

РАЗРАБОТКА ПРИБОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

¹**А.В. Павлов**, кандидат биологических наук

²**Е.Ю. Смертина**, доктор ветеринарных наук

³**Н.Н. Горб**, кандидат ветеринарных наук

¹Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Россия

²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

E-mail: natalya-gorb@mail.ru

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы, конструктивные элементы, устройство для облучения фотосенсибилизаторов, оптическое световое воздействие, монохромное излучение, длина волны, условно-патогенная микрофлора, мощность оптического излучения.

Реферат. Исследования проведены на базе лаборатории воспроизводства и адаптации сельскохозяйственных животных Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН). Применение фотодинамической терапии позволяет локально активировать фотосенсибилизатор, накапливающийся в опухоли или микроорганизме, видимым светом, что в присутствии кислорода приводит к развитию фотохимической реакции, разрушающей опухолевые клетки и микроорганизмы. Разработана конструкция и создан лабораторный образец устройства для облучения фотосенсибилизаторов и проведения фотодинамической терапии. Устройство может быть использовано для проведения экспериментальных работ в биологии, ветеринарии и медицине по изучению эффективности активации фотосенсибилизаторов и терапевтического воздействия фотосенсибилизаторов при заболеваниях, в том числе вызываемых условно-патогенной микрофлорой. Устройство можно применять для проведения работ по фотодинамической терапии как в лабораторных, так и в полевых условиях путем облучения биологических объектов, предварительно подвергшихся воздействию фотосенсибилизаторов, за счет способности устройства генерировать оптическое монохромное излучение с длинами волн 660; 610, 430 и 395 нм с возможностью регулировки мощности оптического излучения и его модуляции с частотой в диапазоне от 0 до 25000 Гц, что позволяет использовать широкий спектр фотосенсибилизаторов. Техническое решение устройства для облучения фотосенсибилизаторов и проведения фотодинамической терапии защищено авторским правом – патент на полезную модель № 191736 U1 Российская Федерация, МПК А61N 5/06.

DEVELOPMENT OF A DEVICE FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

¹**A.V. Pavlov**, PhD in Biological Sciences

²**E.Y. Smertina**, Doctor of Veterinary Sciences

³**N.N. Gorb**, PhD in Veterinary Sciences

¹Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russia

²Siberian Federal Scientific Center for Agrobiotechnologies RAS, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Email: natalya-gorb@mail.ru

Keywords: photodynamic therapy, photosensitizers, structural elements, device for irradiating photosensitizers, optical light exposure, monochrome radiation, wavelength, opportunistic microflora, optical radiation power.

Abstract. The research was carried out at the laboratory of reproduction and adaptation of farm animals of the Siberian Federal Scientific Center for Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSC RAS). Photodynamic therapy makes it possible to locally activate the photosensitizer concentrated in the tumor or tube with visible light, which leads to a photochemical reaction that destroys tumor cells and tumors in the development of the disease. A design has been developed, and a laboratory sample of a device for irradiating photosensitizers and conducting photodynamic therapy has been created. The device can be used for experimental work in biology, veterinary medicine, and medicine to study the effectiveness of photosensitizers and the therapeutic effects of

photosensitizers in diseases, including those caused by opportunistic microflora. The device can be used to carry out work on photodynamic therapy both in laboratory and field conditions by irradiating biological objects that have previously been exposed to photosensitizers due to the device's ability to generate optical monochrome radiation with wavelengths of 660, 610, 430, and 395 nm with the ability to adjust the power of optical radiation and its modulation with a frequency in the range from 0 to 25000 Hz, which allows the use of a wide range of photosensitizers. The technical solution of the device for irradiating photosensitizers and conducting photodynamic therapy is protected by copyright - utility model patent No. 191736 U1 Russian Federation, IPC A61N 5/06.

Экспансия антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов вызывает необходимость поиска и разработки новых антимикробных средств, основанных на отличных от антибиотикотерапии принципах [1]. Длительное применение антибиотиков отрицательно влияет на качество молока и мяса, приводит к появлению лекарственно-устойчивых форм микроорганизмов, аллергическим реакциям у человека и животных, экологическим и другим неблагоприятным последствиям. Побочное действие химиотерапевтических препаратов и появление антибиотикоустойчивых культур микроорганизмов повышают интерес ветеринарных специалистов к немедикаментозным методам лечения, в частности, к физиотерапевтическим. Одним из вариантов, обладающих необходимым потенциалом, являются фотосенсибилизаторы – вещества, способные диссоциировать при поглощении квантов оптического излучения со специфичной длиной волны, образуя при этом свободные радикалы, обладающие цитотоксическим действием.

