

РАЗРАБОТКА ИМИТАЦИОННЫХ МЕР ДЛЯ КАЛИБРОВКИ СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Н. В. Белько, С. А. Коваленко

ВВЕДЕНИЕ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является в настоящее время перспективным методом лечения онкологических заболеваний, различных кожных, инфекционных заболеваний и некоторых других (например, артрит). Область применения ФДТ постоянно расширяется.

Для увеличения эффективности данного метода разрабатывают новые фотосенсибилизаторы, характеристики которых необходимо исследовать. На этапе тестирования нового фотосенсибилизатора важно знать его распределение и точную концентрацию в биологических тканях. Таким образом, актуальным является создание методики определения концентрации по сигналу флуоресценции красителя, а не традиционным методом (экстракция) [1], который не лишен недостатков.

Разработка такой методики подразумевает создание объектов, позволяющих установить соответствие между интенсивностью сигнала флуоресценции с концентрацией фотосенсибилизатора в ткани. В качестве таких объектов можно использовать имитационные меры (ИМ) – объекты, моделирующие заданные свойства биологической ткани (в данном случае флуоресценцию) [2].

Можно обозначить общие требования к ИМ: стабильность характеристик во времени, легкость в воспроизведении. Стабильность ИМ позволяет использовать их также для контроля характеристик спектрометров. Поскольку при сеансах ФДТ используют спектрометрическое оборудование с различными характеристиками, создание универсального комплекта ИМ не представляется возможным.

ОБОРУДОВАНИЕ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прибор, для которого создавался комплект ИМ в данной работе, был разработан и создан в Институте прикладных физических проблем им А. Н. Севченко. Это видео-микроспектрометрический комплекс ВМСК [3], позволяющий проводить измерения в интерактивном режиме. Для регистрации спектра используется ПЗС-линейка Toshiba TCD1304A, рабочий диапазон спектрометра комплекса 400 – 900 нм.

В качестве имитационной меры была использована фильтровальная бумага, на которую наносили каплю раствора трикарбоцианинового красителя, высыхающую при комнатной температуре. В качестве растворителей были использованы этанол и ацетон. Флуоресценция красителя возбуждалась лазерным излучением с длиной волны 682 нм.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Таким образом, целью данного исследования являлась разработка ИМ, подходящих для калибровки и контроля стабильности видеомикроспектрометрического комплекса ВМСК, а также для упрощения экспериментов на живых биологических объектах. Задачей исследования было изучение различных свойств данных ИМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рис. 1 приведен спектр ИМ после высыхания растворителя. Такую форму спектр имеет в диапазоне концентраций красителя в растворе 10^{-8} – 10^{-6} М. При меньших концентрациях шумы препятствуют проведению измерений с высокой точностью. При больших концентрациях спектр красителя деформируется вследствие перепоглощения.

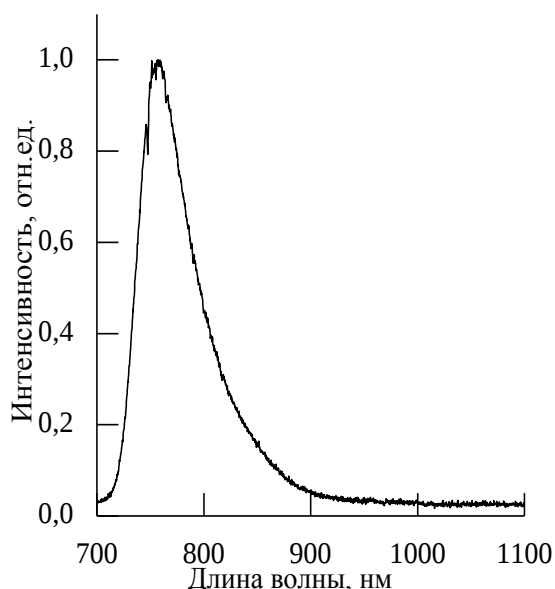


Рис. 1. Спектр флуоресценции ИМ

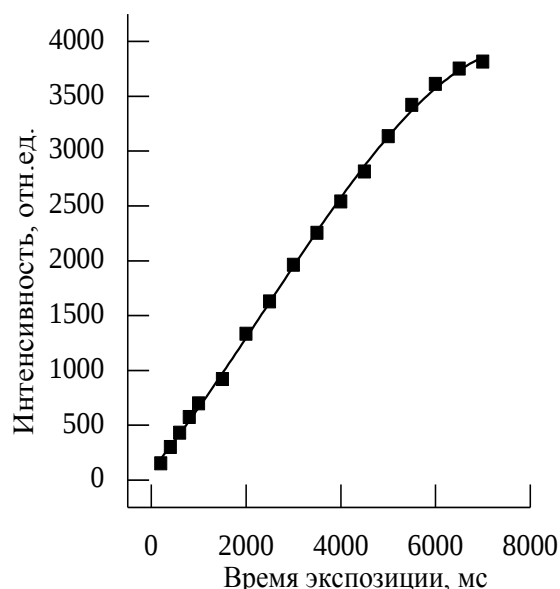


Рис. 2. Зависимость интенсивности флуоресценции ИМ от времени экспозиции

Было исследовано, как максимальная интенсивность в спектре флуоресценции ИМ зависит от времени экспозиции спектрометра. График данной зависимости представлен на рис. 2. Как нетрудно видеть, в опре-

деленном диапазоне интенсивности (приблизительно до 3000 отн. ед.) экспериментальные точки можно аппроксимировать линейной зависимостью с хорошей корреляцией. При возрастании интенсивности сигнала наблюдается отклонение от линейной зависимости, что обусловлено насыщением ячеек ПЗС-линейки и, как следствие, менее эффективным преобразованием светового сигнала в электрический.

