

Влияние компонент крови на флуоресценцию полиметинового красителя in vivo

Л.С. Ляшенко, Е.С. Воропай², М.П. Самцов¹

¹Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко, Минск, Беларусь; ²Белорусский 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]).

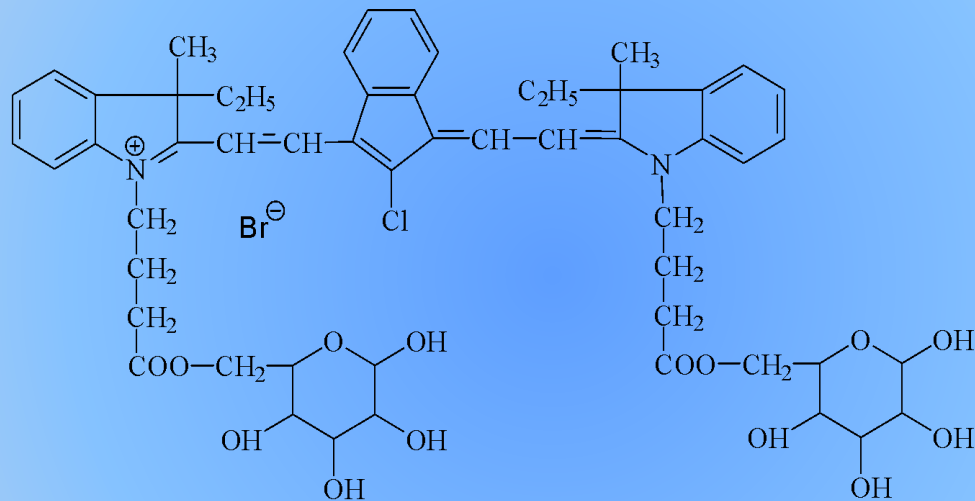


Перспективность применения конкретного фотосенсибилизатора во многом определяется тем, насколько эффективно молекулы в возбужденном состоянии способны генерировать активные интермедиаты. Вероятности внутримолекулярных процессов диссипации энергии электронного возбуждения для трикарбоцианиновых красителей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