Фотодинамическая терапия рассматривается как метод локальной активации накопившегося в опухоли или микроорганизме фотосенсибилизатора видимым красным светом, что в присутствии кислорода приводит к развитию фотохимической реакции, разрушающей опухолевые клетки и микроорганизмы [2, 3]. Механизм действия фотодинамической терапии заключается в поглощении молекулой фотосенсибилизатора кванта света и переходе в возбужденное триплетное состояние с последующим вступлением в фотохимические реакции двух типов. При первом типе реакций происходит взаимодействие непосредственно с молекулами биологического субстрата, что приводит к образованию свободных радикалов. При втором типе реакций возбужденный фотосенсибилизатор взаимодействует с молекулой кислорода с образованием синглетного

кислорода, который обладает цитотоксическим действием [4–9].

Имеются отдельные работы по изучению воздействия фотосенсибилизаторов с последующим облучением на условно-патогенные микроорганизмы, например, установлена инактивация клеток *Staphylococcus aureus* [10]. Бактерицидное и бактериостатическое воздействие фотодинамической терапии на возбудителей инфекционных заболеваний осуществляется посредством генерации синглетного кислорода и перекисных радикалов фотосенсибилизаторами, находящимися снаружи и внутри бактериальной клетки с последующим развитием фототоксических реакций. Основные трудности антибактериальной терапии, в том числе и в ветеринарной практике, обусловлены разнообразием условно-патогенной микрофлоры, ее изменчивостью и формированием антибиотикорезистентных штаммов.

Наибольшее количество публикаций посвящено применению фотодинамической терапии при лечении онкологических заболеваний [11, 12]. Достаточно много исследований проведено также в стоматологической и отоларингологической практике [13, 14].

Для апробации в ветеринарной практике при лечении продуктивных животных наибольший интерес представляет опыт лечения с применением фотодинамической терапии ран, в том числе гнойных [15–20]. Перспективным представляется применение фотодинамической терапии при болезнях копыт, маститах, акушерско-гинекологических патологиях и других заболеваниях, вызываемых условно-патогенной микрофлорой. Таким образом, существует определенный потенциал использования фотодинамической терапии инфекционных заболеваний, особенно имеющих локальный характер.

Для активации фотосенсибилизаторов в условиях ветеринарных клиник и животноводческих ферм необходимо специальное устройство, адаптированное для специфических условий

окружающей среды (повышенная влажность, низкая температура), поэтому проведенные исследования являются актуальными. Учитывая особенности организации лечебно-профилактических мероприятий в условиях животноводческих ферм, наиболее приемлемыми являются способы проведения физиотерапевтических процедур с использованием компактных мобильных аппаратов.

Целью данной работы является разработка устройства для облучения фотосенсибилизаторов и проведения фотодинамической терапии.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на базе лаборатории воспроизводства и адаптации сельскохозяйственных животных Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН). Устройство для активации фотосенсибилизаторов сконструировано при помощи паяльной станции Element 878D. Для изготовления устройства использовано следующее оборудование: аналоговый осциллограф GW Instek GOS-6051, генератор импульсов GW Instek GFG 8216A, цифровой осциллограф Rigol ds 1052e, вольтметр универсальный GW Instek GDM-78341. Контроль соответствия конструкции запланированного устройства осуществлен путем соответствия техническому заданию.

Материалы, использованные для изготовления устройства: электронные компоненты, штампованные корпусные изделия из качественного АВС-пластика, кабель соединительный КГ-ХЛ 2x0,75, провод монтажный МГТФ 1x0,5, припой оловянно-свинцовый ПОС-61, припой оловянно-серебряный Felder lottechnik, паста паяльная канифольно-вазелиновая, стеклотекстолит фольгированный СФ-2Н, клей цианакрилатный.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с целью работы сконструирован и изготовлен лабораторный образец устройства для облучения фотосенсибилизаторов и проведения фотодинамической терапии [21].

