

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Разработка новых подходов к комбинированной ФДТ/ФТТ рака

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 4082 группы
направления (специальности) 12.03.04 «Биотехнические системы и
технологии

Института физики

Попова Сергея Валерьевича

Научный руководитель:
проф. д.ф.-м.н., доцент



подпись, дата

Э.А. Генина

Зав. кафедрой:
проф. д.ф.-м.н., чл.-корр.
РАН



подпись, дата

В.В. Тучин

Саратов 2024

Введение

Во введении рассматривается актуальность работы, устанавливается цель и выдвигаются задачи для достижения поставленной цели.

Актуальность темы: задача увеличения эффективности ФДТ и ФТТ остается актуальной и востребованной в современной медицине из-за их потенциала в лечении различных заболеваний, включая онкологические заболевания, кожные заболевания, косметические проблемы и другие патологии.

Целью выпускной квалификационной работы является: изучение реакции организма на проведение ФДТ, ФТТ и комбинации ФДТ/ФТТ на основе анализа изменения температуры и спектров диффузного отражения области облучения.

Поставленная цель определила **следующие задачи:**

1. Изучение современных методов комбинированной ФДТ и ФТТ для лечения рака;
2. Анализ существующих проблем и ограничений в применении этих методов;
3. Разработка новых подходов к комбинированной ФДТ и ФТТ с учетом существующих недостатков;
4. Испытание предложенных методов на животных моделях для анализа соответствующих методов;
5. Оценка результатов и сравнение новых подходов с результатами других авторов, представленными в литературе;
6. Формулирование рекомендаций по дальнейшему развитию и применению комбинированной ФДТ и ФТТ.

Решение этих задач позволит разработать новые эффективные методы лечения рака, которые могут значительно улучшить результаты терапии.

Структура и объем работы. Дипломная работа занимает 41 страницу, имеет 11 рисунков.

Обзор составлен по 53 информационному источнику.

Основное содержание работы

Первая глава работы, введение, посвящена описанию основного метода исследования, его практической значимости и формулировке целей работы.

Теоретическая часть разделена на четыре соответствующих раздела. Раздел 1.1 описывает основные принципы ФДТ.

Раздел 1.2 описывает основные принципы ФТТ.

Данный раздел дополнительно разделен на один подраздел.

Раздел 1.2.1 рассматривает применение плазмонных наночастиц в ФТТ.

Раздел 1.3 описывает преимущества и недостатки ФДТ и ФТТ.

Раздел 1.4 описывает комбинированное воздействие ФДТ и ФТТ

Данный раздел дополнительно разделен на три подраздела.

Раздел 1.4.1 рассматривает механизмы клеточной смерти.

Раздел 1.4.2 рассматривает сосудистые эффекты.

Раздел 1.4.3 рассматривает иммунное воздействие.

Следующей частью ВКР является практическая часть, которая в свою очередь разделена на 2 раздела.

Раздел 2.1 содержит информацию о проведении эксперимента и выборе формул для расчетов

В экспериментах использовались белые лабораторные крысы – самцы весом 160 – 200 г, полученные из вивария Центра коллективного пользования СГМУ им. В.И. Разумовского.

Для получения модельных опухолей крысам вводилась суспензия клеток альвеолярного рака печени РС – 1 (холангиокарциномы), полученная из банка опухолевых штаммов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Раковые клетки имплантировали крысам подкожно в область лопатки, по 0.5 мл 25% опухолевой взвеси в растворе Хэнкса.

Перед началом экспериментов животных анестезировали с помощью 0.5 мг/кг препарата «Золетил 50» (Virbac, Франция). На исследуемых участках кожи шерсть удалялась с помощью одноразовой безопасной бритвы.

Животные были разделены на три группы:

I группа (3 крысы) подвергалась ФДТ;

II группа (2 крысы) подвергалась ФТТ;

III группа (5 крыс) подвергалась комбинированной ФТТ/ФДТ.

