тканью лазерного излучения $I_{laser}(\lambda_e)$ на длине волны возбуждения. На основании данных параметров был рассчитан индекс тканевого содержания флуорофора $\eta(\lambda_f)_{\lambda_e}$, так как данный параметр позволяет качественно учесть разную оптическую плотность тканей с помощью нормировки на обратно рассеянный сигнал источника.

В результате исследования набора точек были статистически обработаны полученные данные. В точке на бедре интенсивность сигнала флуоресценции $I_f(\lambda_f)$ составила $35,9 \pm 12,6$ отн.ед., в точке в основании хвоста - $74,7 \pm 38,1$ отн.ед. Индекс тканевого содержания флуорофора $\eta(\lambda_f)_{\lambda_e}$ в точке на бедре составил $0,36 \pm 0,07$, в точке в основании хвоста - $0,44 \pm 0,11$. Диапазон разброса параметров при анализе максимальной интенсивности флуоресценции в точке на правом бедре составил 14-30% для усреднённых значений, в точке в основании хвоста разброс усреднённых значений составил 20-58%. Диапазон разброса индекса тканевой флуоресценции в точке на бедре составил 6-13% для усреднённых значений, в точке в основании хвоста - 12-27%.

Таким образом, оценка параметров максимальной интенсивности и индекса тканевого содержания флуорофора показала, что по критерию разброса (коэффициенту вариации) для данного исследования метаболических процессов в биоткани с помощью метода ФС наиболее оптимальным является точка на коже бедра лабораторных крыс.

Автор

Е.С. Серёгина

Научный руководитель

А.И. Жеребцова

Заведующий кафедрой «ПМиС»

К.В. Подмастерьев