

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

Кафедра оптики и биофотоники

**Исследование влияния фотодинамической и фототермической терапии
подкожных модельных опухолей на спектры диффузного отражения
кожи *in vivo***

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки _____ 4 _____ курса _____ 4023 группы _____

Направления _____ 03.03.02 «Физика» _____

Института физики

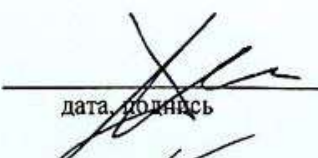
наименование факультета, института, колледжа

Дипломатовой Елизаветы Михайловны

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель
к.ф.-м.н., доцент
должность, уч. степень, уч. звание

Заведующий кафедрой
д.ф.-м.н., профессор
должность, уч. степень, уч. звание



дата, подпись

В.Д. Генин

инициалы, фамилия



дата, подпись

В.В. Тучин

инициалы, фамилия

Саратов 2025 год

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы всё большее внимание уделяется разработке новых высокотехнологичных и малотравматичных методов лечения злокачественных опухолей. Среди них особую значимость приобретают фотодинамическая (ФДТ) и фототермическая (ФТТ) терапии, основанные на использовании светового излучения для избирательного разрушения опухолевых клеток. Особую перспективу представляет их комбинированное применение с использованием наноматериалов, в частности — золотых наностержней.

Актуальность исследования комбинированной двухволновой ФДТ+ФТТ модельных опухолей с использованием золотых наностержней обусловлена необходимостью разработки новых подходов к лечению злокачественных опухолей, которые были бы менее инвазивными и обладали бы большей избирательностью по сравнению с традиционными методами. Кроме того, комбинированная терапия может обеспечить более высокую эффективность лечения за счет сочетания механизмов гибели опухолевых клеток, обеспечиваемых ФДТ и ФТТ.

Цель работы: разработка и экспериментальная реализация комбинированной двухволновой ФДТ+ФТТ модельных опухолей и оценка состояния кожи над опухолью после терапии.

Задачи:

1. Изучение литературы, посвящённой методам фототерапии и оптическому просветлению биотканей;
2. Освоение методов проведения фототерапии подкожной модельной холангиокарциномы в экспериментах на крысах;
3. Измерение температуры нагрева поверхности кожи при ФДТ и ФТТ;
4. Регистрация спектров диффузного отражения кожи над опухолью на разных этапах терапии;
5. Анализ полученных результатов.

Материалы исследования. Эксперименты проводились на лабораторных крысах с подкожно привитой холангиокарциномой. В качестве фотосенсибилизатора использовался препарат «Фотосенс», в качестве термосенсибилизатора — золотые наностержни. Для облучения опухолей использовалось лазерное излучение 662 и 808 нм.

Структура работы. Работа состоит из введения, двух глав, заключения и списка литературы.

Глава 1 содержит обзор литературы о технологиях ФДТ, ФТТ и ФДТ+ФТТ.

Глава 2 посвящена описанию экспериментальной части, методам, материалам, а также обсуждению полученных результатов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе представлены современные представления о механизмах фотодинамической и фототермической терапии, их преимущества и ограничения, а также возможности использования наночастиц для повышения эффективности лечения. Особое внимание уделено свойствам золотых наностержней и их применению в комбинированной терапии. Во второй главе подробно описаны методы эксперимента, включая модель опухоли у крыс, выбор фотосенсибилизатора и наночастиц, условия облучения и используемое оборудование.

Методы и материалы. В экспериментах использовались 6 белых лабораторных крыс-самцов. Животные были разделены на три группы по две крысы в каждой.

Для получения модельных опухолей крысам подкожно вводилась суспензия клеток альвеолярного рака печени РС-1 (холангиокарциномы).

Работа включала три серии экспериментов, каждая из которых проводилась на одной из групп животных:

1. ФДТ с использованием Фотосенса;

2. ФТТ с использованием золотых наностержней;
3. Комбинированная двухволновая ФДТ+ФТТ.

