

# МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ ЗОНДІВ В ТЕРАПІЇ

Вінницький національний технічний університет

## **Анотація**

Приведене наукове обґрунтування та розглянуто перспективи методу оптичної спектроскопії при проведенні фотодинамічної діагностики, який можна успішно використати для кількісної оцінки оптичних параметрів шкіри та отримання об'єктивної інформації про наявність чи відсутність та просторовий розподіл в ній різних біологічних компонентів і використання її для діагностики різних шкірних захворювань.

**Ключові слова:** флуоресцентна спектроскопія, хромофори, флуорофори.

## **Abstract**

This paper presents a scientific substantiation and examines the prospects of the method of optical spectroscopy in conducting photodynamic diagnostics, which can be successfully used to quantify the optical parameters of the skin and to obtain objective information on the presence or absence of and the spatial distribution of various biological components in it, and its use for the diagnosis of various skin.

**Keywords:** fluorescence spectroscopy, chromophore, fluorophore.

## **Вступ**

Сьогодні в медицину впроваджується все більша кількість методів лікування, у яких застосовуються фотонні прилади. Широкого розвитку набули оптичні методи реєстрації та перетворення біомедичної інформації для неінвазивних методів діагностики. Розглядаючи фотонні технології для медицини, слід зауважити, що в них присутні такі риси, які роблять їх конкурентноспроможними з іншими технологіями. Лише джерела лазерного випромінювання (ЛВ) і світлодіоди (СД) мають такі унікальні можливості, як мікропроцесорне керування мультиспектральністю, динамічні властивості в широкому частотному діапазоні, часова та просторова когерентність ЕМВ.

## **Результати дослідження**

Серед оптичних методів досліджень шкіри *in vivo* в даний час найбільший розвиток отримали методи відбивної і флуоресцентної спектроскопії. Відбите шкірою випромінювання та її флуоресценція несуть інформацію про структуру епідермісу і дерми, кількість і кровонаповненість кровоносних судин, просторовий розподіл хромофорів і флуорофорів всередині шкіри і їх концентрацію, інтенсивність метаболічних процесів, що відбуваються в шкірі. Обговорюються потенційні переваги і можливі області сумісного застосування відбивної і флуоресцентної спектроскопії шкіри для оцінки індексів еритеми і пігментації, визначення ступеня оксигенації і концентрації гемоглобіну [1].

Флуоресцентна спектроскопія отримує широке використання завдяки розробці нових джерел світла, надчутливих багатоканальних оптичних аналізаторів, приймачів на основі ПЗС-структур, які характеризуються великою тимчасовою та просторовою роздільною здатністю [2].

Більшість біологічних компонентів, які або характеризують структуру шкірної тканини, або залучені в метаболічні або функціональні процеси, генерують флуоресцентну емісію в УФ і видимому спектральному діапазоні. В результаті різні морфо-функціональні стани шкіри, що відносяться до гістологічних, біохімічних і фізико-хімічних змін, можуть бути, в принципі, охарактеризовані на основі інформації, що отримується за допомогою карт збудження-емісії флуоресценції.

Метою флуоресцентної спектроскопії є отримання інформації про діапазон довжин хвиль, в якому найвиразніше виявляються спектральні відмінності між нормальною біологічною тканиною і тканиною з патологією, та ідентифікація хромофорів, відповідальних за такі відмінності. Кількісна

оцінка оптичних параметрів шкіри дає можливість отримувати об'єктивну інформацію про наявність чи відсутність та просторовий розподіл в ній різних біологічних компонентів і успішно використовувати її для діагностики різних шкірних захворювань.

Флуоресценція виникає після поглинання світла і пов'язана з електронним переходом із збудженого стану молекули в основний. Її інтенсивність визначається формулою

$$I(\lambda) = I_0(1 - 10^{-\varepsilon(\lambda)cd})\eta \frac{\Omega}{4\pi} \quad (1)$$

де  $I(\lambda)$  — інтенсивність флуоресценції, а  $I_0$  — інтенсивність падаючого світла,  $\varepsilon(\lambda)$  - молярний коефіцієнт екстинкції,  $c$  – концентрація поглинаючих молекул,  $\eta$  - квантовий вихід флуоресценції,  $\Omega$  - тілесний кут реєстрації ізотропного випромінювання флуоресценції.

