

# СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И ФАРМАКОКИНЕТИКА КРАСИТЕЛЯ ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ

М.П. Самцов<sup>1</sup>, В.В. Жердева<sup>2</sup>, И.Г. Меерович<sup>2</sup>, Д.С. Тарасов<sup>1</sup>, К.Н. Каплевский<sup>3</sup>,  
П.Т. Петров<sup>4</sup>, Е.Н. Александрова<sup>5</sup>, Ю.П. Истомин<sup>5</sup>, Е.С. Воропай<sup>3</sup>, А.П. Савицкий<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ, Беларусь, Минск, 220045 Беларусь; E-mail: [Samtsov@bsu.by](mailto:Samtsov@bsu.by)

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва, Ленинский просп. 33, Москва, Россия

<sup>3</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>4</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>5</sup>РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Дальнейшее развитие персонифицированной терапии онкологических заболеваний направлено на создание мультифункциональных препаратов, которые накапливаются в опухолевых тканях, обладают цитотоксическими свойствами и обеспечивают возможность проведения оптической диагностики. Для достижения положительного результата при проведении сеанса фотодинамической терапии (ФДТ) следует эффективно воздействовать на патологические ткани световым излучением. Контроль за условиями фотовоздействия, которые обеспечивают надежное повреждение опухолевых тканей с учетом особенностей конкретного организма, способствует повышению качества лечения. В настоящей работе проведен анализ фармакокинетики распределения полиметинового красителя по органам животного и рассмотрена возможность его использования в качестве флуоресцентного зонда для определения степени повреждения опухолевых тканей в процессе проведения сеанса ФДТ.

В качестве объекта исследований использован разработанный в лаборатории спектроскопии НИИ прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко симметричный индотрикарбоцианиновый краситель, содержащий в качестве заместителей полиэтиленгликоли [1, 2].

Фармакокинетика распределения фотосенсибилизатора в тканях после внутривенного введения водного раствора исследована на мышах линии Nu/Nu с помощью диффузного флуоресцентного томографа FMT 4000 (PerkinElmer, США) при длине волны возбуждения 745 нм и регистрации на длине волны 770-800 нм. Предварительно была проведена калибровка при помощи раствора фотосенсибилизатора, помещенного в фантом.

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. Биологические ткани обладают неравномерностью оптических свойств, связанной в первую очередь с наличием кровеносной системы. Для обеспечения усреднения регистрируемого сигнала по объему исследуемого образца сечение светового пучка возбуждающего излучения на поверхности тканей составляло пятно диаметром около 5 мм. Регистрация флуоресценции осуществлялась непосредственно через кожу. Для учета уровня рассеянного света и собственной флуоресценции биологических тканей проводились контрольные измерения на интактных животных (т. е. без введения фотосенсибилизатора). 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.

Для выбранных концентраций фотосенсибилизатора исследована фармакокинетика распределения красителя по тканям животного. На основании полученных данных сделан выбор временного промежутка, в течение которого концентрация индотрикарбоцианинового красителя в опухолевой ткани практически не изменяется.

Проведены исследования спектрально-люминесцентных свойств симметричного индотрикарбоцианинового красителя в опухолевых клетках HeLa и тканях животных *in vivo* в процессе сеанса фотохимиотерапии при воздействии излучением светодиода 780 нм и после его завершения. Установлено, что при фотовоздействии на краситель в опухолевых тканях происходят изменения положения и полуширины спектров флуоресценции красителя, а в культуре клеток HeLa его спектральные характеристики постоянны. На основании анализа влияния перекрытия спектров поглощения эндогенных биомолекул со спектрами флуоресценции красителя и сравнения экспериментальных данных с результатами численного моделирования сделано заключение, что наблюдаемые деформации спектров флуоресценции красителя *in vivo* обусловлены изменением соотношения в опухолевой ткани различных форм гемоглобина. Показано, что спектральные характеристики флуоресцирующего в ближнем ИК диапазоне красителя коррелируют с глубиной полученного при фотовоздействии некроза опухолевых тканей. Установлено, что некроз опухолевых тканей глубиной до 2 см образуется для всех штаммов S-45, SM-1 и W-256, где в результате фотовоздействия наблюдается увеличение полуширины и коротковолновое смещение спектра флуоресценции красителя, а также не восстанавливается интенсивность его флуоресценции.

Наряду с этим проведены исследования влияния на форму и положение спектра флуоресценции красителя при использовании в качестве фотосенсибилизатора Фотолон и при фотовоздействии в максимуме поглощения последнего - 668 нм. Для этих исследований вводился Фотолон при стандартной терапевтической концентрации и дополнительно вводился раствор индотрикарбоцианинового красителя при концентрации в 2,5 раза меньше терапевтической. Фотолон и индотрикарбоцианиновый краситель вводились одновременно в изотоническом растворе.

