

УДК 577.344.3

**Исследование возможности повышения эффективности фотодинамического
воздействия на живые клетки путем изменения параметров светового облучения**

Филатов В.В.

*Студент, кафедра «Биомедицинские технические системы» МГТУ им. Н.Э. Баумана,
г. Москва, Россия*

*Научный руководитель: Змиевской Г.Н., кандидат физико-математических наук, доцент,
доцент кафедры «Биомедицинские технические системы» МГТУ им. Н.Э. Баумана,
г. Москва, Россия*

МГТУ им. Н.Э. Баумана
ingener-vadim@mail.ru

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) — относительно новый метод лечения онкологических заболеваний, отличающийся минимальной инвазивностью и потенциально высокой эффективностью, связанной с избирательностью воздействия на патологию.

Экспериментально установлено, что при некоторых заболеваниях в патологических тканях накапливаются вещества, которые практически не задерживаются в окружающих здоровых клетках. Замечено, что некоторые из таких соединений активно реагируют на свет ультрафиолетового и видимого диапазонов, запуская определенные фотопроцессы. Эти вещества получили название фотосенсибилизаторов (ФС).

Применение ФДТ в медицинской практике основано на введении ФС в организм пациента с последующим облучением светом с длиной волны, «настроенной» на данный ФС, приводящее к повреждению патологических клеток.

Механизм ФДТ еще не изучен до уровня практических рекомендаций. Главным «поражающим агентом» принято считать синглетный кислород (возбужденное состояние молекулы кислорода), появление которого установлено экспериментально после светового

<http://sntbul.bmstu.ru/doc/533453.html>

воздействия на сенсibilизированные клетки. Синглетный кислород, являясь сильным окислителем, вступает во взаимодействие с липидами и белками клеток, вызывая разрушение структуры мембран и функциональные нарушения в различных клеточных органеллах.

Для повышения эффективности ФДТ одной из важнейших является возможность увеличения числа фотодинамически разрушенных клеток не путем поднятия суммарного уровня введенной в биообъект энергии, (повышение длительности процедуры, интенсивности освещения), а при помощи изменения режима освещения.

Моделирование фотодинамического эффекта (ФДЭ) [1-3] приводит к выводу о том, что переход от непрерывного к импульсному режиму облучения при сохранении экспозиционной дозы может дать существенный выигрыш в эффективности лечения (рис. 1), причем его величина зависит от формы импульса.

Несмотря на то, что изучению факторов, влияющих на эффективность ФДТ посвящено большое количество работ, в настоящее время нет однозначного ответа на вопрос о преимуществах непрерывного или импульсного режимов светового воздействия при проведении сеанса фотодинамического лечения. В данной работе мы попытаемся восполнить этот пробел.

Целью работы является подбор опытным путем оптимальных (по критерию максимизации уровня погибших клеток) параметров светового воздействия при фотодинамическом лечении.

Задача работы состоит в экспериментальной проверке результатов моделирования фотодинамического воздействия (ФДВ), а именно в сравнении эффективностей непрерывного и импульсного облучения клеток при ФДТ при условии сохранения величины экспозиционной дозы.