У разі тонких зразків, наприклад моношарів клітин або зразків біопсії, що мають товщину декілька мікрометрів, вираз (1) можна апроксимувати формулою

$$I(\lambda) = I_0 Ln(10\varepsilon(\lambda)cd)\eta \frac{\Omega}{4\pi} \quad (2)$$

Шкіра людини містить велике число різноманітних природних флуорофорів, які мають різні спектральні області поглинання і флуоресценції, різний квантовий вихід флуоресценції, час загасання флуоресценції, різний просторовий розподіл в товщині шкірної тканини. Для деяких флуорофорів характерним є перекриття області поглинання і флуоресценції, внаслідок чого випромінювання флуоресценції, що виходить з шкіри має складний спектральний склад. Крім того, в шкірі містяться також не флуоресцентні хромофори, такі, наприклад, як гемоглобін. Це поглинання ними випромінювання, що виходить з шкіри, приводить до виникнення в спектрі флуоресценції специфічних мінімумів і максимумів.

У міру збільшення довжини хвилі збуджуючого світла до формування спектру флуоресценції залучаються нові флуорофори, розташовані в глибших шарах шкіри.

Найнаочніше залежність інтенсивності  $\Phi$  шкіри від довжини хвилі збудження і емісії можна представити в тривимірному просторі (рис. 1). На рис. 1. приведені результати вимірювань флуоресценції зразків шкірної тканини (розміром 20 x 20 мм).

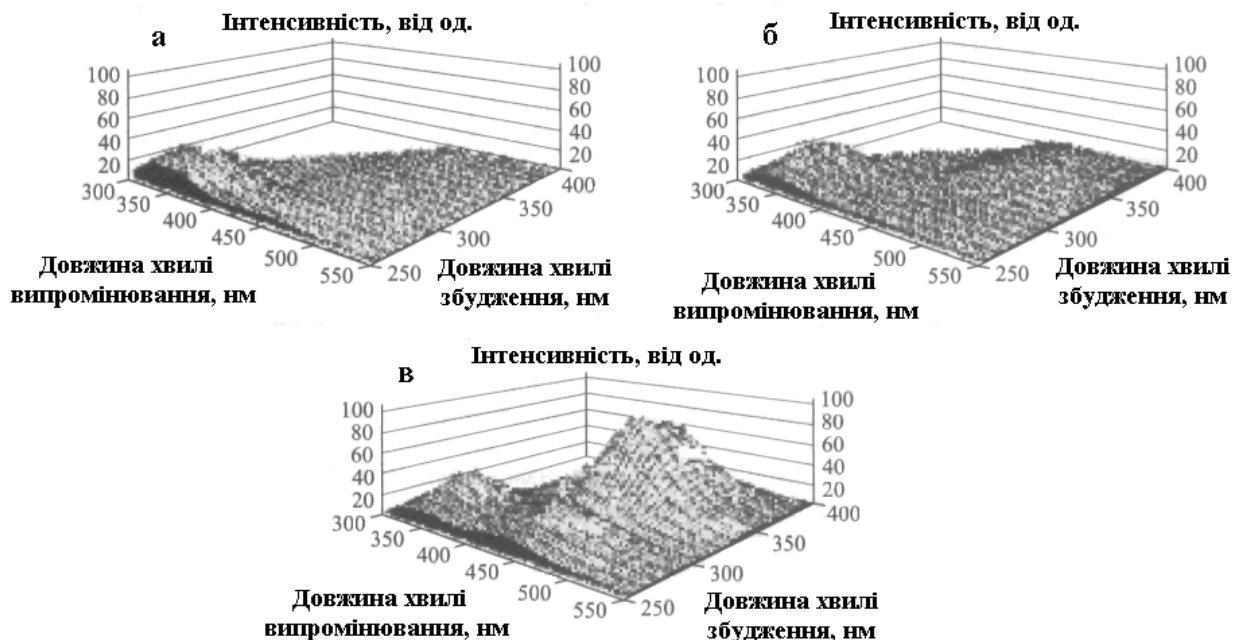


Рис1. Розподіли інтенсивності АФ шкіри *in vitro* у жінок різного віку: а) 40 років, б)-60 років; в) - 87 років.

Можна зробити, як мінімум, два попередні висновки: шкіра людини володіє достатньо характерною картиною  $\Phi$  і  $\Phi$  шкіри має значні індивідуальні відмінності.

Епюри перетинів просторового розподілу вимірної *in vivo*  $\Phi$  шкіри приведені на рис. 2.

