

Utnyttjande av laserexciterade fria syremolekyler för medicinsk terapi och desinfektion

Beskrivning

Bakgrund

Fria radikaler är kända att ha en toxisk effekt på levande celler, och en omfattande litteratur i ämnet finns. Fria radikaler, som ofta är enkla molekyler med stor reaktionsbenägenhet, bildas i människokroppen i naturliga processer, men även t.ex. vid bestrålning med joniserande strålning eller ultraviolett ljus. För att minska effekten av fria radikaler i kroppen har intag av vissa ämnen (antioxidanter eller "Quenchers"), t.ex. vitamin A, C eller E föreslagits, och en rik litteratur runt detta något kontroversiella ämne finns. Fria radikaler i medicinska sammanhang är ämnet för en internationell serie av konferenser, som reguljärt anordnas på Andros, Grekland [1] (International conference on oxidative stress in skin medicine and biology; t.ex. var den tredje konferensen 21-24 September 2006). De fria radikalerna i medicinska sammanhang är molekyler som är integrerade i vävnaden och de uppvisar därför breddade energitillstånd, varför absorption och emission av ljus med associerad excitation och deexcitation av radikalerna sker i våglängdsområden som är mycket breda jämfört med vad som är fallet när radikalerna finns i gasform, t.ex. i luft eller i förbränningsgaser. I flammor sker mycket av ljusemissionen från fria radikaler, som alstras i förbränningsprocessen, t.ex. C_2 , CH och OH [2,3]. Dylika radikaler kan exciteras med laserljus, som avstämts till absorptionslinjerna, som är mycket skarpa, typiskt med 5 till 6 signifikativa siffror i våglängdsangivelsen, och där linjebredden främst bestäms av kollisionsprocesser mellan molekyler i gasen, vilken ofta är vid atmosfärstryck. Livstiden på exciterade radikaler är kort – genom kollisioner överförs de snabbt strålningslöst till grundtillståndet, en process som likaledes benämns "quenching".

I fotodynamisk tumörterapi [4,5] utnyttjas alstrande av molekylärt syre i ett exciterat tillstånd, s.k. singlett-syre, för destruktion av tumörer. I dessa sammanhang tillförs kroppen - intravenöst, oralt eller topiskt - en tumörsökande substans, benämnd sensibiliserare, vilken ansamlas i tumörvävnad. Vid bestrålning av vävnaden med ljus i röda eller nära infrarödområdet exciteras sensibiliserarmolekylerna till ett högre singlett-tillstånd, varifrån en relaxation till ett triplett-tillstånd sker. Därefter sker en växelverkan mellan sensibiliserarmolekylen och vävnadens syre, som initialt

befinner sig i grundtillståndet, ett triplett-tillstånd. Härvid överförs syret till ett singlett-tillstånd. Syret i detta tillstånd är en fri radikal, som i sin reaktion med vävnaden leder till toxiska effekter, som resulterar i vävnadsdöd. Detta är en fotokemisk reaktion, som ej utnyttjar värmeutveckling.

Eftersom visst upptag av sensibiliserare även sker till huden sker en oönskad sensibilisering av denna, vilket leder till att de behandlade patienterna måste undvika starkt dagsljus under en period, som för vissa sensibiliserare kan uppgå till flera veckor. Detta är en starkt oönskad bieffekt av fotodynamisk tumörterapi. Som en del av föreliggande framställning föreslås här att utnyttja naturliga eller syntetiskt framställda deoxidanter – quenchers - för att eliminera singlettsyret, vilket är den verksamma substansen vid tumördestruktion liksom vid hudsensibiliseringen, vilken kan leda till kraftigt solinducerat erythem. Det som nu föreslås, är att då den önskade tumöreffekten uppnåtts efter några timmar till några dagar efter den terapeutiska ljusbestrålningen, så tillförs kroppen antioxidant, som t.ex. A, C eller E-vitamin i doser, som måste bestämmas i djurförsök och humanstudier. Tekniker att i andra sammanhang avbryta verkan av pågående behandling är kända från cytotoxiska behandlingar av maligna tumörsjukdomar, t.ex. methotrexate behandling, som avbryts genom tillförsel av folinsyra. Den föreslagna metoden att aktivt häva fotosensibilisering genom tillförsel av anti-oxidant kan väsentligt öka tillämpligheten av fotodynamisk tumörterapi.

