

# Влияние компонент крови на флуоресценцию полиметинового красителя *in vivo*

**Л.С. Ляшенко, Е.С. Воропай<sup>2</sup>, М.П. Самцов<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко, Минск, Беларусь; <sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*



## **Целью данной работы является исследование влияния компонент крови на флуоресценцию полиметинового красителя *in vivo*.**

В данной работе приведены результаты исследований спектрально-люминесцентных свойств симметричного трикарбоцианинового индоленинового красителя *in vivo* в процессе проведения сеанса фотохимиотерапии и после его завершения. А также проведено соотнесение полученных спектральных данных с эффективностью повреждения опухолевых тканей в результате сеанса фотохимиотерапии.

Полиметиновые красители (ПК) являются перспективными для использования в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) [1]. В первую очередь это обусловлено наличием у ПК полос поглощения в спектральном диапазоне соответствующем наибольшей прозрачности биологических тканей (фототерапевтическое окно [2]).

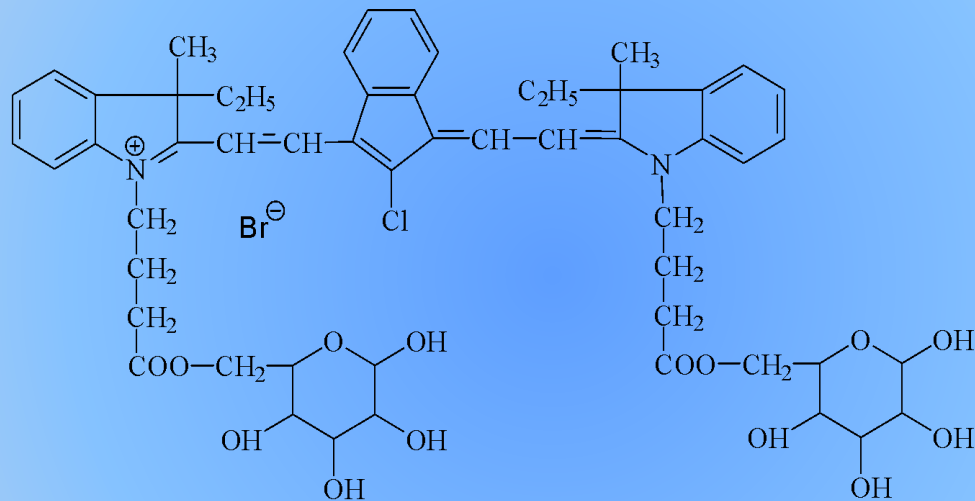


Перспективность применения конкретного фотосенсибилизатора во многом определяется тем, насколько эффективно молекулы в возбужденном состоянии способны генерировать активные интермедиаты. Вероятности внутримолекулярных процессов диссипации энергии электронного возбуждения для трикарбоцианиновых красителей зависят от природы молекул окружения.

Выяснение состояния молекул в биологических тканях *in vivo*, как ранее для клеточной культуры, поможет в выборе соответствующей модельной среды для выяснения схемы протекания в них фотофизических процессов и для развития представлений о механизме фотоактивности этих соединений. Исследования спектральных свойств ПК *in vivo*, которые можно проводить на животных без забора и предварительной подготовки образцов, позволяют получать информацию о фотофизических свойствах молекул в такой системе. В плане практического использования ПК, важным является выяснение таких спектральных характеристик, которые позволят в процессе проведения сеанса фотохимиотерапии изменять параметры фотовоздействия обеспечивающие повышение эффективности лечения.