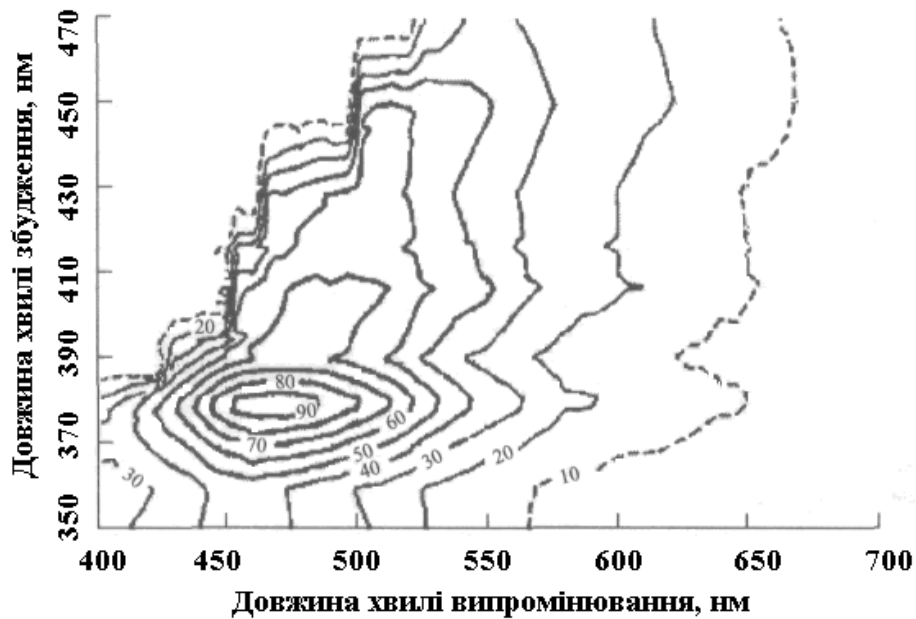


Рис. 2. Матриця збудження-випромінювання АФ шкіри людини in vivo

В результаті різні шкірні морфо-функціональні зміни, що приводять до змін її гістологічних, біохімічних або фізико-хімічних властивостей, можуть бути визначені, на основі інформації, представленої в МЗВ. Більшість біологічних компонентів, які або характеризують структуру шкірної тканини, або залучені в метаболічні або функціональні процеси, генерують флуоресцентну емісію в УФ і видимому спектральному діапазоні. В результаті різні морфо-функціональні стани шкіри, що відносяться до гістологічних, біохімічних і фізико-хімічних змін, можуть бути, в принципі, охарактеризовані на основі інформації, що отримується за допомогою карт збудження-емісії флуоресценції.

На рис. .3 представлені спектральні області флуоресценції основних хромофорів шкіри.

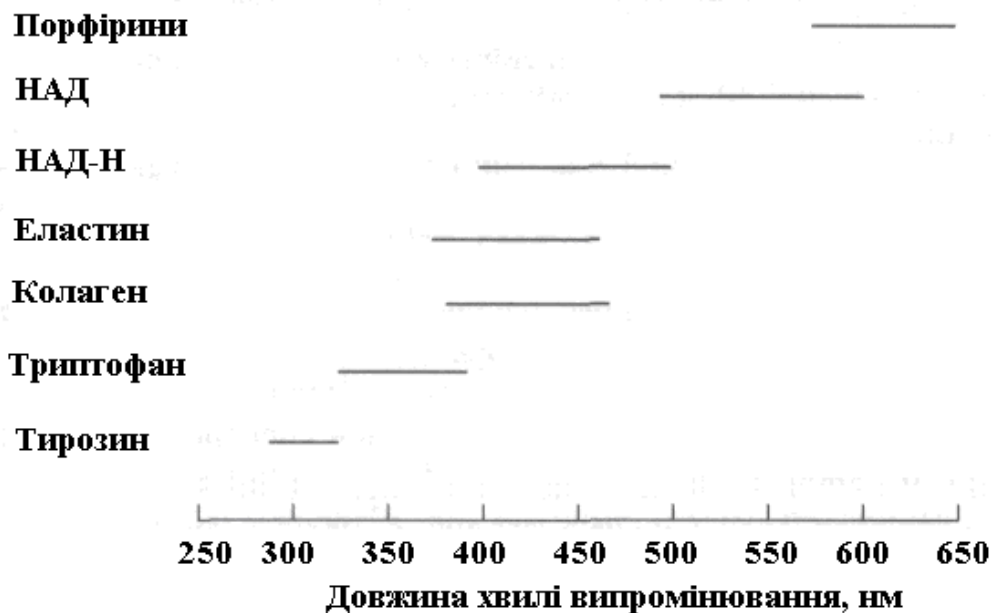


Рис. 3. Спектральні області флуоресценції основних хромофорів шкіри.

