

BIOMEDICAL PHOTONICS

Том 6, № 4, 2017

В HOMEP::

- Intraoperative photodynamic therapy in gastric cancer patients
- The development of neuroscaffold for the glioblastoma therapy
- Фотодинамическая терапия базальноклеточного рака кожи головы и шеи с дополнительным внутритканевым лазерным облучением
- Фотодинамическая инактивация патогенных бактерий в биопленках с использованием новых синтетических производных бактериохлорина
- Инактивация метициллинрезистентного *Staphylococcus aureus* излучением диапазона 400-470 нм

BMP

ДИСТРИБЬЮЦИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА
ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СТРАН СНГ



- + «ФОТОДИТАЗИН»[™]
- + «ФОТОСЕНС»[™]
- + «АЛАСЕНС»[™]
- + «ЛЕВУЛОН»[™]

Лицензия № ЛО-54-02-001917 от 22 декабря 2015 г. на осуществление фармацевтической деятельности.



ЗАО «Компания Витамакс»

Россия, 630001, г. Новосибирск, ул. Калинина, 57
Для писем: 630001, г. Новосибирск, а/я 310
Тел/факс: 8 (383)225-24-06, 225-53-14

BIOMEDICAL PHOTONICS

BIOMEDICAL PHOTONICS –

научно-практический, рецензируемый,
мультидисциплинарный журнал.
Выходит 4 раза в год.
Тираж – 1000 экз., ежеквартально.

Входит в Перечень ведущих рецензируемых
научных журналов ВАК РФ.
Индексируется в международной
реферативной базе данных Scopus.

Издательство «Агентство МОРЕ».
Москва, Хохловский пер., д. 9

Редакция:

Зав. редакцией	Иванова-Радкевич В.И.
Научный редактор	проф. Мамонтов А.С.
Литературный редактор	Моисеева Р.Н.
Переводчики	Урлова А.Н. Романишкин И.Д.
Компьютерный дизайн	Кренева Е.И.
Компьютерная верстка	Ганеева И.Я.

Адрес редакции:

Россия, Москва, 2-й Боткинский пр., д. 3
Тел. 8 (495) 945-86-60
www: PDT-journal.com
E-mail: PDT-journal@mail.ru

Адрес для корреспонденции:

125284, Москва, а/я 13

Свидетельство о регистрации ПИ

№ ФС 77-51995, выдано 29.11.2012 г.

Федеральной службой по надзору в сфере
связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Индекс по каталогу агентства

«Роспечать» – 70249

Редакция не несет ответственности за
содержание рекламных материалов.

В статьях представлена точка зрения авторов,
которая может не совпадать с мнением
редакции журнала.

К публикации принимаются только статьи,
подготовленные в соответствии с правилами
для авторов, размещенными на сайте журнала.

Полное или частичное воспроизведение
материалов, опубликованных в журнале,
допускается только с письменного разрешения
редакции.

УЧРЕДИТЕЛИ:

Национальная Фотодинамическая Ассоциация
Московский научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Филоненко Е.В., доктор медицинских наук, профессор, руководитель
Центра лазерной и фотодинамической диагностики и терапии опухолей
Московского научно-исследовательского онкологического института
им. П.А. Герцена (Москва, Россия)

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Грин М.А., доктор химических наук, профессор, заведующий
кафедрой химии и технологии биологически активных соединений
им. Н.А. Преображенского Московского технологического университета
(Москва, Россия)

Лощенов В.Б., доктор физико-математических наук, профессор,
заведующий лабораторией лазерной биоспектроскопии в Центре
естественно-научных исследований Института общей физики
им. А.М. Прохорова РАН (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Каплан М.А., доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела
фотодинамической диагностики и терапии Медицинского радиологического
научного центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия)

Каприн А.Д., академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,
генеральный директор Национального медицинского исследовательского
радиологического центра Минздрава России (Москва, Россия)

Лукьянец Е.А., доктор химических наук, профессор, заведующий
лабораторией Государственного научного центра «Научно-
исследовательский институт органических полупродуктов и красителей»,
(Москва, Россия)

Миронов А.Ф., доктор химических наук, профессор кафедры химии
и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского
Московского технологического университета (Москва, Россия)

Пономарев Г.В., доктор химических наук, профессор, главный научный
сотрудник Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН
(Москва, Россия)

Романко Ю.С., доктор медицинских наук, профессор, руководитель
научно-организационного отдела Медицинского радиологического научного
центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия)

Странадко Е.Ф., доктор медицинских наук, профессор, руководитель
отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии
Государственного научного центра лазерной медицины Минздрава
России (Москва, Россия)

Якубовская Р.И., доктор биологических наук, профессор, руководитель
отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии
Московского научно-исследовательского онкологического института
им. П.А. Герцена (Москва, Россия)

Blondel V., профессор Университета Лотарингии, руководитель отделения
Здравоохранение-Биология-Сигналы (SBS), (Нанси, Франция)

Bolotine L., профессор научно-исследовательского центра автоматизации
и управления Нанси (Нанси, Франция)

Douplik A., профессор Университета Райерсона (Торонто, Канада)

Steiner R., профессор, почетный директор Института лазерных технологий
в медицине и измерительной технике Университета Ульма (Ульм, Германия)

BIOMEDICAL PHOTONICS

FOUNDERS:

National Photodynamic Association
P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute

EDITOR-IN-CHIEF:

Filonenko E.V., Dr. Sci. (Med.), professor, head of the Centre of laser and photodynamic diagnosis and therapy of tumors in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR:

Grin M.A., Dr. Sci. (Chem.), professor, chief of department of Chemistry and technology of biological active substances named after Preobragenskiy N.A. in Moscow Technological University (Moscow, Russia)

Loschenov V.B., Dr. Sci. (Phys and Math), professor, chief of laboratory of laser biospectroscopy in the Natural Sciences Center of General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD:

Kaplan M.A., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of photodynamic diagnosis and therapy in A.F. Tsyb «Medical Radiological Research Center» (Obninsk, Russia)

Kaprin A.D., Academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), professor, general director of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Lukyanets E.A., Dr. Sci. (Chem.), professor, chief of laboratory in State Research Center «Research Institute of Organic Intermediates and Dyes» (Moscow, Russia)

Mironov A.F., Dr. Sci. (Chem.), professor of department of Chemistry and technology of biological active substances named after Preobragenskiy N.A. in Moscow Technological University (Moscow, Russia)

Ponomarev G.V., Dr. Sci. (Chem.), professor, principal researcher in the V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry (IBMC) of RAS (Moscow, Russia)

Romanko Yu.S., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of scientific organizational in A.F. Tsyb «Medical Radiological Research Center» (Obninsk, Russia)

Stranadko E.F., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of laser oncology and vascular therapy in State research centre of laser medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Yakubovskaya R.I., Dr. Sci. (Biol.), professor, chief of department of modifiers and protectors for cancer therapy in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute (Moscow, Russia)

Blondel V., PhD, professor at University of Lorraine, joint-Head of the Health-Biology-Signal Department (SBS) (Nancy, France)

Bolotina L., PhD, professor of Research Center for Automatic Control of Nancy (Nancy, France)

Douplik A., PhD, professor in Ryerson University (Toronto, Canada)

Steiner R., PhD, professor, the honorary director of Institute of Laser Technologies in Medicine and Metrology at Ulm University (Ulm, Germany)

BIOMEDICAL PHOTONICS –

research and practice, peer-reviewed, multidisciplinary journal.

The journal is issued 4 times per year.

The circulation – 1000 copies., on a quarterly basis.

The journal is included into the List of peer-reviewed science press of the State Commission for Academic Degrees and Titles of Russian Federation

The journal is indexed in the international abstract and citation database – Scopus.

The publisher «Agentstvo MORE».
Moscow, Khokhlovskiy lane., 9

Editorial staff:

Chief of the editorial staff	Ivanova-Radkevich V.I.
Science editor professor	Mamontov A.S.
Literary editor	Moiseeva R.N.
Translators	Urlova A.N. Romanishkin I.D.
Computer design	Kreneva E.I.
Desktop publishing	Ganeeva I.Ya.

The Address of Editorial Office:

Russia, Moscow, 2nd Botkinskiy proezd, 3
Tel. 8 (495) 945-86-60
www: PDT-journal.com
E-mail: PDT-journal@mail.ru

Corresponding to:

125284, Moscow, p/o box 13

Registration certificate ПИ № ФС 77-51995, issued on 29.11.2012 by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media of Russia

The subscription index

of «Rospechat» agency – 70249

The editorial staff is not responsible for the content of promotional material. Articles represent the authors' point of view, which may be not consistent with view of the journal's editorial board. Editorial Board admits for publication only the articles prepared in strict accordance with guidelines for authors. Whole or partial presentation of the material published in the Journal is acceptable only with written permission of the Editorial board.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**Intraoperative photodynamic therapy
in gastric cancer patients**

Filonenko E.V., Kaprin A.D.,
Suleymanov E.A., Urlova A.N.,
Khomyakov V.M., Vashakmadze L.A.,
Sokolov V.V., Kirillov N.V.

4

**The development of neuroscaffold
for the glioblastoma therapy**

Maklygina Yu.S., Sharova A.S., Borodkin A.V.,
Yusubalieva G.M., Ryabova A.V., Pominova D.V.,
Lukyanets E.A., Goryainov S.A., Potapov A.A.,
Chekhonin V.P., Shcherbakov I.A., Loshchenov V.B. 13

**Фотодинамическая терапия базальноклеточного
рака кожи головы и шеи с дополнительным
внутриканальным лазерным облучением**

В.Н. Капинус, М.А. Каплан,
Е.В. Ярославцева-Исаева, И.С. Спиченкова 20

**Фотодинамическая инактивация патогенных бактерий
в биопленках с использованием новых синтетических
производных бактериохлорина**

И.Г. Тиганова, Е.А. Макарова, Г.А. Меерович,
Н.В. Алексеева, Э.Р. Толордава, Ю.С. Жижимова,
Е.А. Лукьянец, Ю.М. Романова 27

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

**Инактивация метициллинрезистентного *Staphylococcus aureus*
излучением диапазона 400-470 нм**

О.В. Кузьмин, Н.И. Фасхутдинова 37

ЮБИЛЕЙ

**Профессору Евгению Филипповичу
Странадко – 80 лет**

44

**Профессору Николаю Николаевичу
Петрищеву – 80 лет**

45

ПРЕСС-РЕЛИЗ

Пресс-релиз VI всероссийской конференции
с международным участием «Фотодинамическая
терапия и фотодиагностика» 46

ORIGINAL ARTICLES

**Intraoperative photodynamic therapy
in gastric cancer patients**

Filonenko E.V., Kaprin A.D.,
Suleymanov E.A., Urlova A.N.,
Khomyakov V.M., Vashakmadze L.A.,
Sokolov V.V., Kirillov N.V.

4

**The development of neuroscaffold
for the glioblastoma therapy**

Maklygina Yu.S., Sharova A.S., Borodkin A.V.,
Yusubalieva G.M., Ryabova A.V., Pominova D.V.,
Lukyanets E.A., Goryainov S.A., Potapov A.A.,
Chekhonin V.P., Shcherbakov I.A., Loshchenov V.B. 13

**Photodynamic therapy for head and neck basal
cell skin cancer with additional interstitial
Laser irradiation**

Kapinus V.N., Kaplan M.A.,
Yaroslavl'tseva-Isayeva E.V., Spichenkova I.S. 20

**Photodynamic inactivation of pathogenic bacteria
in biofilms using new synthetic bacteriochlorin
derivatives**

Tiganova I.G., Makarova E.A., Meerovich G.A.,
Alekseeva N.V., Tolordava E.R., Zhizhimova Yu.S.,
Lukyanets E.A., Romanova Yu.M. 27

REVIEWS OF LITERATURE

**400-470 nm radiation inactivation
of methicillin-resistant *staphylococcus aureus***

Kuzmin O.V., Faskhutdinova N.I. 37

ANNIVERSARIES

**Professor Eugeny Philippovich Stranandko
turned 80 years old**

44

**Professor Nikolai Nikolaevich Petrishchev
turned 80 years old**

45

PRESS RELEASE

Press release of the VI All-Russian Conference
with international participation «Photodynamic
therapy and photodiagnosis» 46

INTRAOPERATIVE PHOTODYNAMIC THERAPY IN GASTRIC CANCER PATIENTS

Filonenko E.V., Kaprin A.D., Suleymanov E.A., Urlova A.N., Khomyakov V.M.,
Vashakmadze L.A., Sokolov V.V., Kirillov N.V.