# Структурная формула исследованного красителя ТИКС.

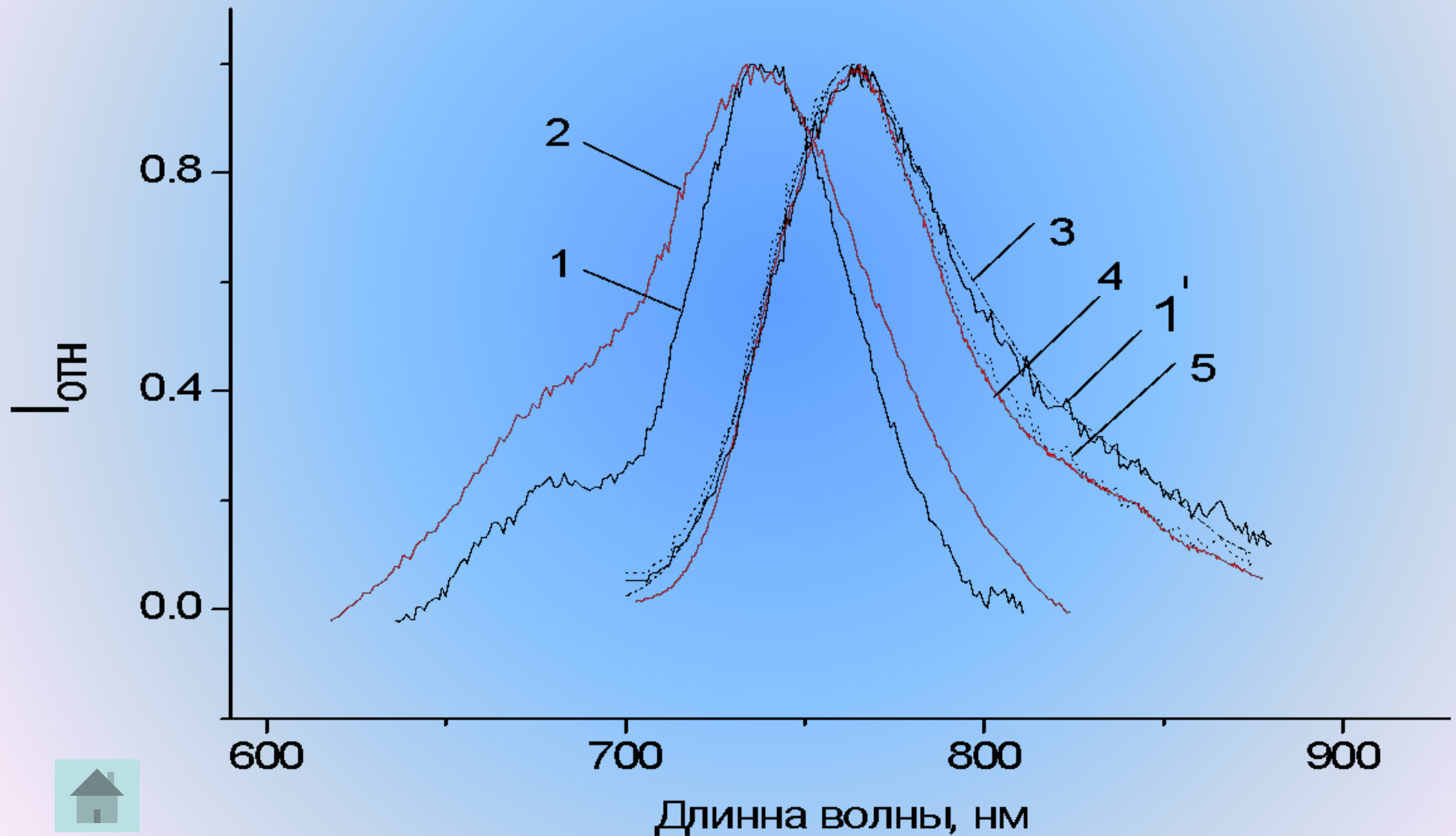


Симметричный индотрикарбоцианиновый краситель ТИКС.

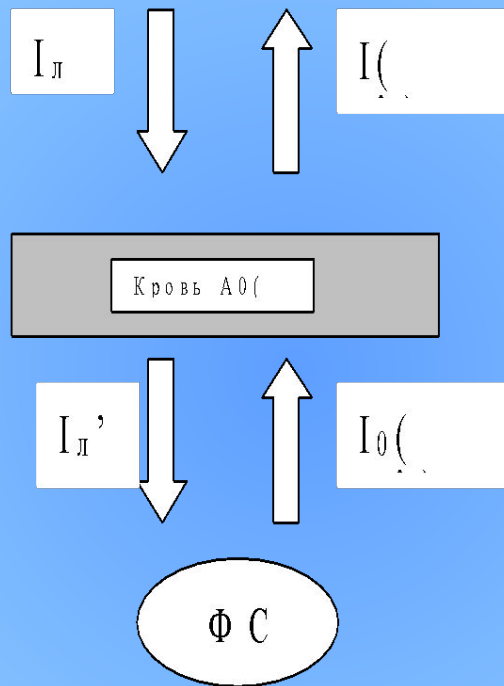
Это соединение имеет максимум поглощения на длине волны 740 нм, что практически совпадает с максимумом прозрачности тканей и обладает способностью избирательно накапливаться в опухолях



Спектр поглощения и флуоресценции красителя ТИКС в культуре раковых клеток HeLa (1 и 1'). Спектр поглощения ТИКС в образце ткани печени (2). Спектр флуоресценции красителя ТИКС в неживой опухолевой ткани животного, после декапитации (3). Спектр флуоресценции красителя ТИКС in vivo (4). Спектр рассчитанный теоретически с учётом влияния HbO<sub>2</sub> и Hb на спектр (5).