Перед началом экспериментов животных анестезировали, на исследуемых участках кожи шерсть удалялась с помощью одноразовой безопасной бритвы. Далее в опухоль вводились 1 мл суспензии ЗНС с концентрацией 400 мкг/мл (для проведения ФТТ) или 0.4-0.45 мл раствора Фотосенса с концентрацией 2 мг/мл физраствора (для проведения ФДТ). В случае комбинированной двухволновой терапии ФДТ+ФТТ последовательно вводились и суспензия ЗНС, и раствор Фотосенса.

В работе использовалась экспериментальная установка на основе лазера с длиной волны излучения 808 нм и плотностью мощности (в случае применения ФТТ), а также установка на основе лазера с длиной волны излучения 662 нм (в случае применения ФДТ). В случае комбинированной двухволновой терапии ФДТ+ФТТ применялись оба лазера. Крыса закреплялась на специальном столике. Облучение продолжалось в течение 15 мин (и для первого, и для второго лазера соответственно), при этом на поверхности кожи плотность мощности излучения лазера с длиной волны 808 нм составляла 2.3 Вт/см², а лазера с длиной волны 660 нм – 0.5 Вт/см².

Измерения включали:

- температурный контроль с помощью ИК-визуализатора;
- регистрацию спектров диффузного отражения с помощью спектрометров в диапазонах 400-1000 и 900-2150 нм.

На основании спектров диффузного отражения были вычислены значения эффективной оптической плотности:

$$OD = -\lg R_d,$$

где OD – оптическая плотность, R_d – диффузное отражение.

Для анализа полученных данных, исходя из значений оптической плотности были вычислены индексы эритемы, содержания гемоглобина и содержания воды для каждого из этапов экспериментов.

Индекс эритемы вычислялся по формуле из работы:

$$E = 100[OD_{560} + 1.5 \cdot (OD_{545} + OD_{575}) - 2 \cdot (OD_{510} + OD_{610})],$$

где E – индекс эритемы, $OD_{\lambda} = -\lg(R_{\lambda})$ – эффективная оптическая плотность на длине волны λ .

Индекс содержания гемоглобина вычислялся по формуле из работы:

$$H = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25},$$

где H – индекс содержания гемоглобина.

Индекс содержания воды вычислялся по формуле из работы:

$$W = OD_{1450} - OD_{1100},$$

где W – индекс содержания воды.

Основные результаты. При ФДТ температура кожи над опухолью практически не изменялась, подтверждая, что эффект был фотохимическим.

При ФТТ наблюдалось значительное повышение температуры до 53-57°C (см. рисунок 1), что указывает на успешное возбуждение плазмонного резонанса наностержней под действием лазерного излучения.

