

Биомедицинские приборы и системы

УДК 615.84 : 616-006

Н.А. Николов, канд. техн. наук

Изменения структурно-динамических свойств водных растворов при их взаимодействии с пространственно-неоднородным электромагнитным полем

В работе исследовались структурно-динамические свойства водных растворов: 0,9 % раствор NaCl и доксорубина. На основе данных спонтанной хемилюминесценции, макрокристаллической структуры высушенных образцов и их термолюминесценции показано, что внешнее пространственно-неоднородное электромагнитное поле способствует увеличению структурированности раствора ДР при понижении устойчивости динамических свойств системы.

The structure-dynamics properties of water solution: 0,9% NaCl solution and doxorubicin are investigated. Based on data from spontaneous luminescence, macrocrystalline structure of dried samples and their thermoluminescence showed that the external spatially non-uniform electromagnetic field increases characteristic dimension molecular cell of doxorubicin with decreasing steady-state dynamic properties of the system, increasing the "fragility".

Ключевые слова: *пространственно-неоднородное электромагнитное поле, водный раствор, доксорубин, молекулярная ячейка.*

Введение

Одним из перспективных направлений развития методов лечения в онкологии является локальная электромагнитная гипертермия, эффективность которой в качестве универсального модификатора химиолучевого воздействия доказана в многочисленных клинических исследованиях. К аппаратному обеспечению радиочастотной электромагнитной гипертермии злокачественных новообразований относится, в частности, аппарат «Магнитерм» («Радмир», Украина), разработанный в Национальном институте рака [1–3]. Методики лечения злокачественных опухолей с использованием данного аппарата основаны на сочетанном, синергетическом действии химио- или лучевой терапии и электромагнитного облучения (ЭО), вызывающее повышение температуры опухоли в сред-

нем не более чем на 0,5 – 1,5 °С. Многочисленные экспериментальные данные и клинические наблюдения показали, что высокая эффективность лечения в большой степени определяется неоднородностью электромагнитного поля (ЭМП) [1–4]. Однако, фундаментальные основы научных знаний о механизмах взаимодействия ЭМП с опухолями и наиболее оптимальные параметры излучающих антенн-аппликаторов все еще недостаточно изучены и не определены. Не известно так же на каком уровне организации живого организма следует рассматривать взаимодействие внешнего ЭМП с опухолью: системном, органном, тканевом, субтканевом, клеточном или молекулярном уровнях.

Одним из акцепторов внешнего ЭМП при облучении биологических тканей, в частности опухолей, является водная компонента. Водную компоненту следует рассматривать не только как среду растворения, источник протонов, свободных электронов и радикалов, но и как элемент, определяющий структурно-динамические и функциональные свойства растворенных в воде низко- и высокомолекулярных веществ.

В работах [5, 6], были предложены качественные теоретические модели структурной организации водных растворов. В основе данных работ лежит понятие «молекулярная ячейка» (МЯ), которая предполагает рассмотрение растворенных в воде веществ как комплекс растворитель-растворенное вещество. Другими словами МЯ представляет собой эквивалент кластерных структур растворителя. В этом случае следует понимать, что образующиеся структуры являются по большей мере динамическими образованиями.

Можно предположить, что пространственно-неоднородное поле при достаточном уровне энергии и времени облучения способно изменять структурные свойства водной среды, как это хорошо иллюстрирует явление образования ячеек Бернара, где неоднородное поле образуется за счет градиента температур в одном из пространственных направлений [7].

Таким образом, возвращаясь к проблемам онкологии, можно предположить, что в случае

высокой гидратации цитотоксических молекул препаратов (МЯ максимального размера) они будут оказывать минимальное воздействие как на патологическую зону, так и на здоровые органы и системы в целом. В случае, если под действием, например, локального/регионарного электромагнитного воздействия, размеры МЯ будут резко уменьшаться, это будет означать и увеличение активности химиопрепарата. Другими словами: терапия становится более направленной, увеличивается избирательность, уменьшается токсическое действие.

Следует ожидать, что уменьшение характерного пространственно-временного масштаба колебаний МЯ (их образования и частично распада) приводит к соответствующему уменьшению размеров МЯ и наоборот. Существенное увеличение размеров МЯ влечет за собой увеличение термодинамической стабильности ее элементов.

Исходя из этого, целью данной работы является: оценка изменения пространственно-динамических свойств водных растворов NaCl и противоопухолевого препарата доксорубина (ДР) при их взаимодействии с пространственно-неоднородным ЭМП.

1. Материалы и методы

1.1. Материалы

Для исследования были выбраны водные растворы: 0,9 % раствор NaCl и раствор ДР – «Доксолек» («Биолек», Украина).

ДР – является одним из самых распространенных препаратов при лечении опухолей различной локализации. Исходный раствор ДР разбавляли 0,9 % раствором NaCl до концентрации 0,2 мг/мл.

ЭО подвергалось 8 мл исследуемых растворов.

1.2. Электромагнитное облучение

В качестве источника ЭМП для ЭО растворов выступал прототип аппарата «Магнитерм» («Радмир», Украина) со следующими характеристиками: рабочая частота $27,00 \pm 0,16$ МГц; мощность генерируемого сигнала 45 Вт; аппликатор – рамочного типа. Время облучения образцов составляло 15 мин. Начальная температура растворов – 20 ± 1 °С. После окончания облучения исходная температура повышалась не более чем на 1 °С.

