

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
Кафедра микробиологии**

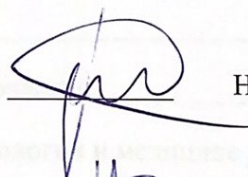
Направление подготовки (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (специализация, магистерская программа): Микробиология и вирусология

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИМПУЛЬСНОГО  
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК  
КОЖИ ЧЕЛОВЕКА**

Обучающийся 2 курса

группы 01-040-2



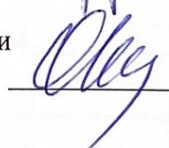
Н.И. Шамсутдинов

Научный руководитель  
канд. биол. наук, доцент



П.В. Зеленихин

Заведующий кафедрой микробиологии  
д-р биол. наук, профессор



О.Н. Ильинская

Казань–2022

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	<b>4</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>5</b>
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>7</b>
1.1 Лазерная фототерапия	7
1.1.1 УФБ терапия	8
1.1.2 УФА терапия	9
1.1.3 ПУВА – терапия	9
1.2 Низкоинтенсивная лазерная терапия в медицине	10
1.2.1 Лечение псориаза	11
1.2.2 Лечение витилиго	12
1.3 Фотодинамическая терапия в биологии и медицине	13
1.3.1 Фотосенсибилизаторы применяемые в ФДТ	15
1.3.2 Фотодинамическая терапия с использованием наночастиц	17
1.3.3 Наночастицы как переносчики энергии	18
1.3.3.1 Наночастицы активируемые рентгеновскими лучами	18
1.3.3.2 Квантовые точки	19
1.4 Биологическая активность наночастиц	20
1.4.1 Применение наночастиц в биологии и медицине	22
1.5 Наночастицы покрытые полимерами	24
1.5.1 ПЭГ-илированные наночастицы	26
1.5.2 ПОЗ-илированные наночастицы	27
1.5.3 Наночастицы покрытые ПВП	27
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	<b>29</b>
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	<b>29</b>

2.1 Используемые в экспериментальной работе лазерные установки _____	29
2.2 Характеристика наночастиц _____	29
2.3 Радахлорин _____	30
2.4 Культуры клеток _____	31
2.5 Колориметрическое определение выживаемости клеток при помощи МТТ-теста _____	33
2.5.1 Оценка выживаемости клеток А549 при сочетанном действии УФ излучения, наночастиц и радахлорина _____	34
2.5.2 Характеристика влияния длины волны и длительности импульса ультрафиолетового излучения на клетки HSF _____	34
2.5.3 Оценка влияния импульсного УФ излучения разной мощности на жизнеспособность клеток HSF и hKc _____	35
2.6 Статистическая обработка результатов _____	35
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ _____</b>	<b>36</b>
3.1 Сочетанное действие импульсного ультрафиолетового излучения, наночастиц и радахлорина на клетки карциномы легкого человека А549 _____	36
3.2 Влияние длины волны и длительности импульса ультрафиолетового излучения на клетки HSF _____	40
3.3 Влияние мощности импульсного ультрафиолетового лазерного излучения на клеточные культуры фибробластов и кератиноцитов кожи человека _____	42
3.3.1 Влияние мощности импульсного ультрафиолетового излучения на клетки HSF _____	42
3.3.2 Влияние мощности импульсного ультрафиолетового излучения на клетки hKc _____	44
<b>ВЫВОДЫ _____</b>	<b>46</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ _____</b>	<b>47</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – неинвазивный терапевтический метод, который подтвержден для клинического использования против различных заболеваний, таких как: возрастная дегенерация желтого пятна (ВДЖП) [Pegaz *et al.*, 2005], псориаз [Bonnet, Martinez, 2001] и некоторых онкологических заболеваний. В основе ФДТ лежит способность фотосенсибилизатора (ФС) переносить энергию протона для генерации активных форм кислорода (АФК) включая I тип (супероксид анион, гидроксильный радикал, пероксид водорода) и II тип (синглетный кислород) при облучении соответствующими длинами волн [Da *et al.*, 2015]. Большинство ФС гидрофобны и нуждаются в системе доставки, такой как наночастицы [Konan *et al.*, 2002].

