



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

Συνδυασμός Ακτινοβολίας Cherenkov και Νανοδομημάτων για Φωτοδιάγνωση και Φωτοδυναμική Θεραπεία

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

NANOY ΜΑΡΙΑΣ

Επιβλέπουσα: Μακροπούλου-Λουκογιαννάκη Μυρσίνη
Ομότιμη Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Οκτώβριος 2023



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗ-
ΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

Συνδυασμός Ακτινοβολίας Cherenkov και Νανοσωματιδίων για Φωτοδιάγνωση και Φωτοδυναμική Θεραπεία

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

ΝΑΝΟΥ ΜΑΡΙΑΣ

Επιβλέπουσα: Μακροπούλου-Λουκογιαννάκη Μυρσίνη
Ομότιμη Καθηγήτρια ΕΜΠ

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 22α Οκτωβρίου 2023.

(Υπογραφή)

(Υπογραφή)

(Υπογραφή)

.....
Μακροπούλου-Λουκογιαννάκη
Μυρσίνη
Ομότιμη Καθηγήτρια ΕΜΠ

.....
Τσιγαρίδας
Γεώργιος
Επικουρος Καθηγητής ΕΜΠ

.....
Πλατώνη
Καλλιόπη
Επικουρη Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Αθήνα, Οκτώβριος 2023



Copyright © - All rights reserved. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.
NANOY MARIA, 2020.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα.

Το περιεχόμενο αυτής της εργασίας δεν απηχεί απαραίτητα τις απόψεις του Τμήματος, του Επιβλέποντα, ή της επιτροπής που την ενέκρινε.

ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΗΨΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗΣ ΕΥΘΥΝΗΣ

Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάσει επιστημονικής παράφρασης. Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην Πτυχιακή μου Εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης του Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων. Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η Πτυχιακή Εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δεν μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας.

(Υπογραφή)

.....
NANOY MARIA

22 Οκτωβρίου 2023

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, διεξάγεται συστηματική έρευνα στους τομείς της διάγνωσης και της θεραπείας νεοπλασματικών αλλά και μη καρκινικών αλλοιώσεων. Η φωτοδυναμική θεραπεία είναι μια φωτοενεργοποιούμενη μη-επεμβατική θεραπεία, η οποία κατέχει κυρίαρχο ρόλο στις μεθοδολογίες αντιμετώπισης αλλοιώσεων, μέσω της εκμετάλλευσης των ιδιοτήτων του φωτός. Βασίζεται στον συνδυασμό της μονοχρωματικής μη ιοντίζουσας ακτινοβολίας, του φωτοευαισθητοποιητή και του οξυγόνου, όπου κάθε μεμονωμένο στοιχείο από τα παραπάνω, δεν μπορεί να προκαλέσει κάποια βλάβη στον ιστό, σε αντίθεση με τον συνδυασμό τους, ο οποίος μπορεί να αποβεί καταστροφικός. Σκοπό της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η αντιμετώπιση του βασικότερου μειονεκτήματος της φωτοδυναμικής θεραπείας, το οποίο είναι το περιορισμένο βάθος διείσδυσης, καθώς και η ανάπτυξη και διερεύνηση παραμέτρων βελτιστοποίησης της δράσης της και του θεραπευτικού αποτελέσματος. Έτσι, γίνεται μια εισαγωγή στην ακτινοβολία Cherenkov, και εξετάζεται η πιθανότητα χρήσης της ως εσωτερική πηγή φωτός, παραγόμενη από το ραδιονουκλίδιο $^{18}\text{F}-\text{FDG}$. Το μόριο αυτό, ως ανάλογο της γλυκόζης, προσλαμβάνεται έντονα από τα καρκινικά κύτταρα, με αποτέλεσμα να συγκεντρώνεται τοπικά στον όγκο. Το $^{18}\text{F}-\text{FDG}$ καθώς διασπάται σε σταθερό πυρήνα ^{18}O , απελευθερώνει σωματίδια β , τα οποία έχουν την απαραίτητη ενέργεια καθώς κινούνται μέσα στον βιολογικό ιστό, να ξεπεράσουν την φασική ταχύτητα του φωτός και να εκπέμψουν ακτινοβολία Cherenkov, σε ηλεκτρομαγνητικό φάσμα 300-900nm. Κάποιο μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται τελικά από τα νανοσωματίδια, τα οποία έχουν ενσωματωθεί στον καρκινικό όγκο, και τα οποία νανοσωματίδια στο εσωτερικό τους φέρουν τον φωτοευαισθητοποιητή. Ο φωτοευαισθητοποιητής διεγείρεται και έτσι πυροδοτείται μια σειρά τοπικών κυτταροτοξικών φαινομένων παράγοντας ελεύθερες ρίζες και μονήρη οξυγόνα, με συνέπεια την εκκίνηση της διαδικασίας του κυτταρικού θανάτου στον καρκινικό όγκο. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση των κλινικών δοκιμών για την αντιμετώπιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων με φωτοδυναμική θεραπεία ή και σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες, καθώς και για τους τύπους των φωτοευαισθητοποιητών που χρησιμοποιούνται σήμερα στις εν εξελίξει μελέτες Χρησιμοποιώντας, λοιπόν, το προσομοιωτικό πρόγραμμα Wolfram Mathematica, στο πρώτο μέρος πραγματοποιείται μελέτη του φάσματος απορρόφησης των νανοσωματιδίων χρυσού, ενώ έπειτα στο δεύτερο μέρος, εισάγοντας τα δεδομένα του προηγούμενου, βρέθηκε το ποσό ακτινοβολίας Cherenkov που δύνανται να απορροφήσουν τα νανοσωματίδια. Στο τρίτο και τελευταίο μέρος, έγινε εκ νέου μελέτη, με εισαγωγή καταλλήλων τύπων, για την διερεύνηση της κατάλληλης διαμέτρου και συγκέντρωσης νανοσωματιδίων χρυσού, ώστε να επιτευχθεί το βέλτιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα μέσω της παραγωγής μέγιστης συγκέντρωσης ελευθέρων ριζών.

Λέξεις Κλειδιά

Φωτοδυναμική Θεραπεία, Ακτινοβολία Cherenkov, Νανοσωματίδια Χρυσού, Δραστικές Μορφές Οξυγόνου, Ελεύθερες Ρίζες, Θεραπεία του Καρκίνου

Abstract

In the recent years, systematic research has been carried out in the fields of diagnosis and treatment of neoplastic and non-cancerous lesions. Photodynamic therapy (PDT) is a photoactivated non-invasive therapy, which plays a dominant role in the methodologies for treating lesions by utilizing the properties of light. It is based on the combination of monochromatic non-ionizing radiation, photosensitizer (PS) and oxygen, where any single part of the above cannot cause any damage to the tissue, as opposed to their combination which can be destructive. The aim of the present thesis was to address the main disadvantage of photodynamic therapy, which is the limited depth of penetration, as well as the development and investigation of parameters to optimize its action and therapeutic outcome. Therefore, an introduction to Cherenkov radiation is presented, as well as the possibility of using it as an internal light source, produced by the radionuclide $^{18}\text{F} - \text{FDG}$. This molecule, as an analogue of glucose, is strongly taken up by the cancer cells, so that it is concentrated locally in the tumor. As $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ decays to a stable ^{18}O nucleus, it releases beta particles, which have the required energy as they move through biological tissue, to overcome the phase velocity of light and emit Cherenkov radiation, in the electromagnetic spectrum of 300-900nm. Part of the radiation is subsequently absorbed by the nanoparticles embedded in the cancerous tumor, carrying the photosensitizer on their interior. The photosensitizer gets excited and triggers a series of local cytotoxic phenomena producing Reactive Oxygen Species (ROS) such as free radicals and singlet oxygen, initiating the process of cell death in the tumor tissue. In the meanwhile, a literature review of clinical trials for the treatment of various pathological conditions with photodynamic therapy alone or in combination with other therapies, as well as the types of photosensitizers currently used in ongoing studies, was provided. Using the computing environment of Wolfram Mathematica, in the first part of this thesis, we study the absorption spectrum of gold nanoparticles, while then in the second part, using the data from the first part, the amount of Cherenkov radiation that the nanoparticles are capable to absorb is calculated. Finally, in the third part, with the introduction of suitable equations, a new study was performed, in order to investigate the most suitable diameter and concentration of gold nanoparticles to achieve the optimal therapeutic effect, through the maximization of free radical concentration.

Keywords

Photodynamic Therapy, Cherenkov Radiation, Gold Nanoparticles, Reactive Oxygen Species, Free Radicals, Cancer Treatment

στους γονείς μου

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα ευχαριστήσω την καθηγήτρια και επιβλέπουσα κ. Μυρσίνη Μακροπούλου, τόσο για το ενδιαφέρον θέμα Διπλωματικής Εργασίας που μου ανέθεσε, όσο και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια υλοποίησης αυτής της εργασίας. Οι διαλέξεις της κ. Μακροπούλου με ενέπνευσαν να θέλω να ασχοληθώ και να εμβαθύνω στον τομέα της Ιατρικής Φυσικής. Θα ήθελα επίσης, να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Γεώργιο Τσιγαρίδα, που ήταν πάντα παρών σε ό,τι χρειάστηκα, του οποίου η βοήθεια ήταν καθοριστική και χωρίς την καθοδήγησή του στο υπολογιστικό περιβάλλον Wolfram Mathematica, δε θα ήταν δυνατή η επίτευξη της προσομοιωτικής διαδικασίας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Καλλιόπη Πλατώνη, που έχω την τιμή να αποτελεί μέλος της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης της Διπλωματικής μου Εργασίας. Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου, καθώς και τα φιλικά μου πρόσωπα, για την υποστήριξη και την εμπιστοσύνη που μου δείχνουν και είναι πάντα δίπλα μου, σε κάθε βήμα.

Αθήνα, Οκτώβριος 2023

NANOY MAPIA

Περιεχόμενα

Περίληψη	1
Abstract	3
Ευχαριστίες	7
Πρόλογος	19
1 Εισαγωγή	21
1.1 Καρκίνος	21
1.2 Αντιμετώπιση Καρκίνου	23
2 Εισαγωγή στη Φωτοδυναμική Θεραπεία	25
2.1 Ιστορικά Στοιχεία	25
2.2 Βασικές Αρχές της Φωτοδυναμικής Θεραπείας	26
2.3 Αλληλεπιδράσεις Ακτινοβολίας με την Ύλη	27
2.3.1 Το Φως ως Κύμα	27
2.3.2 Το Φως ως Σωματίδιο	28
2.4 Αλληλεπίδραση του Φωτός με την Έμβια Ύλη	29
2.4.1 Οπτικό Παράθυρο	30
2.5 Μηχανισμός της Φωτοδυναμικής Θεραπείας	31
2.5.1 Μηχανισμοί Φωτοδυναμικής Δράσης Τύπου I και Τύπου II	31
2.5.2 Ο ρόλος του Οξυγόνου στην Φωτοδυναμική Θεραπεία	33
2.6 Μηχανισμοί Κυτταρικού Θανάτου	34
2.6.1 Βλάβη στους Υποκυττάριους Στόχους	35
3 Φωτοευαισθητοποιές Ουσίες	39
3.1 Εισαγωγή	39
3.2 Photofrin	40
3.3 Κατηγοριοποίηση Φωτοευαισθητοποιητών	40
3.4 Εφαρμογές της Φωτοδυναμικής Θεραπείας σε εν Εξελίξει Κλινικές Δοκιμές	41
4 Πηγές Φωτός	43
4.1 Εισαγωγή	43
4.2 Είδη Πηγών στη Φωτοδυναμική Θεραπεία	43
4.2.1 Πηγές Σύμφωνου Φωτός	43
4.2.2 Πηγές Μη Σύμφωνου Φωτός	45

5 Δοσιμετρία στη Φωτοδυναμική Θεραπεία	49
5.1 Εισαγωγή	49
5.2 Φυσικά Μεγέθη και Ορολογίες	49
6 Δραστικές Μορφές Οξυγόνου-Οξειδωτικό Στρες	53
6.1 Εισαγωγή	53
6.2 Οξειδωτικό Στρες	54
6.3 Ελεύθερες Ρίζες	54
6.4 Δραστικές Μορφές Οξυγόνου-ROS	55
6.4.1 Μονήρες οξυγόνο $^1\text{O}_2$	55
6.4.2 Ανιόν Υπεροξειδίου O_2^-	55
6.4.3 Ρίζα Υδροξυλίου $\bullet\text{OH}$	56
6.4.4 Στόχοι Ελευθέρων Ριζών και Δραστικών Μορφών Οξυγόνου	56
7 Νανοσωματίδια	57
7.1 Εισαγωγή	57
7.2 Νανοσωματίδια Χρυσού	59
7.3 Εντοπισμένα Επιφανειακά Πλασμόνια Συντονισμού	60
7.4 Αλληλεπίδραση μη Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας με Νανοσωματίδια - Θεωρία Mie	60
7.5 Διόρθωση Drude	61
8 Ακτινοβολία Cherenkov	63
8.1 Εισαγωγή	63
8.1.1 Φάσμα Εκπομπής Cherenkov	65
8.2 Ενίσχυση Φωτοδυναμικής Θεραπείας με Ακτινοβολία Cherenkov	65
8.3 Το Μόριο ^{18}F – FDG ως Πηγή Ακτινοβολίας Cherenkov	66
8.4 Υπολογισμός Φωτοδυναμικού Αποτελέσματος – Ελευθέρων Ριζών	67
8.4.1 Φυσική Ακτινοβολίας Cherenkov	68
8.4.2 Παραγωγή Δραστικών Μορφών Οξυγόνου	71
9 Εύρεση Φάσματος Απορρόφησης για Νανόσφαιρες Χρυσού, Διαμέτρου 10-100nm.	73
9.1 Σκοπός Υπολογιστικού Μέρους	73
9.2 Wolfram Mathematica	74
9.3 Νανόσφαιρες Χρυσού	74
9.3.1 Σχολιασμός Αποτελεσμάτων	75
9.3.2 Σύγκριση Αποτελεσμάτων με τη Βιβλιογραφία	75
10 Υπολογιστικός Προσδιορισμός Συνολικής Ενέργειας Ακτινοβολίας Cherenkov που Δύνανται να Απορροφήσουν Νανοσωματίδια Χρυσού	79
10.1 Αποτελέσματα Προσομοίωσης με το Mathematica για την Ενέργεια που Απορροφούν οι Νανόσφαιρες	79
10.2 Σχολιασμός Αποτελεσμάτων	80

11 Υπολογιστικός Προσδιορισμός Συγκέντρωσης Δραστικών Μορφών Οξυγόνου	81
11.1 Εισαγωγή Δεδομένων στο Mathematica	81
11.2 Αποτελέσματα για την Παραγωγή Ελευθέρων Ριζών	82
11.2.1 Συγκέντρωση Ελευθέρων Ριζών για Διάφορες Διαμέτρους Νανοσωματιδίων	82
11.2.2 Συγκέντρωση Ελευθέρων Ριζών για Διάφορες Συγκεντρώσεις Νανοσωματιδίων	85
12 Επίλογος	87
12.1 Σύνοψη και Συμπεράσματα	87
Παραρτήματα	91
A Κώδικας Υπολογισμού Φασμάτων Νανοσφαιρών Διαφορετικών Διαστάσεων	93
B Κώδικας Υπολογισμού Ενέργειας Απορρόφησης Νανοσωματιδίου Χρυσού	95
C Κώδικας Υπολογισμού Συγκέντρωσης Ελευθέρων Ριζών	97
Βιβλιογραφία	104

Κατάλογος Σχημάτων

1	Εξώφυλλο ηλεκτρονικής αφίσας (e-poster) που παρουσιάστηκε στο 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία, Αθήνα 2023	19
1.1	Τυπικό μοντέλο για τις γονιδιακές μεταλλάξεις στην ανάπτυξη του καρκίνου. Για να αναπτυχθεί καρκίνος πρέπει να εμφανιστούν αρκετές μεταλλάξεις στο DNA ενός μεμονωμένου κυττάρου. Τα φυσιολογικά κύτταρα (ανοιχτό γκρι) μπορεί να αναπτύξουν μεταλλάξεις που τους επιτρέπουν να αναπτύσσονται ελαφρώς ταχύτερα από τα υπόλοιπα κύτταρα. Τα μεταλλαγμένα κύτταρα (γαλάζιο χρώμα) δεν είναι ακόμη καρκινικά κύτταρα, διότι πρέπει να υποστούν περαιτέρω μεταλλάξεις προτού σχηματιστεί καρκίνος. Τα κύτταρα (ροζ χρώμα) που αναπτύχθηκαν από αυτά τα γαλάζια μεταλλαγμένα κύτταρα αποτελούν έναν «μεγαλύτερο» στόχο για μελλοντικές μεταλλάξεις, επειδή αναπτύσσονται ελαφρώς ταχύτερα από τα κύτταρα γύρω τους και επειδή έχουν ήδη τουλάχιστον μία μετάλλαξη. Τελικά, όταν συσσωρευτούν αρκετές μεταλλάξεις, τα κύτταρα σχηματίζουν όγκο και αν δεν αντιμετωπιστούν σύντομα θα γίνουν κακοήγη. Τα κακοήγη κύτταρα σχηματίζουν καρκίνο στο αρχικό όργανο. Αυτά τα κακοήγη καρκινικά κύτταρα θα αναπτύξουν ακόμη περισσότερες μεταλλάξεις και στη συνέχεια θα εξαπλωθούν (μετάσταση) σε άλλα όργανα μέσω την κυκλοφορία του αίματος[1].	22
2.1	Φωτογραφίες του F.Meyer-Betz πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη χορήγηση αιματοπορφυρίνης στον εαυτό του. Η χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή είχε ως αποτέλεσμα εκτεταμένη φωτοευαισθησία στο δέρμα του, έως και 2 μήνες μετά τη χορήγηση[2].	26
2.2	Στάδια εφαρμογής φωτοδυναμικής θεραπείας : Χορήγηση φωτοευαισθητοποιητή → Επιλεκτική συγκέντρωση στον καρκινικό ιστό → καθοδήγηση φωτός στον καρκινικό όγκο, διέγερση φωτοευαισθητοποιητή, ενεργοποίηση κυτταροτοξικών αντιδράσεων καταστροφής καρκινικού όγκου → πλήρης ίαση[3]. . . .	27
2.3	Γραμμικά πολωμένο ηλεκτρομαγνητικό κύμα που ταξιδεύει κατά μήκος του άξονα z. Το άνυσμα E δηλώνει το ηλεκτρικό πεδίο και το κάθετο B το μαγνητικό πεδίο.	27
2.4	Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα	28
2.5	Διείσδυση του φωτός στις διάφορες στιβάδες της επιδερμίδας. Αναπαράσταση κατά προσέγγιση των βαθών διείσδυσης του φωτός στο δέρμα, ανάλογα με το μήκος κύματός του [4].	30

2.6	Διάγραμμα Jablonski, Φωτοδυναμικές Μεταβολές Φωτοευαισθητοποιητή [5], Ground state = Θεμελιώδης Κατάσταση Φωτοευαισθητοποιητή 1PS = Πρώτη Διεγερμένη Κατάσταση Φωτοευαισθητοποιητή Intersystem Crossing = Διασυστηματική Μετάπτωση 3PS = Τριπλή Διεγερμένη Κατάσταση Φωτοευαισθητοποιητή Fluorescence = Φθορισμός Phosphorescence = φωσφορισμός	33
2.7	Οι επιδράσεις της φωτοδυναμικής θεραπείας στα καρκινικά κύτταρα μπορεί να οδηγήσουν σε απόπτωση, νέκρωση ή αυτοφαγία [3].	37
4.1	Πηγή φωτός διοδικού laser στη φωτοδυναμική θεραπεία – λειτουργία στα 630nm [6].	45
4.2	Αριστερή εικόνα: Παράδειγμα λειτουργίας λυχνίας πυρακτώσεως με νήματα βολφραμίου - Δεξιά εικόνα: Παράδειγμα λειτουργίας λυχνίας αλογόνου μετάλλου [6].	46
7.1	(A) nanospheres, (B) nanoprisms, (C) nanobars (D) nanowires (E) nanocubes, (F) nanopyramids, (G) nanorice και (H) nanoflowers [7]	57
7.2	Διαφορετικοί τύποι νανοφορέων που χρησιμοποιούνται ως φορείς διανομής για τη θεραπεία του καρκίνου [8].	59
8.1	Η χωρική κατανομή της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας Cherenkov σε ένα μέσο είναι κωνικού σχήματος γύρω από την τροχιά του σωματιδίου	64
8.2	Κατώφλι Cherenkov ως συνάρτηση του δείκτη διάθλασης για ένα σωματίδιο β ($m_0c^2 = 0.511MeV$) [9].	64
8.3	Φάσμα ακτινοβολίας Cherenkov. Ο αριθμός φωτονίων Cherenkov που εκπέμπονται ανά μονάδα μήκους διαδρομής και ανά μονάδα μήκους κύματος για ένα σωματίδιο με ταχύτητα $\beta=0.9$ που κινείται σε μέσο με δείκτη διάθλασης 1.4 [9].	65
8.4	Το μόριο του $^{18}F - FDG$	66
8.5	Προσομοίωση πολλών τροχιών σωματιδίων β που προέρχονται από μια σημειακή πηγή ^{18}F (αριστερά) και ^{90}Y (δεξιά) στο νερό. Σημειώνεται ότι απεικονίζονται σε διαφορετικές χωρικές κλίμακες για λόγους σαφήνειας. Η αλλαγή του χρώματος στις τροχιές υποδηλώνει τη θέση στην οποία η ενέργεια του σωματιδίου β πέφτει κάτω από το κατώφλι Cherenkov. Ορισμένα σωματίδια β εκπέμπονται με ενέργειες κάτω από αυτές του κατωφλίου Cherenkov και επομένως δεν παράγουν ποτέ φως. Κάτι τέτοιο είναι ιδιαίτερα συνηθισμένο για το ^{18}F . Για το μόριο του ^{18}F , τα σωματίδια β απεικονίζονται με κόκκινο ενώ τα παραγόμενα φωτόνια, με μπλε χρώμα [9]	67
8.6	(A), Σχηματικό διάγραμμα της φωτοδυναμικής θεραπείας σε συνδυασμό με ακτινοβολία Cherenkov (CR) και (B), Ο μηχανισμός της παραγωγής των ROS και του κυτταρικού θανάτου λόγω ακτινοβολίας Cherenkov. (NP=nanoparticle) [10].	68

- 8.7 Σχηματικό διάγραμμα του μοντέλου. (A) Το σωματίδιο β (κόκκινη σφαίρα) κινείται σε γωνία ϕ σε σχέση με το νανοσωματίδιο (κενή μπλε σφαίρα). Τα παραγόμενα φωτόνια (γαλάζια βέλη) κινούνται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου- β . (B) Μόνο όσα φωτόνια παράγονται στο τμήμα AB μπορούν να απορροφηθούν από το νανοσωματίδιο. (C) Γωνιακό εύρος ενδιαφέροντος [10]. 70
- 8.8 Σχηματική απεικόνιση της διέγερσης νανοσωματιδίων μέσω ακτινοβολίας Cherenkov με σκοπό την παραγωγή ριζών [11] 71
- 9.1 Φάσματα απορρόφησης νανοσωματιδίων χρυσού, για διαμέτρους από 10 έως 100nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm. 74
- 9.2 Υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή), της σκέδασης, Q_{sca} (μαύρη γραμμή) , και της εξασθένισης, Q_{ext} (πράσινη γραμμή), νανοσωματιδίων χρυσού, για διάμετρο 20nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm. Στην αριστερή εικόνα, φαίνεται το βιβλιογραφικό αποτέλεσμα των El-Sayed et al.[12], ενώ στην δεξιά εικόνα, το αποτέλεσμα της διπλωματικής εργασίας, όπως προέκυψε από το λογισμικό Mathematica. 76
- 9.3 Υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή), της σκέδασης, Q_{sca} (μαύρη διακεκομμένη γραμμή) , και της εξασθένισης, Q_{ext} (πράσινη γραμμή), νανοσωματιδίων χρυσού, για διάμετρο 40nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm. Στην αριστερή εικόνα, το βιβλιογραφικό αποτέλεσμα των El-Sayed et al. [12], ενώ στην δεξιά εικόνα, φαίνεται το αποτέλεσμα, όπως προέκυψε από το λογισμικό Mathematica. 76
- 9.4 Υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή), της σκέδασης, Q_{sca} (μαύρη διακεκομμένη γραμμή), και της εξασθένισης, Q_{ext} (πράσινη γραμμή), νανοσωματιδίων χρυσού, για διάμετρο 80nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm. Στην αριστερή εικόνα, το βιβλιογραφικό αποτέλεσμα των El-Sayed et al. [12], και στην δεξιά, το αποτέλεσμα, όπως προέκυψε από το λογισμικό Mathematica. 77
- 10.1 Η συνολική ενέργεια που δύναται να απορροφήσει μία νανόσφαιρα χρυσού συναρτήσει της διαμέτρου. 80
- 11.1 Η συγκέντρωση των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) για νανόσφαιρες χρυσού διαμέτρων 10-100nm, όπως προκύπτει από το λογισμικό Wolfram Mathematica. Η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων διατηρήθηκε σταθερή στα 2.5 μ g/mL και η ενεργότητα στα 7.4 MBq/mL. 83

- 11.2 Το σωματίδιο β (κόκκινη σφαίρα) κινείται σε γωνία φ σε σχέση με το νανοσωματίδιο (γαλάζια σφαίρα). Τα παραγόμενα φωτόνια (γαλάζιες διακεκομμένες ευθείες) κινούνται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου- β . Η μέση απόσταση, x_{avg} , ορίζεται ως η απόσταση του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού. Η απόσταση του τμήματος AB ορίζεται ως l_{AB} , ενώ η απόσταση του τμήματος OA, l_{OA} . Μόνο όσα φωτόνια παράγονται στο τμήμα l_{AB} , μπορούν να απορροφηθούν από το νανοσωματίδιο. Για μεγαλύτερες διαμέτρους νανοσωματιδίων, η απόσταση l_{AB} είναι μεγαλύτερη, άρα στο τμήμα AB παράγονται περισσότερα φωτόνια. Επομένως, ο αριθμός των φωτονίων Cherenkov που θα μπορεί να απορροφήσει το νανοσωματίδιο στο τμήμα AB είναι μεγαλύτερος, οπότε η παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι υψηλότερη. 84
- 11.3 Η συγκέντρωση δραστικών μορφών οξυγόνου για διάφορες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων χρυσού, σταθερής διαμέτρου $d=100\text{nm}$ 85
- 11.4 Το σωματίδιο β (κόκκινη σφαίρα) κινείται σε γωνία φ σε σχέση με το νανοσωματίδιο (γαλάζια σφαίρα). Τα παραγόμενα φωτόνια (γαλάζιες διακεκομμένες ευθείες) κινούνται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου- β . Η μέση απόσταση, x_{avg} , ορίζεται ως η απόσταση του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού. Η απόσταση του τμήματος AB ορίζεται ως l_{AB} , ενώ η απόσταση του τμήματος OA, l_{OA} . Μόνο όσα φωτόνια παράγονται στο τμήμα l_{AB} , μπορούν να απορροφηθούν από το νανοσωματίδιο. Για υψηλότερες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων, υψηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν περισσότερα φωτόνια, σε αντίθεση με χαμηλότερες συγκεντρώσεις, όπου τα χαμηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν λιγότερα φωτόνια στο ίδιο εύρος l_{AB} 86

Κατάλογος Πινάκων

2.1	Φάσμα μη ιοντίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, στην περιοχή UV-VIS-IR. Η ανθρώπινη όραση επιτρέπει μόνο την όραση μικρού φάσματος ακτινοβολίας περίπου από 400-780nm με γυμνό οφθαλμό. Το υπεριώδες τμήμα του φάσματος κυμαίνεται από 100-400nm. Το υπέρυθρο κυμαίνεται από 780-10.600nm. Μήκη κύματος στην περιοχή του μπλε, παρουσιάζουν μικρότερο βάθος διείσδυσης σε βιολογικά υλικά και ιστούς, σε σχέση με μήκη κύματος στην περιοχή του κόκκινου. Το συμπέρασμα αυτό μπορεί να διαπιστωθεί και με προσωπικό πείραμα, τοποθετώντας έναν φακό στην εξωτερική επιφάνεια από το μάγουλο και παρατηρώντας την κόκκινη λάμψη στην εσωτερική επιφάνεια. Η κόκκινη λάμψη είναι επειδή το κόκκινο διεισδύει βαθύτερα στον ιστό και όχι εξαιτίας του χρώματος του αίματος που συνήθως πιστεύεται[13],[14].	29
3.1	Φωτοευαισθητοποιητές που διερευνήθηκαν για την θεραπεία του καρκίνου[15].	41
3.2	Αριθμός των εν εξελίξει κλινικών δοκιμών που είναι εγγεγραμμένες στο clinicaltrials.gov που χρησιμοποιούν φωτοδυναμική θεραπεία για μείζονες παθήσεις[15].	41
3.3	Λεπτομέρειες των εν εξελίξει κλινικών δοκιμών με τη χρήση της φωτοδυναμικής θεραπείας για την αντιμετώπιση νεοπλασματικών παθήσεων [15].	42
4.2	Τύποι laser διαθέσιμοι για κλινική φωτοδυναμική θεραπεία [6].	46
4.1	Διαφορετικοί φωτοευαισθητοποιητές με μέγιστο απορρόφησης στο ερυθρό τμήμα του φάσματος. Τα ονόματα στις αγκύλες αντιπροσωπεύουν την επίσημη καταχωρημένη εμπορική ονομασία[16].	46
4.3	Είδη λυχνιών διαθέσιμες στην φωτοδυναμική θεραπεία[6]. (Το εύρος ζώνης βολφραμίου, ξένου και αλογόνου εξαρτάται από το οπτικό φίλτρο που χρησιμοποιείται. Το μήκος κύματος του αλογόνου εξαρτάται από το μέταλλο.) . . .	47
6.1	Δραστικές Μορφές Οξυγόνου-Ελεύθερες Ρίζες	55
6.2	Δραστικές Μορφές Οξυγόνου- Μη Ελεύθερες Ρίζες	55
8.1	Μερικά χαρακτηριστικά της εκπομπής ημερενκο στο νερό και στους μαλακούς ιστούς [9].	65
10.1	Αποτελέσματα που προέκυψαν από το δεύτερο υπολογιστικό μέρος, στο λογισμικό Wolfram Mathematica για νανοσφαίρες χρυσού διαμέτρων 10-100nm	79

Πρόλογος

Μέρος της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας παρουσιάστηκε σε μορφή ηλεκτρονικής επιστημονικής αφίσας (e-poster) στο 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία, που διεξήχθη στην Αθήνα στις 22-23 Σεπτεμβρίου του 2023 με τίτλο «Προσομοιωτική μελέτη της δράσης της ακτινοβολίας Cherenkov και νανο-βιοφωτονικών τεχνικών στη φωτοθεραπεία του καρκίνου».



Σχήμα 1: Εξώφυλλο ηλεκτρονικής αφίσας (e-poster) που παρουσιάστηκε στο 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία, Αθήνα 2023

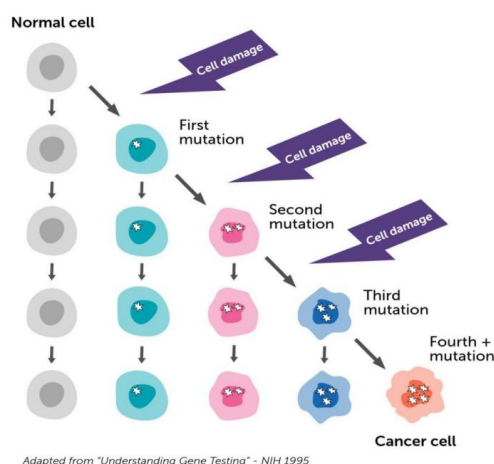
Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

1.1 Καρκίνος

Ο καρκίνος παραμένει ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, αποτελώντας μια χρόνια ασθένεια με το μεγαλύτερο αντίκτυπο στην παγκόσμια υγεία. Είναι η κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως, επηρεάζοντας σχεδόν το ένα τρίτο του πληθυσμού των ανεπτυγμένων χωρών. Σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (International Agency for Research on Cancer (IARC)), σημειώθηκαν 12,7 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις καρκίνου και 7,6 εκατομμύρια θάνατοι παγκοσμίως το έτος 2008 [17]. Με αυτόν τον τρόπο, μέχρι το τέλος του 2030, ο όγκος των περιστατικών αναμένεται να αυξηθεί σε 21.4 εκατομμύρια και περίπου 13,2 αντίστοιχα. Παρ' όλες τις πρόσφατες τεχνολογικές προόδους, η επανεμφάνιση και η μετάσταση των όγκων εξακολουθούν να είναι οι κύριες αιτίες θανάτου. Σύμφωνα με το Global Cancer Observatory (GCO), ο καρκίνος ως αιτία θανάτου, το 2020 άγγιξε σχεδόν τα 10 εκατομμύρια παγκοσμίως [18]. Στο παρελθόν, υπήρχαν πολλές θεωρίες σχετικά με τα αίτια της νόσου και το κατά πόσο είναι θεραπεύσιμη. Ωστόσο, σήμερα, λόγω των επιστημονικών εξελίξεων και της προόδου στην έρευνα και την τεχνολογία, η επιστήμη έχει απορρίψει αυτούς τους μύθους και έχει φωτίσει τους παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του καρκίνου, παρέχοντας παράλληλα ελπίδα για την καταπολέμησή του. Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από την ακατάπαυστη αναπαραγωγή δυσλειτουργικών κυττάρων και την εξάπλωσή τους (μετάσταση) σε γειτονικές περιοχές του οργανισμού και σε διάφορα όργανα, επομένως, μπορεί να επηρεάσει οποιονδήποτε τύπο ιστού και, συνεπώς, οποιοδήποτε όργανο. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα κύτταρα ενός οργανισμού πολλαπλασιάζονται μέσω μίας διαδικασίας που ονομάζεται κυτταρική διαίρεση, για να δημιουργήσουν νέα κύτταρα όταν το σώμα τα χρειάζεται [19]. Όταν τα κύτταρα γερνάνε ή υποστούν ζημιά, πεθαίνουν και έτσι νέα κύτταρα παίρνουν τη θέση τους. Μερικές φορές αυτή η διαδικασία αποτυγχάνει, οπότε τα κύτταρα αυξάνονται και πολλαπλασιάζονται χωρίς έλεγχο, ενώ δεν θα έπρεπε. Αυτά τα κύτταρα μπορεί να σχηματίσουν όγκους, οι οποίοι αποτελούν μάζες ιστού. Οι όγκοι μπορεί να είναι καρκινικοί ή μη καρκινικοί. Οι μη καρκινικοί ή αλλιώς καλοήθεις όγκοι δεν κάνουν μετάσταση σε γειτονικούς ιστούς. Όταν αφαιρεθούν, συνήθως δεν επανεμφανίζονται σε αντίθεση με την πλειοψηφία των περιπτώσεων των καρκινικών όγκων. Ωστόσο μπορούν κάποιες φορές να είναι ιδιαίτερα μεγάλοι σε μέγεθος, προκαλώντας σοβαρά συμπτώματα που μπορούν να απειλήσουν την ανθρώπινη ζωή, όπως για παράδειγμα ένας καλοήθης όγκος στον εγκέφαλο. Ο καρκίνος είναι μια γονιδιακή νόσος και οφείλεται σε μετάλλαξη του γενετικού

υλικού. Κάποιες φορές το DNA αλλάζει ή καταστρέφεται. Αυτές οι αλλαγές ονομάζονται μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις μπορεί να οφείλονται σε φθορά του DNA με την πάροδο του χρόνου εξαιτίας της πάροδο του χρόνου, μπορεί όμως και να οφείλονται σε εξωγενείς παράγοντες, όπως έκθεση σε χημικά, σε ιούς που βλάπτουν το DNA, ή λόγω ιοντίζουσας ακτινοβολίας. Τις περισσότερες φορές τα κύτταρα είναι ικανά να επιδιορθώσουν βλάβες στο DNA, υπάρχουν όμως περιπτώσεις που κάτι τέτοιο δεν είναι εφικτό[1]. Με την πάροδο του χρόνου όλο και περισσότερες μεταλλάξεις μπορούν να συμβούν στο DNA ενός κυττάρου. Επομένως, όταν έρθει η ώρα της κυτταρικής διαίρεσης, το DNA θα αντιγραφεί μαζί με οποιαδήποτε παρούσα μετάλλαξη στα νέα κύτταρα. Ως αποτέλεσμα, κάθε κύτταρο που προέρχεται από ένα κύτταρο που είχε μετάλλαξη στο DNA του, θα έχει και αυτό την ίδια μετάλλαξη την οποία θα μεταβιβάσει στη συνέχεια στα επόμενα κύτταρα που θα δημιουργηθούν κατά την (επόμενη) κυτταρική διαίρεση. Σύμφωνα με τα ευρήματα της έρευνας Cancer Genome Project [20], τα περισσότερα καρκινικά κύτταρα διαθέτουν 60 ή περισσότερες μεταλλάξεις. Το αντίκτυπο μιας μετάλλαξης, εξαρτάται από το αν αλλάζει η πρωτεΐνη στο κύτταρο. Πολλές μεταλλάξεις είναι ακίνδυνες και δεν οδηγούν σε καρκινογένεση. Ωστόσο υπάρχουν κάποιες μεταλλάξεις που αλλάζουν τις πρωτεΐνες που ελέγχουν την παραγωγή και τον θάνατο των κυττάρων. Κύτταρα με τέτοιου τύπου μεταλλάξεις, μπορεί να αποκτούν περισσότερες μεταλλάξεις και να μετατραπούν εν τέλει σε καρκινικά κύτταρα[21].