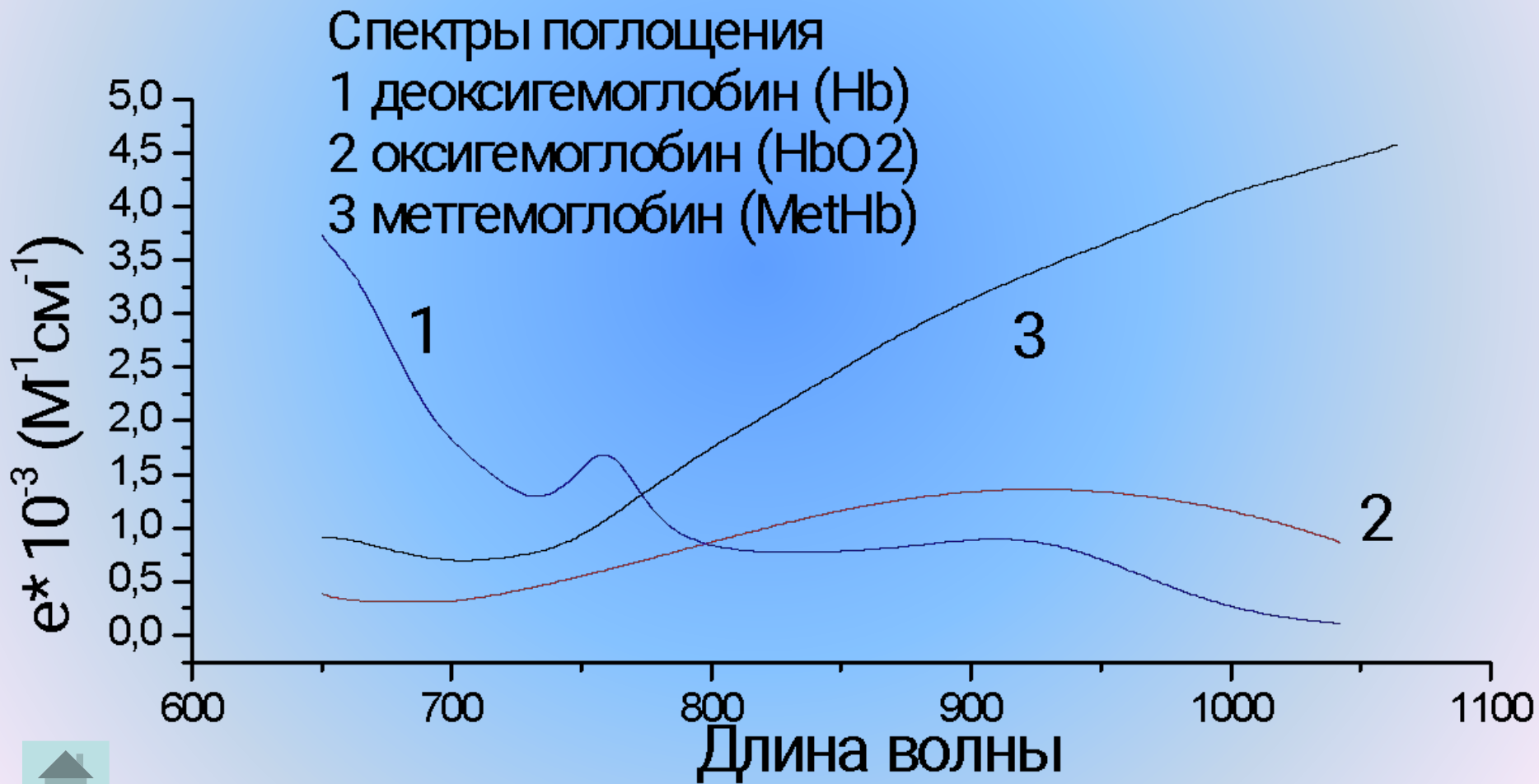


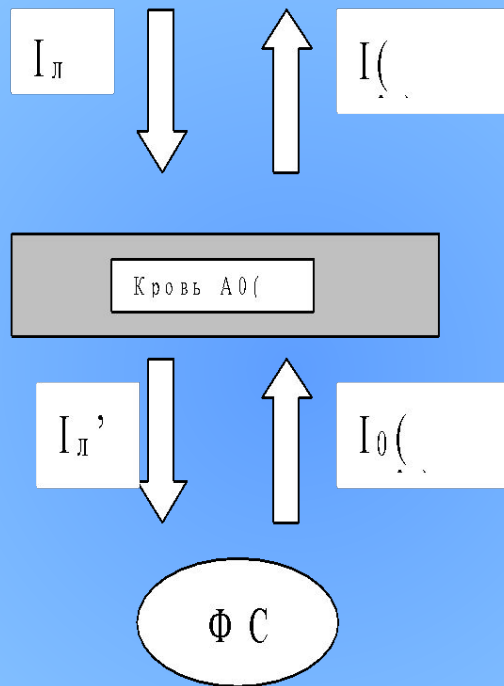
$$I(\lambda) = I_0(\lambda)10^{-l(C_{HbO_2}\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)+C_{Hb}\varepsilon_{Hb}(\lambda)+C_{MetHb}\varepsilon_{MetHb}(\lambda))}$$

$$\xi(C_{HbO_2}, C_{Hb}, C_{MetHb}) = \sum_{\lambda} (I'(\lambda) - I_{\text{эксп}}(\lambda))^2$$



Спектры поглощения дезоксигемоглобина (1) и оксигемоглобина (2),  
метгемоглобина (3)



