

УДК 612.017.1 [616-092.19+612.112.3]

К ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВКР-ЛАЗЕРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

© 2013 Т.П. Генинг¹, О.С. Воронова¹, А.С. Курков², Е.М. Шолохов²

¹Ульяновский государственный университет

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва

Поступила в редакцию 21.06.2013

Проведена оценка влияния лазера вынужденного комбинационного рассеивания с длиной волны 1265 нм на морфометрические показатели опухолевой ткани экспериментального рака шейки матки. Изучены про- и антиоксидантный статус неоплазмы мышей после облучения лазером вынужденного комбинационного рассеивания (ВКР) в дозах 212 и 1062 Дж/см². Установлено, что лазерное излучение на 30-е сутки роста опухоли приводит к уменьшению удельного объема опухолевой паренхимы и апоптотического индекса. Показатели системы «перекисное окисление липидов - антиоксиданты» меняются дозозависимо. Облучение ВКР-лазером в дозе 1062 Дж/см² может приводить к развитию оксидативного стресса в зоне облучения при экспериментальном раке шейки матки.

Ключевые слова: рак шейки матки, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, ВКР-лазер

ВВЕДЕНИЕ

Лазерная терапия и хирургия - одна из наиболее наукоемких, перспективных и эффективных отраслей медицинской науки. Помимо двух достаточно хорошо изученных и широко используемых в клинической практике направлений применения лазеров – низкоинтенсивного стимулирующего лазерного излучения и высокоэнергетического повреждающего излучения, быстрыми темпами развивается третье направление – фотодинамическая терапия опухолей (ФДТ) [1]. При облучении фотосенсибилизированной опухолевой ткани лазером переход нетоксичного триплетного кислорода в синглетный кислород, обладающий выраженным цитотоксичным действием, что приводит к разрушению клеточных мембран опухолевых клеток. К недостаткам данного метода относят высокая стоимость фотосенсибилизаторов, токсичность для пациента, длительность периода накопления фотосенсибилизатора опухолью (24–48 часов) и длительность снижения его концентрации в здоровой ткани.

Генинг Татьяна Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии медицинского факультета, начальник лаборатории молекулярной и клеточной биологии НИТИ им. С.П. Капицы. E-mail: Naum-53@yandex.ru

Воронова Ольга Сергеевна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии НИТИ им. С.П. Капицы. E-mail: baby13.87@mail.ru

Курков Андрей Семенович, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник. E-mail: kurkov@kapella.gpi.ru

Шолохов Евгений Михайлович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник.

В экспериментальной онкологии для инициации гибели опухолевых клеток стали использовать лазерное излучение без введения экзогенных фотосенсибилизаторов. В ряде работ авторы наблюдают торможение роста за счет некроза неопластических клеток, разрушение клеточных мембран, изменение биосинтетических и ферментативных процессов [5].

В последние годы активно обсуждается гипотеза, согласно которой инфракрасный свет ($\lambda = 1264 \pm 4$ нм) может напрямую возбуждать молекулы кислорода в биологических системах и тем самым вызывать регулирование метаболизма или даже гибель клеток («светокислородный эффект») [3, 4, 6].

Волоконные лазеры перспективны для использования в биомедицинских исследованиях ввиду компактности, возможность получения излучения на любой длине волны ближнего инфракрасного диапазона за счет использования эффекта вынужденного комбинационного рассеивания в оптических волокнах. Одним из возможных биологических эффектов при использовании ВКР-лазеров с длиной волны 1265 нм является возбуждение синглетного кислорода, обладающим более высокой энергией, чем в основном, триплетном состоянии [7].

Оценить проявление светокислородного эффекта можно по функционированию параметров системы «перекисное окисление – антиоксиданты» в неопластических клетках и в клетках-эффекторах [2].