Структурная схема устройства для проведения фотодинамической терапии представлена на рис. 1. Конструкция аппарата имеет в своем составе следующие элементы: 1 – центральный блок устройства; 2 – аккумулятор; 3 – цифровой таймер с возможностью установки времени экспозиции; 4 – стабилизатор напряжения; 5 – генератор импульсов; 6 – модуль управления и контроля мощности излучения; 7 – выходной усилитель; 8 – модуль коммутации с разъемами для подключения внешних облучателей; 9 – внешний источник питания для работы от сети переменного тока 220 В, выполняющий также функцию зарядного устройства; 10–13 – подключаемые источники монохромного оптического излучения: 10 – источник монохромного оптического излучения с длиной волны 660 нм, 11 – источник монохромного оптического излучения с длиной волны 620 нм, 12 – источник монохромного оптического излучения с длиной волны 430 нм, 13 – источник монохромного оптического излучения с длиной волны 395 нм.

Устройство для проведения фотодинамической терапии работает следующим образом: к центральному блоку устройства 1, а именно к модулю коммутации 8, подключают один или более внешних источников монохромного оптического излучения с необходимой длиной волны (10, 11, 12, 13). Питание устройства при этом происходит либо от аккумулятора 2, либо от внешнего источника питания 9, способного при этом подзаряжать аккумулятор. Напряжение с этих элементов поступает на стабилизатор напряжения 4, необходимый для точной работы последующих элементов. Затем устанавливается необходимое время экспозиции, используя модуль таймера 3, устанавливают частоту модуляции оптического излучения, используя модуль генератора импульсов 5, и необходимую мощность с помощью модуля управления и контроля мощности излучения 6. Выходной усилитель устройства 7 обеспечивает усиление по мощности сигнала генератора импульсов. Включение генерации оптического излучения происходит при нажатии кнопки «Пуск» на таймере, а по истечении установленного времени экспозиции происходит автоматическое отключение устройства.