Облучаемый объект располагали непосредственно в ближнем поле излучающей антенны, т.е. в области несформировавшейся плоской волны. В этом случае изменение распределения поля в пространстве (неоднородность)

можно достичь за счет искривления петли аппликатора. Использовались два вида аппликаторов: аппликатор с прямолинейным профилем (АПП) и с профилем дуги круга (АДК) (рис. 1). Радиус кривизны в случае АДК составляет 5 см, эллиптические размеры АПП – 5 x 7 см.



а



б



в

Рис. 1. Рамочные аппликаторы для электромагнитного облучения образцов, вид сбоку: а – АПП, б – АДК, в – взаимное расположение аппликатора и облучаемого образца

1.3. Методы исследования

Для исследования явлений самоорганизации растворов NaCl и ДР анализировались временные зависимости спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) образцов, макрокристаллическую структуру высушенных образцов и термолюминесценцию (ТЛЦ) высушенных образцов.

Предполагалось, что СХЛ позволит оценить наличие и изменение динамической самоорганизации системы, кристаллическая структура – самоорганизацию, как результат проявления динамических флуктуаций в макро масштабе; ТЛЦ – интегрально оценить энергию связей между «узлами», наличие дефектов в кристаллической решетке и примесей в ней, и, как следствие стабильность подсистем.

1.3.1. Спонтанная хемилюминесценция

Измерения проводили на стенде медицинского хемилюминометра ХЛМИЦ-01 (Украина). Рабочее напряжение на фотоэлектронном умножителе составляло 1600 В. Коэффициент эффективности регистрации сверхслабого свечения не менее 0,005 имп/квант. Объем исследуемых растворов в измерительной кювете составлял 6 мл.

Измерение СХЛ раствора проводилось в течение 20 - 25 мин. Время дискретизации – 7,3 с.

1.3.2. Оценка макрокристаллической структуры

После ЭО растворов, образцы пепетировались на сферические предметные стекла диаметром 40 мм и глубиной 3 мм. Объем пепетирования составлял 0,5 мл. Образцы высушивались в течении 3-4 часов в термостате с комнатной температурой 21 °С. Полученная после высушивания кристаллическая структура трансформировалась в цифровое изображение при помощи сканера «HP Scanjet G2410» (Китай), с разрешающей способностью 400 dpi, с 256 градациями серого.

1.3.3. Термолюминесценция

Полученные макрокристаллические структуры тщательно счищались с предметного стекла на фольгированную бумагу. Полученные порошки изучались на термолюминометре LTM-ридер («FimeI», Франция).

Параметры ТЛЦ-сканирования образцов: рабочее высокое напряжение фотоэлектронного умножителя – 850 В; преднагрев 6,0 °С/с; продолжительность первого плато 7,0 с; температура первого плато 140 °С; нагрев второго участка 6,0 °С/с; продолжительность второго плато 15,0 с; температура второго плато 245 °С. Анализ под-вергался сигнал, начиная с 20 с сканирования.

После первичного отжига сухих кристаллических образцов и записи ТЛЦ кривой производили вторичный отжиг. Изменение сигнала при вторичном отжиге образцов можно трактовать как информацию о стабильности структур: чем больше разница между первичным и вторичным отжигом, тем структуры менее стабильные, «рыхлые».