National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Results of intraoperative photodynamic therapy (IOPDT) in patients with gastric cancer are represented in the article. The study included 240 patients with gastric cancer stage II-IV (T3-4N0-3M0-1) with evident or suspected peritoneal dissemination who underwent examination and treatment in P. Herzen Moscow Oncology Research Institute. The group 1, the study group, included 140 patients who underwent nominally curative or palliative surgery for locally advanced and disseminated gastric cancer with IOPDT as additional intraoperative intervention for antitumor and cancer treatment. The group 2, the control group, included 100 patients who also underwent nominally curative or palliative surgery (equal to extent of surgery in patients from the study group) for locally advanced and disseminated gastric cancer and no intraoperative implication of physical or chemical treatment methods. IOPDT did not worsen a course of early post-operative period, did not impact on severity of post-operative complications and was not associated with increase of post-operative mortality. IOPDT allowed for improvement of 1-year and 3-year disease-specific survival rates: by 16.1% and 16.7%, respectively. For nominally curative resections, median survival, 1-year and 3-year disease-specific survival rates were improved by 14 months, 17.8% and 31.3%, respectively. For R1, R2 resections, IOPDT improved 1-year disease-specific survival rates by 16.4%. Additionally, for nominally curative resections IOPDT did not increase the recurrence rate and improved median recurrence-free survival, 1-year and 3-year recurrence-free survival rates by 16 months, 27.2% and 25.4%, respectively.

Key words: gastric cancer, peritoneal carcinomatosis, intraoperative photodynamic therapy.

For citations: Filonenko E.V., Kaprin A.D., Suleymanov E.A., Urlova A.N., Khomyakov V.M., Vashakmadze L.A., Sokolov V.V., Kirillov N.V. Intraoperative photodynamic therapy in gastric cancer patients, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 4, pp. 4-12.

Contacts: Filonenko E.V., e-mail: derkul23@yandex.ru

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Е.В. Филоненко, А.Д. Каприн, Е.А. Сулейманов, А.Н. Урлова, В.М. Хомяков,
Л.А. Вашкамадзе, В.В. Соколов, Н.В. Кириллов

Национальный медицинский исследовательский радиологический центр
Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

В статье представлены результаты применения интраоперационной фотодинамической терапии (ИОФДТ) у больных раком желудка. В исследование включены 240 пациентов раком желудка II-IV стадии (T3-4N0-3M0-1) с наличием или подозрением на перитонеальную диссеминацию, которым в МНИОИ им. П.А. Герцена были проведены обследование и лечение. В первую, основную группу включено 140 больных, которым выполнены условно-радикальные или паллиативные операции по поводу местно-распространенного и диссеминированного рака желудка с применением в качестве метода дополнительного интраоперационного воздействия с целью интраоперационной антибластической и противоопухолевого воздействия – ИОФДТ. Вторую, контрольную группу составили 100 больных, которым были выполнены также условно-радикальные и паллиативные операции (по объему соответствующие хирургическим вмешательствам у больных основной группы) по поводу местно-распространенного и диссеминированного рака желудка без интраоперационного применения физических или химических методов воздействия. ИОФДТ не ухудшила течение раннего послеоперационного периода, не влияла на тяжесть послеоперационных осложнений и не ассоциирована с увеличением послеоперационной летальности. Проведение ИОФДТ позволило улучшить показатели 1-летней и 3-летней общей специфической выживаемости: на 16,1% и 16,7%, соответственно. При условно-радикальных операциях – медиану выживаемости на 14 мес, показатели 1-летней и 3-летней общей специфической выживаемости – на 17,8% и 31,3%, соответственно. При операциях в объеме R1, R2 проведение ИОФДТ улучшило 1-летнюю общую специфическую выживаемость на 16,4%. Кроме того, при условно-радикальных операциях проведение ИОФДТ не увеличило частоту рецидивов и улучшило

медиану безрецидивной выживаемости на 16 мес, показатели 1-летней и 3-летней безрецидивной выживаемости – на 27,2% и 25,4%, соответственно.

Ключевые слова: рак желудка, канцероматоз брюшины, интраоперационная фотодинамическая терапия.

Для цитирования: Filonenko E.V., Kaprin A.D., Suleymanov E.A., Urlova A.N., Khomyakov V.M., Vashakmadze L.A., Sokolov V.V., Kirillov N.V. Intraoperative photodynamic therapy in gastric cancer patients // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 4-12.

Контакты: Филоненко Е.В., e-mail: derkul23@yandex.ru

Introduction

Gastric cancer is one of the most common cancer digestive tract. In 2015 in Russia in structure of oncological diseases this pathological condition occupied 6th place (6.7%) after cancer of skin, breast and lung [1]. For gastric cancer peritoneal carcinomatosis is the most common type of metastasis [2,3,4] with incidence of 30–40% and median survival no more than 3.1 months without treatment [5].

The main method of treatment of resectable gastric cancer stage I–IV is curative surgery aimed at removal of primary tumor and all loco-regional metastases [6–9]. However, even for macroscopically complete cytoreduction the possibility of tumor cells diffusion over peritoneum cannot be excluded [10]; consequently surgical methods should be combined with additional antitumor methods. Considering disadvantages of systemic chemotherapy combined with cytoreductive resections for peritoneal carcinomatosis, there is necessity for development of new antitumor methods aimed at not only prevention of tumor cells from spreading over peritoneum but also at destruction of tumor cells. One of the promising directions is photodynamic therapy (PDT).

Results of IOPDT in patients with gastric cancer are represented in the article.

Materials and methods

The study included 240 patients with gastric cancer stage II–IV (T3–4N0–3M0–1) with evident or suspected peritoneal dissemination who underwent examination and treatment in P. Herzen Moscow Oncology Research Institute from 2005 to 2012. In all patients gastric tumor invaded to serosa and infiltrated adjacent organs and structures with no distant hematogenous and extraperitoneal lymphogenous metastases.

The group 1, the study group, included 140 patients who underwent nominally curative or palliative surgery for locally advanced and disseminated gastric cancer with IOPDT as additional intraoperative intervention for antitumor and cancer treatment. The group 2, the control group, included 100 patients who also underwent nominally curative or palliative surgery (equal to extent of surgery in patients from the study group) for locally advanced and disseminated gastric cancer and no intraoperative implication of physical or chemical treatment methods.

The study group included 83 (59.3%) men and 57 (40.7%) women, the control group – 61 (61%) men and 39 (39%) women. There were no differences in the gender

distribution between groups (F-test, $\chi^2=0.07$; $p=0.79$).

The age of patients accounted from 20 to 73 y.o. The minimal age in the study group and in the control group was 20 and 27 y.o., respectively; the maximal age – 72 and 73 y.o., respectively. The average age in the study group was 54.4 ± 11.1 y.o., in the control group – 57.1 ± 11.2 y.o. More than a half of patients (133 patients (55.5%)) were in socially active age group of 20–59 y.o. There were no differences by age between groups (t-test, $p=0.95$).

According to full examination data, 180 (75%) of 240 patients had different co-morbidity: 111 (79.3%) patients in the study group and 69 (69%) patients in the control group. There were no differences in the co-morbidity rate and structure between groups (F-test, $\chi^2=3.29$; $p=0.07$).

The clinical diagnosis according to international TNM staging system (6th ed.) was assigned in all patients after standard examination. For the study group, stage II (T3N0M0) was in 17 (12.1%) patients, stage IIIA (T3N1M0, T4N0M0) – in 21 (15%), stage IIIB (T3N2M0) – in 18 (12.9%) and stage IV (T3N0–3M0–1; T4N1–3M0–1) – in 84 (60%). For the control group, stage II (T3N0M0) was in 13 (13%) patients, stage IIIA (T3N1M0, T4N0M0) – in 18 (18%), stage IIIB (T3N2M0) – in 15 (15%) and stage IV (T3N0–3M0–1; T4N1–3M0–1) – in 54 (54%). In the study and control groups the majority of patients had gastric cancer stage IV – 60% и 54%, respectively. There was no difference in stage distribution between groups (F-test, for stage II – $p=0.49$; for stage IIIA – $p=0.32$; for stage IIIB – $p=0.39$; for stage IV – $p=0.21$).

According to full examination data in the study and control groups, involvement of one portion of stomach was diagnosed in 32 (22.9%) and 28 (28%) patients, subtotal involvement – in 77 (55%) and in 63 (63%), total involvement – in 31 (22.1%) and in 19 (19%), respectively. There was no difference in tumor location in stomach between groups (F-test, for lower third involvement (antral portion) – $p=0.25$, middle third (body of stomach) – $p=0.31$, upper third (cardiac portion) – $p=0.39$, for subtotal involvement – $p=0.43$, for total involvement – $p=0.34$).

According to histological data in the study group, well differentiated adenocarcinoma was diagnosed in 2 (1.4%) patients, moderately differentiated adenocarcinoma – in 12 (8.6%), poorly differentiated adenocarcinoma – in 31 (22.1%), signet-ring cell carcinoma – in 40 (28.6%), combination of signet-ring cell carcinoma with adenocarcinoma – in 55 (39.3%). For the control group, well differen-

tiated adenocarcinoma was diagnosed in 2 (2%) patients, moderately differentiated adenocarcinoma – in 14 (14%), poorly differentiated adenocarcinoma – in 20 (20%), signet-ring cell carcinoma – in 22 (22%), combination of signet-ring cell carcinoma with adenocarcinoma – in 42 (42%). Thus, the study and control groups had predominately a combination of signet-ring cell carcinoma with adenocarcinoma (39.3% and 42%, respectively). There was no difference in morphological diagnosis between groups (F-test; well differentiated adenocarcinoma – $p=0.55$; moderately differentiated adenocarcinoma – $p=0.13$; poorly differentiated adenocarcinoma – $p=0.41$; signet-ring cell carcinoma – $p=0.16$; combination of signet-ring cell carcinoma with adenocarcinoma – $p=0.39$).

Intraoperative photodynamic therapy technique

For PDT we used photosensitizer fotogem (produced by "Fotogem", Russia), a hematoporphyrin derivative. Fotogem was administered intravenously at a dose of 2.5 mg/kg body weight 48 h before surgery. Patients kept light regimen for 3-4 weeks after injection.

Surgical step was performed according to tumor distribution. If applicable, complete removal of primary tumor and all peritoneal metastases was done, where definitive treatment was impossible, palliative surgery with removal of primary tumor and maximal volume of peritoneal dissemination was carried out.

For both scenarios, IOPDT session was performed after completion of surgical step with sequential positional irradiation of all regions of parietal peritoneum at a dose of 6-10 J/cm² (Fig. 1). Exposure of visceral peritoneum was carried out by scattering irradiation and irradiation from a source of incoherent emission – operating lamp – for the duration of surgical procedure.

Results

Efficacy of IOPDT in patients with gastric cancer was analyzed by comparing results of treatment in the study and control groups. For this purpose completeness of cytoreduction, rate and profile of post-operative complications, mortality in early post-operative period and long-term results were assessed.

Characteristics of the surgical step

All patients had extended and combined surgery. The duration of surgical step accounted from 3 to 6.5 h.

