

АУТОФЛУОРЕСЦЕНЦІЯ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН ТА ЇЇ ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ РАКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Кравченко В.М.¹, Бурий О.М.², Ковальчук І.М.¹, Ящук В.М.¹, Кушнір К.М.¹

¹*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,*

²*Інституту хірургії та трансплантології ім. О.О.Шалімова АМН України, Київ*
e-mail: krav@univ.kiev.ua,

Люмінесцентні методи аналізу знаходять широке застосування в науці й техніці. Останні десять років інтенсивно розвиваються люмінесцентні методи діагностики захворювань внутрішніх органів людини в медицині, коли за допомогою світловодів збуджувальне лазерне випромінювання вводиться всередину досліджуваного органу, а через іншу групу світловодів люмінесцентне випромінювання виводиться назовні, реєструється й аналізується. В медичній літературі є відомості про те, що таким чином можна виявляти онкологічні захворювання внутрішніх органів на ранніх стадіях їх розвитку.

Існують два основні методи люмінесцентної діагностики (візуалізації пухлин): 1) флуоресцентна діагностика з використанням фотосенсибілізаторів – спеціальних препаратів, які навмисно вводяться в організм хворої людини та які здатні накопичуватися в осередках захворювання і давати інтенсивну флуоресценцію при лазерному збудженні, та 2) аутофлуоресцентна діагностика, яка базується на відмінності спектрів власної фотолюмінесценції (аутофлуоресценції) здорових та уражених тканин даного органу. Перевагою останнього методу є те, що пацієнту не потрібно приймати або вводити йому внутрішньо жодні хімічні препарати.

В біологічних тканинах центрами люмінесценції є невелика кількість біологічно важливих молекул. Досліджуючи фотолюмінесцентні властивості, зокрема спектри флуоресценції цих молекул, можна одержати інформацію про біохімічні процеси в живій клітині, і зокрема визначити, здорова чи хвора ця клітина, що дозволяє проводити люмінесцентну діагностику захворювань внутрішніх органів людини.

Метою даної роботи було дослідження аутофлуоресценції (АФ) тканин шлунку людини та тканин шлунку інших ссавців – щурів – для встановлення природи центрів випромінювання та вивчення можливостей реалізації аутофлуоресцентної діагностики захворювань внутрішніх органів людини.

У роботі вимірювалися спектри АФ зразків вказаних тканин та спектри збудження АФ. Для збудження АФ використовувалися імпульсний азотний УФ-лазер ($\lambda = 337$ нм), ртутна лампа (лінії випромінювання 254 та 313 нм) та імпульсна ксенонова лампа з неперервним спектром випромінювання (монохроматором виділялася вузька спектральна область). Вказані спектри вимірювалися за допомогою спектрометрів на базі ИСП-28 та МДР-3, а також флуоресцентного спектрофотометра Varian Cary Eclipse.

В спектрах АФ досліджених зразків тканин шлунку людини виявлено три широкі смуги АФ з максимумами при 390, 430, 460 нм. В спектрах АФ досліджених зразків тканин шлунку щурів виявлено усього дві смуги АФ з максимумами при 390 та 480 нм. Максимуми спектрів збудження виявлених смуг АФ відповідають наступним довжинам хвиль: 340 нм (для смуги АФ 390 нм), 350 нм (для смуги АФ 430 нм), 290 та 350 нм (для смуг АФ 460 та 480 нм).

За спектрами АФ та спектрами збудження смуг АФ були ідентифіковані флуоресцентні біомолекули, які люмінесцюють у досліджених тканинах. Так, смуга АФ з максимумом при 390 нм зумовлена свіченням молекули колагену (головного білка з'єднувальної тканини в організмі людини, входить до складу хрящів, сухожиль, зв'язок та кісток), смуга 430 нм – молекули еластину (структурного білка, присутнього в еластичній з'єднувальній тканині тварин і людини), а смуги 460 та 480 нм – молекули NADH (кофермента, за участю якого каталізуються оборотні реакції окислення, що відбуваються при енергетичному обміні та в процесі дихання усіх без винятку живих клітин).

У спектрах АФ зразків тканин шлунку людини (здорової та ураженої пухлиною) у фізіологічному розчині спостерігалась одна смуга при 460 нм (NADH). Відносна інтенсивність смуги АФ ураженої раковою пухлиною тканини як мінімум удвічі менша за інтенсивність смуги АФ здорової тканини у порівнянні з розсіяною лінією випромінювання газового розряду лазера.

У спектрах АФ зразків тканин шлунку людини (здорової та ураженої пухлиною) у формаліні спостерігались дві смуги при 390 нм (колаген) та 430 нм (еластин). Для ураженої пухлиною тканини інтенсивність АФ була помітно меншою, ніж для здорової. Крім того, співвідношення між інтенсивностями смуг 390 та 430 нм змінювалося (домінувала короткохвильова смуга 390 нм).

Таким чином, спектри АФ тканин шлунку, уражених раковими пухлинами, відрізняються від спектрів здорових тканин якісно (формою спектра) та кількісно (інтенсивністю смуг АФ). В усіх випадках наявність злоякісної пухлини призводить до зменшення інтенсивності люмінесценції тканини. Інтенсивність усіх виявлених смуг АФ препаративаних тканин зменшується з часом, що свідчить про незворотні процеси в живих клітинах, які супроводжуються зменшенням кількості центрів свічення.