Σχήμα 1.1: Τυπικό μοντέλο για τις γονιδιακές μεταλλάξεις στην ανάπτυξη του καρκίνου. Για να αναπτυχθεί καρκίνος πρέπει να εμφανιστούν αρκετές μεταλλάξεις στο DNA ενός μεμονωμένου κυττάρου. Τα φυσιολογικά κύτταρα (ανοιχτό γκρι) μπορεί να αναπτύξουν μεταλλάξεις που τους επιτρέπουν να αναπτύσσονται ελαφρώς ταχύτερα από τα υπόλοιπα κύτταρα. Τα μεταλλαγμένα κύτταρα (γαλάζιο χρώμα) δεν είναι ακόμη καρκινικά κύτταρα, διότι πρέπει να υποστούν περαιτέρω μεταλλάξεις προτού σχηματιστεί καρκίνος. Τα κύτταρα (ροζ χρώμα) που αναπτύχθηκαν από αυτά τα γαλάζια μεταλλαγμένα κύτταρα αποτελούν έναν «μεγαλύτερο» στόχο για μεθιλοτικές μεταλλάξεις, επειδή αναπτύσσονται ελαφρώς ταχύτερα από τα κύτταρα γύρω τους και επειδή έχουν ήδη τουλάχιστον μία μετάλλαξη. Τελικά, όταν συσσωρευτούν αρκετές μεταλλάξεις, τα κύτταρα σχηματίζουν όγκο και αν δεν αντιμετωπιστούν σύντομα θα γίνουν κακοήγη. Τα κακοήγη κύτταρα σχηματίζουν καρκίνο στο αρχικό όργανο. Αυτά τα κακοήγη καρκινικά κύτταρα θα αναπτύξουν ακόμη περισσότερες μεταλλάξεις και στη συνέχεια θα εξαπλωθούν (μετάσταση) σε άλλα όργανα μέσω την κυκλοφορία του αίματος[1].

1.2 Αντιμετώπιση Καρκίνου

Οι πιο διαδεδομένοι τρόποι αντιμετώπισης του καρκίνου, ανάλογα τον τύπο του καρκίνου και το πάσχον όργανο, είναι η χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία με ακτίνες-γ και ακτίνες-X. Η χειρουργική επέμβαση είναι μια άμεση μέθοδος αφαίρεσης του καρκινικού ιστού και από τις συχνότερες επιλογές θεραπείας. Όταν καθίσταται δυνατόν, στόχος είναι η ολική αφαίρεση του καρκίνου από το σώμα, κάτι που επιτυγχάνεται με επιπλέον αφαίρεση μέρους υγιούς ιστού γύρω από τον όγκο. Ωστόσο σαν θεραπεία έχει το ενδεχόμενο της υποτροπής σε περίπτωση μετάστασης, εάν έχει «ξεφύγει» κάποιο καρκινικό κύτταρο στην κυκλοφορία του αίματος[22]. Η χημειοθεραπεία είναι μια θεραπεία καρκίνου όπου χορηγούνται στον ασθενή φάρμακα από το στόμα ή ενδοφλεβίως και δρα σε όλο το σώμα (συστημική δράση). Σκοπός είναι να προκαλέσουν τον θάνατο των καρκινικών κυττάρων ή την πρόκληση βλαβών σε αυτά. Υπάρχουν διάφορα είδη χημειοθεραπείας, με κοινό παρανομαστή την εμπόδιση της αναπαραγωγής των καρκινικών κυττάρων το οποίο τα αποτρέπει από το να μεγαλώσουν και να διασπαστούν στο σώμα. Η επιλογή της χημειοθεραπείας ως θεραπεία του καρκίνου εγκυμονεί τον κίνδυνο να καταστραφούν υγιή κύτταρα λόγω της συστημικής της δράσης[23]. Η ακτινοβολία με ακτίνες-γ και ακτίνες-X, χρησιμοποιείται συνήθως στα πρώτα στάδια του καρκίνου ή στην αρχή της εξάπλωσής του. Θεωρείται η πιο αποτελεσματική μέθοδος μετά την χειρουργική. Ο σκοπός της διαδικασίας της ακτινοβολίας με ακτίνες-γ και -X, είναι η εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων και η μείωση του ρίσκου της μετάστασης[24],[25]. Σαν θεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της ή συνδυαστικά ώστε να συμβάλλει στην αποτελεσματικότητα άλλων θεραπειών όπως για παράδειγμα χημειοθεραπεία ή χειρουργική αφαίρεση. Για παράδειγμα, η συρρίκνωση των όγκων που έπεται από την χρήση της ακτινοβολίας, επιτρέπει την χειρουργική αφαίρεση ενός όγκου που αρχικά θεωρούνταν μη χειρουργήσιμος. Η χρήση της μεθόδου αυτής, προϋποθέτει μεσαίου μεγέθους ή προχωρημένους όγκους της κεφαλής, του τραχήλου, του παχέος εντέρου, της ουροδόχου κύστης και άλλων[24],[25]. Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν σημειωθεί σημαντικές τεχνολογικές πρόοδοι για την ανάπτυξη νέων μεθόδων θεραπείας για την αντιμετώπιση του καρκίνου, όπως η ορμονοθεραπεία, η ανοσοθεραπεία, η υπερθερμία, η πρωτονική θεραπεία (proton therapy), η νετρονική θεραπεία (neutron therapy), η ραδιοθεραπεία SBRT (Stereotactic Body Radiation Therapy- Στερεοτακτική Ακτινοθεραπεία Σώματος). Στόχος της οποιαδήποτε θεραπείας είναι η ελαχιστοποίηση της τοξικότητας και των παρενεργειών στον οργανισμό του ασθενή[26].

Κεφάλαιο 2

Εισαγωγή στη Φωτοδυναμική Θεραπεία

2.1 Ιστορικά Στοιχεία

Η χρήση του φωτός για θεραπευτικούς σκοπούς εφαρμόζεται εδώ και χιλιάδες χρόνια. Πάνω από 3000 χρόνια πριν, ο ελληνικός, ο ινδικός, ο κινεζικός και ο αιγυπτιακός πολιτισμός χρησιμοποιούσαν το φως για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών (κυρίως σε συνδυασμό με δραστικές χημικές ουσίες), όπως για παράδειγμα για τη θεραπεία της λεύκης, της ψωρίασης και του καρκίνου του δέρματος[15]. Το γεγονός που σηματοδότησε την έναρξη της σύγχρονης φωτοθεραπείας και το πραγματικό ενδιαφέρον για τη χρήση της φωτεινής ακτινοβολίας για την θεραπεία ασθενειών ήταν το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας/Ιατρικής που απενεμήθητο 1903 στον Niels Ryberg Finsen ως αναγνώριση του έργου του για τη θεραπεία του Δισκοειδή Ερυθηματώδη Λύκου (ΔΕΛ) μέσω υπεριώδους ακτινοβολίας[15],[27]. Ο Ερυθηματώδης Λύκος είναι μια μορφή φυματίωσης που προσβάλλει το δέρμα, ιδίως στο πρόσωπο και το λαιμό. Από τη δεκαετία του 1870 ήταν γνωστό ότι το υπεριώδες φως είχε ανασταλτική επίδραση στα βακτήρια και ο Finsen σκέφτηκε ότι οι ιστοί που είχαν προσβληθεί από βακτήρια θα μπορούσαν να ανταποκριθούν στη θεραπεία με φως. Το 1895 χρησιμοποίησε συμπυκνωμένες δέσμες υπεριώδους φωτός για να θεραπεύσει ασθενείς με ΔΕΛ, με αρκετή επιτυχία. Για ένα διάστημα, η φωτοθεραπεία ήταν ευρέως διαδεδομένη, αλλά τελικά παραγκωνίστηκε από τα αντιβιοτικά[28]. Την ίδια περίπου περίοδο, στο Μόναχο, στην ερευνητική ομάδα του καθηγητή von Tappeiner, ο φοιτητής ιατρικής Oscar Raab κατά λάθος έριξε ισχυρό φως σε καλλιέργεια των μονοκύτταρων μικροοργανισμών που επωάζονταν με τη χρωμοφόρα ουσία ακριδίνη. Παρατήρησε ότι τα πρωτόζωα καταστράφηκαν. Έτσι, οι πρώτες αναφορές στη βιβλιογραφία για «φωτοδυναμικό φαινόμενο», καθώς και οι αρχικές προκλινικές εφαρμογές της φωτοδυναμικής θεραπείας πραγματοποιήθηκαν από τους Raab και von Tappeiner το 1903, για να περιγράψουν τα φαινόμενα της εξαρτωμένης από το οξυγόνο φωτοευαισθητοποίησης[3],[29]. Η πρώτη βιοϊατρική εφαρμογή του «φωτοδυναμικού φαινομένου» αναφέρεται το 1912 από τον Friedrich Meyer-Betz, ο οποίος χορήγησε στον εαυτό του 200mg αιματοπορφυρίνη (hematoporphyrin - Hp). Μετά από έκθεση στο ηλιακό φως, ο Meyer υπέφερε από επίπονη φωτοτοξική αντίδραση, η οποία διήρκεσε δύο μήνες[2].

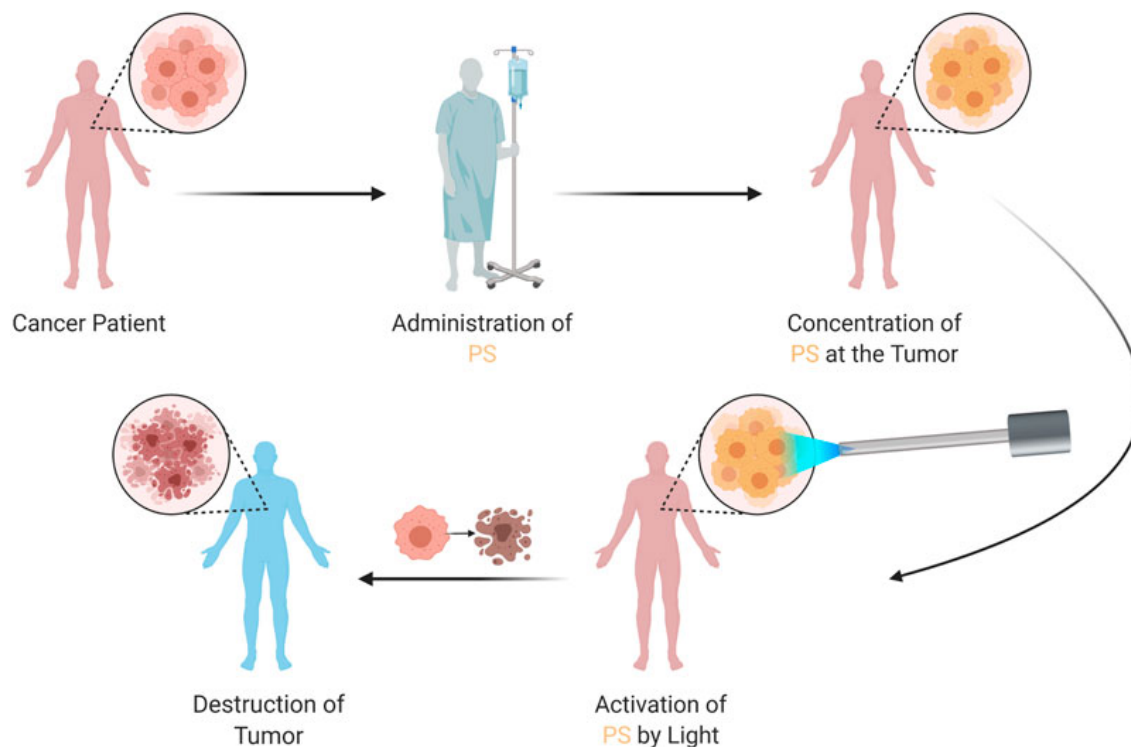


Σχήμα 2.1: Φωτογραφίες του F.Meyer-Betz πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη χορήγηση αιματοπορφυρίνης στον εαυτό του. Η χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή είχε ως αποτέλεσμα εκτεταμένη φωτοευαισθησία στο δέρμα του, έως και 2 μήνες μετά τη χορήγηση[2].

Η φωτοδυναμική θεραπεία έχει συγκεντρώσει το ενδιαφέρον στη θεραπεία του καρκίνου λόγω των πλεονεκτημάτων της, όπως η ελάχιστη επεμβατικότητα και η επιλεκτική καταστροφή[30]. Ο Dr Dougherty εφάρμοσε για πρώτη φορά την φωτοδυναμική θεραπεία σε ασθενή με καρκίνο στην ουροδόχο κύστη το 1976. Έρευνες που διεξήχθησαν το 1980 απέδειξαν την αποτελεσματικότητά της ως θεραπεία. Ο Dr Dougherty το 1995 κατάφερε να πάρει έγκριση από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (U.S. Food and Drug Administration (FDA)) για την εμπορική διάθεση της πορφυρίνης (εμπορικό όνομα παραγώγου της αιματοπορφυρίνης – HpD Hematoporphyrin Derivative)[3].

2.2 Βασικές Αρχές της Φωτοδυναμικής Θεραπείας

Η Φωτοδυναμική Θεραπεία - ΦΔΘ (Photodynamic Therapy - PDT) είναι μια φωτοενεργοποιούμενη θεραπεία η οποία βασίζεται στην παραγωγή μονήρους οξυγόνου και ελευθέρων ριζών ως προϊόντα της διέγερσης του φωτοευαισθητοποιητή με φως κατάλληλου μήκους κύματος, με σκοπό την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων του στόχου. Η φωτοδυναμική θεραπεία βασίζεται στον συνδυασμό τριών παραγόντων: της μονοχρωματικής μη-ιοντίζουσας ακτινοβολίας, της φωτοευαισθητοποιού ουσίας και του οξυγόνου. Το αποτέλεσμα της φωτοδυναμικής θεραπείας οφείλεται στην συνέργεια των τριών παραπάνω παραγόντων. Το πρωτόκολλο της θεραπείας περιλαμβάνει τη συστηματική χορήγηση (ή την τοπική επάλειψη πάνω στον καρκινικό όγκο σε ορισμένες περιπτώσεις) ενός φωτοευαισθητικού, αλλά, αβλαβούς φαρμάκου, του φωτοευαισθητοποιητή. Μόλις συγκεντρωθεί ο φωτοευαισθητοποιητής σε ικανοποιητικά επίπεδα στον καρκινικό όγκο, φως κατάλληλου μήκους κύματος καθοδηγείται επάνω στον όγκο. Τα μόρια του φωτοευαισθητοποιητή, με την απορρόφηση κβάντων φωτός, ενεργοποιούν μια σειρά φωτοφυσικών διεργασιών οι οποίες οδηγούν στη δημιουργία κυτταροτοξικών προϊόντων, τα οποία με τη σειρά τους, δρουν ενδοκυττάρια οξειδώνοντας κυτταρικά οργανίδια και τελικά οδηγούν στην καταστροφή των καρκινικών κυττάρων[31]. Μετά τη χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή, ο ασθενής θα πρέπει να αποφεύγει να εκτίθεται άμεσα στο φως για ένα χρονικό διάστημα (μερικές εβδομάδες), προκειμένου να αποφύγει τη φωτοευαισθησία. Τα στάδια εφαρμογής της φωτοδυναμικής θεραπείας περιγράφονται στην Εικόνα 2.2.

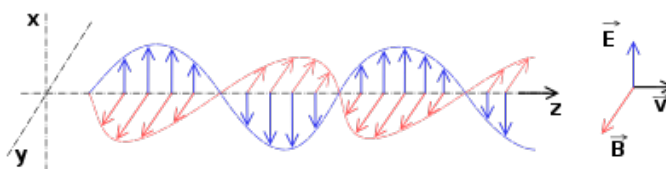


Σχήμα 2.2: Στάδια εφαρμογής φωτοδυναμικής θεραπείας : Χορήγηση φωτοευαισθητοποιητή → Επιλεκτική συγκέντρωση στον καρκινικό ιστό → καθοδήγηση φωτός στον καρκινικό όγκο, διέγερση φωτοευαισθητοποιητή, ενεργοποίηση κυτταροτοξικών αντιδράσεων καταστροφής καρκινικού όγκου → πλήρης ίαση[3].

2.3 Αλληλεπιδράσεις Ακτινοβολίας με την Υλη

2.3.1 Το Φως ως Κύμα

Σύμφωνα με την κλασική ηλεκτρομαγνητική θεωρία, το φως εκφράζει χαρακτηριστικά ηλεκτρομαγνητικού κύματος, δηλαδή αποτελείται από ταλαντευόμενα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία, κάθετα μεταξύ τους και κάθετα στη διεύθυνση διάδοσης. Η διάδοσή του είναι εφικτή και στο κενό και σε υλικά μέσα. Η πλειοψηφία των αλληλεπιδράσεων του φωτός

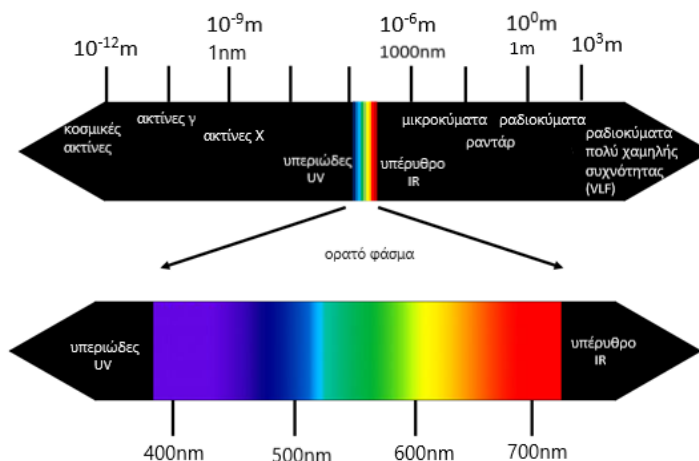


Σχήμα 2.3: Γραμμικά πολωμένο ηλεκτρομαγνητικό κύμα που ταξιδεύει κατά μήκος του άξονα z . Το άνωσμα E δηλώνει το ηλεκτρικό πεδίο και το κάθετο B το μαγνητικό πεδίο.

με την έμβια ύλη είναι ηλεκτρικές. Επομένως η διάδοση του φωτός στην κατεύθυνση z θα περιγράφεται από το ηλεκτρικό πεδίο $E(z, t)$ και θα εκφράζεται ως,

$$E(z, t) = E_0 \cos(\omega t - kz)$$

Ο λόγος της ταχύτητας διάδοσης του κύματος στο κενό προς την ταχύτητα διάδοσης του φωτός μέσω κάποιου υλικού μέσου, ισούται με τον δείκτη διάθλασης, n , και ισχύει $n = \frac{c_0}{c}$. Σε κενό περιβάλλον, όλα τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα, συμπεριλαμβανομένου του φωτός, ταξιδεύουν με την ίδια ταχύτητα, που είναι η ταχύτητα του φωτός. Ωστόσο, όταν το φως διασχίζει κάποιο υλικό μέσο, όπως βιολογικό ιστό, η ταχύτητά του μειώνεται. Τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα εκτείνονται σε ένα ευρύ φάσμα μήκους κύματος, καλύπτοντας το φάσμα από ραδιοκύματα, ορατό φως, υπέρυθρη και υπεριώδη ακτινοβολία, καθώς και ακτίνες -X και -γ.



Σχήμα 2.4: Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα

2.3.2 Το Φως ως Σωματίδιο

Τα φαινόμενα της σκέδασης και της απορρόφησης, εξηγούνται καλύτερα θεωρώντας το φως ως σωματίδιο. Η αλληλεπίδραση του φωτός με υλικά σωματίδια, όπως τα ηλεκτρόνια, περιλαμβάνει εκτός από ανταλλαγή ενέργειας και ανταλλαγή ορμής. Η ενέργεια του ηλεκτρομαγνητικού κύματος είναι κβαντισμένη και το κβάντο ενέργειας καλείται φωτόνιο. Η ενέργεια ενός φωτονίου εκφράζεται από τη σχέση

$$E = h \cdot f$$

Όπου $h = 6.62607015 \cdot 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$, η σταθερά του Planck και f η συχνότητα, για την οποία ισχύει $c = \lambda \cdot f$, όπου c η ταχύτητα του φωτός στο κενό και λ το μήκος κύματος κύματος. Ο αριθμός φωτονίων N , δίνεται από την σχέση:

$$N = \frac{E_{total}}{h \cdot f}$$

, όπου E_{total} η συνολική ενέργεια του συστήματος φωτονίων.

Υπεριώδεις (UV)	Ορατό (VIS)	Υπέρυθρο (IR)
UVC : 100 - 280nm	Ιώδες : 400 - 430nm Μπλε : 430 - 480nm Κυανό : 480 - 520nm	Εγγύς υπέρυθρο : 780 - 1400nm
UVB : 280 - 315nm	Πράσινο : 520 - 570nm Κίτρινο : 570 - 600nm	Υπέρυθρο : 1400 - 3000nm
UVA : 315 - 400nm	Πορτοκαλί : 600 - 630nm Κόκκινο : 630 - 780nm	Μακράν υπέρυθρο : 3000 - 10.600nm

Πίνακας 2.1: Φάσμα μη ιοντίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, στην περιοχή UV-VIS-IR. Η ανθρώπινη όραση επιτρέπει μόνο την όραση μικρού φάσματος ακτινοβολίας περίπου από 400-780nm με γυμνό οφθαλμό. Το υπεριώδες τμήμα του φάσματος κυμαίνεται από 100-400nm. Το υπέρυθρο κυμαίνεται από 780-10.600nm. Μήκη κύματος στην περιοχή του μπλε, παρουσιάζουν μικρότερο βάθος διείσδυσης σε βιολογικά υλικά και ιστούς, σε σχέση με μήκη κύματος στην περιοχή του κόκκινου. Το συμπέρασμα αυτό μπορεί να διαπιστωθεί και με προσωπικό πείραμα, τοποθετώντας έναν φακό στην εξωτερική επιφάνεια από το μάγουλο και παρατηρώντας την κόκκινη λάμψη στην εσωτερική επιφάνεια. Η κόκκινη λάμψη είναι επειδή το κόκκινο διεισδύει βαθύτερα στον ιστό και όχι εξαιτίας του χρώματος του αίματος που συνήθως πιστεύεται[13],[14].

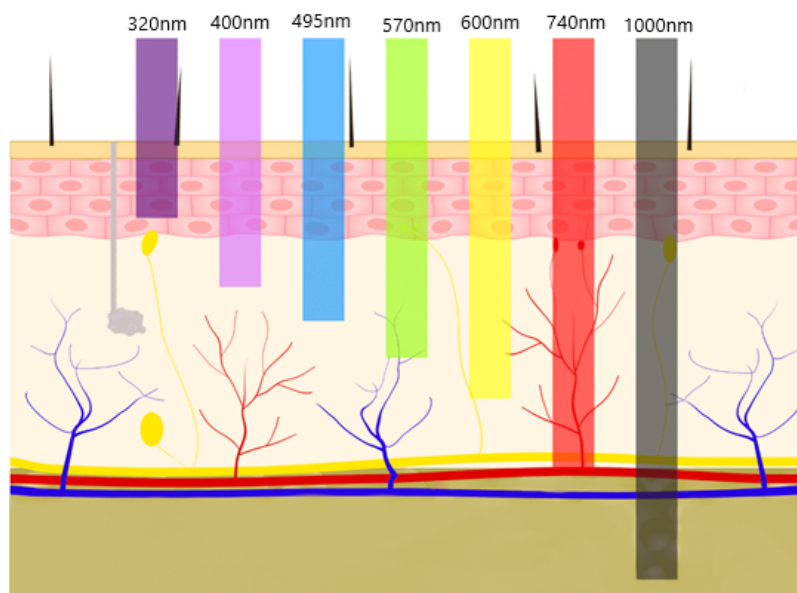
2.4 Αλληλεπίδραση του Φωτός με την Έμβια Ύλη

Όταν τα φωτόνια συναντούν τον ιστό, μπορούν να ανακλαστούν ή να εισέλθουν στο εσωτερικό του ιστού και εκεί να σκεδαστούν πολλαπλά ή να απορροφηθούν. Το ποιο φαινόμενο θα επικρατήσει, εξαρτάται από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και τις οπτικές ιδιότητες του ιστού, όπως ο δείκτης διάθλασης, n , ο συντελεστής απορρόφησης, μ_a , ο συντελεστής σκέδασης, μ_s , και η παράμετρος ανισοτροπίας, g [3], [32].

- **Συντελεστής απορρόφησης (Absorption Coefficient- μ_a):** Η πιθανότητα να απορροφηθεί ένα φωτόνιο που διανύει μία απειροελάχιστη απόσταση, προς αυτήν την απόσταση. Μονάδες μεγέθους στο S.I. είναι m^{-1} , στην φωτοδυναμική θεραπεία χρησιμοποιούνται τα cm^{-1} ή και τα mm^{-1} .
- **Συντελεστής σκέδασης (Scattering Coefficient- μ_s):** Η πιθανότητα να σκεδαστεί ένα φωτόνιο που διανύει μία απειροελάχιστη απόσταση. Μονάδες μεγέθους στο S.I. είναι m^{-1} .
- **Παράμετρος ανισοτροπίας (anisotropy parameter - g):** Η μέση τιμή των συνημίτονων των γωνιών σκέδασης. Για ισοτροπική σκέδαση ισχύει ότι $g = 0$. Στους περισσότερους μαλακούς ιστούς, όπου επικρατεί η σκέδαση προς τα εμπρός, ισχύει ότι $g > 0.9$ [33].

Μερικές τυπικές τιμές για βιολογικούς ιστούς για τις παραπάνω μεταβλητές είναι $\mu_a \approx 0.1m^{-1}$, $\mu_s \approx 100cm^{-1}$, $g = 0.9$ και $n = 1.4$ [32]. Η ένταση του φωτός, $I(x)$, σε βάθος x μέσα στον ιστό, μειώνεται εκθετικά με το βάθος και περιγράφεται από την σχέση:

$$I(x) = I_0 \cdot e^{-(\mu_a + \mu_g) \cdot x}$$



Σχήμα 2.5: Διείδυση του φωτός στις διάφορες στιβάδες της επιδερμίδας. Αναπαράσταση κατά προσέγγιση των βαθών διείδυσης του φωτός στο δέρμα, ανάλογα με το μήκος κύματος του [4].

όπου x είναι το βάθος διείδυσης και I_0 είναι η ένταση του προσπίπτοντος φωτός. Το άθροισμα $\mu_a + \mu_s$, δίνει τον ολικό συντελεστή εξασθένισης μ_{eff} , ο οποίος έχει μονάδες στο SI m^{-1} , αλλά στην φωτοδυναμική θεραπεία χρησιμοποιούνται πιο συχνά μονάδες cm^{-1} ή mm^{-1} . Για μαλακούς ιστούς, $\mu_{eff} \approx 1mm^{-1}$. Το αντίστροφο του μ_{eff} αναφέρεται και ως μήκος διάχυσης (βάθος διείδυσης)[33].

2.4.1 Οπτικό Παράθυρο

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η διείδυση του φωτός εξαρτάται από τις οπτικές ιδιότητες του ιστού και το μήκος κύματος που χρησιμοποιείται. Γενικά, επειδή υπάρχει ετερογένεια μεταξύ ιστών, ή ακόμα και εντός ενός ιστού, παρατηρούμε ότι τέτοιες ανομοιογενείς περιοχές, όπως ο πυρήνας του κυττάρου ή οι μεμβράνες, προκαλούν ανάκλαση, σκέδαση ή απορρόφηση του φωτός. Το νερό, το οποίο υπάρχει σε μεγάλο ποσοστό στον οργανισμό, απορροφά το φως σε υψηλά μήκη κύματος, κυρίως στο μέσο υπέρυθρο, $\lambda \approx 1300nm$. Επιπλέον, η οξυαιμοσφαιρίνη και η μελανίνη, τα πιο σημαντικά χρωμοφόρα στον οργανισμό, απορροφούν μικρότερα μήκη κύματος, περίπου 600nm. Το φαινόμενο της σκέδασης κυ-

ριαρχεί σε μήκη κύματος 600-1300nm, καθώς η απορρόφηση των βιολογικών μορίων είναι μικρή σε αυτή την περιοχή. Αυτά τα φαινόμενα, απέδειξαν την πόση σημασία έχει το να οριστεί το «φωτοθεραπευτικό παράθυρο» στην φωτοδυναμική θεραπεία, το οποίο και ορίζεται μεταξύ 600 – 1300nm[34],[35]. Ωστόσο, τα μήκη κύματος μεταξύ 620 – 850nm έχουν την μεγαλύτερη ικανότητα διείσδυσης για να επιτευχθεί η μέγιστη διαπερατότητα στο δέρμα. Δηλαδή, μήκη κύματος στην περιοχή του κόκκινου, παρουσιάζουν μεγαλύτερο βάθος διείσδυσης σε σχέση με την περιοχή του μπλε. Για να εξασφαλιστεί μέγιστη απορρόφηση του φωτός από τον ιστό επιλέγεται η κόκκινη περιοχή του φάσματος, στο οποίο παρουσιάζεται κορυφή απορρόφησης, όπως θα αποδειχθεί και προσομοιωτικά σε επόμενο κεφάλαιο. Πάνω από τα 850nm το φως δεν έχει την απαιτούμενη ενέργεια για να ενεργοποιήσει τον φωτοευαισθητοποιητή, ως εκ τούτου ο φωτοευαισθητοποιητής δεν μπορεί να παράξει αρκετή ενέργεια για να διεγερθεί στην κατάσταση τριπλέτας του, ώστε να δημιουργηθεί το μονήρες οξυγόνο[3]. Στη φωτοδυναμική θεραπεία φως μήκους κύματος 630nm έχει βάθος διείσδυσης 1 – 3mm, ενώ στα 700 – 850nm το βάθος διείσδυσης είναι περίπου 2 – 6mm[34].

2.5 Μηχανισμός της Φωτοδυναμικής Θεραπείας

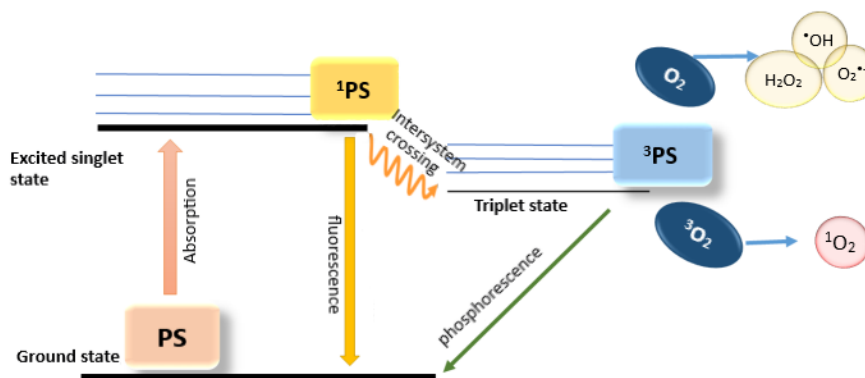
Η φωτοδυναμική θεραπεία χρησιμοποιεί συγκεκριμένους παράγοντες που συμπεριφέρονται ως φωτοευαισθητοποιητές. Τέτοιες χημικές ενώσεις είναι σε ανενεργή κατάσταση μέχρι να εκτεθούν σε κατάλληλη ακτινοβολία. Η ενεργοποίησή τους, επίσης, εξαρτάται από την παρουσία οξυγόνου. Ο φωτοευαισθητοποιητής, αφού ενεργοποιηθεί με την παρουσία μονοχρωματικού φωτός laser, παράγει δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS – Reactive Oxygen Species), οι οποίες προκαλούν μια κυτταροτοξική απόκριση στον ιστό, καθιστώντας την, υπεύθυνη για τον θάνατο καρκινικών κυττάρων. Η χρήση κατάλληλου μήκους κύματος ακτινοβολίας laser έχει εξαιρετική σημασία καθώς, λόγω μονοχρωματικότητας, μπορεί να διεγείρει τα μόρια του φωτοευαισθητοποιητή, όταν βέβαια αυτό συμπίπτει με το φάσμα απορρόφησης του. Συγκεκριμένα, ο φωτοευαισθητοποιητής διεγείρεται απορροφώντας φως μήκους κύματος ίσου με το μήκος κύματος που παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση και αυτό συμβαίνει στην περιοχή 600-850nm για πολλούς φωτοευαισθητοποιητές. Η αποδιέγερση των μορίων, παρέχει την απαιτούμενη ενέργεια σε οργανικά μόρια και σε μόρια οξυγόνου για την πραγματοποίηση κυτταροτοξικών φαινομένων, που καταλήγουν σε άμεσο θάνατο των παθολογικών κυττάρων και σε καταστροφή της μικροκυκλοφορίας στη νεοαγγείωση του όγκου[36].

2.5.1 Μηχανισμοί Φωτοδυναμικής Δράσης Τύπου I και Τύπου II

Όπως έχουμε αναφέρει ήδη τα φωτόνια που απορροφώνται από τον φωτοευαισθητοποιητή πρέπει να έχουν επαρκή ενέργεια για να προκαλέσουν την ηλεκτρονική διέγερση των μορίων του και τη μετάβαση σε ανώτερη ενεργειακή στάθμη. Το μήκος κύματος που χρησιμοποιείται για τη διέγερση των μορίων του φωτοευαισθητοποιητή κρίνεται με βάση το φάσμα απορρόφησης του φωτοευαισθητοποιητή. Για μεγιστοποίηση της διείσδυσης του φωτός προτιμάται μήκος κύματος κυρίως στην περιοχή του κόκκινου, στην περιοχή φάσματος 600-850nm και επομένως σε αυτήν την περιοχή απορρόφησης αναπτύσσονται φάρμακα νέας

γενιάς. Αναλυτικότερα, η κατάλληλη ακτινοβολία του φωτοευαισθητοποιητή προκαλεί την διέγερση των μορίων του σε στοιβάδα υψηλότερης ενέργειας- διεγερμένη κατάσταση (excited singlet state). Στη συνέχεια, κατά την αποδιέγερση των μορίων, και την μετάβασή τους στην θεμελιώδη κατάσταση, η η περίσσεια ενέργεια αποδίδεται με την μορφή θερμότητας είτε με τη μορφή φθορισμού. Η εκδήλωση με την μορφή φθορισμού καθίσταται πολύ χρήσιμη διότι γνωρίζοντας το μήκος κύματος φθορισμού της φωτοευαισθητοποιητικής ουσίας, μπορεί να προσδιοριστεί η καρκινική περιοχή. Εναλλακτικά, μεταβαίνουν σε μία μετασταθή κατάσταση με διασυστηματική μετάβαση (intersystem crossing), την τριπλέτα (excited triplet state). Ο μεγάλος χρόνος παραμονής στην τριπλέτα είναι αναγκαίος για να αντιδράσει το διεγερμένο μόριο του φωτοευαισθητοποιητή με τα συστατικά του βιολογικού ιστού και να παράξει τα κυτταροτοξικά είδη. Από εκεί μπορούν να αποδιεγερθούν στη θεμελιώδη στάθμη με την περίσσεια ενέργειας να εκπέμπεται ως ακτινοβολία φωσφορισμού, είτε να μεταφέρεται σε γειτονικά μόρια δημιουργώντας ρίζες και ιόντα που με τη σειρά τους αντιδρούν με μόρια οξυγόνου (μηχανισμός Τύπου I). Εάν όμως η τριπλέτα είναι κατειλημμένη, μπορούν να διεγείρουν απευθείας γειτονικά μόρια οξυγόνου μέσω φαινομένων συντονισμού (μηχανισμός Τύπου II)[36]. Κατά τον μηχανισμό Τύπου I, ηλεκτρόνια μεταφέρονται από τον διεγερμένο στην τριπλή διεγερμένη στάθμη φωτοευαισθητοποιητή, σε γειτονικά μόρια υποστρώματος (περιλαμβανομένων και μορίων οξυγόνου), σχηματίζοντας ελεύθερες ρίζες. Οι ρίζες αυτές είναι πιθανό να αντιδράσουν με το μοριακό οξυγόνο παράγοντας δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS- Reactive Oxygen Species). Οι Τύπου I φωτοχημικές αντιδράσεις συχνά οδηγούν στο σχηματισμό ανιόντος υπεροξειδίου, O_2^- , μέσω μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου από τον φωτοευαισθητοποιητή στο μοριακό οξυγόνο. Τα υπεροξειδικά ανιόντα δεν είναι πολύ ενεργά στα βιολογικά συστήματα, όμως συμμετέχουν στις αντιδράσεις παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 . Το H_2O_2 μπορεί εύκολα να διαπεράσει βιολογικές μεμβράνες. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις το υπεροξείδιο του υδρογόνου μπορεί να αντιδράσει με υπεροξειδικά ανιόντα, σχηματίζοντας την ρίζα υδροξυλίου, $\cdot OH$, η οποία είναι από τις δραστικότερες ελεύθερες ρίζες. Η ρίζα υδροξυλίου $\cdot OH$ έχει την δυνατότητα να επιτεθεί και να οξειδώσει οποιοδήποτε μόριο στο εσωτερικό του κυττάρου, ενώ παράλληλα οι ενέργειες ενεργοποίησης των αντιδράσεων αυτών είναι πολύ μικρές. Οι ελεύθερες ρίζες και τα δραστικά οξυγονούχα είδη προκαλούν μεταβολές ή διακοπή της φυσιολογικής λειτουργίας των κυττάρων και εν τέλει κυτταρικό θάνατο[31]. Κατά τον μηχανισμό Τύπου II μεταφέρεται ενέργεια από τον διεγερμένο στην τριπλή διεγερμένη στάθμη φωτοευαισθητοποιητή, στο μοριακό οξυγόνο O_2 . Κατά τη μεταφορά ενέργειας σχηματίζεται το μονήρες οξυγόνο 1O_2 . Το μονήρες οξυγόνο, ένα εξαιρετικά δραστικό οξυγονούχο είδος, έχει πολύ μικρό χρόνο ημιζωής, $t_{1/2} = 3 \times 10^{-6} s$, και πολύ μικρή ακτίνα δράσης, με μέγιστο 30nm. Ωστόσο, έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει οξείδωση όλων των βιομορίων που βρίσκονται στην ακτίνα δράσης του. Η αλληλεπίδραση του μονήρους οξυγόνου με ενδοκυττάρους στόχους καταστρέφει ζωτικά για τη λειτουργία του κυττάρου οργανίδια και δομές, μιτοχόνδρια, μεμβράνες, λυσοσώματα, οδηγώντας στον κυτταρικό θάνατο. Οι μηχανισμοί φωτοδυναμικής δράσης Τύπου I και II μπορούν να προκύψουν παράλληλα. Η αναλογία μεταξύ τους εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους, με τις πιο σημαντικές να είναι ο τύπος του φωτοευαισθητοποιητή και η συγκέντρωση του οξυγόνου[31]. Επιπρόσθετα, ενώ κυριαρχεί η άποψη ότι οι αντιδράσεις Τύπου II επικρατούν στην φωτοδυναμική θεραπεία, έχει προταθεί ότι αντιδράσεις Τύπου I μπορούν να κυριαρχήσουν κάτω

από συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης του φωτοευαισθητοποιητή ή σε συνθήκες υποξίας[14].



