

Материалы и методы. Генерация СК проводилась с применением разработанного устройства, включающего источник лазерного излучения на длине волны 1267 нм для возбуждения молекулы кислорода, а также контрольный лазер 1122 нм. Регистрация анализируемых параметров осуществлялась методами конфокальной микроскопии, видеокапильроскопии и флуоресцентной спектроскопии. Исследования проводились на клеточной линии меланомы В16, здоровых фибробластах, а также на срезах мозга крысы, содержащих функционально активные кровеносные сосуды.

Результаты. Результаты исследования показали, что прямая оптическая генерация СК (доза воздействия – 200 Дж/см²), не вызывая выработку других АФК и не изменяя уровень основных маркеров окислительного стресса и перекисного окисления липидов, посредством метаболических изменений (изменение митохондриального мембранного потенциала и открытие митохондриальной поры) активирует апоптотическую гибель клеток меланомы. При этом данная реакция отсутствовала в клетках здоровых фибр областей. Исследования на срезах мозга выявили влияние на перфузионную регуляцию, проявляющуюся в сужении просвета анализируемых сосудов.

Заключение. Полученные результаты показали перспективность прямой оптической генерации СК в регуляции перфузионно-метаболических изменений в тканях в отсутствие фотосенсибилизаторов, что является важным для целого спектра заболеваний, включая онкологию, псориаз, диабетическую ретинопатию, ревматоидный и псориатический артриты, атеросклероз и др.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2019-1877 (исследования на клеточных культурах), гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук МК-398.2021.4 (разработка экспериментальной установки) и гранта Российского научного фонда № 21-75-00086 (исследования на срезах мозга).

Острейко О.В., Петрищев Н.Н., Галкин М.А.,
Гришачева Т.Г., Папаян Г.В.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ИК-СПЕКТРА С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ НА ПРИМЕРЕ БИОФАНТОМА

ФГБУ УВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»,
г. Санкт-Петербург, Россия

Ostreyko O.V., Petrishev N.N., Galkin M.A., Grishacheva T.G., Papayan G.V. (Saint Petersburg, RUSSIA)

INTERACTION OF IR LASER RADIATION WITH GLIAL TUMORS USING A BIOPHANTOM AS AN EXAMPLE

Цель. Ежегодно в РФ выявляется около 10 тыс. новых глиальных опухолей, большинство из которых имеют злокачественную природу. Результаты лечения таких опухолей остаются неудовлетворительными, составляя 12–14 месяцев при глиобластомах. Хирургическое лечение является ведущим, позволяя уменьшить объем активной опухоли, получить гистологический материал. Глубокая локализация опухолевого узла, мультифокальность глиом обуславливают сложности и необоснованные риски открытых операций трепанации черепа и удаления опухолей. Поэтому малоинвазивная циторедуктивная операция представляется необходимым инструментом в комплексном лечении глиальных опухолей.

Материал и методы. Лазерная термодеструкция – развивающееся малоинвазивное направление в хирургическом лечении интракраниальных опухолей и другой патологии. С 2011 года за рубежом наблюдается ренессанс интерстициальной лазерной термодеструкции церебральных опухолей в варианте LITT (laser interstitial thermotherapy). В ПСПбГМУ имени акад. И.П. Павлова разработан и запатентован способ малоинвазивного хирургического лечения супратенториальных глиом. Сутью такой операции является наведируемая биопсия опухоли с последующей ее лазерной коагуляцией.

Проведенные исследования позволили подобрать эффективные и безопасные режимы лазерного облучения в ИК-спектре и отработать алгоритм действий врача нейрохирурга. Одним из направлений дальнейшего совершенствования метода мы видим дифференцированный выбор характеристик лазерного излучения в лечении глиом разной степени анаплазии. Для этого в университете был создан биофантом глиальных опухолей. Характеристики биофантама позволили визуализировать эффекты его взаимодействия с лазерным излучением. В центре взаимодействия лазера и биофантама регистрировалась температура с помощью тепловизора и параллельно термопарой. Процесс коагуляции биофантама записывался высокочувствительной видеокамерой, что позволяло затем визуализировать в записи и анализировать этот процесс.

Результаты. Мы наблюдали отличные эффекты лазерного взаимодействия выбранных нами разных длин волн ИК-спектра в каждом из вариантов биофантама. Наибольшая температура наблюдалась у кончика световолокна и к периферии температура уменьшалась. Наблюдалась отчетливо выраженная зона коагуляции биофантама.

Выводы. Созданный нами биофантом в вариации прообраза глиальных опухолей разной степени анаплазии создают хорошую возможность подбора длин волн и характеристик лазерного излучения для конкретного случая. Эта экспериментальная модель позволит реализовать в клинике так называемую персонализированную медицину в оказании хирургической оперативной помощи больным с глиальными опухолями головного мозга.