The curative potential of gastric surgery was characterized using Japanese Classification of Gastric Carcinoma, JGCA (1998) [11]. According to this classification 3 types of resections are defined: A, B and C. Resection A implies curative surgery and appropriate for primary tumor T1 or T2 and for stage M0 (H0 – no liver metastases, P0 – no dissemination); N0 treated by D1, D2, D3 lymphadenectomy; N1 – D2, D3 lymphadenectomy; this type of resection is characterized by Cyt 0 – no tumor cells in peritoneal

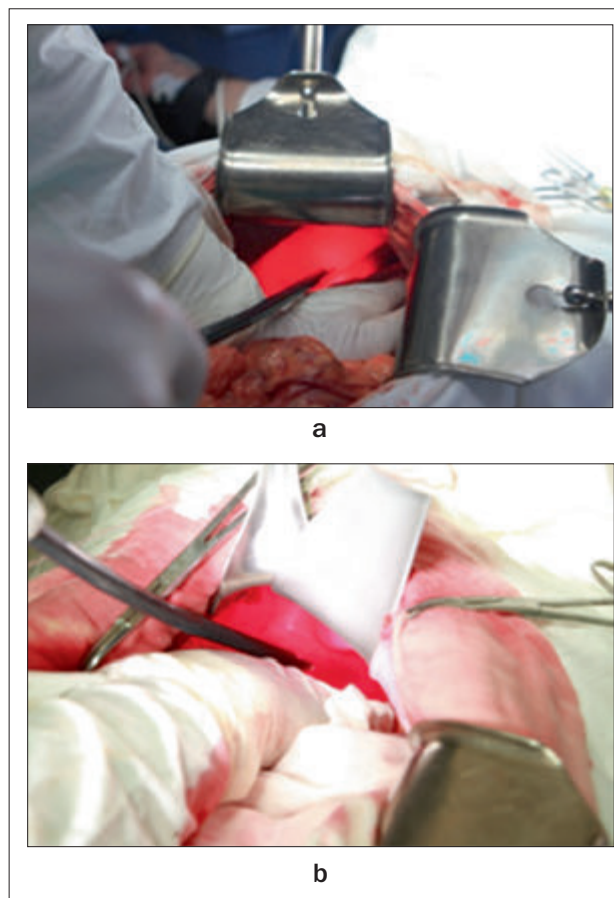


Fig. 1. IOPDT session:
a – irradiation of upper region peritoneum;
b – irradiation of pelvic peritoneum

Рис. 1. Сеанс ИОФДТ:
а – облучение брюшины верхних отделов брюшной полости;
б – облучение брюшины малого таза

lavage, and also by proximal and distal margins clearance more than 10 mm. Resection B implies resections with no residual disease (R0) but not fulfilling criteria for "Resection A". This type of resection was defined as nominally curative surgery. For resection C, there is micro (R1) or macro (R2) residual tumor, this type is equivalent to palliative surgery. If unresectable tumor is detected during the surgery and surgery is terminated on this step this surgical intervention is defined as exploratory surgery. There were no resections A and no exploratory surgeries in our study. Distribution of patients according to curative potential of gastric surgery is represented in table 1.

For the study group, 78 (55.7%) patients underwent nominally curative resections (R0), 62 (44.3%) patients had palliative surgery (R1 – in 17 (12.2%), R2 – in 45 (32.1%) patients). For the control group, 58 (58%) patients underwent nominally curative resections (R0), 42 (42%) patients had palliative surgery (R1 – in 7 (7 %), R2 – in 35 (35%) patients).

Thus, in the study and control groups rates of resections R0 and R1, R2 were approximately equal (rates of

Table 1

Distribution of patients according to curative potential of gastric surgery

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от радикальности выполненной операции

Group of patients Группа больных	Type of resection Тип операции			Total, abs. (%) Итого, абс. (%)
	B	C		
	R0	R1	R2	
Study group, abs. (%) Основная, абс. (%)	78 (55.7%)	17 (12.2%)	45 (32.1%)	140 (100%)
Control group, abs. (%) Контрольная, абс. (%)	58 (58%)	7 (7%)	35 (35%)	100 (100%)
Total, abs. (%) Всего, абс. (%)	136 (56.7%)	24 (10%)	80 (33.3%)	240 (100%)

resection R0 accounted for 55.7% and 58%, resection R1, R2 – 44.3% and 42%, respectively). There was no difference in curative potential of gastric surgery between groups (F-test, for R0 $p=0.41$; for R1 $p=0.14$; for R2 $p=0.37$).

Distribution of patients according to the extent of surgery is represented in table 2. Distal subtotal gastric resection was performed in 17 (12.2%) patients from the study group and in 12 (12%) patients from the control group, gastrectomy – in 37 (26.4%) and 27 (27%), combined resections – in 86 (61.4%) and 61 (61%), respectively.

In the study and control groups the majority of surgical procedures were combined resections (61.4% and 61%, respectively) due to extent of tumor. Gastrectomy was combined with resection of transverse colon, pancreas, liver, diaphragm, spleen. D2, D3 lymphadenectomy was performed. There was no difference in extent of surgery between groups (F-test, for distal subtotal gastric resection – $p=0.57$; for gastrectomy – $p=0.52$; for combined resection – $p=0.53$).

Early post-operative period

To compare the study group with the control group for course of post-operative period we used follow-

ing criteria: rate of acute post-operative complications, profile of acute post-operative complications, grade of acute post-operative complications, necessity for surgical treatment of complications and mortality. Chosen criteria allow assessing feasibility of IOPDT with no risk of worsening of early results of treatment.

Acute post-operative complications were in 32 (22.9%) of 140 patients in the study group and in 26 (26%) of 100 patients in the control group. Statistical analysis of rates of post-operative complications in the study and control groups with F-test showed no differences ($p=0.32$).

Patients in the study group had following acute post-operative complications: necrotizing pancreatitis – 19 (13.6%), esophago-intestinal anastomotic leakage – 4 (2.9%), colon anastomotic leakage – 1 (0.7%), acute intestinal obstruction – 4 (2.9%), postoperative wound infection – 3 (2.1%), pleuritis – 9 (6.4%), pneumonia – 5 (3.6%), pulmonary thromboembolism – 2 (1.4%). For the control group necrotizing pancreatitis was in 14 (14%) patients, esophago-intestinal anastomotic leakage – 1 (1%), acute intestinal obstruction – 2 (2%), postoperative wound infection – 2 (2%), pleuritis – 5 (5%), pneumonia – 3 (3%), pulmonary thromboembolism – 2 (2%), acute myocardial

Table 2

Distribution of patients according to the extent of surgery

Таблица 2

Распределение больных в зависимости от объема операции

Group of patients Группа больных	Type of operative procedure			Total, abs. (%) Итого, абс. (%)
	Distal subtotal gastric resection Дистальная субтотальная резекция желудка	Gastrectomy Гастрэктомия	Combined resection Комбинированная гастрэктомия	
Study group, abs. (%) Основная, абс. (%)	17 (12.2%)	37 (26.4%)	86 (61.4%)	140 (100%)
Control group, abs. (%) Контрольная, абс. (%)	12 (12%)	27 (27%)	61 (61%)	100 (100%)
Total, abs. (%) Всего, абс. (%)	29 (12.1%)	64 (26.7%)	147 (61.3%)	240 (100%)

infarction – 1 (1%), intra-abdominal hemorrhage – 1 (1%).

Thus, patients in the study and control groups most commonly had necrotizing pancreatitis and inflammation in lungs and pleura (13.8% and 9.1%, respectively) (table 3). Such profile of post-operative complications is due to the fact, that the majority of surgical procedures in the study and control groups were combined resections (61.4% and 61%, respectively). Additionally, pleuritis and pneumonia was associated with other types of complications (necrotizing pancreatitis, esophago-intestinal anastomotic leakage etc.) in the study and control groups.

In the profile of acute post-operative complications there was no colon anastomotic leakage in the control group ($p=0.58$) comparing with the study group, but there were acute myocardial infarction ($p=0.42$) and intra-abdominal hemorrhage ($p=0.42$). Statistic analysis using F-test showed no significant differences in the profile of acute post-operative complications. The p-values for necrotizing pancreatitis, anastomotic leakage, acute intestinal

obstruction, inflammation in lungs and pleura, thrombosis, wound infection when compared control group vs. IOPDT were 0.53, 0.21, 0.51, 0.39, 0.46, 0.65, respectively.

Surgical treatment for early post-operative complications was performed in 9 (28.1%) of 32 patients of the study group and in 8 (30.8%) of 26 patients of the control group. Statistic analysis of rates of surgeries for early post-operative complications using F-test showed no significant differences between the study and control groups ($p=0.52$).

There were 3 (2.1%) deaths in the study group and 3 (3%) patients died in the control group. Causes of death were pulmonary thromboembolism and necrotizing pancreatitis. Statistic analysis of mortality using F-test showed no significant differences between the study and control groups ($p=0.32$).

Long-term results

To evaluate efficiency of IOPDT long-term results in the study and control group were analyzed. For disease-

Table 3

Profile of acute post-operative complications

Таблица 3

Структура ранних послеоперационных осложнений

Type of complication Вид осложнений	Study group, abs. (% of total number of patients in the group) Основная группа, абс. (% от общего количества пациентов в группе)	Control group, abs. (% of total number of patients in the group) Контрольная группа, абс. (% от общего количества пациентов в группе)	Total, abs. (% of total number of patients) Итого, абс. (% от общего количества пациентов)
Necrotizing pancreatitis Панкреонекроз	19 (13.6%)	14 (14%)	33 (13.8%)
Esophago-intestinal anastomotic leakage Несостоятельность пищеводно-кишечного анастомоза	4 (2.9%)	1 (1%)	5 (2.1%)
Colon anastomotic leakage Несостоятельность толстокишечного анастомоза	1 (0.7%)	0	1 (0.4%)
Acute intestinal obstruction Острая кишечная непроходимость	4 (2.9%)	2 (2%)	6 (2.5%)
Postoperative wound infection Нагноение послеоперационной раны	3 (2.1%)	2 (2%)	5 (2.1%)
Pleuritis Плеврит	9 (6.4%)	5 (5%)	14 (5.8%)
Pneumonia Пневмония	5 (3.6%)	3 (3%)	8 (3.3%)
Pulmonary thromboembolism Тромбоэмболия легочной артерии	2 (1.4%)	2 (2%)	4 (1.7%)
Acute myocardial infarction Острый инфаркт миокарда	0	1 (1%)	1 (0.4%)
Intra-abdominal hemorrhage Внутрибрюшное кровотечение	0	1 (1%)	1 (0.4%)
Total number of patients with complications, abs. (% of total number of patients in the group) Всего пациентов с осложнениями, абс. (% от общего количества пациентов в группе)	32 (22.9%)	26 (26%)	58 (24.2%)

specific survival the end-point was a death of a patient from cancer disease. For recurrence-free survival the end-point was a recurrence or progression of cancer in patients who underwent nominally curative surgery. Patients who died in early post-operative period from complications (n=6) were excluded from the analysis. Long-term results were obtained in 97.5% of patients.

For the study group, maximal follow-up period was

72 months with median survival of 20 months. One-year disease-specific survival accounted for $70.6 \pm 3.9\%$, 3-year – $39.6 \pm 4.3\%$. For the control group, maximal follow-up period was 58 months with median survival of 13 months. One-year disease-specific survival accounted for $54.5 \pm 5.1\%$, 3-year – $22.9 \pm 4.4\%$. Statistic analysis using Log-Rang Test showed no significant difference between groups but data tended toward significance ($p=0.07$) (Fig. 2).

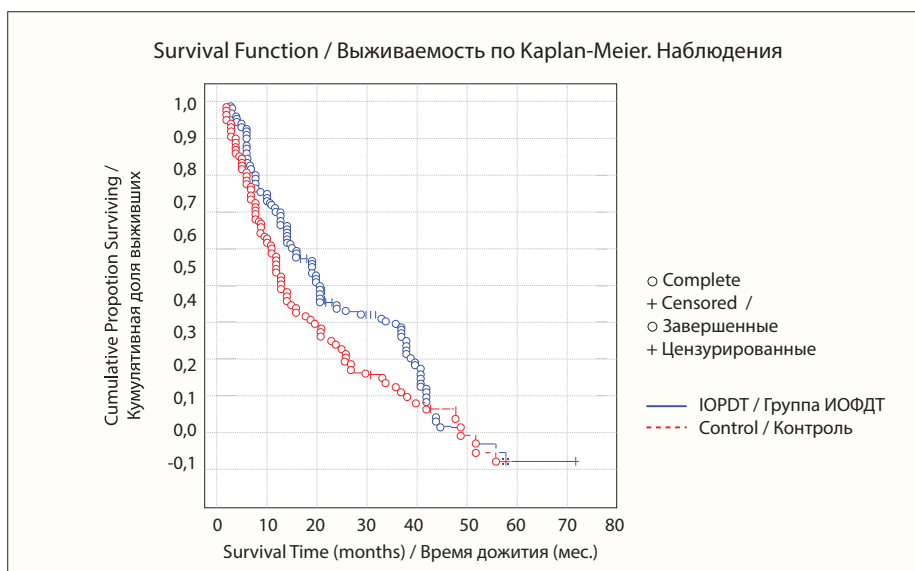


Fig. 2. Disease-specific survival in the study and control groups

Рис. 2. Общая специфическая выживаемость в основной и контрольной группах

For the study group, in patients with nominally curative resections maximal follow-up period was 72 months with median survival of 41 months. One-year disease-specific survival accounted for $96.1 \pm 2.2\%$, 3-year – $71.4 \pm 5.5\%$. For the control group, maximal fol-

low-up period was 58 months with median survival of 27 months. One-year disease-specific survival accounted for $78.3 \pm 5.5\%$, 3-year – $40.1 \pm 6.8\%$. Statistic analysis using Log-Rang Test showed significant difference between groups ($p=0.05$) (Fig. 3).

