

УДК 612.135:615.831.7

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПАРАМЕТРОВ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ГЕНЕРАЦИЮ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА И ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА

Ератова Л.В. (НТЦ биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева), **к.т.н. Маковик И.Н.** (НТЦ биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева), **к.т.н. Дрёмин В.В.** (НТЦ биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева)
Научный руководитель – к.т.н. Маковик И.Н.

Введение. Сегодня изучению влияния активных форм кислорода (АФК) и их роли в организме человека посвящён целый раздел современной биологии. К АФК относятся продукты частичного восстановления молекулярного кислорода: ионы, свободные радикалы и перекиси. Однако данное определение опускает ещё одну форму кислорода – синглетную. Синглетный кислород (СК), в отличие от других АФК, представляет собой иное энергетическое состояние молекулярного кислорода, являясь результатом внутреннего перераспределения электронов. Исключительный статус СК среди иных АФК и обуславливает повышенный интерес к его изучению.

Считается, что СК способен влиять на изменение сосудистого русла и реологические свойства крови, проявляющиеся в застое и экстравазации крови, окклюзии сосудов. В практической медицине на данных свойствах СК базируется метод фотодинамической терапии (ФДТ), применяемый для лечения онкологических заболеваний посредством отключения сосудистого русла, питающего опухоль. Однако возможное образование других АФК при ФДТ и токсичность фотосенсибилизаторов, применяемых для генерации СК, вынуждает прибегнуть к поиску новых способов индукции СК для исследования его специфического воздействия на сосудистое русло. Так, обнаруженные свойства СК могут лечь в основу новой стратегии лечения опухолевых, ревматологических и сосудистых заболеваний.

Ранее проведённые на лабораторных животных *in vivo* исследования [1] позволили сделать вывод, что прямая оптическая генерация СК на длине волны возбуждения триплетной формы кислорода 1267 нм приводит к снижению кровенаполнения ввиду констрикции сосудов. При проведении дальнейших исследований влияния лазерно-индуцированного СК на протекание физиологических процессов важной задачей является оценка эффективных доз и поиск оптимальных параметров возбуждения триплетного кислорода.

Основная часть. Целью данной работы явилось изучение способности ряда мощностей и экспозиций лазерного излучения на длине волны 1267 нм генерировать СК, выявление оптимальных параметров возбуждения триплетного кислорода, а также оценка влияния СК на изменение функционального состояния микроциркуляторного (МЦК) русла с учётом выбранных параметров.

Для исследования влияния мощности и экспозиции лазерного излучения длиной волны 1267 нм на генерацию СК были проведены измерения с применением селективного флуоресцентного зонда SOSG. В исследованиях использовался микроскоп Zeiss LSM 900 (Carl Zeiss AG, Германия) с объективом 10×. Для возбуждения флуоресценции зонда использовался лазер с длиной волны 488 нм и мощностью 0,1 % от максимальной. Подача лазерного излучения 1267 нм в ходе экспериментов осуществлялась с противоположной стороны от объектива микроскопа. Протокол включал этапы регистрации базового уровня сигнала (3 мин), уровня сигнала в процессе генерации СК лазерным излучением (длительность зависела от выбранной дозы – 50, 100, 150, 200 и 250 Дж/см²), а также регистрацию сигнала после воздействия (6 мин). Измерения показали, что воздействие излучением 1267 нм приводит к усилению интенсивности зелёной флуоресценции окисленной формы данного зонда, что свидетельствует о продукции СК и его селективном взаимодействии с SOSG. Воздействие

различными мощностями выявило большее влияние на количество выработанного СК фактора времени воздействия, чем мощности, что вероятно связано с малым временем жизни СК.

Для исключения влияния нагрева от лазерного излучения 1267 нм на процессы, протекающие в сосудистом русле во время генерации СК, были проведены исследования на биоткани с применением термографа «ИРТИС-200МЕ» (ООО "ИРТИС/IRTIS", Россия). Измерение нагрева при трёх мощностях 50 мВт, 100 мВт и 200 мВт во время предварительных исследований на ячейках с водой производилось в три этапа: до облучения (3 мин), в процессе генерации СК (15 мин) и после (3 мин). Было установлено, что увеличение нагрева пропорционально увеличению мощности излучения, а время воздействия не вносит значительных изменений в нагрев, так как температурная кривая в течение некоторого времени после включения лазера выходит на «плато». Для проведения безопасных экспериментов на коже человека было принято решение исследовать нагрев при меньших мощностях излучения – 50 мВт и 25 мВт. В области предплечья прирост температуры составил не более 4 °С и 2 °С соответственно для двух мощностей. Так, для последующего этапа исследований было принято решение использовать мощность лазерного излучения длиной волны 1267 нм равной 25 мВт ввиду меньшего увеличения температуры.

Для изучения механизмов регуляции МЦК русла, включающихся при генерации СК, использовался многофункциональный лазерный исследовательский комплекс «МЛИК» (ООО НПП «ЛАЗМА»), сочетающий в себе методы лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и флуоресцентной спектроскопии. Конструктивные особенности прибора, а именно возможность подключения внешнего лазерного источника через единый волоконно-оптический зонд, позволили производить исследование непрерывно в три этапа, тем самым исключая смещение волоконно-оптического зонда с исследуемой области и делая возможным регистрацию изменений параметров МЦК непосредственно во время облучения. Измерения производились на ладонной поверхности дистальной фаланги среднего пальца кисти правой руки (4 женщины, 4 мужчины возраста 23±4 года по 3 повторения) в течение 30 мин (10 мин на каждый этап исследования). Полученные результаты свидетельствуют о вкладе активных механизмов регуляции МЦК при индукции СК, а в большей мере эндотелиальных и нейрогенных. При этом наблюдается увеличение амплитуды указанных колебаний как непосредственно во время облучения, так и к концу исследования. Данный эффект может быть связан с усилением кровотока по артериоло-веноулярным шунтам при наблюдаемом повышении миогенного тонуса и последующей компенсаторной эндотелий-зависимой дилатацией капилляров после их окклюзии во время генерации СК [2].

Выводы. Полученные с применением флуоресцентного зонда SOSG результаты демонстрируют, что время воздействия вносит больший вклад в генерацию СК, нежели мощность излучения. Проведённые термографические исследования подтвердили целесообразность регулирования продукции СК временем воздействия ввиду отсутствия зависимости между временем экспозиции и приростом температуры, что позволяет свести оказываемый нагрев к минимуму, тем самым открывая исследователю большие возможности. Анализ изменений параметров МЦК русла с применением ЛДФ подтверждает раннее выявленное влияние СК на сосудистую сеть и позволяет установить задействование эндотелиальных и нейрогенных механизмов в наблюдаемый процесс.

Работа выполнена при поддержке РФФИ в рамках проекта № 21-75-00086.

Список использованных источников:

1 Direct optical generation of singlet oxygen in the regulation of vascular tone / I. N. Novikova, M.V. Volkov, L.V. Eratova, D.I. Myalitsin, V.V. Dremin // Proceedings of SPIE – 2022. – Vol. 12147. – P. 1214700

2 Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin / P. Kvandal, S.A. Landsverk, A. Bernjak, A. Stefanovska, H.D. Kvernmo, K.A. Kirkeboen // Microvasc Res. – 2006. – Vol. 72, №3. – P. 120-7.

/ / Eratova L.B. (автор)
/ / Маковик И.Н. (научный руководитель)