2. Результаты исследований

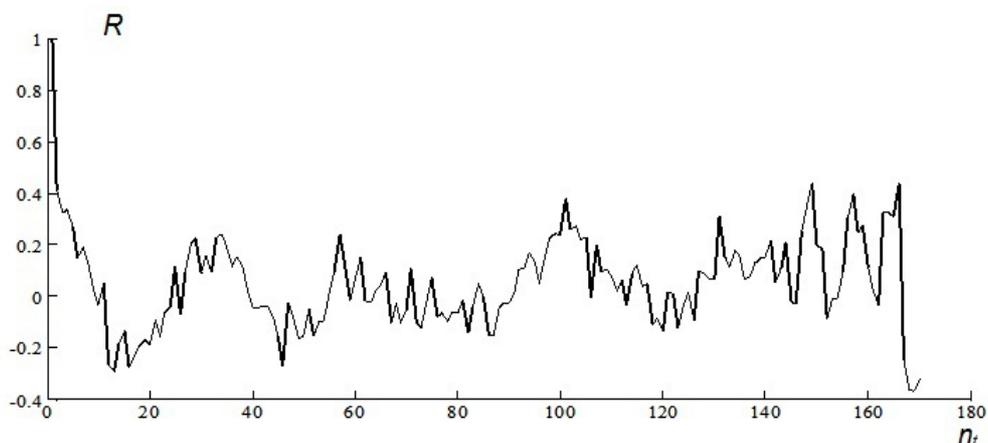
2.1. Спонтанная люминесценция

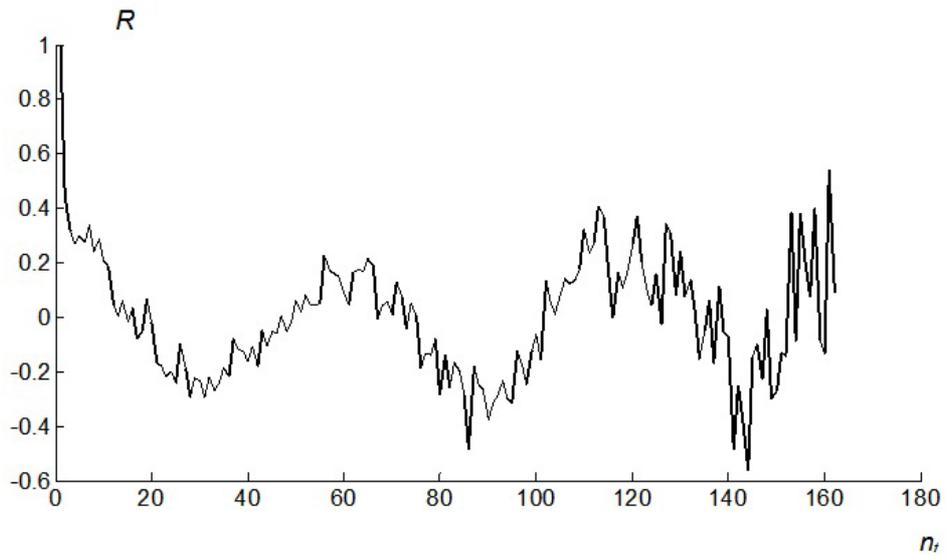
Наиболее типичные автокорреляционные функции измеренных сигналов представлены на рис. 2 - 3, где n_t – количество дискретных отсчетов, характеризующие временной сдвиг ($n_t=1$ соответствует 7,3 с), R – коэффициент корреляции.

Автокорреляционный анализ полученных сигналов показывает, что при ОБЧ облучении раствора NaCl характерные периоды повторения сигнала увеличиваются и становятся более выраженными по сравнению с интактными образцами. В большей степени это выражено в растворах после ЭО с АДК.

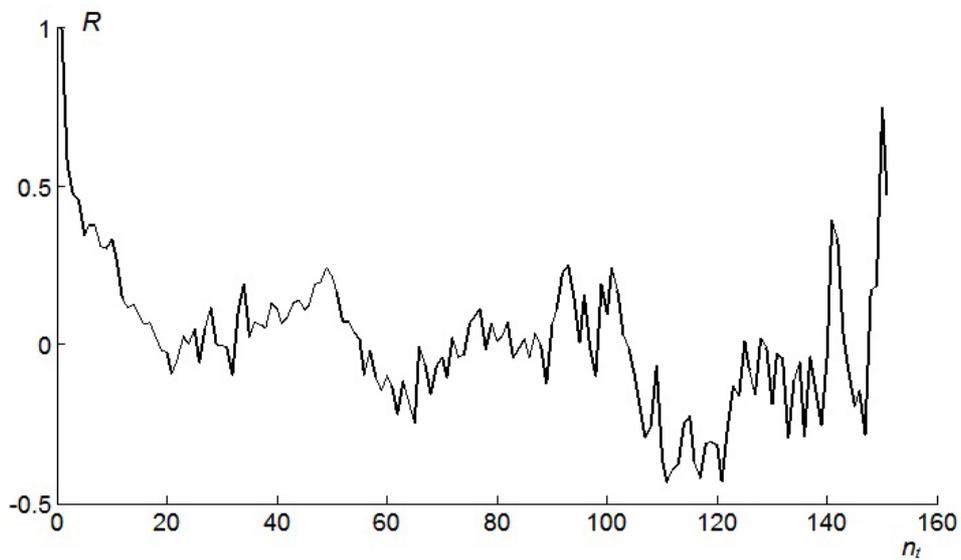
Количественный анализ результатов СЛЦ представлен в табл.1, где I – средняя интенсивность СЛЦ на протяжении времени измерения; E – энтропия сигнала.

Исходя из представленных данных, можно предположить, что размеры МЯ после ЭО возрастают, о чем свидетельствует повышение более чем в 2 раза средней интенсивности сигнала и проявлением низкочастотных периодических закономерностей на коррелограммах. При этом для низкомолекулярного раствора NaCl наблюдается существенное повышение энтропии сигнала после ЭО, больше с АДК; для раствора ДР± NaCl это соответствует только облучению с АПП.



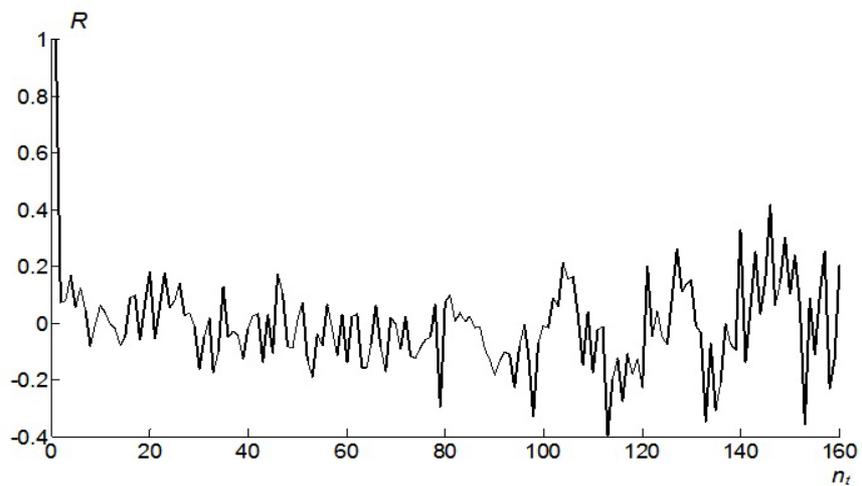


б



в

Рис. 2. Типичные автокорреляционные функции СХЛ 0,9% раствора NaCl: а– контрольные образцы, без ЭО; б – после ЭО с АДК; в – после ЭО