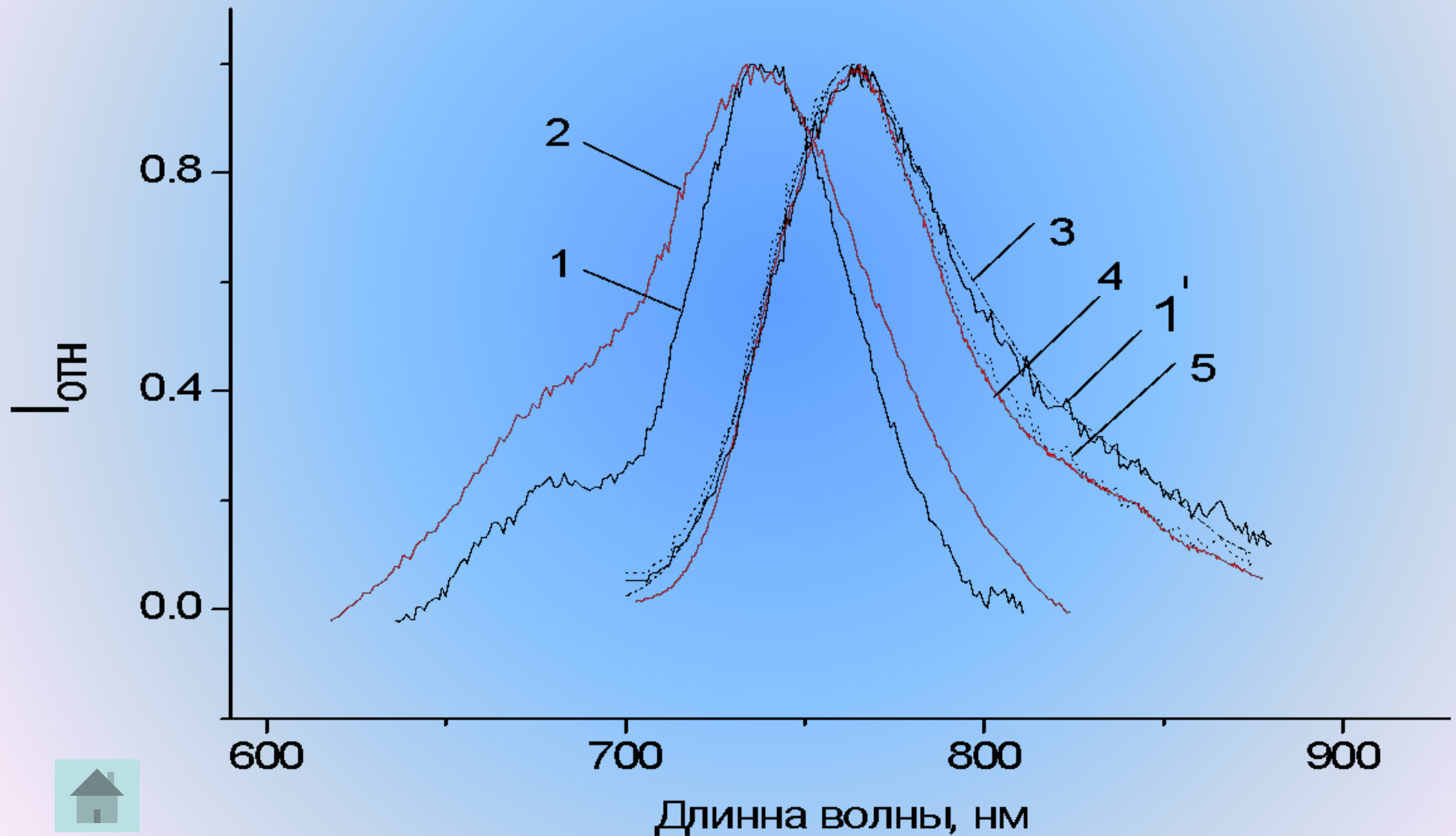


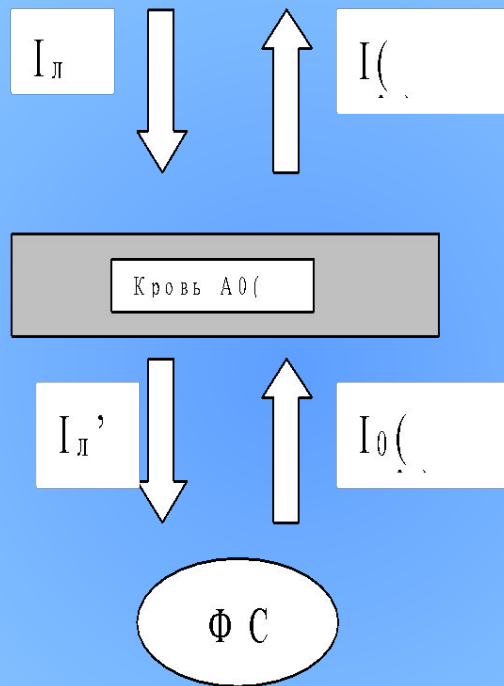
Симметричный индотрикарбоцианиновый краситель ТИКС.

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 HbO₂ и Hb на спектр (5).



