

**ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА СПЕКТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ
ДЛЯ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ
ПЕЧЕНИ ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХЕ**

К.Ю. Кандурова¹, Д.С. Сумин^{1,2}, А.В. Мамошин^{1,2}, Е.В. Потапова¹

¹ Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия

² Орловская областная клиническая больница, Орел, Россия

Представлены результаты исследования функционального состояния печени методом флуоресцентной спектроскопии. Проводится сравнение результатов измерений у пациентов с механической желтухой и без данного синдрома. При деконволюции спектров флуоресценции обнаружена разница во вкладе флуорофоров NADH и билирубина, характеризующих функциональные изменения тканей печени. Предложенный подход может быть использован для разработки диагностического критерия оценки печеночной дисфункции.

Ключевые слова: оптическая биопсия, флуоресцентная спектроскопия, механическая желтуха.

**STUDY OF FLUORESCENCE SPECTRA TO ASSESS THE FUNCTIONAL
STATE OF LIVER TISSUE IN OBSTRUCTIVE JAUNDICE**

K.Y. Kandurova¹, D.S. Sumin^{1,2}, A.V. Mamoshin^{1,2}, E.V. Potapova¹

¹ Research and Development Center of Biomedical Photonics, Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia

² Orel Regional Clinical Hospital, Orel, Russia

The work presents the results of the study of liver functional state by fluorescence spectroscopy. We compare the results of measurements in patients with obstructive jaundice and without this syndrome. By deconvoluting the fluorescence spectra we found out a difference in contribution of NADH and bilirubin fluorophores characterizing functional changes of liver tissue. The proposed approach can be used to develop a diagnostic criterion for evaluation of hepatic dysfunction.

Key words: optical biopsy, fluorescence spectroscopy, obstructive jaundice.

Синдром механической желтухи развивается при нарушении оттока желчи по желчевыводящим путям в двенадцатиперстную кишку вследствие желчнокаменной болезни, воспалительных процессов, а также доброкачественных и злокачественных новообразованиями. Механическая желтуха сопровождается функциональными и морфологическими нарушениями, которые могут привести к развитию печеночной недостаточности [1]. Для выбора способа дальнейшей терапии и прогнозирования течения заболевания важно иметь представление об морфофункциональных изменениях в паренхиме печени вследствие развития

печеночной недостаточности. Для оценки тяжести печеночной дисфункции традиционно используются клинические и биохимические показатели, а также прогностические шкалы и системы, однако они дают приблизительное косвенное представление, что определяет актуальность поиска дополнительных объективных критериев и разработки технологий для оценки функционального состояния печени в режиме реального времени. Перспективным направлением является приложение метода флуоресцентной спектроскопии (ФС). Этот метод дает информацию о содержании основных флуорофоров, что позволяет оценить метаболизм печени *in vivo* [2, 3], в том числе во время выполнения антеградной декомпрессии желчных протоков.

Таким образом, целью работы явилось *in vivo* исследование оптических свойств паренхимы печени при механической желтухе методом флуоресцентной спектроскопии.

Исследования проводились на базе хирургического отделения Орловской областной клинической больницы и были одобрены этическим комитетом Орловского государственного университета (протокол №14 от 24.01.2019). В исследовании приняли участие 8 пациентов с синдромом механической желтухи. Оптические измерения проводились во время проведения антеградной декомпрессии желчевыводящих путей под ультразвуковым и рентгенотелевизионным контролем. В качестве группы сравнения были использованы спектры флуоресценции 8 пациентов без механической желтухи, полученные с неизменной паренхимы печени во время проведения пункционной биопсии очаговых образований [3].