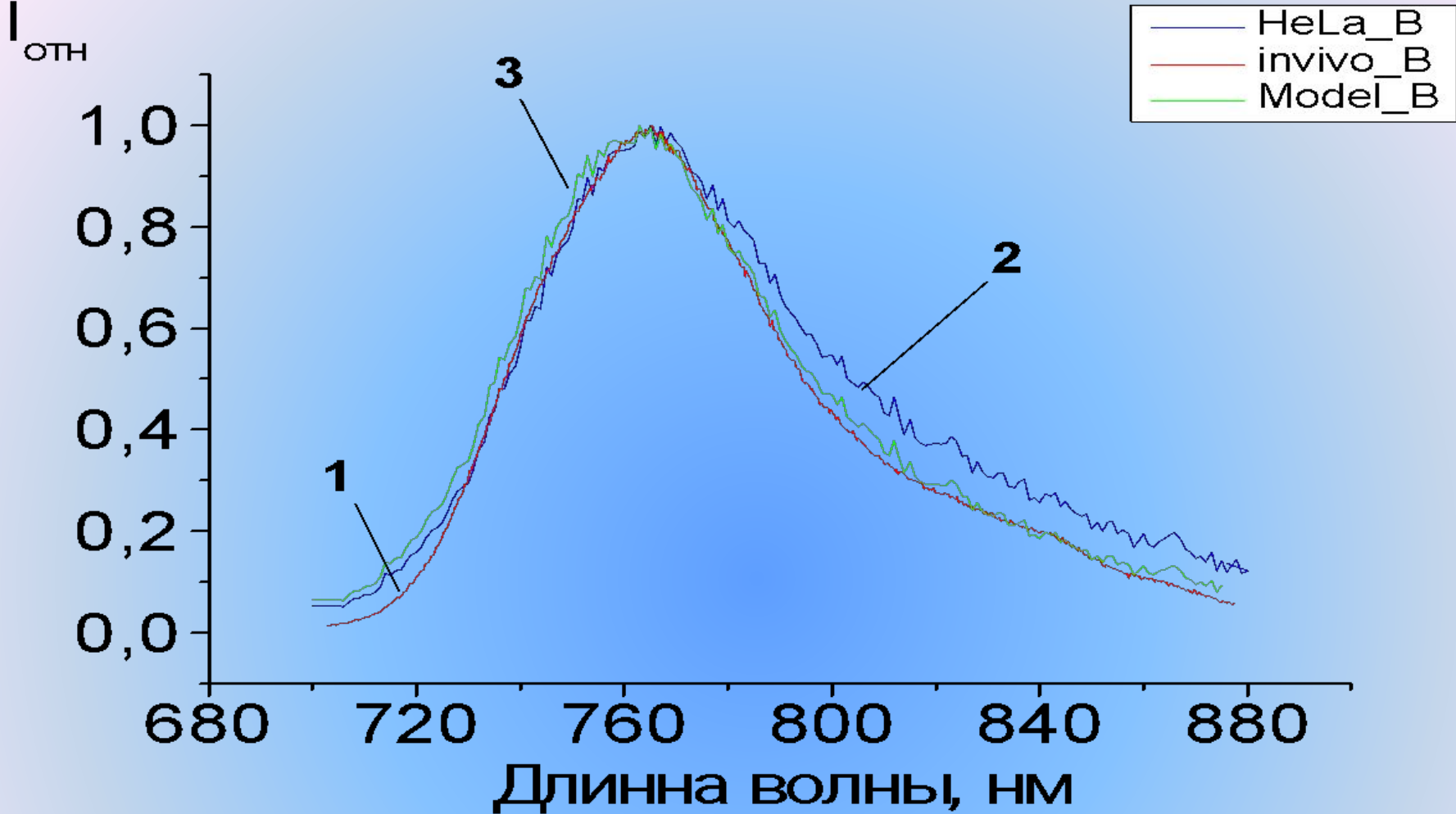


$$I(\lambda) = I_0(\lambda)10^{-l(C_{HbO_2}\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)+C_{Hb}\varepsilon_{Hb}(\lambda)+C_{MetHb}\varepsilon_{MetHb}(\lambda))}$$

$$\xi(C_{HbO_2}, C_{Hb}, C_{MetHb}) = \sum_{\lambda} (I'(\lambda) - I_{\text{эксп}}(\lambda))^2$$