Syre i singlett-tillståndet kan i ringa utsträckning återgå till triplett-tillståndet i en strålningsprocess, där ljus runt våglängden 1.27 mikrometer utsänds. Eftersom syret föreligger i vävnadsmatrisen och härigenom starka störningar av elektronhöljet föreligger, är emissionslinjen breddad till flera nanometers halvvärdesbredd. Fotodynamiska processer kan även utnyttjas för att döda bakterier, vilket studerats för behandling av infektioner hos människor [6], men även t.ex. för avdödning av malarialarver i vatten under vanlig solbestrålning.

Desinfektion och sterilisering av utrustning och komponenter, som används inom sjukvård, inkl. operationsutrustning, är en viktig verksamhet. Upphettningsprocesser i autoklaver är en standardprocedur i dessa sammanhang, liksom utnyttjande av joniserande strålning. Man kan även använda vätesuperoxid för dylika processer – denna teknik används t.ex. för sterilisering av förpackningsmaterial innan fyllning av exempelvis mjölk. Frisättning av fria OH-radikaler är en viktig verkansmekanism.

Syrgas är kanske den viktigaste fysiologiska gasen, som är central i respirationen, där den binds till haemoglobin för transport ut till kroppens alla celler. Syret är då i sitt grundtillstånd – triplett-tillståndet. Som

konstaterats ovan är singlett-syre en viktig radikal, som aggressivt angriper levande celler. Transfer till singlett-tillståndet kan som ovan beskrivits ske genom fotodynamiska energiöverföringsprocesser. I föreliggande framställning föreslås ett alternativt sätt av singlett-syregenerering utnyttjande direkt absorption av laserljus av rätt våglängd.

Nyligen har inom den s.k. GAs in Scattering Media Absorption Spectroscopy (GASMAS) – metoden absorption av syrgasmolekyler använts för att i mänskliga vävnader detektera och kvantifiera förekomst av syrgas. Syrgasmolekylen absorberar ljus i sitt A-band, som består av ett stort antal skarpa linjer runt ca 760 nm. Metoden har bl.a framgångsrikt demonstrerats för diagnostik av mänskliga bihålor [7], där rött laserljus transmitterats genom ansiktsskelettet in till de håligheter eller porösa strukturer, som käkbihål, pannbihålor eller mastoideusbenet (bakom ytterörat) utgör. Vid passagen genom den fria gasen fås ett svagt spektroskopiskt avtryck av syrgasen, och detta kan observeras när en del av det spridda ljuset tränger ut genom vävnadsytan, där en optisk detektor placerats.

Föreliggande uppfinning

I föreliggande uppfinning beskrivs ett alternativt sätt att generera fri syrgas i det aggressiva singlett-tillståndet, samt tillämpningar av singlett-syre som alstrats på detta sätt. Vidare täcks den ovannämnda metoden att häva solsensibilisering med hjälp av anti-oxidanter av denna patentskrift.

I de ovan diskuterade tillämpningarna av GASMAS-metoden, där laserljus, vanligtvis från en halvledarlaser, avstäms till en av de skarpa linjerna i syremolekylens A-band runt 760 nm, överförs syrgasmolekyler till ett annat singlett-tillstånd, b $^1\Sigma_g$, med liknande förväntade fotokemiska egenskaper som det mera välkända a $^1\Delta_g$ tillståndet. Båda övergångarna, runt 760 nm och runt 1.27 mikrometer är på grund av urvalsreglerna för molekylövergångar svaga, eftersom dipolövergångar är förbjudna. Detta leder till att övergångssannolikheten för de laserinducerade övergångarna är mycket låg. Med 21 % syrgas i vanlig luft erhålles endast ca 10 procent absorption efter passage av 10 m luft. Eftersom ljusmängden som penetrerar in genom vävnaden till t.ex. mänskliga bihålor är mycket låg, erhålles en mycket liten mängd singlett-syremolekyler och därför en försumbar vävnadspåverkan. Vad som nu föreslås är att genom att intensivt belysa den syreförande luften väsentligt större mängder singlett-syremolekyler genereras så att avsevärda effekter på kringliggande levande celler uppnås. Detta innebär i allmänhet att det smalbandiga laserljuset tillförs genom direktbestrålning av gasen, t.ex. genom fiberoptisk överföring. Även

bestrålning vid skarpa våglängder runt 1.27 mikrometer kan användas för att generera singlett-syre i det gängse $^1\Delta_g$ tillståndet.