Σχήμα 2.6: Διάγραμμα Jablonski, Φωτοδυναμικές Μεταβολές Φωτοευαισθητοποιητή [5], Ground state = Θεμελιώδης Κατάσταση Φωτοευαισθητοποιητή ¹PS= Πρώτη Διεγερμένη Κατάσταση Φωτοευαισθητοποιητή Intersystem Crossing = Διασυστηματική Μετάπτωση ³PS = Τριπλή Διεγερμένη Κατάσταση Φωτοευαισθητοποιητή Fluorescence = Φθορισμός Phosphorescence = φωσφορισμός

2.5.2 Ο ρόλος του Οξυγόνου στην Φωτοδυναμική Θεραπεία

Το θεραπευτικό αποτέλεσμα της φωτοδυναμικής θεραπείας εξαρτάται από τη συγκέντρωση του μοριακού οξυγόνου στους ιστούς του όγκου. Συνεπώς, τα αποτελέσματα της θεραπείας επηρεάζονται σημαντικά από τους υποξικούς όγκους (έλλειψη επαρκούς οξυγόνωσης)[3]. Υποξικές καταστάσεις, δηλαδή τυπικά καταστάσεις όπου το οξυγόνο δείχνει ποσοστό 0.3-4.2% O₂ έναντι του 4-10% σε φυσιολογικό ιστό, αποτελούν ιδιαίτερο πρόβλημα, δεδομένου ότι το οξυγόνο είναι βασικός δομικός λίθος αυτής της θεραπείας, και τέτοιες συνθήκες οξυγόνου παρουσιάζουν αντίσταση στην φωτοδυναμική δράση. Μάλιστα, οι υποξικοί όγκοι απαιτούν αλλαγή στην δόση της φωτοευαισθητοποιητικής ουσίας. Η φωτοδυναμική θεραπεία είναι μια διαδικασία που από μόνη της καταναλώνει οξυγόνο, άρα επηρεάζει ακόμα περισσότερο τα επίπεδα υποξίας του όγκου, οδηγώντας έτσι σε ακόμα πιο μειωμένη αποτελεσματικότητα. Οι υποξικές ζώνες στερεών όγκων είναι επίσης εξαιρετικά ανθεκτικές τόσο σε χημειοθεραπείες, όσο και σε ακτινοθεραπείες[37]. Προκειμένου να ξεπεραστούν τα προβλήματα που σχετίζονται με τη χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου σε καρκινικούς όγκους, η φωτοδυναμική θεραπεία συνδυάστηκε με χρήση υπερβαρικού οξυγόνου (HBO₂). Ο ασθενής τοποθετείται σε υπερβαρικό θάλαμο, ο οποίος μπορεί να ενισχύσει την παροχή οξυγόνου στον οργανισμό. Αυτό

μπορεί δυνητικά να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της φωτοδυναμική θεραπείας. Μια άλλη λύση που έχει προταθεί προκειμένου να ξεπεραστεί ηυποξία, είναι η υπεροξυγόνωση (hyperoxygenation), όπου ασθενής εισπνέει καθαρό οξυγόνο υψηλής πίεσης. Σε έρευνα που διεξήχθη από τους Hetzel et al, σε μύες με μεταμοσχευμένους καρκίνους του μαστού, εφαρμόστηκε πίεση 3 atm (ατμοσφαιρική πίεση) σε υπερβαρικό οξυγόνο κατά τη φάση ακτινοβολήσης της φωτοδυναμικής θεραπείας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η φωτοδυναμική θεραπεία, μπορεί να είναι πιο ισχυρή στον έλεγχο των υποξικών όγκων όταν συνδυάζεται με υπεροξυγόνωση[3]. Επίσης, μελέτες των Henderson et al., υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση του οξυγόνου στη φωτοδυναμική θεραπεία εξαρτάται από τον τρόπο ακτινοβολήσης, και ότι η καταστροφή του καρκινικού ιστού θα μπορούσε να ενισχυθεί χρησιμοποιώντας χαμηλότερους ρυθμούς ροής ενέργειας ακτινοβολίας (fluence rate). Ο χαμηλότερος ρυθμός ακτινοβολήσης συμβάλει στο να μην καταναλωθούν άμεσα όλα τα αποθέματα οξυγόνου του ιστού, με αποτέλεσμα ο ιστός να εκτίθεται στο μονήρες οξυγόνο για περισσότερο χρόνο[14]. Ο ρυθμός παραγωγής μονήρους οξυγόνου $\frac{d[{}^1O_2]}{dt}$ που περιγράφεται από την παρακάτω εξίσωση, είναι συνάρτηση του ρυθμού ακτινοβολήσης Ψ , της φωτοδυναμικής δόσης DPDT, και της συγκέντρωσης του μοριακού οξυγόνου. Επίσης, εξαρτάται από την συγκέντρωση, C, το μοριακό συντελεστή εξασθένισης, ε, και την κβαντική απόδοση παραγωγής μονήρους οξυγόνου Φ. Η παρακάτω εξίσωση φανερώνει ότι ο ρυθμός που καταναλώνεται το οξυγόνο, αυξάνεται γραμμικά με τον ρυθμό ακτινοβολήσης. Κλινικά ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οι ρυθμοί ακτινοβολήσης δεν είναι πάντα κατάλληλοι για την πιο αποτελεσματική κυτταροτοξική αντίδραση[14].

$$\frac{d[{}^1O_2]}{dt} = \frac{\epsilon C \Psi}{E_{\Phi}} \Phi = \frac{D_{PDT}}{t E_{\Phi}} \Phi = k[{}^3O_2]$$

Σε μελέτη που διεξήχθη από τους Foster et al., πράγματι αποδείχθηκε ότι ακτινοβολήση με $50mW/cm^2$ παρουσίασε καλύτερη θεραπευτική δράση από την ακτινοβολήση με $200mW/cm^2$ όταν εφαρμόστηκε σε αρουραίους με καρκινικούς όγκους, που θεραπεύτηκαν με την φωτοευαισθητοποιό ουσία Photofrin, με δόση 5 mg/kg, δόση ενέργειας στα $360J/cm^2$ και μήκος κύματος ακτινοβολίας $630nm$ [14]. Δεδομένα από πειραματικές μελέτες και μοντέλα διάχυσης οξυγόνου, προτείνουν την χρήση χαμηλότερων ρυθμών ακτινοβολήσης, διότι με αυτόν τον τρόπο, εκτίθενται μέρη του όγκου στο μονήρες οξυγόνο για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα[14].

2.6 Μηχανισμοί Κυτταρικού Θανάτου

Ενώ οι συμβατικές μέθοδοι αντιμετώπισης του καρκίνου, όπως για παράδειγμα η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία, συνήθως προκαλούν καταστολή του ανοσοποιητικού, η φωτοδυναμική θεραπεία είναι ικανή να προκαλέσει φλεγμονή, να επιστρατεύσει λευκόκυτταρα στην περιοχή-στόχο, καθώς και να διευκολύνει την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων για την καταπολέμηση του όγκου. Η φωτοδυναμική θεραπεία είναι ικανή να εξοντώσει καρκινικά κύτταρα απευθείας μέσω της πρόκλησης απόπτωσης ή νέκρωσης μέσω του 1O_2 [3]. Μπορεί επίσης να προκαλέσει τον θάνατο των καρκινικών κυττάρων μέσω αυτοφαγίας. Αυτοί οι μηχανισμοί μπορούν να συμβαίνουν ταυτόχρονα, ανάλογα με τον τύπο και τη δόση του

φωτοαισθητοποιητή. Η έκταση της φωτοκαταστροφής και της κυτταροτοξικότητας μετά τη φωτοδυναμική θεραπεία, σε επίπεδο οργανισμού καθορίζεται από πολλούς παράγοντες. Το είδος του φωτοευαισθητοποιητή, την περιοχή που συσσωρεύεται επιλεκτικά, την συγκέντρωσή του, την συνολική δόση ενέργειας που απορροφά, τον χρόνο που μεσολαβεί από τη χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή μέχρι την έκθεσή του στο φως, το είδος των καρκινικών κυττάρων, τα επίπεδα οξυγόνου τους, τον ρυθμό ροής ακτινοβολίας και τη διάρκεια εφαρμογής της θεραπείας[3],[14],[38],[39].

2.6.1 Βλάβη στους Υποκυττάρους Στόχους

Εξαιτίας της πολύ μικρής ακτίνας δράσης του μονήρου οξυγόνου, $^1\text{O}_2$, από το σημείο που δημιουργείται, και εξαιτίας του μικρού χρόνου ζωής του, η διάχυσή του στα γύρω σημεία είναι ασήμαντη. Η βλάβη στο εσωτερικό των κυττάρων, εξαιτίας της φωτοδυναμικής θεραπείας, περιορίζεται στον χώρο που εντοπίζεται ο φωτοευαισθητοποιητής. Οι πιο υψηλής επιλεκτικότητας φωτοευαισθητοποιητές που είναι σήμερα γνωστοί είναι ο Lysyl Chlorin p6 για τα λυσοσώματα, ο Monocationic porphyrin για τις μεμβράνες, και ο Porphycene monomer για τα μιτοχόνδρια. Μερικοί φωτοευαισθητοποιητές που δεν απορροφώνται από τα κύτταρα, όπως για παράδειγμα η Uroporphyrin, είναι εξαιρετικά μη αποτελεσματικοί, παρόλο που έχουν τη δυνατότητα να αποδώσουν το υψηλό φωτοχημικό αποτέλεσμα του μονήρους οξυγόνου, $^1\text{O}_2$. Καθώς οι περισσότεροι φωτοευαισθητοποιητές δεν διαπερνούν την πυρηνική μεμβράνη για να συγκεντρωθούν στον πυρήνα του κυττάρου, η φωτοδυναμική θεραπεία έχει γενικά ελάχιστες πιθανότητες να προκαλέσει φθορά στο DNA, μεταλλάξεις ή καρκινογένεση. Φωτοευαισθητοποιητές οι οποίοι συγκεντρώνονται στα μιτοχόνδρια (όπως η Photofrin), ή που παράγονται στα μιτοχόνδρια (όπως η πρωτοπορφυρίνη IX) επάγουν κυτταρικό θάνατο μέσω απόπτωσης, ενώ φωτοευαισθητοποιητές που συγκεντρώνονται στην κυτταρική μεμβράνη εμποδίζουν τον μηχανισμό της απόπτωσης και ενθαρρύνουν τον μηχανισμό της νέκρωσης[40]. Επίσης θεωρείται ότι οι φωτοευαισθητοποιητές που συγκεντρώνονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο προκαλούν κυτταρικό θάνατο μέσω της αυτοφαγοκυττάρωσης[41]. Γενικά θεωρείται ότι χαμηλότερες δόσεις ενέργειας οδηγούν σε αποπτωτικό θάνατο ενώ υψηλότερες δόσεις σε νεκρωτικό[42]. Επίσης, μικρής συγκέντρωσης φωτοευαισθητοποιητή επάγει το μηχανισμό της απόπτωσης, ενώ μεγάλης συγκέντρωσης, θάνατο μέσω της νέκρωσης[42]. Οι μηχανισμοί κυτταρικού θανάτου που ενεργοποιούνται από την φωτοδυναμική θεραπεία, περιλαμβάνουν τον μηχανισμό της απόπτωσης (apoptosis), της νέκρωσης (necrosis), και της αυτοφαγίας -ή αυτοφαγοκυττάρωση-(autophagy).

Απόπτωση

Η απόπτωση είναι μια λειτουργία που συμβαίνει στο κύτταρο υπό φυσιολογικές συνθήκες, και η οποία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του ιστού και τον έλεγχο της ομοιόστασης στον οργανισμό. Για να πραγματοποιηθεί, ο μηχανισμός της απόπτωσης, καταναλώνει ενέργεια ATP[39]. Η απόπτωση μπορεί να ταυτοποιηθεί/αναγνωριστεί από μεμονωμένα κύτταρα που συνήθως περικυκλώνονται από φαινομενικά υγιή γειτονικά κύτταρα που λειτουργούν φυσιολογικά, και χαρακτηρίζεται από κυτταρική συρρίκνωση[42]. Οι μεμβράνες των οργανιδίων και του κυττάρου τείνουν να διατηρήσουν τη συνοχή τους για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστη-

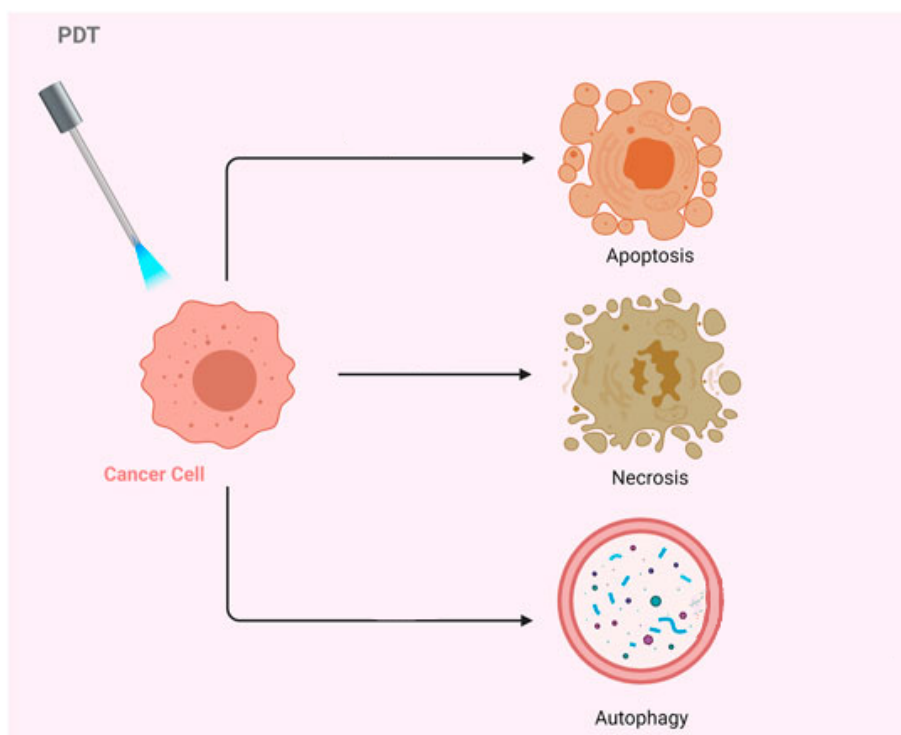
μα, χωρίς το περιεχόμενο του κυττάρου να μεταφέρεται στον εξωκυττάριο χώρο. Σε *in vitro* συνθήκες, τα αποπτωτικά κύτταρα θραύονται σε αποπτωτικά σωματίδια, τα οποία περικλείονται από κυτταρική μεμβράνη. Σε *in vivo*, αυτά τα αποπτωτικά σωματίδια περισυλλέγονται από φαγοκύτταρα, αποτρέπεται η δημιουργία φλεγμονής και τα κύτταρα πεθαίνουν φυσιολογικά με ελεγχόμενο τρόπο[42]. Η απόπτωση απαιτεί μεταγραφική ενεργοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης των ενδονουκλεασών και την ενεργοποίηση των κασπασών[42]. Δυσλειτουργία του μηχανισμού απόπτωσης διαταράσσει την ισορροπία του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του κυτταρικού θανάτου, συνιστώντας τη βάση για διάφορες ασθένειες ακόμα και καρκίνο.

Νέκρωση

Ο μηχανισμός της νέκρωσης είναι βίαιος και γρήγορος τρόπος καταστροφής των κυττάρων, ο οποίος μπορεί να επηρεάσει και τους ευρείς κυτταρικούς πληθυσμούς[42]. Ο μηχανισμός της νέκρωσης προκαλείται από μείωση της ενέργειας ATP σε επικίνδυνα επίπεδα[39]. Χαρακτηρίζεται από *in vitro* διόγκωση του κυτταροπλάσματος, καταστροφή των οργανιδίων και ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης, οδηγώντας σε μεταφορά ενδοκυττάρων συστατικών στον εξωκυττάριο χώρο και *in vivo* φλεγμονή. Η νέκρωση αναφέρεται ως τυχαίος κυτταρικός θάνατος, που προκαλείται από φυσική ή χημική βλάβη (physical or chemical damage) και θεωρείται απρογραμματίστος θάνατος[42]. Με την αύξηση της φωτοδυναμικής δόσης, ενδέχεται να αλλάξει ο μηχανισμός κυτταρικού θανάτου, και από απόπτωση να προκληθεί νέκρωση. Κάτι τέτοιο μπορεί να επιτευχθεί είτε με την αλλαγή της δόσης της ενέργειας, είτε με την αλλαγή στη δόση του φωτοευαισθητοποιητή. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η παραγωγή μονήρους οξυγόνου στο ενδοπλασματικό δίκτυο/κυτταρικές μεμβράνες, $^1\text{O}_2$, προκαλεί νέκρωση, ενώ ελεύθερες ρίζες, εκτός από το μονήρες οξυγόνο, που παράγονται στα μιτοχόνδρια είναι πιθανόν να ενεργοποιήσουν τον μηχανισμό της απόπτωσης[39].

Αυτοφαγία

Η αυτοφαγία (< αρχαία ελληνικά : αυτός + έφαγον) είναι μια φυσιολογική διαδικασία κατά την οποία το κυτοσόλιο και ολόκληρα οργανίδια εσωκλείονται σε διπλής μεμβράνης κενοτόπιο, το οποίο καλείται αυτοφαγόσωμα. Η σύντηξη των λυσοσωμάτων με τα αυτοφαγόσωμα προκαλεί τη διάσπασή τους. Παρόλο που αρχικά η αυτοφαγία περιγράφεται σαν μηχανισμός επιβίωσης σε περίπτωση έλλειψης θρεπτικών συστατικών, μπορεί να λειτουργεί και ως μηχανισμός επιβίωσης και υπό κατάλληλες συνθήκες. Η αυτοφαγία μπορεί να λειτουργήσει επίσης ως μηχανισμός άμυνας, εξασφαλίζοντας την κυτταρική επιβίωση, απομακρύνοντας ελαττωματικά οργανίδια[41]. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα εκείνη της παρατεταμένης αστίας, η αυτοφαγία μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο μέσω εκτεταμένης διάσπασης ζωτικών οργανιδίων αλλά και του κυττάρου, ως προσπάθειας του οργανισμού να τραφεί από τα ίδια του τα συστατικά[39]. Πρόσφατες μελέτες έχουν παρουσιάσει ότι η αυτοφαγία ενεργοποιείται μέσω των παραγώγων συστατικών της φωτοδυναμικής θεραπείας, των ελευθέρων ριζών και του μονήρους οξυγόνου, ως απόπειρα επιδιόρθωσης ή επιβίωσης, λόγω φωτοτραυματισμού σε κύρια οργανίδια ή να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο, εάν η αρχική προσπάθεια αποτύχει[39].



Σχήμα 2.7: Οι επιδράσεις της φωτοδυναμικής θεραπείας στα καρκινικά κύτταρα μπορεί να οδηγήσουν σε απόπτωση, νέκρωση ή αυτοφαγία [3].

Φωτοευαισθητοποιές Ουσίες

3.1 Εισαγωγή

Η φωτοευαισθητοποιός ουσία (Photosensitizer agent - PS) αποτελεί έναν από τους τρεις θεμελιώδους παράγοντες της φωτοδυναμικής θεραπείας, πέρα από την μονοχρωματική ακτινοβολία και το μοριακό οξυγόνο. Λόγω των φωτοχημικών τους ιδιοτήτων και της απορρόφησής τους, προς το παρόν μόνο λίγοι φωτοευαισθητοποιητές έχουν επίσημη έγκριση παγκοσμίως και χρησιμοποιούνται κλινικά. Σχετικά με τη θεραπεία του καρκίνου, οι εγκεκριμένοι ή σε κλινική δοκιμή αναφέρονται στον Πίνακα 2[15]. Οι φωτοευαισθητοποιητές που αναφέρονται στον Πίνακα 2, εκδηλώνουν μια ιδιαίτερη επιλεκτικότητα απέναντι στα καρκινικά κύτταρα και είναι ιδανικοί για την φωτοδυναμική θεραπεία. Ένας φωτοευαισθητοποιητής, για να θεωρείται αποτελεσματικός σε κλινικές μελέτες, πρέπει να έχει τις εξής ιδιότητες[43]:

- Να είναι λιπόφιλος, δηλαδή να έχει υδρόφοβο χαρακτήρα, ώστε να διαπερνά τις κυτταρικές μεμβράνες και να εισχωρεί στα κύτταρα
- Να απορροφά σε μήκη κύματος στα οποία κύτταρα οι φυσιολογικοί ιστοί έχουν ελάχιστη απορρόφηση (άρα διεισδύει βαθύτερα το φως),σε φάσμα μηκών κύματος στα 600-850nm
- Να μην είναι τοξικός χωρίς να έχει διεγερθεί, στις δόσεις που χρησιμοποιούνται
- Να έχει επιλεκτικότητα, δηλαδή την ικανότητα να συγκεντρώνεται επιλεκτικά στον καρκινικό ιστό και όχι στον περιβάλλοντα υγιή ιστό, αποτρέποντας με τον τρόπο αυτό τη φωτοκαταστροφή των γειτονικών φυσιολογικών περιοχών
- Να αποβάλλεται από τον οργανισμό σχετικά σύντομα, η αποδέσμευση του φωτοευαισθητοποιητή από τον οργανισμό θα πρέπει να είναι ταχύτατη για να ελαχιστοποιηθεί η περίοδος της ανεπιθύμητης φωτοευαισθησίας
- Να είναι εμπορικά διαθέσιμος
- Να είναι καθαρή ουσία και όχι μείγμα ουσιών για να είναι εύκολη, οικονομική και πρακτική σε βιομηχανική κλίμακα η παρασκευή του

3.2 Photofrin

Η πρώτη φωτοευαισθητοποιός ουσία που έλαβε έγκριση κλινικής χρήσης, ήταν ένα βελτιστοποιημένο παράγωγο αιματοπορφυρίνης (HPD), γνωστό με την εμπορική ονομασία Photofrin (Φωτοφρίνη), αρχικά το 1993 στον Καναδά για καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Αργότερα, εγκρίθηκε από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (U.S. Food and Drug Administration (FDA)) για ευρύτερη χρήση στα είδη καρκίνου, όπως καρκίνος του πνεύμονα, καρκίνος του οισοφάγου, γαστρικός καρκίνος, καρκίνος του τραχήλου της μήτρας καθώς επίσης και για δυσπλασία του τραχήλου της μήτρας. Το μέγιστο μήκος κύματος απορρόφησης της Photofrin είναι στα 630nm. Ακτινοβολία στα 630nm μπορεί να ενεργοποιήσει τη Photofrin σε βάθος ιστού περίπου στα 5mm, με αποτέλεσμα να απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις φωτοευαισθητοποιητή και μεγάλης διάρκειας ακτινοβολία για επαρκή εξάλειψη του όγκου. Κλινικά η Photofrin δεν έχει παρουσιάσει συστηματική τοξικότητα και δεν φαίνεται να είναι καρκινογόνος ή μεταλλαξιογόνος στις χρησιμοποιούμενες δόσεις. Η Photofrin χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία έναντι μιας μεγάλης ποικιλίας καρκίνων, και δεν φαίνεται να έχει κανένα γνωστό αθροιστικό ανώτατο όριο δόσης όπως η ραδιοθεραπεία με ακτίνες X ή γ και η χημειοθεραπεία. Έτσι οι ασθενείς μπορούν να πραγματοποιούν επανειλημμένα την θεραπεία, όσες φορές απαιτείται. Ωστόσο, συσσωρεύεται στο δέρμα έτσι ώστε μια πιθανή επιπλοκή μπορεί να είναι ένα σοβαρό ηλιακό έγκαυμα ή φωτοευαισθησία. Τέτοιες επιπτώσεις αποφεύγονται με τη χρήση προστατευτικών ρούχων και κατάλληλων γυαλιών ηλίου για περίπου 6 εβδομάδες μετά τη θεραπεία[14].

3.3 Κατηγοριοποίηση Φωτοευαισθητοποιητών

Σήμερα οι φωτοευαισθητοποιητές που χρησιμοποιούνται στη φωτοδυναμική θεραπεία ταξινομούνται σε πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς φωτοευαισθητοποιητές. Οι φωτοευαισθητοποιητές πρώτης γενιάς (ουσίες παράγωγα της αιματοπορφυρίνης- για παράδειγμα η εμπορικά διαθέσιμη ουσία Photofrin) εμφανίζουν παρατεταμένη φωτοευαισθησία ασθενών (αργή εκκαθάριση από το σώμα) και χαμηλή απορρόφηση σε μεγαλύτερα μήκη κύματος[14]. Για να αντιμετωπιστούν οι περιορισμοί που παρουσιάζουν οι πρώτης γενιάς φωτοευαισθητοποιητές, δημιουργήθηκαν φωτοευαισθητοποιητές δεύτερης γενιάς, με μεγαλύτερα μήκη κύματος απορρόφησης και ταχύτερη εκκαθάριση από τον οργανισμό. Στους φωτοευαισθητοποιητές δεύτερης γενιάς ανήκουν φαρμακευτικές ουσίες που περιλαμβάνουν πορφυρίνες, βακτηριοχλωρίνες, φθαλοκυανίνες, χλωρίνες και βενζοπορφυρίνες. Οι φωτοευαισθητοποιητές τρίτης γενιάς εμφανίστηκαν πρόσφατα, επικεντρωμένοι κυρίως σε στρατηγικές στόχευσης, όπως φωτοευαισθητοποιητές που κατευθύνονται από αντισώματα, αμινοξέα, πεπτιδία ή με ενθυλάκωση σε φορείς, για συσσώρευση σε στοχευμένες θέσεις και νανοφορείς φορτισμένους με φωτοευαισθητοποιητές. Σκοπός των φωτοευαισθητοποιιών τρίτης γενιάς είναι η ελάττωση των αρνητικών επιπτώσεων στα γειτονικά κύτταρα και η βελτίωση της φαρμακοκινητικής και της συσσώρευσης της ουσίας στον όγκο. Αυτές οι προσεγγίσεις αναπτύχθηκαν για να αυξήσουν και την απόδοση της φωτοδυναμικής θεραπείας και να επιτρέψουν τη διεύρυνση των τύπων του καρκίνου που θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν[15].

Φωτοευαισθητοποιητής	Χημική οικογένεια	Μήκος κύματος ενεργοποίησης (nm)	Τύπος καρκίνου	Χαρακτηριστικά
Porfimer sodium, HPD: hematoporphyrin derivative (Photofrin)	Porphyrin	630	Πνεύμονα, οισοφάγου, ουροδόχου κύστης, εγκεφάλου, ωθηκών, μεταστάσεις καρκίνου του μαστού	1ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
Veteporfin, BDP: benzoporphyrin derivative (Visudyne)	Porphyrin	690	Πάγκρεας, μαστού	2ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
Palladium bacteriopheophorbide, padeliporfin, WST-11 (Tookad)	Porphyrin	762	Οισοφάγου, προστάτη	2ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
Temoporfin, mTHPC: meso-tetrahydroxyphenylchlorine (Foscan)	Chlorin	652	Εγκεφάλου, πάγκρεας, μαστού, χοληδόχου πόρου	2ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
Talaporfin, mono-L-aspartyl chlorin e6, NPe6, LS11 (Laserphyrin)	Chlorin	660	Δέρματος, μαστού	2ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
Rostaporfin, SnEt2: tin ethyl etiopurpurin I, or (Purlytin)	Chlorin	660	Δέρματος, μαστού	2ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
Motexafin lutetium (Lutex)	Texaphyrin	732	Μαστού	2ης γενιάς, Ενδοφλέβια χορήγηση
5-ALA: 5-aminolevulinic acid (Levulan)	Porphyrin precursor	630	Δέρματος, ουροδόχου κύστης, εγκεφάλου, οισοφάγου	2ης γενιάς, Τοπική, από του στόματος ή ενδοφλέβια χορήγηση
h-ALA: hexylaminolevulinat (Hexvix)	Porphyrin precursor	λευκό φως	Χοληδόχου πόρου	2ης γενιάς, Τοπική χορήγηση

Πίνακας 3.1: Φωτοευαισθητοποιητές που διερευνήθηκαν για την θεραπεία του καρκίνου[15].

3.4 Εφαρμογές της Φωτοδυναμικής Θεραπείας σε εν Εξελίξει Κλινικές Δοκιμές

Δεδομένου ότι η φωτοδυναμική θεραπεία έχει τη δυνατότητα να έχει τοπικό αποτέλεσμα, δεν έχει συστηματικές ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρούνται σε άλλες θεραπείες. Επιπλέον, λόγω του μηχανισμού της, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλες διαδικασίες, όπως η ακτινοθεραπεία, η χημειοθεραπεία ή η χειρουργική επέμβαση. Επί του παρόντος, υπάρχει ένας αριθμός εν εξελίξει δοκιμών της φωτοδυναμικής θεραπείας με διαφορετικούς φωτοευαισθητοποιητές για διαφορετικούς τύπους καρκίνου. Μεταξύ όλων των εν εξελίξει δοκιμών που έχουν καταχωρηθεί στο clinicaltrials.gov, περίπου το 50% αυτών χρησιμοποιεί την φωτοδυναμική θεραπεία μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες για τουλάχιστον μία πάθηση (Πίνακας 3). Μέχρι στιγμής, με τη χρήση διαφορετικών φωτοευαισθητοποιητών, η θεραπεία φαίνεται να είναι αποτελεσματική στη μείωση του μεγέθους του όγκου και στην αύξηση του ποσοστού επιβίωσης των ασθενών σε αρκετές από τις δοκιμές, οι οποίες απευθύνονται σε διαφορετικά είδη όγκων (Πίνακας 4). Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι η πλειονότητα των τρεχουσών εν εξελίξει δοκιμών για τον καρκίνο χρησιμοποιεί φωτοευαισθητοποιητές που έχουν ήδη εγκριθεί για κλινική χρήση, κυρίως Photofrin, Levulan και Hexvix, αλλά και Verteporfin και άλλες ακόμη μη εγκεκριμένες ενώσεις[15].

Παθολογικές καταστάσεις	Αριθμός των κλινικών δοκιμών
Καρκίνος	49
Δερματολογικές παθήσεις	21
Λοιμώξεις του στόματος	17
Οφθαλμικές παθήσεις	5
Καρδιαγγειακές παθήσεις	2
Άλλες (μόνο 1 δοκιμή η καθεμία)	6

Πίνακας 3.2: Αριθμός των εν εξελίξει κλινικών δοκιμών που είναι εγγεγραμμένες στο clinicaltrials.gov που χρησιμοποιούν φωτοδυναμική θεραπεία για μείζονες παθήσεις[15].

Παθολογική πάθηση	Φωτοευαισθητοποιητής	Τύπος μελέτης	Εκτιμώμενη ημερομηνία ολοκλήρωσης μελέτης	Συμμετέχοντες	Κωδικός αναγνώρισης ClinicalTrials.gov
Καρκίνος του χοληδόχου πόρου	Aminolevulinic acid	Επεμβατική	Αύγουστος/2024	186	NCT03573401
Όγκος εγκεφάλου, Υποτροπιάζων	Porfimer sodium	Επεμβατική	Απρίλιος/2024	24	NCT01682746
Δεσμοειδείς όγκοι	Aminolevulinic acid	Επεμβατική	Δεκέμβριος/2026	140	NCT01898416
Καρκίνος του πνεύμονα, ακανθοκυτταρικός	Chlorin e6-PVP	Επεμβατική	Οκτώβριος/2024	111	NCT03346304
Εντοπισμένος καρκίνος προστάτη	Palladium bacteriopheophorbide	Επεμβατική	Μάρτιος/2024	50	NCT03315754
Καρκίνος του πνεύμονα	Porfimer sodium	Παρατηρητική	Δεκέμβριος/2024	1000	NCT01842555

Πίνακας 3.3: Λεπτομέρειες των εν εξελίξει κλινικών δοκιμών με τη χρήση της φωτοδυναμικής θεραπείας για την αντιμετώπιση νεοπλασματικών παθήσεων [15].

Κεφάλαιο 4

Πηγές Φωτός

4.1 Εισαγωγή

Το θεραπευτικό αποτέλεσμα της φωτοδυναμικής θεραπείας, εξαρτάται όχι μόνο από τις ιδιότητες του φωτοευαισθητοποιητή, αλλά και από το φως το οποίο χρησιμοποιείται για την διέγερσή του και τον τρόπο που φτάνει στον στόχο, άμεσα ή μέσω οπτικών ινών. Αναφέραμε ότι ένα από τα μειονεκτήματα της φωτοδυναμικής θεραπείας είναι το περιορισμένο βάθος διείσδυσης του φωτός που συνεπάγεται τη χρήση της θεραπείας κυρίως σε επιφανειακούς δερματικούς όγκους. Χρησιμοποιώντας ωστόσο οπτικές ίνες, το φως των laser μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία καρκινικών όγκων στο εσωτερικό του ανθρώπινου σώματος, διευρύνοντας έτσι τις εφαρμογές της φωτοδυναμικής θεραπείας[6]. Οι βασικές απαιτήσεις για τις πηγές φωτός που χρησιμοποιούνται στη φωτοδυναμική θεραπεία είναι δύο. Αρχικά η σύμπτωση με το φάσμα ενεργοποίησης του φωτοευαισθητοποιητή (το μέγιστο απορρόφησης του στην περιοχή 600-850nm). Το μήκος κύματος του φωτός που θα παράγει η πηγή θα πρέπει να αντιστοιχεί στο μέγιστο απορρόφησης του φωτοευαισθητοποιητή. Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζει το βάθος διείσδυσης του φωτός. Το βάθος διείσδυσης για μεγαλύτερα μήκη κύματος είναι μεγαλύτερο, όμως το «φωτοδυναμικό παράθυρο», 620-850nm, και άρα οι πηγές φωτός θα πρέπει να εκπέμπουν μέσα στο προαναφερθέν φάσμα. Για την ακτινοβολία ενός φωτοευαισθητοποιητή επιλέγεται μήκος κύματος που αντιστοιχεί στην κορυφή του φάσματος απορρόφησης του, που είναι πιο κοντά στο υπέρυθρο, αλλά ταυτόχρονα προσφέρει επαρκή απορρόφηση.