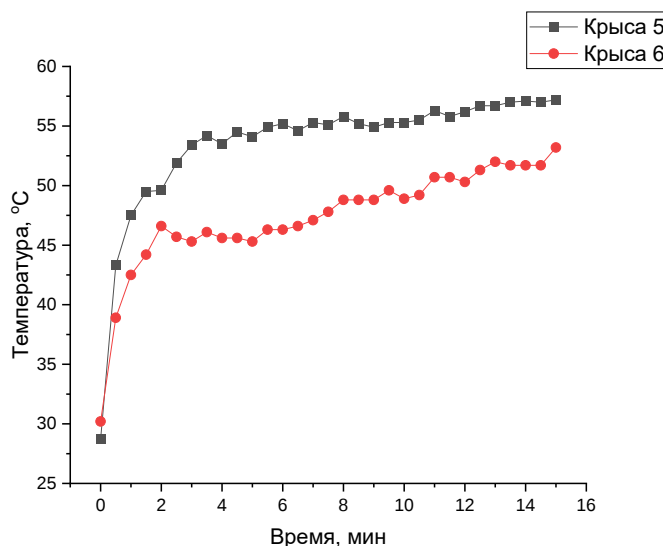
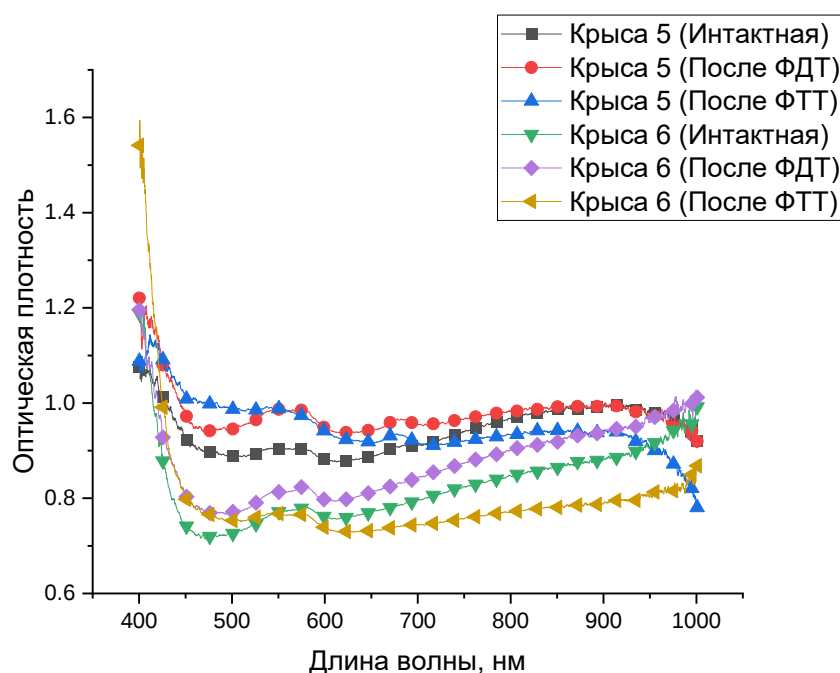


Рисунок 1. Зависимость температуры кожи крысы над опухолью в процессе этапа ФТТ комбинированной терапии ФДТ+ФТТ от времени нагрева.

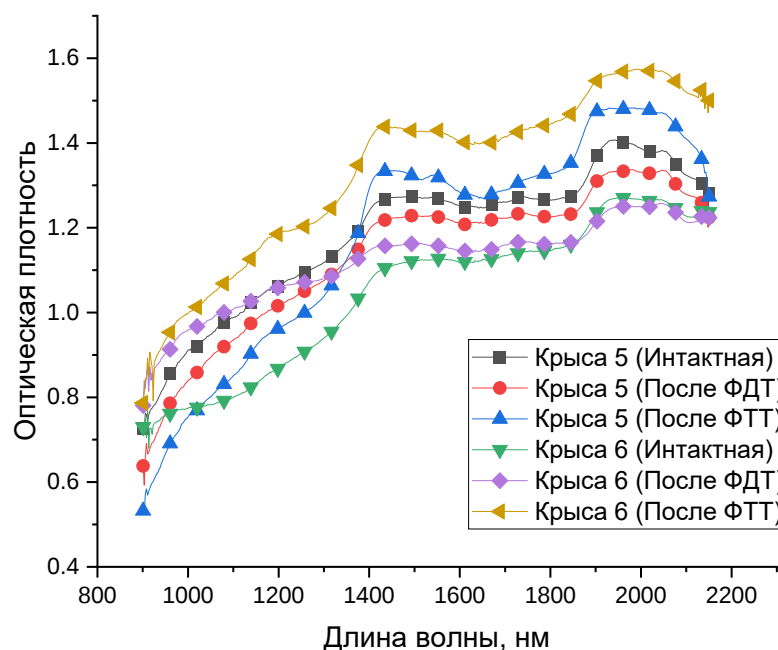
Анализ спектров оптической плотности показал деградацию фотосенсибилизатора после облучения в рамках этапа ФДТ, а также наличие признаков гипоксии, сосудистой деструкции и отёка после этапа ФТТ комбинированной терапии ФДТ+ФТТ (см. рисунок 2).

