

Biologinių audinių ir skysčių virpesinė spektroskopija

Vibrational Spectroscopy of Biological Tissues and Fluids

Valdas Šablinskas

Vilniaus universitetas, Fizikos fakultetas, Cheminės fizikos institutas, Saulėtekio al. 3, LT-10257 Vilnius
valdas.sablinskas@ff.vu.lt

Biologiniai audiniai ir skysčiai yra sudėtingi molekulinų darinių mišiniai, dėlto medicininiai diagnostiniai tyrimai fizikiniais ir cheminiais metodais gali būti traktuojami kaip mišinių kokybinė ir kiekybinė analizė. Tokiai analizei tinka įvairūs optinės spektroskopijos metodai, nes jie yra nedestrukciniai ir pakankamai informatyvūs. Iš visų optinės spektroskopijos metodų pats informatyviausias yra virpesinės spektroskopijos metodas, kuris susijęs su molekulių vidinių virpesių analize. Virpesinius medžiagų spektrus galima traktuoti kaip molekulių „pirštų antspaudus“ - gamtoje neegzistuoja du chemiškai skirtingi molekuliniai dariniai, kurių virpesiniai spektrai būtų identiški. Virpesinės spektroskopijos metodai – Ramano sklaidos spektroskopija ir infraraudonosios spinduliuotės sugerties spektroskopija jau senai taikomi laboratoriniuose medicininuose tyrimuose, tačiau spektriniai klinikiniai tyrimai vis dar reti. Viena iš priežasčių yra ta, kad biologinių objektų virpesiniai spektrai yra sunkiai interpretuojami. Spektriniai pokyčiai susiję su konkrečia liga yra maži ir jų aptikimui yra reikalinga statistinė spektrų analizė, kurios metu kompiuterinė programa suranda mažus akimi nematomus spektrinius pokyčius ir panaudoja juos diagnostikai. Medicinoje tai nepriimtina, nes diagnozę turi nustatyti gydytojas, o ne kompiuteris. Kita priežastis yra optinio eksperimento specifika - biologinis bandinys paveikiamas šviesa ir tuo pačiu spektrometru yra analizuojamas optinis atsakas. Dėl šios priežasties standartiniais spektriniais prietaisais atlikti *in situ* bei *in vivo* diagnostinius medicininis tyrimus yra sunku.

Šiame darbe yra pateikti medicininis diagnostikų, atliktų panaudojant skirtingas virpesinės spektroskopijos metodikas, pavyzdžiai. Pasitelkus infraraudonosios spinduliuotės pralaidumo spektrų metodiką galima atlikti vėžinių audinių diagnostiką, nors tokio tipo eksperimente stebimi spektriniai žymenys nėra ryškūs. Daugeliu atvejų žymenis galima išryškinti, panaudojant spektrų statistinės analizės metodus [1]. Žymiai ryškesni vėžinių audinių spektriniai žymenys yra stebimi kai yra tiriamas ne pats audinys, o audinio tarpląstelinis skystis. Tokio skysčio tyrimui gali būti panaudojamos tiek pralaidumo tiek ir pažeistojo visiško vidaus atspindžio (*ATR*) metodikos [2]. Tarpląstelinio skysčio tyrimo pranašumas prieš plonų audinio sluoksnių tyrimą yra tas, kad pirmu atveju gaunama spektrinė informacija apie nepažeistas tarpląsteliniam skystyje esančias audinio ląsteles, kai tuo tarpu plonuose (10-20 μm) sluoksniuose dominuoja pažeistos ląstelės. Tai svarbu, kai diagnozuojamos ligos spektriniai žymenys yra susiję su ląstelės sudėtyje

esančiomis cheminėmis medžiagomis, kurių stabilumas priklauso nuo aplinkos terpės, pvz., kurios yra stabilios citoplazmoje, bet mažiau stabilios tarpląsteliniam skystyje. Kita infraraudonosios spektroskopijos metodika - atspindžio spektroskopija gali būti efektyvi kietų biologinių bandinių atveju – pvz., inkstų, tulžies, šlapimo pūslės ir pan. akmenų diagnostiniuose tyrimuose. Šviesos atspindys yra sudėtingas procesas – veidrodiniam ir difuziniam atspindžiui jis vyksta skirtingai, dėlto atspindžio spektrų analizė yra sudėtinga. Tačiau, spektrų analizėje teisingai pritaikius šviesos atspindžio teoriją, iš tokių spektrų yra gaunama vertinga informacija apie bandinio cheminę sudėtį [3]. Virpesinės spektroskopijos diagnostines galimybes galima praplėsti spektriniame eksperimente panaudojant šviesolaidinę techniką. Pavyzdžiui, tokius spektrinius tyrimus galima atlikti realiame laike chirurginių operacijų metu, diagnozuojant vėžinius audinius konkrečioje gydomo organo paviršiaus vietoje [4]. Virpesinės spektroskopijos diagnostinis efektyvumas yra ribotas, kai biologiniame bandinyje reikia aptikti labai mažos koncentracijos cheminius junginius. Šiuo atveju yra pasitelkiamos spektrinio signalo stiprinimo metodikos. Efektyviausia tokio stiprinimo metodika virpesinėje spektroskopijoje – paviršiaus sustiprinta Ramano sklaida (*SERS*). Pavyzdžiui, panaudojant *SERS* metodiką galima diagnozuoti vaistų pėdsakus paciento kraujyje [5] bei glikogeną vėžinėse ląstelėse [6]. *SERS* metodikos diagnostinį pajėgumą galima dar daugiau padidinti naudojant šviesolaidinius *SERS* zondus.

Pateikti pavyzdžiai indikuoja, kad tiek infraraudonosios spinduliuotės sugerties, tiek Ramano sklaidos spektroskopija, panaudojant specialias spektrų registravimo ir analizės metodikas yra efektyvios medicininės diagnostikos priemonės.

Reikšminiai žodžiai: virpesinė spektroskopija, SERS, ATR, šviesolaidžiai, difuzinis ir veidrodinis atspindys, vėžio diagnostika.

Literatūra

- [1] V. Šablinskas et al., Journal of Biomedical Optics, 2011, 16(9), 096006-1 096006-7 (2011).
- [2] M. Pučetaitė et al., Journal of Biophotonics, 11(5) (2018).
- [3] S. Tamošaitė et al., Journal of Biomedical Optics, 096006-6(91) 096006-7), 18(7) (2013).
- [4] V. Šablinskas et al., Proc. SPIE 10497, Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XVI, 1049713, doi: 10.1117/12.2289393 (2018).
- [5] S. Adomavičiūtė et al, Proc. SPIE 10894, Plasmonics in Biology and Medicine XVI, 108940E doi: 10.1117/12.2508276 (2019).
- [6] M. Velička et al., Journal of Raman spectroscopy, 48(12), 10.1002/jrs.5232 (2017).