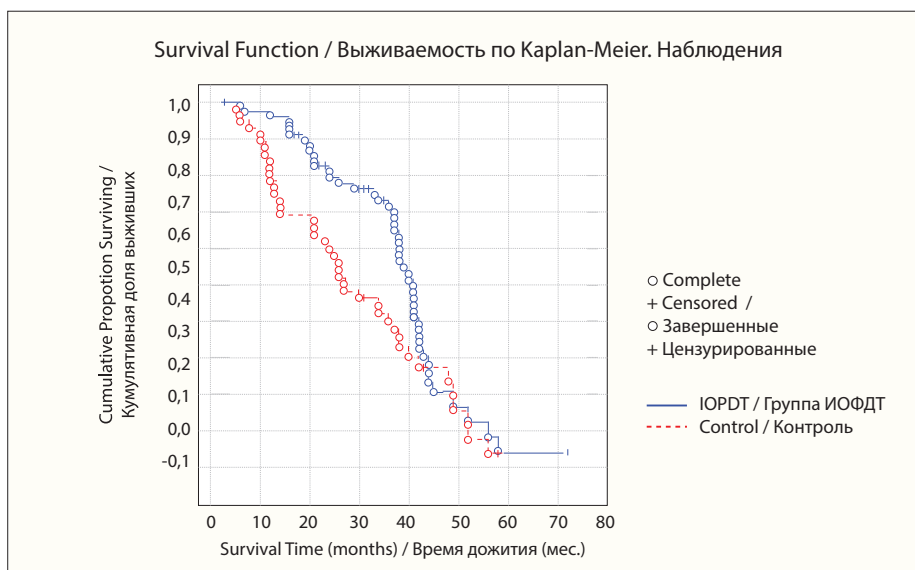


Fig. 3. Disease-specific survival in the study and control groups in patients with nominally curative resections

Рис. 3. Общая специфическая выживаемость в основной и контрольной группах при условно-радикальных операциях

For the study group, in patients with R1, R2 resections maximal follow-up period was 21 months with median survival of 8 months. One-year disease-specific survival accounted for $38.3 \pm 6.3\%$. For the control group, maximal

follow-up period was 20 months with median survival of 7 months. One-year disease-specific survival accounted for $21.9 \pm 6.4\%$. Statistic analysis using Log-Rang Test showed significant difference between groups ($p=0.04$) (Fig. 4).

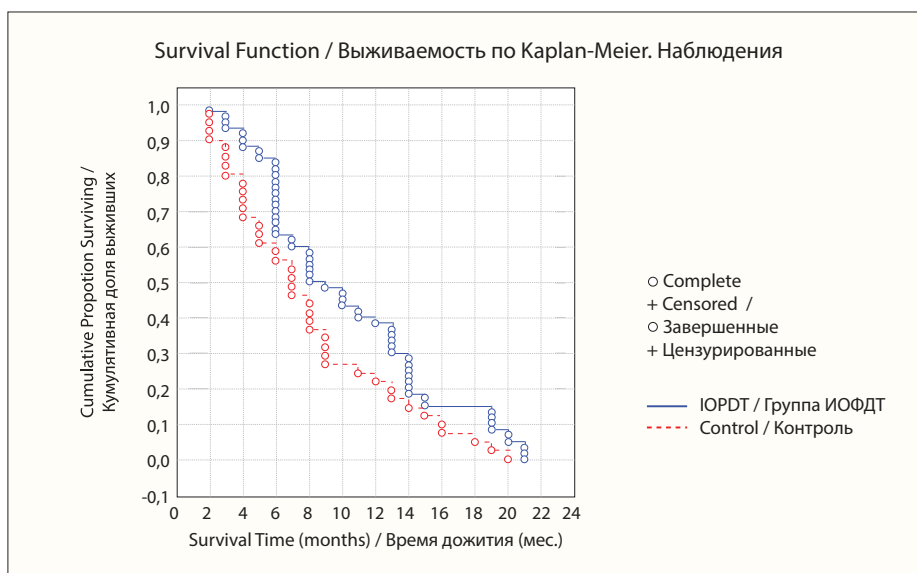


Fig. 4. Disease-specific survival in the study and control groups in patients with R1, R2 resections
Рис. 4. Общая специфическая выживаемость в основной и контрольной группах при операциях R1 и R2

For the study group, in patients with nominally curative resections the recurrence diagnosed in 52 (66.7%) of 78 patients, in the control group – in 43 (74.1%) of 58. Statistic analysis using Log-Rang Test showed no significant difference between groups (F-test, $p = 0.23$).

For the study group, in patients with nominally curative resections maximal follow-up recurrence-free period accounted for 72 months with median recurrence-free

survival of 37 months. One-year recurrence-free survival accounted for $89.4 \pm 3.5\%$, 3-year – $51.9 \pm 6.1\%$. For the control group, maximal follow-up recurrence-free period accounted for 58 months with median recurrence-free survival of 21 months. One-year recurrence-free survival accounted for $62.2 \pm 6.5\%$, 3-year – $26.5 \pm 6.2\%$. Statistic analysis using Log-Rang Test showed significant difference between groups ($p=0.03$) (Fig. 5).

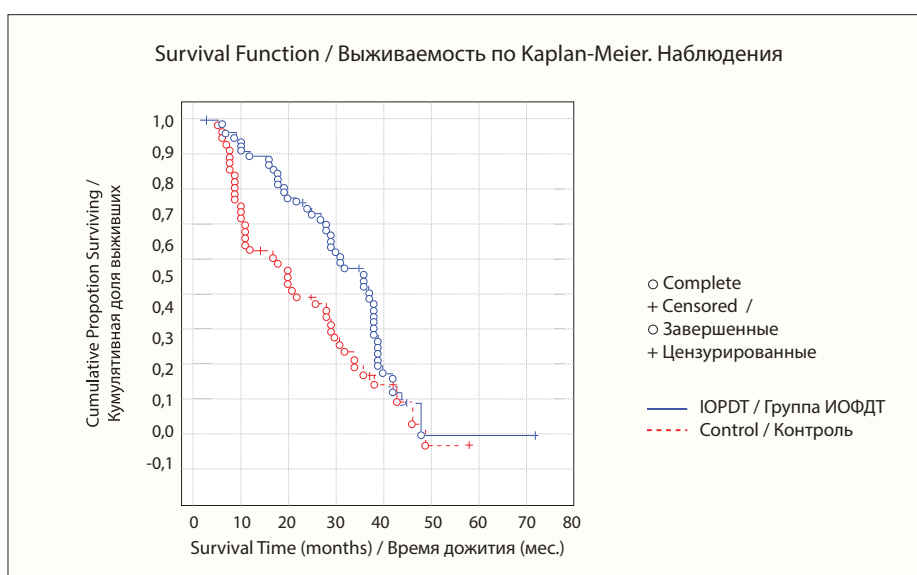


Fig. 5. Recurrence-free survival in the study and control groups in patients with nominally curative resections
Рис. 5. Безрецидивная выживаемость в основной и контрольной группах при условно-радикальных операциях

Discussion

Historically methods of additional antitumor methods developed from irrigation with solutions and instillation of radioactive substances to implication of photosensitizing agents for photodynamic destruction of tumor implants and also to implication chemotherapeutical agents injected to peritoneum at doses exceeding standard ones for systemic treatment [12]. Toxicity of intra-peritoneal chemotherapy may be high and efficiency of disease control depends considerably on histological structure of the tumor [13,14]. Despite the active development of intraperitoneal chemotherapy treatment results in patients with gastric cancer with peritoneal carcinomatosis remain unsatisfactory: post-operative complications are up to 40%, post-operative mortality – 20%, median survival rates – 6–15.4 months, 1-year survival rates by Kaplan–Meier – up to 50.7% [15–17].

In our study, IOPDT did not worsen a course of early post-operative period, did not impact on severity of post-operative complications and was not associated with increase of post-operative mortality when comparing the study and control groups ($p=0.32$). IOPDT

allowed for improvement of median survival, 1-year and 3-year disease-specific survival rates: by 7 months, 16.1% and 16.7%, respectively ($p=0.07$). For nominally curative resections, median survival, 1-year and 3-year disease-specific survival rates were improved by 14 months, 17.8% and 31.3%, respectively ($p = 0.05$). For R1, R2 resections, IOPDT improved median survival and 1-year disease-specific survival rates by 1 month and 16.4% ($p=0.04$), respectively. Additionally, for nominally curative resections IOPDT did not increase the recurrence rate ($p=0.23$) and improved median recurrence-free survival, 1-year and 3-year recurrence-free survival rates by 16 months, 27.2% and 25.4%, respectively ($p = 0.03$).

Conclusion

Intraoperative photodynamic therapy is an efficient and safe method of intraoperative intervention in patients with gastric cancer with high risk or confirmed peritoneal dissemination. Widespread implementation of the method into clinical practice will promote improvement of oncological treatment results in this group of patients.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (смертность и заболеваемость) // под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2017. – 250 с.
2. Филоненко Е.В., Вашакмадзе Л.А., Кириллов Н.В., Хомяков В.М. Интраоперационная фотодинамическая терапия в хирургическом лечении рака желудка (обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. – 2012. – № 2. – С. 84–89.
3. Sugarbaker P.H., Cunliffe W.J., Belliveau J., et al. Rationale for integrating early postoperative intraperitoneal chemotherapy into the surgical treatment of gastrointestinal cancer // *Semin Oncol.* – 1989. – Vol. 16 (4 Suppl 6). – P. 83–97.
4. Bando E., Yonemura Y., Takeshita Y., et al. Intraoperative lavage for cytological examination in 1,297 patients with gastric carcinoma // *Am J Surg.* – 1999. – Vol. 178(3). – P. 256–262.
5. Соломенный С.В., Минигазимов Р.С. Перитонеальный канцероматоз. Обзор мирового опыта // Креативная хирургия и онкология. – 2013. – № 4. – С. 115–119.
6. Гусейнов А.З., Истомин Д.А., Гусейнов Т.А. Объем оперативных вмешательств при раке желудка: современные тенденции // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2013. – № 1. – С. 165.
7. Загайнов А.С., Зубков Р.А., Дворниченко В.В. и др. Непосредственные результаты применения расширенной лимфодиссекции при распространенном раке желудка // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – Т. 131, № 8. – С. 64–67.
8. Тер-Ованесов М.Д., Левицкий А.В., Габоян А.С. и др. Рак проксимального отдела желудка: объем хирургического вмешательства как фактор прогноза // Альманах мировой науки. – 2015. – № 1-1 (1). – С. 68–70.