В качестве ТС для проведения ФТТ использовались ЗНС, синтезированные в лаборатории нанобиотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. Для предотвращения агрегации частицы функционализировались тиолированным полиэтиленгликолем (молекулярная масса 5000 Да, Nektar, США). Геометрические размеры ЗНС (длина 41 ± 8 нм и диаметр 10 ± 2 нм) определялись по трансмиссионным электронно-микроскопическим изображениям, полученным с помощью электронного микроскопа Libra-120 (CarlZeiss, Germany). Максимум поглощения суспензии наблюдался в области 810 нм (рисунок 1а).

В качестве ФС для проведения ФДТ использовался фотодинамический краситель ИЗ. Химическая формула $C_{43}H_{47}N_2O_6S_2Na$. Концентрация ИЗ в полиэтиленгликоле (ПЭГ-300) составляла 1 мг/мл. Максимум поглощения раствора наблюдался на длине волны 789 нм (рисунок 1б).

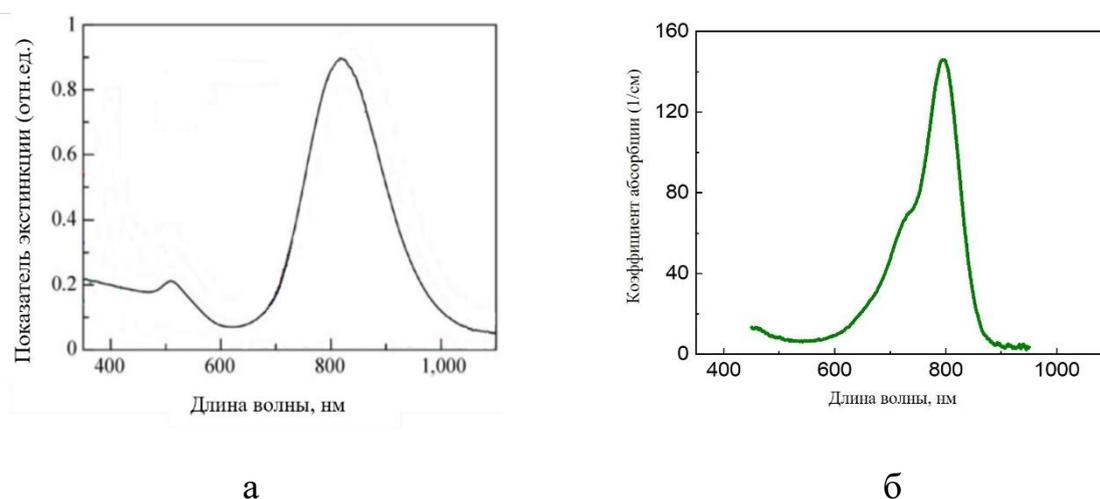


Рисунок 1 – Спектры экстинкции суспензии ЗНС в воде (а) и коэффициента поглощения раствора ИЗ в ПЭГ-300 (б).

Для проведения всех экспериментов по изучению ФДТ с использованием ИЗ и ФТТ с использованием ЗНС была собрана специализированная экспериментальная установка (рисунок 2).



Рисунок 2 – Схема экспериментальной установки. 1 – тепловизор, 2 – спектрометр, 3 – столик для крепления крысы, 4 – персональный компьютер, 5 – лазер.

Для нахождения индекса эритемы использовалась формула:

$$E = 100[OD_{545} + 1.5(OD_{560} + OD_{575}) - 2.0(OD_{510} + OD_{610})] \quad (1)$$

Оптическая плотность находилась по формуле [1]:

$$OD(\lambda) = \lg\left(\frac{1}{R_d(\lambda)}\right), \quad (2)$$

где, $R_d(\lambda)$ – спектр диффузного отражения кожи

Полученные результаты усреднялись по группам. Стандартное отклонение рассчитывалось по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - M)^2}{n-1}}, \quad (3)$$

где, x_i – каждое наблюдаемое значение;

M – среднее арифметическое;

n – объем выборки.