Пешкова Д.А.¹, Головнева Е.С.^{1,2}, Чесноков А.А.¹

ДИНАМИКА КОЛИЧЕСТВА ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ТИМУСЕ ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

¹ ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины»,
г. Челябинск, Россия;

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

Peshkova D.A., Golovneva E.S., Chesnokov A.A. (Chelyabinsk, RUSSIA)

DYNAMICS OF THE NUMBER OF MAST CELLS IN THE THYMUS AFTER LASER EXPOSURE

Цель. Реакция тучных клеток (мастоцитов) в органах иммуногенеза на воздействие инфракрасного лазерного излучения остается малоизученной областью. Мастоциты относятся к важной составляющей специфического микроокружения клеток тимуса. Тучные клетки способны функционировать в качестве местной или автономной регуляторной системы за счет большого разнообразия биологически активных веществ в своих гранулах. Также мастоциты принимают участие в пролиферации и дифференцировке тимоцитов, поэтому увеличение или снижение количества тучных клеток в тимусе может повлиять на функции органа. Целью данной работы являлось изучение ответных реакций тучных клеток тимуса на локальное воздействие инфракрасного лазерного излучения.

Материалы и методы. При проведении работы было использовано 20 крыс-самцов массой 200–250 г. Животные были разделены на 2 группы: 1-я группа – без воздействия лазера и 2-я группа – с лазерным облучением области локализации тимуса. Лазерное воздействие осуществлялось с использованием диодного лазера ИРЭ-Полус (Россия), длина волны – 970 нм, плотность мощности – 1 Вт/см², время воздействия – 1 минута, непрерывный режим. Животных выводили из эксперимента на сроке 1 сутки после лазерного воздействия. После формалиновой фиксации производилась стандартная гистологическая проводка и изготовление парафиновых блоков. Гистологические срезы окрашивались толуидиновым синим для выявления тучных клеток. Микроскопия препаратов осуществлялась при увеличении в 1000 раз на микроскопе «DMRXA» (Leica, Германия). Полученные данные обрабатывались в компьютерной программе Past методом Манна–Уитни, статистически значимыми различия считались при значении $p < 0,05$.

Результаты. Тучные клетки в тимусе имели гомогенный вид, отмечалась высокая насыщенность гранулами с хорошо различимым ядром, в основном мастоциты располагались в соединительно-тканых трабекулах органа. В контроле были отмечены единичные клетки в состоянии дегрануляции, в опытной группе наблюдалось усиление эозинофилии гранул мастоцитов, но без явлений тотальной дегрануляции. Спустя 24 часа после воздействия инфракрасным излучением на тимус отмечалось увеличение количества тучных клеток. В контрольной группе на 1 мм² приходилось 156 (97; 253) мастоцитов, а в опытной группе – 244 (136; 488), при $p = 0,0001$. Основной причиной изменения количества мастоцитов в тканях за пределами костного мозга является их миграция. Увеличение количества тучных клеток в тимусе после воздействия инфракрасного лазерного излучения связано с усилением синтеза в тканях белков теплового шока и ряда других специфических хемоаттрактантов для тучных клеток. Повышение количества мастоцитов в тимусе может влиять на локальную цитокиновую и ферментную активность других клеточных популяций, тонус микроциркуляторного сосудистого русла, проницаемость стенок капилляров, регулировать активность выхода тимоцитов различной степени дифференцировки в кровяное русло, что может менять картину иммунного гомеостаза в организме.

Заключение. Согласно полученным экспериментальным данным, инфракрасное лазерное воздействие на тимус приводит к увеличению количества тучных клеток в его ткани. Эти данные необходимо учитывать при проведении лазерной терапии в зоне локализации тимуса.

Плавский В.Ю.¹, Третьякова А.И.¹, Микулич А.В.¹, Сысов В.А.¹, Плавская Л.Г.¹, Дудинова О.Н.¹, Ананич Т.С.¹, Леусенко И.А.¹, Собчук А.Н.¹, Нагорный Р.К.¹, Сердюченко Н.С.¹, Дудчик Н.В.², Емельянова О.А.²

ПРОТИВОМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНЕГО СВЕТА

¹ Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь;

² Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

Plavskii V.Y., Tretyakova A.I., Mikulich A.V., Sysov V.A.,
Plavskaya L.G., Dudinova O.N., Ananich T.S., Leusenko I.A.,
Sobchuk A.N., Nahorny R.K., Serdyuchenko N.S., Dudchik N.V.,
Emel'yanova O.A. (Minsk, BELARUS)

ANTI-MICROBIAL EFFECTS OF THE BLUE LIGHT

Цель работы – выяснение механизма антимикробного действия синего света на тест-штаммы микроорганизмов из коллекции типовых культур, а также на клинически выделенные изоляты как в отсутствие экзогенных фотосенсибилизаторов, так и при сенсибилизации микроорганизмов куркумином – фотосенсибилизатором, обладающим выраженным противовирусным, противогрибковым и противопаразитарным действием. Кроме того, ставилась задача сравнить действие излучения одинаковых параметров на микробные клетки и клетки животных в культуре.

