

ДОСЛІДЖЕННЯ ТА РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДІВ ПРОВЕДЕННЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

¹Павлов С.В., ¹Тужанський С.Є., ²Холін В.В., ²Чепурна О.М., ³Войцехович В.С.,
¹Камінський О.С., ¹Сахно А.М., ⁴Попов В.Д., ⁵Магдебурга С.О.,
⁶Штонь І.О., ⁶Гамалія М.Ф.

¹Вінницький національний технічний університет;
21021, м. Вінниця, Хмельницьке шосе, 95,

²ПМВП «Фотоніка Плюс»,
м. Черкаси, вул. Одеська, 8

³Інститут фізики НАН України, м. Київ, Україна,
03028 м. Київ, проспект Науки, 46

⁴Державний науково-дослідний інститут фізичної культури і спорту
03680 вул. Фізкультури 1, корп. 2, м. Київ - 150, Україна

⁵Вінницький обласний онкологічний диспансер;
21029, м. Вінниця, Хмельницьке шосе 84

⁶Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України,
03022, Київ-22, вул. Васильківська, 45,
тел.: +38(044)258-16-58, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua

Реферат. У роботі порівнюються класичний метод проведення фотодинамічної терапії шляхом безперервного опромінення пухлин та розроблений нами метод лазерного сканування. Новий метод полягає в опроміненні пухлин променем малої потужності та малого поперечного перерізу, який переміщується по обраній зоні з визначеною затримкою у кожній точці, причому повторне сканування зони починається з початкового положення. Розроблений варіант фотодинамічної терапії із використанням скануючого лазерного пристрою для опромінення пухлин можна вважати перспективним, так як навіть за дуже низької дози опромінення скануючий режим забезпечує пригнічення росту пухлин.

Ключові слова: фотодинамічна терапія, прилад для опромінення пухлин, сканування, лазерне випромінювання.

Вступ

Фотодинамічна терапія – один із методів малоінвазивного лікування злоякісних пухлин, що мають селективну дію на патологічно змінені тканини. Механізм фотодинамічної терапії (ФДТ) полягає в наступному: після введення фоточутливої речовини – фотосенсибілізатора (ФС), який вибірково накопичується в пухлинних тканинах, відбувається їх опромінення оптичним (здебільшого лазерним) випромінюванням з довжиною хвилі, що відповідає максимальному піку поглинання ФС [8]. В процесі опромінення молекули ФС переходять у збуджений триплетний стан (перший рівень збудження) і вступають в фотохімічні реакції, або випромінюють кванти флуоресценції. Можливі два типи фотохімічних реакцій.

При першому типі реакцій молекули фотосенсибілізатора в триплетному стані взаємодіють безпосередньо з молекулами біологічного субстрату, утворені в результаті цього вільні радикали призводять до апоптозу чи некрозу клітин. Основними вважаються реакції другого типу, в яких енергія молекули збудженого фотосенсибілізатора передається молекулі кисню. Утворений синглетний кисень є цитотоксичним для живих клітин, завдяки своїй властивості сильного окислювача біомолекул.

Успішне проведення ФДТ залежить від певних умов, серед яких:

- достатня концентрація ФС в пухлині;
- оптичне опромінення із певною довжиною хвилі (відповідно максимуму поглинання ФС) та

з достатньою щільністю потужності випромінювання, що поглинається пухлиною [5];

– достатня кількість молекулярного кисню в зоні опромінення [6].

Класична методика проведення ФДТ складається з декількох етапів:

1) введення (як правило внутрішньовенно) розчину ФС;

2) вибіркове накопичення ФС в пухлинах протягом певного періоду часу;

3) опромінення ураженої пухлиною ділянки лазерним випромінюванням з довжиною хвилі, що відповідає максимуму поглинання ФС;

4) некроз злоякісної пухлини з повним заміщенням її сполучною тканиною [4, 7].