а

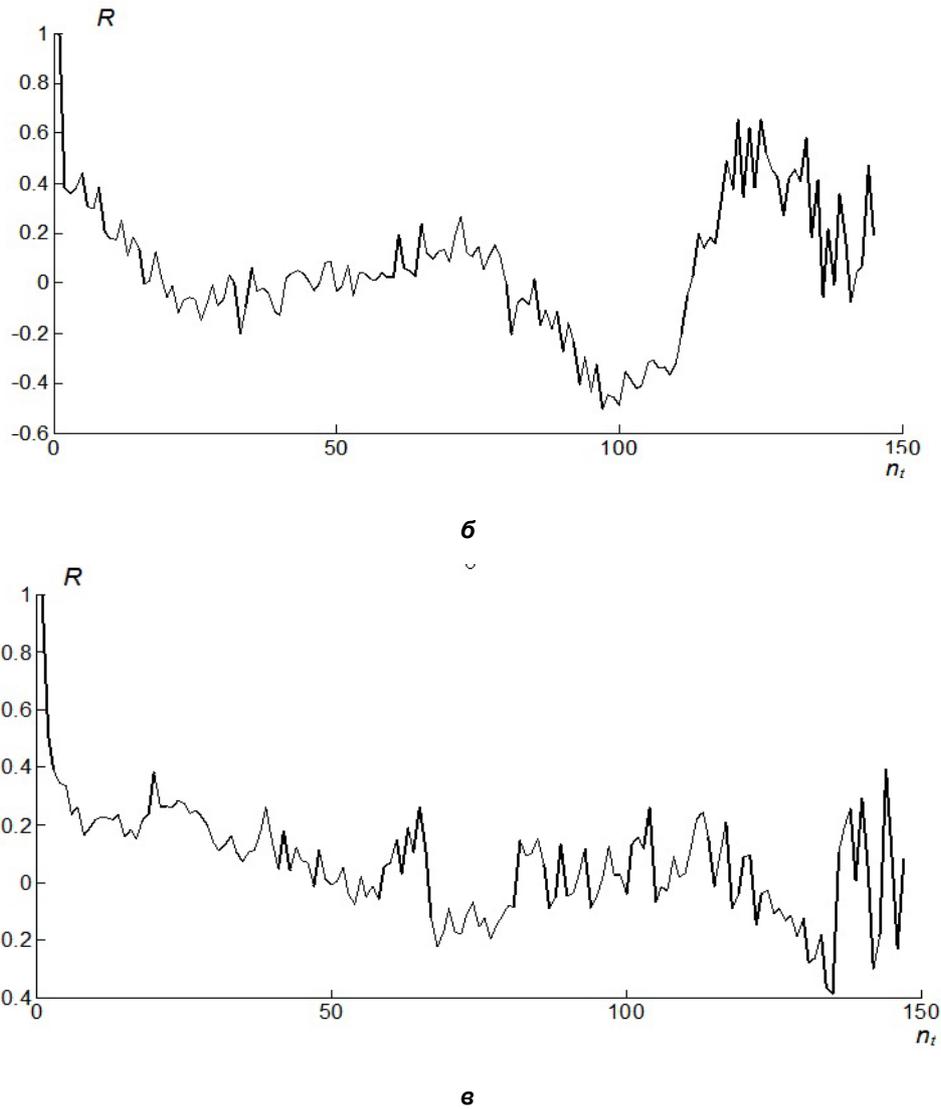
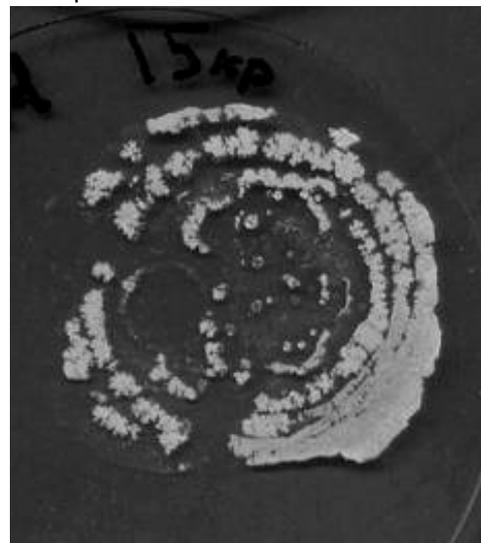


Рис. 3. Типичные автокорреляционные функции СХЛ раствора ДР ± NaCl: а– контрольные образцы, без ЭО; б – после ЭО с АДК; в – после ЭО с АПП

Параметр	Раствор NaCl		
	Контроль	АДК	АПП
$I \times 10^{-2}$, имп./с	30,5±4,1	72,0±3,4 *	80,8±2,7 *, **
$E (\pm 5-7 \%)$	489482	802208 *	580162 **
	Раствор ДР± NaCl		
$I \times 10^{-2}$, имп./с	9,7±0,5	20,3±0,9 *	22,0±1,3 *, **
$E (\pm 5-7 \%)$	382846	345053	483246 *, **

ской структуры изучаемых образцов представлены на рис. 4.