Раздел 2.2 содержит информацию о полученных результатах и их обсуждении

На рисунке 3 показан результат мониторинга температуры на поверхности кожи при проведении ФДТ в I группе. Хорошо видно, что

температура нагрева достигает в среднем 38°C. Данная температура не приводит к коагуляции белка.

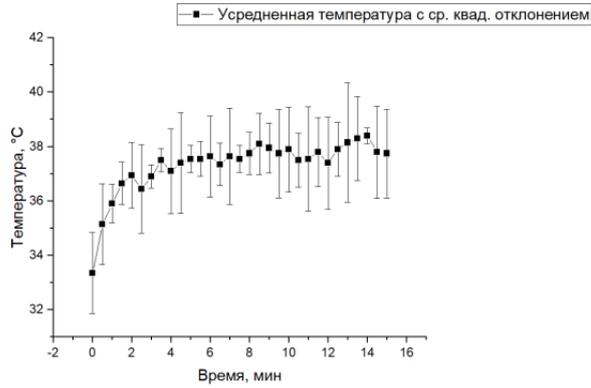
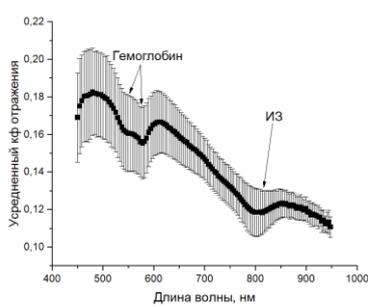
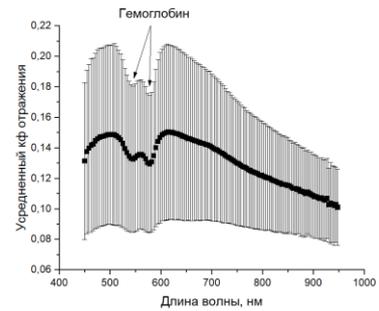


Рисунок 3 – Усреднённая зависимость температуры от времени для группы I.

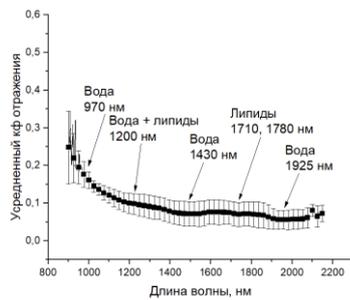
На рисунке 4 представлены усреднённые спектры диффузного отражения и оптической плотности после инъекции в опухоль ФС и после проведения ФДТ.



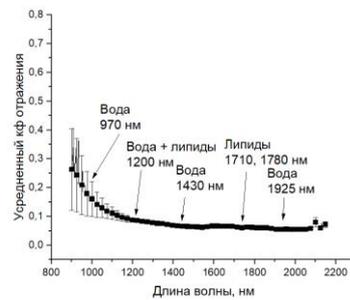
а)



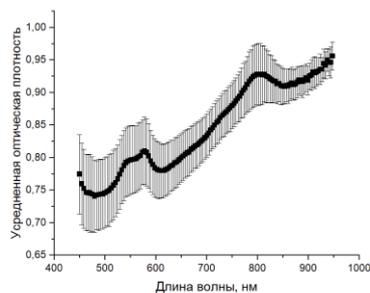
б)



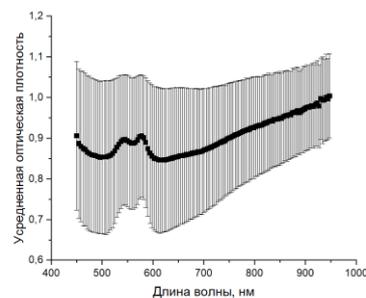
в)



г)



д)



е)

Рисунок 4 – Спектры диффузного отражения в области модельной опухоли (а,б,в,г) и рассчитанные спектры оптической плотности (д,е) в группе I. а, в, д– до облучения, б, г, е– после облучения

На рисунке 5 показан результат мониторинга температуры на поверхности кожи при проведении ФТТ в II группе. Хорошо видно, что температура нагрева достигает в среднем 68°C . Данная температура приводит к коагуляции белка.