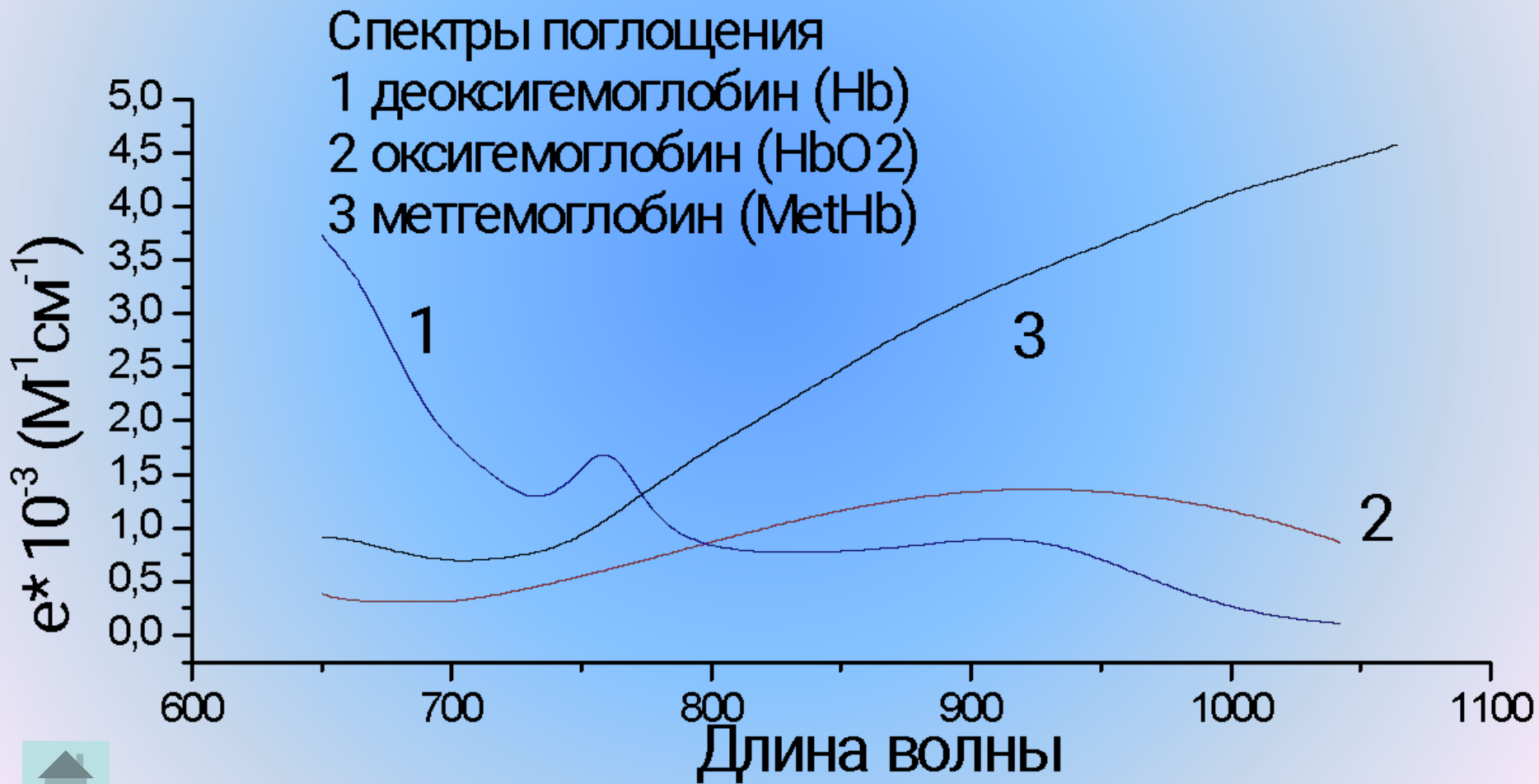


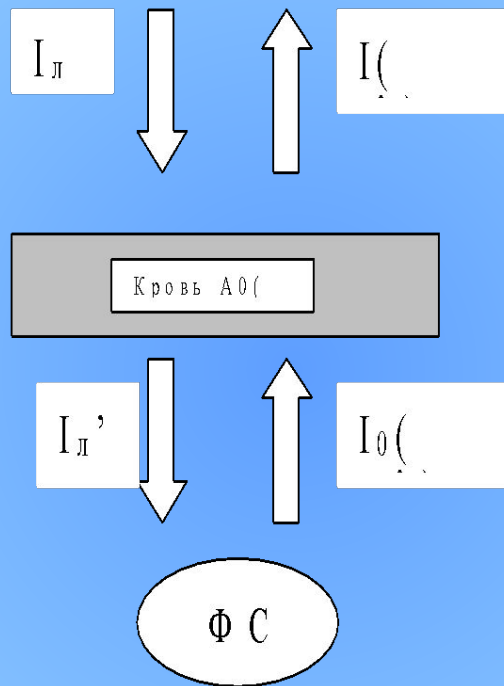
$$I(\lambda) = I_0(\lambda)10^{-l(C_{HbO_2}\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)+C_{Hb}\varepsilon_{Hb}(\lambda)+C_{MetHb}\varepsilon_{MetHb}(\lambda))}$$