Целью данного исследования явилось изучение влияния ВКР-лазера с длиной волны 1265 нм на морфометрические показатели и параметры системы «перекисное окисление липидов - антиоксиданты» опухолевой ткани рака шейки матки (РШМ) в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте на белых нелинейных мышках оценивали влияние ВКР-лазера с мощностью 5,5 Вт и длиной волны 1265 нм на морфометрические показатели стромы и паренхимы опухоли при РШМ-5. Модель РШМ-5 была воспроизведена на половозрелых инбредных мышках путем перевивки опухолевого штамма, приобретенного в НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН (г.Москва). Перед облучением зону локализации опухоли выстригали. Животных помещали в специальный фиксатор для мышей таким образом, чтобы участок опухоли находился на уровне отверстия сбоку, фиксатор закрепляли в штативе на уровне, соответствующем расположению лазерного световода. Животных контрольной группы сравнения также помещали в фиксатор на то же время и имитировали облучение с выключенным прибором. Облучение проводили десятикратно на 30-е сутки после трансплантации опухоли в 2 экспериментальных группах на режимах 2 и 10 минут. Разовые дозы при этом составили 21,2 и 106,2 Дж/см². При длине светового пути 30 см интенсивность облучения составляла 0,177 Вт/см². После десяти кратного облучения животные забивались декапитацией. Из опухолевого материала готовились гистологические срезы. Морфологические исследования включали определение относительной площади паренхимы опухоли, стромы опухоли, участков некроза(%) с помощью денситометрии Мекос Ц-1; митотический (МИ) и апоптотический (АИ) индексы клеток паренхимы опухоли (исследовали 1000 клеток и выражали в промилле, ‰).

Для определения механизмов действия лазерного излучения (ЛИ) была проведена оценка про- и антиоксидантной активности в ткани РШМ-5 до и после воздействия ВКР-лазера. Определялся уровень малонового диальдегида (МДА) – одного из конечных продуктов перекисного окис-

ления липидов, а также компоненты ферментативной эндогенной антиоксидантной системы (АОС) неоплазмы: глутатион-редуктазы (ГР), глутатион-трансферазы (ГТ), каталазы и супероксид-дисмутазы (СОД).

Статистическая значимость полученных результатов оценивалась с помощью Т-критерия Стьюдента ($p \leq 0,05$), непараметрического U-критерия Манна-Уитни ($p \leq 0,05$).

Эксперимент проводился в соответствии с положениями Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983 и 1989 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что воздействие ВКР-лазера на 30-е сутки после трансплантации опухоли приводит к уменьшению удельного объема опухолевой паренхимы и апоптотического индекса. Уменьшение объемов участков паренхимы сопровождается соответствующим увеличением стромального компонента. МИ, удельный объем участков некроза при этом достоверно не изменяются (табл.1).

Облучение ВКР-лазером мышей с РШМ-5 в дозе 212 Дж/см² на 30-е сутки после трансплантации опухоли достоверно уменьшает уровень МДА в неоплазме (табл. 2). Динамика активности ферментов антиоксидантной защиты разнонаправлена: наблюдается снижение ГР при повышении активности ГТ и значимо не меняющихся показателей уровня каталазы и СОД. Облучение ВКР-лазером в дозе 1062 Дж/см² на тех же сроках вызывает противоположные изменения в системе ПОЛ-АО (табл. 2): отмечается повышение уровня МДА в неоплазме и одновременное статистически значимое снижение активности СОД и ГТ, при достоверно не изменяющемся уровне ГР и каталазы. Такая динамика позволяет предполагать возможность развития оксидативного стресса в опухолевой ткани при облучении ВКР-лазером в дозе 1062 Дж/см².

Таблица 1. Морфометрические показатели опухолевой ткани после облучения ВКР-лазером в дозах 212 и 1062 Дж/см²

Показатель \ Группа	Без облучения	ВКР-лазер 212 Дж/см ²	ВКР-лазер 1062 Дж/см ²
Удельный объем опухолевой паренхимы (%)	65,34±2,78	58,24±3,99*	56,79±18,80
Удельный объем опухолевой стромы (%)	0,2±0,036	0,32±0,04*	0,36±0,11
Удельный объем участков некроза (%)	34,64±2,76	41,45±3,96*	42,86±18,73*
Митотический индекс (‰)	18,00±3,18	16,88±3,13	16,25±1,25
Апоптотический индекс (‰)	67,00±4,25	31,25±5,00*	41,88±1,88*

Примечание: * – данные, статистически значимо отличающиеся от данных без облучения, $p \leq 0,05$

Таблица 2. Показатели системы ПОЛ-АО в неоплазме РШМ-5 после облучения ВКР-лазером в дозах 212 и 1062 Дж/см²