REFERENCES

1. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2015 (incidence and mortality)], by eds Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Moscow, MNI OI im. P.A. Gertsena Publ., 2017. 250 p.
2. Filonenko E.V., Vashakmadze L.A., Kirillov N.V., Khomyakov V.M. Intraoperative photodynamic therapy in surgical treatment of gastric cancer (literature review), *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*, 2012, No. 2, pp. 84–89. (in Russian)
3. Sugarbaker P.H., Cunliffe W.J., Belliveau J., de Bruijn E.A., Graves T., Mullins R.E., Schlag P. Rationale for integrating early postoperative intraperitoneal chemotherapy into the surgical treatment of gastrointestinal cancer, *Semin Oncol*, 1989, Vol. 16(4 Suppl 6), pp. 83–97.
4. Bando E., Yonemura Y., Takeshita Y., Taniguchi K., Yasui T., Yoshimitsu Y., Fushida S., Fujimura T., Nishimura G., Miwa K. Intraoperative lavage for cytological examination in 1,297 patients with gastric carcinoma, *Am J Surg*, 1999, Vol. 178(3), pp. 256–262.
5. Solomenny S.V., Minigazimov R.S. Peritoneal carcinomatosis. review of world experience, *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*, 2013, No. 4, pp. 115–119. (in Russian)
6. Guse'nov A.Z., Istomin D.A., Guseinov T.A. Volume of operative interventions at the gastric cancer: modern tendencies, *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. Elektronnoe izdanie*, 2013, No. 1, p. 165. (In Russian)
7. Zagaynov A.S., Zubkov R.A., Dvornichenko V.V., Golodnikov M.A., Gorbanyova O.A. The immediate benefits of extended lymph node dissection for advanced gastric cancer, *Sibirskii Medicinskii Zhurnal*. 2014, Vol. 131, No. 8, pp. 64–67. (in Russian)
8. Ter-Ovanesov M.D., Levickij A.V., Gaboyan A.S., Kukosh M.Yu., Lesnizheh E.H., Baksiyan G.A. Proximal third gastric carcinoma:

9. Чернявский А.А., Лавров Н.А., Стражнов А.В., Пенин С.В. Резекционные вмешательства на поджелудочной железе при операциях по поводу рака желудка // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2013. – № 3. – С. 4-13.
10. Bijelic L., Yan T.D., Sugarbaker P.H. Failure analysis of recurrent disease following complete cytoreduction and perioperative intraperitoneal chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer // *Ann. Surg. Oncol.* – 2007. – Vol. 14. – P. 2281-2288.
11. Japanese Gastric Cancer Association Gastric. Japanese Classification of Gastric Carcinoma - 2nd English Edition // *Cancer*. – 1998. – Vol. 1. – P. 10-24.
12. Rajeshkumar B.R., Paliwal S., Lambert L., et al. Treatment of peritoneal carcinomatosis with intraperitoneal administration of Ad-hARF // *J Surg Res.* – 2015. – Vol. 197(1). – P. 85-90.
13. Chua T.C., Moran B.J., Sugarbaker P.H., et al. Early- and longterm outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy // *J Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 2449-2456.
14. Glehen O., Kwiatkowski F., Sugarbaker P.H., et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study // *J Clin Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 3284-3292.
15. Nadiradze G., Giger-Pabst U., Zieren J., et al. Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) with low-dose cisplatin and doxorubicin in gastric peritoneal metastasis // *J. Gastrointest. Surg.* – 2016. – Vol. 20. – P. 367-373.
16. Тарасов В.А., Виноградова М.В., Ключиков В.З., Беляев А.М. Хирургическое лечение распространенных форм рака желудка // *Практ. онкол.* – 2001. – № 3(7). – С. 52-58.
17. Каприн А.Д., Соболев Д.Д., Хомяков В.М. и др. Результаты комбинированного лечения больных местно-распространенным и диссеминированным раком желудка с использованием гипертермической интраоперационной внутрибрюшной химиотерапии // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. – 2014. – Т. 2, № 6. – С. 5-12.
9. extent of surgical resection as prognostic factor, *Al'manah mirovoi nauki*, 2015, No. 1-1(1), pp. 68-70. (in Russian)
9. Chernyavskij A.A., Lavrov N.A., Strazhnov A.V., Penin S.V. Resections on pancreas during surgeries for gastric cancer, *Vestnik khirurgicheskoi gastroenterologii*, 2013, No. 3, pp. 4-13. (in Russian)
10. Bijelic L., Yan T.D., Sugarbaker P.H. Failure analysis of recurrent disease following complete cytoreduction and perioperative intraperitoneal chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer, *Ann. Surg. Oncol.*, 2007, Vol. 14, pp. 2281-2288.
11. Japanese Gastric Cancer Association Gastric. Japanese Classification of Gastric Carcinoma - 2nd English Edition, *Cancer*, 1998, Vol. 1, pp. 10-24.
12. Rajeshkumar B.R., Paliwal S., Lambert L., Grossman S.R., Whalen G.F. Treatment of peritoneal carcinomatosis with intraperitoneal administration of Ad-hARF, *J Surg Res*, 2015, Vol. 197(1), pp. 85-90.
13. Chua T.C., Moran B.J., Sugarbaker P.H., Levine E.A., Glehen O., Gilly F.N., Baratti D., Deraco M., Elias D., Sardi A., Liauw W., Yan T.D., Barrios P., Gómez Portilla A., de Hingh I.H., Ceelen W.P., Pelz J.O., Piso P., González-Moreno S., Van Der Speeten K., Morris D.L. Early- and longterm outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, *J Clin Oncol*, 2012, Vol. 30, pp. 2449-2456.
14. Glehen O., Kwiatkowski F., Sugarbaker P.H., Elias D., Levine E.A., De Simone M., Barone R., Yonemura Y., Cavaliere F., Quenet F., Gutman M., Tentes A.A., Lorimier G., Bernard J.L., Bereder J.M., Porcheron J., Gomez-Portilla A., Shen P., Deraco M., Rat P. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study, *J Clin Oncol*, 2004, Vol. 22, pp. 3284-3292.
15. Nadiradze G., Giger-Pabst U., Zieren J., Strumberg D., Solass W., Reymond M.A. Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) with low-dose cisplatin and doxorubicin in gastric peritoneal metastasis, *J. Gastrointest. Surg.*, 2016, Vol. 20, pp. 367-373.
16. Tarasov V.A., Vinogradova M.V., Klyuchikov V.Z., Belyaev A.M. Surgical treatment for advanced gastric cancer, *Prakticheskaya onkologiya*, 2001, Vol. 3(7), pp. 52-58. (In Russian)
17. Kaprin A.D., Sobolev D.D., Khomyakov V.M., Bolotina L.V., Ryabov A.B., Khoronenko V.E. Kolobaev I.V., Shemetova M.M., Kramskaya L.V., Ivanov A.V. Results of combined treatment using hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy in patients with locally advanced and disseminated gastric cancer, *Onkologiya. Zhurnal imeni P.A. Gertsena*, 2014, Vol. 2, No. 6, pp. 5-12. (in Russian)

THE DEVELOPMENT OF NEUROSCAFFOLD FOR THE GLIOBLASTOMA THERAPY

Maklygina Yu.S.¹, Sharova A.S.^{1,2}, Borodkin A.V.¹, Yusubalieva G.M.³, Ryabova A.V.^{1,2}, Pominova D.V.¹, Lukyanets E.A.⁴, Goryainov S.A.⁵, Potapov A.A.⁵, Chekhonin V.P.³, Shcherbakov I.A.¹, Loshchenov V.B.^{1,2}

¹General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, Russia

³V.P. Serbskij State Research Center of Forensic and Social Psychiatry, RUSA Ministry of Health, Moscow, Russia

⁴State Scientific Center Scientific Research Institute Organic Intermediates and Dyes, Moscow, Russia

⁵Burdenko Neurosurgery Institute, Moscow, Russia

Abstract

Current paper presents the results of the system development for intracranial implantation aimed on therapy and prevention of brain gliomas relapse. The main property of the system, in prospective, will be to direct the growth of glioma cells localized in the region adjacent to the site of the removed tumor along the fibers towards the proximal part of the fiber-optic scaffold (neuroport). Such approach will allow carrying out cells diagnostics by the photoluminescence signal and provide subsequent destruction of malignant cells by photodynamic action. Besides, this system could be used for monitoring the processes occurring in the probed area in order to control the possible relapses. The localization of cells along the fiber structures covered with gelatin compound, which is the source of amino acids during cultivation, was shown during the glioma cells growth dynamics study. Moreover, four different designs of intracranial scaffold models, serving as ports for diagnostic and therapeutic laser radiation delivery, were developed and successfully tested in the framework of the research. The results obtained on the rats brain with induced tumors (glioma C6) after neuroport implantation demonstrate sufficiently intense fluorescence in the tumor bed after intravenous injection of the nonmetallic sulfonated phthalocyanine based photosensitizer, and a pronounced photodynamic effect leading to total destruction of the tumor. In this way, the results of this study open the prospects of creating the neuroport with an internal fiber structure that focuses the glioma cells growth.

Key words: spectroscopy, fluorescent diagnostics, photodynamic therapy, fiber-optic scaffold, nonmetallic sulfonated phthalocyanine, neuro-photonics, glioblastoma.

For citations: Maklygina Yu.S., Sharova A.S., Borodkin A.V., Yusubalieva G.M., Ryabova A.V., Pominova D.V., Lukyanets E.A., Goryainov S.A., Potapov A.A., Chekhonin V.P., Shcherbakov I.A., Loshchenov V.B. The development of neuroscaffold for the glioblastoma therapy, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 4, pp. 13-19.

Contacts: Maklygina Yu.S., e-mail: us.samsonova@physics.msu.ru

РАЗРАБОТКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОПОРТА ДЛЯ ТЕРАПИИ ГЛИОМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ю.С. Маклыгина¹, А.С. Шарова², А.В. Бородин¹, Г.М. Юсубалиева³, А.В. Рябова^{1,2}, Д.В. Поминова¹, Е.А. Лукьянец⁴, С.А. Горайнов⁵, А.А. Потапов⁵, В.П. Чехонин³, И.А. Щербаков¹, В.Б. Лощенов^{1,2}

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

³Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии, Москва, Россия

⁴Государственный научный центр «НИОПИК», Москва, Россия

⁵Научно-исследовательский институт нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

Резюме

В работе представлены результаты разработки системы для внутричерепной имплантации с целью терапии и предотвращения рецидивирования глиом головного. Основное свойство системы в перспективе будет состоять в том, чтобы направить рост клеток

глиомы, локализованных в области, прилегающей к месту удаленной опухоли, вдоль волокон по направлению к проксимальной части волоконно-оптического имплантата (нейропорт) с целью их регистрации по сигналу фотолюминесценции и последующей их деструкции в результате фотодинамического воздействия. Такое устройство должно обеспечить мониторинг процессов, происходящих в зондируемой области с целью контроля процессов рецидивирования. В ходе данного исследования динамики роста клеток глиомы показана локализация клеток вдоль волоконных структур, покрытых желатином, который является источником аминокислот при культивировании. Также в ходе работы были разработаны и успешно апробированы четыре различных конструкции макетов внутричерепных имплантатов, выполняющие роль портов для доставки диагностического и терапевтического лазерного излучения. Получены на головном мозге крыс с индуцированными опухолями (глиома C6) после имплантации нейропорта, демонстрирующие достаточно интенсивную флуоресценцию в ложе опухоли при внутривенном введении фотосенсибилизатора на основе безметалльного сульфированного фталоцианина и выраженный фотодинамический эффект, приведший к тотальному разрушению опухоли. Полученные результаты открывают перспективы создания нейропорта с внутренней волоконной структурой, фокусирующей рост клеток глиомы.

Ключевые слова: спектроскопия, флуоресцентная диагностика, фотодинамическая терапия, безметалльный сульфированный фталоцианин, оптоволоконный имплантат, нейрофотоника, злокачественная глиома.

Для цитирования: Maklygina Yu.S., Sharova A.S., Borodkin A.V., Yusubalieva G.M., Ryabova A.V., Pominova D.V., Lukyanets E.A., Goryainov S.A., Potapov A.A., Chekhonin V.P., Shcherbakov I.A., Loshchenov V.B. The development of neuroscaffold for the glioblastoma therapy // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 13-19.

