

# Širdies laidžiosios sistemos spektriniai tyrimai ir vaizdinimas

## Imaging and spectroscopic investigations of the heart conduction system

Jonas Venius, Ričardas Rotomskis

Vilniaus universiteto Onkologijos institutas, Mokslinių tyrimų centras, Baublio 3B, LT-08406, Vilnius  
[jonas.venius@vuoi.lt](mailto:jonas.venius@vuoi.lt)

Pagrindinė širdies funkcija yra tinkamas žmogaus organizmo aprūpinimas krauju, kas didžiąja dalimi priklauso nuo tvarkingo ir ritmingo širdies darbo. Širdies plakimo ritmą užduoda ir elektrinio impulso sklaidimą kontroliuoja širdies laidžioji sistema (ŠLS), kuri yra išsidėsčiusi visose širdies srityse. Dėl savo raumeninės kilmės ji yra vizualiai sunkiai atskiriama nuo darbinio raumens miokardo (MK), todėl operacijos metu atsiranda galimybė ją pažeisti, ko pasėkoje sutrikdomas tvarkingas širdies darbas. Taigi, siekiant sumažinti ŠLS pažeidimo galimybę bei su tuo susijusių pooperacinių komplikacijų skaičių, reikalingas vaizdinimo metodas, padėsiantis operacijos metu nustatyti ŠLS išsidėstymą.

Šiame darbe optiniais metodais buvo tiriami žmogaus širdies audinių preparatai *ex vivo* siekiant sukurti metodiką ŠLS identifikavimui ir vaizdinimui. Tyrimo metu naudoti nuostoviosios bei laikinės skyros fluorescencinės spektroskopijos metodai (*Edinburgh Instruments FLS920*) ir atspindžio konfokalinė mikroskopija (*Vivascope 1500*). Nuostovioji fluorescencija buvo žadinama 330 nm – 380 nm srityje, o registruojama 400 nm – 550 nm spektriniame ruože. Fluorescencijos gyvavimo trukmių tyrimuose žadinimas buvo atliekamas 405 nm 50 ps trukmės impulsine lazerine spinduliuote, o fluorescencija registruota 430 nm – 550 nm srityje, kas 5 nm. Konfokalinis vaizdinimas buvo atliekamas naudojant 800 nm lazerinę spinduliuotę ir registruojant jos atspindį nuo tam tikrame gylyje esančių audinių komponentų.

Pirmajame tyrimų etape nustatyta, jog pagrindinių širdies audinių – ŠLS, MK ir jungiamojo audinio (JA) fluorescencijos spektrai žadinant 380 nm spinduliuote skiriasi savo intensyvumu, tačiau esminių spektro formos pokyčių nėra. Tuo tarpu žadinimui naudojant 330 nm spinduliuotę fluorescencijos spektrai skiriasi tiek savo forma, tiek intensyvumu. Spektre yra stebimos dvi smailės ties 390 nm ir 430 nm, kurių intensyvumų santykis ŠLS, MK ir JA yra skirtingas. Atlikti kraujingų audinių tyrimai leido nustatyti, kad smailės yra susiformavusios dėl kraujo reabsorbcijos ties 413 nm, todėl nustatyti spektriniai ypatumai 390 nm – 430 nm srityje gali būti įtakojami kraujo tiriant gyvus audinius. Atsižvelgiant į oksiduoto ir redukuoto hemoglobino sugertį bei širdies audinių fluorescencijos spektrus, tolesniems tyrimams pasirinkta fluorescencijos registravimo sritis ties 460 nm.

Remiantis šiais duomenimis buvo pasiūlytas ŠLS identifikavimo metodas, kurio esmė – jog fluorescencija tame pačiame tyrimo taške yra registruojama du kartus. Vieną kartą žadinant ties 330 nm, kita kartą žadinant ties

380 nm. Abiem atvejais fluorescencijos intensyvumas yra registruojama tik ties 460 nm. Suskaičiuota vertė <Raud>(460) yra skirtinga ŠLS, MK ir JA audiniams. Tyrimai, atlikti su *ex vivo* bandiniais, parodė, kad tokia metodika yra neįtraukiama tyrimo sąlygoms ir gali būti naudojama ne tik taškiniams širdies audinių identifikavimui, bet galimas ir tikslus ŠLS ribų nustatymas bei nedidelių plotų vaizdinimas.

Laikinės skyros fluorescencijos tyrimai atskleidė, jog už ŠLS, MK ir JA fluorescenciją yra atsakingi mažiausiai trys fluoroforai. Raumeninių audinių (ŠLS ir MK) fluorescencijos gyvavimo trukmės bei fluoroforų santykiniai indėliai į fluorescencijos spektrus reikšmingai nesiskiria, tuo tarpu JA ir ŠLS tiek fluorescencijos gyvavimo trukmės ( $\tau_1$  ir  $\tau_2$ ), tiek santykinė komponentinė sudėtis (F1 - F3 komponentai) yra skirtinga. Remiantis šiais skirtumais buvo identifikuoti visi trys fluoroforai, atsakingi už fluorescencijos spektrus 430 nm – 550 nm srityje – tai kolagenas I, kolagenas III ir elastinas. Komponentiniai skirtumai tarp ŠLS ir JA yra nulemti santykinai didesnio elastino kiekio ŠLS ir didesnio kolageno kiekio JA.

Pirmą kartą atlikus širdies audinių vaizdinimo tyrimus atspindžio konfokaline mikroskopija buvo parodyta, kad horizontali ir vertikali metodo skyra įgalina išskirti skirtingus endokardo sluoksnius dėl nevienodai išsidėsčiusių kolageno ir elastino skaidulų. Pavieniai miocitai, kurių vidutinis skersmuo yra ~ 10  $\mu$ m, taip pat gali būti vaizdinami. Tam tikrose MK vietose buvo aptiktos didelės ląstelės, kurios remiantis anatominiiais ir histologiniais kriterijais buvo atpažintos kaip Purkinje ląstelės. Taigi konfokalinė mikroskopija, įgalinti registruoti pavienių ląstelių vaizdus gyvuose audiniuose atveria naujus kelius širdies audinių tyrimuose *in vivo* ir laidžiosios sistemos vaizdinimui.

*Reikšminiai žodžiai: širdis, laidžioji sistema, fluorescencija, fluorescencijos gyvavimo trukmė, atspindžio konfokalinė mikroskopija.*

### Literatūra

- [1] J. Venius et. al. Visualization of human heart conduction system by means of fluorescence spectroscopy. *J Biomed Opt* 16, 107001 (2011).
- [2] J. Venius et al. Time resolved fluorescence spectroscopy of the heart tissues. *Lith J Phys. Vol. 51, No. 4, pp. 370–376* (2011).
- [3] J. Venius et al. High resolution imaging of the human cardiac conduction system using reflectance confocal microscopy. *Tohoku J Exp Med.* 2013;229(1):67-73.