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



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

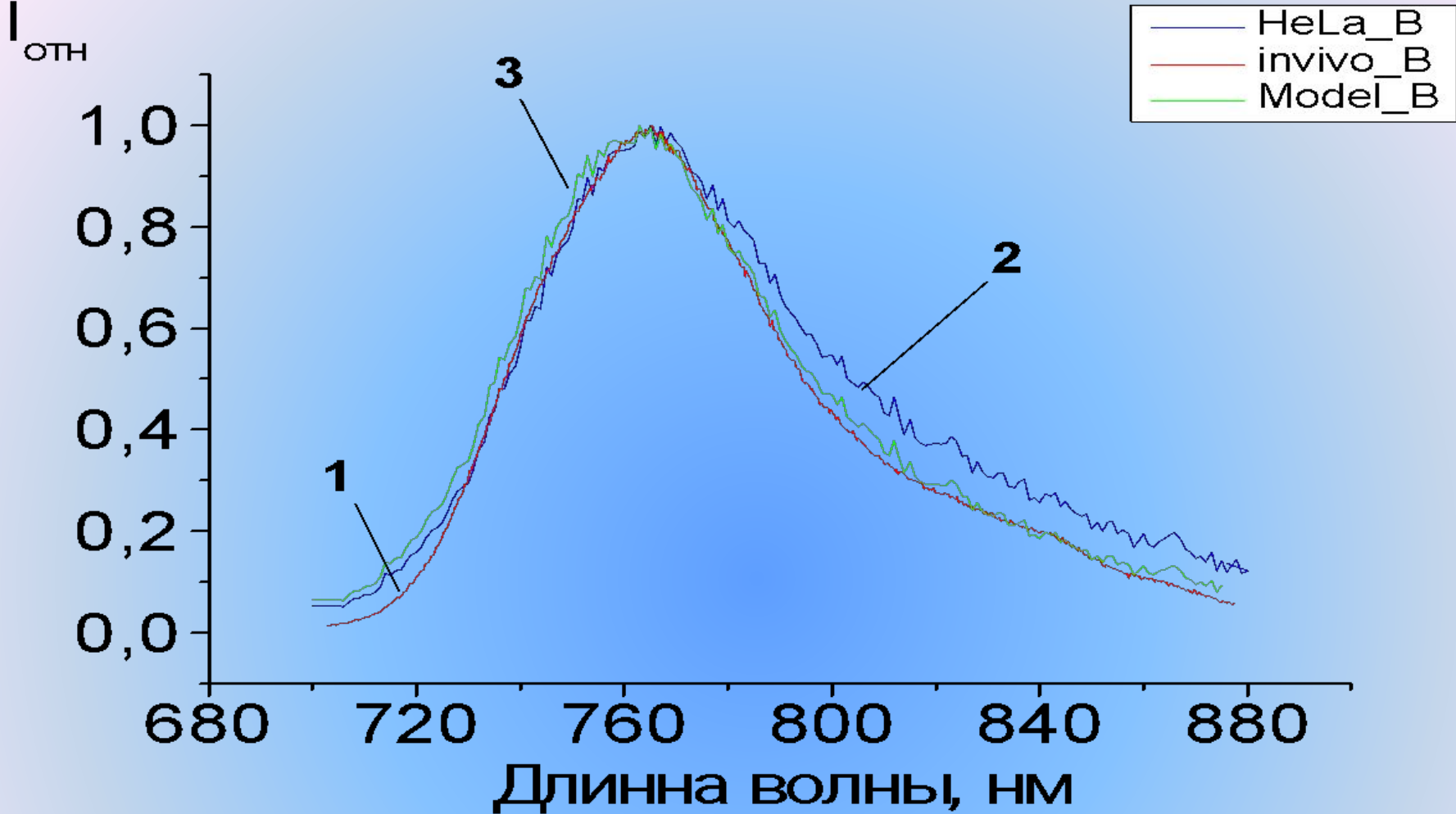




$$I(\lambda) = I_0(\lambda)10^{-l(C_{HbO_2}\varepsilon_{HbO_2}(\lambda) + C_{Hb}\varepsilon_{Hb}(\lambda) + C_{MetHb}\varepsilon_{MetHb}(\lambda))}$$