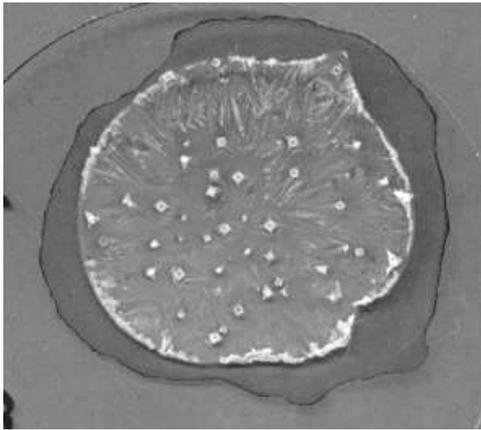


Примечание: * – статистически значимая разница ($p < 0,05$) по отношению к соответствующим контрольным образцам; ** – статистически значимая разница ($p < 0,05$) между действием на растворы ЭМП от АДК и АПП

2.2. Макрокристаллическая структура

Примеры изображений макрокристалличе-

а



б

Рис. 4. Типичные изображения макрокристаллической структуры NaCl (а) и ДР (б)

Исходя из полученных изображений кристаллической самоорганизации исследуемых образцов анализировались следующие характеристики системы: площадь «зоны интереса» (ЗИ), занимаемая кристаллами NaCl (S_1); площадь ЗИ, занимаемая ДР (S_2); энтропия распределения уровней яркости ЗИ, соответствующей S_1 . Здесь следует обратить внимание, что для образцов, полученных из растворов ДР в ЗИ S_1 ДР и NaCl образуют совместные, зависящие друг от друга, структуры.

Результаты количественного анализа представлены на рис. 5-7.

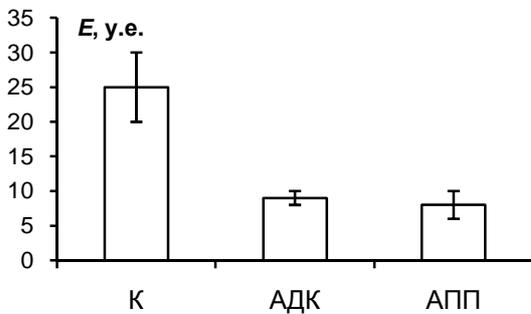


Рис. 5. Энтропия макрокристаллической структуры NaCl

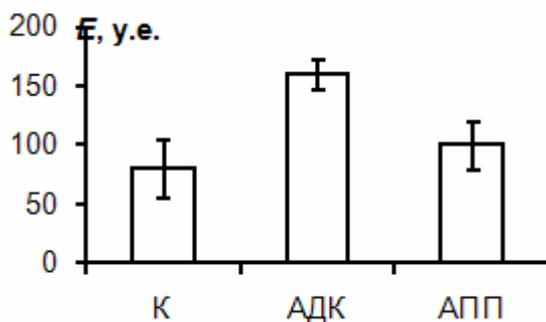


Рис. 6. Энтропия макрокристаллической структуры NaCl+ДР (S_1)

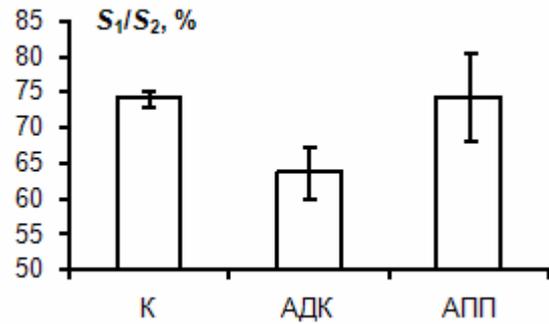


Рис. 7. Отношение площадей ЗИ S_1 и S_2 для образцов ДР± NaCl

Анализируя полученные данные можно заметить, что макрокристаллическая структура образцов полученные из 0,9% раствора NaCl при ЭО существенно отличается от интактных. При этом макрокристаллическая структура между образцами облученные АДК и АПП не отличалась. Для структуры ДР+NaCl (S_1) отмечалось большая энтропия распределения кристаллов при АДК, примерно в 1,5 раза больше, чем при АПП и в 2 раза чем в контроле.

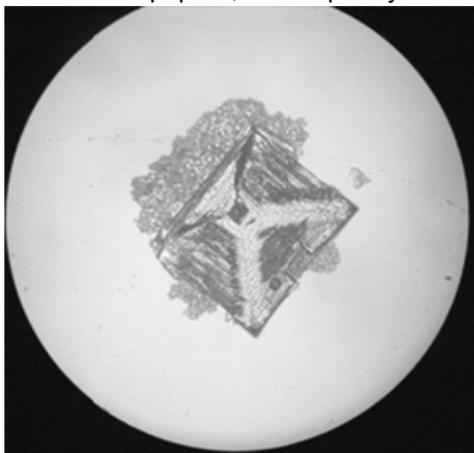
Анализ площади растекания капель раствора ДР показывает, что при АДК площадь ДР (S_2) больше, чем в контроле и при АПП. Это свидетельствует в пользу того, что в данной группе образцов МЯ, в которые входят молекулы ДР, уменьшаются в размерах, то есть молекулы ДР относительно свободны.