Показатель \ Группа	РШМ 30-е сутки		
	Без облучения n=16	212 Дж/см ² n=16	1062 Дж/см ² n=12
МДА, мкмоль/мг Б	36,3±1,22	21,81±1,25*	43,53±2,53*
ГР, ммоль/мин/мг Б	0,212±0,016	0,418±0,013*	0,238±0,023
ГТ, ммоль/мин/мг Б	1,502±0,292	0,509±0,051*	0,602±0,078*
СОД, у.е./мг Б	26,57±6,00	29,01±1,25	8,48±,24*
Каталаза, ммоль/с/мг Б	0,537±0,100	0,442±0,083	0,667±0,287

Примечание: * – данные, статистически значимо отличающиеся от данных без облучения, $p \leq 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, излучение ВКР-лазера в использованных дозах приводит к усилению некроза в опухолевой ткани при одновременном снижении апоптотического индекса.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ и Гос. задания Министерства образования и науки РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гельфонд М.Л. Фотодинамическая терапия в онкологии // Практическая онкология. 2007. Т.8, №4. С.204-209.
2. Редокс-зависимые процессы в опухолевой ткани рака шейки матки при воздействии фемтосекундного лазерного излучения / Т.П. Генинг, О.С. Воронова, Д.Р. Долгова и др. // Известия Самарского науч-

- ного центра РАН. 2012. Т. 14. №4(4). С.1157-1161.
3. Захаров С.Д. и др. Структурные перестройки ввводной фазе клеточных суспензий и белковых растворов при светокислородном эффекте // Квантовая электроника. 2003. Т. 33. №3. С. 149–162.
4. Иванов А.В. Физические основы лазерных методов в онкологии. Автореф. дисс. ...д-ра физ.-мат. наук. Москва, 2003. 359 с.
5. Корси Л.В., Соколов В.Г. Лазерный способ фотохимической деструкции опухолей без экзогенных сенсibilizаторов // В сб. «Лазерно-оптические системы и технологии» ФГУП «НПО Астрофизика». М., 2009. С.101-106.
6. Красновский А. А. Первичные механизмы фотоактивации молекулярного кислорода. История развития и современное состояние исследований // Биохимия. 2007. Вып. 10. С. 1311-1331.
7. Курков, А.С. Волоконный ВКР-лазер для прямой фотодинамической терапии [Электронный ресурс]. URL : phch.mrsu.ru/2009-2/pdf/2Kurkov.pdf (дата обращения 15.05.2013).

THE POSSIBILITY OF USING RAMAN LASER IN EXPERIMENTAL CERVICAL CANCER

© 2013 T.P. Gening¹, O.S. Voronova¹, A.S. Kurkov², E.M. Sholokhov²

¹Ulyanovsk State University, Ulyanovsk

²General Physics Institute named after A.M. Prokhorov, RAS

The assessment of influence of the Raman-laser with the wavelength of 1265 nm on morphometric indicators of experimental tumor tissue of cervical cancer has been carried out. Pro - and antioxidant status of neoplasma in mice has been studied after Raman-laser irradiation in energy density of 212 and 1062 J/cm². It is established that laser radiation on the 30th day of tumor growth leads to a reduction in specific volume of a tumor parenchyma and an apoptotic index. The indicators of the system “lipid peroxidation - antioxidants” change dose-dependently. The irradiation by the Raman-laser in dose of 1062 J/cm² can lead to the development of an oxidative stress in a radiation zone.

Keywords: cervical cancer, lipid peroxidation, antioxidants, Raman laser.

Tatiana Gening, Doctor of Biology, Professor, Head at the Physiology and Pathophysiology Department of the Faculty of Medicine, Head at the Molecular and Cell Biology Laboratory of Research Institute of Technology named by S.P. Kapitsa. E-mail: Naum-53@yandex.ru

Olga Voronova, Candidate of Biology, Associate Research Fellow at the Research Institute of Technology named by S.P. Kapitsa. E-mail: baby13.87@mail.ru

Andrey Kurkov, Doctor of Physics and Mathematics, Leading Research Fellow. E-mail: kurkov@kapella.gpi.ru

Eugene Sholokhov, Candidate of Physics and Mathematics, Senior Research Fellow.