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

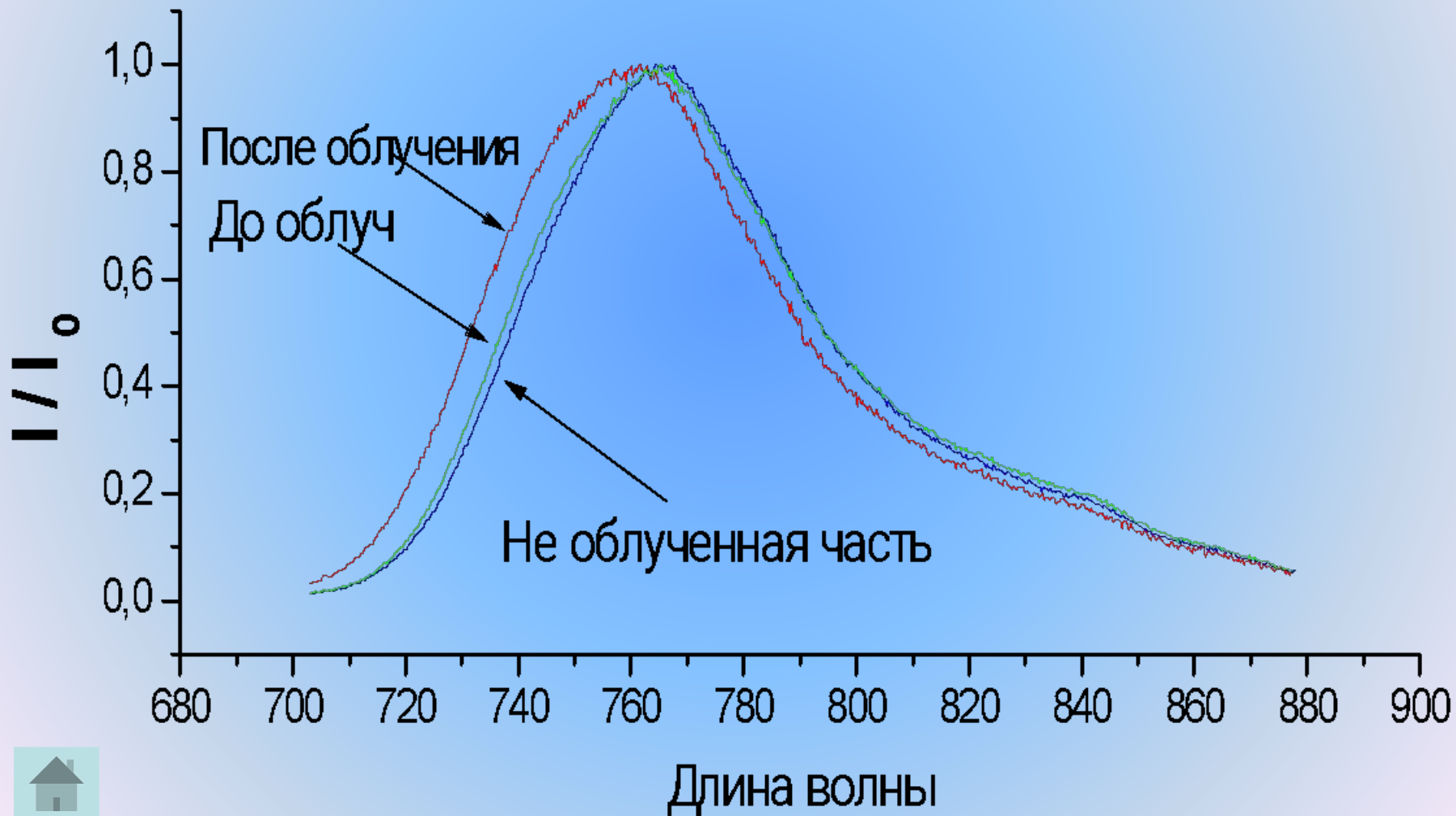




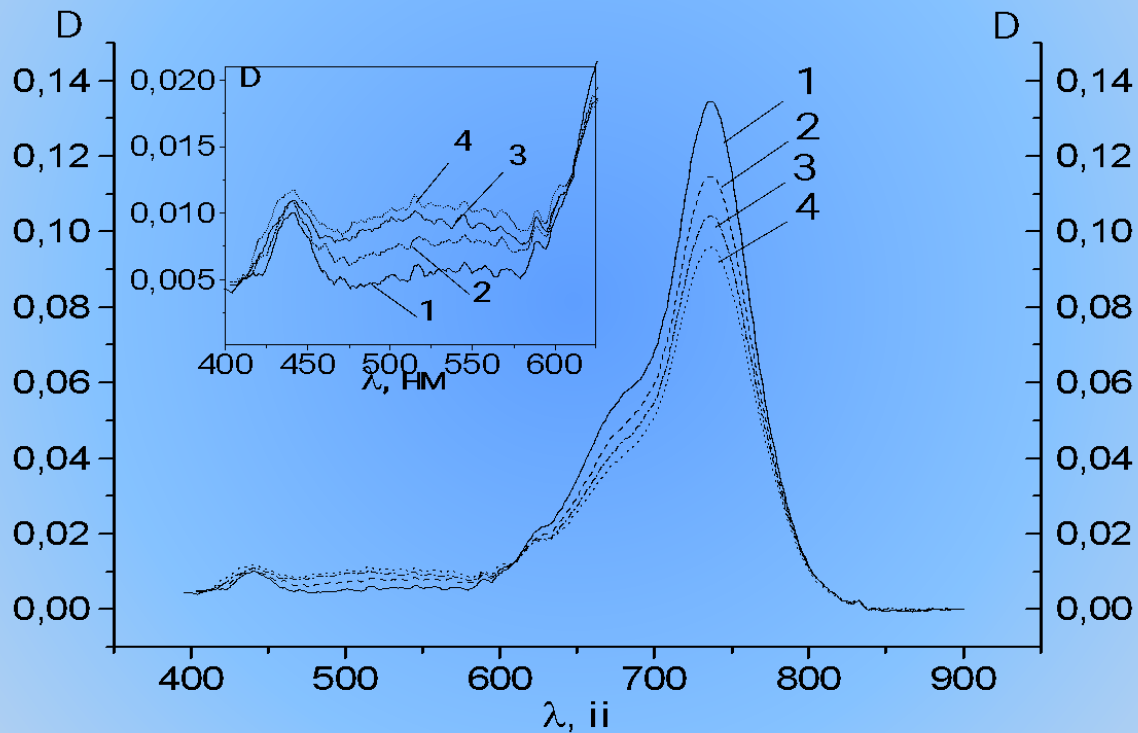
- (1) Спектр флуоресценции красителя ТИКС в ткани животного измеренный с помощью спектром. компл.
- (2) Спектр флуоресценции красителя ТИКС в раковых клетках HeLa измеренный с помощью спектрофлуориметра Fluorolog фирмы Spex
- (3) Спектр рассчитанный теоретически с учётом влияния NbO₂ и Nb на спектр (2)