Следует отметить чрезвычайную чувствительность макрокристаллической структуры образцов, полученных из 0,9 % раствора NaCl, от внешних условий. Небольшие изменения температуры, атмосферного давления, примесей могут существенно изменить распределение и форму кристаллов. В эксперименте отмечалось отличие полученных структур в зависимости от фирмы изготовителя физиологического раствора. Макрокристаллическая структура, полученная из раствора ДР, отличалась существенно большей повторяемостью.

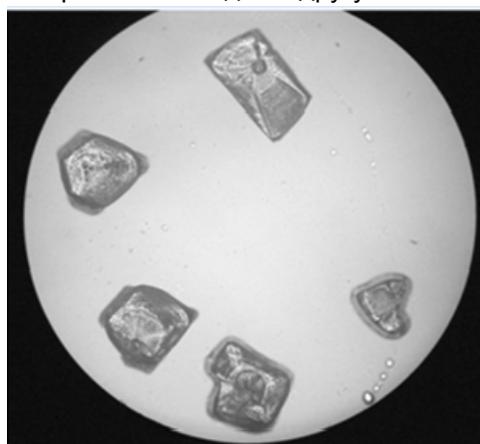
При пилотных исследованиях кристаллов NaCl, были оценены формы кристаллов в зависимости от объема пепетирования раствора на предметное стекло. Отмечалось, что при объеме пепетирования менее 10 мкл наблюдалась достаточно хорошая повторяемость данных. Однако, в этом случае, макрокристаллическая структура представляла собой счетное количество отдельных кристаллов, что не совсем соответствовало цели исследования. Тем не менее, данные результаты показывают высокую чувствительность системы к внешним факторам воздействия. Примеры полученных изображе-

ний представлены на рис. 8. Так, в контрольных образцах раствора NaCl наблюдались единичные крупные кристаллы, правильной формы; после ЭО – кристаллы соли статистически были неправильной формы, а при уменьшении

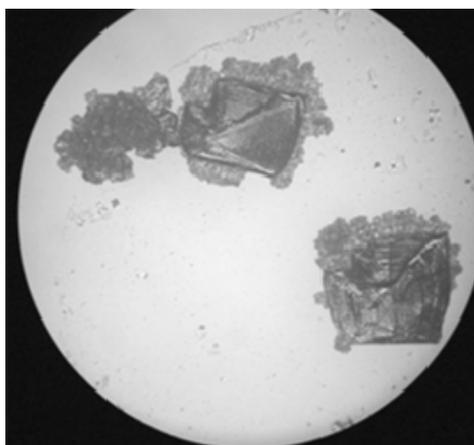
размеров – с закругленными углами; после ультразвукового воздействия на раствор (ультразвуковым диспергатором «УЗДН-А» (СССР)) – кристаллы имели каплевидные структуры, не редко встраиваемые одна в другую.



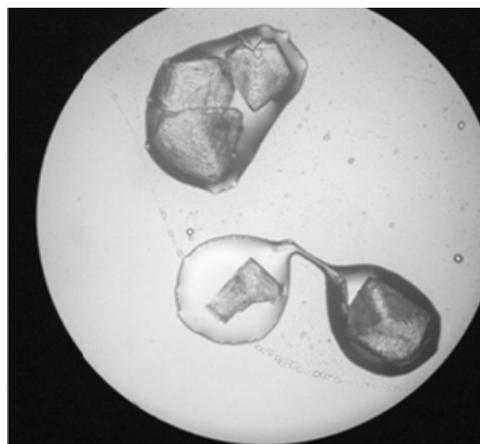
а



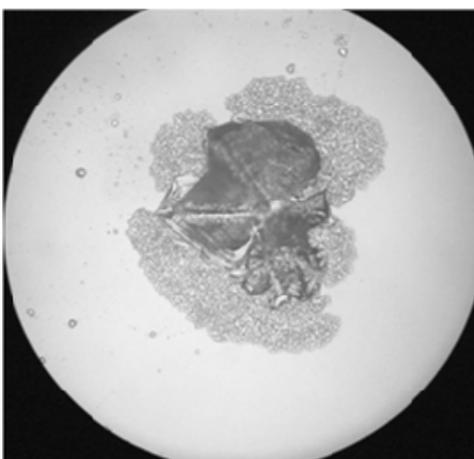
z



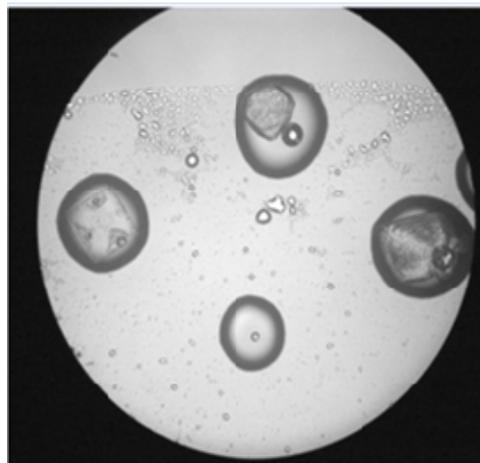
б



д



в



е

Рис. 8. Кристаллические структуры NaCl по результатам пилотных исследований. Оптическая микроскопия, увеличение в 40 раз: а, б – интактные образцы; в, г – после ЭО раствора; д, е – после ультразвукового воздействия

2.3. Термолюминесценция микрокристаллических образцов

Типичные кривые ТЛЦ сухих кристаллических порошков представлены на рис. 9.