На графиках рисунка 2 (а), соответствующих этапам «После ФТТ», в случаях обеих крыс присутствует один сглаженный пик поглощения дезоксигемоглобина, в то время как для предшествующих этапов характерно наличие двух пиков поглощения, соответствующих оксигемоглобину (540 нм (Q-полоса альфа) и 575 нм (Q-полоса бета)). Это может указывать на вызываемую высокими температурами гипоксию, обусловленную, вероятно, ухудшением кровотока внутри опухоли.

На рисунке 2 (б) наиболее ярко выраженные полосы поглощения воды (1450 и 1930 нм) соответствуют этапам «После ФТТ», что, может свидетельствовать об образовании отёка, вызванного высокой температурой нагрева.



а



б

Рисунок 2. Вычисленные спектры коэффициента оптической плотности в видимом (а) и ближнем инфракрасном (б) спектральных диапазонах до всех процедур и после каждого из этапов комбинированной терапии ФДТ+ФТТ

Индексы, полученные на основании спектров оптической плотности (см. таблицу 1), подтвердили различия между методами: процедура ФДТ не влияет на состояние кожи сразу после облучения, поскольку вычисленные индексы меняются незначительно. ФТТ же сопровождается повышением значения индекса содержания воды, что подтверждает наличие отека, а появление эритемы совпадает с ростом содержания гемоглобина в тканях кожи над опухолью.

Таблица 1. Вычисленные на основании значений оптической плотности индексы эритемы, содержания гемоглобина и содержания воды.

Вид терапии	Этап эксперимента	Индекс эритемы	Индекс содержания гемоглобина	Индекс содержания воды
ФДТ	После введения ФС	10.4±4.1	0.00050±0.00027	0.17±0.04
	После ФДТ	10.5±6.5	0.00044±0.00024	0.21±0.11
ФТТ	Интактная	9.4±2.9	0.00066±0.00023	0.09±0.02
	После ФТТ	13.0±11.1	0.00083±0.00094	0.22±0.24
ФДТ+ФТТ	Интактная	10.1±2.4	0.00061±0.00008	0.30±0.02
	После ФДТ	14.7±1.7	0.00090±0.00002	0.22±0.09
	После ФТТ	10.0±0.4	0.00057±0.00001	0.41±0.09

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках данной выпускной квалификационной работы была разработана и реализована двухволновая терапия опухолей ФДТ+ФТТ с использованием золотых наностержней и препарата «Фотосенса».

В ходе исследования был выполнен ряд задач, а именно:

1. Изучена литература, посвящённая методам фототерапии и оптическому просветлению биотканей, в том числе статьи, опубликованные в течение последних пяти лет;
2. На практике освоены методы проведения фототерапии подкожной модельной холангиокарциномы в экспериментах на крысах, а именно методы фотодинамической и фототермической терапии опухолей;
3. Измерены температурные профили поверхности кожи над опухолями при облучении опухолей лазерным излучением в рамках ФДТ и ФТТ;
4. Произведена регистрация спектров диффузного отражения кожи над опухолью на разных этапах ФДТ, ФТТ и комбинированной ФДТ+ФТТ;
5. Проведен анализ полученных результатов путем вычисления и сравнения индексов эритемы, содержания гемоглобина и содержания воды в коже над опухолью на разных этапах ФДТ, ФТТ и комбинированной ФДТ+ФТТ.

Из анализа полученных данных можно сделать вывод, что процедура ФДТ не влияет на состояние кожи сразу после облучения, поскольку вычисленные индексы меняются незначительно. ФТТ же сопровождается повышением значения индекса содержания воды, что подтверждает наличие отека, а появление эритемы совпадает с ростом содержания гемоглобина в тканях кожи над опухолью.

В ходе работы также было показано, что спектроскопия отражения и термоконтроль могут использоваться для мониторинга терапии в ходе лечения.

Практическая значимость работы заключается в доказательстве применимости разработанного комбинированного двухволнового подхода для оптимизации режимов фототерапии в онкологии, повышения селективности и контроля воздействия с использованием неинвазивных оптических методов.