Таблиця 1 – Поверхнева щільність лазерної потужності [1]

Радіус лазерної плями, см	0,05	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0
Поверхнева густина потужності, мВт/см ²	127,38	1,27	0,32	0,079	0,035	0,02

Під впливом лазерного випромінювання в результаті фотохімічної реакції ФС з молекулами кисню утворюється високотоксичний для ракових клітин синглетний кисень. Загальна доза опромінення під час процедури ФДТ орієнтовно становить 300-600 Дж/см². Обрана ділянка опромінюється в неперервному режимі, розташування лазерного променя не змінюється протягом всього часу проведення процедури. Лікування проводять пролонговано протягом 5-10 сеансів, з інтервалом між сеансами 24 години.

Для аналізу ефективності лікування необхідно враховувати такі параметри лазерного випромінювання, як поверхнева щільність потужності і енергетична доза.

Поверхнева щільність потужності випромінювання PD_s обчислюється за формулою [1, 2]:

$$PD_s = \frac{P_{вих}}{\pi r^2}, \quad (1)$$

де $P_{вих}$ – потужність випромінювання, що потрапляє на біологічну тканину в мВт, r – радіус лазерної «плями» в см.

В таблиці 1 приведені значення поверхневої густини потужності випромінювання PD_s пучка лазерного випромінювання з різним діаметром при потужності 1 Вт.

Енергетична доза опромінення [2]:

$$E = P \cdot t \quad (2)$$

Відповідний час опромінення ураженої ділянки:

$$t = \frac{E}{PD_s \cdot S} \quad (3)$$

Щільність потужності, яка потрапляє в зону пухлини повинна відповідати загальним вимогам щодо ефективного проведення ФДТ [7]. Однак, у разі опромінення пухлин великого розміру виникає необхідність збільшення потужності лазера. Із збільшенням потужності в свою чергу зростають енергетичні витрати та вартість приладу.

Слід врахувати, що після початку опромінення концентрація в пухлині молекулярного кисню в ході його взаємодії зі збудженим ФС та утворення синглетного кисню різко падає. Відновлення необхідної концентрації молекулярного кисню (і ФС) безпосередньо залежить від кровообігу та потребує певного періоду часу, протягом якого подальше опромінення пухлини втрачає сенс і призводить лише до недоцільного вигорання ФС без досягнення потрібного ефекту.

Основна частина

Запропонований нами метод лазерного сканування полягає в опроміненні пухлини лазерним променем малої потужності та малого поперечного перерізу, який переміщується покроково по обраній зоні з визначеною затримкою у кожній точці, причому повторне сканування зони від-

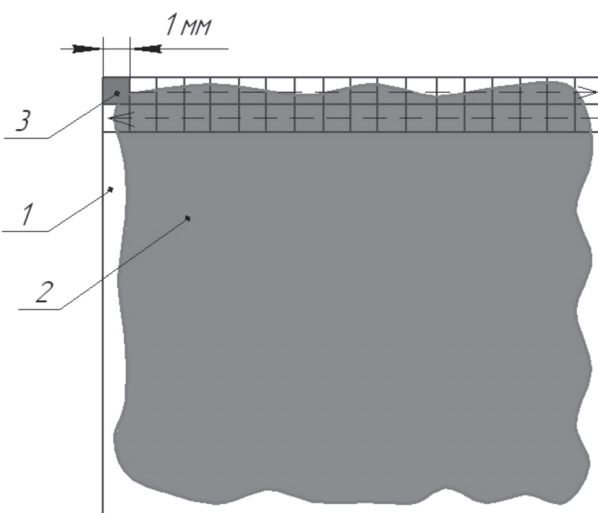


Рис. 1. Схема опромінення пухлини методом лазерного сканування

бувається із початкового положення [3]. Метод сканування пухлини лазерним випромінюванням реалізується наступним чином (рис. 1). Після накопичення ФС в пухлині визначають необхідну зону опромінення (1) таким чином, щоб вона була