Контакты: Маклыгина Ю.С., e-mail: us.samsonova@physics.msu.ru

Introduction

Currently, the general treatment of patients with glial brain tumors is characterized by a comprehensive approach that includes surgical removal, radio- and chemotherapy [1, 2]. Other methods, such as immunocorrective therapy and specific antitumor immunotherapy, being developed in some clinics, are not considered the standard and are still at clinical trials stage [3-5]. Despite the improvement of the surgical intervention methods and the enhancement of technical equipment capacity of clinical units performing postoperative radio- and chemotherapy, the results of combined malignant gliomas treatment have not significantly improved. The median overall survival of patients with multiform glioblastoma is 14 months. A number of factors determines the high mortality rate, one of which is the deep invasiveness of the multiform glioblastoma. Due to the specific infiltrative growth of such neoplasms type, the key shortcoming of surgical intervention is the lack of total tumor removal feasibility. That circumstance is the major reason leading to disease recurrence. It is significant to note that at present there are scaffolds that are placed into the tumor bed after resection. This therapy approach is based on the prolonged action of chemotherapeutic drug, which is gradually released from the scaffold, affecting the tumor cells remaining after surgical intervention thereby preventing recurrence [6-7]. Such way of brain neoplasms therapy is considered the most effective among the currently existing ones, however, some glioma types are resistant to chemo- and radiotherapy, which does not allow this method to be universal. Malignant brain gliomas are known to invade and spread along the white matter channels and blood vessels [8-10]. Due to the characteristic features of infiltrative growth along nerve fibers and vessels, the definition of primary intracerebral tumors boundaries is a particularly difficult task [11-12]. The recent studies of American scientific groups

have shown that C6 glioma cells migrate massively along the polymer nanofibers coated with nutrient media. Furthermore, scientists achieved significant reduction of the tumor intracranial volume by implanting the fiber structures inside the cranium and the externally affecting with the chemo based on cyclophosphamide gel [8]. Based on this scientific observation, the creation of conditions for centripetal residual tumor cells proliferation tendency, not centrifugal (from the center to the periphery), appears to be perspective. Optical fibers, structurally imitating the white matter channels and blood vessels, are particularly relevant for such a system that sets the direction of tumor growth. Photodynamic therapy is the most appropriate and effective method for providing a destructive impact on pathological tissues due to the fiber-optic internal structure of the scaffold.

In this way, the major goal of this study is to create a system the main property of which is to provide the direct growth of glioma cells, localized in the region adjacent to the site of the removed tumor, along the fibers towards the proximal part of the fiber-optic scaffold (neuroport). Such configuration will allow malignant cells registration by the photoluminescence signal and their subsequent destruction as a result of photodynamic effect [10]. Thus, the neuroscaffold should be based on a biocompatible material framework with an internal fiber structure that focuses the glioma cells growth by branching from the proximal end to the distal one. Such a device will also provide monitoring of processes occurring in the probed area in order to control the relapse processes.

Materials and methods

Biological material

To conduct the study of cells localization under incubation conditions with optical fibers structures *in vitro*, a culture of rat brain tumor cells C6 was used. Cells were maintained by subculture method in RPMI medium.

Then, the cells were taken off the plastic culture flasks surface using trypsin. Tumor cells were incubated with optical fibers in the flat-bottomed culture panels during 5-7 days at 37°C until a monolayer was obtained.

For biointegration study of the developed scaffold framework, a series of experiments was conducted on mature Wistar rats models with 200-220 g mass at the beginning of the experiment, in which multiform Glioblastoma was modeled by stereotactic implantation of 5×10^5 cells of C6 glioma line into the striatum region [13]. Dynamic magnetic resonance imaging (MRI) of rats' brains was carried out weekly, starting from the 5th day after glioblastoma modeling, by tomograph ("BioSpec 70/30" Bruker, Germany) with 7 T permanent magnetic field. Ketamine anesthesia was injected into the femoral vein of rats at a dose of 100 mg/kg. The photosensitizer was then injected into the tail vein in a dose of 5 mg/kg of the experimental animal under the anesthesia.

The investigated photosensitizer

Phtalosens (Scientific Research Institute of Organic Intermediates and Dyes "NIOPIK") was used as a photosensitizer based on nonmetallic compound of sulfonated phthalocyanine, which is considered to be a good photocatalyst of oxidation processes, which is essential for effective fluorescence diagnostics and photodynamic therapy. The photosensitizer was injected into the experimental animals intravenously at 5 mg/kg dose.

Methods

The growth dynamics research of C6 glioma cells under incubation conditions with the optical fibers struc-

tures *in vitro* was carried out using confocal microscopy (LSM-710-NLO Carl Zeiss, Germany).

Experimental studies *in vivo*, devoted to monitoring and correction of conditions of laboratory animals with C6-induced glioma after intracranial implantation of the developed scaffolds of various design, were performed by fluorescence diagnostics method with the use of LESA-01-BIOSPEC spectrometer (Russia), which has proved its efficiency in clinical trials [14-15]. Moreover, tumor growth and intracranial scaffold behavior in contact with the tumor tissue were also visualized and monitored by Magnetic resonance imaging (MRI) method using "BioSpec 70/30" tomograph (Bruker, Germany). Fluorescent diagnostics with the nonmetallic sulfonated phthalocyanine derivative photosensitizer ($c=5\text{mg/kg}$) was carried out by laser radiation with 100 mW/cm² power density and $\lambda=632.8$ nm. Photodynamic therapy with the use of a nonmetallic sulfonated phthalocyanine derivative ($c=5$ mg/kg) was also carried out by $\lambda=675$ nm laser radiation in three 10-minute approaches with two-minute intervals for fluorescent diagnostics with a total dose of 200 J/cm².

Results and discussion

Results of *in vitro* studies

The growth processes of C6 malignant glioma cells and their localization on the optical fibers surface, which in the plans will constitute the internal structure of the brain scaffold, were visualized by laser scanning confocal microscopy method. *In vitro* studies showed that malignant glioma cells form agglomerates around the optical fibers, create bindings and localize directly along the fiber structures (Fig. 1). The obtained results

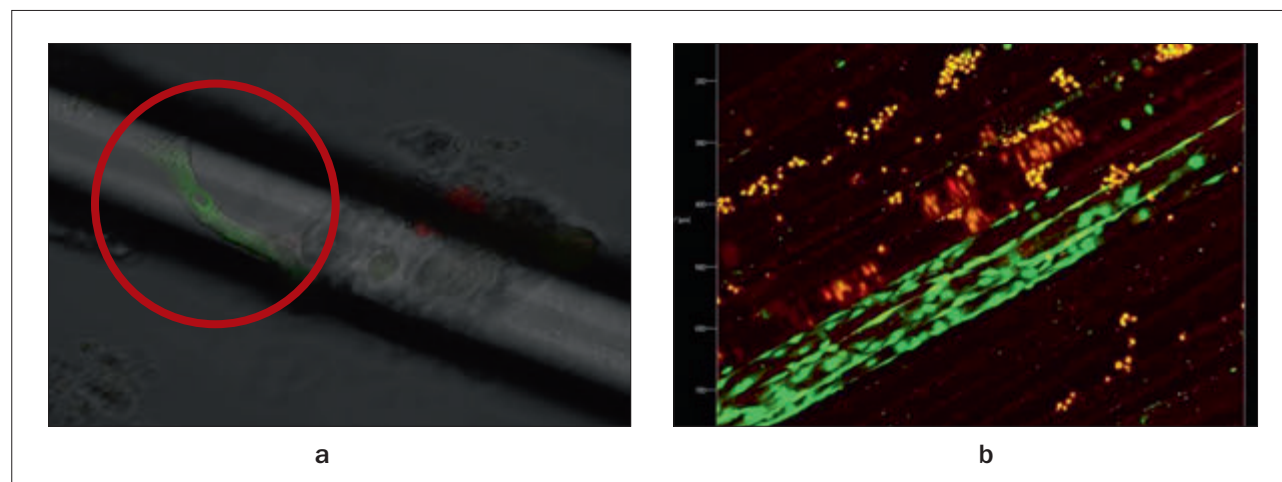


Fig. 1. 3D-reconstruction of fluorescent images showing the C6 glioma cell growth along the optical fiber:

a – single C6 glioma cell (highlighted area);

b – C6 glioma cell clusters, stained with acridine orange (AO) (Green – living cells) and propidium iodide (PI) (Red – dead cells)

Рис. 1. 3D-реконструкция флуоресцентных изображений роста вдоль оптического волокна:

a – единичная клетка глиомы C6 (выделенная область);

b – скопления клеток глиомы C6, окрашенных акридиновым оранжевым (АО) (зеленый цвет – изображение живых клеток) и пропидий-йодидом (ПИ) (красный цвет – изображение погибших клеток)

suggest that the approach of directed malignant glioma cells growth from the intracranial region into the depth of the developed scaffold with subsequent photodynamic impact leading to cell death can be realized *in vivo* conditions.

During the course of the study, the scaffold design was optimized to provide the most favorable conditions for carrying out fluorescence diagnostics and photodynamic therapy (Fig. 2, 3). Moreover, the biointegration process of scaffolds made of various promising biocom-

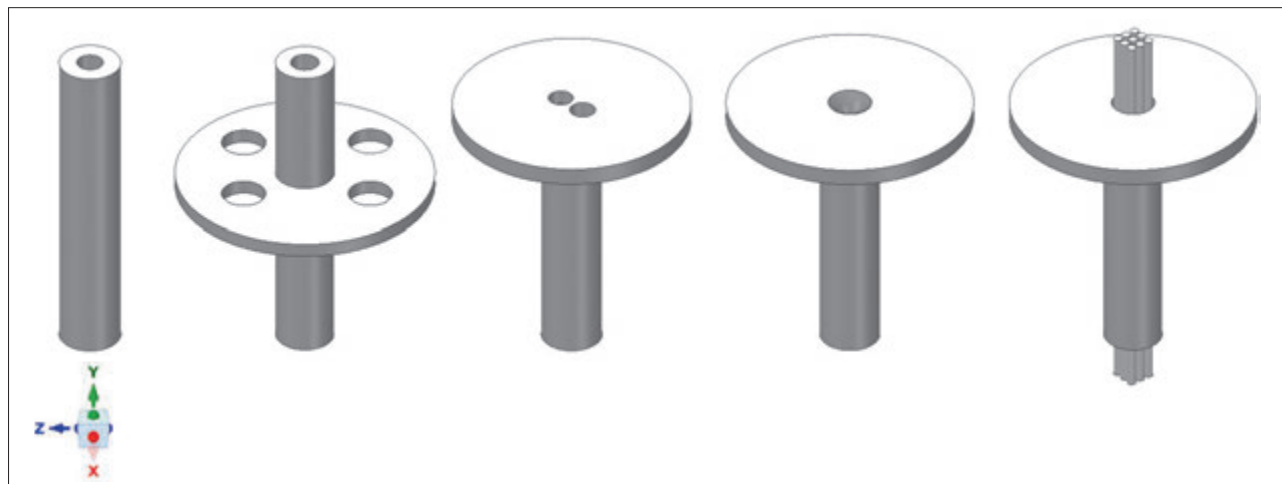


Fig. 2. Scheme of neuroscaffold design evolution

Рис. 2. Схематическое изображение эволюции конструкции нейропорта

Results of *in vivo* studies

During the study, different designs of scaffolds made of various materials were developed and tested on experimental animals. Scaffolds of various designs, hollowed and with internal fiber structure, were pre-designed and adapted to the scale of the fiber-optic probe (Fig. 2). Samples were installed inside the cranium of the experimental animals and served as ports for local delivery of diagnostic and therapeutic laser radiation (Fig. 3).

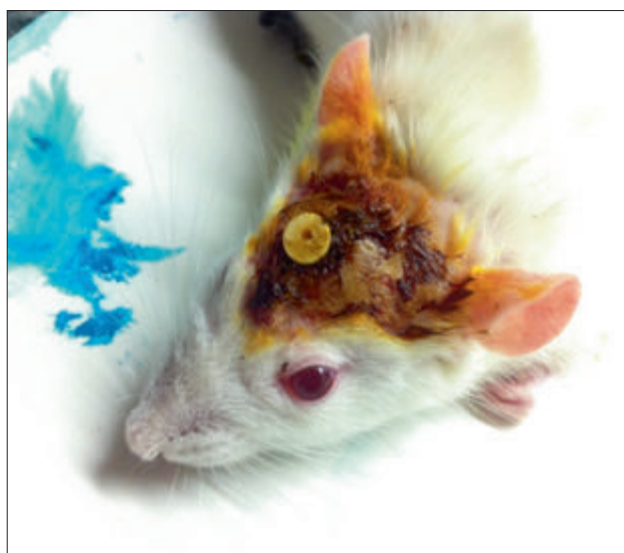


Fig. 3. Intracranial neuroscaffold device mount.

Рис. 3. Крепление нейропорта на черепной коробке экспериментального животного

patible materials (hydroxyapatite, sapphire and polymeric materials) was investigated (Fig. 4).