Då singlett-syre når gasens inneslutning, vilket kan vara slemhinnan i bihålor, näshåla eller i lungträdet, sker en reaktion som kan förväntas leda till avdödande av ytliga celler, inklusive bakterier och virus. Detta kan förväntas leda till utslagning av yttlig tumörväxt och desinfektion av infektionstillstånd i luftvägarna. På samma sätt kan generering av en singlett-syre-atmosfär runt föremål som skall steriliseras leda till att detta sker utan att förhöjda temperaturer, joniserande strålning eller kemikalier behöver användas.

Verkan av singlett-syrebehandling kan styras genom att lasern mer eller mindre väl avstäms till resonansvåglängden; genom att gå av absorptionslinjen tas effekten helt bort. Likaså är mängden singlett-syremolekyler proportionell mot den tillförda ljusdosen; för att ej åstadkomma värmeeffekter bör dock den mot vävnad infallande dosen begränsas till något hundratal mW per kvadratcentimeter.

För att höja ljusintensiteten som passerar syrgasen kan multipel-reflexionsarrangemang användas, t.ex. s.k. White-celler. Vidare kan inneslutningar av starkt ljusspridande men ej absorberande material användas för att öka det singlett-syregenererande ljusflödet.

Inom laserstyrd kemi är det känt att om en i en reaktion ingående partner exciteras till ett högre energitillstånd kan utbytet av reaktionen väsentligt höjas [8]. Den fotodynamiska processen, som är destruktiv för den utsatta vävnaden (tumörvävnaden) kan ses som en dylik laserstyrd reaktion. Här föreslås att laserexciterad fri syrgas skulle kunna utnyttjas även i andra kemiska processer, som på detta sätt skulle kunna främjas. Om positivt stimulerande effekt eller destruktiv effekt fås kommer att bestämmas av den intensitet med vilken reaktionen laserstimuleras. Positiva effekter (biostimulering etc. för sår-läkning mm) skulle även kunna uppnås genom att syrgasmolekylerna prepareras i triplett-tillstånd i stället för singlett-tillstånd, med utnyttjande av för ändamålet avpassade excitationsvåglängder. Normalt används varierande våglängder, alltid utan skarp och välkontrollerad våglängd, vid biostimulering med laserljus av låg effekttäthet [9]. Nu föreslås att laserljus avstämt för generering av exciterade syrgastillstånd istället användes för förstärkt vävnadseffekt i biostimuleringssammanhang.

Det föreslås, att verkan av laserexciterad syrgas, inklusive singlett-syre, studeras vad gäller verkan och effektivitet i testexperiment. där cell- eller bakterieodlingar utsätts för den preparerade syrgasen. Studier av cellavdödning, eller i någon regim, av cellstimulering, t.ex. i form av ökad celledelning, skulle då kunna ske på ett sätt som är liknande det som

traditionellt görs i odlingsförsök. Baserat på erfarenheter går man sedan vidare till djurförsök eller humanstudier. Lämpliga djurförsök skulle kunna innefatta laserbestrålning av frilagd, levande råttlunga, där skillnader i vävnadspåverkan mellan fallen då det smalbandiga laserljuset är avstämt till absorptionslinje i fri syrgas, resp. ej är det, utvärderas.

Referenser

1. Abstracts of the international conference on oxidative stress in skin biology and medicine, 18-21 September 2003, Andros, Greece, ANTICANCER RESEARCH **25**: 2299-2326 (2005)
2. S. Svanberg, *Atomic and Molecular Spectroscopy – Basic Aspects and Practical Applications*, 4th edition (Springer, Heidelberg, Berlin, New York 2004)
3. Ref. 2, page 389 ff
4. Ref. 2, page 443 ff
5. S. Svanberg, Tissue Diagnostics using Lasers, *Lasers in Medicine*, Chap. 6, R.W. Waynant (ed.) (CRC Press, Baton Rouge 2002) pp. 135-169
6. G. Jori and S.B. Brown, Photosensitized inactivation of microorganisms, *Photochem . Photobiol . Sci .* **3**, 403 – 405 (2004)
7. L. Persson, M. Andersson, M. Cassel-Engquist, K. Svanberg and S. Svanberg, Gas Monitoring in Human Sinuses using Tunable Diode Laser Spectroscopy, *J. Biomed. Optics* **12**, (5) (2007)
8. Ref. 2, page 435 ff
9. L. Hode, Laser som läker, Svenska Laser-Medicinska Sällskapet <http://www.slms.org/pdf/laser-som-laeker.pdf>