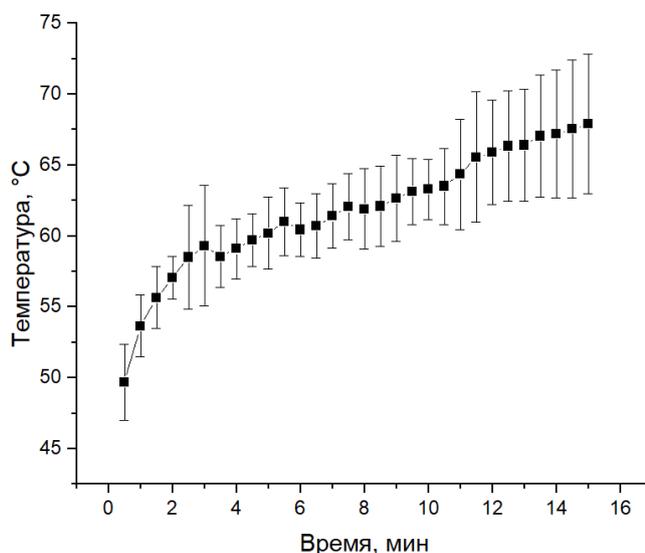
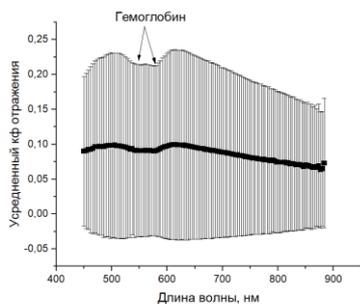
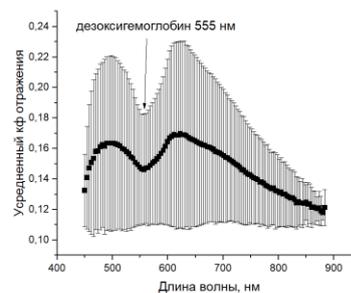


Рисунок 5 – Усреднённая зависимость температуры от времени для группы II.

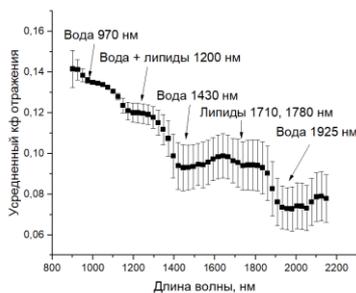
На рисунке 6 представлены усреднённые спектры диффузного отражения и оптической плотности после инъекции в опухоль ЗНС и после проведения ФТТ.



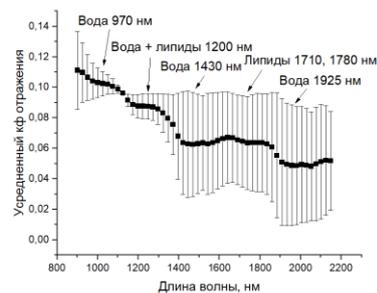
а)



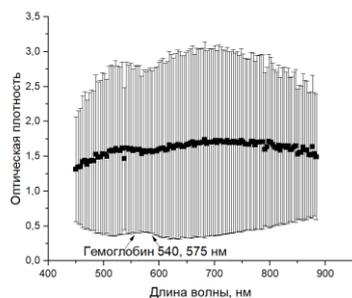
б)



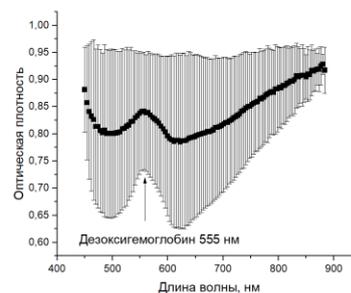
в)



г)



д)



е)

Рисунок 7 – Спектры диффузного отражения над опухолью (а, б, в, г) и оптическая плотность (д, е) в группе II. а, в, д – до облучения, б, г, е – после облучения

На рисунке 8 показан результат мониторинга температуры на поверхности кожи при проведении ФДТ/ФТТ в III группе. Хорошо видно, что на рисунке температура нагрева достигает в среднем 56°C. Данная температура приводит к коагуляции белка.