4.2 Είδη Πηγών στη Φωτοδυναμική Θεραπεία

4.2.1 Πηγές Σύμφωνου Φωτός

Lasers

Τα laser ως πηγή φωτός στην φωτοδυναμική θεραπεία, παρέχουν πολλά πλεονεκτήματα, όπως η ικανότητα να συνδυαστούν με οπτικές ίνες για πρόσβαση σε εσωτερικούς όγκους και η δυνατότητα επιλογής του μήκους κύματος ώστε να μεγιστοποιηθεί το βάθος διείσδυσης[44]. Μια μοναδική ιδιότητα των laser είναι η μονοχρωματικότητα που χαρακτηρίζει το παραγόμενο φως, και η δυνατότητα επιλογής μηκών κύματος από το υπεριώδες μέχρι το υπέρυθρο με ακρίβεια 0.2nm, ώστε να είναι κατάλληλα για την ενεργοποίηση του φωτοευαισθητοποιητή[45].

Η μονοχρωματικότητα των laser, παρέχει την «πολυτέλεια» να μην χρειάζονται φίλτρα για να «κόβουν» τα μη επιθυμητά μήκη κύματος. Μια ακόμα χαρακτηριστική ιδιότητά τους είναι η κατευθυντικότητα, όπου επιτρέπει η ενέργεια να παραμένει συγκεντρωμένη και με χρήση κατοπτρών να εστιάζεται στο στόχο. Επίσης, η συμφωνία της δέσμης επιτρέπει στην ακτινοβολία να εστιάζεται και έτσι επιτρέπεται η οδήγηση της ακτινοβολίας μέσω οπτικών ινών. Η υψηλή ένταση των laser παρέχει υψηλή συγκέντρωση φωτεινής ενέργειας στο δείγμα για να συμβούν οι επιθυμητές φωτοχημικές διεργασίες, και τέλος, η δυνατότητα επιλογής συνεχούς ή παλμικής λειτουργίας διευρύνει την χρήση τους σε διάφορες εφαρμογές. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη laser που έχουν χρησιμοποιηθεί για την φωτοδυναμική θεραπεία, με τα διοδικά lasers να είναι τα πιο συχνά σε χρήση.

Dye Lasers

Στα laser χρωστικών (dye lasers), οι χρωστικές είναι συνήθως οργανικά μακρομόρια (περίπλοκα μοριακά συστήματα με πολλούς βαθμούς ελευθερίας- όπως η ροδαμίνη) τα οποία χαρακτηρίζονται από ευρείες και ισχυρές ζώνες απορρόφησης στην περιοχή του ορατού ή του υπεριώδους. Ιαλύματα αυτών των χρωστικών σε οργανικούς διαλύτες, όταν διεγερθούν με κατάλληλο μήκος κύματος, παρουσιάζουν ισχυρό φάσμα φθορισμού, και έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενεργά υλικά για εκπομπή ακτινοβολίας laser. Οι χρωστικές, που συνήθως είναι σε υγρή μορφή, συνεχώς ανακυκλώνονται για να αποφευχθεί η υπερθέρμανση. Με τη βοήθεια κατάλληλης οπτικής κοιλότητας, τα laser αυτά μπορούν να εκπέμπουν φως σε φασματικό εύρος 600-650nm. Για πηγή ενέργειας άντλησης χρησιμοποιούνται άλλα laser, συνήθως laser αργού, Nd: YAG ή KTP (potassium-titanyl-phosphate), με ισχύ 10Watt, των οποίων το μήκος κύματος εκπομπής πρέπει να ταιριάζει με το μήκος κύματος απορρόφησης των laser. Ωστόσο αυτά τα laser οπτικής άντλησης, απαιτούν για τη λειτουργία τους τροφοδοτικά υψηλής τάσης, υψηλό ρεύμα και υδρόψυξη, δεδομένα που τα καθιστούν λιγότερο ευκίνητα και φορητά. Τα laser χρωστικών, ενώ έχουν τη δυνατότητα εκπομπής μηκών κύματος κατάλληλων για την ενεργοποίηση ορισμένων φωτοευαίσθητοποιητών, είναι ογκώδεις κατασκευές, απαιτούν συχνή συντήρηση και έχουν υψηλό κόστος [45].

Διοδικά Lasers

Τα διοδικά laser (diode laser) είναι τελείως διαφορετικά στον τρόπο κατασκευής και λειτουργίας τους σε σχέση με τα υπόλοιπα lasers. Το ενεργό υλικό τους είναι ημιαγωγίμος κρύσταλλος, κυρίως GaAs. Για την τροφοδοσία τους δεν απαιτείται εξειδικευμένο τροφοδοτικό, χρειάζονται 120-220V και το σύστημα ψύξης χρησιμοποιεί αέρα. Το μήκος κύματος που εκπέμπει ένα διοδικό laser εξαρτάται από τον ημιαγωγίμο κρύσταλλο και κυμαίνεται στο φάσμα 415-690nm, ενώ μπορεί να παρέχει ακτινοβολία μέχρι και $1\text{Watt}/\text{cm}^2$. Το εύρος της δέσμης εξόδου είναι περίπου 6nm. Τα διοδικά laser είναι πολύ μικρού μεγέθους, πιο συμπαγή, πιο φορητά, πιο σταθερά και με χαμηλότερο κόστος σε σχέση με τα laser χρωστικών. Τα διοδικά laser είναι διαθέσιμα στο εμπόριο με ισχύ άνω των 15Watt. Αποτελούν τα συχνότερα σε χρήση laser στην φωτοδυναμική θεραπεία[45].



Σχήμα 4.1: Πηγή φωτός διοδικού laser στη φωτοδυναμική θεραπεία - λειτουργία στα 630nm [6].

4.2.2 Πηγές Μη Σύμφωνου Φωτός

Δίοδοι Εκπομπής Φωτός-LEDs

Οι δίοδοι εκπομπής φωτός - (Light Emitting Diodes, LEDs) είναι διοδικές επαφές p-n, και όπως στην περίπτωση των διοδικών laser, είναι πολωμένες στην ευθεία φορά, με αποτέλεσμα να παίρνουμε εκπομπή φωτός από τις επανασυνδέσεις ηλεκτρονίου-οπής που συμβαίνουν στην περιοχή της επαφής. Η παραγωγή φωτός των LEDs ακολουθεί την ίδια λογική με τα διοδικά laser, όμως η διαφορά τους από τα διοδικά laser είναι ότι δεν έχουν οπτική κοιλότητα. Συνεπώς η εκπεμπόμενη ακτινοβολία είναι δεν είναι σύμφωνη. Το ρεύμα επίσης που διαρρέει τις δίοδους εκπομπής φωτός είναι χαμηλότερης έντασης από εκείνο που απαιτείται κατά τη λειτουργία των ημιαγωγικών laser ενώ το εκπεμπόμενο φάσμα των LEDs είναι ευρύτερο εκείνου των διοδικών laser. Τα μήκη κύματος εκπομπής ακτινοβολίας των LEDs, κυμαίνονται σε ευρύ φάσμα από τη UVA μέχρι την NIR περιοχή, 350-1100nm, που τα καθιστά πολύ ικανοποιητικές πηγές για την φωτοδυναμική θεραπεία, ενώ μπορεί να παρέχει ακτινοβολία μέχρι και 0.15 Watt/cm^2 . Το εύρος της δέσμης εξόδου είναι περίπου 5-10nm. Τα LEDs είναι εύκολα στην μεταφορά και έχουν χαμηλό κόστος[45].

Λυχνίες

Οι πρώτες πηγές φωτός που χρησιμοποιήθηκαν στη φωτοδυναμική θεραπεία δερματολογικών κυρίως παθήσεων ήταν οι λυχνίες. Τέτοιες πηγές ήταν οι λυχνίες χαλαζία, ξένου, βολφραμίου και αλογόνου. Οι λυχνίες είναι κατάλληλες για επιφανειακούς όγκους. Επειδή το φως τους καλύπτει μεγάλο φάσμα μηκών κύματος, 300-1200nm, ο συνδυασμός τους με οπτικά (βαθυπερατά, υψηπερατά ή ζωνοπερατά) φίλτρα κρίνεται απαραίτητος, ώστε να ταιριάζει το μήκος κύματος φωτοενεργοποίησης με τη ζώνη απορρόφησης του φωτοευαισθητοποιητή. Τα οπτικά φίλτρα είναι επίσης, απαραίτητα για να αποκρίνουν υπεριώδη και

Laser	Μήκος κύματος	Εύρος ζώνης	Ρυθμός ενεργειακής ροής	Τύπος παλμού	Μέθοδος μεταφοράς ακτινοβολίας
Laser αργού	488 και 514.5nm	μονοχρωματική	0.5-1 W/cm ²	CW	απευθείας ή μέσω οπτικής ίνας
Laser χρωστικών με άντληση από laser αργού	500-514nm (ανάλογα την χρωστική)	5-10nm	10-200 mW/cm ²	CW	απευθείας ή μέσω οπτικής ίνας
Laser στερεάς κατάστασης	για το Nd:YAG 1064, 532, 355, 266nm	μονοχρωματική	μέχρι 10 W/cm ²	10-30ns quasi-CW	απευθείας ή μέσω οπτικής ίνας
Laser χρωστικών με άντληση από laser στερεάς κατάστασης	400-750nm (ανάλογα την χρωστική)	5-10nm	10-500 mW/cm ²	10-30ns quasi-CW	απευθείας ή μέσω οπτικής ίνας
Διοδικό laser	600-950nm	μονοχρωματική	μέχρι 700 mW/cm ²	CW	οπτική ίνα

Πίνακας 4.2: Τύποι laser διαθέσιμοι για κλινική φωτοδυναμική θεραπεία [6].

υπέρυθρη ακτινοβολία στην δέση εξόδου της λυχνίας, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ανεπιθύμητη υπερθέρμανση της ισόσους περιοχής. Πλεονεκτήματα της χρήσης λυχνιών, αποτελούν η εύκολη κατασκευή τους, το χαμηλό κόστος, το ότι δεν απαιτείται εξειδικευμένη συντήρηση και ότι είναι ασφαλείς και εύκολες στη χρήση. Στα μειονεκτήματα, οι λυχνίες παράγουν φως χαμηλής ισχύος και έχουν μεγάλο όγκο[45].



Σχήμα 4.2: Αριστερή εικόνα: Παράδειγμα λειτουργίας λυχνίας πυρακτώσεως με νήματα βολφραμίου - Δεξιά εικόνα: Παράδειγμα λειτουργίας λυχνίας αλογόνου μετάλλου [6].

Φωτοευαισθητοποιητής	Μέγιστο μήκος κύματος απορρόφησης (nm)
Hematoporphyrin derivative, HpD, [Photofrin]	630
Delta-aminolevulinic acid, ALA, [Metvix, Levulan]	635
Meso-tetra-hydroxyphenyl-chlorin, mTHPC, [Foscan]	652
Tin etiopurpurin, [Pyrltytin]	660
Phthalocyanine	675
Benzoporphyrin derivative, BPD, [Verteporfin, Visudyne]	690
Lutetium texaphyrin, [Lutrin]	732
Bactriochlorophyll [Tookad]	760

Πίνακας 4.1: Διαφορετικοί φωτοευαισθητοποιητές με μέγιστο απορρόφησης στο ερυθρό τμήμα του φάσματος. Τα ονόματα στις αγκύλες αντιπροσωπεύουν την επίσημη καταχωρημένη εμπορική ονομασία[16].

Λυχνία	Μήκος Κύματος	Εύρος Ζώνης	Ρυθμός Ενεργειακής Ροής (fluence rate)
Βολφραμίου	400-1100nm	10-100nm	μέχρι 250mW/cm ²
Ξένου	300-1200nm	10-100nm	μέχρι 300mW/cm ²
Αλογόνου	250-730nm	10-100nm	μέχρι 250mW/cm ²

Πίνακας 4.3: *Είδη λυχνιών διαθέσιμες στην φωτοδυναμική θεραπεία[6]. (Το εύρος ζώνης βολφραμίου, ξένου και αλογόνου εξαρτάται από το οπτικό φίλτρο που χρησιμοποιείται. Το μήκος κύματος του αλογόνου εξαρτάται από το μέταλλο.)*

Κεφάλαιο 5

Δοσιμετρία στη Φωτοδυναμική Θεραπεία

5.1 Εισαγωγή

Η έννοια της δοσιμετρίας στην φωτοδυναμική θεραπεία είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη, λόγω της φύσης της δυναμικής αλληλεπίδρασης μεταξύ φωτός, φωτοευαισθητοποιητή και οξυγόνου[45]. Η κλινική αποτελεσματικότητα της φωτοδυναμικής δράσης εξαρτάται άμεσα από την πυκνότητα ενέργειας (energy fluence), την συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή και την συγκέντρωση του οξυγόνου. Μερικοί ακόμη παράγοντες που έχουν αναγνωρισθεί ως τροποποιητές της φωτοδυναμικής δοσιμετρίας είναι η συνολική δόση, ο χρόνος έκθεσης στο φως, ο τρόπος μεταφοράς της ακτινοβολίας, οι ιδιότητες του ακτινοβολούμενου ιστού και η απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος[45]. Ένα σύστημα δοσιμετρίας θα πρέπει ιδανικά να υπολογίζει την ελάχιστη δόση για την διέγερση του φωτοευαισθητοποιητή και ταυτόχρονα να εξασφαλίζεται ότι το φως θα οδηγείται όσο το δυνατόν στα όρια του καρκινικού όγκου, ώστε οι γειτονικοί ιστοί που έχουν κατακρατήσει μόρια του φωτοευαισθητοποιητή να μην ακτινοβοληθούν. Το σύστημα επίσης, θα πρέπει να υπολογίσει την συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή και την οξυγόνωση του καρκινικού όγκου στη διάρκεια της θεραπείας. Στα πρώτα βήματα της φωτοδυναμικής θεραπείας, η δοσιμετρία βασιζόταν σε εμπειρικά πρωτόκολλα, και βασιζόνταν στη χρήση μεγεθών όπως η χορηγούμενη δόση του φωτοευαισθητοποιητή, η δόση του προσπίπτοντος φωτός και το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή έως την ακτινοβολία. Σήμερα, στη φωτοδυναμική θεραπεία δεν υπάρχει ένας αποδεκτός ορισμός της δόσης ακτινοβολίας, ούτε του υπολογισμού της. Η κλινική εφαρμογή της μεθόδου γίνεται με βάση πρωτόκολλα, που καθορίζονται στο φύλλο οδηγιών του φωτοευαισθητοποιητή που θα χρησιμοποιηθεί ή από τον κατασκευαστή της συσκευής ακτινοβολίας[36].

5.2 Φυσικά Μεγέθη και Ορολογίες

Οι θεμελιώδεις ποσότητες περιγραφής της δοσιμετρίας στην φωτοδυναμική θεραπεία είναι ο ρυθμός ενεργειακής ροής (energy fluence rate - E_0) και η πυκνότητα ενέργειας (energy fluence - H_0)[45].

- **Ρυθμός ενεργειακής ροής (energy fluence rate - E_0):** η συνολική ισχύς που προσπίπτει σε μια στοιχειώδη σφαίρα προς την ενεργό διατομή της σφαίρας. Ορίζεται και ως το ολοκλήρωμα της ακτινοβολίας για στερεά γωνία 4π . Μονάδες στο S.I. :

$Watt/m^2$. Στην φωτοδυναμική θεραπεία χρησιμοποιούνται τα $mWatt/cm^2$. Ο ρυθμός ενεργειακής ροής καθορίζει το τοπικό ποσοστό αλληλεπίδρασης των φωτονίων, και είναι δυνατόν να υπολογιστεί με εξειδικευμένο ανιχνευτή ισοτροπικής απόκρισης.

- **Πυκνότητα ενέργειας (energy fluence – H_0):** η συνολική ενέργεια από την ακτινοβολία που προσπίπτει σε μια στοιχειώδη σφαίρα (που περιέχει το σημείο ενδιαφέροντος) προς την ενεργό διατομή της σφαίρας. Μονάδες στο S.I. : J/m^2 . Στην φωτοδυναμική θεραπεία χρησιμοποιούνται τα J/cm^2 [33].

Η Αμερικανική Ένωση Φυσικών Ιατρικής, εισήγαγε πρώτη στην φωτοδυναμική θεραπεία τον ορισμό της «φωτοδυναμικής δόσης» το 1990. Η φωτοδυναμική δόση, συμβολίζεται με D^* , έχει μονάδες (moles/Lt) και περιγράφει τον αριθμό των φωτονίων που απορροφώνται από τον φωτοευαίσθητοποιητή ανά γραμμάριο ιστού, (ph/gr).

$$\text{Φωτοδυναμική Δόση} = D^* = \varepsilon D \varphi T \frac{\lambda}{hc\rho} \quad (5.1)$$

Όπου ε είναι ο συντελεστής απόσβεσης του φωτοευαίσθητοποιητή (σε $cm^{-1} \cdot M^{-1}$), D η συγκέντρωση του φωτοευαίσθητοποιητή [M], φ η πυκνότητα ισχύος (ρυθμός ενεργειακής ροής) (σε $Watt/cm^2$) ή ($J/cm^2 \cdot s$), T ο χρόνος έκθεσης στη φωτεινή ακτινοβολία (s), λ το μήκος κύματος του φωτονίου (cm), h η σταθερά του Planck, $6.626 \cdot 10^{-34} (J \cdot s)$, c η ταχύτητα του φωτός, $3.0 \cdot 10^8 (m/s)$, και ρ η πυκνότητα του ιστού (gr/cm^3). Όταν προσπέσει φως σε έναν επιφανειακό και λεπτού πάχους καρκινικό όγκο, της τάξης μερικών εκατοντάδων μm , ξεκινάει η ακτινοβολήσή του, δηλαδή η αλληλεπίδραση του ιστού και των φωτονίων που έχουν οπισθοσκεδαστεί από τα βαθύτερα στρώματα του ίδιου ιστού. Για να επέλθει κυτταρικός θάνατος, απαιτείται ένα κατώφλι συγκέντρωσης οξειδωτικών γεγονότων, R_{th} , που ορίζεται ως εξής:

$$R_{th} = E \cdot k_s \cdot T \cdot b \cdot \varepsilon \cdot D \cdot \Phi \cdot f \quad (5.2)$$

Όπου R_{th} , η συγκέντρωση των οξειδωτικών ριζών που συγκεντρώνονται στην ακτινοβοληθείσα περιοχή, [M], E η πυκνότητα προσπίπτουσας ακτινοβολίας στην επιφάνεια του ιστού, (για μονοδιάστατο μοντέλο ευρείας δέσμης), (W/cm^2), k_s ο συντελεστής οπισθοσκέδασης λόγω ανακλάσεων από υποκείμενους ιστούς, T ο χρόνος έκθεσης στην ακτινοβολία, (s), b ο παράγοντας μετατροπής λ/hc , (photons/J), ε ο συντελεστής απόσβεσης του φωτοευαίσθητοποιητή ($cm^{-1} \cdot M^{-1}$), D η συγκέντρωση του φωτοευαίσθητοποιητή, [M], Φ , η κβαντική απόδοση για τη μετατροπή της ενεργοποιημένης ουσίας σε οξειδωτικές ρίζες, η οποία συνήθως εξαρτάται από τη συγκέντρωση του διαλυμένου στα κύτταρα οξυγόνου, f το κλάσμα των παραγόμενων οξειδωτικών ριζών που επιτίθενται στον χώρο ενδιαφέροντος. Οι ποσότητες που προσδιορίζουν την οπτική δοσιμετρία είναι οι $E, k_s, T, b, \varepsilon$, οι οποίες καθορίζουν την ποσότητα του φωτός που απορροφάται από τον φωτοευαίσθητοποιητή. Για εσωτερικούς και μεγαλύτερους σε πάχος όγκους, όπως για παράδειγμα ο καρκίνος του οισοφάγου, η εξίσωση της δοσιμετρίας, μετατρέπεται ως εξής:

$$R_{th} = H_0(z, r \text{ ή } \rho) \cdot k_s \cdot T \cdot b \cdot \varepsilon \cdot D \cdot \Phi \cdot f \quad (5.3)$$

$$H_o(z, r \text{ ή } \rho) = \begin{cases} E \cdot k_s \cdot e^{-\frac{z_{necrosis}}{\delta}}, & \text{παράλληλη δέσμη} \\ E \cdot k_s \cdot \frac{e^{-\frac{z_{necrosis}}{\delta}}}{r}, & \text{σφαιρική δέσμη} \\ E \cdot k_s \cdot \frac{e^{-\frac{z_{necrosis}}{\delta}}}{\sqrt{\rho}}, & \text{κυλινδρική δέσμη} \end{cases}$$

Όπου $H_o(z, r \text{ ή } \rho)$ η πυκνότητα ενέργειας σε βάθος z από την ακτινοβολούμενη επιφάνεια, $z_{necrosis}$ το μέγιστο βάθος νέκρωσης, δ το ενεργό βάθος διείσδυσης, r η ακτίνα μετρούμενη από το κέντρο της σφαιρικής δέσμης, ρ η ακτίνα μετρούμενη από τον κεντρικό άξονα της κυλινδρικής δέσμης. Η εξίσωση (5.3), αποτελεί μια διορθωμένη εκδοχή της σχέσης (5.2), όσον αφορά στην γεωμετρία της δέσμης, παράλληλη σφαιρική ή κυλινδρική. Επιλύοντας ως προς $z_{necrosis}$, υπολογίζεται το μέγιστο βάθος νέκρωσης:

$$z_{necrosis} = \frac{\delta \cdot \ln(E \cdot k_s \cdot T \cdot b \cdot \varepsilon \cdot D \cdot \Phi \cdot f)}{Rth} \quad (5.4)$$

Για παράδειγμα, για να διπλασιαστεί το βάθος καταστροφής του ιστού, μπορεί να επιλεγεί δέσμη με διπλάσιο βάθος διείσδυσης δ . Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η κύρια απαίτηση όταν χρησιμοποιείται η φωτοδυναμική σαν θεραπεία κατά των καρκινικών όγκων, είναι να διασφαλιστεί ότι παρέχεται επαρκές και ομοιογενές φως στον ιστό-στόχο, στον οποίο έχει συσσωρευτεί σε άρτια συγκέντρωση ο φωτοευαισθητοποιητής[46]. Η αποτελεσματικότητα καθώς και η τοξικότητα συνδέονται με τη συνολική ποσότητα φωτός που παρέχεται. Καθώς οι καρκινικοί ιστοί βρίσκονται δίπλα σε υγιείς, υπάρχει μια λεπτή διαχωριστική γραμμή ανάμεσα στην καταστροφή της μίας πλευράς και της μηδαμινής καταστροφής της άλλης. Επί του παρόντος, η δόση του φωτός που χρησιμοποιείται για συμβατικά αποτελέσματα φωτοδυναμικής θεραπείας οδηγεί σε θεραπευτική ζώνη περίπου 0.8-1.0 εκατοστά σε βάθος. Παρόλο που η δοσιμετρία στην φωτοδυναμική θεραπεία βρίσκεται ακόμα σε στάδια ανάπτυξης, οι εγκεκριμένες δόσεις από τον Οργανισμό Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων της Αμερικής FDA έχουν ασφαλή περιθώρια που είναι καλά τεκμηριωμένα και βασίζονται σε στατιστικά δεδομένα που έχουν αποκτηθεί από κλινικές δοκιμές. Για τις εγκεκριμένες ενδείξεις, η τυπική δόση του φαρμάκου Photofrin, (πορφυιμέρη νατριούχος (porfimer sodium)) είναι 2mg/kg σωματικού βάρους[46].

Δραστικές Μορφές Οξυγόνου-Οξειδωτικό Στρες

6.1 Εισαγωγή

Η συνδυαστική θεραπεία, είναι μια κοινή πρακτική τα τελευταία χρόνια στον Ιατρικό Τομέα. Ο συνδυασμός κάποιας συμπληρωματικής ή εναλλακτικής θεραπείας μπορεί να περιλαμβάνει την ταυτόχρονη χρήση θεραπευτικών μεθόδων, όπου κάθε μια επιδιώκει διαφορετικές κυτταρικές λειτουργίες ή μοριακούς μηχανισμούς κυτταρικής σηματοδότησης, με σκοπό να αυξηθούν οι πιθανότητες καταστροφής των καρκινικών κυττάρων[47]. Η θεμελιώδης αρχή της συνδυαστικής θεραπείας είναι η χρήση διαφορετικών μεθόδων, όπου κάθε μια μέθοδος επιτυγχάνει κυτταρικό θάνατο με διαφορετικό μηχανισμό. Το πλεονέκτημα της ταυτόχρονης πρόκλησης πολλαπλών διαφορετικών μηχανισμών κυτταρικού θανάτου είναι η κάμψη της αντίστασης του καρκινικού κυττάρου στη θεραπεία, δηλαδή, ενίσχυση της συνολικής θεραπευτικής αποτελεσματικότητας. Η συνδυαστική θεραπεία μπορεί να δώσει αθροιστικά και συνεργιστικά αποτελέσματα των επιμέρους μεθόδων, έτσι ώστε η μια μεθοδολογία να ευαισθητοποιεί τον υπό θεραπεία ιστό με τέτοιο τρόπο που να απαιτείται μικρότερη δόση από τον πιο τοξικό παράγοντα μιας άλλης μεθόδου. Μερικές φορές μάλιστα, είναι εφικτή η εξάλειψη ή τουλάχιστον η μείωση των βλαβερών παρενεργειών της άλλης θεραπείας[47]. Τα φυσιολογικά κύτταρα ανταποκρίνονται στα εξωτερικά ερεθίσματα με διαφορετικές αυστηρά ρυθμιζόμενες οδούς. Αντίθετα, στα καρκινικά κύτταρα, η φυσιολογία αλλοιώνεται με αποτέλεσμα υπερβολική ανάπτυξη και μειωμένο κυτταρικό θάνατο. Η απώλεια της ρύθμισης της ανάπτυξης έχει αποδοθεί στη μετάλλαξη των ογκογονιδίων και των καρκινικών κατασταλτικών γονιδίων. Η μείωση της απόκρισης σε ερεθίσματα κυτταρικού θανάτου, σχετίζεται με την ανώμαλη έκφραση πρωτεϊνών κατά και υπέρ του κυτταρικού θανάτου[48]. Τα καρκινικά κύτταρα προσαρμόζονται στο οξειδωτικό στρες αναπτύσσοντας μια αυξημένη ενδογενή αντιοξειδωτική ικανότητα, όπου η έκταση της ικανότητας σχετίζεται με την επιθετικότητα του όγκου, ενώ ταυτόχρονα καθιστά τα κακοήθη κύτταρα ανθεκτικά στις αντικαρκινικές θεραπείες που βασίζονται στην πρόκληση οξειδωτικού στρες[49]. Αρκετές θεραπείες κατά του καρκίνου, όπως η φωτοδυναμική θεραπεία, η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία, η ανοσοθεραπεία κ.α., λειτουργούν κυτταροτοξικά μόνο εάν τα επίπεδα του ενδοκυττάρου οξειδωτικού στρες που προκαλούν δεν εξουδετερώνονται από την αντιοξειδωτική άμυνα, και ξεπεραστεί το κατώφλι εκείνο όπου ο κυτταρικός θάνατος είναι μη αναστρέψιμος.

6.2 Οξειδωτικό Στρες

Η παραγωγή ελεύθερων ριζών είναι κυρίως μη προγραμματισμένη, αλλά αναπόφευκτη στους αερόβιους οργανισμούς, λόγω της εξάρτησής τους από το οξυγόνο και γενικότερα τις οξειδωτικές διεργασίες για την παραγωγή ενέργειας στην αναπνευστική αλυσίδα παραγωγής ενέργειας στα μιτοχόνδρια. Η μεταβολική διαδικασία παραγωγής ενέργειας στα μιτοχόνδρια, καθώς και άλλων κυτταρικών μεταβολικών διαδικασιών, έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία παραπροϊόντων, όπως είναι οι ελεύθερες ρίζες και οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS)[50]. Τα προοξειδωτικά προϊόντα της ατελούς αναγωγής του οξυγόνου κατά την αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια και των κυτταρικών οξειδοαναγωγικών διαδικασιών, δηλαδή οι δραστικές μορφές οξυγόνου και οι ελεύθερες ρίζες, εκτός από την τοξική τους δράση, συμμετέχουν σε φυσιολογικές και ωφέλιμες διαδικασίες για τον οργανισμό[51]. Σε ελεγχόμενες συγκεντρώσεις, συμμετέχουν σε ανοσολογικές αντιδράσεις, όπως προστασία από μολύνσεις, όμως σε περιπτώσεις διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών (υπέρ των προοξειδωτικών) και σε αύξηση της συγκέντρωσης των ελευθέρων ριζών και των δραστικών μορφών οξυγόνου, προκαλείται το λεγόμενο “Οξειδωτικό Στρες” (Oxidative Stress). Τέτοιες διαταραχές είναι δυνατόν να προκληθούν είτε από εξωγενείς παράγοντες (ακτινοβολίες, τραυματισμοί, χορήγηση φαρμάκων, ανοξία κ.τ.λ.) είτε από ενδογενείς παράγοντες. Μερικές επιπτώσεις της αυξημένης συγκέντρωσής τους, είναι η καταστροφή κυτταρικών δομών, λιπιδίων, πρωτεϊνών καθώς και νουκλεϊκών οξέων[52].[53]. Το οξειδωτικό στρες παίζει κυρίαρχο ρόλο στην δημιουργία χρόνιων καθώς και εκφυλιστικών ασθενειών, όπως γήρανση, αυτοάνοσα νοσήματα, καρδιακές και νευροεκφυλιστικές ασθένειες καθώς και καρκίνο. Ο οργανισμός διαθέτει αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς άμυνας απέναντι στο οξειδωτικό στρες μέσω ενδογενών και εξωγενών αντιοξειδωτικών παραγόντων. Τα αντιοξειδωτικά είδη δρουν ως εκκαθαριστές των προοξειδωτικών, και συνεπώς ενισχύεται η ανοσολογική άμυνα και μειώνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης ασθενειών.

6.3 Ελεύθερες Ρίζες

Ελεύθερες ρίζες (free radicals) ονομάζονται άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα, σε αντίθεση με τις μη-ελεύθερες ρίζες, οι εξωτερικές στιβάδες των οποίων καλύπτονται από ζεύγη ηλεκτρονίων με αντίθετη στροφορμή (spin). Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να είναι ηλεκτρικά ουδέτερες, να είναι κατιόντα ή ανιόντα[52]. Οι ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά δραστικές και έχουν τη δυνατότητα να αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλα στοιχεία και να προκαλούν την οξείδωσή τους. Έτσι σχηματίζονται νέες ελεύθερες ρίζες οι οποίες με τη σειρά τους δεσμεύουν ηλεκτρόνια με αντιπαράλληλα spin από γειτονικά στοιχεία, προσπαθώντας να επιστρέψουν στη βασική κατάσταση, την χαμηλότερη ενεργειακά στάθμη. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται μια αλυσιδωτή αντίδραση διαδοχικής παραγωγής ελευθέρων ριζών, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε πληθώρα φαινομένων. Οι νέες ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται, ενδέχεται να είναι και πιο δραστικές από την μητρική. Σε βιολογικά συστήματα, κυριαρχούν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου: υδροξυλίου, $\cdot OH$, και ανιόν υπεροξειδίου, O_2^- , και οι δραστικές μορφές οξυγόνου: υπεροξειδίου του υδρογόνου,

H_2O_2 και μονήρες οξυγόνο, 1O_2 [52].

Ένωση	Ελεύθερες Ρίζες
O_2	Ανιόν Υπεροξειδίου
$\cdot OH$	Ρίζα Υδροξυλίου
HO_2	Υδροϋπεροξειδική Ρίζα
CO_2	Ρίζα Ανιόντος Διοξειδίου του Άνθρακα

Πίνακας 6.1: Δραστικές Μορφές Οξυγόνου-Ελεύθερες Ρίζες

Ένωση	Μη Ελεύθερες Ρίζες
1O_2	Μονήρες Οξυγόνο
H_2O_2	Υπεροξειδίο του Υδρογόνου
ROOH	Οργανικά Υδροϋπεροξειδία
O_3	Όζον

Πίνακας 6.2: Δραστικές Μορφές Οξυγόνου- Μη Ελεύθερες Ρίζες

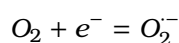
6.4 Δραστικές Μορφές Οξυγόνου-ROS

6.4.1 Μονήρες οξυγόνο 1O_2

Το μόριο του οξυγόνου έχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια με την ίδια φορά στροφορμής (spin) στις εξωτερικές του στιβάδες. Το γεγονός ότι τα δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια του μοριακού οξυγόνου, O_2 , έχουν παράλληλη στροφορμή μπορεί να εξηγήσει το φαινόμενο της μικρής σχετικά οξειδωτικής του ικανότητας. Τα ηλεκτρόνια αυτά δεν είναι δυνατόν να αντιδράσουν με ζεύγη ηλεκτρονίων άλλων ενώσεων (αντιπαράλληλη στροφορμή) που υπάρχουν σε άλλες ενώσεις του κυττάρου, λόγω της απαγορευτικής αρχής του Pauli. Στο διεγερμένο μοριακό οξυγόνο, δηλαδή στο μονήρες οξυγόνο, αρχικά τα δύο ηλεκτρόνια αποκτούν αντιπαράλληλη στροφορμή σε διαφορετικά τροχιακά και αυτομάτως συνενώνονται στην ίδια στιβάδα. Συνεπώς, το μονήρες οξυγόνο, καθώς δεν έχει ασύζευκτα ηλεκτρόνια, δεν είναι ελεύθερη ρίζα, αλλά δραστική μορφή οξυγόνου. Μπορεί να οξειδώσει άμεσα πρωτεΐνες, λιπίδια και το DNA. Έχει μεγάλο χρόνο ζωής μέσα στο κύτταρο, σε σχέση με τα υπόλοιπα δραστικά οξυγονούχα είδη, και έτσι μπορεί να διαχυθεί σε μεγάλες αποστάσεις, τόσο μέσα στο κύτταρο όσο και στον εξωκυττάριο χώρο[54]. Στη φωτοδυναμική θεραπεία, το μονήρες οξυγόνο μπορεί να παραχθεί από φωτοχημικές αντιδράσεις Τύπου II.

6.4.2 Ανιόν Υπεροξειδίου O_2^-

Η αντίδραση σχηματισμού του ανιόντος υπεροξειδίου, είναι η εξής:



Η αντίδραση της ρίζας υπεροξειδικού ανιόντος με μόρια που δεν είναι ρίζες, είναι απαγορευμένη λόγω spin, έτσι στα βιολογικά συστήματα οι κύριες αντιδράσεις της ρίζας αυτής είναι με τον εαυτό της ή με άλλες ελεύθερες ρίζες που βρίσκονται σε αυτά. Η δραστικότητά του

είναι ασθενής, έτσι το υπεροξειδικό ανιόν μπορεί να διαχυθεί σε απόσταση μακριά από το σημείο δημιουργίας του, προκαλώντας οξειδωτικό στρες σε όλο το κύτταρο[51].

6.4.3 Ρίζα Υδροξυλίου $\cdot\text{OH}$

Ο *in vivo* χρόνος ημιζωής της ρίζας υδροξυλίου ($< 1\text{ ns}$) είναι μικρότερος από το χρόνο που χρειάζεται για τη διάχυσή της, επομένως, η ρίζα εξουδετερώνεται οξειδώνοντας οποιαδήποτε δομή μπορεί να υποστεί οξείδωση και βρίσκεται κοντά στο σημείο σχηματισμού της. Είναι εξαιρετικά επικίνδυνη και δραστική ρίζα, και επιτίθεται στα περισσότερα συστατικά του κυττάρου, όπως υδρογονάνθρακες, νουκλεϊκά οξέα, λιπίδια και πρωτεΐνες. Η μόνη λύση για να προστατευθούν οι κυτταρικές δομές είναι να διαθέτουν αποτελεσματικό σύστημα επιδιόρθωσης στις βλάβες αυτές[51],[55].

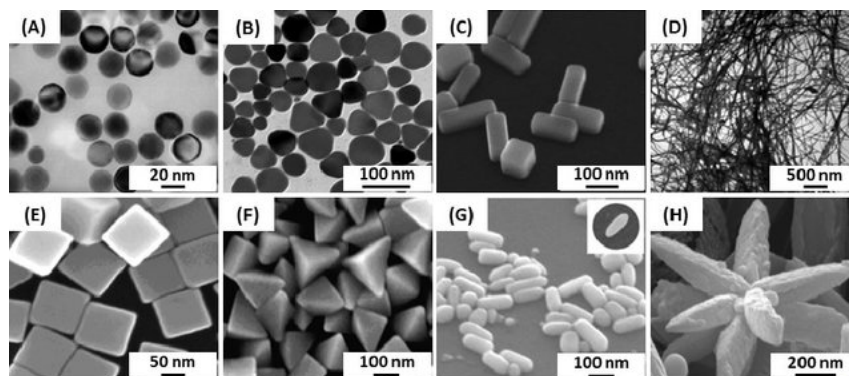
6.4.4 Στόχοι Ελευθέρων Ριζών και Δραστικών Μορφών Οξυγόνου

Σε υψηλές συγκεντρώσεις οι δραστικές μορφές οξυγόνου, μπορούν να προκαλέσουν βλάβη σε κυτταρικές δομές, στα νουκλεϊκά οξέα, στα λιπίδια και στις πρωτεΐνες. Οι μόνιμες βλάβες στο γενετικό υλικό από το οξειδωτικό στρες αποτελούν το πρώτο βήμα γονιδιακών μεταλλάξεων, αλλαγή της έκφρασης των γονιδίων, της σύνθεσης των πρωτεϊνών, απόπτωση και κυτταρικό θάνατο, αλλά και καρκινογένεσις και γήρανση[55].