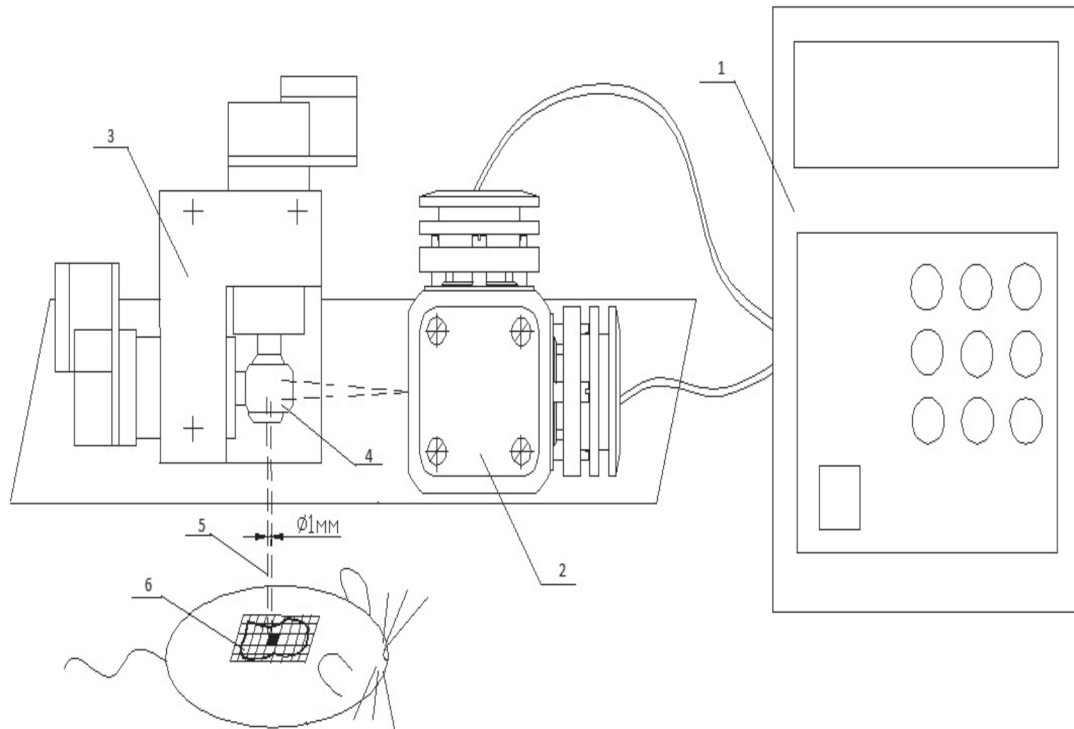


Рис. 2. Структурна схема проведення експерименту із використанням скануючого лазерного пристрою

більшою за розміри пухлини (2). Сфокусований лазерний промінь покроково проходить вибрану зону (1), зупиняючись в кожній точці опромінення (3) на заданий період часу.

Промінь переміщується в наступну точку з невеликим перекриттям, щоб запобігти виникненню неопромінених зон. Після проходження всіх точок пухлини промінь повертається в початкову позицію і відбувається повторне покрокове про-

Отже, опромінення пухлин за допомогою даного методу забезпечує:

- зменшення дози опромінення без зменшення робочої щільності потужності;
- зниження потужності лазерного випромінювання;
- економії ФС, витрати якого узгоджені з наявністю в тканині молекулярного кисню.

Нами було проведено ряд експериментів для оцінки і порівняння антибластомної ефективності фотодинамічної терапії при опроміненні пухлини класичним методом та за допомогою методу лазерного сканування. Для реалізації класичного методу ФДТ пухлини нами був використаний лазерний прилад «Ліка-хірург М» виробництва ПМВП «Фотоніка Плюс».

Сканування пухлини здійснюється пристроєм, який складається із блоку керування (1), лазерного модуля (2) та набору дефлекторів (3), як показано на рис. 2.