The process of scaffold biointegration was monitored by MRI method. The optimal properties and nature of material for neuroport manufacturing were identified by a series of experiments. According to MRI results, the absence of extensive abscesses and scaffold rejection was established only in case of polymer structures implantation (Fig. 4). However, this obstacle does not mean that hydroxyapatite- and sapphire- based scaffolds are not biocompatible, though the quality requirements and the cleaning degree of their surface should be higher. Successful approbation allowed determining the optimal properties and external size of the brain scaffolds for experimental animals: polymer PLA $d=3$ mm, $h=5$ mm. It is worth noting that designs based on biocompatible PLA material were produced using 3D printing that makes it easy to vary the scaffolds sizes.

Polymeric constructions with an internal fiber-optic structure of the scaffolds were fixed subcutaneously on the skull so that the scaffold frame and the end of the fiber-optic interior part were set into the tumor bed of the experimental animals (Fig. 4c). The scaffolds placed into the tumor bed acted as a port for the local diagnostic and therapeutic laser radiation delivery that allowed monitoring of the experimental animals condition after implantation. Control was carried out by fluorescent diagnostics based on the nonmetallic sulfated phthalocyanine photosensitizer at $\lambda_{ex}=632.8$ nm excitation (Fig. 5, 6), and by MRI (Fig. 7). It was shown that the internal

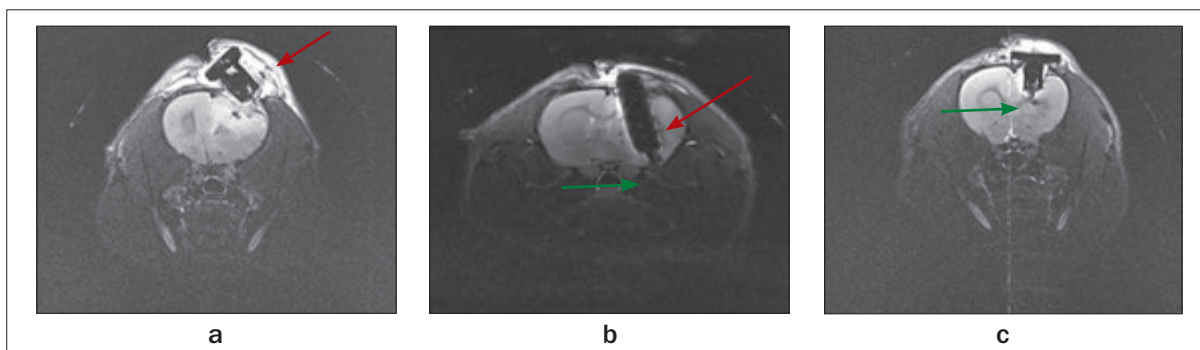


Fig. 4. MRI T2 mode scans of the rat's brain on the 5th day after neuroscaffold implantation; the devices are made of:
 a – hydroxyapatite;
 b – sapphire;
 c – polymer PLA

Red arrows mark areas of inflammation; green arrows mark areas of protruding fiber part

Рис. 4. МРТ-снимки головного мозга крысы в режиме T2 на 5-е сутки после имплантации конструкций с внутренней оптоволоконной частью и внешней частью, изготовленных из различных перспективных биосовместимых материалов:

- a – гидроксиапатит;
- b – сапфир;
- c – полимер PLA

Красными стрелками отмечены проблемные области в процессе биоинтеграции нейропорта. Зелеными стрелками выступающая часть внутренней волоконной структуры нейропорта

fiber structure allows tracing the cells growth into the deep of neuroport by spectral methods. However, the experiment complexity of MRI evaluation of C6 glioma cells migration into the depth of neuroport is associated with the need for the long-term monitoring that leads to extensive accompanying tumor growth outside the

scaffold. Nevertheless, the high sensitivity and efficiency of spectral methods for the early glioma cells detection in the immediate vicinity of the scaffold by fluorescent signal has been experimentally established. Hollowed polymeric structures were also tested in experimental animals. Hollowed scaffolds were fixed subcutaneously

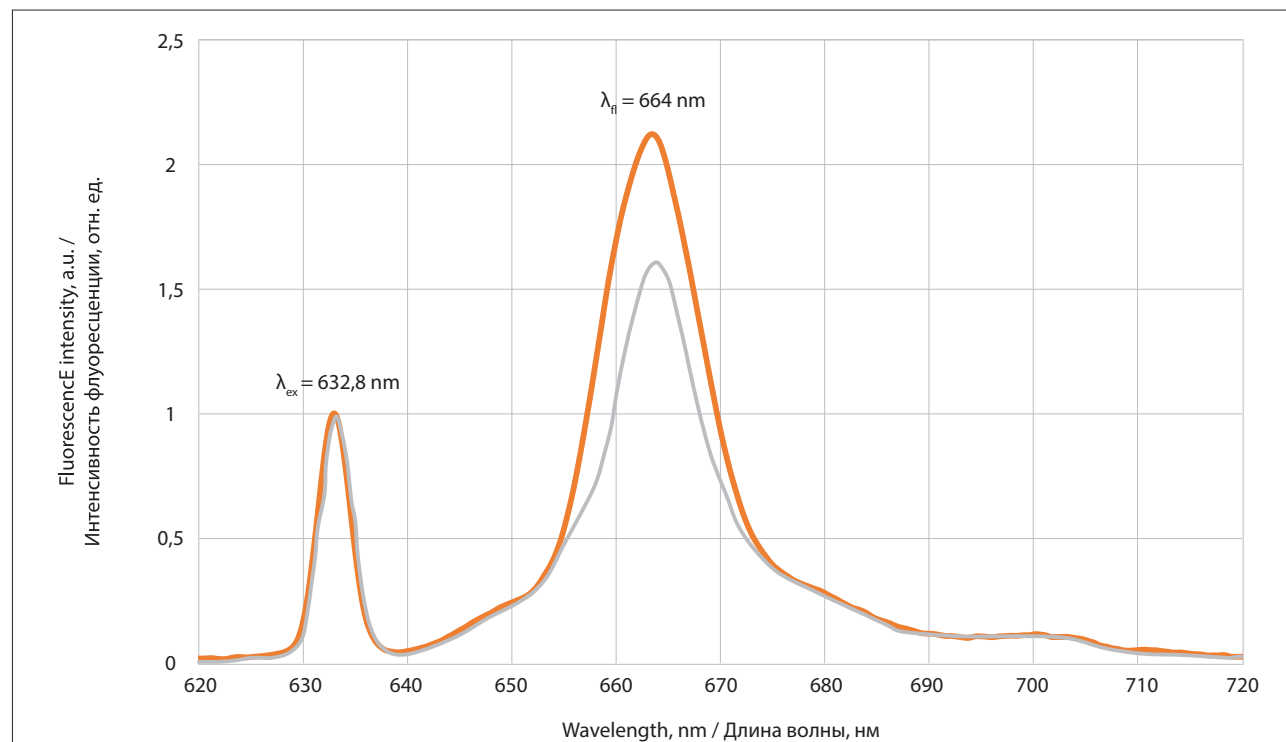


Fig. 5. The fluorescence spectra, characterized by the drug (nonmetallic sulfonated phthalocyanine) accumulation in the tumor ($\lambda_{ex} = 632.8$ nm) obtained for –hollowed and –fiber-optic neuroscaffolds

Рис. 5. Спектры флуоресценции, снятые с помощью имплантатов с –полый и –внутренней оптоволоконной структурой, характеризующие уровень накопления фотосенсибилизатора на основе безметалльного сульфированного соединения фталоцианина в опухоли ($\lambda_{ex} = 632,8$ нм)

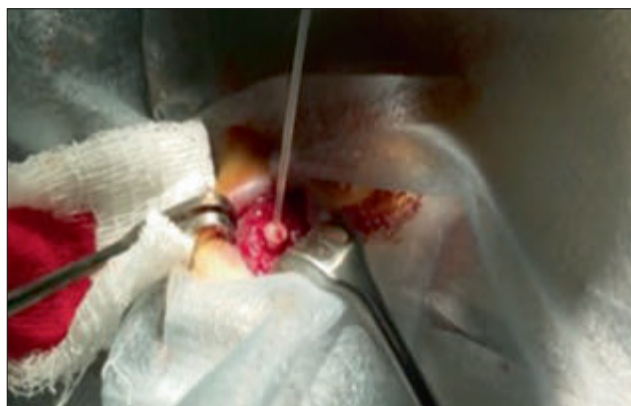


Fig. 6. Fluorescence diagnostic mode using phthalocyanine series ($\lambda_{ex}=632.8$ nm)

Рис. 6. Проведение флуоресцентной диагностики с безметальным сульфированным фталоцианином ($\lambda_{ex}=632,8$ нм)

on the skull so that the scaffold frame and the cavity were located into the rats' tumors bed (monitoring was carried out by MRI (Fig. 7a)). The high therapeutic effect was obtained because of photodynamic therapy (with nonmetallic sulfonated phthalocyanine, excitation by radiation with a wavelength of 675 nm) and was assessed by MRI. In Fig. 7a the MRI image shows the presence of tumor in the striatum region, which is a light section with the corresponding localization indicated by an arrow. In Fig. 7b the MRI image demonstrates the therapeutic effect of photodynamic therapy in the implantation area which is uniform staining of the tissues in the striatum region indicated by an arrow. The result of photodynamic therapy was assessed by MRI for 2 weeks with a 3 day period. MRI photograph shown in Fig. 7 demon-

strates the photodynamic therapy efficiency obtained on the 6th day after PDT. As a result of photodynamic therapy a high therapeutic effect (survival score in comparison with the control group) was achieved, and the constant access to the tumor bed was provided for condition monitoring (Fig. 7b).

Survival score was 8-9 weeks after glioblastoma modeling compared to 5-6 weeks of the control group.

Conclusion

It was shown under *in vitro* conditions that the C6 glioma cells are localized on the optical fibers surface during the growth process which gives the reason to expect that the approach of directed malignant glioma cells growth from the intracranial region into the developed within the project scaffold interior can be realized *in vivo* and followed by photodynamic impact, leading to cells death.

Various designs of neuroports with an internal fiber-optic structure were developed and integrated into the diagnostic monitoring of the rats' brain tumor processes *in vivo*.

MRI studies confirmed that the best therapeutic effect was achieved in the case of photodynamic therapy session with nonmetallic derivative of sulfonated phthalocyanine ($c=5$ mg/kg) using a polymer scaffold by $\lambda=675$ nm laser radiation delivering and 200 J/cm² dose.

The developed design of the scaffold with photosensitizer-coated optical fibers made it possible to implement a new approach to the brain gliomas diagnostics and therapy, including cases with high degree of malignancy.

This work is supported by Ministry of Education and Science of the Russian Federation RFMEFI60717X0183.