Νανοσωματίδια

7.1 Εισαγωγή

Η Νανοϊατρική είναι η ιατρική εφαρμογή της Νανοτεχνολογίας για τη διάγνωση και θεραπεία ασθενειών. Χρησιμοποιεί υλικά, κατασκευασμένα με ακρίβεια, γνωστά ως νανοσωματίδια, στην περιοχή της νανοκλίμακας (1nm= 10⁻⁹m)[56]. Τα νανοσωματίδια μπορεί να υπάρχουν σε διάφορα μεγέθη, υλικά και σχήματα, όπως νανοσφαίρες, νανοκύβοι, νανοράβδοι, νανοκελύφη, νανοσωληνες κ.ά[57]. Μερικά υλικά που υπάγονται στην Νανοτε-

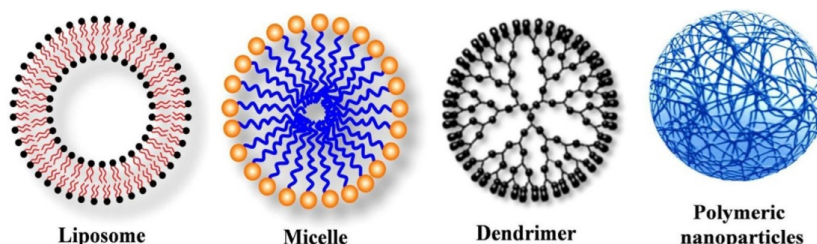


Σχήμα 7.1: (A) nanospheres, (B) nanoprisms, (C) nanobars (D) nanowires (E) nanocubes, (F) nanopyramids, (G) nanorice και (H) nanoflowers [7]

χνολογία είναι τα πολυμερή νανοσωματίδια, τα λιποσώματα, τα μικκύλια, τα νιοσώματα, τα νανοσωματίδια στερεών λιπιδίων, οι νανοκρύσταλλοι, τα δενδριμερή, οι κβαντικές τελείες, το γραφένιο, και άλλα[57],[58]. Οι περισσότεροι φωτοευαισθητοποιητές που χρησιμοποιούνται στην φωτοδυναμική θεραπεία, όπως οι πορφυρίνες (με φάσμα απορρόφησης στα 600-800nm), και οι φθαλοκυανίνες (με φάσμα απορρόφησης στα 670-680nm), είναι πολύ υδρόφοβες ενώσεις. Μετά από την ενδοφλέβια χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή στον ασθενή και την συσσώρευση στον ιστό-στόχο, παράγονται δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species – ROS) που στη συνέχεια ενεργοποιούν τους μηχανισμούς κυτταρικού θανάτου. Από την μια πλευρά, οι φωτοευαισθητοποιητές πρέπει να είναι λιπόφιλοι ώστε να περάσουν μέσα από τις λιπόφιλες μεμβράνες προκειμένου να ενσωματωθούν στις κατάλληλες θέσεις (π.χ., μιτοχόνδρια, ενδοπλασματικό δίκτυο και σύμπλεγμα Golgi) έτσι ώστε να μπορέσουν να ξεκινήσουν οι οξειδωτικές βλάβες στις πρωτεΐνες που βρίσκονται εντός των μεμβρανών αυτών των οργανιδίων. Από την άλλη, η έλλειψη διαλυτότητας υπό φυσιολογικές

συνθήκες αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για την ενδοφλέβια χορήγηση του φωτοευαισθητοποιητή *in vivo*. Η χορήγηση τέτοιων φωτοευαισθητοποιητών συνήθως διαρκεί 24 ώρες ή και περισσότερο για να επιτευχθεί η μέγιστη συσσώρευση στα σημεία του όγκου. Κάτι τέτοιο ενέχει επιπλέον κίνδυνο για τοξικότητα και παρενέργειες. Υπάρχουν διάφορες στρατηγικές χορήγησης που είναι γνωστές για τη σταθεροποίηση των φωτοευαισθητοποιητών σε υδατικά συστήματα, όπως λιποσώματα, πολυμερή μικκύλια, πολυμερή νανοσωματίδια και νανοσωματίδια με βάση το κολλοειδές πυρίτιο[59]. Τα νανοϋλικά έχουν μοναδικές φυσικές και χημικές ιδιότητες, έχουν μικρό μέγεθος, μεγάλη αναλογία επιφάνειας προς μάζα και ικανότητα να χρησιμοποιηθούν ως φορείς μεταφοράς φαρμάκων στην περιοχή-στόχο και να παρέχουν τη μέγιστη θεραπευτική αποτελεσματικότητα[56]. Τα νανοσωματίδια μπορούν να αυξήσουν τη διαλυτότητα των υδρόφοβων φαρμάκων, να βελτιώσουν τη βιοδιαθεσιμότητά τους, να παρατείνουν τον χρόνο ημιζωής τους στην κυκλοφορία του αίματος, να αποτρέψουν τη διάσπαση του φαρμάκου αμέσως μετά τη χορήγηση του και να μειώσουν τις ανεπιθύμητες παρενέργειες. Ακόμα προσφέρουν καλύτερη βιοσυμβατότητα και χαμηλή τοξικότητα, αφού παρουσιάζουν μεγάλη επιλεκτικότητα υψηλής ικανότητας αναγνώρισης και δέσμευσης στην/της παθολογική(ς) περιοχή(ς), εξαιτίας του μεγέθους τους, και ελάχιστη συγκέντρωση του φαρμάκου σε ανεπιθύμητες περιοχές. Στις παθολογικές περιοχές το ελαττωματικό αγγειακό σύστημα προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων σε συστατικά και σωματίδια μικρού μεγέθους τα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν διαπερνούν τα αγγεία. Το φαινόμενο ονομάζεται ενισχυμένη διαπερατότητα και κατακράτηση (Enhanced Permeability and Retention effect (EPR)). Το μέγεθος των πόρων στους καρκινικούς όγκους ποικίλει από 100-780nm, και επιτρέπει την άμεση συγκέντρωση των νανοσωματιδίων στον καρκινικό ιστό[56]. Η ενσωμάτωση του φωτοευαισθητοποιητή σε νανοσωματίδια είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική στη φωτοδυναμική θεραπεία. Τα νανοσωματίδια μπορούν να αυξήσουν τη διαλυτότητα, σε υδατικά μέσα, των υδρόφοβων φωτοευαισθητοποιητών παρέχοντας τα πλεονεκτήματα των υδρόφιλων μορίων και επίσης, εμποδίζοντας τη συσσώρευση των μορίων, σε συνδυασμό με το φαινόμενο της ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης (EPR), δύνανται να αυξήσουν την επιλεκτική συγκέντρωση των φωτοευαισθητοποιητών στον καρκινικό όγκο. Η επιλεκτική συγκέντρωση βελτιώνεται τροποποιώντας την επιφάνεια των νανοσωματιδίων, προσθέτοντας συνδέτες, οι οποίοι στοχεύουν να συγκεκριμένους υποδοχείς των καρκινικών όγκων, κρατώντας μακριά την φωτοευαισθητοποιητική ουσία τους υγιείς ιστούς[56]. Ένα ιδανικό νανοσωματιδιακό σύστημα μεταφοράς φαρμάκου, θα πρέπει να είναι βιοδιασπώμενο, να έχει μικρό μέγεθος και υψηλή χωρητικότητα, να προκαλεί ελάχιστη ανοσογονικότητα και να είναι μη τοξικό, να μην προκαλεί παρενέργειες και να επιδεικνύει παρατεταμένη κυκλοφορία στον οργανισμό μετά τη χορήγηση, να παρουσιάζει ελάχιστη τάση σχηματισμού συσσωμάτων και, τέλος, πρέπει να συσσωρεύεται επιλεκτικά στην πάσχουσα περιοχή, σε θεραπευτική συγκέντρωση, με μικρή ή και καθόλου πρόσληψη από υγιή κύτταρα[56]. Επίσης, θα πρέπει η ενσωμάτωση του φωτοευαισθητοποιητή να μην επηρεάζει τις φωτοφυσικές ιδιότητες του νανοσωματιδίου. Ένα μεγάλο μειονέκτημα της χρήσης νανοσωματιδίων, είναι η ταχεία απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία από μακροφάγα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (reticuloendothelial system (RES)), γεγονός που μειώνει σημαντικά την αποδοτικότητά τους. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τρόποι που μπορεί να τροποποιηθεί ένα νανοσωματιδιακό σύστημα μεταφοράς ώστε να γίνει περισ-

σότερο αποτελεσματικό είναι με λιποσώματα, μικκύλια, κεραμικά νανοσωματίδια, πολυμερή νανοσωματίδια και νανοσωματίδια χρυσού τα οποία αποτελούν και το αντικείμενο της έρευνας της παρούσης διπλωματικής εργασίας. Για παράδειγμα, τα λιποσώματα, τα οποία πα-



Σχήμα 7.2: Διαφορετικοί τύποι νανοφορέων που χρησιμοποιούνται ως φορείς διανομής για τη θεραπεία του καρκίνου [8].

ρασκευάζονται από μόρια λιπιδίων, συνηθέστερα φωσφολιπίδια και λιγότερο χοληστερόλη, έχουν σφαιρική κολλοειδή δομή, μέγεθος από 20nm μέχρι μερικές δεκάδες μm και πάχος λιπιδικής διπλοστιβάδας 4nm, είναι ικανά να ενθυλακώσουν υδρόφοβα καθώς και υδρόφιλα φάρμακα μέσω των λιπιδικών διπλοστοιβάδων, μειώνουν την τάση για συσσωμάτωση μορίων και βελτιώνουν την επιλεκτικότητα του φωτοευαισθητοποιητή στον όγκο[59]. Τα μικκύλια είναι ανθεκτικά στα μακροφάγα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (RES) και έτσι αυξάνονται ο χρόνος ημιζωής στην κυκλοφορία και η ικανότητα παράδοσης του φαρμάκου στον στόχο. Μπορούν επίσης να ενθυλακώσουν ουσίες ελάχιστα διαλυτές σε υδατικά μέσα και είναι βιοσυμβατά. Τα βιοδιασπώμενα και μη-βιοδιασπώμενα νανοσωματίδια έχουν μια πληθώρα πλεονεκτημάτων. Εξαιτίας του μικρού μεγέθους τους δεν απομακρύνονται από το σύστημα RES και έτσι αυξάνεται ο χρόνος κυκλοφορίας τους στον οργανισμό. Επίσης, έχουν την ικανότητα να «προστατεύουν» την ενθυλακωμένη ουσία, έχουν την δυνατότητα ελέγχου τη απελευθέρωσης του φαρμάκου, είναι συμβατά με τα βιολογικά συστήματα και η επιφάνειά τους μπορεί εύκολα να τροποποιηθεί ενσωματώνοντας αντισώματα ή άλλους συνδέτες για τη βελτίωση της επιλεκτικότητας[56],[57].

7.2 Νανοσωματίδια Χρυσού

Ο χρυσός είναι ένα από τα πρώτα μέταλλα που ανακαλύφθηκαν από τον άνθρωπο, έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει αξιοποιηθεί σε πληθώρα εφαρμογών. Οι πρώτες πληροφορίες για κολλοειδή χρυσό αναφέρονται από Κινέζους, Άραβες, και Ινδούς επιστήμονες, τον 5ο και 4ο αιώνα π.Χ., όπου και χρησιμοποιήθηκε ιδιαίτερα για ιατρικούς σκοπούς[60]. Τα νανοσωματίδια χρυσού, είναι ορατά στην περιοχή του ορατού (Visual Inertial System, VIS) και του κοντινού υπέρυθρου (Near Infrared Region, NIR) και η απορρόφησή τους εξαρτάται από το μέγεθος του νανοσωματιδίου. Η απορρόφησή τους στο κοντινό υπέρυθρο τα καθιστά κατάλληλα για εφαρμογές in vivo. Επομένως, χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά, ως αισθητήρες αλλά και ως θεραπευτικά[61]. Μεταξύ των διαφόρων συστημάτων χορήγησης, τα νανοσωματίδια χρυσού (Au-NPs ή GNPs) υπόσχονται να αποτελέσουν ένα εξαιρετικά αποτελεσματικό μηχανισμό χορήγησης φαρμάκων. Τα νανοσωματίδια χρυσού είναι γνωστά για την χημική τους αδράνεια και έχουν ελάχιστη τοξικότητα. Το μέγεθος τους μπορεί να ρυθμιστεί από 2

έως 100 nm, με μεγάλη αναλογία επιφάνειας προς μάζα. Τα νανοσωματίδια χρυσού έχουν την δυνατότητα να δρουν προστατευτικά μειώνοντας την απαιτούμενη δόση φαρμάκου που χορηγείται στους ασθενείς, ενώ ταυτόχρονα, μπορούν να αυξήσουν την δόση του φαρμάκου, που φτάνει στα καρκινικά κύτταρα[62]. Με τη χρήση υδατοδιαλυτής πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG), τα νανοσωματίδια χρυσού μπορούν να σταθεροποιηθούν με στερική απόθεση ώστε να εμποδίζεται η συσσωμάτωση[59]. Η πολυαιθυλενογλυκόλη - PEG είναι ένα υδατοδιαλυτό πολυμερές το οποίο εκδηλώνει μεγάλη αντίσταση στις πρωτεΐνες του πλάσματος, έχει πολύ χαμηλή τοξικότητα, δεν προκαλεί ανοσολογικές αντιδράσεις και αντιγονικότητα, μπορεί να παρασκευαστεί τεχνητά, με μεγάλο βαθμό καθαρότητας και σε μεγάλες ποσότητες, ιδιότητες που κατέστησαν το πολυμερές ικανό να εγκριθεί για ανθρώπινη ενδοφλέβια εφαρμογή[56]. Επίσης, τα νανοσωματίδια χρυσού είναι ανθεκτικά στα μακροφάγα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (RES) και έτσι παρατείνεται ο χρόνος ημιζωής τους στην κυκλοφορία του αίματος[59].

7.3 Εντοπισμένα Επιφανειακά Πλασμόνια Συντονισμού

Η πρόσπτωση του φωτός με κατάλληλο μήκος κύματος σε μεταλλικό νανοσωματίδιο, το οποίο έχει ελεύθερα ηλεκτρόνια στην επιφάνειά του, δημιουργεί σύμφωνες ταλαντώσεις των φορτίων, τα λεγόμενα πλασμόνια. Όταν οι ταλαντώσεις συμβαίνουν στην διεπιφάνεια μετάλλου και διηλεκτρικού, και ταυτόχρονα το φως αλληλεπιδρά με σωματίδια μικρότερα από το μήκος κύματός του, δημιουργείται μια τοπική ταλάντωση φορτίου, γύρω από τη μεταλλική επιφάνεια, η οποία είναι σε συντονισμό με την συχνότητα του φωτός. Το φαινόμενο αυτό καλείται εντοπισμένος επιφανειακός συντονισμός πλασμονίου (Localized Surface Plasmon Resonance - LSPR). Τα πλασμονικά νανοσωματίδια έχουν πληθώρα μοναδικών ιδιοτήτων, για παράδειγμα μεγάλες ενισχύσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων, υψηλές αποδόσεις φωτοθερμικής μετατροπής, μεγάλες φασματικές αποκρίσεις και αποτελούν εξαιρετικά ωφέλιμο χαρακτηριστικό στην φωτοδυναμική θεραπεία[63].

7.4 Αλληλεπίδραση μη Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας με Νανοσωματίδια - Θεωρία Mie

Όταν μια δέσμη μη ιοντίζουσας ακτινοβολίας προσπέσει σε ένα μεταλλικό νανοσωματίδιο, ένα μέρος της θα απορροφηθεί από αυτό και ένα μέρος της θα σκεδαστεί. Το άθροισμα των δυο αυτών φαινομένων, δίνει την συνολική ενέργεια που χάνεται κατά την αλληλεπίδραση της δέσμης με το νανοσωματίδιο. Η σκέδαση και η απορρόφηση ερμηνεύονται μέσω της θεωρίας Mie. Το 1908, ο Γερμανός φυσικός Gustav Mie, επέλυσε τις εξισώσεις Maxwell, προκειμένου να καταλάβει τα χρώματα των κολλοειδών χρυσών σωματιδίων σε διάλυμα. Για τη θεωρητική λύση ο Mie, θεώρησε ένα επίπεδο ηλεκτρομαγνητικό κύμα, που προσκρούει σε λείο σφαιρικό σωματίδιο, το οποίο είναι ενσωματωμένο σε υγρό μέσο, με πραγματικό δείκτη διάθλασης, ώστε να περιγράψει πώς σκεδιάζεται η ακτινοβολία από μικρών διαστάσεων νανοσωματίδια. Το σωματίδιο μπορεί να είναι μεταλλικό, επομένως μπορεί να είναι απορροφητικό, και ο δείκτης διάθλασής του, είναι γενικά ένας μιγαδικός αριθμός. Επί της ουσίας, τα ηλεκτρομαγνητι-

κά πεδία αναπτύσσονται σε πολυπολικές συνεισφορές και οι συντελεστές του αναπτύγματος βρίσκονται με την εφαρμογή των σωστών συνοριακών συνθηκών για τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία στη διεπιφάνεια μεταξύ των μεταλλικών νανοσωματιδίων και του περιβάλλοντος του μέσου. Ο Mie εισήγαγε σύστημα σφαιρικών συντεταγμένων και χρησιμοποίησε την αδιάστατη παράμετρο μεγέθους, $x = \frac{2\pi R}{\lambda_0} m$, όπου R η ακτίνα η ακτίνα του σωματιδίου, λ_0 το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, και m ο πραγματικός δείκτης διάθλασης. Για την επίλυση των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων, ο Mie εισήγαγε τους όρους της αποδοτικότητας εξασθένισης, Q_{ext} (Extinction Efficiency), της απορρόφησης, Q_{abs} (Absorption Efficiency), σκέδασης, Q_{scat} (Scattering Efficiency), και οπισθοσκέδασης (Backscattering Efficiency) για ένα σφαιρικό νανοσωματίδιο, επιφάνειας πR^2 . Οι παραπάνω αποδοτικότητες αντιπροσωπεύουν την ενεργό διατομή (δηλαδή την πιθανότητα) της εξασθένισης, της σκέδασης και της οπισθοσκέδασης, ανά μονάδα επιφάνειας (γεωμετρική διατομή) του νανοσωματιδίου, και δίνονται από τις ακόλουθες εκφράσεις:

$$Q_{ext} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \operatorname{Re}(a_n + b_n) \quad (7.1)$$

$$Q_{scat} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (7.2)$$

$$Q_{back} = \frac{2}{4\pi x^2} \left| \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (-1)^n (a_n^2 + b_n^2) \right| \quad (7.3)$$

Για την αποδοτικότητα απορρόφησης, ισχύει $Q_{abs} = Q_{ext} - Q_{scat}$ και άρα,

$$Q_{back} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \left[\operatorname{Re}(a_n + b_n) - |a_n|^2 + |b_n|^2 \right] \quad (7.4)$$

Όπου,

$$a_n = \frac{\psi_n(x) \psi'_n(mx) - m \psi'_n(x) \psi_n(mx)}{\xi_n(x) \psi'_n(mx) - m \xi'_n(x) \psi_n(mx)} \quad (7.5)$$

$$b_n = \frac{m \psi_n(x) \psi'_n(mx) - \psi'_n(x) \psi_n(mx)}{m \xi_n(x) \psi'_n(mx) - \xi'_n(x) \psi_n(mx)} \quad (7.6)$$

Στις παραπάνω εκφράσεις, ισχύει ότι $m = \frac{n}{n_m}$ όπου n , n_m είναι οι σύνθετοι δείκτες διάθλασης του σωματιδίου και του περιβάλλοντος μέσου αντίστοιχα, R είναι η ακτίνα του σωματιδίου, $k = \frac{2\pi n_m}{\lambda}$ είναι ο κυματριθμός του περιβάλλοντος μέσου και λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας στο κενό. Οι συναρτήσεις $\psi_n(x)$, $\xi_n(x)$ είναι σφαιρικές συναρτήσεις Bessel και σφαιρικές συναρτήσεις Hankel αντίστοιχα [64].

7.5 Διόρθωση Drude

Στην περίπτωση που τα σωματίδια είναι πολύ μικρών διαστάσεων στην νανοκλίμακα, πρέπει να οριστεί διόρθωση στην διηλεκτρική σταθερά τους. Σύμφωνα με το μοντέλο του Drude, πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν η σκέδαση των ελεύθερων ηλεκτρονίων στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων. Στα μέταλλα, τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στην στάθμη Fermi, μπορο-

ύν να διεγερθούν από ηλεκτρόνια πολύ μικρών ενεργειών, και για το λόγο αυτό, θεωρούνται "ελεύθερα" ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια αυτά, μπορούν να σκεδάζονται από την επιφάνεια των νανοσωματιδίων, επειδή η μέση ελεύθερη διαδρομή τους (mean free path) είναι συγκρίσιμη ή μεγαλύτερη από τη διαστάσεις των νανοσωματιδίων. Επομένως, είναι απαραίτητο να τροποποιηθεί η διηλεκτρική σταθερά των μεταλλικών νανοσωματιδίων (ώστε να ληφθεί υπόψη η επιφανειακή σκέδαση των ελεύθερων ηλεκτρονίων), η οποία θα είναι[65].

$$\varepsilon(\omega, L_{eff}) = \varepsilon_{bulk}(\omega) + \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + \frac{i\omega u_F}{L_\infty}} - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\omega \left(\frac{u_F}{L_\infty} + \frac{Au_F}{L_{eff}} \right)}$$

Όπου $\varepsilon_{bulk}(\omega)$ η διηλεκτρική σταθερά του υλικού σε μακροσκοπική κλίμακα, ω_p η γωνιακή συχνότητα του πλάσματος, ω η γωνιακή ταχύτητα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, u_F η ταχύτητα Fermi, L_∞ το μήκος της μέσης ελευθέρως διαδρομής των ηλεκτρονίων, A μια αδιάστατη σταθερά που συνήθως θεωρείται ίση με τη μονάδα και L_{eff} η νέα μειωμένη μέση ελεύθερη διαδρομή των ελεύθερων ηλεκτρονίων, η οποία εξαρτάται από τις διαστάσεις του νανοσωματιδίου. Εάν το νανοσωματίδιο είναι μικρότερο από την μέση ελεύθερη διαδρομή των ηλεκτρονίων, οι συγκρούσεις γίνονται με μεγαλύτερη συχνότητα, άρα η νέα μέση ελευθέρως διαδρομή είναι μειωμένη[66]. Για νανοσωματίδια χρυσού, οι τυπικές τιμές των παραπάνω παραμέτρων, είναι $\omega_p = 1.37 \cdot 10^{16} \text{rad/s}$, $u_F = 1.4 \cdot 10^6 \text{m/s}$, $L_\infty = 4.2 \cdot 10^{-8} \text{m}$, $A = 1$, ενώ το L_{eff} ισούται με το πάχος του χρυσού. Το $\varepsilon_{bulk}(\omega)$ δίνεται από αξιόπιστη βάση δεδομένων[67].

Ακτινοβολία Cherenkov

8.1 Εισαγωγή

Η ακτινοβολία Cherenkov, που οφείλει το όνομά της στον φυσικό Pavel Alekseyevich Cherenkov, είναι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που παράγεται όταν ένα φορτισμένο σωματίδιο, (σωματίδιο β- ή α-), ταξιδεύει μέσα από ένα διηλεκτρικό μέσο με ταχύτητα μεγαλύτερη από την φασική ταχύτητα του φωτός στο ίδιο μέσο. Το φορτισμένο σωματίδιο μπορεί να πολώσει τα μόρια του μέσου σε μια διεγερμένη κατάσταση υψηλής ενέργειας. Κατά την αποπόλωση των μορίων πίσω στη βασική κατάσταση, εκπέμπεται ακτινοβολία σε ένα συνεχές φάσμα με μήκη κύματος από 300 έως 900nm[68]. Ως φαινόμενο που δημιουργείται από φορτισμένα σωματίδια που ταξιδεύουν μέσα σε ένα διηλεκτρικό μέσο, το φαινόμενο της ακτινοβολίας Cherenkov έχει εφαρμογές στην ακτινοθεραπεία και μπορεί να παραχθεί από οποιοδήποτε φορτισμένο σωματίδιο (ηλεκτρόνιο, πρωτόνιο, ποζιτρόνιο), που ταξιδεύει με ταχύτητα πάνω από την ταχύτητα του φωτός στο συγκεκριμένο μέσο[69]. Σε μια ηλεκτρομαγνητική αναλογία με το κρουστικό κύμα, η εκπομπή φωτός συμβαίνει σε μια συγκεκριμένη γωνία, θ , σε σχέση με την διεύθυνση διάδοσης των φορτισμένων σωματιδίων, που ορίζεται ως :

$$\cos\theta = \frac{1}{\beta n}$$

όπου n ο δείκτης διάθλασης του μέσου και β η φασική ταχύτητα του σωματιδίου, που ορίζεται με τη σχετικιστική έννοια ως:

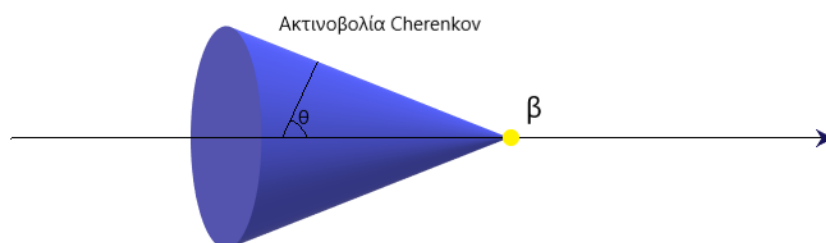
$$\beta = \sqrt{1 - \frac{mc^2}{E + mc^2}}$$

όπου E είναι η ενέργεια του φορτισμένου σωματιδίου και mc^2 είναι η ενέργεια ηρεμίας του σωματιδίου, με m η μάζα του σωματιδίου και c η ταχύτητα του φωτός στο κενό.

Οι παραπάνω εξισώσεις μπορούν να συνδυαστούν και να εκφράσουν την ενέργεια κατώφλιου, E' , που είναι απαραίτητη για την εκπομπή ακτινοβολίας Cherenkov ως προς το δείκτη διάθλασης και τη μάζα ηρεμίας των φορτισμένων σωματιδίων, ως εξής:

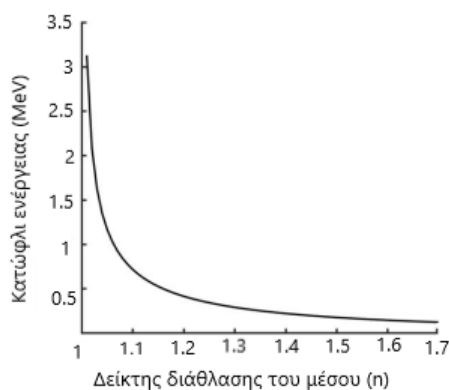
$$E' \geq mc^2 \left(\frac{1}{\sqrt{1 - \frac{1}{n^2}}} - 1 \right)$$

Για φορτισμένα σωματίδια με ενέργεια πάνω από το παραπάνω κατώφλι ενέργειας, ο αριθμός των φωτονίων, ανά μονάδα μήκους, δίνεται από την εξίσωση Frank-Tamm η οποία θα



Σχήμα 8.1: Η χωρική κατανομή της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας Cherenkov σε ένα μέσο είναι κωνικού σχήματος γύρω από την τροχιά του σωματιδίου

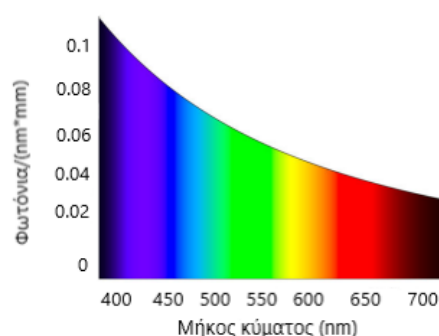
αναλυθεί στη συνέχεια. Θεωρώντας ως μέσο διάδοσης του φορτισμένου σωματιδίου το νερό, με δείκτη διάθλασης 1.33 στο ορατό φάσμα του φωτός, ή τον μαλακό βιολογικό ιστό, με μια μέση τιμή για τον δείκτη διάθλασης περίπου στα 1.4, το κατώφλι ενέργειας για ένα σωματίδιο β , είναι 264 και 219 keV αντίστοιχα. Το κατώφλι της κινητικής ενέργειας για την εκπομπή ακτινοβολίας Cherenkov από ένα σωματίδιο β με μάζα ηρεμίας $m_0c^2 = 0.511$ MeV, αναπαρίσταται στην Εικόνα 8.2, ως συνάρτηση του δείκτη διάθλασης. Συμπερασματικά, όσο υψηλότερη η τιμή του δείκτη διάθλασης, τόσο χαμηλότερο το κατώφλι ενέργειας Cherenkov[9].



Σχήμα 8.2: Κατώφλι Cherenkov ως συνάρτηση του δείκτη διάθλασης για ένα σωματίδιο β ($m_0c^2 = 0.511$ MeV) [9].

8.1.1 Φάσμα Εκπομπής Cherenkov

Σύμφωνα με την εξίσωση των Frank-Tamm, το φάσμα εκπομπής της ακτινοβολίας Cherenkov παρουσιάζει κορυφή στο υπεριώδες-μπλε και ακολουθεί κατανομή αντιστρόφως ανάλογη του μήκους κύματος. Όταν ένα σωματίδιο κινείται μέσα σε κάποιο μέσο, λόγω συνεχών αλληλεπιδράσεων η ενέργειά του και κατά συνέπεια η ταχύτητά του, συνεχώς μειώνονται, οπότε η γωνία θ της ακτινοβολίας Cherenkov, με το χρόνο θα μειώνεται επίσης [9]. Ενδεικτικά, μερικά χαρακτηριστικά της εκπομπής Cherenkov για το νερό και μαλακούς ιστούς, αναφέρονται στον Πίνακα 9.



Σχήμα 8.3: Φάσμα ακτινοβολίας Cherenkov. Ο αριθμός φωτονίων Cherenkov που εκπέμπονται ανά μονάδα μήκους διαδρομής και ανά μονάδα μήκους κύματος για ένα σωματίδιο με ταχύτητα $\beta=0.9$ που κινείται σε μέσο με δείκτη διάθλασης 1.4 [9].

	Νερό	Ιστός
n , μέσος όρος στα 400-1000nm	1.33	1.4
$\theta_{max}(\beta \rightarrow 1)$	41°	44°
$T_{min}(\theta = 0)$, β σωματίδιο	264keV	219keV
$\frac{dn}{dt}(400 - 1000nm), \beta \rightarrow 1$	20 φωτόνια/mm	23 φωτόνια/mm

Πίνακας 8.1: Μερικά χαρακτηριστικά της εκπομπής Cherenkov στο νερό και στους μαλακούς ιστούς [9].

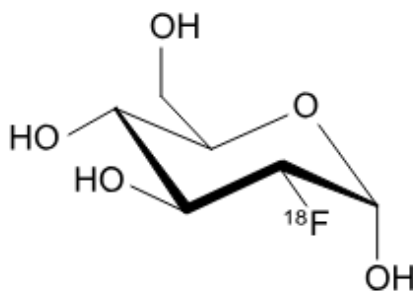
8.2 Ενίσχυση Φωτοδυναμικής Θεραπείας με Ακτινοβολία Cherenkov

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενα κεφάλαια, ένα από τα κύρια προβλήματα της φωτοδυναμικής θεραπείας είναι να φτάσει το φως στον φωτοευαίσθητοποιητή, λόγω της εγγενούς απορρόφησης και τις ιδιότητες σκέδασης του ιστού. Μια λύση είναι η χρήση ακτινοβολίας Cherenkov που δημιουργείται εντός του όγκου, ως πηγή φωτός. Το κύριο πλεονέκτημα της χρήσης πηγής φωτός Cherenkov, είναι η δυνατότητα ύπαρξης, στον ίδιο χώρο (δηλαδή στην περιοχή του όγκου), τόσο του φωτοευαίσθητοποιητή όσο και της πηγής φωτός. Η συνύπαρξη αυτή, οδηγεί σε μειωμένη σκέδαση και μεγαλύτερη απορρόφηση φωτός από τον ιστό, και ταυτόχρονα σε μικρότερη κυτταροτοξική επίδραση στους υγιείς ιστούς, δεδομένου ότι το μεγαλύτερο μέρος της ακτινοβολίας, εκπέμπεται στο εσωτερικό της περιοχής του όγκου. Ένα

ακόμα σημαντικό χαρακτηριστικό της ακτινοβολίας Cherenkov είναι το φάσμα της, το οποίο βρίσκεται στην υπεριώδη και μπλε περιοχή, όπου απορροφούν έντονα ορισμένοι φωτοευαισθητοποιητές, με αποτέλεσμα να διεγερθούν τα μόριά τους και να πυροδοτηθεί η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου[70]. Τα ραδιονουκλίδια χρησιμοποιούνται για διάφορες θεραπευτικές εφαρμογές στην Ιατρική (στην Πυρηνική Ιατρική κυρίως), από την απεικόνιση για τη διάγνωση ασθενειών έως τη θεραπεία. Οι θεραπευτικές χρήσεις τους περιλαμβάνουν τον έλεγχο της ανάπτυξης των καρκινικών όγκων, κατά τον οποίο η υψηλής έντασης ακτινοβολία από το ραδιονουκλίδιο, επιτίθεται στα καρκινικά κύτταρα. Μια άλλη σπουδαία ιδιότητα των ραδιονουκλιδίων είναι η παραγωγή ακτινοβολίας Cherenkov που χρησιμοποιείται σε τεχνικές απεικόνισης. Η ακτινοβολία Cherenkov που παράγεται τοπικά μέσα σε έναν δεδομένο ιστό, βελτιώνει τον λόγο σήματος-θορύβου στις εφαρμογές απεικόνισης. Ωστόσο, με την αύξηση του μήκους κύματος, η ένταση της ακτινοβολίας που παράγεται είναι χαμηλή, και συνεπώς, η ανίχνευση του σήματος, είναι συχνά δύσκολη. Για να ξεπεραστεί αυτό το ζήτημα, και να ενισχυθεί η παραγόμενη ακτινοβολία, χρησιμοποιούνται φλουροφόρα (fluorophores), κβαντικές τελείες και νανοσωματίδια. Εκτός από την χρήση της ακτινοβολίας Cherenkov σε απεικονιστικές μεθόδους, η χρήση της είναι ευρεία και σε χημικές και θεραπευτικές εφαρμογές[10].

8.3 Το Μόριο ^{18}F – FDG ως Πηγή Ακτινοβολίας Cherenkov

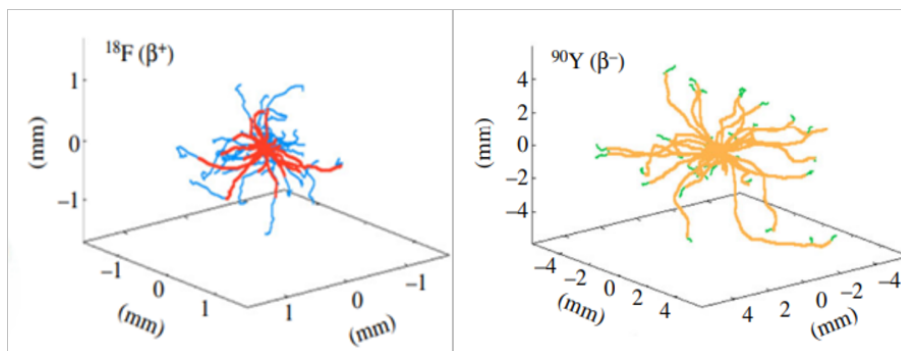
Το 2015, η ερευνητική ομάδα των Kotagiri et al., παρουσίασε τη χρήση της ακτινοβολίας Cherenkov που παράγεται από το ραδιονουκλίδιο ^{18}F – FDG για την ενεργοποίηση νανοσωματιδίων TiO_2 , in vivo, για την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS) και την καταστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων[10]. Το ραδιονουκλίδιο 2'-δεοξυ-2'-[^{18}F]φθόριο-δεοξυ-D-γλυκόζη (2'-deoxy-2'-[^{18}F]fluoro-D-glucose (^{18}F -FDG)) είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μόριο ικανό για ανίχνευση και μέτρηση της γλυκόζης. Το φθόριο-18 της ^{18}F – FDG έχει πολύ σημαντικό ρόλο στην ογκολογία. Η μέγιστη ενέργεια του ποζιτρονίου από την διάσπαση του ^{18}F είναι 0.633MeV, με μέση διαδρομή 0.6mm. Επομένως, είναι ένα ραδιονουκλίδιο με κατάλληλα χαρακτηριστικά για υψηλής ευκρίνειας απεικόνιση στην Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography – PET). Δομικά το ^{18}F – FDG είναι ανάλογο της γλυκόζης. Τα καρκινικά κύτταρα



Σχήμα 8.4: Το μόριο του ^{18}F – FDG

παρουσιάζουν αυξημένο μεταβολισμό, σε σύγκριση με τα φυσιολογικά, και ως αποτέλεσμα

χρησιμοποιούν περισσότερη γλυκόζη. Οι παθολογικές εστίες, προσλαμβάνουν εντόνως το ραδιοφάρμακο, και έτσι το $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ μπορεί να συγκεντρωθεί τοπικά στον όγκο, ώστε η περιοχή να απεικονιστεί με μεγάλη ακρίβεια. Άλλα ραδιοϊσότοπα, που χρησιμοποιούνται σαν εσωτερική πηγή φωτός, είναι το Yttrium-90, ^{90}Y , Copper-64, ^{64}Cu , Lutetium-177, ^{177}Lu .