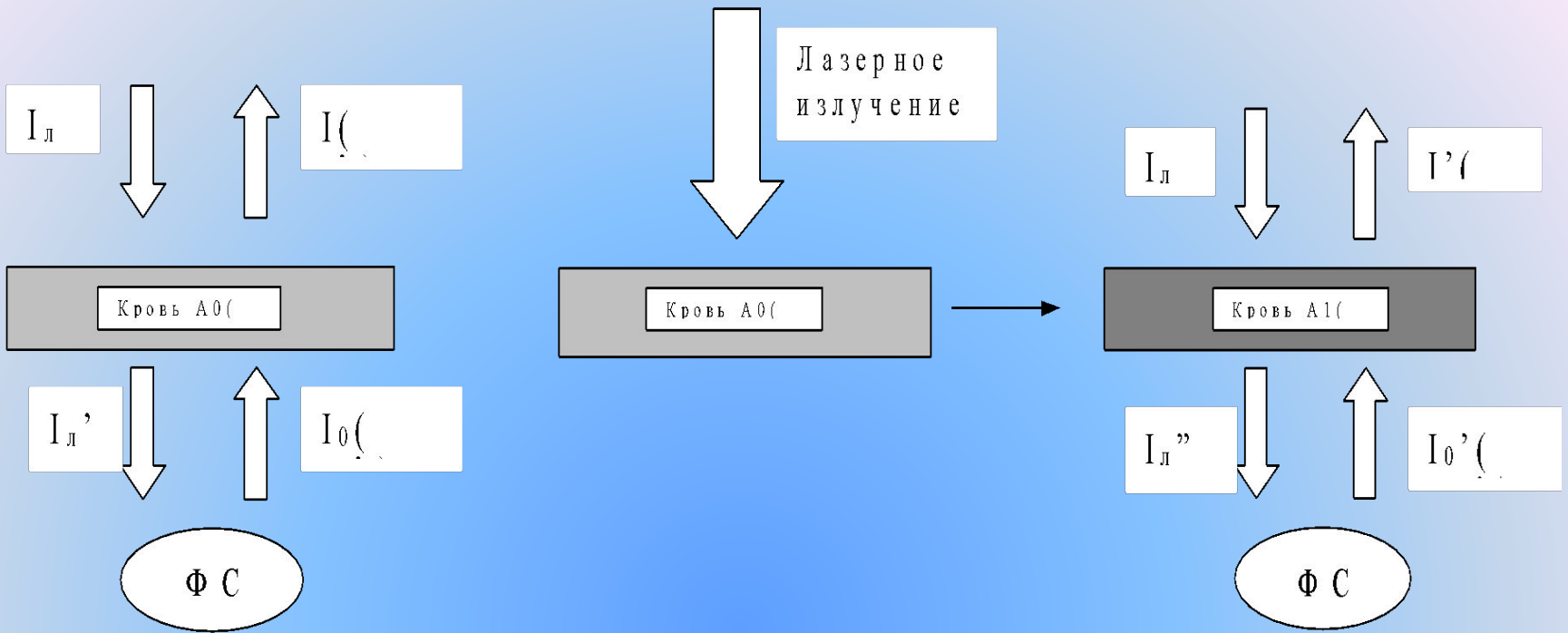


Спектры флуоресценции красителя ТИКС in vivo в опухоли крысы до облучения, после облучения и не облучённая часть опухоли.



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)





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

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

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

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

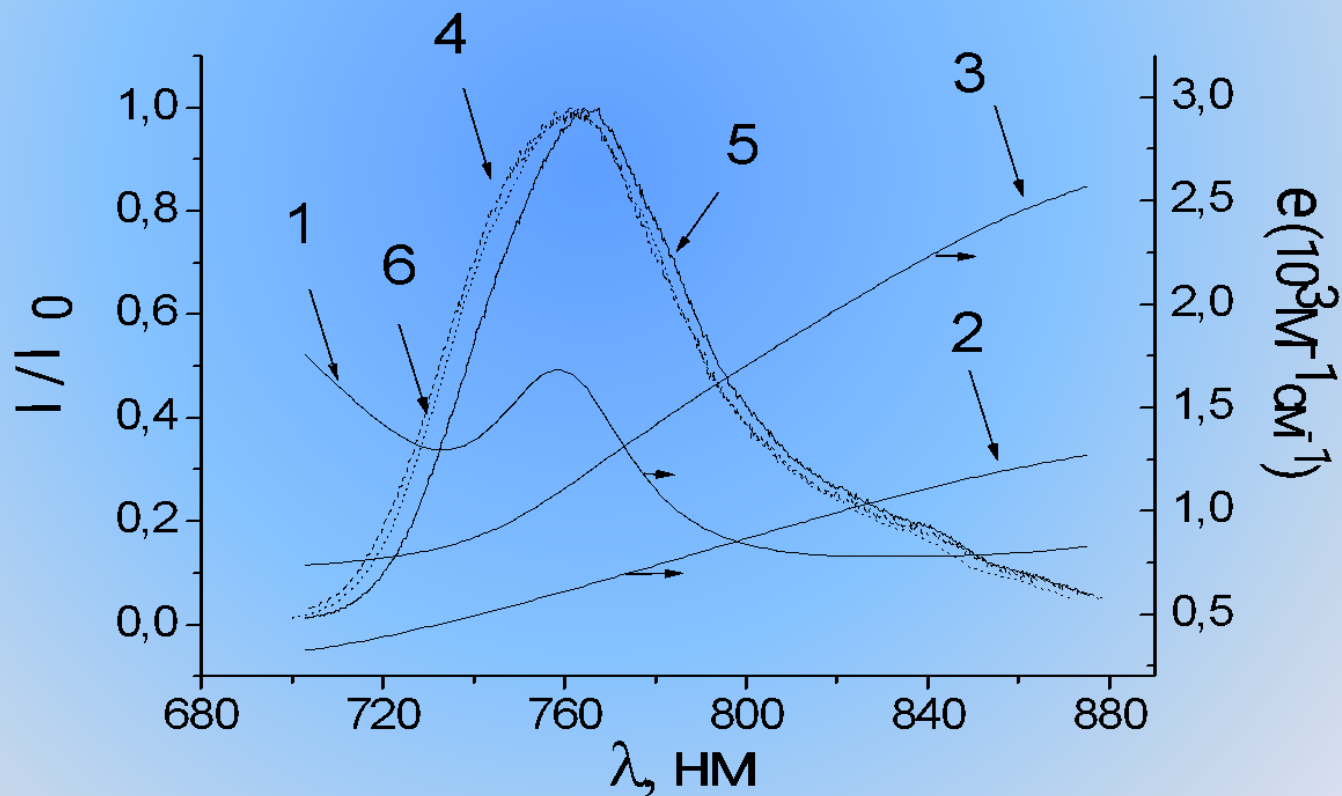
$$I'(\lambda) = I(\lambda)10^{A0(\lambda)-A1(\lambda)}$$