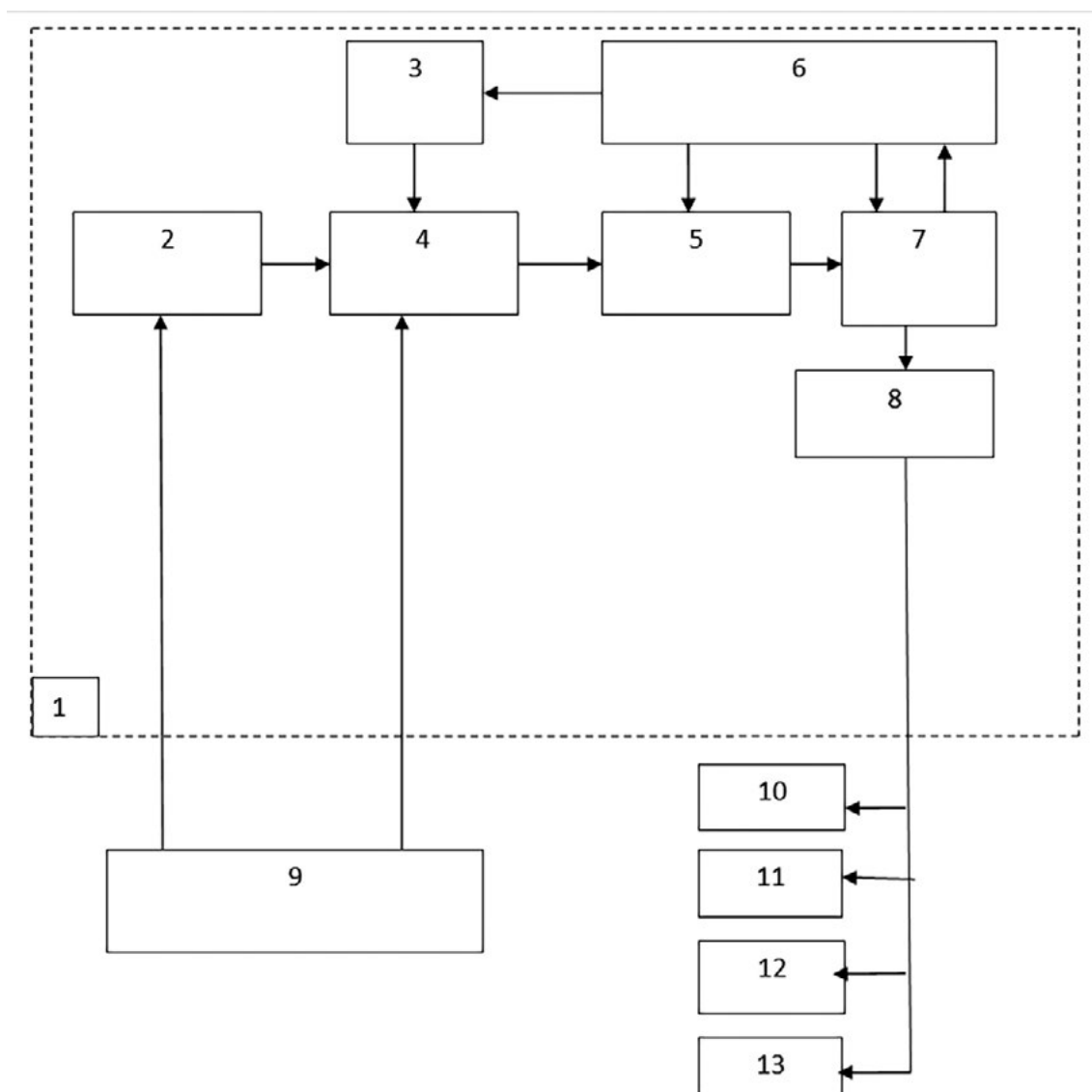


Рис. 1. Структурная схема устройства для проведения фотодинамической терапии
Block diagram of a device for photodynamic therapy.

Конструктивными элементами прибора являются облучатели (10–13) с необходимыми для возбуждения фотосенсибилизаторов длинами волн: 660, 620, 430 и 395 нм.

Применение в устройстве светоизлучающих монохромных диодов повышенной яркости, установленных непосредственно в конструкции облучателей, позволило преодолеть недостатки решений, принятых за аналоги и прототип: исключить из конструкции жгут световодов и блок вырезающих фильтров, предотвратить возникновение инфракрасного излучения. Преодолено также повышенное тепловыделение и отпала необходимость в радиаторах охлажде-

ния, так как питание светоизлучающих диодов происходит импульсным напряжением.

Недостатки решения, принятого за прототип, устранены введением в конструкцию устройства для проведения фотодинамической терапии следующих модулей: генератора импульсов, позволяющего модулировать оптическое излучение, регулятора мощности оптического излучения, таймера, автоматически ограничивающего время экспозиции, а также автономного источника питания (рис. 2).