Наноматериалы используются в различных областях биомедицины и биологии [Lucky *et al.*, 2015]. Среди огромного количества наноматериалов особое место занимают наночастицы трифторида, легированные редкоземельными элементами, в основном благодаря их превосходной фотостабильности, длительному времени жизни при люминесценции и эмиссии в узком спектре, что очень важно для промышленных и биомедицинских применений [Dong *et al.*, 2015]. Особый успех был достигнут в разработке люминесцентных наночастиц на основе легированных редкоземельными элементами трифторидов, которые используются «гибридной» лучевой терапии – фотодинамической терапии [Bekah *et al.*, 2016].

Терапия разнообразных патологий, включая злокачественные новообразования, при помощи фотоактивных наночастиц – один из современных перспективных подходов. Исследовав пути взаимодействия наноструктур с клетками и сконцентрировав их тем или иным способом в области воздействия (например, опухоли), с последующим воздействием когерентного излучения на фотоактивные наночастицы, можно добиться

весомого терапевтического эффекта. Следовательно, наноматериалы на основе трифторидов редкоземельных металлов обладают рядом перспектив для их целенаправленного использования в различных областях, в первую очередь, включая биомедицинские исследования.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы являлась характеристика биологической активности импульсного ультрафиолетового излучения в отношении клеток кожи человека.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

- 1) Охарактеризовать сочетанное действие фотоактивных наночастиц и радахлорина на клетки аденокарциномы легкого человека A549 при облучении импульсным лазерным излучением.
- 2) Проанализировать токсическое действие импульсного ультрафиолетового излучения разных длин волн и режимах твердотельного лазера на активной среде  $\text{Ce:LiLu}_{0,7}\text{Y}_{0,3}\text{F}_4$  на культуру фибробластов кожи человека при помощи МТТ-теста;
- 3) Охарактеризовать действие импульсного лазерного излучения разной мощности на клетки фибробластов кожи HSF;
- 4) Охарактеризовать действие импульсного лазерного излучения разной мощности на клетки кератиноцитов кожи hKc.

## ВЫВОДЫ

1) Охарактеризован потенциал совместного применения фотоактивных наночастиц  $Y_{0,3}Ce_{0,5}Tb_{0,2}F_3$  и радахлорина в фотодинамической терапии. Установлена роль покрытия наночастиц поливинилпирролидоном в реализации цитотоксического действия их комплексного препарата с радахлорином. В случае предварительной инкубации клеток A549 в присутствии покрытых ПВП наночастиц и радахлорина выживаемость клеток после облучения снижается до уровня  $62 \pm 4\%$ .

2) Охарактеризовано токсическое действие импульсного ультрафиолетового излучения твердотельного лазера на активной среде  $Ce:LiLu_{0,7}Y_{0,3}F_4$  на культуру фибробластов кожи человека. Облучение в выбранном диапазоне длин волн (300 нм, 310 нм и 325 нм), длительности импульса (1 – 10 нс) и временем облучения (5 – 15 мин) не оказывает существенного влияния на жизнеспособности фибробластов кожи человека, что подтверждает возможность применения такой фотодинамической терапии при лечении дефектов кожи.

3) Охарактеризовано влияние мощности импульсного ультрафиолетового излучения твердотельного лазера на активной среде  $Ce:LiLu_{0,7}Y_{0,3}F_4$  на культуру фибробластов и кератиноцитов кожи человека. Лазер с длиной волны 310 нм и мощностью 111 мкДж/с обладал слабо выраженным ингибирующим жизнеспособность действием на клетки, которое сохранялось через 24 часа после облучения.