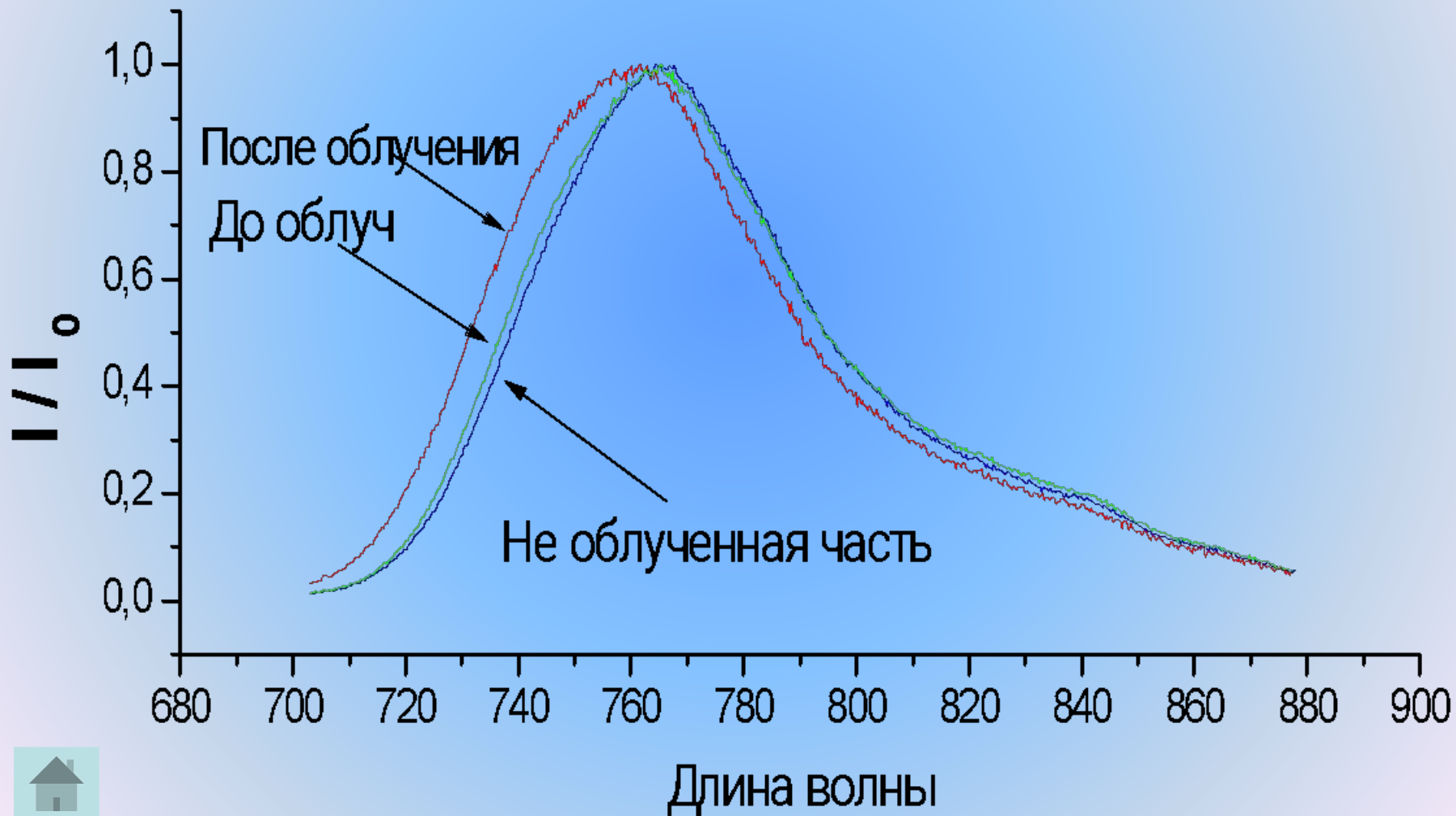




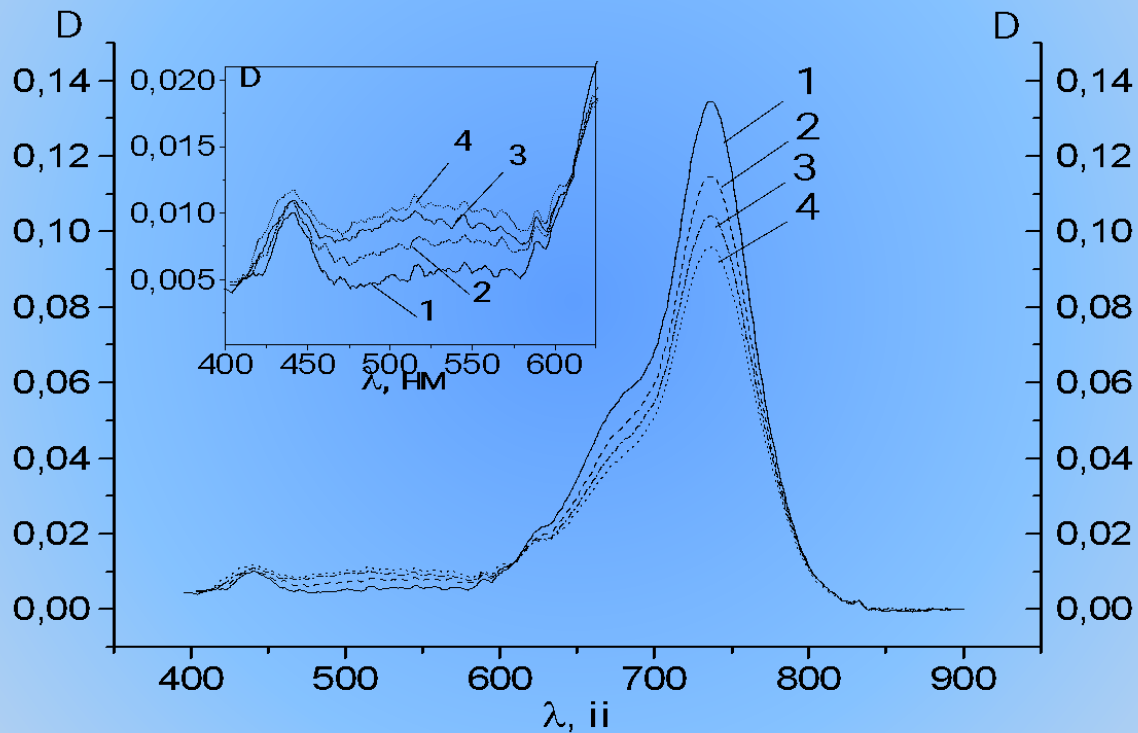
- (1) Спектр флуоресценции красителя ТИКС в ткани животного измеренный с помощью спектром. компл.
- (2) Спектр флуоресценции красителя ТИКС в раковых клетках HeLa измеренный с помощью спектрофлуориметра Fluorolog фирмы Spex
- (3) Спектр рассчитанный теоретически с учётом влияния NbO<sub>2</sub> и Nb на спектр (2)