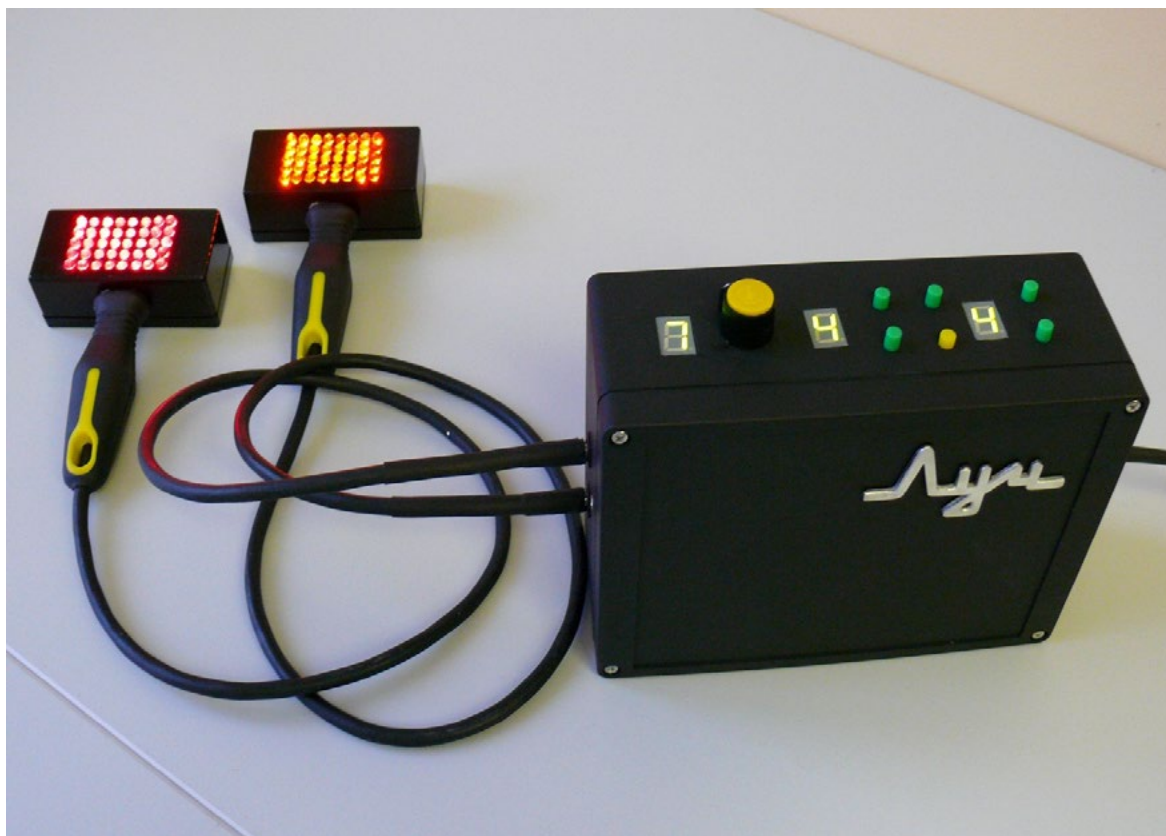


Рис. 2. Устройство для облучения фотосенсибилизаторов и проведения фотодинамической терапии
Device for irradiating photosensitizers and conducting photodynamic therapy

Использование разработанного устройства позволяет проводить работы по фотодинамической терапии как в лабораторных, так и полевых условиях. Наличие в конструкции устройства монохромных источников оптического излучения с длинами волн 660; 620; 430 и 395 нм предоставляет возможность использовать широкий спектр фотосенсибилизаторов.

ВЫВОДЫ

1. Разработана конструкция и создан лабораторный образец устройства (Патент РФ) для облучения фотосенсибилизаторов и проведения фотодинамической терапии.

2. Устройство может быть использовано для проведения экспериментальных работ в биологии, ветеринарии и медицине по изучению эффективности активации фотосенсибилизаторов, а также для изучения терапевтического воздействия фотосенсибилизаторов при заболеваниях, вызываемых условно-патогенной микрофлорой.

3. Разработанный прибор для проведения фотодинамической терапии включает в себя центральный управляющий блок, систему оптического светового воздействия, содержащую как одиночные светодиоды, так и соединенные по матричной схеме. Отличается от аналогов тем, что снабжен генератором импульсов, регулятором мощности оптического излучения и таймером, а светоизлучающие диоды установлены непосредственно в корпусе облучателей.

