

## СВОЙСТВА НОВОГО НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ ДЛЯ ОПТИЧЕСКОЙ ТОМОГРАФИИ

**Самцов М.П.<sup>1</sup>, Тарасов С.Д.<sup>1</sup>, Каплевский К.Н.<sup>1</sup>, Жердева В.В.<sup>2</sup>,  
Меерович И.Г.<sup>2</sup>, Ляшенко Л.С.<sup>1</sup>, Луговский А.П.<sup>1</sup>, Луговский А.А.<sup>1</sup>,  
Воропай Е.С.<sup>1</sup>, Савицкий А.П.<sup>2</sup>, Насек В.М.<sup>1</sup>, Петров П.Т.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ,  
Минск, Беларусь*

<sup>2</sup>*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва, Россия*

Оптическая диагностика является многообещающим методом выявления локализации злокачественных новообразований. Необходимым условием его эффективного применения является наличие в сигнале от биологического объекта информации, которая позволяет различать нормальные и патологические ткани. В ряду известных оптических методов исследований биообъектов флуоресцентная диагностика ближнего ИК-диапазона обладает высокой чувствительностью и селективностью раннего обнаружения рака. По существу указанный метод основывается на анализе флуоресценции зондов в спектральном диапазоне 700–900 нм. В этой области наиболее низкий уровень поглощения света тканями при максимальной глубине проникновения излучения. Для решения задачи оперативного выяснения области локализации злокачественных новообразований могут использоваться флуоресцирующие соединения, обладающие заметно отличающимися свойствами в опухолевых тканях по сравнению с нормальными. Перспективными для такого рода исследований представляются полиметиновые красители (ПК), которые имеют полосы поглощения и флуоресценции в спектральной области прозрачности биологических тканей. Необходимо выяснить, насколько ощутимо различаются спектрально-люминесцентные свойства этих люминофоров в опухолевых и нормальных тканях. Настоящая работа посвящена выяснению обозначенных выше задач в отношении нового индотрикарбоцианинового красителя.

В качестве объекта исследований использован разработанный в лаборатории спектроскопии НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ симметричный индотрикарбоцианиновый краситель, который содержит в качестве заместителей полиэтиленгликоли. Фармакокинетика распределения фотосенсибилизатора в тканях после внутривенного введения водного раствора исследована на мышах линии Nu/Nu с помощью диффузного флу-

оресцентного томографа FMT 4000 (Perkin Elmer, США) при возбуждении на  $\lambda=745$  нм и регистрации в полосе 770–800 нм.

В работе использовались беспородные белые крысы с перевитыми в области бедра опухольями следующих штаммов: саркома M1 (SM-1), альвеолярный рак печени PC-1, карциносаркома Уокера (W-256). Для исследований отбирались группы из 6–8 животных с опухолевыми узлами правильной формы. Препарат вводили внутривенно в соотношении 0,3–1 миллиграмм на килограмм массы животных.

Спектры флуоресценции красителя *in vivo* регистрировались с помощью спектрометра, разработанного в НИИПФП им. А.Н. Севченко, в котором подвод возбуждающего излучения к исследуемому объекту и флуоресценции в полихроматор осуществлялись с помощью оптического волокна. Для учета уровня рассеянного света и собственной флуоресценции биологических тканей проводились контрольные измерения на интактных животных. Коэффициенты коррекции спектрометра по спектральной чувствительности определялись путем сравнительного анализа спектров испускания красителя в образцах тканей, которые регистрировались с помощью спектрометра и калиброванного по спектральной чувствительности спектрофлуориметра Fluorolog. Спектры поглощения красителей в растворах и образцах тканей регистрировались с помощью спектрофотометра PV 1251A, спектры флуоресценции – с помощью спектрофлуориметра Fluorolog фирмы Spex.

Максимум спектра поглощения красителя в этаноле  $\lambda=723$  нм, в хлороформе на  $\lambda=733$  нм, молярный десятичный коэффициент для обоих растворителей равен  $2,3 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ . Максимум спектра флуоресценции красителя в этаноле расположен на  $\lambda=749$  нм, в хлороформе на  $\lambda=761$  нм. Квантовый выход флуоресценции красителя в этаноле и в хлороформе имеет близкие значения 0,25 и 0,26, соответственно. В клетках HeLa максимум полосы поглощения красителя расположен на  $\lambda=735$  нм, а спектра флуоресценции практически совпадает со спектром в хлороформе, а также со спектром в тканях животных *in vivo* и расположен на  $\lambda=761$  нм.

При введении крысам разного количества красителя интенсивность его флуоресценции *in vivo* для мышц бедра и опухолей M1 и PC-1 увеличивалась пропорционально введенной дозе. Линейная зависимость этих параметров наблюдалась для всего промежутка времени проведения эксперимента. Соответствие интенсивности флуоресценции *in vivo* и концентрации красителя в опухолевых, мышечных тканях и в коже наблюдалось также при его экстракции из этих тканей. В совокупности полученные данные свидетельствуют, что регистрируемый сигнал флуоресценции красителя в тканях *in vivo* пропорционален его концентрации.

Содержание красителя как в опухолевых тканях, так и в нормальных максимально в течение первых 5 ч после введения, затем начинается плавный спад, через 2 суток наблюдаются только следовые его количества. Для саркомы М1 индекс контрастности через 1 ч после введения красителя составляет 3, затем увеличивается до 4. Содержание красителя в карциносаркоме Уокера на всем протяжении наблюдения в 1,2–3,6 раза выше, чем в тканях бедра крыс. И только в опухоли РС-1 содержание красителя в опухолевой и в мышечных ткани бедра примерно на одинаковом уровне, за исключением временного интервала 60–90 мин, когда индекс контрастности равен или близок 2. Следовательно, существуют временные интервалы после введения красителя, когда возможно определение границы опухолей путем регистрации интенсивности их флуоресценции.

В ходе экспериментов *in vivo* на флуоресцентном томографе получены данные по распределению красителя в органах Nu/Nu мышей с трансплантированной подкожно на левой стороне спины опухолью. В контроле до введения фотосенсибилизатора изображение в целом выглядит темным, с низким уровнем сигнала. После внутривенного введения красителя и двухчасового накопления на изображениях отчетливо визуализируется опухоль. С помощью томографа также зарегистрирована флуоресценция красителя локализованного в органах брюшной полости и определена концентрации фотосенсибилизатора. Полученные результаты подтверждены путем анализа спектров флуоресценции красителя в органах с помощью спектрометра с волоконным вводом. Минимальный уровень флуоресценции фотосенсибилизатора наблюдался в мышечных тканях.

Таким образом, краситель, обладающий поглощением света и флуоресценцией в области прозрачности биологических тканей, можно использовать в качестве флуоресцентного зонда опухолевых тканей. Интенсивность зарегистрированной с поверхности тела животных флуоресценции при введении красителя в диапазоне 0,3–1 мг/кг прямо пропорциональна его концентрации в опухолевых узлах и мышцах. В течение 2 суток после введения краситель практически полностью выводится как из организма животных. Наблюдаемые особенности накопления красителя в опухолях позволяют определять области локализации опухолевых узлов на фоне окружающих нормальных тканей.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ и РФФИ, а также Министерства образования РБ.