Принцип дії пристрою базується на генерації випромінювання напівпровідниковими лазерами лазерного модуля (2), після цього промінь спрямовується на скельця дефлекторів (4), які забезпечують його переміщення по зоні опромінення. Сфокусований лазерний промінь (5), діаметром близько 1 мм, покроково проходить всю зону (6), зупиняючись в кожній точці опромінення заданий період часу. За допомогою блоку керування (1) вибираються необхідні параметри

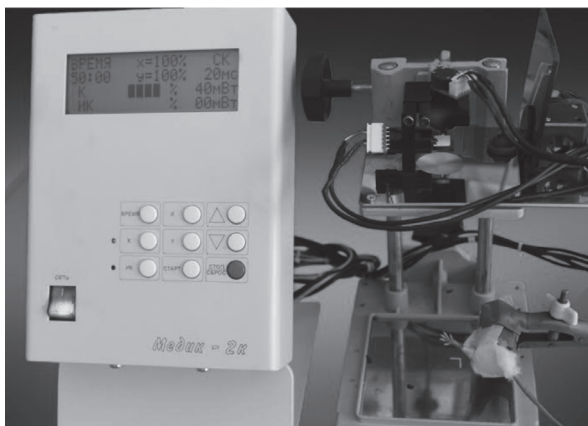


Рис. 3. Приклад опромінення біологічного об'єкту за допомогою скануючого лазерного пристрою

ходження зони, що опромінюється. Повторне її проходження, починаючи з вихідних точок, розпочинається тоді, коли концентрація молекулярного кисню і ФС в них вже встигає відновитись завдяки кровообігу і дифузії із суміжних ділянок тканини.

сканування: розмір зони опромінення, потужність лазерного випромінювання (від 5 до 50 мВт) та тривалість затримки лазера в одній точці (від 5 до 20 мс). Щільність потужності, що створюється на пухлині за даної вихідної потужності, значно вища порівняно з класичною технікою опромінення, де діаметр променя становить близько 1 см. Розмір зони опромінення повинен бути більшим за розміри пухлини та обирається залежно від її розміру – від 0,2 до 2 см.

На рис. 3 зображено приклад опромінення скануючим лазерним пристроєм біологічного об'єкту. В якості модельного об'єкту в експериментах використовували мишей лінії C57Bl/6 з прищепленою у подушечку задньої кінцівки карциномою легень Льюїс. За годину до лазерного опромінення мишам вводили фотосенсибілізатор «Фотолон» (хлорин е6) в дозі 10 мг/кг. Для отримання порівняльних результатів, пухлини опромінювали паралельно у скануючому або безперервному режимах.

Обидва режими були зрівняні за довжиною хвилі ($\lambda=660$ нм), щільністю потужності ($P_{щ}=50$ мВт/см²) та часом опромінення ($t=50$ хв). Для скануючого режиму була визначена зона опромінення (20x20 мм) та час затримки лазерного променя в кожній точці (20 мсек). Діаметр скануючого променя складав 1 мм. Таким чином, доза опромінення, отримана пухлиною за безперервного режиму, становила 150 Дж/см² та перевищувала таку для скануючого режиму, при якому вона складала 0,375 Дж/см², в 400 разів.

Як видно з рис. 4, обидва апробовані режими опромінення (скануючий та безперервний) призводили до певного інгібування росту експериментальних пухлин. Так, вже на сьому добу після терапії розмір всіх опромінених пухлин починав статистично достовірно відрізнятися від контрольних. На 19-ту добу гальмування росту пухлин у групі, опроміненій в скануючому режимі, скла-

дало 43%, а для безперервного режиму цей показник дорівнював 63%. Отже, отримані результати не відрізняються принципово, хоча доза опромі-

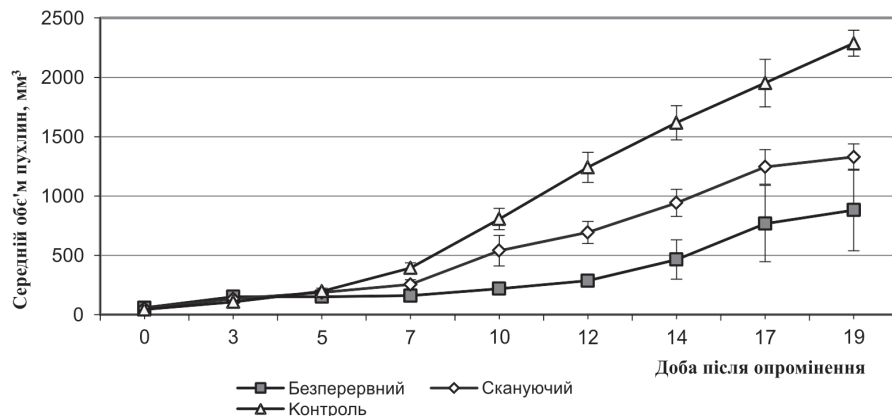


Рис.4. Динаміка росту карциноми легень Льюїс після фотодинамічної терапії за різних режимів

