

## МОДЕЛЬ ИМИТИРУЮЩЕЙ МЕРЫ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ *IN VIVO*

Белько Н.В., Коваленко С.А., Ляшенко Л.С.

*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

Приведены результаты исследований по разработке модели имитирующих мер, обеспечивающих возможность их использования в качестве элемента контроля стабильности оптических параметров спектрометра, используемого для определения интенсивности флуоресценции полиметиновых красителей (ПК) в биологической ткани. Показана возможность эффективного использования данных имитирующих мер (ИМ) для упрощения пробных экспериментов по фотодинамической терапии (ФДТ) на живых биологических объектах.

Для увеличения эффективности ФДТ разрабатывают новые ФС, характеристики которых необходимо исследовать до их клинического применения. На этапе тестирования нового фотосенсибилизатора важно знать его распределение и точное значение концентрации в биологических тканях.

На форму спектров флуоресценции зарегистрированных с поверхности тела или внутренних органов животного влияет множество факторов. Отличия в зарегистрированных спектрах флуоресценции могут быть обусловлены слишком высокой концентрацией фотосенсибилизатора и деформацией спектров из-за перепоглощения, наличием автолюминесценции тканей, высоким уровнем рассеяния света в биотканях и т.д. [1]. Поэтому имеет смысл создание набора ИМ с различными концентрациями ПК, соответствующими по интенсивности флуоресценции концентрациям красителя в тканях различных внутренних органов животного. Такой набор ИМ обеспечит подтверждение соответствия регистрирующей величины сигнала флуоресценции с поверхности тела концентрации фотосенсибилизатора в тканях. Сравнение зарегистрированных спектров флуоресценции ПК *in vivo* во время проведения экспериментов по ФДТ со спектрами флуоресценции имитирующих мер дает возможность дополнительного критерия для оценки правильности полученных результатов.

Обычно концентрацию препарата в конкретном органе определяют методом отбора проб. Часто метод отбора проб оказывается не совсем достоверным в определении концентрации, особенно, когда препарат явля-

ется чувствительным к микроокружению, как в случае с флуоресцентными молекулами. Кроме того, данный метод требует использования большого количества подопытных животных и временных затрат.

В качестве ИМ решено было использовать фильтровальную бумагу, на которую наносили раствор трикарбоцианинового красителя, затем растворитель испарялся при комнатной температуре, и молекулы красителя оказывались в волокнах целлюлозы в неполярном окружении. Выбор красителя обусловлен тем, что данное соединение и его производные перспективны для использования их в качестве ФС[2]. Трикарбоцианиновый краситель нерастворим в воде, что исключает воздействие влажности воздуха на ИМ. В качестве растворителей были использованы этанол и ацетон. Флуоресценция красителя возбуждалась излучением полупроводникового лазера с длиной волны 682 нм. Спектр флуоресценции ИМ после высыхания растворителя имеет максимум на длине волны 757 нм (рис.1).

Представляется, что необходимыми требованиями для имитирующих мер в нашем случае является расположение спектра флуоресценции ПК в одном спектральном диапазоне со спектрами ПК в биотканях, а также сравнимым уровнем рассеянного света от ИМ и от поверхности биологической ткани (рис.2).

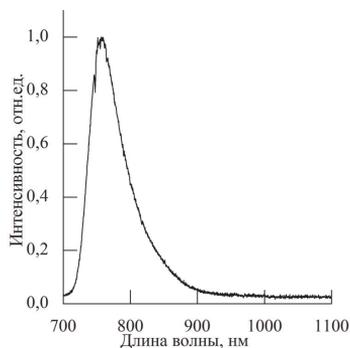


Рисунок 1 - Спектр флуоресценции ИМ

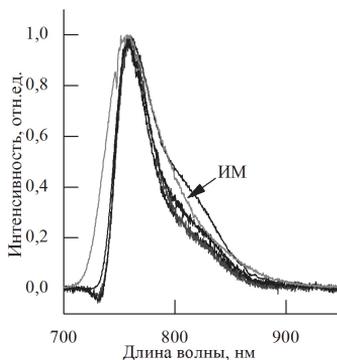


Рисунок 2 - Спектр флуоресценции трикарбоцианинового красителя в различных тканях крысы (кожа, мозг, сердце, печень, почка) и на ИМ

Спектр флуоресценции ФС в исследуемом органе позволяет определить соответствующую концентрацию ФС путем сопоставления этого спектра со спектрами флуоресценции комплекта ИМ.

Разработка имитирующих мер является важным элементом в плане возможности их использования для контроля стабильности оптических параметров спектрометрического оборудования, которое используется для флуоресцентных измерений. Для решения такого рода задач не требуется полное воспроизведение значений оптических параметров имитирующих мер и структурных свойств биологических тканей, как это необходимо обеспечить при использовании имитирующих мер биологических тканей. Для проверки прибора измеряют интенсивности в максимуме спектра флуоресценции для комплекта ИМ с различными концентрациями красителя (для откалиброванного спектрометра зависимость сигнала от концентрации должна быть линейной). Измерив данную зависимость, можно получить сведения об исправности прибора и провести его калибровку.

Для выяснения характера поведения флуоресцентной имитирующей меры с течением времени после ее изготовления проведен анализ временной стабильности спектра флуоресценции ПК, нанесенного на целлюлозу. Установлено, что интенсивность спектра ПК имеет постоянное значение, при этом у эталонных образцов остаются неизменными положение максимума спектра ПК и его полуширина. Таким образом, флуоресцентные свойства ПК остаются стабильными на протяжении длительного промежутка времени.

Проведенные исследования показывают, что имитирующие меры на основе целлюлозы и ПК достаточно долго сохраняют неизменными флуоресцентные свойства, обеспечивают возможность регистрации концентрации фотосенсибилизатора в тканях *in vivo* и контроль стабильности параметров спектрометра.

### Литература

1. Синичкин, Ю.П. *In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека / Ю.П. Синичкин, С.Р. Утц. - Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2001. - 92 с.
2. M. P. Samtsov, E. S. Voropai, D. G. Mel'nikov, L. S. Lyashenko, A. A. Lugovskii, Yu. P. Istomin, *Journal of Applied Spectroscopy*, 77, № 3, с. 406-412, 2010.