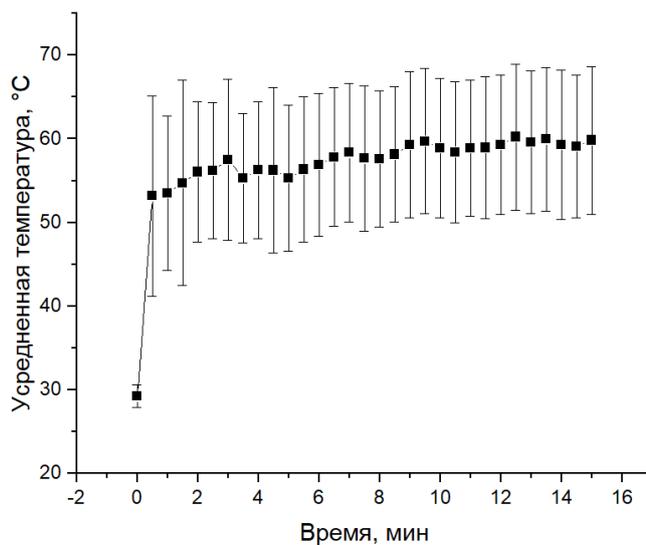
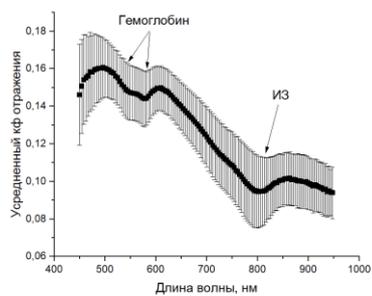
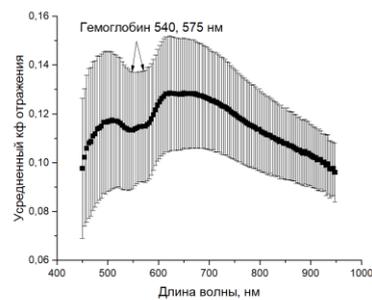


Рисунок 8 – Усреднённая зависимость температуры от времени для группы III.

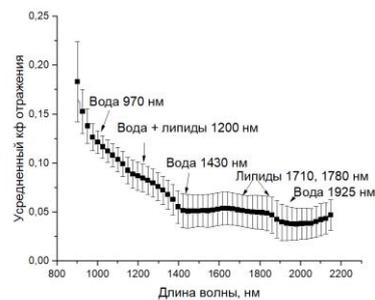
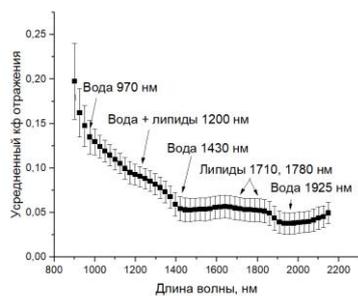
На рисунке 9 представлены усреднённые спектры диффузного отражения и оптической плотности после инъекции в опухоль ИЗ и ЗНС и после проведения ФДТ/ФТТ.



а)



б)