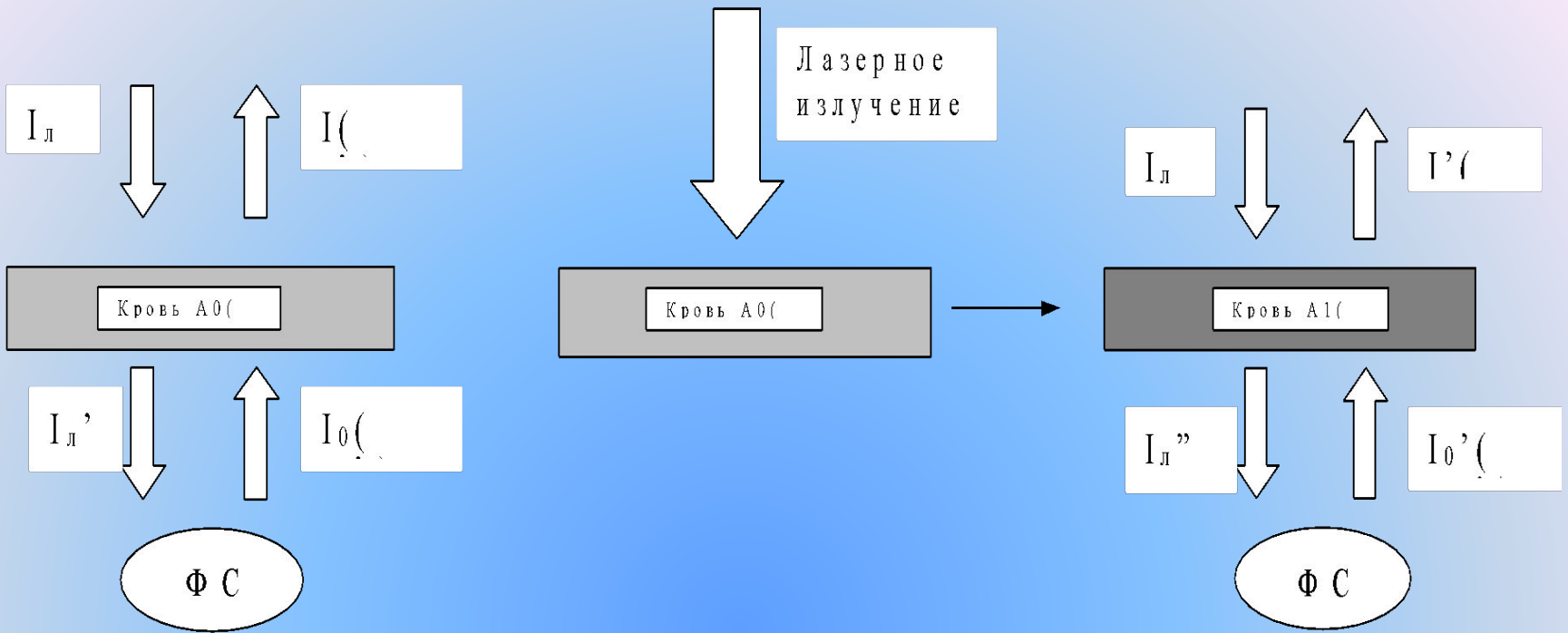


Спектры флуоресценции красителя ТИКС in vivo в опухоли крысы до облучения, после облучения и не облучённая часть опухоли.