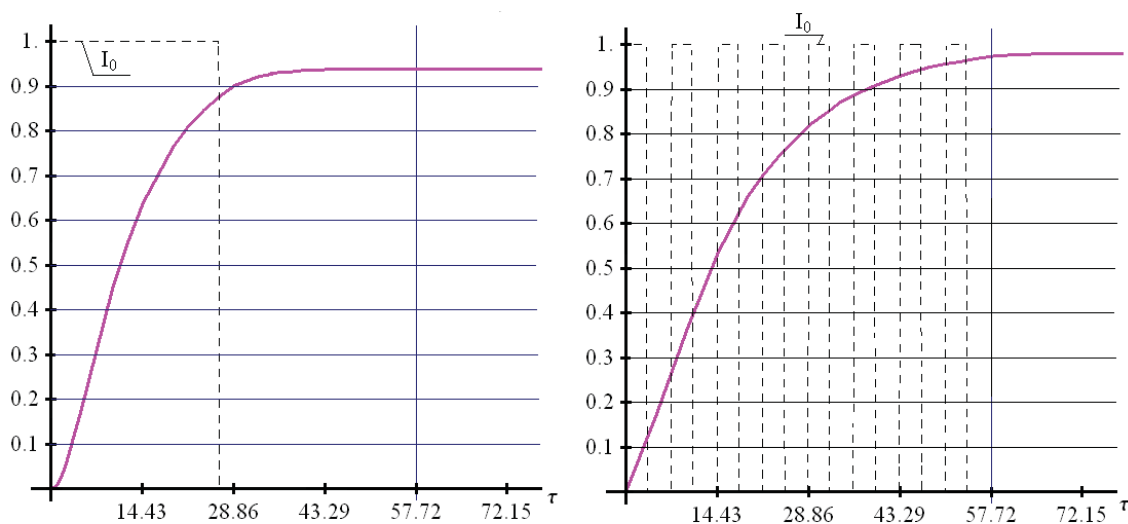


Рис.1. Изменение числа погибших клеток при непрерывном и импульсном режимах облучения. I_0 – интенсивность засветки, τ – безразмерное время

Объект исследований

Проверка гипотезы о предпочтительности импульсного режима облучения клеток по сравнению с непрерывным при ФДВ проводилась на культуре эритроцитов. Параметром, характеризующим степень протекания процесса, был выбран коэффициент пропускания (прозрачность) жидкого образца, поскольку при гемолизе эритроцитов, ввиду их количественного доминирования над другими форменными элементами крови, следует ожидать радикального изменения оптических свойств.

Методика проведения эксперимента

Нативная кровь разводилась в 0,9% физиологическом растворе NaCl в соотношении 1:600. Фотосенсибилизатор (ФС) "Радахлорин" разводился по той же технологии. Затем разведенная кровь и разведенный ФС смешивались в соотношении 1:1. Полученная смесь помещалась в прямоугольную кювету и подвергалась облучению светодиодной матрицей (кювета помещалась в фокусе лучей светодиодной матрицы сферической формы, длина волны излучения матрицы $\lambda = 650$ нм).

Режим фотовоздействия задавался с персонального компьютера через программируемый модулятор напряжения. Контроль пропускания смеси проводился на фотоколориметре КФК-2.

Схема экспериментальной установки приведена на рис. 2.

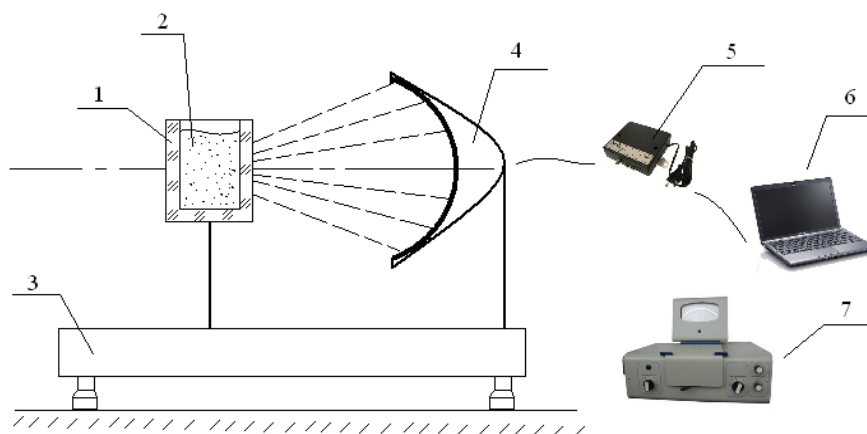


Рис. 2. Схема экспериментальной установки: 1 – кювета; 2 – исследуемый образец; 3 – оптическая скамья; 4 – светодиодная матрица; 5 – модулятор; 6 – ПК; 7 – фотоколориметр

На первом этапе эксперимента определялась пороговая доза светового воздействия, достаточная для начала протекания фотодинамического эффекта (ФДЭ). Для этого каждые 30 секунд кювета снималась с облучения и помещалась в фотоколориметр для проведения контроля пропускания смеси. Эта процедура повторялась до тех пор, пока показания фотоколориметра не выходили на «плато», т.е. достигали предельного значения и не менялись при дальнейшем повторении измерений (рис. 3).