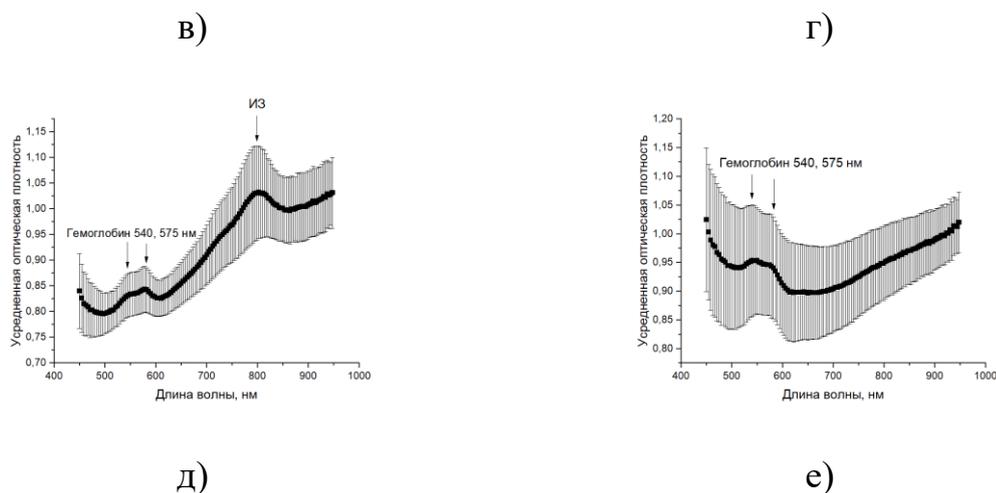


Рисунок 9 – Спектры диффузного отражения над опухолью (а, б, в, г) и оптическая плотность (д, е) в группе III. а, в, д – до облучения, б, г, е – после облучения

Индекс эритемы рассчитанный по формуле 1 может помочь оценить токсичность ФДТ, измеряя степень покраснения кожи, вызванную побочными эффектами лечения:

Таблица 1. Полученные индексы эритемы после расчет по формуле 1 для I группы.

Номер крысы	До	После
1	11,91	20,5
2	19,63	31,38

Продолжение таблицы 1.

3	11,99	2,057
---	-------	-------

Таблица 2. Полученные индексы эритемы после расчет по формуле 1 для II группы.

Номер крысы	До	После
1	14,86	26,804
2	4,54	14,933

Таблица 3. Полученные индексы эритемы после расчет по формуле 1 для III группы.

Номер крысы	До	После
1	11,913	20,943
2	5,186	8,659
3	14,57	5,31
4	10,53	15,75
5	12,25	5,36

В исследовании ИЗ продемонстрировал отличные противоопухолевые эффекты как *in vitro*, так и *in vivo*. Эти результаты свидетельствуют о том, что комбинированная ФДТ и ФТТ после однократного облучения инфракрасным лазером ответственна за повышение терапевтической эффективности ИЗ. Таким образом, мы можем сделать вывод, что дальнейшее развитие этой стратегии комбинированной терапии открывает новые возможности для лечения рака [2].

Заключение

Проведенные исследования показали, что комбинированное лечение ФДТ+ФТТ (ФДТ + ФТТ) демонстрирует ряд преимуществ по сравнению с отдельными методами.

Комбинированное применение ФДТ и ФТТ с использованием одного инфракрасного лазера (808 нм) становится возможным благодаря схожести спектров поглощения фотосенсибилизатора и термосенсибилизатора, имеющих максимумы в диапазоне 800–820 нм. Это является преимуществом предлагаемого подхода.

Анализ спектров диффузного отражения, полученных до и после облучения, свидетельствует о возникновении эритемы под действием фотодинамического эффекта. Эритема связана с развитием воспалительной реакции на воздействие, но гемоглобин при этом сохраняет свою оксигенированную форму.

Изменение формы спектра гемоглобина и уменьшение амплитуды полос поглощения воды при ФТТ и ФДТ/ФТТ связано с воздействием повышенной температуры.

Дальнейшим направлением исследований может стать разработка многофункциональных нанокompозитов, обладающих свойствами направленной доставки действующих агентов в опухоль, на основе ЗНС и ИЗ для комбинированной ФДТ/ФТТ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Синичкин Ю. П., Долотов Л. Е., Зимняков Д. А. Специальный практикум по оптической биофизике //vivo отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека//Учеб. пособие для студентов вузов–Саратов: Изд-во Саратов. ун-та. – 2003.
2. Бучарская А.Б. и др. Комбинированная фотодинамическая и плазмонная фототермическая терапия в модели крыс с перевитыми опухолями// Биофизика – 2024. – Т. 69. - № 3. - С. 1–8.