Спектры поглощения ПК in vitro после облучения светом  $\lambda = 740,7$  нм и плотностью мощности 20 мВт в течении 0 (1), 40 (2), 80 (3), 120 секунд (4)





$$I(\lambda) = I_0(\lambda)10^{-A0(\lambda)}$$

$$I'(\lambda) = I_0'(\lambda)10^{-A1(\lambda)} \quad (4)$$

$$A0(\lambda) = I(C0_{HbO2} \varepsilon_{HbO2}(\lambda) + C0_{Hb} \varepsilon_{Hb}(\lambda) + C0_{MetHb} \varepsilon_{MetHb}(\lambda))$$

$$A1(\lambda) = I(C1_{HbO2} \varepsilon_{HbO2}(\lambda) + C1_{Hb} \varepsilon_{Hb}(\lambda) + C1_{MetHb} \varepsilon_{MetHb}(\lambda))$$

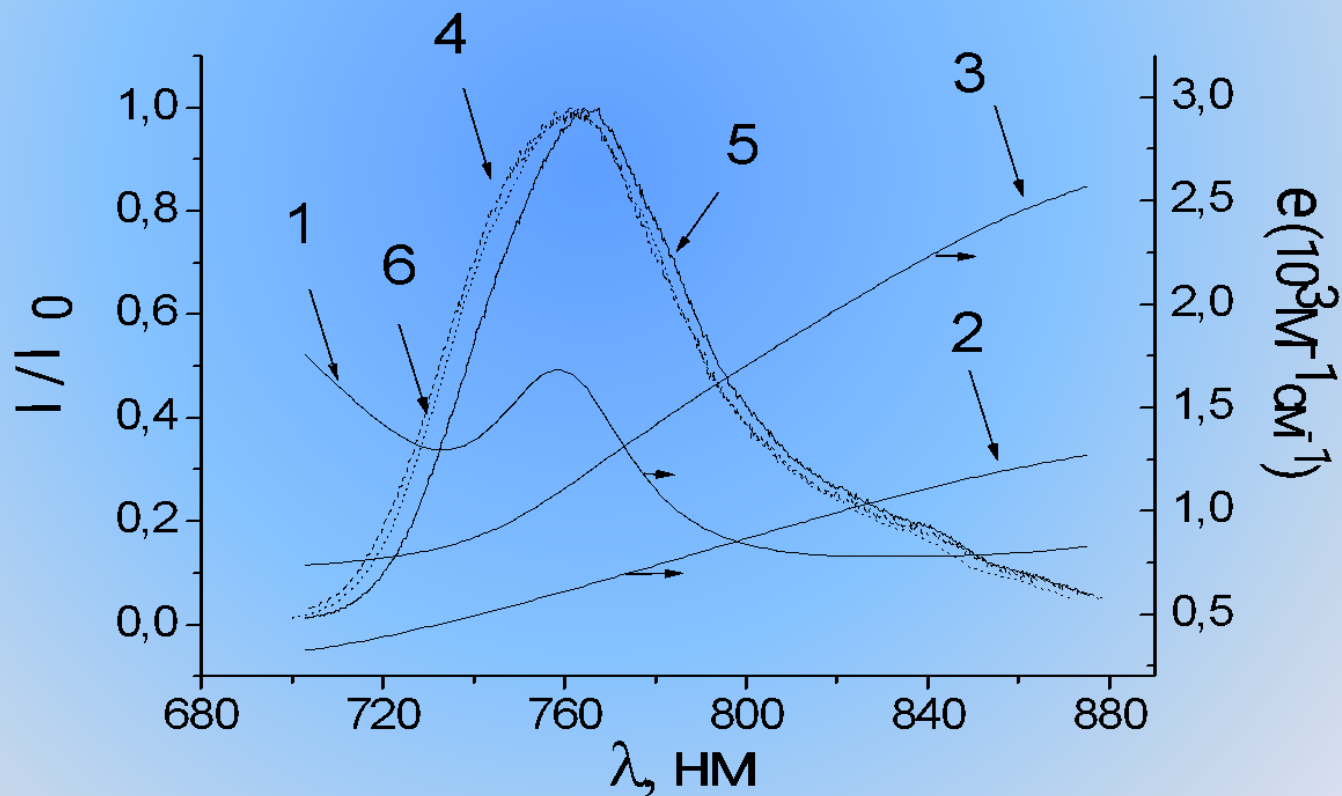
$$I'(\lambda) = I(\lambda)10^{A0(\lambda)-A1(\lambda)}$$

$$I'(\lambda) = I(\lambda)10^{I(\Delta C_{HbO2} \varepsilon_{HbO2}(\lambda) + \Delta C_{Hb} \varepsilon_{Hb}(\lambda) + \Delta C_{MetHb} \varepsilon_{MetHb}(\lambda))}$$