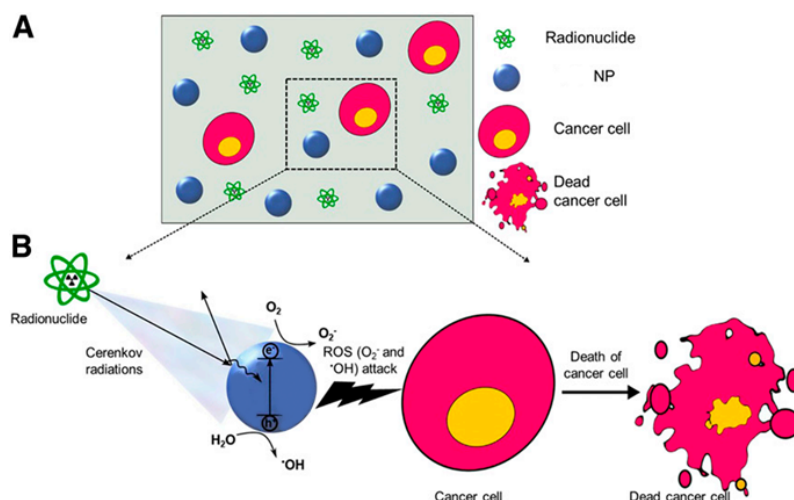


Σχήμα 8.5: Προσομοίωση πολλών τροχιών σωματιδίων β που προέρχονται από μια σημειακή πηγή ^{18}F (αριστερά) και ^{90}Y (δεξιά) στο νερό. Σημειώνεται ότι απεικονίζονται σε διαφορετικές χωρικές κλίμακες για λόγους σαφήνειας. Η αλλαγή του χρώματος στις τροχιές υποδηλώνει τη θέση στην οποία η ενέργεια του σωματιδίου β πέφτει κάτω από το κατώφλι Cherenkov. Ορισμένα σωματίδια β εκπέμπονται με ενέργειες κάτω από αυτές του κατώφλιου Cherenkov και επομένως δεν παράγουν ποτέ φως. Κάτι τέτοιο είναι ιδιαίτερα συνηθισμένο για το ^{18}F . Για το μόριο του ^{18}F , τα σωματίδια β απεικονίζονται με κόκκινο ενώ τα παραγόμενα φωτόνια, με μπλε χρώμα [9]

8.4 Υπολογισμός Φωτοδυναμικού Αποτελέσματος – Ελευθέρων Ριζών

Για τον προσδιορισμό των βημάτων που εμπλέκονται στην καταστροφή των καρκινικών κυττάρων με παρουσία ραδιονουκλιδίων και νανοσωματιδίων χρυσού, αναπτύχθηκε το μαθηματικό μοντέλο που θα περιγραφεί αναλυτικά παρακάτω, που στη συνέχεια μέσω του λογισμικού προγράμματος Wolfram Mathematica, πραγματοποιήθηκε προσομοιωτικός υπολογισμός. Αρχικά, υπολογίστηκε η ποσότητα της ακτινοβολίας Cherenkov που παράγεται από τα σωματίδια β που εκπέμπει το ραδιονουκλίδιο $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ όταν αυτό διασπάται (αποδιεγείρεται). Έπειτα, προσδιορίστηκε η φωτεινή ακτινοβολία που απορροφάται από τα νανοσωματίδια και τέλος, υπολογίστηκε η ποσότητα των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS), όπως τα ανιόντα υπεροξειδίου, υδροξυλικές ρίζες και μονήρες οξυγόνο, που παράγονται με τον χρόνο [10]. Επιπλέον, μελετήθηκαν οι επιδράσεις των παραμέτρων, όπως της συγκέντρωσης και του μεγέθους των νανοσωματιδίων, στην ποσότητα των παραγόμενων δραστικών μορφών οξυγόνου [10]. Η Εικόνα 8.6, παρουσιάζει μια σχηματική περιγραφή της φωτοδυναμικής θεραπείας. Το σύστημα αποτελείται από την πηγή της ακτινοβολίας Cherenkov, δηλαδή το ραδιονουκλίδιο $^{18}\text{F} - \text{FDG}$, τα νανοσωματίδια που θα απορροφήσουν την ακτινοβολία και καρκινικά κύτταρα σε βιολογικό υγρό. Το μαθηματικό μοντέλο κυρίως υπολογίζει τον κυτταρικό θάνατο από δραστικές μορφές οξυγόνου που παράγονται, ενώ άλλες αλληλεπιδράσεις του συστήματος ραδιονουκλιδίου-νανοσωματιδίου,

όπως ο ιονισμός και η διέγερση του νανοσωματιδίου από ιοντίζουσα ακτινοβολία, δεν λαμβάνονται υπόψη στην παρούσα μελέτη.



Σχήμα 8.6: (A), Σχηματικό διάγραμμα της φωτοδυναμικής θεραπείας σε συνδυασμό με ακτινοβολία Cherenkov (CR) και (B), Ο μηχανισμός της παραγωγής των ROS και του κυτταρικού θανάτου λόγω ακτινοβολίας Cherenkov. (NP=nanoparticle) [10].

8.4.1 Φυσική Ακτινοβολίας Cherenkov

Ο αριθμός των νανοσωματιδίων χρυσού ανά κυβικό εκατοστό, υπολογίζεται από την συγκέντρωση και το μέγεθος των νανοσωματιδίων από την σχέση:

$$N_{AU} = \frac{C_{AU}}{\rho_{AU} v_p} \quad (8.1)$$

Όπου ρ_{AU} είναι η πυκνότητα του χρυσού, v_p ο όγκος ενός νανοσωματιδίου χρυσού, διαμέτρου d_p . Στην παρούσα εργασία, η πυκνότητα του χρυσού θεωρήθηκε 19.3 gr/cm^3 , ενώ για τον όγκο, χρησιμοποιήθηκε η σχέση $v_p = \frac{4}{3} \pi R_p^3$, όπου R_p η ακτίνα του νανοσωματιδίου, ίση με $R_p = \frac{d_p}{2}$. Για λόγους ακριβείας, προκειμένου να ληφθεί υπόψη ότι η ικανότητα του νανοσωματιδίου να απορροφάει φωτόνια εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που προσπίπτει σε αυτό, σύμφωνα με τη θεωρία Mie, η διάμετρος d_p του νανοσωματιδίου στην παραπάνω και τις επόμενες εξισώσεις, ισούται με το γινόμενο της τετραγωνικής ρίζας της αποδοτικότητας απορρόφησης επί την πραγματική διάμετρο του εκάστοτε νανοσωματιδίου. Δηλαδή, $d_p = \sqrt{Q_{abs}} \cdot d$. Ο λόγος που χρησιμοποιείται η $\sqrt{Q_{abs}}$ είναι διότι, όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 7, η αποδοτικότητα όπως υπολογίζεται από τη θεωρία Mie, αφορά την αντίστοιχη ενεργό διατομή, δηλαδή το μέτρο της πιθανότητας να συμβεί το εκάστοτε γεγονός, προς την γεωμετρική διατομή του νανοσωματιδίου, δηλαδή αποτελεί λόγο εμβαδών. Σημειώνεται ότι ενώ οι διαστάσεις του νανοσωματιδίου «φαίνεται» να αυξάνουν όσο αυξάνεται το Q_{abs} , αυτό που στην πραγματικότητα ισχύει, είναι ότι αυξάνεται η πιθανότητα το νανοσωματίδιο να απορροφήσει ακτινοβολία, και έτσι «φαίνεται» πιο μεγάλο. Το ^{18}F διασπάται σε σταθερό πυρήνα ^{18}O και απελευθερώνει ένα σωματίδιο β με πιθανότητα 97%, το οποίο θεωρείται και η πηγή της ακτινοβολίας Cherenkov. Ο αριθμός των σωματιδίων β , N_β , που

παράγονται ανά δευτερόλεπτο ισούται με την ενεργότητα του ραδιονουκλιδίου $^{18}\text{F} - \text{FDG}$, η οποία μειώνεται με το χρόνο:

$$N_\beta = A \quad (8.2)$$

Όπου η ενεργότητα A , δίνεται από την σχέση $A = A_0 e^{-\lambda t}$, $\lambda = \frac{\ln 2}{t_{1/2}}$, με A_0 η αρχική ενεργότητα, όπου στην παρούσα διπλωματική εργασία θεωρήθηκε 550MBq/ml και $t_{1/2}$, ο χρόνος ημιζωής του ^{18}F , 109.7min . Τα νανοσωματίδια και τα μόρια $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ θεωρούνται ομοιόμορφα διασκορπισμένα και η μέση απόσταση (xavg) του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού προσδιορίζεται ως εξής:

$$x_{avg} = \left(\frac{1}{N_{Au} + N_\beta} \right)^{1/3} \quad (8.3)$$

Ο αριθμός των φωτονίων σε ένα δευτερόλεπτο που παράγονται από ένα β -σωματίδιο το οποίο ταξιδεύει σε ένα μέσο με ταχύτητα μεγαλύτερη από την φασική ταχύτητα του φωτός στο δεδομένο μέσο, περιγράφεται από την εξίσωση Frank-Tamm και είναι:

$$\frac{d^2 N_{ph}}{d\lambda d\beta} = 2\pi a \left(1 - \frac{1}{\beta^2 n^2} \right) \frac{1}{\beta^2} \cdot \beta_n > 1 \quad (8.4)$$

Όπου l η απόσταση που διανύει το σωματίδιο β , λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, a η σταθερά, με $a = \frac{1}{137}$, n ο δείκτης διάθλασης του μέσου, και β ο λόγος της ταχύτητας του φορτισμένου σωματιδίου προς την ταχύτητα του φωτός στο κενό, $\beta = \sqrt{1 - \frac{m_0 c^2}{E + m_0 c^2}}$, με m_0 , E , η μάζα ηρεμίας και η ενέργεια ενός β -σωματιδίου, αντίστοιχα. Ο αριθμός των φωτονίων υπολογίζεται σε κάθε βήμα κατά μήκος της τροχιάς του σωματιδίου β . Αν θεωρηθεί ότι ένα σωματίδιο β κινείται σε γωνία φ σε σχέση με ένα νανοσωματίδιο, και ότι τα φωτόνια που παράγονται εκπέμπονται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου β , τότε το νανοσωματίδιο, θα απορροφήσει μόνο τα φωτόνια που παράγονται στο τμήμα $l_{AB} = \frac{d_p}{\sin\theta}$, όπου $\theta = \cos^{-1} \frac{1}{\beta n}$ και d_p η διάμετρος του νανοσωματιδίου (Εικόνα 8.7). Με άλλα λόγια, οποιοδήποτε φωτόνιο που υπολογίστηκε από την σχέση Frank-Tamm, εάν δεν εκπέμπεται στο τμήμα AB , δεν θα απορροφηθεί από το νανοσωματίδιο [10]. Το κάθε φωτόνιο που παράγεται στο τμήμα l_{AB} καθώς διανύει το υλικό του μέσου, υφίσταται φαινόμενα σκέδασης και απορρόφησης, συνεπώς ο τελικός αριθμός φωτονίων που φτάνει στο νανοσωματίδιο είναι σχετικά μικρός. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 8.7, το κάθε φωτόνιο διανύει απόσταση l_t , όπου η απόσταση αυτή, ισούται με:

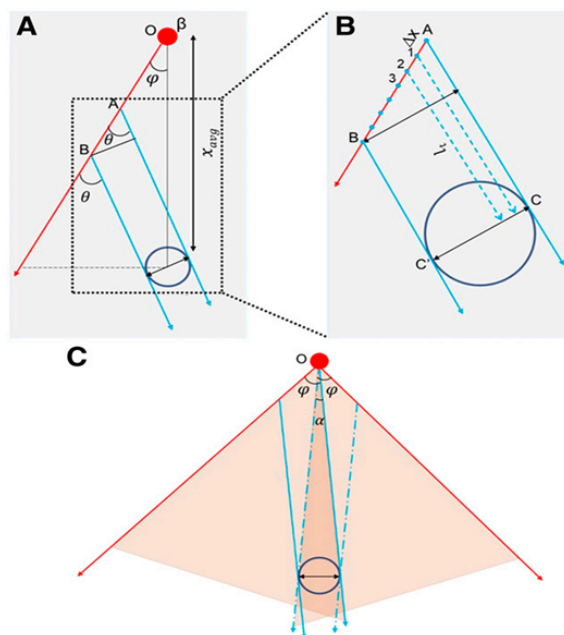
$$l_t = \frac{\cos\varphi}{\sin(\theta + \varphi)} \left(\frac{x_{avg} + R_p}{\cos\varphi} - l_{OA} - l_{AB} \right) + \cos\theta(l_{AB} - l) \quad (8.5)$$

, όπου το x_{avg} δίνεται από την σχέση 8.3, R_p η διάμετρος της νανόσφαιρας, φ το γωνιακό εύρος, για το οποίο ισχύει:

$$\varphi = 2\theta - \tan^{-1} \frac{R_p}{R_p + x_{avg}} \quad (8.6)$$

l_{OA} η απόσταση του τμήματος OA :

$$l_{OA} = \frac{1}{\sin\theta} [(x_{avg} + R_p)\sin(\theta - \varphi) - R_p] \quad (8.7)$$



Σχήμα 8.7: Σχηματικό διάγραμμα του μοντέλου. (A) Το σωματίδιο β (κόκκινη σφαίρα) κινείται σε γωνία φ σε σχέση με το νανοσωματίδιο (κενή μπλε σφαίρα). Τα παραγόμενα φωτόνια (γαλάζια βέλη) κινούνται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου-β. (B) Μόνο όσα φωτόνια παράγονται στο τμήμα AB μπορούν να απορροφηθούν από το νανοσωματίδιο. (C) Γωνιακό εύρος ενδιαφέροντος [10].

θ, η γωνία εκπομπής των φωτονίων από την τροχιά του σωματιδίου β και l_{AB} όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η απόσταση του τμήματος AB,

$$l_{AB} = \frac{d_p}{\sin\theta} \quad (8.8)$$

Όσον αφορά το γωνιακό εύρος φ, σημειώνεται ότι για οποιαδήποτε γωνία πέραν της, δεν υπάρχει επιρροή του σωματιδίου β στο νανοσωματίδιο, δηλαδή τα φωτόνια της ακτινοβολίας Cherenkov, δεν θα φτάσουν ποτέ στο νανοσωματίδιο ώστε να απορροφηθούν. Η ροή φωτονίων, δηλαδή ο αριθμός φωτονίων ανά δευτερόλεπτο επί τετραγωνικό εκατοστό που φτάνει στο νανοσωματίδιο χρυσού, υπολογίζεται από την εξής έκφραση:

$$N_{int} = \frac{N_{ph}}{A_p} e^{-bl_t} \quad (8.9)$$

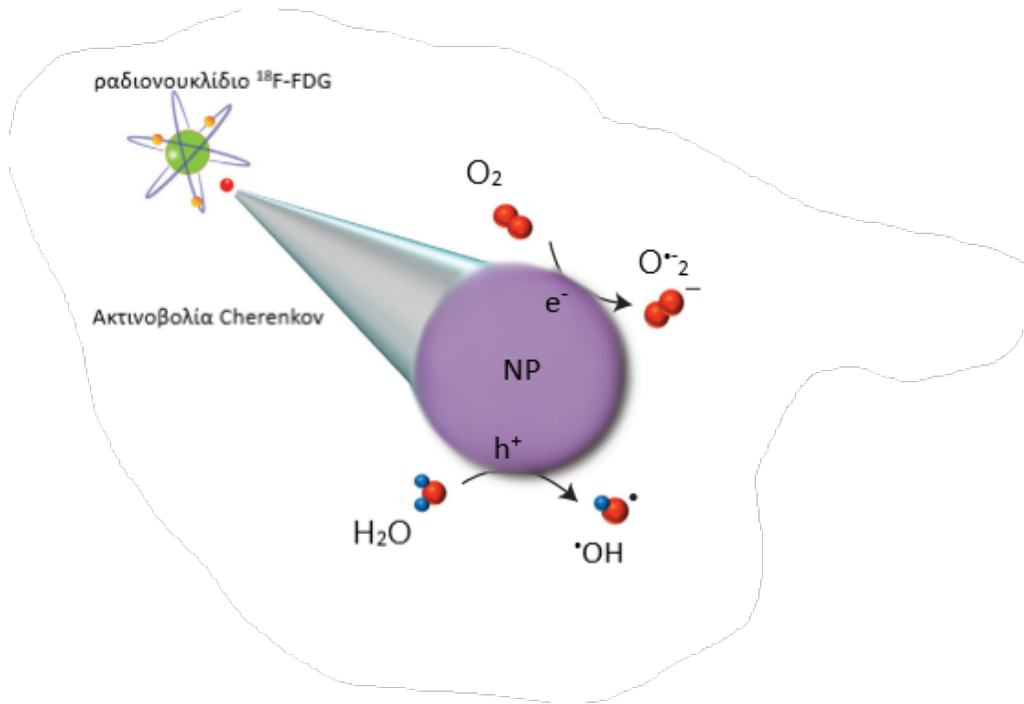
Με την παράμετρο A_p να ισούται με το εμβαδόν του νανοσωματιδίου χρυσού, l_t την απόσταση που διανύει κάθε φωτόνιο που δίνεται από την εξίσωση 8.5, και b να εκφράζει τον συντελεστή εξασθένισης, που ισούται με:

$$b = N_{Au} A_p (Q_{abs} + Q_{sca}) \quad (8.10)$$

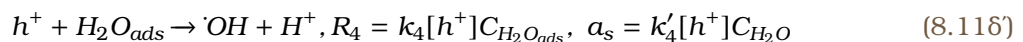
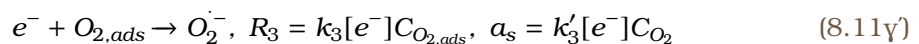
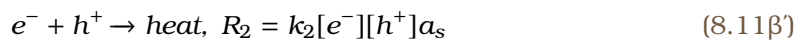
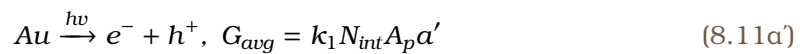
όπου $Q_{abs} + Q_{sca}$ οι αποδοτικότητες απορρόφησης και σκέδασης που περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 7.

8.4.2 Παραγωγή Δραστικών Μορφών Οξυγόνου

Όταν πλέον τα νανοσωματίδια χρυσού απορροφήσουν την ακτινοβολία Cherenkov, δημιουργούνται ζεύγη ηλεκτρονίων, e^- , και οπών, h^+ (σχέση 8.11α). Υπάρχει η περίπτωση τα ηλεκτρόνια και οι οπές να επανενωθούν και να παραχθεί θερμότητα (σχέση 8.11β), όμως αυτό που κυριότερα συμβαίνει είναι τα ηλεκτρόνια να αντιδράσουν με τα μόρια του οξυγόνου που υπάρχουν στην επιφάνεια του νανοσωματιδίου και να παραχθούν ανιόντα υπεροξειδίου, O_2^- (σχέση 8.11γ) και οι οπές να αντιδράσουν με μόρια νερού που βρίσκονται στην επιφάνειά του, και να παραχθούν υδροξυλικές ρίζες, $\cdot OH$ (σχέση 8.11δ) [10].



Σχήμα 8.8: Σχηματική απεικόνιση της διέγερσης νανοσωματιδίων μέσω ακτινοβολίας Cherenkov με σκοπό την παραγωγή ριζών [11]



Σημειώνεται ότι $k_2 = 7.14 \cdot 10^6 s^{-1}$, $k'_3 = k_3 K_{O_2} = 10^{-19} cm^3/s$, $k'_4 = k_4 K_{H_2O} = 10^{-8} cm^{-3}s$ και $k_1 = 4.36 \cdot 10^{10} cm^{-3}$ είναι οι τιμές από τις σταθερές των αντιδράσεων στις σχέσεις (8.11α'–8.11δ') όπως προκύπτουν από τη βιβλιογραφία, K_{O_2} , K_{H_2O} είναι οι σταθερές απορρόφησης του O_2 , H_2O αντίστοιχα και C_{O_2} , C_{H_2O} είναι οι συγκεντρώσεις του νερού και του διαλυμένου οξυγόνου αντίστοιχα που παραμένουν σταθερές [10]. Ο ρυθμός παραγωγής ανιόντων υπεροξειδίου και ο ρυθμός παραγωγής ριζών υδροξυλίου δίνονται από τις σχέσεις:

$$\frac{d[O_2^-]}{dt} = k'_3[e^-]C_{O_2}a_sN_{Au} \quad (8.12\alpha)$$

$$\frac{d[OH]}{dt} = k'_4[h^+]C_{H_2O}a_sN_{Au} \quad (8.12\beta)$$

Η συγκέντρωση οπών και ηλεκτρονίων, δίνονται από τις ακόλουθες εκφράσεις:

$$\frac{d[e^-]}{dt} = G_{avg} - k_2[e^-][h^+]a_s - k'_3[e^-]C_{O_2} \quad (8.13\alpha)$$

$$\frac{d[h^+]}{dt} = G_{avg} - k_2[e^-][h^+]a_s - k'_4[h^+]C_{H_2O} \quad (8.13\beta)$$

Εάν θεωρηθεί ότι σε μια σταθερή κατάσταση, ο ρυθμός παραγωγής των ηλεκτρονίων (ή των οπών), ισούται με τον ρυθμό της κατανάλωσής τους, τότε λύνοντας τις εξισώσεις 8.13α', 8.13β' ώστε να προκύψει μια έκφραση για τη συγκέντρωση των φωτοπαραγόμενων ηλεκτρονίων, προκύπτει:

$$\frac{k_2k'_3}{k'_4} \frac{C_{O_2}}{C_{H_2O}} [e^-]^2 + k'_3C_{O_2}[e^-] - G_{avg} = 0 \quad (8.14)$$

Αντικαθιστώντας την έκφραση για την συγκέντρωση ηλεκτρονίων, $[e^-]$, από την εξίσωση 8.14 στην έκφραση για το ρυθμό παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου, προκύπτει ότι ο ρυθμός παραγωγής ανιόντων υπεροξειδίου ισούται με τον ρυθμό παραγωγής ριζών υδροξυλίου, και εκφράζεται από την σχέση [10].

$$\frac{d[O_2^-]}{dt} = \frac{d[OH]}{dt} = \left[\frac{-b \pm \sqrt{b^2 + ak_1N_{int}\pi d_p^2 a'}}{2a} \right] \pi d_p^2 N_{Au} \quad (8.15)$$

όπου

- a, b οι σταθερές με $a = \frac{k_2k'_3}{k'_4} \frac{C_{O_2}}{C_{H_2O}}$ και $b = k'_3C_{O_2}$
- N_{int} , ροή φωτονίων που δίνεται από την εξίσωση 8.9
- d_p η διάμετρος του νανοσωματιδίου, με $d_p = \sqrt{Q_{abs}} \cdot d$, όπου d , η πραγματική διάμετρος και Q_{abs} η αποδοτικότητα απορρόφησης.
- $a' = Q_{abs}$ η αποδοτικότητα απορρόφησης
- N_{Au} αριθμός των νανοσωματιδίων χρυσού ανά κυβικό εκατοστό, που δίνεται από την εξίσωση 8.1.

Κεφάλαιο 9

Εύρεση Φάσματος Απορρόφησης για Νανόσφαιρες Χρυσού, Διαμέτρου 10-100nm.

9.1 Σκοπός Υπολογιστικού Μέρους

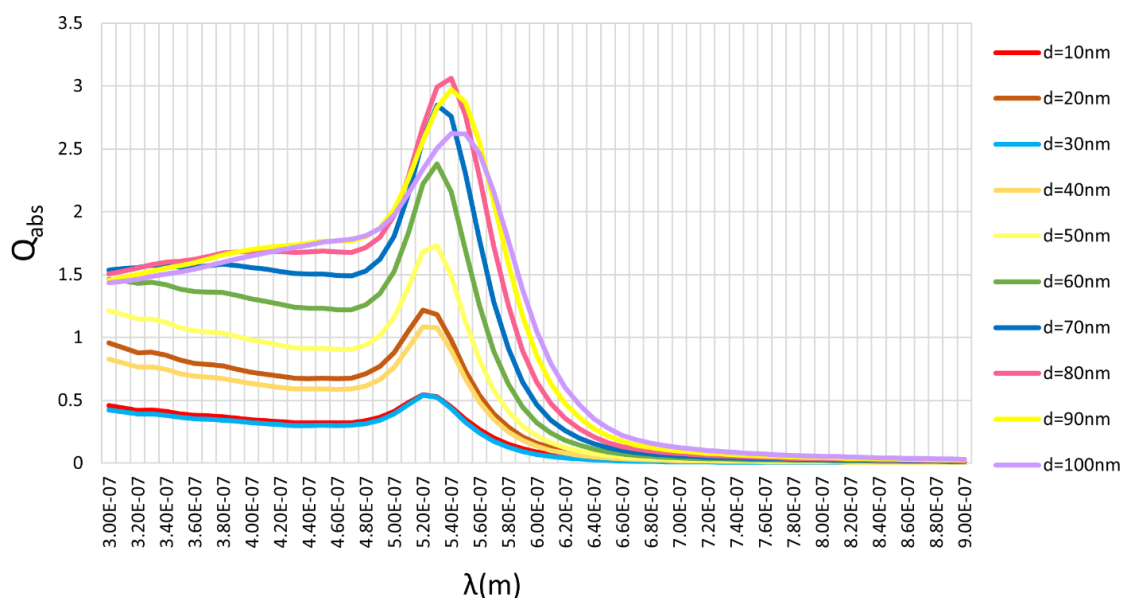
Για το υπολογιστικό μέρος της παρούσης εργασίας, αρχικά πραγματοποιήθηκε υπολογισμός των φασμάτων απορρόφησης νανοσφαιρών χρυσού για διαμέτρους από 10 έως 100nm. Έπειτα, το φάσμα απορρόφησης χρησιμοποιήθηκε στο δεύτερο μέρος της υπολογιστικής μελέτης, ώστε να βρεθεί το ποσό ακτινοβολίας Cherenkov που εκπέμπει ένα σωματίδιο β που παράγεται από την αποδιέγερση του μορίου $^{18}\text{F} - \text{FDG}$, μέσα σε έναν ιστό και που δύναται να απορροφήσει το νανοσωματίδιο, και στο τρίτο μέρος, με την χρήση της εξίσωσης 8.15, υπολογίστηκε η συγκέντρωση ανιόντων υπεροξειδίου και ριζών υδροξυλίου που εν τέλει θα παραχθούν με επιτυχία στον όγκο-στόχο. Όπως αναλύθηκε και στο Κεφάλαιο 7, το ραδιονουκλίδιο $^{18}\text{F} - \text{FDG}$, ως ανάλογο της γλυκόζης, απορροφάται έντονα από τα καρκινικά κύτταρα. Όταν το $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ αποδιεγείρεται, διασπάται με 97% πιθανότητα σε ^{18}O , απελευθερώνοντας σωματίδια β. Τα παραγόμενα σωματίδια β, έχουν την απαραίτητη ενέργεια, καθώς κινούνται μέσα στον βιολογικό ιστό, να εκπέμπουν ακτινοβολία Cherenkov. Κάποιο μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται τελικά από νανοσωματίδια, τα οποία έχουν ενσωματωθεί στον καρκινικό όγκο, και τα οποία νανοσωματίδια στο εσωτερικό τους φέρουν τον φωτοευαίσθητοποιητή. Ο φωτοευαίσθητοποιητής διεγείρεται και πυροδοτεί μια σειρά τοπικών κυτταροτοξικών φαινομένων, όπου, με την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου και μονήρους οξυγόνου, ξεκινάει η διαδικασία κυτταρικού θανάτου. Το μέρος της ακτινοβολίας Cherenkov που απορροφούν τα νανοσωματίδια, υπολογίζεται στο δεύτερο μέρος της υπολογιστικής μελέτης. Έτσι λοιπόν, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Wolfram Mathematica, όπου για το πρώτο μέρος εισήχθη η θεωρία Mie που αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 7, στην Ενότητα 7.3, και για το δεύτερο μέρος, χρησιμοποιήθηκε το φάσμα απορρόφησης του πρώτου μέρους, ώστε να βρεθεί το ποσό ακτινοβολίας Cherenkov που μπορεί να απορροφήσει το νανοσωματίδιο. Στο τρίτο μέρος, εισήχθη η εξίσωση 8.15 των Kavadiya et al. που περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 8 στην Ενότητα 8.4.2.

9.2 Wolfram Mathematica

Το πρόγραμμα Mathematica, είναι ένα υπολογιστικό πρόγραμμα και ισχυρό μαθηματικό εργαλείο με γλώσσα προγραμματισμού την Wolfram Language. Μέσω του προγράμματος αυτού, πραγματοποιείται η επίλυση των εξισώσεων της θεωρίας Mie. Αρχικά, εισήχθησαν οι δείκτες διάθλασης και οι τιμές των διηλεκτρικών σταθερών κάθε υλικού. Έπειτα, αφού εισήχθησαν οι μαθηματικές εξισώσεις της θεωρίας Mie, βρέθηκαν οι αποδοτικότητες απορρόφησης, Q_{abs} , σκέδασης, Q_{sca} , και εξασθένισης, Q_{ext} . Το εύρος των μηκών κύματος που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν από 300 έως 900nm, οι οποίες αντιστοιχούν στο φάσμα απορρόφησης της ακτινοβολίας Cherenkon που αναφέρθηκε και στην Ενότητα 8.1. Το μέσο στο οποίο βρίσκεται το νανοσωματίδιο, θεωρείται το νερό, αφού καθώς οι μαλακοί ιστοί αποτελούνται κυρίως από νερό, οι δείκτες διάθλασης και οι ιδιότητές τους είναι πολύ κοντά. Δεδομένα για τους δείκτες διάθλασης και διηλεκτρικών σταθερών του νερού, λήφθηκαν από τους Hale και Querry[71], και για τον χρυσό από τους Johnson και Christy[72].

9.3 Νανόσφαιρες Χρυσού

Για νανοσωματίδια χρυσού διαμέτρων από 10-100nm, προέκυψε το φάσμα απορρόφησης που απεικονίζεται στην Εικόνα 9.1. Το διάγραμμα που περιγράφεται, αφορά στην αποδοτικότητα απορρόφησης συναρτήσει του μήκους κύματος.



Σχήμα 9.1: Φάσματα απορρόφησης νανοσωματιδίων χρυσού, για διαμέτρους από 10 έως 100nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm.

9.3.1 Σχολιασμός Αποτελεσμάτων

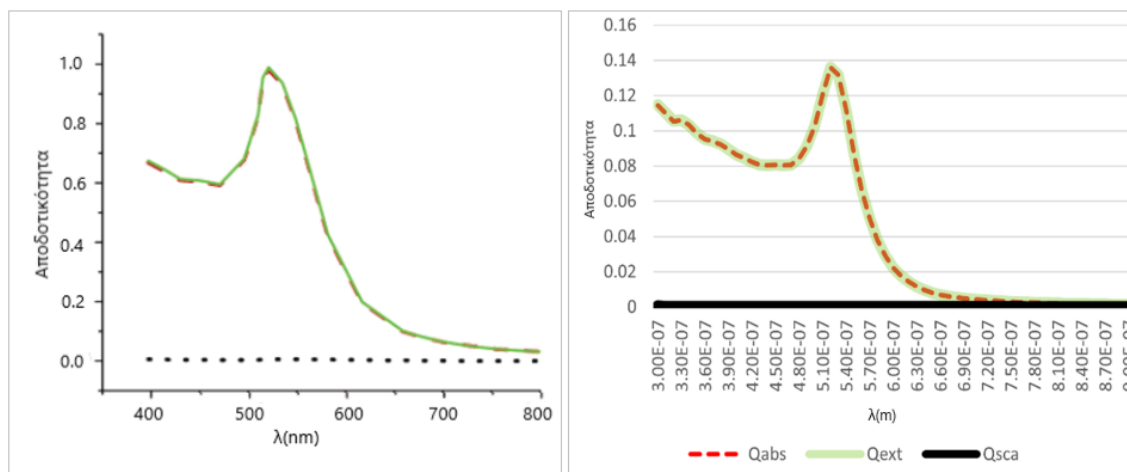
Όπως διαπιστώνεται στην Εικόνα 9.1, μέχρι $d = 80\text{nm}$ η αποδοτικότητα απορρόφησης των νανοσωματιδίων αυξάνεται, επομένως, μέγιστη απορρόφηση εμφανίζεται στα 540nm , ενώ έπειτα για διαμέτρους $d = 90\text{nm}$ και $d = 100\text{nm}$, η αποδοτικότητα μειώνεται. Επίσης, η κορυφή του μεγίστου απορρόφησης μετατοπίζεται προς μεγαλύτερα μήκη κύματος, προς το ερυθρό (red-shifting). Το φαινόμενο αυτό είναι αρκετά σημαντικό στην φωτοδυναμική θεραπεία, στην οποία επιθυμείται η μέγιστη απορρόφηση να συμβαίνει σε μήκος κύματος στο ερυθρό μέρος του φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, διότι το συγκεκριμένο φάσμα είναι επωφελές για τη διείσδυση του φωτός και άκρως επιθυμητό για την ενεργοποίηση των φωτοευαίσθητοποιητών[73]. Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 3 στην Ενότητα 3.3, τα μήκη κύματος των περισσότερων φωτοευαίσθητοποιητών βρίσκονται στην περιοχή του ερυθρού.

9.3.2 Σύγκριση Αποτελεσμάτων με τη Βιβλιογραφία

Για την διαπίστωση αν συμφωνούν τα αποτελέσματα του Mathematica με αυτά της βιβλιογραφίας, πραγματοποιήθηκε υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} , της σκέδασης, Q_{sca} , και της εξασθένησης, Q_{ext} , για νανόσφαιρες χρυσού διαμέτρων $d = 20, 40, 80\text{nm}$. Προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα.

Νανοσωματίδια Χρυσού Διαμέτρου $d = 20\text{nm}$

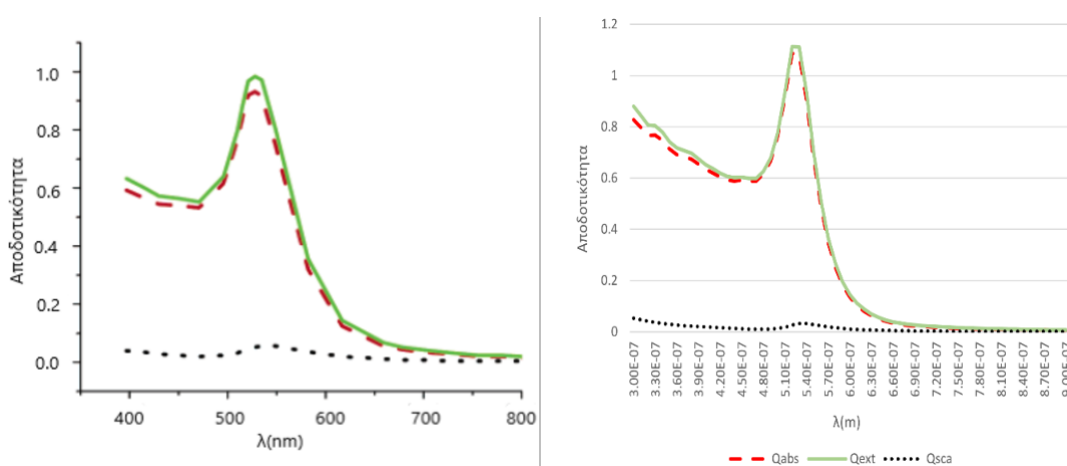
Όπως φαίνεται από το πειραματικό διάγραμμα που δημιουργήθηκε στο Wolfram Mathematica (δεξιά εικόνα) παρατηρείται μέγιστη απορρόφηση για νανόσφαιρες διαμέτρου $d = 20\text{nm}$ και για μήκος κύματος στα 520nm . Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική καμπύλη (αριστερή εικόνα), τα νανοσωματίδια διαμέτρου 20nm παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης περίπου στα 525nm [12]. Επομένως, θεωρείται ότι οι υπολογισμοί μας μέσω του Wolfram Mathematica υπήρξαν σωστοί και επιβεβαιώνονται από τη βιβλιογραφία.