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

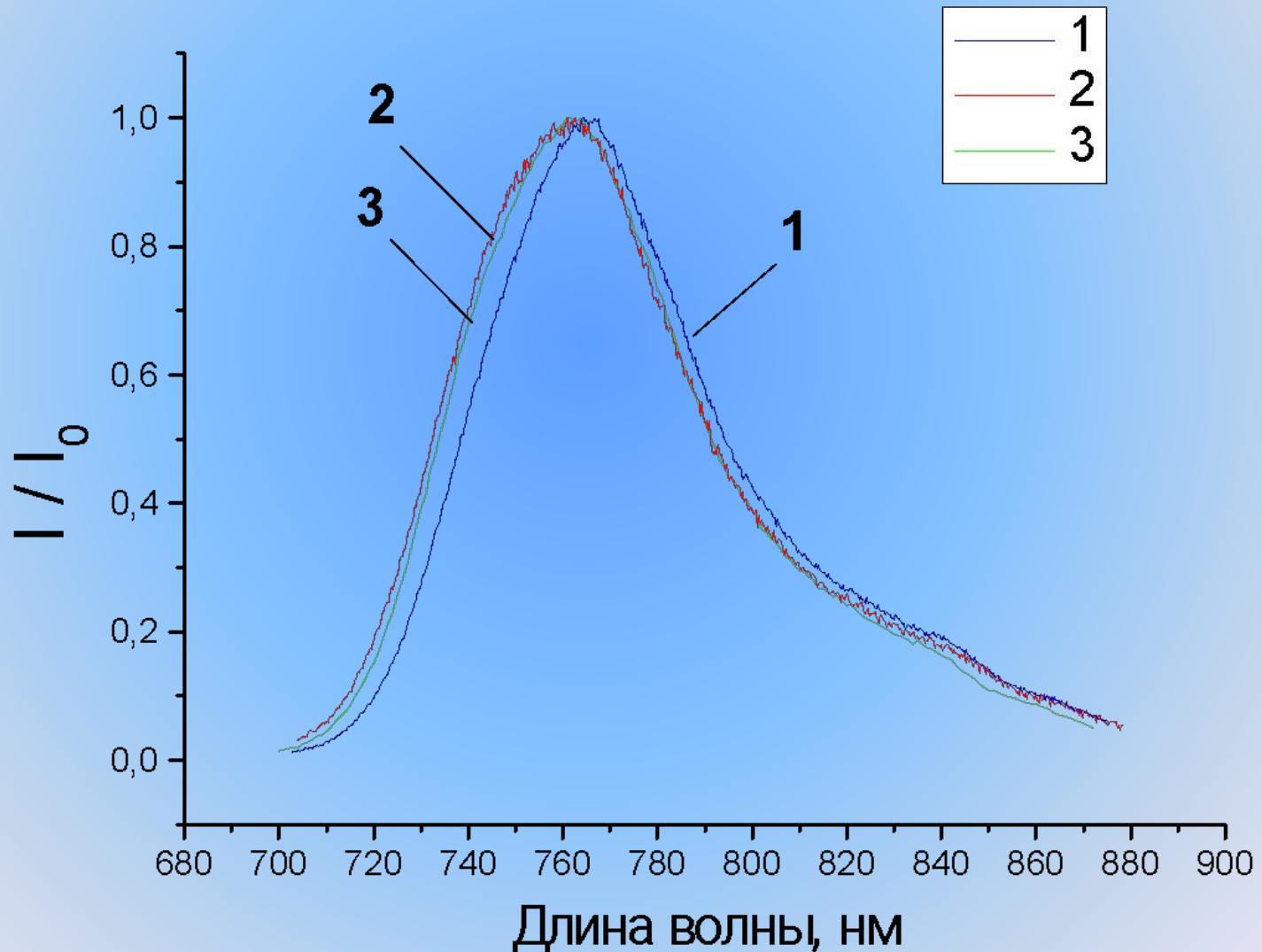
$$\xi(\Delta C_{HbO2}, \Delta C_{Hb}, \Delta C_{MetHb}) = \sum_{\lambda} (I'(\lambda) - I_{\text{эксп}}(\lambda))^2$$



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 (HbO_2) и дезоксигемоглобина (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.