4. Устройство может быть использовано для проведения работ по фотодинамической терапии как в лабораторных, так и в полевых условиях путем облучения биологических объектов, предварительно подвергшихся воздействию фотосенсибилизаторов, за счет способности устройства генерировать оптическое монохромное излучение с длинами волн 660, 610, 430 и 395 нм с возможностью регулировки мощности оптического излучения и его модуляции с частотой в диапазоне от 0 до 25000 Гц, что позволяет применять широкий спектр фотосенсибилизаторов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ильинский, Е.В. Синилов С.В. О некоторых аспектах этиопатогенеза, лечения и профилактики мастита у коров // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 35-летию организации Всерос. НИВИ патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, 5–7 окт. 2005 г. – Воронеж: Европолиграфия, 2005. – С. 412–415.
2. Странадко Е.Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии // Третий Всероссийский симпозиум «Фотодинамическая терапия». – М., 1999 – С. 3–15.
3. Странадко Е.Ф. Основные этапы развития и современное состояние фотодинамической терапии в России // Лазерная медицина. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 4–14.
4. Лапченко А.С. Фотодинамическая терапия. Область применения и перспективы развития в отоларингологии // Вестник отоларингологии. – 2015. – № 80(6) – С. 4–9.
5. Микробиологическое обоснование эффективности фотосенсибилизаторов при фотодинамической терапии / О.Е. Шишкина, Л.Ю. Бутакова, Ю.О. Иванченко [и др.] // Лазерная медицина. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 35–37.
6. Canti G., De Simone A., Korbelik M. Photodynamic therapy and the immune system in experimental oncology // Photochemical & Photobiological Sciences. – 2002. – Vol. 1, N 1. – P. 79–80.
7. Role of cytokines in photodynamic therapy-induced local and systemic inflammation / S.O. Gollnick, S.S. Evans, H. Baumann [et al.] // British journal of cancer. – 2003. – Vol. 88, N 11. – P. 1772–1779.
8. Peng Q., Moan J., Nesland J.M. Correlation of subcellular and intratumoral photosensitizer localization with ultrastructural features after photodynamic therapy // Ultrastructural pathology. – 1996. – Vol. 20, N 2. – P. 109–129.
9. Красновский А. А. Фотодинамическое действие и синглетный кислород // Биофизика. – 2004. – Т. 49, № 2. – С. 305–321.
10. Павлов А.В., Смертина Е.Ю., Донченко Н.А. Антимикробное действие фотосенсибилизатора метиленового синего на культуру *Staphylococcus aureus* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2013. – № 3 (232). – С. 91–94.
11. Сухин Д.Г. Разработка методики пролонгированной фотодинамической терапии злокачественных опухолей с препаратом фотосенс: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2004. – 117 с.
12. Фотодинамическая терапия в ветеринарной практике / С.А. Ягников, О.А. Кулешова, Я.А. Кулешова [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 67–70.
13. Рахманов Х.Ш. Изменения микрофлоры и некоторых иммунологических показателей полости рта при комплексном применении в лечении кариеса лазерной терапии // Лазерная медицина. – 2003. – Т. 7, № 2. – С. 11–14.
14. Лапченко А.А. Антимикробная фотодинамическая терапия в комплексном лечении гнойного воспаления околоносовых пазух: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 115 с.
15. Лапченко А.С., Кучеров А.Г., Ордер Р.Я. Фотодинамическая и светодиодная терапия последствий огнестрельной и минно-взрывной травмы лица, головы, шеи с повреждением ЛОР-органов // Лазерная медицина. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 32–34.
16. Antiangiogenic treatment enhances photodynamic therapy responsiveness in a mouse mammary carcinoma / A. Ferrario, von K. F. Tiehl, N. Ruker [et al.] // Cancer research. – 2000. – Vol. 60, N 15. – P. 4066–4069.
17. Blanco C.E.R., Leon H.O., Guthrie T.B. Combined partial arthroscopic synovectomy and radiation therapy for diffuse pigmented villonodular synovitis of the knee // Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery. – 2001. – Vol. 17, N 5. – P. 527–531.
18. Толстых М.П. Проблема комплексного лечения гнойных ран различного генеза и трофических язв (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – 42 с.
19. Экспериментальное обоснование применения фотодинамической терапии на заживление гнойных ран / П.И. Толстых, У.М. Коробов, А.Б. Шехтер [и др.] // Лазерная медицина. – 2001. – Т.5, № 2 – С. 8–13.
20. Каплан М.А. Возможности и перспективы фотодинамической терапии // Российские медицинские вести. – 2002. – Т.7, № 2. – С. 1925.
21. Патент на полезную модель № 191736 U1 Российская Федерация, МПК А61N 5/06. Устройство для проведения фотодинамической терапии: № 2019100610: заявл. 10.01.2019; опубл. 19.08.2019

/ Е.Ю. Смертина, А.В. Павлов; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН).