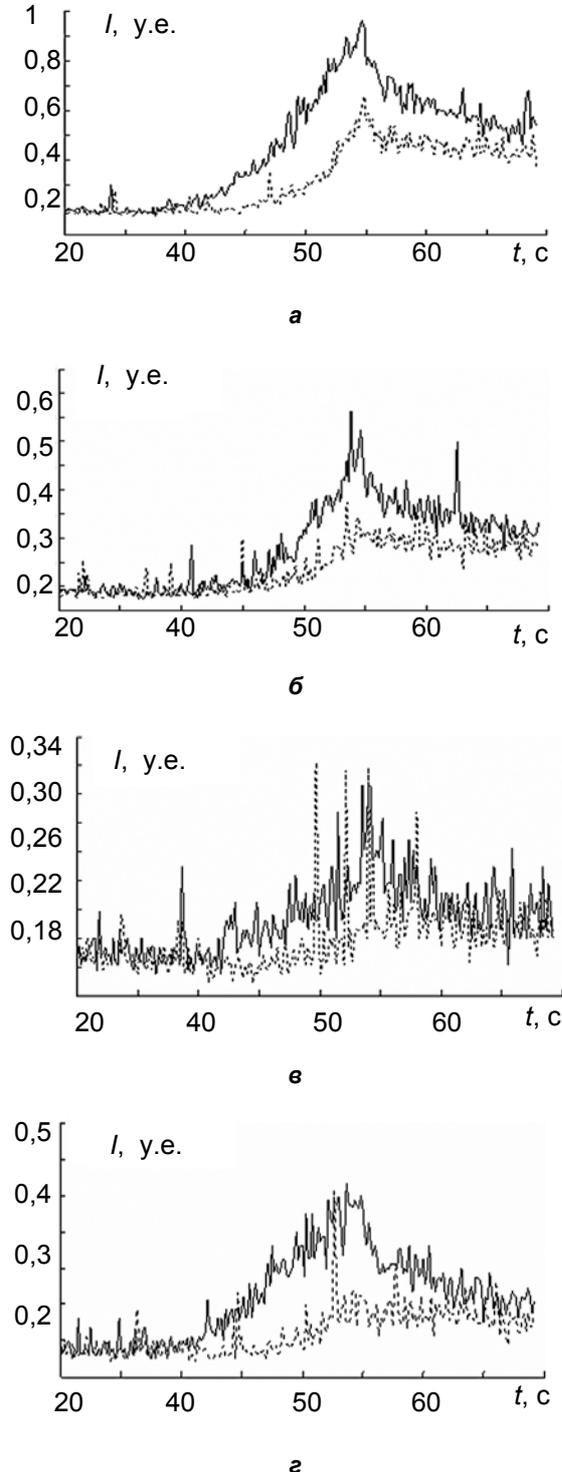


Рис. 9. Наиболее типичные сигналы ТЛЦ: а – intactных кристаллов NaCl; б - кристаллов NaCl, полученные из раствора облученного АПП; в – intactных образцов полученных из раствора ДР (ДР+NaCl), г - образцов полученных из раствора ДР, облученных АПП. Сплошная линия – первичный отжиг образца, пунктирная – вторичный отжиг образца

Следует отметить, что для образцов полученных для 0,9 % раствора NaCl было добавлено две группы образцов:

- кристаллические правильные пирамидальные структуры NaCl (площадь основания пирамиды порядка 2 x 2 мм), полученные путем высушивания 100 мл 0,9% раствора NaCl;
- аморфный порошок NaCl, полученный после дробления кристаллов в микровибромельнице «MMVE-005» («Гефест», Россия) с интенсивностью подвода механической энергии 20 Вт/г на протяжении 5 мин.

Результаты представлены на рис. 10.