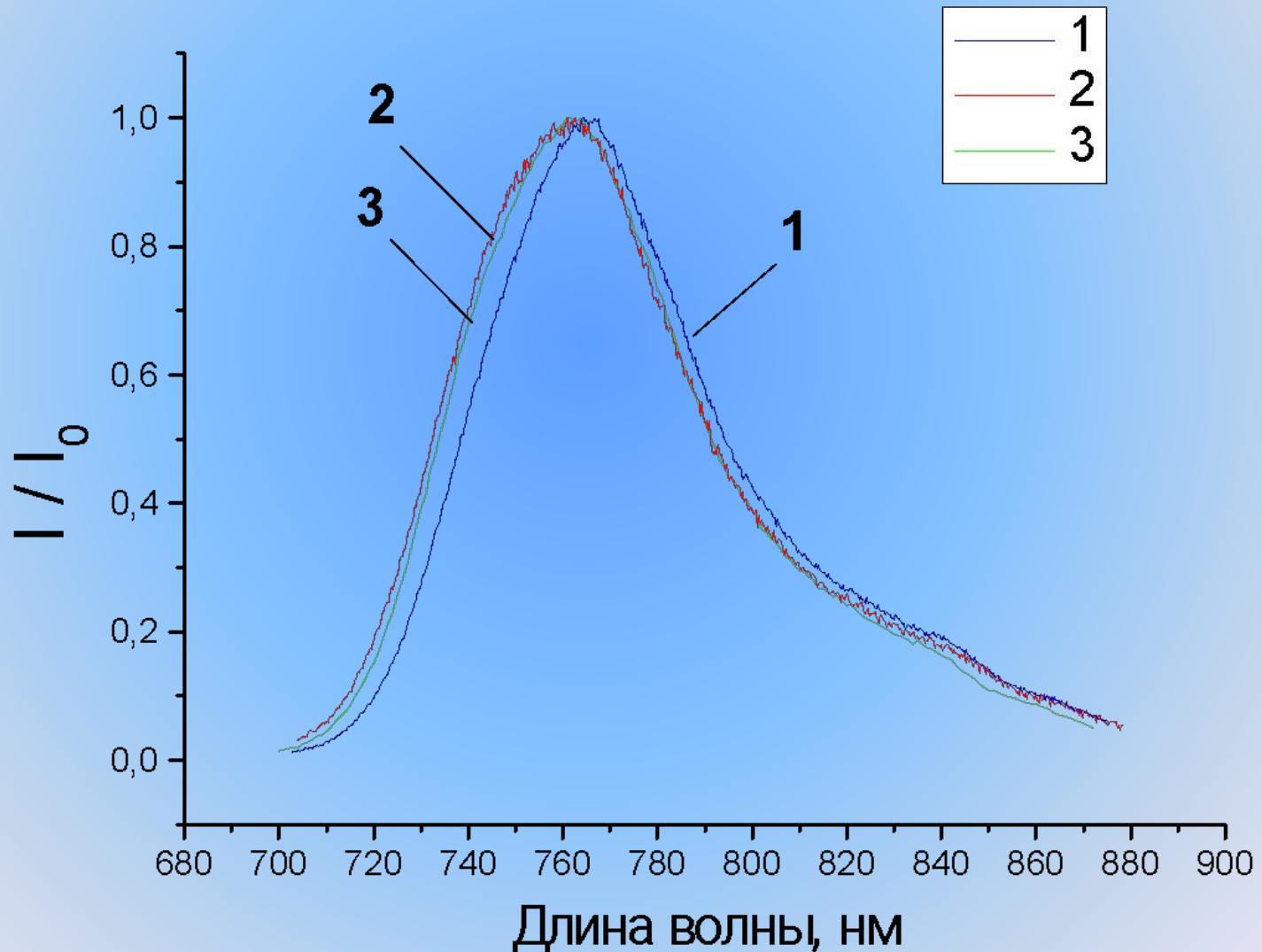
$$\xi(\Delta C_{HbO2}, \Delta C_{Hb}, \Delta C_{MetHb}) = \sum_{\lambda} (I'(\lambda) - I_{\text{эксп}}(\lambda))^2$$



Спектр поглощения и флуоресценции красителя в культуре раковых клеток HeLa (1 и 1'). Спектр поглощения ПК в освобожденных от крови образце ткани печени (2). Спектр флуоресценции красителя в освобожденных от крови опухолевой ткани (3). Спектр флуоресценции ПК в опухолевом узле *in vivo* (4). Спектр рассчитанный теоретически с учётом влияния оксигемоглобина ( $\text{HbO}_2$ ) и дезоксигемоглобина ( $\text{Hb}$ ) (5).



Спектры флуоресценции красителя ТИКС in vivo в опухоли крысы (1) до облучения, (2) после облучения (3) спектр рассчитанный теоретически с учётом значительного увеличения влияния MetHb и Hb на спектр (1).





# Выводы

- Полученные данные свидетельствуют о том, что *in vivo* молекулы красителя локализованы в области с низкой диэлектрической проницаемостью среды и находятся преимущественно в состоянии контактных ионных пар.
- Показано, что основной причиной деформации спектра флуоресценции в результате фотохимиотерапии является изменение соотношения форм гемоглобина в крови.
- Анализ спектральных данных при фотовоздействии позволяет прогнозировать глубину и обширность полученного некроза опухоли
- С помощью спектральных методов можно оптимизировать эффективность лечения путем подбора оптимальной дозы и плотности мощности светового излучения при ФДТ, учитывая индивидуальные характеристики и особенности пациента.



Спасибо за внимание.