

УДК 535.372

Влияние эффекта фотобликинга при использовании метода гиперспектральной флуоресцентной визуализации

Столбов А.Н. (Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия)

Научный руководитель – к.т.н., доцент Дрёмин В.В.

(Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия)

Аннотация: В работе экспериментально изучено влияние эффекта фотобликинга (фотовыгорания) на интенсивность флуоресценции кожных покровов человека. Исследование проводилось при помощи экспериментальной системы гиперспектральной флуоресцентной визуализации. По результатам исследований были получены временные зависимости спектров флуоресценции, демонстрирующие снижение интенсивности из-за эффекта фотобликинга.

Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения, только за 2020 год было выявлено около 1,2 млн новых случаев злокачественных новообразований кожи и констатировано более 40 тыс. летальных исходов. В России ежегодно выявляется более 30 тыс. случаев онкологии кожи, и это число увеличивается с каждым годом. Известно, что изменения, происходящие в метаболизме клеток и тканей во время дисплазии, приводят к гипоксическим состояниям с увеличением концентрации НАДН, изменению редокс-соотношения (НАДН/ФАД), накоплению порфиринов и пр. В диагностике подобных состояний становятся всё более актуальными методы оптической визуализации, включая методы флуоресцентной визуализации, которые демонстрируют значительную чувствительность к наличию патологических изменений в тканях, в частности злокачественных. Однако данные технологии имеют различные методологические особенности, изучение которых требуется для успешного внедрения оптической визуализации в клиническую практику. В данной работе был изучен фотобликинг кожных флуорофоров человека с использованием оригинального метода гиперспектральной флуоресцентной визуализации.

Для изучения оптических характеристик кожного покрова человека использовалась экспериментальная установка гиперспектральной флуоресцентной визуализации. Оптическая схема представляет собой стандартную схему микроскопии отраженного света. Ключевым элементом для подобных оптических схем является вертикальный осветитель. Основным компонентом вертикального осветителя при флуоресцентных исследованиях является дихроичное зеркало (фильтр). Это зеркало отклоняет возбуждающее излучение, идущее из горизонтального осветителя, на 90° в вертикальную оптическую систему формирования изображения. Кроме того, расположенное под углом 45° к оптическим осям осветителя и канала формирования изображения дихроичное зеркало пропускает выходящее из объектива флуоресцентное излучение.

В разработанной системе излучение возбуждения светодиодного источника 450 нм M450LP1 (Thorlabs, Inc. США) проходит через полосовой фильтр экстинкции MF445-45 (Thorlabs, Inc. США) для вырезания узкой полосы возбуждения, и далее через дихроичный фильтр MD480 направляется на исследуемую область. Обратное отраженное излучение источника фильтруется дихроичным фильтром и эмиссионным фильтром 500 нм FELH0500 (Thorlabs, Inc. США), а флуоресцентное излучение регистрируется гиперспектральной камерой Specim IQ (Specim, Spectral Imaging Ltd. Финляндия).

Исследования проводились на условно здоровом добровольце мужского пола. В качестве исследуемых областей была выбрана кожа ладони правой руки. Обработка гиперспектральных изображений проводилась с помощью разработанного программного обеспечения в среде MATLAB.

По результатам исследований были получены гиперспектральные флуоресцентные изображения кожных покровов в области ладони правой руки и соответствующие спектральные кривые области интереса. В результате исследования было выявлено снижение интенсивности флуоресценции при длительном воздействии возбуждающего излучения. На 24 минуте эксперимента был зафиксирован значительный спад интенсивности флуоресценции на 15% от максимальной интенсивности. По завершению эксперимента, длительностью 60 минут, спад интенсивности флуоресценции составил 20% от максимального уровня интенсивности флуоресценции. Данное изменение интенсивности флуоресценции флуорофоров (ФАД, коллагена и др.) в коже ладони обусловлено эффектом фотобликинга. Проведенные исследования демонстрируют, что при длительном воздействии возбуждающего флуоресценцию излучения наблюдается эффект фотобликинга, который может привести к неправильной интерпретации результатов диагностики. Во избежание данного влияния следует минимизировать воздействие возбуждающего излучения по средствам разработки соответствующих протоколов исследования.