REFERENCES

1. Il'inskij E.V. Sinilov S.V., *Aktual'nye problemy boleznej organov razmnoshenija i molochnoj zhelezy u zhivotnyh* (Actual problems of diseases of the reproductive organs and mammary gland in animals), Materials of the international scientific and practical conference, Voronezh: Europolygraphy, 2005, pp. 412–415. (In Russ.)
2. Stranadko E.F., *Fotodinamicheskaja terapija*, 1999, pp. 3–15. (In Russ.)
3. Stranadko E.F., *Lazernaja medicina*, 2012, Vol. 16, No. 2, pp. 4–14. (In Russ.)
4. Lapchenko A.S., *Vestnik otolaringologii*, 2015, No. 80 (6), pp. 4–9. (In Russ.)
5. Shishkina O.E., Butakova L.Yu., Ivanchenko Yu.O., Antonov S.S., *Lazernaja medicina*, 2013, Vol. 17, No. 1, pp. 35–37. (In Russ.)
6. Canti G., De Simone A., Korbelik M., Photodynamic therapy and the immune system in experimental oncology, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2002, Vol. 1, No. 1, pp. 79–80.
7. Gollnick S.O., Evans S.S., Baumann H., Owczarczak B., Maier P., Vaughan L., Wang W.C., Unger E., Henderson B.W. Role of cytokines in photodynamic therapy-induced local and systemic inflammation, *British journal of cancer*, 2003, Vol. 88, No. 11, pp. 1772–1779.
8. Peng Q., Moan J., Nesland J.M., Correlation of subcellular and intratumoral photosensitizer localization with ultrastructural features after photodynamic therapy, *Ultrastructural pathology*, 1996, Vol. 20, No. 2, pp. 109–129.
9. Krasnovskij A. A., *Biofizika*, 2004, Vol. 49, No. 2, pp. 305–321.
10. Pavlov A.V., Smertina E.Ju., Donchenko N.A., *Sibirskij vestnik sel'skhozjajstvennoj nauki*, 2013, No. 3 (232), pp. 91–94. (In Russ.)
11. Suhin D.G., *Razrabotka metodiki prolongirovannoj fotodinamicheskoy terapii zlokachestvennyh opuholej s preparatom fotosens* (Development of a technique for prolonged photodynamic therapy of cancerous tumors with photosens). Moscow, 2004, 117 p. (In Russ.)
12. Yagnikov S.A., Kuleshova O.A., Kuleshova Ya.A., Korniyushenkov E.A., *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal*, 2008, Vol. 7, No. 4, pp. 67–70. (In Russ.)
13. Rahmanov H.Sh., *Lazernaja medicina*, 2003, Vol. 7, No 2, pp. 11–14. (In Russ.)
14. Lapchenko A.A., *Antimikrobnaja fotodinamicheskaja terapija v kompleksnom lechenii gnojnogo vospaleniya okolonosovyh pazuh* (Antimicrobial photodynamic therapy in the complex treatment of purulent inflammation of the paranasal sinuses), Moscow, 2009, 115 p. (In Russ.)
15. Lapchenko A.S., Kucherov A.G., Order R.Ja., *Lazernaja medicina*, 2013, Vol. 17, No. 2, pp. 32–34. (In Russ.)
16. Ferrario A., von Tiehl K.F., Rucker, N., Schwarz M.A., Gill P.S., Gomer C.J., Antiangiogenic treatment enhances photodynamic therapy responsiveness in a mouse mammary carcinoma, *Cancer research*, 2000, Vol. 60, No. 15, pp. 4066–4069.
17. Blanco C. E. R., Leon H. O., Guthrie T. B. Combined partial arthroscopic synovectomy and radiation therapy for diffuse pigmented villonodular synovitis of the knee, *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 2001, Vol. 17, No. 5, pp. 527–531.
18. Tolstykh M. P., *Problema kompleksnogo lechenija gnojnyh ran razlichnogo geneza i troficheskikh jazv (jeksperimental'no-klinicheskoe issledovanie)* (The problem of complex treatment of purulent wounds of various origins and trophic ulcers (experimental clinical study), Moscow, 2002, 42 p. (In Russ.)
19. Shekhter A.B., Tolstykh M.P., Rudenko T.G., Radzhabov A.A., Ovcharova T.V., Petrin S.A., Morozova T.V., *Lazernaja medicina*, 2001, Vol. 5, No. 2, pp. 8–13. (In Russ.)
20. Kaplan M.A. *Rossiiskie medicinskie vesti*, 2002, Vol. 7, No. 2, pp. 1925. (In Russ.)
21. *Patent na poleznuju model' No. 191736 UI* Rossijskaja Federacija, MPK A61N 5/06. Ustrojstvo dlja provedeniya fotodinamicheskoy terapii: No. 2019100610: zajavl. 10.01.2019: opubl. 19.08.2019/ zajavitel' Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe uchrezhdenie nauki Sibirskij federal'nyj nauchnyj centr agrobiotekhnologii Rossijskoj akademii nauk (SFNCA RAN). (In Russ.)