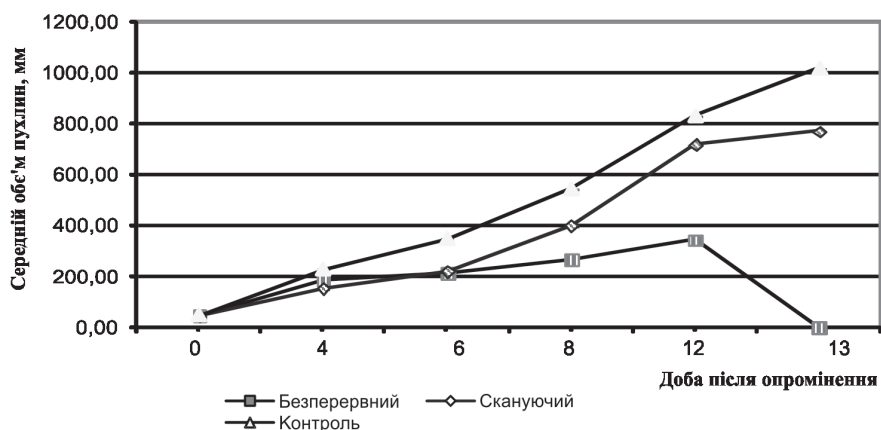


Рис.5. Динаміка росту карциноми легень Льюїс після фотодинамічної терапії за різних режимів

нення за скануючого режиму була на два з лишнім порядки меншою.

Також було проведено ряд експериментів з різними режимами роботи лазерного скануючого пристрою для досягнення кращого фотодинамічного ефекту. Експерименти з різним часом затримки лазерного променя в точці (5, 20 мс) підтвердили те, що за різних режимів роботи лазерного скануючого пристрою рівень гальмування росту пухлини залишався стабільно високим, порівняно з контрольною групою (рис. 5). Однак, починаючи з 12 доби після опромінення група мишей, що опромінювалась у безперервному режимі різко скоротилась, що не дозволило продовжити подальші спостереження за результатами експерименту.

Висновки

Запропонований спосіб проведення ФДТ з опроміненням пухлини шляхом лазерного сканування, коли лазерний промінь малого поперечного пере-

різу переміщується по вибраній області із затримкою у кожній точці певний період часу, дозволяє знизити потужність лазерного випромінювання, яка необхідна для проведення процедури, оптимізувати процес використання ФС та молекулярного кисню і в результаті підвищити ефективність фотодинамічної терапії онкологічних хворих

Експериментальна перевірка методу на перещепленій пухлині мишей показала, що за ефективністю гальмування пухлинного росту він поступався звичайному безперервному методу

опромінення лише на 20%, тоді як застосована доза опромінення була меншою в 400 разів.

Отже, можна зробити висновок про перспективність застосування розробленого варіанту фотодинамічної терапії з використанням скануючого лазерного пристрою для опромінення пухлин, так як навіть за дуже низької дози опромінення скануючий режим забезпечує пригнічення росту пухлин. Даний метод, без сумніву, заслуговує на подальше вивчення з метою його вдосконалення та підвищення ефективності.