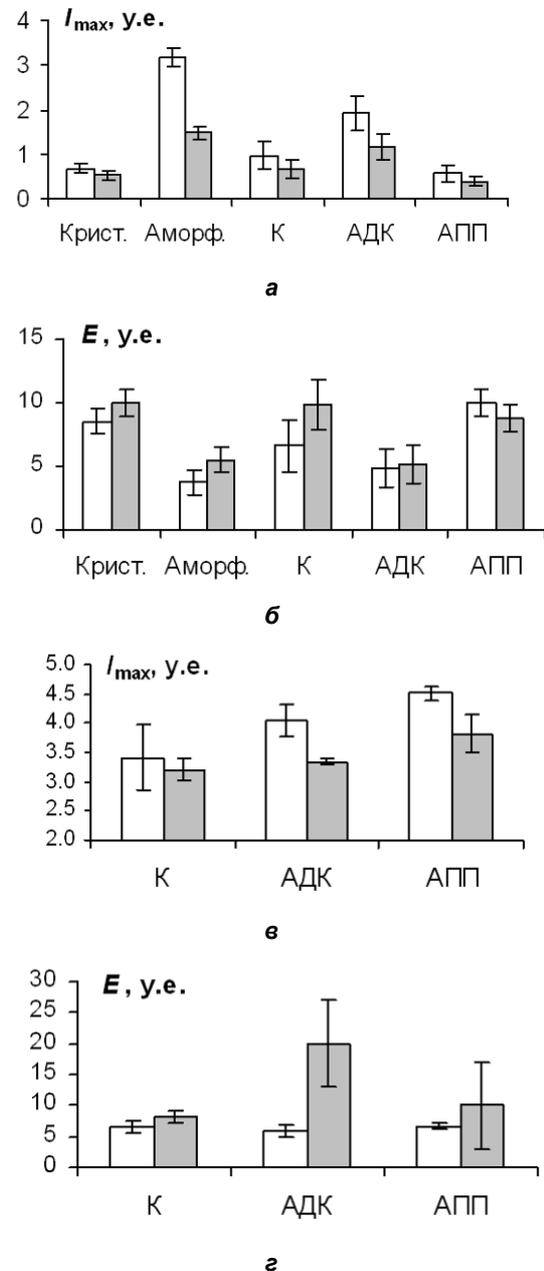


Рис. 10. Результаты ТЛЦ для кристаллических порошков NaCl, полученные из 0,9% раствора NaCl (а, б) и ДР (в, г): а – максимальная интенсивность ТЛЦ; б – энтропия сигнала. Белые столбцы – первичный отжиг, серые – вторичный.

Анализируя характеристики ТЛЦ NaCl можно заметить, что образцы, облученные с АДК, подобны ТЛЦ аморфных образцов; образцы, облученные с АПП, – к условно идеальным кристаллам.

ТЛЦ препаратов ДР показывает, что ЭО растворов способствует увеличению максимальной интенсивности ТЛЦ сухих препаратов. При этом отмечается более высокая энтропия сигнала образцов облученных АДК при вторичном отжиге. Это еще раз свидетельствует в пользу того, что на фоне увеличения структурно-динамических свойств образцов облученных неравномерным полем образующиеся наименее устойчивые динамические структуры.

Выводы

- Используемые в работе методы оценки действия ЭМП на растворы NaCl и ДР показывают их возможность эффективного применения при изучении структурно-динамических свойств соответствующих систем.
- ЭО радиочастотного диапазона способствует увеличению структурированности 0,9% раствора NaCl (увеличение размеров МЯ). В то же время, при облучении 0,9% раствора NaCl при помощи АДК МЯ становится менее стационарной системой, чем в интактных образцах, АПП – более стационарной.
- ЭО способствует увеличению структурированности раствора ДР (увеличение размеров МЯ). Увеличение размеров молекулярной ячейки в растворе ДР сопровождается понижением устойчивости динамических свойств системы.
- При облучении раствора ДР при помощи АДК наблюдается уменьшение взаимодействия между молекулярными субячейками NaCl и субячейками ДР.

Автор работы выражает признательность коллективу н/и лаборатории медицинской физики и биоинженерии Национального института рака

*Национальный технический университет Украины
«Киевский политехнический институт»*

за оказание содействия и обсуждения работы.

Литература

1. *Орел В.Е.,* Ніколов М.О., Дзятковська Н.М. та інш. Вплив зміни просторової неоднорідності електромагнітного поля на трансформацію радіохвиль та теплові характеристики фантомів і карциноми легені Льюїс // Фізика живого. – 2008. – Т. 16, №2. – С. 92 – 98.
2. *Nikolov N.A.,* Orel V.E., Smolanka I.I. at all. Apparatus for Short-Wave Inductothermy “Magnetotherm”// IFMBE Proceedings. – 2008. – Vol. 20, Part 4. – P. 294-298.
3. *Орел В.Е.,* Дзятковська І.І., Ніколов М.О. та інш. Вплив просторово-неоднорідного електромагнітного поля на протипухлинну активність цисплатину при дії на резистентний до нього під штамп карциноми легені «Льюїс»// УРЖ. – 2009. – Т.17. – С. 72 – 77.
4. *Николов Н.А.,* Донскова Т.В. Математическое моделирование роста злокачественных новообразований под синергетическим действием пространственно-неоднородного внешнего физического фактора и химиотерапевтического препарата // Электроника и связь. – 2010. – Т. 55, № 2. – С. 142 – 146.
5. *Лошицкий П.П.,* Николов Н.А., Курик М.В. Реакция водных систем на действие низкоинтенсивных физических факторов // Электроника и связь. – 2002. – №16. – С. 80 – 84.
6. *Галль Л.Н.,* Галль Н.Р. Механизм межмолекулярной передачи энергии и восприятия сверхслабых воздействий химическими и биологическими системами // Биофизика. – 2009. – Т. 54, № 3. – С. 563 – 574.
7. *Эбелинг В.* Образование структур при необратимых процессах. – М.: «Мир», 1979. – 279 с.