Материалы и методы. Исследования антимикробного действия света выполнены на грамм-отрицательных и грамм-положительных бактериальных клетках, а также на грибах в условиях *in vitro*, используя в качестве теста способность микроорганизмов образовывать колонии (колониеобразующие единицы, КОЕ). Для оценки вклада активных форм кислорода (АФК) в эффекты фотоинактивации микробных клеток и животных клеток в культуре использовались тушители АФК. Сравнение действия импульсного (длительность импульсов 10 нс) и непрерывного излучения проводили, используя лазеры, генерирующие излучение с длиной волны 405 нм.

Результаты. Выполненные исследования показали наличие во всех исследованных микроорганизмах присутствие эндогенных фотосенсибилизаторов порфиринового (копропорфирин, уропорфирин, протопорфирин) и флавинового (флавинаденин–динуклеотид, ФАД и флавиномононуклеотид, ФМН)

рядов, поглощающих излучение синей области спектра и сенсибилизирующих образование АФК (главным образом, синглетного кислорода) с квантовым выходом 0,77 для протопорфирина IX и 0,51 для ФМН. Показано, что фотовозбуждение указанных сенсибилизаторов при облучении микробных клеток оказывает бактерицидный эффект (выживаемость клеток снижается более чем на три порядка). При одинаковой средней плотности мощности эффект более выражен при воздействии импульсного лазера, что свидетельствует о важной роли амплитудного значения интенсивности излучения. Установлено, что для ряда микробных клеток фотоповреждение клеточной мембраны не играет существенной роли в реализации бактерицидного эффекта. Показано, что воздействие излучения синей области спектра способно также инактивировать клетки в культуре, однако степень их инактивации при одинаковой энергетической нагрузке менее выражена, чем при действии на микробные клетки. Определяющую роль в механизме фотоинактивации животных клеток синим светом играет перекись водорода: добавление к клеткам перед облучением пирувата натрия (известного тушителя H₂O₂) практически защищает их от фотодеструкции. Куркумин в концентрациях 1–5 мкМ способен сенсибилизировать повреждение как микробных клеток, так и животных клеток в культуре.

Заключение. Исследования, выполненные при финансовой поддержке БРФФИ (грант Ф21В-003), показали перспективность использования света синей области спектра для инактивации микробных клеток как за счет возбуждения эндогенных фотосенсибилизаторов, так и за счет экзогенного куркумина.

Плавский В.Ю., Третьякова А.И., Микулич А.В.,
Плавская Л.Г., Ананич Т.С., Дудинова О.Н., Леусенко И.А.,
Сысов В.А., Собчук А.Н., Сердюченко Н.С.

ФОТОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Plavskii V.Y., Tretyakova A.I., Mikulich A.V., Plavskaya L.G.,
Ananich T.S., Dudinova O.N., Leusenko I.A., Sysov V.A.,
Sobchuk A.N., Serdyuchenko N.S. (Minsk, BELARUS)

PHOTOCHEMICAL MECHANISMS DETERMINING THE REGULATORY EFFECTS OF LASER IRRADIATION

Цель работы – выяснение механизма регуляторного действия низкоинтенсивного лазерного излучения и излучения светодиодных источников видимой области спектра на клеточном уровне. Интерес к данной проблеме продолжает оставаться высоким ввиду отсутствия значительного прогресса в понимании процессов, определяющих эффекты фотобиомодуляции. При этом в литературе появилось ряд данных, ставящих под сомнение возможную роль ксантиноксигеназы в реализации регуляторного действия света. В этой связи наши исследования направлены на выявление молекул, способных при поглощении света влиять на метаболические процессы в клетке.

Материалы и методы. Исследования выполнялись на различных типах клеток: эукариот, прокариот, клетках крови (эритроцитах), сперматозоидах. При этом мы исходили из следующих предположений: а) в основе регуляторного действия света лежит изменение окислительно-восстановительного статуса клеток, инициируемое образованием активных форм кислорода (АФК) в результате возбуждения эндогенных фотосенсибилизаторов; б) фотосенсибилизаторами в клетке выступают флуоресцирующие соединения, обнаружить которые можно, используя чувствительные спектрофлуориметры и лазерное возбуждение. Для обнаружения указанных сенсибилизаторов нами разработана специальная методика, основанная на предварительной обработке перечисленных типов клеток 1 М соляной кислотой. Для обнаружения активных форм кислорода в клетках применялся очень чувствительный хемилюминесцентный метод.

Результаты. Выполненные исследования показали наличие во всех исследованных клетках присутствие эндогенных