Измерения проводились с помощью канала ФС специально разработанной установки оптической биопсии. Канал включал в себя светодиод 365 нм и лазерный диод 450 нм, ПЗС-спектрометр FLAME T-VIS-NIR-ES (Ocean Optics, США) с диапазоном 350-1000 нм и отсекающие обратно рассеянное излучение фильтры 400 нм и 495 нм (Thorlabs Inc., США). Для доставки оптического излучения использовался специально разработанный оптический зонд малого диаметра. Спектры флуоресценции анализировались в программной среде OriginPro с помощью нормирования до 100, сглаживания фильтром Савицкого-Голая и деконволюции путем итерационного нелинейного подбора на основе алгоритма Левенберга-Марквардта комбинаций гауссовых кривых, отражающих вклад основных флуорофоров ткани печени в общий спектр флуоресценции [4].

Анализируемыми параметрами являлись высоты гауссовых кривых, площади под гауссовыми кривыми и их относительный вклад в общую площадь под кривой спектра. Анализируемыми флуорофорами являлись NADH (445 нм), флавины (530-550 нм) и билирубин (517-521 и 565-575 нм). Было выявлено статистически значимое преобладание NADH в спектрах, возбужденных излучением на длине волны 365 нм. Анализ кривых, полученных для спектров на длине волны 450 нм, показал увеличение процента площади кривых билирубина в группе пациентов с синдромом механической желтухи (таблица 1).

Таблица 1. Сравнение параметров основных флуорофоров тканей печени

Флуорофор	Высота гауссовой кривой, отн.ед.		% площади под кривой в общей площади под кривой спектра, отн.ед.	
	Без желтухи	При желтухе	Без желтухи	При желтухе
NADH	7,7±2,8	26,3±5,1 *	2,4±0,8	9,3±1,8 *
Флавины	38,2±4,6	42,9±4,9	12,3±2,6	15,0±2,8
Билирубин	74,6±8,2	80,4±1,4	22,4±2,2	28,0±2,8 *
	28,7±6,2	36,4±0,8	14,7±3,2	20,5±2,0 *

* Статистически значимые различия (ANOVA, $p < 0,05$)

Полученные результаты отражают наличие метаболических изменений, связанных со сдвигами в содержании основных флуорофоров тканей печени. Преобладание флуоресценции кофермента NADH может указывать на нарушения в процессе утилизации кислорода. Гипоксия, возникающая вследствие тяжелой дисфункции гепатоцитов, в свою очередь и приводит к развитию печеночной недостаточности. Также у больных с синдромом механической желтухи наблюдалось значительное накопление билирубина из-за наличия препятствия для оттока желчи из печеночных ацинусов и её накопления в тканях печени.

Таким образом, результаты свидетельствуют о возможности применения метода ФС для получения данных о функциональном состоянии паренхимы печени. Вклады флуоресценции NADH и билирубина могут быть изучены в дальнейшем как диагностические критерии оценки течения печеночной недостаточности.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-15-00325).

Библиографический список

1. See T.C. Acute biliary interventions / T.C. See // *Clinical Radiology*, 2020, 75(5), p. 398.e9-398.e18.
2. Kandurova K. Fiber-optic system for intraoperative study of abdominal organs during minimally invasive surgical interventions / K. Kandurova, V. Dremin, E. Zherebtsov, E. Potapova, A. Alyanov, A. Mamoshin, Y. Ivanov, A. Borsukov, A. Dunaev // *Applied Sciences*, 2019, 9(2), 217.
3. Dremin V. Optical percutaneous needle biopsy of the liver: a pilot animal and clinical study / V. Dremin, E. Potapova, E. Zherebtsov, K. Kandurova, V. Shupletsov, A. Alekseyev, A. Mamoshin, A. Dunaev // *Scientific Reports*, 2020, 10(1), 14200.
4. Croce A.C. Autofluorescence of liver tissue and bile: organ functionality monitoring during ischemia and reoxygenation / A.C. Croce, A. Ferrigno, G. Santin, V.M. Piccolini, G. Bottirolini, M. Vairetti // *Lasers in Surgery and Medicine*, 2014, 45(5), p. 412-421.