Література

1. Біомедичні оптико-електронні інформаційні системи і апарати. Ч. 3. Лазерні біомедичні системи і апарати / В.П. Кожем'яко, З.Ю. Готра, С.В. Павлов та ін. – Вінниця.: ВДТУ, 2000. – 143 с.
2. Линьков К.Г. Применение лазерной и спектральной аппаратуры для фотодинамической терапии и флюоресцентной диагностики с препаратами. Фотосенс и Аласенс / К.Г.Линьков, А.А. Катышев, С.С.Харнас //Лазерная медицина. – 2002. – Т.6, №1. – С. 48-52.
3. Пат. 89226 Україна, МПК7 А61N5/06. Спосіб опромінення пухлини методом лазерного сканування в фотодинамічній терапії / Холін В.В, Попов В.Д., Войцехович В.С., Гамалія М.Ф., Чепурна О.М.; заявник та патентовласник Холін В.В. – № U 2013 13795; заявл. 27.11.2013; опубл. 10.04.2014, Бюл. № 7.
4. Патент RU 2169015, Спосіб фотодинамической терапии злокачественных опухолей / Харнас С.С., Торши-
- на Н.Л., Лужков Ю.М., Ворожцов Г.Н., Посыпанова А.Н. Волкова А.И.//МПК А 61 N 5/06, публ. Бюл. 2001, № 17.
5. Патент RU 2438733 Спосіб фотодинамической терапии онкологических заболеваний / Иванов А.П., Ньунг Ч.Х., Тхань Н.К., Барун В.В.// МПК А61/Н06, публ.21.06.2010. – 4 с.
6. Allison R.R. Oncologic photodynamic therapy: clinical strategies that modulate mechanisms of action / R.R. Allison, K. Moghissi // Photodiagnosis Photodyn. Ther. – 2006. – Vol. 10, № 4. – P. 331-341.
7. Pass H.I. Photodynamic therapy in oncology: mechanism and clinical use. // J Natl. Cancer Inst. – 1993. – Vol.85, №6. – P. 443-456.
8. Yoon I. Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy / I. Yoon, J.Z. Li, Y.K. Shim // Clin Endosc. – 2013. – №46. – P.7-23.

ИССЛЕДОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ ПРОВЕДЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*Павлов С.В., Тужанский С.Е., Холин В.В., Чепурна О.Н., Войцехович В.С.,
Каминский А.С., Сахно А.М., Попов В.Д., Магдебурга С.А., Штонь И.О., Гамалея Н.Ф.*

Винницкий национальный технический университет

ЧМПП «Фотоника Плюс»

Институт физики НАН Украины

Государственный научно-исследовательский институт физической культуры и спорта

Винницкий областной онкологический диспансер

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии

им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины

тел.: +38(044)258-16-58, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua

Реферат. В работе сравниваются классический метод проведения фотодинамической терапии с непрерывным облучением опухолей и разработанный нами метод лазерного сканирования. Новый метод заключается в облучении опухолей лучом малой мощности и малого поперечного сечения, который перемещается по выбранной зоне с определенной задержкой в каждой точке, причем повторное сканирование зоны начинается с исходного положения. На основании проведенных экспериментов разработанный вариант фотодинамической терапии с использованием сканирующего лазера для облучения опухолей является перспективным, так как даже при очень низкой дозе облучения сканирующий режим обеспечивает подавление роста опухолей.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, прибор для облучения опухолей, сканирование, лазерное излучение.

**RESEARCH AND DEVELOPMENT OF NEW METHODS OF CARRYING OUT
PHOTODYNAMIC THERAPY WITH USING OF LASER RADIATION**

*Pavlov S.V., Tuzansky S.E., Holin V.V., Chepurna O.M., Voytsehovich V.S., Shton I.O.,
Kaminsky A.S., Sahnno A.M., Popov V.D., Magdebura S.A., Shton I.O., Gamaleya N.F.*

Vinnitsia National Technical University

PSME «Fotonika Plus», Cherkassy

Institute of Physics of NAS of Ukraine, Kyiv

State Scientific Research Institute of Physical Culture and Sports

Vinnytsia Regional Oncological Clinic

Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

tel.: +38(044)258-16-58, e-mail: gamaleia@onconet.kiev.ua

Abstract. *In work we compare the classical method of photodynamic therapy of tumors and our method of laser scanning tumors. The new method consists in laser scanning of a tumor by a beam of small cross section which moves on the chosen zone with a certain delay in each point is offered also, thus repeated scanning begins with the same output point. Experimental check of a method on the replaced tumor of mice showed that behind efficiency of braking of tumoral growth it concedes to a usual continuous method of radiation only for 20% whereas the applied dose of radiation was smaller by 400 times.*

Keywords: *photodynamic therapy, a device for irradiation of tumors, scanning, laser radiation.*