Путем сканирования по пятну красителя было установлено, что распределение красителя на ИМ достаточно однородно, стандартное отклонение максимальной интенсивности в спектре флуоресценции для различных участков ИМ составило около 5%. На рис. 3 приведены спектры различных участков ИМ (растворитель - ацетон).

Была показана возможность кратного увеличения концентрации красителя на ИМ путем нанесения нескольких капель раствора красителя на поверхность ИМ. Спектры флуоресценции ИМ с n каплями раствора концентрации c_0 практически не отличались от спектров ИМ с одной каплей раствора концентрации nc_0 (было проверено для двух и для пяти капель).

Была исследована зависимость интенсивности в максимуме спектра флуоресценции ИМ от концентрации красителя. Учитывая ранее упомянутые результаты, в данном случае можно исследовать зависимость максимальной интенсивности от числа капель раствора красителя, нанесенных на ИМ. График данной зависимости представлен на рис. 4. Для экспериментальных точек возможна линейная аппроксимация (корреляция $r^2=0,99$).

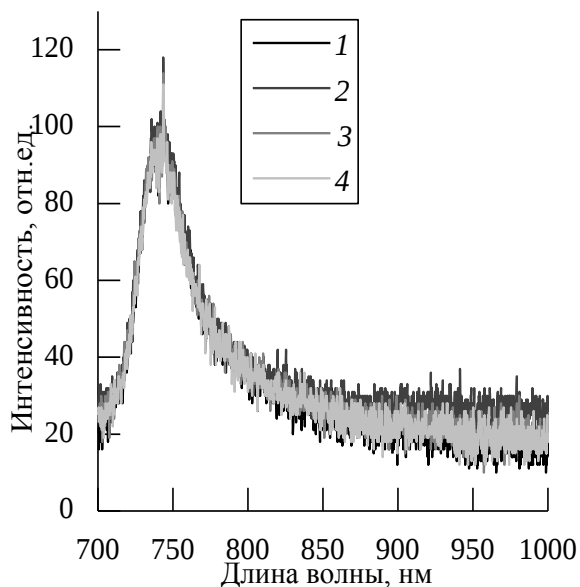


Рис. 3. Однородность распределения красителя:

1, 2, 3, 4 – спектры флуоресценции различных участков ИМ

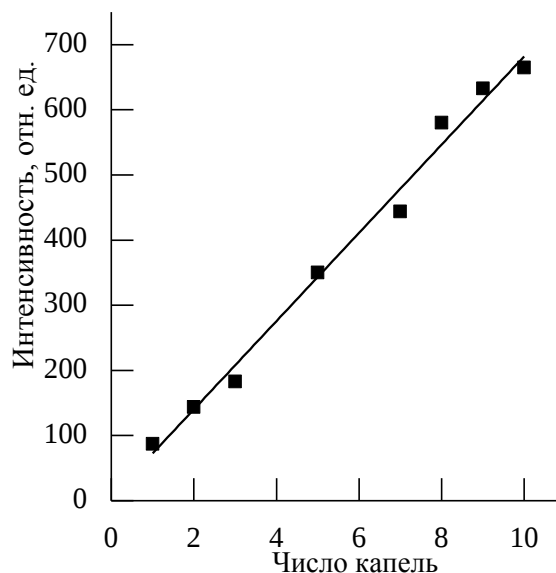


Рис. 4. Зависимость интенсивности флуоресценции ИМ от концентрации красителя

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Свойства разработанных ИМ позволяют эффективно использовать их при настройке спектрометрического оборудования. Например, измеряя зависимость интенсивности флуоресценции ИМ от времени экспозиции спектрометра и выделяя линейный диапазон, можно определить, для каких значений интенсивности регистрирующий блок спектрометра обладает линейным откликом на световой сигнал. Однако наиболее удобным свойством ИМ при калибровке является линейная зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации красителя. Измеряя данную зависимость, можно получать сведения об исправности прибора.

Этим не исчерпывается применение ИМ. Они могут быть эффективно использованы для упрощения пробных экспериментов по ФДТ на живых биологических объектах.

Недостатки экстракции при определении концентрации красителя в тканях (требуются большие временные затраты, большое количество биологического материала и пр. [4]) заставляют обращаться к другим методам. При использовании ИМ возможна другая методика: брюшная полость подопытного животного вскрывается и регистрируется спектр флуоресценции фотосенсибилизатора в исследуемом органе (с помощью оптического волокна), затем путем сопоставления этого спектра со спектром флуоресценции ИМ можно определить концентрацию фотосенсибилизатора в ткани. Это оказывается возможным благодаря тому, что спектры трикарбоцианинового красителя в биологических тканях и на целлюлозе слабо отличаются, особенно вблизи максимума (было показано для различных органов крысы), что позволяет установить соответствие между спектрами красителя в ткани и спектрами набора ИМ с разными концентрациями красителя.

Литература

1. *Хабриев Р. У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / М., 2005.
2. *Коваленко С. А., Белько Н. В.* Флуоресцентные фантомы биологических тканей для ближнего ИК-диапазона // Физика конденсированного состояния: XXII республикан. научн. конф. аспирантов, магистрантов, студентов, 17–18 апр. 2014, г. Гродно: сб. науч. статей. 2014. С. 104–106.
3. *Belko N., Kavalenka S., Tarasov D.* The biotissue fluorescence phantom for NIR region // 57th Scientific Conference for Students of Physics and Natural Sciences Open Readings 2014. Programme and abstract. 2014. P. 45.
4. *Werkhaven J., Harris D. M., Krol G., Hill J. H.* Light dosimetry in animal models: application to photodynamic therapy in otolaryngology // *Laryngoscope*. 1986. Vol. 96, № 10. P. 1058–1061.