Спектри флуоресценції часто дають детальну інформацію про флуоресціюючі молекули, їх конформацію, зв'язки і взаємодію усередині кліток і тканин. Інтенсивність флуоресценції може бути змряна як функція довжини хвилі емісії або збудження. Емісійний спектр є специфічним для будь-

якого флуорофору і зазвичай використовується у флуоресцентній діагностиці. Флуоресцентні спектрометри для діагностики *in vivo* зазвичай використовують волоконно-оптичні системи і оптичний багатоканальний аналізатор (лінійку діодів або ПЗС-КАМЕРУ) як детектор випромінювання флуоресценції.

Принципова схема флуоресцентного спектрографа показана на рис. 4. Збуджуюче світло (наприклад, від ксенонової лампи високого тиску з безперервним спектром) фокусується на вхідну щілину монохроматора збудження, розкладається в спектр і далі монохроматичне випромінювання використовується для освітлення зразка. Частина ізотропного випромінювання флуоресценції від зразка потрапляє на щілину монохроматора і реєструється як функція довжини хвилі. Для реєстрації максимально можливої інтенсивності випущеного світла щілина 3 розташовується в безпосередній близькості від зразка, або випромінювання флуоресценції фокусується на щілину. Часто в обох монохроматорах використовуються ввігнуті дифракційні ґратки, які забезпечують спектральну роздільну здатність і одночасно фокусують падаюче світло на вихідні щілини, що дозволяє обійтись без додаткової колімуючої оптики.

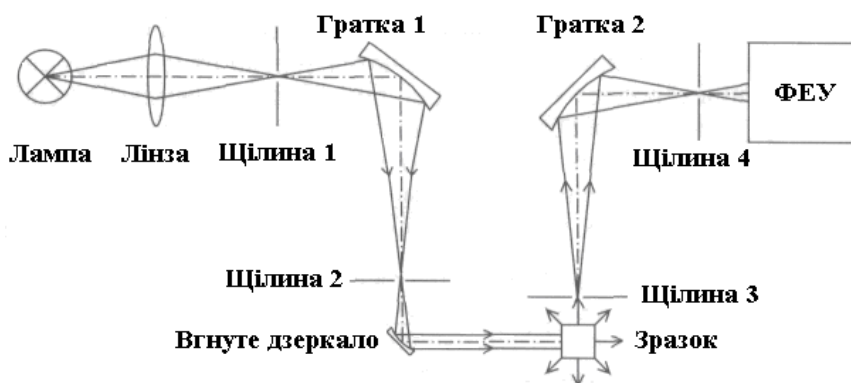


Рис. 4. Установа для збудження флуоресценції в емісійній спектроскопії

## Висновки

Швидкий прогрес органічної хімії забезпечує основу для синтезу різноманітних флуоресцентних зондів. В даний час безліч флуоресцентних фарбників, що покривають весь видимий діапазон спектру, доступні для застосування в анатомії і фізіології клітин та у медичній діагностиці. Виявлення, за допомогою таких зондів ракових клітин, являється фактично важливим кроком для ранньої діагностики онкологічних захворювань.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Оптична біомедична діагностика. В 2 т. / Пер. з англ, під ред. В.В. Тучина. - М.: ФІЗМАТЛІТ, 2007. - 560 с. - ISBN 978-5-9221-0769-3.
2. Осінський В.І., Павлов С.В., Тужанський С.Є., Камінський О.С. Перспективність застосування світловипромінюючих квантово-розмірних структур для фотомедицини// Матеріали XXXIII міжнародної науково-практичної конференції “Застосування лазерів у медицині та біології”. – 15-17 квітня 2010 р. – Ужгород, 2010. – с.166.
3. Jahne V. Practical Handbook on Image Processing for Scientific Applications. — Boca Raton: CRC Press, 1997.

**Камінський Олександр Станіславович** — провідний інженер кафедри загальної фізики, Вінницький національний університет, м.Вінниця, e-mail: kaminsky\_1976@ukr.net

**Kaminsky Oleksandr Stanislavovich** — leading engineer of the Department of General Physics, Vinnytsia National University, Vinnytsia, e-mail: [kaminsky\\_1976@ukr.net](mailto:kaminsky_1976@ukr.net)