

УДК 612.135:615.831.7

ИЗУЧЕНИЕ ДОЗОЗАВИСИМОГО ВЛИЯНИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СОСУДИСТОГО РУСЛА

Ератова Л.В. (федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»)

Волков М.В. (федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО»)

Научный руководитель – к.т.н. Новикова И.Н.

(федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»)

Аннотация. Проведён ряд экспериментов, нацеленных на изучение дозозависимого влияния синглетной формы кислорода на изменение параметров сосудистого русла, запуск процессов вазоконстрикции и вазодилатации судов путём прямого возбуждения молекулы кислорода лазерным излучением на длине волны 1267 нм. Исследования, проведённые с помощью методов видеокапилляроскопии и лазерной спекл-контрастной визуализации, позволили установить связь между ответом со стороны сосудистого русла и дозой воздействия. Последующие исследования в данном направлении позволят внести вклад в формирование системы знаний о механизмах, активизирующихся при дозозависимой генерации синглетного кислорода, а также возможности применения данного подхода в терапии.

Введение. Кислород и его частично восстановленные химические продукты, известные как активные формы кислорода (АФК), играют важную регуляторную и сигнальную роль. Влияние АФК на организм неоднозначно: с одной стороны, генерация умеренных количеств АФК является совершенно необходимой частью физиологического состояния клеток, а с другой, АФК принимает участие во многих патологических процессах. В настоящий момент в связи с разнонаправленностью воздействия АФК изучение их роли в организме является актуальной проблемой. Главной целью, помимо накопления фундаментальных знаний об АФК, также является нахождение применения механизмов АФК и в терапии.

Синглетная форма кислорода является одной из АФК. На сегодняшний день известно, что данная форма кислорода в сосудистом русле может запускать процессы вазодилатации и вазоконстрикции, воздействуя как на клетки гладкой мускулатуры сосудов, так и на биологическую активность вазоактивных медиаторов. Выявлена важная роль синглетного кислорода в отключении сосудистого русла, питающего опухолевые ткани, при проведении фотодинамической терапии онкологических и неонкологических опухолевых заболеваний с применением фотосенсибилизаторов (ФС). Однако высокая токсичность вводимых ФС (осложнения и возможные побочные эффекты, воздействие на здоровые органы и ткани, длительность времени выведения из организма) не позволяет сделать выводы об исключительном воздействии синглетного кислорода на сосудистое русло и организм в целом. Кроме того, появившаяся возможность прямой оптической генерации синглетного кислорода с применением лазерного излучения определенных длин волн позволила актуализировать проблему изучения влияния синглетного кислорода, не опосредованного влиянием ФС, на состояние сосудистой сети, которая на настоящий момент остается нерешённой.

Основная часть. Для решения поставленной задачи, а именно, для изучения изменения параметров сосудистой сети под действием синглетного кислорода, не опосредованного влиянием ФС, были использованы методы видеокапилляроскопии и лазерной спекл-контрастной визуализации, преимущество которых заключается в неинвазивной оценке структуры сосудов и их наполненности кровью. Измерения осуществлялись с использованием установки, включающей светосильную оптическую систему с мощной подсистемой боковой подсветки на длинах волн 525 ± 30 нм и 660 ± 30 нм, установленной так, чтобы достигнуть максимальной равномерности освещения, и обеспечивающей максимальное

контрастирование движущихся эритроцитов. Для регистрации изображений применялась цветная КМОП камера с частотой кадров 100 кадров в секунду и размером кадра 1000×1000 пикселей. Общее увеличение системы имело кратность 3, размер поля зрения составил 2×2 мм.

Прямая оптическая генерация синглетного кислорода осуществлялась на длине волны 1267 нм с применением разработанного устройства. Выбор параметров лазерного излучения (мощность и время экспозиции) производился с учётом оптических свойств биологической ткани (кожи), а также её гемодинамических характеристик. Чтобы свести к минимуму нагрев области исследования, который может оказывать влияние на параметры кожного кровотока, оптимальная мощность лазерного излучения с учётом результатов моделирования распределения теплового поля в биологической ткани выбрана равной 50 мВт, а время воздействия соответствовало дозам 50, 75 и 100 Дж/см².

В качестве объекта исследования выбраны крысы линии Wistar (N=3) в возрасте старше 1 месяца весом 200-300 г с предварительно удалённым волосяным покровом в ягодичной и бедренной областях. Для уменьшения влияния смещения кожи съёмка велась через стеклянную пластину, слегка касающуюся кожи, что позволило снизить вероятность расфокусировки изображения и уменьшить локальные смещения в горизонтальной плоскости. Прозрачность кожи была увеличена за счёт нанесения вазелинового масла между кожей и стеклом. Во время эксперимента крысы были подключены к ингаляционной анестезии. В качестве фармакологического препарата отдано предпочтение изофлурану, достоинства которого заключаются в быстром наступлении общей анестезии, быстром выходе из неё и нетоксичности его продуктов. Кроме того, данный препарат вызывает наименьшую депрессию сердечно-сосудистой системы. Доза подбиралась с учётом возраста и веса животного.

Запись эксперимента проводилась непрерывно и включала три этапа: до воздействия в течение 1 минуты, во время облучения с учётом необходимой дозы, после - в течение 30 минут. Каждое животное подвергалось облучению при трёх разных дозах. Для компенсации возможного влияния анестезии на параметры кровотока воздействие выбранными дозами лазерного излучения осуществлялось в разном порядке, а также с перерывом в 5 суток между измерениями с учётом времени выведения препарата.

После обработки полученной последовательности видеок кадров, а именно: компенсации неравномерности чувствительности сенсора видеокамеры, контрастирования изображений, компенсации неравномерности поля освещения, полнокадрового и локального совмещения изображений капилляров, вычисления изображений кровотока, проводился анализ изменения капиллярной сети и её кровенаполнения до, во время и после воздействия. Установлено, что воздействие разными дозами лазерного излучения на длине волны 1267 нм приводит к разнонаправленности реакции со стороны сосудистого русла: усиление кровотока или наоборот его угнетение, сохранение данного ответа в течение 15-20 минут, с последующим частичным восстановлением к исходному состоянию к окончанию исследования.

Выводы. Полученные результаты неинвазивной оценки изменения сосудистого русла и его гемодинамических характеристик (кровенаполнения) позволяют сделать вывод о влиянии на данные параметры генерируемого под действием лазерного излучения синглетного кислорода и дозозависимости наблюдаемых ответов. В дальнейшем планируется расширить выборку посредством увеличения количества объектов исследования и выбранных доз воздействия.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-75-00086 (исследование на животных) и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук МК-398.2021.4 (разработка устройства для прямой оптической генерации синглетного кислорода).

Ератова Л.В. (автор)

Новикова И.Н. (научный руководитель)