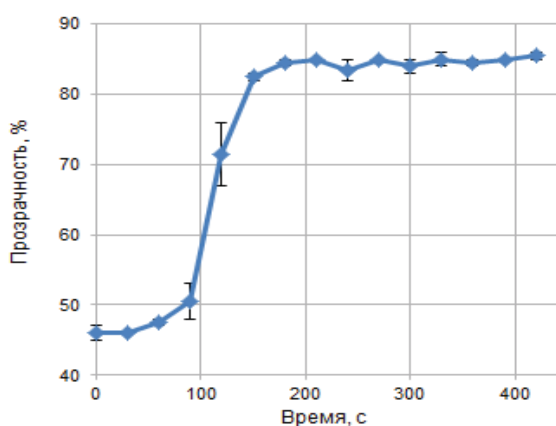


Рис. 3. Определение дозы светового воздействия, достаточной для начала протекания ФДЭ

На втором этапе исходная смесь облучалась в непрерывном режиме в течение времени, соответствующего порогу ФДЭ (это время было определено на первом этапе). После окончания экспозиции, контроль пропускания смеси проводился каждую минуту до того момента, пока показания прибора не переставали изменяться (достигали предельного значения) (рис. 4).

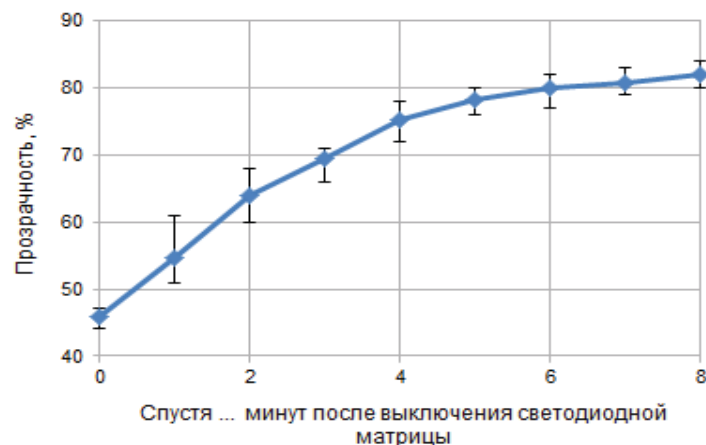


Рис.4. Изменение прозрачности образца в опыте с непрерывным режимом освещения

На третьем этапе исходная смесь облучалась светодиодной матрицей, работающей в импульсном режиме. Суммарное время облучения было таким же, как на втором этапе. Варьировались параметры импульсного воздействия: частота и скважность. Эксперименты проводились на частотах 1, 2, 5, 10, 24, 50, 100 Гц при скважности 50 и 75%. По окончании экспозиции проводился контроль пропускания смеси по методике второго этапа (рис. 5).