В процессе проведения сеанса ФДТ исследованы флуоресцентные свойства индотрикарбоцианинового красителя в спектральной области 700-950 нм при различной степени повреждения опухолевых тканей. В спектре флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя при регистрации из облученной части опухолевых узлов перевитой подкожно саркомы М-1 наблюдается увеличение относительной интенсивности в области 780-860 нм. Деформация спектра флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя при фотовоздействии носит регулярный характер и коррелирует с глубиной зарегистрированного в дальнейшем некроза опухолевых тканей глубиной от поверхности до 14 мм. Интенсивность и форма спектра флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя в мышечной ткани не изменялась в процессе сеанса фотовоздействия.

Указанные деформации спектров флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя обусловлены их перекрытием со спектрами поглощения и изменением соотношения различных форм гемоглобина. На основании численного моделирования проведен анализ влияния поглощения различных форм гемоглобина на форму спектра флуоресценции красителя. Установлено, что в результате проведения сеанса ФДТ с использованием Фотолон в облученной части опухоли растет концентрация деоксигемоглобина с 14-15 % до 20 %, при этом происходит симбатное уменьшение концентрации оксигемоглобина с 85 % до 79 %. Концентрация метгемоглобина практически не меняется и не превышает 1 %. Полученные данные свидетельствуют о существенном уменьшении концентрации кислорода в подвергнутых фотовоздействию тканях.

Таким образом, путем анализа изменения спектров флуоресцирующего в ближнем ИК диапазоне зонда можно прогнозировать глубину и обширность некроза опухолевых тканей, вносить изменения в протокол (оптимизировать) проведения сеанса фотохимиотерапии.

### Литература

1. Патент на изобретение №17638: «Водорастворимый индотрикарбоцианиновый

краситель в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии злокачественных опухолей» Самцов М.П., Луговский А.П., Воропай Е.С., Петров П.Т., Луговский А.А., Демид Д.И., Истомин Ю.П. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2013. – № 5. – С. 103.

2. М.П. Самцов, Е.С. Воропай, П.Т. Петров. Перспективные фотосенсибилизаторы для лазерной фотодинамической терапии // ARS Medica 2012. №11(66) . С.89-93.

## **SPECTRAL PROPERTIES AND PHARMACOKINETICS NEAR-IR DYE FOR CANCER THERANOSIS**

M. P. Samtsov<sup>1</sup>, V.V.Zherdeva<sup>2</sup>, I.G.Meerovich<sup>2</sup>, D. S. Tarasau<sup>1</sup> K. N. Kaplevsky<sup>3</sup>, P.T. Petrov<sup>4</sup>, E. N. Alexandrova<sup>5</sup>, Y P. Istomin<sup>5</sup>, E. S. Voropay<sup>3</sup>, A.P.Savitsky<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>A. N. Sevchenko

*Research Institute for Applied Physical Problems, 7 Kurchatov Str., Minsk, 220045, Belarus; e-mail: [samtsov@bsu.byb](mailto:samtsov@bsu.byb);*

<sup>2</sup>*A.N.Bach Institute of Biochemistry of Russian Academy of Sciences*

<sup>3</sup>*Belarusian State University, Minsk, Belarus*

<sup>4</sup>*Institute of Bioorganic Chemistry, Minsk, Belarus*

<sup>5</sup>*N. N. Alexandrov Research Institute of Oncology and Medical Radiology, Minsk, Belarus*

The results obtained during studies of the spectral and luminescent properties of the symmetric indotricarbocyanine dye in HeLa tumor cells and animal tissues in vivo in the process of photochemotherapy and after its completion are presented. It is found that, due to the photodamage, the spectral positions and half-widths of fluorescence spectra of the dye in tumor tissues are changed, whereas in the culture of HeLa cells its spectral characteristics remain invariant. Based on analysis of the effects of overlapping between the absorption spectra of endogenous biomolecules and fluorescence spectra of the dye as well as on comparison of the experimental data and numerical simulation results, it has been concluded that the observed spectral deformations in fluorescence spectra of indotricarbocyanine dye in vivo are caused by varying proportions of different hemoglobin forms in the tumor tissue. It has been demonstrated that the spectral characteristics of indotricarbocyanine dye fluorescent in the near IR region correlate well with a depth of the tumor tissue necrosis as a result of the phototreatment. Necrosis of the tissues to a depth of 2 cm has been found for all the strains of S-45, SM-1, and W-256, for which after the photochemotherapy session one can observe in the fluorescence spectrum of indotricarbocyanine dye a shift to the short wavelength