Σχήμα 9.2: Υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή), της σκέδασης, Q_{scat} (μαύρη γραμμή), και της εξασθένισης, Q_{ext} (πράσινη γραμμή), νανοσωματιδίων χρυσού, για διάμετρο 20nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm. Στην αριστερή εικόνα, φαίνεται το βιβλιογραφικό αποτέλεσμα των El-Sayed et al. [12], ενώ στην δεξιά εικόνα, το αποτέλεσμα της διπλωματικής εργασίας, όπως προέκυψε από το λογισμικό Mathematica.

Νανোসωματίδια Χρυσού Διαμέτρου $d = 40\text{nm}$

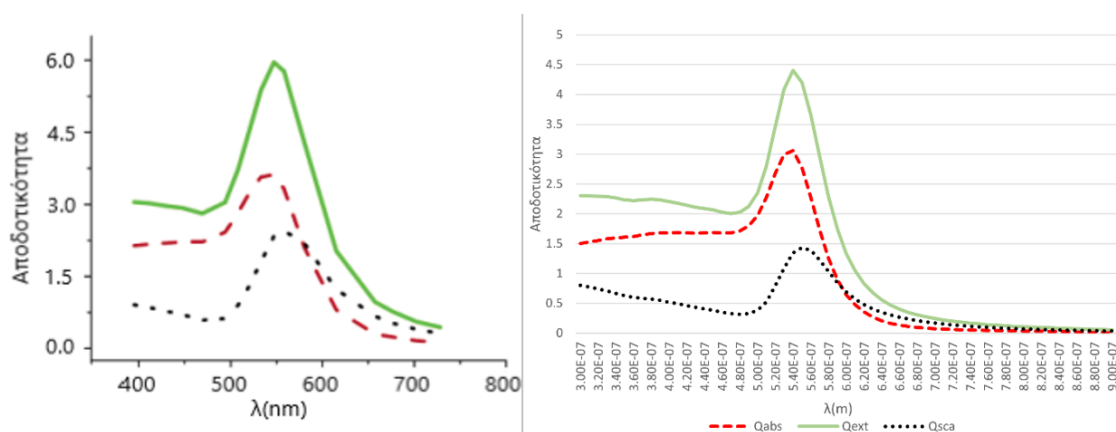
Η μέγιστη απορρόφηση από το πειραματικό διάγραμμα που δημιουργήθηκε στο Wolfram Mathematica (δεξιά εικόνα), για νανόσφαιρα διαμέτρου $d= 40\text{nm}$ σε μήκος κύματος περίπου στα $530 \pm 2\text{nm}$. Η βιβλιογραφική τιμή για το μέγιστο απορρόφησης για νανোসωματίδια διαμέτρου 40nm παρουσιάζεται στα 528 nm [12]. Η θεωρητική τιμή είναι εντός της περιοχής σφάλματος της τιμής που βρέθηκε γραφικά.



Σχήμα 9.3: Υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή), της σκέδασης, Q_{scat} (μαύρη διακεκομμένη γραμμή), και της εξασθένισης, Q_{ext} (πράσινη γραμμή), νανোসωματιδίων χρυσού, για διάμετρο 40nm, σε φάσμα ακτινοβολίας 300-900nm. Στην αριστερή εικόνα, το βιβλιογραφικό αποτέλεσμα των El-Sayed et al. [12], ενώ στην δεξιά εικόνα, φαίνεται το αποτέλεσμα, όπως προέκυψε από το λογισμικό Mathematica.

Νανοδομημένα Χρυσά Διαμέτρου $d = 80\text{nm}$

Η μέγιστη απορρόφηση από το πειραματικό διάγραμμα που δημιουργήθηκε στο Wolfram Mathematica (δεξιά εικόνα), για νανόσφαιρα διαμέτρου $d = 80\text{nm}$ σε μήκος κύματος στα 540nm . Η βιβλιογραφική τιμή για το μέγιστο απορρόφησης για νανοδομημένα χρυσά διαμέτρου 80nm παρουσιάζεται περίπου στα 548nm [12]. Επομένως, θεωρείται ότι οι υπολογισμοί μέσω του Mathematica υπήρξαν σωστοί και ότι είναι αρκετά κοντά στη βιβλιογραφία.



Σχήμα 9.4: Υπολογισμός της αποδοτικότητας της απορρόφησης, Q_{abs} (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή), της σκέδασης, Q_{sca} (μαύρη διακεκομμένη γραμμή), και της εξασθένισης, Q_{ext} (πράσινη γραμμή), νανοδομημένων χρυσών, για διάμετρο 80nm , σε φάσμα ακτινοβολίας $300-900\text{nm}$. Στην αριστερή εικόνα, το βιβλιογραφικό αποτέλεσμα των El-Sayed et al. [12], και στην δεξιά, το αποτέλεσμα, όπως προέκυψε από το λογισμικό Mathematica.

Κάθε φορά τα αποτελέσματα καταγράφονταν σε αρχεία «.dat», τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τον σχεδιασμό των γραφικών παραστάσεων. Ο κώδικας που χρησιμοποιήθηκε στο πρόγραμμα Mathematica επισυνάπτεται στο Παράρτημα I, στο τέλος της παρούσας εργασίας.

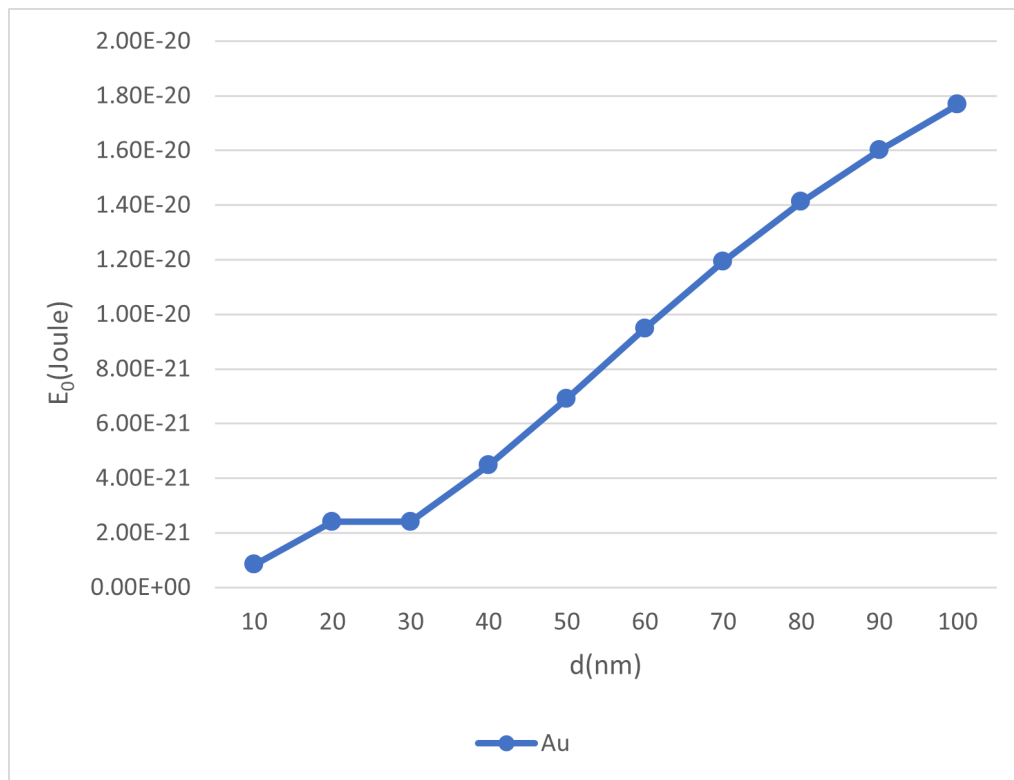
Υπολογιστικός Προσδιορισμός Συνολικής Ενέργειας Ακτινοβολίας Cherenkon που Δύνανται να Απορροφήσουν Νανοσωματίδια Χρυσού

10.1 Αποτελέσματα Προσομοίωσης με το Mathematica για την Ενέργεια που Απορροφούν οι Νανόσφαιρες

Για την εύρεση του ποσού ακτινοβολίας Cherenkon που εκπέμπει ένα σωματίδιο β που παράγεται από την αποδιέγερση του μορίου $^{18}\text{F} - \text{FDG}$, μέσα σε έναν ιστό και που δύναται να απορροφήσει το νανοσωματίδιο, εισήχθησαν σε νέο πρόγραμμα Mathematica τα αποτελέσματα των αποδοτικότητων απορρόφησης από το πρώτο υπολογιστικό μέρος, προκειμένου να λυθεί η εξίσωση Frank-Tamm. Η μορφή της εξίσωσης Frank-Tamm που εισήχθηκε περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 8, στην Ενότητα 8.4.1 και αφορά στην εξίσωση 8.4. Όπως και στο πρώτο μέρος, το μέσο διάδοσης θεωρήθηκε το νερό, επομένως ο δείκτης διάθλασης που εισήχθηκε ήταν του νερού, το εύρος των μηκών κύματος ήταν το φάσμα ακτινοβολίας Cherenkon, 300-900nm, και οι διαμέτροι των νανοσφαιρών, από 10-100nm. Ο κώδικας του προγράμματος Mathematica, δίνεται στο Παράρτημα II. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, περιγράφονται στον πίνακα 10.1 και στη γραφική παράσταση 10.1.

$d(\text{nm})$	Ενέργεια Απορρόφησης $E_0(\text{Joule})$ Νανοσωματιδίων Χρυσού
10	$8.34 \cdot 10^{-22}$
20	$2.40 \cdot 10^{-21}$
30	$2.40 \cdot 10^{-21}$
40	$4.48 \cdot 10^{-21}$
50	$6.91 \cdot 10^{-21}$
60	$9.49 \cdot 10^{-21}$
70	$1.19 \cdot 10^{-20}$
80	$1.41 \cdot 10^{-20}$
90	$1.60 \cdot 10^{-20}$
100	$1.77 \cdot 10^{-20}$

Πίνακας 10.1: Αποτελέσματα που προέκυψαν από το δεύτερο υπολογιστικό μέρος, στο λογισμικό Wolfram Mathematica για νανοσφαίρες χρυσού διαμέτρων 10-100nm



Σχήμα 10.1: Η συνολική ενέργεια που δύναται να απορροφήσει μία νανόσφαιρα χρυσού συναρτήσει της διαμέτρου.

10.2 Σχολιασμός Αποτελεσμάτων

Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 10.1, όταν αυξάνεται η διάμετρος του νανοδομημένου, η ενέργεια της ακτινοβολίας Cherenkov που δύναται να απορροφήσει αυξάνεται και με άλλα λόγια, όσο μεγαλύτερο νανοδομημένο τόσο καλύτερη απορρόφηση συμβαίνει. Επομένως, οι μεγαλύτερες διαμέτρους συμφέρουν στην μεγαλύτερη διείσδυση του φωτός στο νανοδομημένο και κατά συνέπεια στην ενεργοποίηση των φωτοευαίσθητοποιητών ώστε να ξεκινήσουν κυτταροτοξικά φαινόμενα και να παραχθούν περισσότερες ελεύθερες ρίζες και μονήρες οξυγόνο, τα οποία θα αναλάβουν την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων. Επίσης, όπως διαπιστώνεται, η τάξη μεγέθους της απορροφούμενης ακτινοβολίας Cherenkov από τα νανοδομημένα είναι της τάξης από μερικά Joules - μέχρι μερικές εκατοντάδες επί 10^{-22} Joules, δηλαδή αναφερόμαστε σε πάρα πολύ μικρές ενέργειες. Κάτι τέτοιο είναι αναμενόμενο, αφού από την βιβλιογραφία θεωρείται ότι η ακτινοβολία Cherenkov που παράγεται εντός του ιστού από ένα ραδιονουκλίδιο, είναι πολύ ασθενές.

Υπολογιστικός Προσδιορισμός Συγκέντρωσης Δραστικών Μορφών Οξυγόνου

11.1 Εισαγωγή Δεδομένων στο Mathematica

Στη συνέχεια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για το τρίτο υπολογιστικό μέρος, έγινε εκ νέου μελέτη στο Wolfram Mathematica για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των δραστικών μορφών οξυγόνου. Συγκεκριμένα, για τον υπολογισμό των ελευθέρων ριζών, ανιόντος υπεροξειδίου, O_2^- , και υδροξυλίου, OH , που παράγονται στον όγκο-στόχο, χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση 8.15 του Κεφαλαίου 8:

$$\frac{d[O_2^-]}{dt} = \frac{d[OH]}{dt} = \left[\frac{-b \pm \sqrt{b^2 + ak_1 N_{int} \pi d_p^2 a'}}{2a} \right] \pi d_p^2 N_{Au} \quad (11.1)$$

, όπου $a = \frac{k_2 k'_3}{k'_4} \frac{C_{O_2}}{C_{H_2O}}$ και $b = k'_3 C_{O_2}$, με $k_2 = 7.14 \cdot 10^6 s^{-1}$, $k'_3 = 10^{-19} cm^3/s$ και $k'_4 = 10^{-8} cm^{-3}/s$ και C_{O_2} , C_{O_2H} είναι οι συγκεντρώσεις του νερού και του διαλυμένου οξυγόνου αντίστοιχα που παραμένουν σταθεροί αριθμοί[10]. Για την ανάγκη της προσομοίωσης, η συγκέντρωση του οξυγόνου σε έναν καρκινικό ιστό θεωρήθηκε ίση με 2%, δεδομένου ότι το εύρος των τιμών για υποξικές καταστάσεις είναι από 0.3- 4.2% O_2 [74], οπότε εισήχθη μια μέση τιμή. Για την εισαγωγή της συγκέντρωσης του νερού, σε καρκινικό ιστό σύμφωνα με την βιβλιογραφία θεωρήθηκε 80% [75]. Η τιμή της σταθεράς k_1 δίνεται από την βιβλιογραφία ως $k_1 = 4.37 \cdot 10^{10} cm^{-3}$. Στην εξίσωση για την ροή φωτονίων, N_{int} , η οποία εκφράζεται από την εξίσωση 8.9 στο Κεφάλαιο 8.4.1, για το εμβαδόν νανοσωματιδίου, δεδομένου ότι η παρούσα εργασία ασχολείται με νανόσφαιρες, θεωρήθηκε πd_p^2 , όπου πd_p^2 η διάμετρος του νανοσωματιδίου. Όπως επισημάνθηκε και στην Ενότητα 8.4.1, για λόγους ακριβείας, η διάμετρος d_p του νανοσωματιδίου, ισούται με το γινόμενο της τετραγωνικής ρίζας της αποδοτικότητας απορρόφησης επί την πραγματική διάμετρο, του εκάστοτε νανοσωματιδίου, δηλαδή, $d_p = \sqrt{Q_{abs}} \cdot d$. Επίσης, στην παράμετρο b που εκφράζει τον συντελεστή εξασθένισης και εμφανίζεται στην εξίσωση 8.9, εισήχθησαν τα δεδομένα από το πρώτο υπολογιστικό μέρος της παρούσας εργασίας, για τις αποδοτικότητες απορρόφησης και σκέδασης. Για την εύρεση του αριθμού νανοσωματιδίων ανά κυβικό εκατοστό, N_{Au} , δηλαδή στην εξίσωση 8.1 του κεφαλαίου 8.4.1, $N_{Au} = \frac{C_{Au}}{\rho_{Au} v_p}$, χρησιμοποιήθηκε η πυκνότητα του χρυσού ρ_{Au} ίση με $19.3g/cm^3$. Ενώ, για την συγκέντρωση των νανοσωματιδίων, C_{Au} χρησιμοποιήθηκαν

διάφορες τιμές, 2.5mg/mL , 10mg/mL , 50mg/mL , και 100mg/mL .

Ο όρος a' , από την βιβλιογραφία επισημαίνεται ότι ισούται με την αποδοτικότητα απορρόφησης [10], επομένως για την λύση του κώδικα, εισήχθησαν τα δεδομένα του Q_{abs} , για κάθε επιθυμητή διάμετρο, όπως αυτά υπολογίστηκαν από το πρώτο μέρος της προσομοίωσης. Οι διάμετροι των νανοσωματιδίων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από 10-100nm και η αρχική ενεργότητα του $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ ορίστηκε στα 7.4 MBq/mL . Το εύρος για τα μήκη κύματος, ορίστηκε από 300-900nm, δηλαδή φάσμα που αντιστοιχεί στην ακτινοβολία Cherenkov. Όπως και στα προηγούμενα υπολογιστικά μέρη, θεωρήθηκε ότι το περιβάλλον υλικό του νανοσωματιδίου είναι το νερό αφού σε σχέση με τον μαλακό βιολογικό ιστό, οι δείκτες διάθλασής τους είναι αρκετά κοντά, $n \approx 1.33$ και $n \approx 1.4$ αντίστοιχα [9]. Επομένως, στις υπολογιστικές προσομοιώσεις βιολογικών ιστών μπορεί να χρησιμοποιηθούν δεδομένα για το νερό, χωρίς μεγάλες αποκλίσεις στα αποτελέσματα. Έτσι, εξετάζοντας διαφορετικούς συνδυασμούς διαστάσεων και συγκεντρώσεων νανοσωματιδίων, παραγότουσαν μέσω του προγράμματος, αποτελέσματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις ελευθέρων ριζών. Ο κώδικας του προγράμματος Mathematica για το τρίτο μέρος της υπολογιστικής μελέτης, δίνεται στο Παράρτημα III.

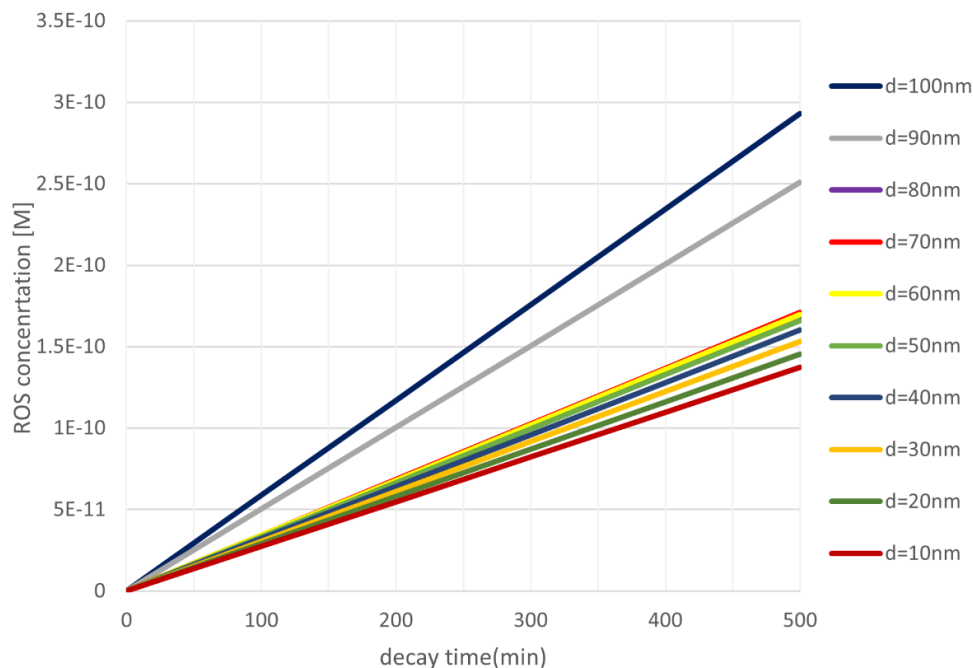
11.2 Αποτελέσματα για την Παραγωγή Ελευθέρων Ριζών

11.2.1 Συγκέντρωση Ελευθέρων Ριζών για Διάφορες Διαμέτρους Νανοσωματιδίων

Διατηρώντας σταθερή την ενεργότητα και την συγκέντρωση των νανοσωματιδίων στα $2.5\mu\text{g/mL}$, εξετάστηκε στο πρόγραμμα Mathematica, το πώς μεταβάλλεται η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών σε σχέση με τις διάφορες διαμέτρους των νανοσωματιδίων. Έτσι για χρόνο διάσπασης 0-500min, δεδομένου ότι ο χρόνος ημιζώης του $^{18}\text{F} - \text{FDG}$ είναι 109.7min, και για φάσμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 300-900nm, δηλαδή το φάσμα Cherenkov, προέκυψε η γραφική παράσταση 11.1

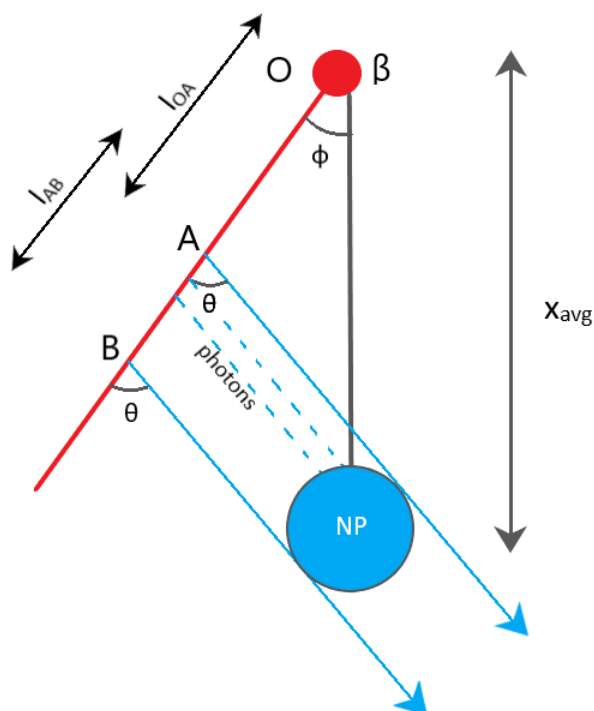
Σχολιασμός Αποτελέσματος

των νανοσωματιδίων, η συνολική συγκέντρωση των δραστικών μορφών οξυγόνου αυξάνεται. Δηλαδή φαίνεται ότι όσο μεγαλύτερο είναι το νανοσωματίδιο, τόσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση των ανιόντων υπεροξειδίου και ριζών υδροξυλίου, και επομένως, τόσο μικρότερες πιθανότητες επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών που προκύπτουν για διαμέτρους $d = 10 - 100\text{nm}$ είναι της τάξης του $10^{-10}[\text{M}]$. Αυτή η τάξη μεγέθους, για νανοσωματίδια χρυσού, είναι λογική, εφόσον αναλογιστεί κανείς, ότι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η συγκέντρωση ελευθέρων ριζών για νανοσωματίδια τιτανίας, TiO_2 , που έχει βρεθεί πειραματικά και προσομοιωτικά είναι της τάξης του $10^{-9}[\text{M}]$, και επομένως, μπορεί να θεωρηθεί ότι οι υπολογισμοί μέσω του Mathematica ήταν αρκετά κοντά στις βιβλιογραφικές τιμές[10]. Φυσικά, το συμπέρασμα αυτό αποτελεί αποτέλεσμα μίας υπολογιστικής προσομοιωτικής μελέτης, η οποία βασίζεται στη λύση θεωρητικών μοντέλων που υπάρχουν μέχρι σήμερα. Οι ακριβείς πραγματικές τιμές των ενεργειών απορρόφησης μπορεί να αποκλίνουν από αυτές που υπολογίστηκαν στο Wolfram Mathematica.



Σχήμα 11.1: Η συγκέντρωση των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) για νανόσφαιρες χρυσού διαμέτρων 10-100nm, όπως προκύπτει από το λογισμικό Wolfram Mathematica. Η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων διατηρήθηκε σταθερή στα 2.5μg/mL και η ενεργότητα στα 7.4 MBq/mL.

Καθώς η συγκέντρωση και η πυκνότητα του χρυσού διατηρούνται σταθερά στα 2.5μg/mL, και 19.3gr/cm³ αντίστοιχα, και ταυτόχρονα αυξάνεται η διάμετρος, ο αριθμός των νανοσωματιδίων, $N_{Au} = \frac{c_{Au}}{\rho_{Au}v_p}$ μειώνεται, αφού το N_{Au} είναι αντιστρόφως ανάλογο με τον όγκο, και ισχύει η σχέση $v_p = \frac{4}{3}\pi R_p^3$ όπου R_p η ακτίνα του νανοσωματιδίου, ίση με $\frac{d_p}{2}$. Η μέση απόσταση (x_{avg}) του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού, σύμφωνα με την σχέση $x_{avg} = \left(\frac{1}{N_{Au}+N_{\beta}}\right)^{1/3}$ υξάνεται επίσης, ενώ το N_{β} παραμένει σταθερό αφού ισούται με την ενεργότητα που λόγω αρχικής υπόθεσης, διατηρείται σταθερή στα 7.4 MBq/mL. Η απόσταση l_{AB} που παριστάνεται στην Εικόνα 11.2, με την αύξηση της διαμέτρου θα αυξάνεται, αφού σύμφωνα με την εξίσωση 8.8 στην Ενότητα 8.4.1, ισχύει $l_{AB} = \frac{d_p}{\sin\theta}$. Επομένως, συμπεραίνεται ότι όσο μεγαλύτερο είναι το l_{AB} τόσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των φωτονίων Cherenkon που θα μπορεί να απορροφήσει το νανοσωματίδιο στο τμήμα AB, και άρα, υψηλότερη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Επισημαίνεται ότι εάν το l_{OA} ήταν μεγαλύτερο, τότε το τμήμα l_{AB} θα προέκυπτε σε μεγαλύτερη απόσταση από το σωματίδιο β, οπότε το σωματίδιο β θα είχε λιγότερη ενέργεια στην περιοχή l_{AB} και επομένως θα παρήγαγε λιγότερα φωτόνια. Καθώς αυξάνεται η διάμετρος, το l_{AB} αυξάνεται σε μεγαλύτερο βαθμό από ό,τι το l_{OA} . Συνεπώς, ο αριθμός φωτονίων, N_{ph} , αυξάνεται, αλλά το N_{int} (εξίσωση 8.9) μειώνεται λόγω της αντιστροφής σχέσης της με τη διάμετρο, $N_{int} = \frac{N_{ph}}{A_p} e^{-bl_t}$. Σύμφωνα με την εξίσωση 8.15, η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών είναι ανάλογη των d_p, N_{int}, N_{Au} , και της αποδοτικότητας απορρόφησης $a' = Q_{abs}$. Με την αύξηση του d_p , τα N_{int} και N_{Au} μειώνονται, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, αλλά σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, δεν διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε σύγκριση με τις εξαρτώμενες-από-το-μέγεθος οπτικές (απορρόφηση και σκέδαση) και η-

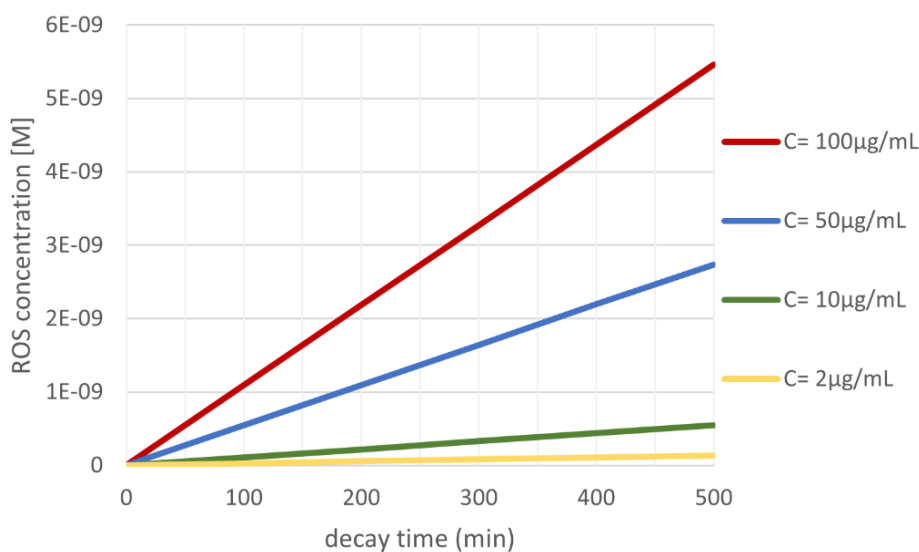


Σχήμα 11.2: Το σωματίδιο β (κόκκινη σφαίρα) κινείται σε γωνία ϕ σε σχέση με το νανοσωματίδιο (γαλάζια σφαίρα). Τα παραγόμενα φωτόνια (γαλάζιες διακεκομμένες ευθείες) κινούνται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου- β . Η μέση απόσταση, x_{avg} , ορίζεται ως η απόσταση του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού. Η απόσταση του τμήματος AB ορίζεται ως l_{AB} , ενώ η απόσταση του τμήματος OA , l_{OA} . Μόνο όσα φωτόνια παράγονται στο τμήμα l_{AB} , μπορούν να απορροφηθούν από το νανοσωματίδιο. Για μεγαλύτερες διαμέτρους νανοσωματιδίων, η απόσταση l_{AB} είναι μεγαλύτερη, άρα στο τμήμα AB παράγονται περισσότερα φωτόνια. Επομένως, ο αριθμός των φωτονίων Cherenkov που θα μπορεί να απορροφήσει το νανοσωματίδιο στο τμήμα AB είναι μεγαλύτερος, οπότε η παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι υψηλότερη.

λεκτρικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων χρυσού[10]. Όσον αφορά στις οπτικές ιδιότητες, η αποδοτικότητα απορρόφησης των νανοσωματιδίων από το πρώτο υπολογιστικό μέρος της παρούσης διπλωματικής εργασίας, έχει βρεθεί η αυξάνεται με το μέγεθος. Ενώ για τις ηλεκτρικές ιδιότητες, όπως περιγράφηκε και στο Κεφάλαιο 8, όταν πλέον τα νανοσωματίδια χρυσού απορροφήσουν την ακτινοβολία Cherenkov, δημιουργούνται ζεύγη ηλεκτρονίων, e^- , και οπών, h^+ , όπου υπάρχει η περίπτωση τα ηλεκτρόνια και οι οπές να επανενωθούν και να παραχθεί θερμότητα ή τα ηλεκτρόνια να αντιδράσουν με τα μόρια του οξυγόνου που υπάρχουν στην επιφάνεια του νανοσωματιδίου και να παραχθούν ανιόντα υπεροξειδίου, O_2^- και οι οπές να αντιδράσουν με μόρια νερού που βρίσκονται στην επιφάνειά του, και να παραχθούν υδροξυλικές ρίζες, OH [10]. Σε νανοσωματίδια μέχρι τα 100nm, κυριαρχεί η παραγωγή ελευθέρων ριζών και όχι η επανασύνδεση. Επομένως, επιβεβαιώνεται και βιβλιογραφικά ότι για μεγαλύτερες διαμέτρους νανοσωματιδίων, η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών είναι μεγαλύτερη.

11.2.2 Συγκέντρωση Ελευθέρων Ριζών για Διάφορες Συγκεντρώσεις Νανοσωματιδίων

Διατηρώντας σταθερή την ενεργότητα και αυτή τη φορά την διάμετρο των νανοσωματιδίων στα 100nm, εξετάστηκε στο πρόγραμμα Mathematica, το πώς μεταβάλλεται η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών σε σχέση με τις διάφορες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων στα 2μg/mL, 10μg/mL, 50μg/mL, και 100μg/mL. Ο χρόνος διάσπασης παρέμεινε 0-500min, και το φάσμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 300-900nm, οπότε προέκυψε η γραφική παράσταση 11.4.

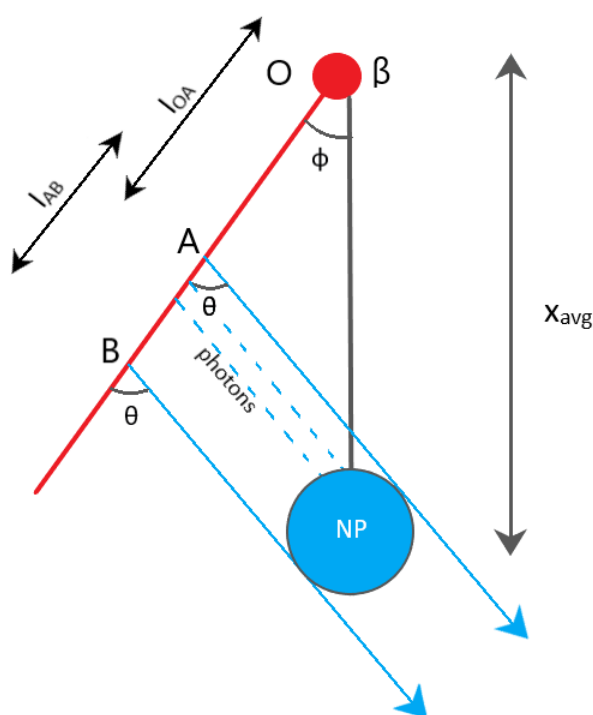


Σχήμα 11.3: Η συγκέντρωση δραστικών μορφών οξυγόνου για διάφορες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων χρυσού, σταθερής διαμέτρου $d=100\text{nm}$.

Σχολιασμός Αποτελέσματος

Το αποτέλεσμα της αύξησης της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων χρυσού, διερευνήθηκε διατηρώντας σταθερή την διάμετρο και την ενεργότητα του $^{18}\text{F} - \text{FDG}$. Καθώς η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων χρυσού αυξάνεται, εξαιτίας της σχέσης $N_{\text{Au}} = \frac{C_{\text{Au}}}{\rho_{\text{Au}} v_p}$ ο αριθμός των νανοσωματιδίων χρυσού, αυξάνεται επίσης. Αντίθετα, σύμφωνα με την σχέση $x_{\text{avg}} = \left(\frac{1}{N_{\text{Au}} N_{\beta}}\right)^{1/3}$ η μέση απόσταση (x_{avg}) του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού, μειώνεται (υπενθυμίζεται ότι το N_{β} παραμένει σταθερό αφού σύμφωνα με την εξίσωση 8.2 της Ενότητας 8.4.1 ισούται με την ενεργότητα που λόγω αρχικής υπόθεσης, διατηρείται σταθερή στα 7.4 MBq/mL). Οι «σημαντικές» παράμετροι είναι τα l_{OA} , l_{AB} που δίνονται από τις εξισώσεις 8.7, 8.8 αντίστοιχα, στην Ενότητα 8.4.1. Η αύξηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων, προκαλεί την μείωση του l_{OA} ενώ το l_{AB} παραμένει σταθερό. Γενικότερα, όσο μικρότερο l_{OA} τόσο μικρότερη απώλεια ενέργειας του σωματιδίου β πριν την παραγωγή φωτονίων στο εύρος του l_{AB} . Ως εκ τούτου, σε υψηλότερες τιμές συγκεντρώσεων νανοσωματιδίων, υψηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν περισσότερα φωτόνια, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, τα χαμηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν λιγότερα

φωτόνια στο ίδιο εύρος l_{AB} . Αναμενόμενα, με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων χρυσού, υπάρχουν περισσότερα νανοσωματίδια ώστε να απορροφήσουν την ακτινοβολία Cherenkov που παράγεται από τα σωματίδια β , επομένως πραγματοποιείται μεγαλύτερη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Γραφικά, αυτό το συμπέρασμα επιβεβαιώνεται από την Εικόνα 11.4, όπου διαπιστώνεται ότι για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων η παραγωγή ελευθέρων ριζών αυξάνεται. Μαθηματικά, σύμφωνα με την εξίσωση 8.15 της Ενότητας 8.4.1, η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών, είναι ανάλογη του αριθμού των νανοσωματιδίων χρυσού N_{Au} , όπως επίσης είναι ανάλογη και με την τετραγωνική ρίζα της ροής των φωτονίων, N_{int} , δηλαδή τον αριθμό φωτονίων ανά δευτερόλεπτο επί τετραγωνικό εκατοστό που φτάνει στο νανοσωματίδιο χρυσού. Ο όρος N_{Au} , όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι ανάλογος της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων και έτσι αυξάνεται όταν αυξάνεται η συγκέντρωση, ενώ και ο όρος N_{int} , επειδή είναι ανάλογος του N_{ph} , αυξάνεται επίσης, αφού όπως αναφέρθηκε και στην προηγούμενη παράγραφο, για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, ο αριθμός των παραγόμενων φωτονίων αυξάνεται. Επομένως επιβεβαιώνεται και μαθηματικά ότι η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών θα αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης. Συμπερασματικά, το αποτέλεσμα της γραφικής παράστασης της Εικόνας 11.4, που πραγματοποιήθηκε μέσω του Mathematica, τεκμηριώνεται θεωρητικά και επιβεβαιώνεται πειραματικά.



Σχήμα 11.4: Το σωματίδιο β (κόκκινη σφαίρα) κινείται σε γωνία ϕ σε σχέση με το νανοσωματίδιο (γαλάζια σφαίρα). Τα παραγόμενα φωτόνια (γαλάζιες διακεκομμένες ευθείες) κινούνται σε γωνία θ από την τροχιά του σωματιδίου- β . Η μέση απόσταση, x_{avg} , ορίζεται ως η απόσταση του σημείου δημιουργίας των σωματιδίων β και των νανοσωματιδίων χρυσού. Η απόσταση του τμήματος AB ορίζεται ως l_{AB} , ενώ η απόσταση του τμήματος OA , l_{OA} . Μόνο όσα φωτόνια παράγονται στο τμήμα l_{AB} , μπορούν να απορροφηθούν από το νανοσωματίδιο. Για υψηλότερες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων, υψηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν περισσότερα φωτόνια, σε αντίθεση με χαμηλότερες συγκεντρώσεις, όπου τα χαμηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν λιγότερα φωτόνια στο ίδιο εύρος l_{AB} .