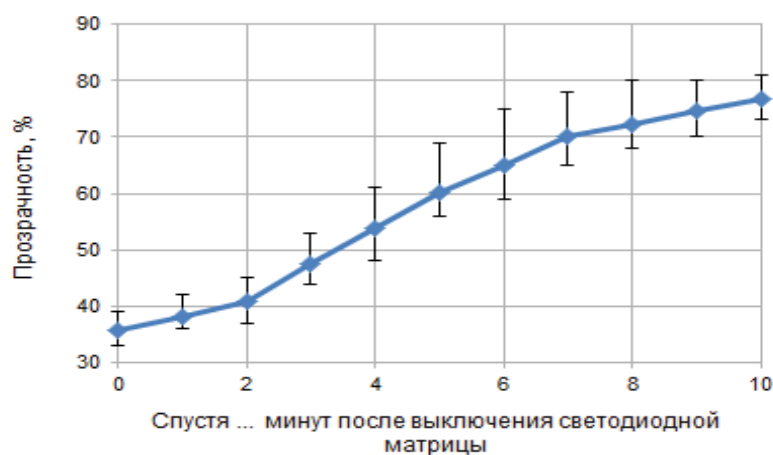


Рис. 5. Изменение прозрачности образца в опыте с импульсным режимом освещения

Обсуждение результатов

1) Скорость фотодинамического разрушения клеток при непрерывном облучении выше, чем при импульсном.

2) Связь максимального числа погибших клеток с параметрами импульсного воздействия (частотой и скважностью) не обнаружена.

Совпадение максимального числа погибших клеток на всех этапах эксперимента

наводит на мысль о том, что выбранная на первом этапе доза светового воздействия достаточна для полного уничтожения всех эритроцитов в смеси. Для проверки данной гипотезы был поставлен контрольный эксперимент, в котором гемолиз эритроцитов осуществлялся иным физическим путем. Нативная кровь разводилась в концентрации 1:1200 в дистиллированной воде, что приводило к осмотическому гемолизу эритроцитов. Совпадение коэффициентов пропускания образцов в опыте с фотодинамическим и осмотическим гемолизом подтвердило наше предположение о достаточности выбранной экспозиционной дозы.

Заключение

Несмотря на то, что максимальный процент погибших клеток при импульсном облучении такой же, как и при непрерывном (что не совпадает с результатами моделирования [2]), можно считать подтвержденной гипотезу о предпочтительности использования импульсного режима освещения при проведении ФДТ. Дело в том, что при непрерывном облучении в качестве побочного действия зачастую наблюдается отек ткани, связанный с разогревом зоны облучения. При импульсном режиме отека не должно происходить, поскольку в периоды между импульсами происходит "остывание" биообъекта.

В перспективах развития работы стоит задача сравнения критических уровней начала фотодинамической деструкции патологических и здоровых тканей. А также выявление соотносимых параметров отклика биообъекта на ФДВ с целью замыкания петли обратной связи, по которой информация о степени протекания процесса будет передаваться в блок анализа и принятия решений. После обработки этих результатов будет приниматься решение о необходимости изменения режима светового воздействия. Тем самым будет реализована биосинхронизация воздействия на биообъект в создании аппаратно - программного комплекса для ФДТ онкологических заболеваний.

Список литературы

1. Жорина Л.В., Залевская Л.И., Залевская О.И., Змиевской Г.Н., Семчук И.П., Филатов В.В. Дозовые характеристики препарата "Радахлорин" при моделировании фотодинамического эффекта на клеточном уровне // Измерительная техника. 2011. №12. С. 48-53.
2. Змиевской Г.Н., Филатов В.В. Исследование эффективности лазерного фотодинамического воздействия на клеточные структуры при различных режимах работы лазера //Сборник материалов XI всероссийской научно - технической

конференции "Состояние и проблемы измерений", МГТУ им. Н.Э. Баумана, 26-28 апреля 2011г. М.: Издательство МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2011. С. 219-224.

3. Филатов В.В. Исследование эффективности различных режимов лазерного излучения на живые клетки при фотодинамическом воздействии. // Наука и образование. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Электрон. журн. 2011. № 10. Режим доступа: <http://technomag.edu.ru/doc/229632.html> (дата обращения 21.07.2012).
4. Галкин М.А., Змиевской Г.Н., Ларюшин А.И., Хизбуллин Р.Н. Локальный разогрев облучаемой области как дозозависимый соотносимый параметр отклика организма на фототерапевтическое воздействие. // Инженерно-физические проблемы новой техники: Сб. материалов 9-го Всероссийского совещания-семинара: М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2010, С. 66.