

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-167

МЫШИНАЯ МОДЕЛЬ ДОРСАЛЬНОЙ КАМЕРЫ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ***MOUSE MODEL OF THE DORSAL CHAMBER FOR PHOTODYNAMIC THERAPY**

А. М. Кольченко, А. А. Власов, М. Е. Степанов, Т. В. Егорова, Е. В. Хайдуков, Р. А. Акасов

Московский педагогический государственный университет

A. M. Kolchenko, A. A. Vlasov, M. E. Stepanov, T. V. Egorova, E. V. Khaydukov, R. A. Akasov

Moscow Pedagogical State University

✉ anya.kolchenko@gmail.com

Аннотация

Развитие резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам и антибиотикам — серьезный вызов для здравоохранения. Резистентные штаммы устойчивы к терапии и часто обладают высокой вирулентностью, что может приводить к развитию опасных внутрибольничных инфекций. Перспективным методом лечения является фотодинамическая терапия. Настоящая работа посвящена разработке мышинной модели дорсальной камеры для проведения фотодинамической терапии.

Abstract

The development of microbial resistance to antimicrobial drugs and antibiotics is a serious challenge for healthcare. Resistant strains are resistant to therapy and often have high virulence, which can lead to the development of dangerous nosocomial infections. Photodynamic therapy is a promising method of treatment. This work is devoted to the development of a mouse model of the dorsal chamber for photodynamic therapy.

Антибактериальная фотодинамическая терапия (аФДТ) представляет собой перспективный подход для терапии антибиотикорезистентных инфекций. Метод основан на использовании фотосенсибилизаторов (ФС), которые при облучении светом заданного диапазона могут генерировать токсичные для патогенов активные формы кислорода (АФК) и (или) свободные радикалы. Благодаря тому, что токсический эффект АФК и свободных радикалов неспецифичен, метод эффективен в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [1]. Использование света для активации ФС позволяет обеспечивать адресное воздействие терапии только на пораженную ткань и снизить побочные эффекты. Для изучения применения фотосенсибилизаторов в медицине нужно проводить исследования иммунологического ответа организма на введенный препарат. Для понимания этих механизмов необходимо разработать мышинные модели, имитирующие инфекции человека.

Цель настоящей работы — разработать мышиную модель бактериально-обсемененной раны для дальнейшего использования дорсальной камеры для проведения фотодинамической терапии.

В качестве основы модели бактериально-обсемененной раны была использована дорсальная камера, разработанная сотрудниками кафедры теоретической физики МПГУ [2]. После имплантации дорсальной камеры с одной из сторон кожной складки устанавливали покровное стекло без вырезания кожи, со второй же стороны верхний слой кожи глубиной около 150 мкм или 1 мм удаляли при помощи микрохирургических инструментов. Для моделирования бактериального воспаления использовали ампициллинрезистентные бактерии *Escherichia coli* с флуоресцентным белком mKate, которые высаживали на раневую поверхность в виде суспензии в стерильном физрастворе. Наличие бактерий в ране фиксировали по уровню свечения через флуоресцентный микроскоп с набором фильтров.

На модели с вырезом 1 мм уже к 8-му дню микроскопирование было затруднено из-за объема скопившегося экссудата. Подсаженные бактерии вызвали сильную воспалительную реакцию в этой модели, к 15-му дню было невозможно ориентироваться по сосудистой сетке из-за нечеткости картинки, бактерии можно было флуоресцентно распознать только при рассмотрении мазка экссудата в отличие от первого объекта с менее глубоким срезом в 150 мкм, где сосуды и бактерии были различимы при микроскопии. Однако важно, что на любом из исследуемых экспериментальных животных в течение всего эксперимента наблюдалась флуоресценция бактерий, что указывает на успешность создания бактериально-обсемененной раны.

* Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства просвещения РФ «Физика наноструктурированных материалов и высокочувствительная сенсорика: синтез, фундаментальные исследования и приложения в фотонике, науках о жизни, квантовых и нанотехнологиях» (тема № 124031100005-5).

Таким образом, были определены оптимальные условия для создания мягкого ответа организма на введение *E. coli* и для успешной визуализации бактерий в бактериально-обсемененной ране.

Для тестирования работоспособности модели был проведен эксперимент по ФДТ с использованием разработанной модели. Для этого на раневую поверхность была поставлена капля суспензии ампициллинрезистентных бактерий *E. coli*, далее по истечении трех дней в рану добавили рибофлавин в концентрации 2 мг/мл и провели ФДТ с использованием диода 530 нм с дозой облучения 12 Дж. Рибофлавин (витамин В2) был использован в качестве модельного ФС, так как является природным соединением, которое давно используется в клинике, является нетоксичным веществом и обладает фотодинамическими свойствами при облучении УФ и синим светом [3]. До и после терапии фиксировали уровень свечения бактерий в ране с помощью снимков через флуоресцентный микроскоп с набором фильтров. Снимки обрабатывали в программном обеспечении ImageJ. Таким образом, было выявлено, что уровень свечения бактерий, отражающий их жизнеспособность, снизился на 32 %, что подтверждает успешность разработанной методики.

В результате проведенной работы была разработана мышиная модель бактериально-обсемененной раны с использованием дорсальной камеры, а также проведен пилотный эксперимент, демонстрирующий успешность применения модели для ФДТ.

Литература

1. Saha M., Sarkar A. Review on multiple facets of drug resistance: A rising challenge in the 21st century // J. Xenobiotics. 2021. Vol. 11, No. 4. P. 197–214.
2. Stepanov M.E., Vlasov A.A. Demina P.A. et al. Intravital Microscopy — A Window Into The World Of Bioprocesses // Photonics Russia. 2024. Vol. 2024, No. 8. P. 640–648.
3. Insińska-Rak M., Sikorski M., Wolnicka-Glubisz A. Riboflavin and Its Derivates as Potential Photosensitizers in the Photodynamic Treatment of Skin Cancers // Cells. 2023. Vol. 12, No. 18.