Επίλογος

12.1 Σύνοψη και Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, στην παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκε η φωτοδυναμική θεραπεία, μια θεραπεία που μπορεί να προσφέρει μια ουσιαστική πολλά υποσχόμενη θεραπευτική μέθοδο κατά του καρκίνου, με χρήση ακτινοβολίας Cherenkov σε συνδυασμό με νανοσωματίδια χρυσού. Μέσω του συνδυασμού αυτού είναι εν δυνάμει δυνατόν να ξεπεραστούν προβλήματα που ανακύπτουν στην κλασική φωτοδυναμική θεραπεία όπως η διείσδυση του φωτός σε μεγαλύτερα βάθη και η σοβαρότερη παρενέργεια της φωτοδυναμικής, η παραμένουσα φωτοευαισθησία. Η εκμετάλλευση της ακτινοβολίας Cherenkov που παράγεται εσωτερικά στον οργανισμό από κοινά ραδιοφάρμακα, θα μπορούσε να συνεισφέρει σε ένα θεραπευτικό αποτέλεσμα με εν τω βάθει ενεργοποίηση νανοσωματιδίων, σε αντίθεση με κλασικές εξωτερικές πηγές φωτός, που χρησιμοποιούνται σήμερα στην φωτοδυναμική θεραπεία, όπως τα Laser και οι λυχνίες. Από την υπολογιστική μελέτη της παρούσης διπλωματικής εργασίας, προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

- Τα φάσματα απορρόφησης για νανοσωματίδια χρυσού, διαστάσεων 10-100nm παρουσιάζουν κορυφή μεγίστου απορρόφησης η οποία μετατοπίζεται προς μεγαλύτερα μήκη κύματος, προς το ερυθρό (red-shifting). Το red-shifting είναι εξαιρετικά επωφελές για τη διείσδυση του φωτός και άκρως επιθυμητό για την ενεργοποίηση των φωτοευαισθητοποιητών στη φωτοδυναμική θεραπεία
- Οι τιμές των ενεργειών απορρόφησης της ακτινοβολίας Cherenkov που εκπέμπει ένα σωματίδιο β που προέρχεται από ένα μόριο ραδιοφαρμάκου $^{18}F - FDG$ και μπορεί να απορροφηθεί αργότερα από ένα σφαιρικό νανοσωματίδιο μέσα στον βιολογικό ιστό, είναι πάρα πολύ μικρές, της τάξεως του 10^{-22}Joule
- Προέκυψε ότι για σταθερή ενεργότητα και συγκέντρωση νανοσωματιδίων, όσο μεγαλύτερο το μέγεθος του νανοσωματιδίου, τόσο περισσότερα φωτόνια Cherenkov θα απορροφήσει, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών που θα παραχθούν να είναι μεγαλύτερη
- Προκειμένου να παραχθούν περισσότερες ελεύθερες ρίζες, για νανοσωματίδια συγκεκριμένης διαμέτρου, και με σταθερή ενεργότητα, παρατηρήθηκε πως σε υψηλότερες τιμές συγκεντρώσεων νανοσωματιδίων, υψηλής ενέργειας σωματίδια β παράγουν πε-

ρισσότερα φωτόνια, και έτσι το νανοσωματίδιο απορροφά περισσότερα φωτόνια Cherenkon, που οδηγεί στο επιθυμητό αποτέλεσμα με άμεση επιρροή στις δραστικές μορφές οξυγόνου

Με αφορμή τα προαναφερθείσα συμπεράσματα, αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχει πληθώρα παραμέτρων που αξίζουν διερεύνηση και μελέτη για την επίτευξη του βέλτιστου θεραπευτικού αποτελέσματος στην φωτοδυναμική θεραπεία. Η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε στην διάμετρο και την συγκέντρωση των νανοσωματιδίων και πώς επηρεάζουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών στο τελικό αποτέλεσμα. Μέχρι τα τωρινά γνωστά δεδομένα, δεν έχει πραγματοποιηθεί κάποια σχετική πειραματική μελέτη σχετικά με την επίδραση του μεγέθους της νανοσωματιδίων χρυσού στον αριθμό των φωτονίων Cherenkon και στην βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων, αλλά και γενικότερα στην χρήση της ακτινοβολίας Cherenkon σε συνδυασμό με νανοσωματίδια στην φωτοδυναμική θεραπεία. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, συνδυάστηκε η φυσική Cherenkon, η απορρόφηση και η σκέδαση του φωτός και η μηχανική των φωτοκαταλυτικών μηχανισμών για την κατανόηση του λεπτομερή μηχανισμού της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου, που συνδέεται άμεσα με τον κυτταρικό θάνατο, με την παρουσία ραδιονουκλιδίων και νανοσωματιδίων χρυσού. Η ακτινοβολία Cherenkon παράγεται όταν ένα σωματίδιο β , ως το προϊόν διάσπασης του ραδιονουκλιδίου $^{18}\text{F} - \text{FDG}$, κινείται με ταχύτητα μεγαλύτερη από την φασική ταχύτητα του φωτός σε ένα συγκεκριμένο μέσο. Η ακτινοβολία Cherenkon, με φάσμα στην περιοχή 300-900nm, απορροφάται από φωτοενεργά νανοσωματίδια χρυσού, με αποτέλεσμα την διέγερση του φωτοευαισθητοποιητή που είναι ενσωματωμένος στο εσωτερικό τους. Οι εγκλεισμένοι σε νανοσωματίδια φωτοευαισθητοποιητές είναι μια τεχνολογική εξέλιξη των τελευταίων ετών προς την κατεύθυνση άρσης των προβλημάτων που δημιουργεί η υδρόφοβη φύση των περισσότερων φωτοευαισθητοποιητών. Κατά την αποδιέγερση των μορίων του φωτοευαισθητοποιητή, μπορούν να συμβούν δύο τύποι αντιδράσεων που συμβάλλουν στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου : ο μηχανισμός Τύπου I με τον σχηματισμό ανιόντος υπεροξειδίου, O_2^- , υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 , και ρίζας υδροξυλίου OH , και ο μηχανισμός Τύπου II με σχηματισμό μονήρους οξυγόνου $^1\text{O}_2$. Η αναλογία μεταξύ τους εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους, με τις πιο σημαντικές να είναι ο τύπος του φωτοευαισθητοποιητή και η συγκέντρωση του οξυγόνου στον ιστό. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου που παράγονται, επιτίθενται σε καρκινικά κύτταρα, προκαλώντας τον θάνατό τους. Βρέθηκε ότι διαφορετικές παράμετροι του συστήματος επηρεάζουν τον αριθμό των φωτονίων Cherenkon και την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Τα αποτελέσματα πρότειναν ένα βέλτιστο μέγεθος και μια βέλτιστη συγκέντρωση νανοσωματιδίων χρυσού για τη μέγιστη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Το παρόν μοντέλο μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για άλλους τύπους ραδιονουκλιδίων και υλικών νανοσωματιδίων και μπορεί να αποτελέσει ένα πλαίσιο για την ανάπτυξη και την εφαρμογή στρατηγικών αντιμετώπισης καρκινικών όγκων μέσω ευκολότερης και γρηγορότερης αύξησης της παραγωγής των ελευθέρων ριζών.

Ο μηχανισμός παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου είναι αρκετά πολύπλοκος. Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει μια πορεία θανάτου των καρκινικών κυττάρων που προκαλείται από ραδιονουκλίδια και νανοσωματίδια και περιγράφηκε με έναν απλό μηχανισμό αντίδρασης για τη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου, συγκεκριμένα ανιόντα υπεροξειδίου,

\dot{O}_2^- , και υδροξυλικές ρίζες, $\dot{O}H$. Ωστόσο, άλλες πολύπλοκες αντιδράσεις και προϊόντα δραστηκών μορφών οξυγόνου, όπως υπεροξειδίο του υδρογόνου, H_2O_2 , και μονήρες οξυγόνο, 1O_2 έχουν αναφερθεί στην διεθνή βιβλιογραφία, και σε αυτό το σημείο, ο ενδιαφερόμενος αναγνώστης παραπέμπεται για μια πλήρη ανάλυση των ανωτέρω[76],[77].

Για την παροχή δεδομένων για την επικύρωση του μοντέλου, απαιτείται περισσότερη πειραματική διερεύνηση και έλεγχος των αποτελεσμάτων των προσομοιώσεων καθώς βέβαια και να υπολογιστούν βιολογικές και φυσικές παράμετροι για πιο ακριβή αποτελέσματα για κλινική χρήση στο μέλλον, χωρίς παρενέργειες και κινδύνους για την ζωή των ασθενών. Επιπλέον, η παρουσία άλλων μηχανισμών στο παρόν μοντέλο, όπως η άμεση διέγερση και ο ιονισμός των νανοσωματιδίων από ιοντίζουσα ακτινοβολία που αγνοήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία, μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην παραγωγή δραστηκών μορφών οξυγόνου, όπως έχει αναφερθεί και σε βιβλιογραφικές μελέτες[78],[79].

Θα είχε ενδιαφέρον να προσδιοριστεί η συμβολή κάθε επιμέρους μηχανισμού στη δημιουργία δραστηκών μορφών οξυγόνου στην φωτοδυναμική θεραπεία, ωστόσο ο προσδιορισμός αυτός υπερβαίνει τα όρια της συγκεκριμένης μελέτης. Το μοντέλο που περιγράφεται στην παρούσα διπλωματική εργασία εξακολουθεί να ποσοτικοποιεί τη συμβολή της ακτινοβολίας Cherenkov στη δημιουργία ελευθέρων ριζών και παρέχει μια καλή ιδέα για το μέγεθος και τη συγκέντρωση των νανοσωματιδίων χρυσού που πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την αποτελεσματική καταστροφή των καρκινικών κυττάρων.

Η φωτοδυναμική θεραπεία, έχει ένα υποσχόμενο μέλλον στην καταπολέμηση του καρκίνου, καθώς είναι μια μη επεμβατική και αποτελεσματική θεραπεία, με πολύ λίγες παρενέργειες για τον ασθενή. Μελλοντικά, θα ήταν χρήσιμο τα πειράματα να πραγματοποιηθούν σε πραγματικούς ιστούς και συνθήκες, καθότι κάτι τέτοιο θα έδινε αξιοπιστία στα αποτελέσματα της προσομοίωσης και καλύτερη πρόβλεψη θεραπείας.

Παραρτήματα

Κώδικας Υπολογισμού Φασμάτων Νανοσφαιρών Διαφορετικών Διαστάσεων

Παρουσιάζεται ο κώδικας στο Wolfram Mathematica για τον υπολογισμό φασμάτων νανοσφαιρών διαφορετικών διαστάσεων.

```

1 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\Refractive indices\\n_Au.dat"]
2 nAu = %
3 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\Refractive indices\\k_Au.dat"]
4 kAu = %
5 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\Refractive indices\\n_water.dat"]
6 nH2O = %
7 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\Refractive indices\\k_water.dat"]
8 kH2O = %
9 nAuf = Interpolation[nAu]
10 kAuf = Interpolation[kAu]
11 nH2Of = Interpolation[nH2O]
12 kH2Of = Interpolation[kH2O]
13 m1 = n1/nm
14 m2 = n2/nm
15 x1 := 2 Pi R1 nm/wl
16 x2 := 2 Pi R2 nm/wl
17 f1[n_, x_] := x SphericalBesselJ[n, x]
18 f2[n_, x_] := x SphericalBesselY[n, x]
19 f3[n_, x_] := x SphericalHankelH1[n, x]
20 y11 := m1 x1
21 y22 := m2 x2
22 y12 := m1 x2
23 y21 := m2 x1
24 an = ((f1[n, x] /. x -> x2) (D[f1[n, x], x] /. x -> y22) - m2 (D[f1[n, x], x] /. x -> x2) (f1[n, x] /. x
-> y22))/((f3[n, x] /. x -> x2) (D[f1[n, x], x] /. x -> y22) - m2 (D[f3[n, x], x] /. x -> x2) (f1[n,
x] /. x -> y22))
25 Simplify[an]
26 an = %
27 FullSimplify[an]
28 an = %
29 bn = (m2 ( f1[n, x] /. x -> x2 ) (D[f1[n, x], x] /. x -> y22) - (D[f1[n, x], x] /. x -> x2) (f1[n, x] /.x
-> y22))/(m2 (f3[n, x] /. x -> x2) (D[f1[n, x], x] /.x -> y22) - (D[f3[n, x], x] /. x -> x2) (f1[n,
x] /. x -> y22))
30 Simplify[bn]
31 bn = %

```

```

32 FullSimplify[bn]
33 bn = %
34 ex[w_, L_] := ebulk + wp^2/(w^2 + I w vf/Linf) - wp^2/(w^2 + I w vf/Linf + A I w vf/L)
35 nx[w_, L_] := Sqrt[ebulk + wp^2/(w^2 + I w vf/Linf) - wp^2/(w^2 + I w vf/Linf + A I w vf/L)]
36 h = 6.626*10^-34
37 hbar = h/2/Pi
38 wp = 9.03*1.6*10^-19/hbar
39 vf = 1.4 10^6
40 Linf = 42.0 10^-9
41 A = 1
42 c = 3. 10^8
43 w = 2 Pi c/wl
44 wx = wl/10^-6
45 ebulk = (nAuf[w] + I kAuf[w])^2
46 Clear[d]
47 R2 = d/2
48 Clear[n2, nm, d, n]
49 $OutputSizeLimit = 4000
50 nmax = 50
51 Qext = (2/x^2) Sum[(2 n + 1) Re[an + bn], {n, 1, nmax}]
52 Qsca = (2/x^2) Sum[(2 n + 1) (an Conjugate[an] + bn Conjugate[bn]), {n, 1, nmax}]
53 Qabs = Qext - Qsca
54 d = 10 10^-9
55 nm = nH20f[wl/10^-6] + I kH20f[wl/10^-6]
56 n2 = nx[w, d]
57 Simplify[%]
58 n2 = %
59 Timing[Table[{N[wl], Re[Qabs]}, {wl, 3 10^-7, 9 10^-7, 10^-8}]]
60 qab = %[[2]]
61 Timing[Table[{N[wl], Re[Qsca]}, {wl, 3 10^-7, 9 10^-7, 10^-8}]]
62 qsc = %[[2]]
63 Timing[Table[{N[wl], Re[Qext]}, {wl, 3 10^-7, 9 10^-7, 10^-8}]]
64 qex = %[[2]]
65 Export["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q \\simulation\\apotelesmata\\Au nanospheres\\qabs, qsc, \\qext\\
qab10.dat", qab]
66 Export["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q \\simulation\\apotelesmata\\Au nanospheres\\qabs, qsc, \\qext\\
qsc10.dat", qsc]
67 Export["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q \\simulation\\apotelesmata\\Au nanospheres\\qabs, qsc, \\qext\\
qex10.dat", qex]

```

Παράρτημα **B**

Κώδικας Υπολογισμού Ενέργειας Απορρόφησης Νανωσωματιδίου Χρυσού

Παρουσιάζεται ο κώδικας στο Wolfram Mathematica για τον υπολογισμό της ενέργειας απορρόφησης ενός νανωσωματιδίου χρυσού, συγκεκριμένης διάστασης, από την ακτινοβολία Cherenkov, που παράγεται από ένα σωματίδιο β , το οποίο προέρχεται από ένα Μόριο ^{18}F – FDG .

```
1 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\apotelesmata\\Ti02 nanospheres\\qabs, qsc, \qext\\
   qab10.dat"]
2 qab = %
3 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\apotelesmata\\Ti02 nanosphere\\qabs, qsc, \qext\\
   qsc10.dat"]
4 qsc = %
5 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\apotelesmata\\Ti02 nanospheres\\qabs, qsc, \qext\\
   qex10.dat"]
6 qex = %
7 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\Refractive indices\\n_water.dat"]
8 nH20 = %
9 nH20f = Interpolation[nH20]
10 qabf = Interpolation[qab]
11 qscf = Interpolation[qsc]
12 qexf = Interpolation[qex]
13 Clear[n, c, b, dl, dwl, m0, q, a, h]
14 Nph2 = (q^2/4 Pi) m0 (2 Pi c/wl) (1 - 1/(b^2 n^2)) (2 Pi c/wl^2) dl dwl
15 Nph2/(h c/wl)
16 FullSimplify[%]
17 % /. m0 -> 1/(e0 c^2)
18 % /. q^2 -> 2 e0 h c a
19 FullSimplify[%]
20 Nph2 = %
21 Nph = 2 Pi^3 a (1 - 1/(b^2 n^2)) dl dwl/wl^2
22 Nph - Nph2
23 h = 6.626 10^-34
24 c = 3 10^8
25 f = c/wl
26 a = 1/137
27 b = 0.895
28 q = 1.6 10^-19
29 m0 = 4 Pi 10^-7
```

```
30 dp = Sqrt[qabf[wλ]] 10 10^-9
31 n = nH2Of[wλ/10^-6]
32 th = ArcCos[1/(b n)]
33 dλ = dp/Sin[th]
34 dwλ = 6 10^-9
35 Nph
36 Nph2
37 S = 0
38 Do[S = S + Nph h c/wλ , {wλ, 3 10^-7, 9 10^-7, 10^-8}]
39 S
40 Do[S2 = S2 + Nph2 h c/wλ , {wλ, 3 10^-7, 9 10^-7, 10^-8}]
41 S2
42 Hold[7.29962*10^-22 + S2]
43 n
```

Κώδικας Υπολογισμού Συγκέντρωσης Ελευθέρων Ριζών

Παρουσιάζεται ο κώδικας στο Wolfram Mathematica για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης ελευθέρων ριζών, για διάφορες διαμέτρους και συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων χρυσού.

```

1 y = b ((-b + Sqrt[b^2 + a k1 Nint Pi dp^2 a1])/(2 a)) Pi dp^2 Nt
2 b = k3 C1
3 C1 = 0.06
4 k3 = 10^(-19)
5 a = ((k2 k3)/ k4) (C1/C2)
6 C2 = 0.8
7 k2 = 7.14 10^6
8 k4 = 10^(-8)
9 k1 = 4.37 10^10
10 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q \simulation\\apotelesmata\\Au nanosphere\\qabs, qsc, qext\\qab10.
    dat"]
11 qab = %
12 qabf = Interpolation[qab]
13 wl = 500 10^-9
14 dp = Sqrt[qabf[wl]] 10 10^-9
15 a1 = qabf[wl]
16 Nt = Ct / (pt v)
17 Ct = 2.5 10^-6
18 pt = 4.26
19 v = (4/3) Pi Rp^3
20 Rp = dp/2
21 Nph = 2 Pi^3 (1/137) (1 - 1/(z^2 nH20f[wl/10^-6]^2)) (1/wl^2) dl dwl
22 Nph = 2 Pi^3 (1/137) (1 - 1/(z^2 nH20f[wl/10^-6]^2)) (1/wl^2) dl dwl
23 z = 0.895
24 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q simulation\\Refractive \indices\\n_water.dat"]
25 nH20 = %
26 nH20f = Interpolation[nH20]
27 Ap = Pi dp^2
28 Import["C:\\Users\\Documents\\thesis\\Q \simulation\\apotelesmata\\Au nanospheres\\qabs, qsc, qext\\qsc10
    .dat"]
29 qsc = %
30 qscf = Interpolation[qsc]
31 b1 = Nt Ap (qabf[wl] + qscf[wl])
32 A = A0 Exp[-(0.693/109.7) t]
33 A0 = 550

```

```

34 dl = dp/Sin[th]
35 n = nH2Of[wL/10^-6]
36 th = ArcCos[1/(z nH2Of[wL/10^-6])]
37 Nph
38 S = 0
39 Do [S = S + Nph, {wL, 3 10^-7, 9 10^-7, 10^-8}]
40 S
41 Nint = (S/Ap) Exp[-b1 lt]
42 1.2143101185262352'^13 E^(-3.401673969024977'^7 lt)
43 lt = ((xavg + Rp)/Cos[ph]) - lOA - lAB) Cos[ph]/Sin[th + ph] + (lAB - lOA) Cos[th]
44 xavg = (Nt + A)^(-1/3)
45 ph = 2 th - ArcTan[Rp/(Rp + xavg)]
46 lOA = 1/Sin [th] ((xavg + Rp) Sin[th - ph] - Rp)
47 lAB = dp/Sin[th]
48 y
49 Simplify[%]
50 y = %
51 NIntegrate[y, {t, 0, 500}]
52 Plot[NIntegrate[y, {t, 0, t1}], {t1, 0, 500}]

```


Βιβλιογραφία

- [1] *Genes and Cancer*. <https://www.facingourrisk.org/info/hereditary-cancer-and-genetic-testing/hereditary-cancer/genes-and-cancer>. Ημερομηνία πρόσβασης: 28-11-22.
- [2] Isabella Portugal, Sona Jain, Patrícia Severino και Ronny Prierer. *Micro- and nano-based transdermal delivery systems of photosensitizing drugs for the treatment of cutaneous malignancies*. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(8):772, 2021.
- [3] Gurcan Gunaydin, M Emre Gedik και Seylan Ayan. *Photodynamic therapy-current limitations and novel approaches*. *Front. Chem.*, 9:691697, 2021.
- [4] Aleksandra Cios, Martyna Cieplak, Łukasz Szymański, Aneta Lewicka, Szczepan Cierniak, Wanda Stankiewicz, Mariola Mendrycka και Sławomir Lewicki. *Effect of different wavelengths of laser irradiation on the skin cells*. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(5):2437, 2021.
- [5] Jaber Ghorbani, Dariush Rahban, Shahin Aghamiri, Alireza Teymouri και Abbas Bahador. *Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overview*. *Laser Ther.*, 27(4):293–302, 2018.
- [6] L Brancalion και H Moseley. *Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy*. *Lasers Med. Sci.*, 17(3):173–186, 2002.
- [7] Nalinikanth Kotagiri, Gail P Sudlow, Walter J Akers και Samuel Achilefu. *Breaking the depth dependency of phototherapy with Cerenkov radiation and low-radiance-responsive nanophotosensitizers*. *Nat. Nanotechnol.*, 10(4):370–379, 2015.
- [8] Sudipta Senapati, Arun Kumar Mahanta, Sunil Kumar και Pralay Maiti. *Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance*. *Signal Transduct. Target. Ther.*, 3:7, 2018.
- [9] Esther Ciarrocchi και Nicola Belcari. *Cerenkov luminescence imaging: physics principles and potential applications in biomedical sciences*. *EJNMMI Physics*, 4, 2017.
- [10] Shalinee Kavadiya και Pratim Biswas. *Design of Cerenkov radiation-assisted photoactivation of TiO₂ nanoparticles and reactive oxygen species generation for cancer treatment*. *J. Nucl. Med.*, 60(5):702–709, 2019.
- [11] Nalinikanth Kotagiri, Gail P Sudlow, Walter J Akers και Samuel Achilefu. *Breaking the depth dependency of phototherapy with Cerenkov radiation and low-radiance-responsive nanophotosensitizers*. *Nat. Nanotechnol.*, 10(4):370–379, 2015.

- [12] Prashant K Jain, Kyeong Seok Lee, Ivan H El-Sayed και Mostafa A El-Sayed. *Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine*. *J. Phys. Chem. B*, 110(14):7238–7248, 2006.
- [13] Patrizia Agostinis, Kristian Berg, Keith A Cengel, Thomas H Foster, Albert W Girotti, Sandra O Gollnick, Stephen M Hahn, Michael R Hamblin, Asta Juzeniene, David Kessel, Mladen Korbelik, Johan Moan, Pawel Mroz, Dominika Nowis, Jacques Piette, Brian C Wilson και Jakub Golab. *Photodynamic therapy of cancer: an update*. *CA Cancer J. Clin.*, 61(4):250–281, 2011.
- [14] Ian Macdonald και Thomas Dougherty. *Basic principles of photodynamic theory*. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 5:105 – 129, 2001.
- [15] Ancelmo Ferreira Santos, Daria Raquel Queiroz de Almeida, Leticia Ferreira Terra, Mauricio S. Baptista και Leticia Labriola. *Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review*. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*, 5:25, 2019.
- [16] Katarina Svanberg, Niels Bendsoe, Johan Axelsson, Stefan Andersson-Engels και Sune Svanberg. *Photodynamic therapy: superficial and interstitial illumination*. *J. Biomed. Opt.*, 15(4):041502, 2010.
- [17] Muhammad Suleman Ph.D, Samia Riaz και Rashid Jalil. *A mathematical modeling approach toward magnetic fluid hyperthermia of cancer and unfolding heating mechanism*. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 146, 2020.
- [18] José Francisco Algorri, Mario Ochoa, Pablo Roldán-Varona, Luís Rodríguez-Cobo και José Miguel López-Higuera. *Photodynamic therapy: A compendium of latest reviews*. *Cancers (Basel)*, 13(17):4447, 2021.
- [19] *What is cancer?* . <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Ημερομηνία πρόσβασης: 28-11-22.
- [20] *Cancer Genome Project*. <https://www.sanger.ac.uk/group/cancer-genome-project/>. Ημερομηνία πρόσβασης: 28-11-22.
- [21] *Cell Division and Cancer*. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/cell-division-and-cancer-14046590/>.
- [22] *Cancer surgery: Physically removing cancer*. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/cancer/in-depth/cancer-surgery/art-20044171>.
- [23] *Overview-Chemotherapy*. <https://www.nhs.uk/conditions/chemotherapy/>.
- [24] *Overview-Radiotherapy*. <https://www.nhs.uk/conditions/radiotherapy/>.
- [25] *Radiation Therapy*. <https://cancerquest.org/patients/treatments/radiation-therapy>.
- [26] Shreerang Bhide και C.M. Nutting. *Recent advances in radiotherapy*. *BMC medicine*, 8:25, 2010.

- [27] Rik Roelandts. *The history of phototherapy: Something new under the sun?* *J. Am. Acad. Dermatol.*, 46(6):926-930, 2002.
- [28] Katarzyna Zechenter. *From “Poland’s Genius” to the World as “a living, single entity”:* *World, Literature, and Writer’s Duty in Lectures of Polish Laureates of the Nobel Prize in Literature (1905-2019)*. *Pol. Rev.*, 66(2):128-145, 2021.
- [29] David Kessel. *Photodynamic Therapy: A Brief History*. *Journal of Clinical Medicine*, 8(10), 2019.
- [30] Zejie Tian, Hui Li, Zhenhua Liu, Lingyan Yang, Chaoyang Zhang, Jun He, Wenbin Ai και Yunmei Liu. *Enhanced photodynamic therapy by improved light energy capture efficiency of porphyrin photosensitizers*. *Curr. Treat. Options Oncol.*, 24(9):1274-1292, 2023.
- [31] K Plaetzer, B Krammer, J Berlanda, F Berr και T Kiesslich. *Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects*. *Lasers Med. Sci.*, 24(2):259-268, 2009.
- [32] Vijitha Periyasamy και Manojit Pramanik. *Advances in Monte Carlo simulation for light propagation in tissue*. *IEEE Rev. Biomed. Eng.*, 10:122-135, 2017.
- [33] Task Council, Georgios Kareliotis και Mersini Makropoulou. *AAPM Report 88 (2005) - Photodynamic Therapy Dosimetry - Greek Translation*, 2019.
- [34] Ana P Castano, Tatiana N Demidova και Michael R Hamblin. *Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization*. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 1(4):279-293, 2004.
- [35] Brian C Wilson και Michael S Patterson. *The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy*. *Phys. Med. Biol.*, 53(9):P61-109, 2008.
- [36] Καρελιώτης, Γεώργιος του Σπυριδών. *Ανάπτυξη μεθόδων / τεχνικών για τη δοσομετρία στη στοχευμένη φωτοδυναμική θεραπεία*. <https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/49560>.
- [37] Barbara Muz, Pilarde la Puente, Feda Azab και Abdel Kareem Azab. *The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy*. *Hypoxia (Auckl.)*, 3:83-92, 2015.
- [38] T J Dougherty, C J Gomer, B W Henderson, G Jori, D Kessel, M Korbelik, J Moan και Q Peng. *Photodynamic therapy*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 90(12):889-905, 1998.
- [39] Esther Buytaert, Michael Dewaele και Patrizia Agostinis. *Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1776(1):86-107, 2007.
- [40] T J Dougherty, C J Gomer, B W Henderson, G Jori, D Kessel, M Korbelik, J Moan και Q Peng. *Photodynamic therapy*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 90(12):889-905, 1998.

- [41] David Kessel και John J. Reiners Jr. *Apoptosis and Autophagy After Mitochondrial or Endoplasmic Reticulum Photodamage*[†]. *Photochemistry and Photobiology*, 83(5):1024–1028, 2007.
- [42] C A Robertson, D Hawkins Evans και H Abrahamse. *Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT*. *J. Photochem. Photobiol. B*, 96(1):1–8, 2009.
- [43] Patrizia Agostinis, Kristian Berg, Keith A Cengel, Thomas H Foster, Albert W Girotti, Sandra O Gollnick, Stephen M Hahn, Michael R Hamblin, Asta Juzeniene, David Kessel, Mladen Korbelik, Johan Moan, Pawel Mroz, Dominika Nowis, Jacques Piette, Brian C Wilson και Jakub Golab. *Photodynamic therapy of cancer: an update*. *CA Cancer J. Clin.*, 61(4):250–281, 2011.
- [44] Macrene Alexiades-Armenakas. *Laser-mediated photodynamic therapy*. *Clin. Dermatol.*, 24(1):16–25, 2006.
- [45] Michele M. Kim και Arash Darafsheh. *Light Sources and Dosimetry Techniques for Photodynamic Therapy*. *Photochemistry and Photobiology*, 96(2):280–294, 2020.
- [46] Thomas S Mang. *Dosimetric concepts for PDT*. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 5(3):217–223, 2008.
- [47] Ilaria Postiglione, Angela Chiaviello και Giuseppe Palumbo. *Enhancing photodynamic therapy efficacy by combination therapy: dated, current and oncoming strategies*. *Cancers (Basel)*, 3(2):2597–2629, 2011.
- [48] Angel L Ortega, Salvador Mena και Jose M Estrela. *Glutathione in cancer cell death*. *Cancers (Basel)*, 3(1):1285–1310, 2011.
- [49] Stanley G Kimani, James B Phillips, James I Bruce, Alexander J MacRobert και Jon P Golding. *Antioxidant inhibitors potentiate the cytotoxicity of photodynamic therapy*. *Photochem. Photobiol.*, 88(1):175–187, 2012.
- [50] Marian Valko, Mario Izakovic, Milan Mazur, Christopher J Rhodes και Joshua Telser. *Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence*. *Mol. Cell. Biochem.*, 266(1/2):37–56, 2004.
- [51] *Reactive Oxygen Species, Cancer and Anti-Cancer Therapies*. *Current Chemical Biology*, 3(1), 2009.
- [52] M Valko, C J Rhodes, J Moncol, M Izakovic και M Mazur. *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. *Chem. Biol. Interact.*, 160(1):1–40, 2006.
- [53] Helmut Sies. *Oxidative stress: From basic research to clinical application*. *The American Journal of Medicine*, 91(3, Συμπληρωματ 3):Σ31–Σ38, 1991. Οξειδαντς Ανθ Αντιοξειδαντς: Παθολογιοησιοιοιογιο Δετερμιοιαντς ανθ Τηραπειυτς Αγευντς.

- [54] Barry Halliwell. *Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant Physiol.*, 141(2):312–322, 2006.
- [55] Marian Valko, Dieter Leibfritz, Jan Moncol, Mark T D Cronin, Milan Mazur και Joshua Telser. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39(1):44–84, 2007.
- [56] Edyta Paszko, Carsten Ehrhardt, Mathias O Senge, Dermot P Kelleher και John V Reynolds. *Nanodrug applications in photodynamic therapy. Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 8(1):14–29, 2011.
- [57] Dev Kumar Chatterjee, Li Shan Fong και Yong Zhang. *Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm. Adv. Drug Deliv. Rev.*, 60(15):1627–1637, 2008.
- [58] *nanotechnology*. <https://chembam.com/definitions/nanotechnology/>. Ημερομηνία πρόσβασης: 28-11-22.
- [59] Yu Cheng, Anna C Samia, Joseph D Meyers, Irene Panagopoulos, Baowei Fei και Clemens Burda. *Highly efficient drug delivery with gold nanoparticle vectors for in vivo photodynamic therapy of cancer. J. Am. Chem. Soc.*, 130(32):10643–10647, 2008.
- [60] Lev Dykman και Nikolai Khlebtsov. *Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. Chem. Soc. Rev.*, 41:2256–2282, 2012.
- [61] YU Yu, S. S CHANG, C. L LEE και C. R Wang. *ChemInform Abstract: Gold Nanorods: Electrochemical Synthesis and Optical Properties. Cheminform*, 28, 2010.
- [62] Ellen E Connor, Judith Mwamuka, Anand Gole, Catherine J Murphy και Michael D Wyatt. *Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. Small*, 1(3):325–327, 2005.
- [63] Dorleta Aberasturi, Ana Serrano και Luis Liz-Marzán. *Modern Applications of Plasmonic Nanoparticles: From Energy to Health. Advanced Optical Materials*, 3:602–617, 2015.
- [64] Johan Duque, Juan Blandón Luengas και Henry Riascos. *Localized Plasmon resonance in metal nanoparticles using Mie theory. Journal of Physics: Conference Series*, 850:012017, 2017.
- [65] Ovidio Peña-Rodríguez, Umapada Pal, L. Rodríguez-Fernández και Alejandro Crespo Sosa. *Linear optical response of metallic nanoshells in different dielectric media. Journal of the Optical Society of America B*, 25:1371–1379, 2008.
- [66] Richard D. Averitt, Sarah L. Westcott και Naomi J. Halas. *Linear optical properties of gold nanoshells. J. Opt. Soc. Am. B*, 16(10):1824–1832, 1999.
- [67] Nikolaos M Dimitriou, Athanasia Pavlopoulou, Ioanna Tremi, Vassilis Kouloulas, Georgios Tsigaridas και Alexandros G Georgakilas. *Prediction of gold nanoparticle and microwave-induced hyperthermia effects on tumor control via a simulation approach. Nanomaterials (Basel)*, 9(2), 2019.

- [68] Zijian Zhou, Jibin Song, Liming Nie και Xiaoyuan Chen. *Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy*. *Chem. Soc. Rev.*, 45(23):6597–6626, 2016.
- [69] Adam K Glaser, Rongxiao Zhang, David J Gladstone και Brian W Pogue. *Optical dosimetry of radiotherapy beams using Cherenkov radiation: the relationship between light emission and dose*. *Physics in Medicine Biology*, 59(14):3789, 2014.
- [70] Antonello E. Spinelli και Federico Boschi. *Photodynamic Therapy Using Cherenkov and Radioluminescence Light*. *Frontiers in Physics*, 9, 2021.
- [71] George M. Hale και Marvin R. Querry. *Optical Constants of Water in the 200-nm to 200- μ m Wavelength Region*. *Appl. Opt.*, 12(3):555–563, 1973.
- [72] P. B. Johnson και R. W. Christy. *Optical Constants of the Noble Metals*. *Phys. Rev. B*, 6:4370–4379, 1972.
- [73] Qiang Wang, Chunbin Li, Yuchen Song, Qiankun Shi, Heng Li, Hua Zhong, Jianguo Wang και Fang Hu. *Acene enlargement for absorption red-shifting and photosensitization enhancement of photosensitizers with aggregation-induced emission*. *Chem. Sci.*, 14:684–690, 2023.
- [74] Barbara Muz, Pilarde la Puente, Feda Azab και Abdel Kareem Azab. *The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy*. *Hypoxia (Auckl.)*, 3:83–92, 2015.
- [75] Marie France Penet, Samata Kakkad, Flonné Wildes και Zaver M Bhujwala. *Water and collagen content are high in pancreatic cancer: Implications for quantitative metabolic imaging*. *Front. Oncol.*, 10:599204, 2020.
- [76] Teresa Lana-Villarreal, Roberto Gómez, Manuel González Hidalgo και P. Salvador. *A Kinetic Model for Distinguishing between Direct and Indirect Interfacial Hole Transfer in the Heterogeneous Photooxidation of Dissolved Organics on TiO₂ Nanoparticle Suspensions*. *Journal of Physical Chemistry B - J PHYS CHEM B*, 108, 2004.
- [77] Heinz Gerischer και Adam Heller. *The role of oxygen in photooxidation of organic molecules on semiconductor particles*. *The Journal of Physical Chemistry*, 95(13):5261–5267, 1991.
- [78] Edwin C Pratt, Travis M Shaffer, Qize Zhang, Charles Michael Drain και Jan Grimm. *Nanoparticles as multimodal photon transducers of ionizing radiation*. *Nat. Nanotechnol.*, 13(5):418–426, 2018.
- [79] Gang Niu και Xiaoyuan Chen. *When radionuclides meet nanoparticles*. *Nature nanotechnology*, 13, 2018.