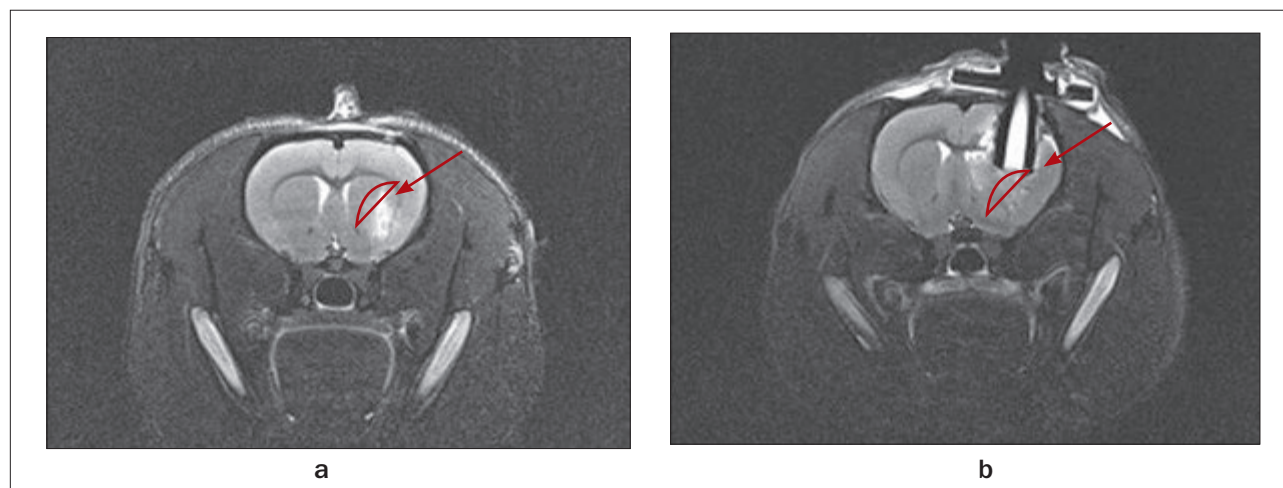


Fig. 7. MRI T2 mode scans of the rat's brain:

a – before implantation and treatment;

b – after implantation and photodynamic therapy by the nonmetallic sulfonated phthalocyanine ($\lambda=675$ nm)

Areas of C6 glioma location are marked

Рис. 7. МРТ-снимки головного мозга крысы в режиме T2:

a – до имплантации и терапии;

b – после имплантации и ФДТ с безметальным сульфированным фталоцианином ($\lambda=675$ нм)

Стрелкой показано место локализации опухоли

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan L., Soliman H., Sahgal A., Perry J., Xu W., Tsao M.N. External beam radiation dose escalation for high grade glioma // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2016. – Т. 19, № 8. – CD011475.
2. Blumenthal D.T., Dvir A., Lossos A., Tzuk-Shina T., Lior T., Limon D., Yust-Katz S., Lokiec A., Ram Z., Ross J.S., Ali S.M., Yair R., Soussan-Gutman L., Bokstein F. Clinical utility and treatment outcome of comprehensive genomic profiling in high grade glioma patients // *J Neurooncol.* – 2016. – Т. 130, № 1. – С. 211-219.
3. Wang G., Fu X.L., Wang J.J., Guan R., Tang X.J. Novel strategies to discover effective drug targets in metabolic and immune therapy for glioblastoma // *Curr Cancer Drug Targets.* – 2016. – Т. 17, № 1. – С. 17-39.
4. Luciano R., Saracino R., Battaferano G., Perrotta A., Manco M., Muraca M., Del Fattore A., Rossi M. New perspectives in glioblastoma: Nanoparticles-based approaches // *Curr Cancer Drug Targets.* – 2017. – Т. 17, № 3. – С. 203-220.
5. Morrone F.B., Gehring M.P., Nicoletti N.F. Calcium Channels and Associated Receptors in Malignant Brain Tumor Therapy // *Mol Pharmacol.* – 2016. – Т. 90, № 3. – С. 403-409.
6. Ashby L.S., Smith K.A., Stea B. Gliadel wafer implantation combined with standard radiotherapy and concurrent followed by adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed high-grade glioma: a systematic literature review // *World J Surg Oncol.* – 2016. – Т. 14, № 1. – С. 225.
7. Bregy A., Shah A.H., Diaz M.V., Pierce H.E., Ames P.L., Diaz D., Komotar R.J. The role of Gliadel wafers in the treatment of high-grade gliomas // *Expert Rev Anticancer Ther.* – 2013. – Т. 13, № 12. – С. 1453-1461.
8. Jain A., Betancur M., Patel G.D., Valmikinathan C.M., Mukhatyar V.J., Vakharia A., Pai S.B., Brahma B., MacDonald T.J., Bellamkonda R.V. Guiding intracortical brain tumour cells to an extracortical cytotoxic hydrogel using aligned polymeric nanofibers // *Nat Mater.* – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 308-316.
9. Au S.H., Storey B.D., Moore J.C., Tang Q., Chen Y.L., Javadi A.F., Sarioglu A.F., Sullivan R., Madden M.W., O'Keefe R., Haber D.A., Maheswaran S., Langenau D.M., Stott S.L., Toner M. Clusters of circulating tumor cells traverse capillary-sized vessels // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2016. – Т. 113, № 18. – С. 4947-4952.
10. Bellail A.C., Hunter S.B., Brat D.J., Tan C., Van Meir E.G. Microregional extracellular matrix heterogeneity in brain modulates glioma cell invasion // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Т. 36, № 6. – С. 1046-1069.
11. Claes A., Idema A.J., Wesseling P. Diffuse glioma growth: a guerilla war // *Acta Neuropathol.* – 2007. – Т. 114, № 5. – С. 443-458.
12. Sutter M., Eggspuehler A., Grob D., Jeszenszky D., Benini A., Porchet F., Mueller A., Dvorak J. The validity of multimodal intraoperative monitoring (MIOM) in surgery of 109 spine and spinal cord tumors // *Eur Spine J.* – 2007. – Т. 16, № 2. – С. 197-208.
13. Chekhonin V.P., Baklaushev V.P., Yusubalieva G.M., Pavlov K.A., Ukhova O.V., Gurina O.I. Modeling and Immunohistochemical Analysis of C6 Glioma In Vivo // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* – 2007. – Т. 143, № 4. – С. 501-509.
14. Potapov A.A., Nazarov V.V., Goryaynov S.A., Okhlopov V.A., Shishkina L.V., Shurkhay V.A., Loschenov V.B., Saveleva T.A., Kuzmin S.G., Chumakova A.P. A case of brain abscess mimicking cystic brain tumor and showing intraoperative 5-aminolevulinic acid fluorescence: case report // *J. Chirurgia* – 2014. – Т. 27, № 4. – С. 257-260.
15. Savelieva T.A., Kalyagina N.A., Kholodtsova M.N., Loschenov V.B., Goryaynov S.A., Potapov A.A. Numerical modelling and in vivo analysis of fluorescent and laser light backscattered from glial brain tumors // *Proc. SPIE 8230* – 2012. – 82300L.

REFERENCES

1. Khan L., Soliman H., Sahgal A., Perry J., Xu W., Tsao M.N. External beam radiation dose escalation for high grade glioma, *Cochrane Database Syst Rev.*, 2016, Vol. 19, No. 8, CD011475.
2. Blumenthal D.T., Dvir A., Lossos A., Tzuk-Shina T., Lior T., Limon D., Yust-Katz S., Lokiec A., Ram Z., Ross J.S., Ali S.M., Yair R., Soussan-Gutman L., Bokstein F. Clinical utility and treatment outcome of comprehensive genomic profiling in high grade glioma patients, *J Neurooncol.*, 2016, Vol. 130, No. 1., pp. 211-219.
3. Wang G., Fu X.L., Wang J.J., Guan R., Tang X.J. Novel strategies to discover effective drug targets in metabolic and immune therapy for glioblastoma, *Curr Cancer Drug Targets.*, 2016, Vol. 17, No. 1, pp. 17-39.
4. Luciano R., Saracino R., Battaferano G., Perrotta A., Manco M., Muraca M., Del Fattore A., Rossi M. New perspectives in glioblastoma: Nanoparticles-based approaches, *Curr Cancer Drug Targets.*, 2017, Vol. 17, No. 3, pp. 203-220.
5. Morrone F.B., Gehring M.P., Nicoletti N.F. Calcium Channels and Associated Receptors in Malignant Brain Tumor Therapy, *Mol Pharmacol.*, 2016, Vol. 90, No. 3, pp. 403-409.
6. Ashby L.S., Smith K.A., Stea B. Gliadel wafer implantation combined with standard radiotherapy and concurrent followed by adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed high-grade glioma: a systematic literature review, *World J Surg Oncol*, 2016, Vol. 14, No. 1, p. 225.
7. Bregy A., Shah A.H., Diaz M.V., Pierce H.E., Ames P.L., Diaz D., Komotar R.J. The role of Gliadel wafers in the treatment of high-grade gliomas, *Expert Rev Anticancer Ther.*, 2013, Vol. 13, No. 12, pp. 1453-1461.
8. Jain A., Betancur M., Patel G.D., Valmikinathan C.M., Mukhatyar V.J., Vakharia A., Pai S.B., Brahma B., MacDonald T.J., Bellamkonda R.V. Guiding intracortical brain tumour cells to an extracortical cytotoxic hydrogel using aligned polymeric nanofibers, *Nat Mater.*, 2014, Vol. 13, No. 3, pp. 308-316.
9. Au S.H., Storey B.D., Moore J.C., Tang Q., Chen Y.L., Javadi A.F., Sullivan R., Madden M.W., O'Keefe R., Haber D.A., Maheswaran S., Langenau D.M., Stott S.L., Toner M. Clusters of circulating tumor cells traverse capillary-sized vessels, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2016, Vol. 113, No. 18, pp. 4947-4952.
10. Bellail A.C., Hunter S.B., Brat D.J., Tan C., Van Meir E.G. Microregional extracellular matrix heterogeneity in brain modulates glioma cell invasion, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, Vol. 36, No. 6, pp. 1046-1069.
11. Claes A., Idema A.J., Wesseling P. Diffuse glioma growth: a guerilla war, *Acta Neuropathol.*, 2007, Vol. 114, No. 5, pp. 443-458.
12. Sutter M., Eggspuehler A., Grob D., Jeszenszky D., Benini A., Porchet F., Mueller A., Dvorak J. The validity of multimodal intraoperative monitoring (MIOM) in surgery of 109 spine and spinal cord tumors, *Eur Spine J.*, 2007, Vol. 16, No. 2, pp. 197-208.
13. Chekhonin V.P., Baklaushev V.P., Yusubalieva G.M., Pavlov K.A., Ukhova O.V., Gurina O.I. Modeling and Immunohistochemical Analysis of C6 Glioma In Vivo, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2007, Vol. 143, No. 4, pp. 501-509.
14. Potapov A.A., Nazarov V.V., Goryaynov S.A., Okhlopov V.A., Shishkina L.V., Shurkhay V.A., Loschenov V.B., Saveleva T.A., Kuzmin S.G., Chumakova A.P. A case of brain abscess mimicking cystic brain tumor and showing intraoperative 5-aminolevulinic acid fluorescence: case report, *J. Chirurgia*, 2014, Vol. 27, No. 4, pp. 257-260.
15. Savelieva T.A., Kalyagina N.A., Kholodtsova M.N., Loschenov V.B., Goryaynov S.A., Potapov A.A. Numerical modelling and in vivo analysis of fluorescent and laser light backscattered from glial brain tumors, *Proc. SPIE 8230*, 2012, 82300L.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ ГОЛОВЫ И ШЕИ С ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМ ВНУТРИТКАНЕВЫМ ЛАЗЕРНЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ

В.Н. Капинус, М.А. Каплан, Е.В. Ярославцева-Исаева, И.С. Спиченкова

Национальный медицинский исследовательский радиологический центр Минздрава России,
Москва, Россия

Резюме

Статья посвящена разработке методики и оценке эффективности фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором фотолон с дополнительным внутритканевым воздействием лазерного света у больных базальноклеточным раком кожи головы и шеи. Лечение проведено 55 больным. На 1-ом этапе всем больным была проведена фотодинамическая терапия с внутритканевым облучением с использованием световодов с гибким цилиндрическим диффузором (выходная мощность лазерного излучения – 200-400 мВт, время воздействия – 15-25 мин), на 2-ом этапе – фотодинамическая терапия с дистанционным подведением лазерного света в дозе 50-300 Дж/см².

На сроках наблюдения от 6 мес до 4 лет у 13 (23,6%) из 55 пациентов были диагностированы рецидивы заболевания. Более высокий процент рецидивов был в группе больных, которым проводили фотодинамическую терапию по поводу рецидива заболевания, чем у больных с первичными новообразованиями (37,5% и 4,3% соответственно), у больных с эндофитным типом роста опухоли по сравнению с больными с экзофитным компонентом образования (30,0% и 16,0%, соответственно) и у пациентов с большим размером опухолевого узла (до 2,0 см – 14,3%, от 2,1 до 5,0 см – 16,7% и более 5,0 см – 54,4%).

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотолон, внутритканевое лазерное облучение, базальноклеточный рак кожи.

Для цитирования: Капинус В.Н., Каплан М.А., Ярославцева-Исаева Е.В., Спиченкова И.С. Фотодинамическая терапия базальноклеточного рака кожи головы и шеи с дополнительным внутритканевым лазерным облучением // *Biomedical Photonics*. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 20-26.

Контакты: Капинус В.Н., e-mail: kapinus70@mail.ru

PHOTODYNAMIC THERAPY FOR HEAD AND NECK BASAL CELL SKIN CANCER WITH ADDITIONAL INTERSTITIAL LASER IRRADIATION

Kapinus V.N., Kaplan M.A., Yaroslavtseva-Isayeva E.V., Spichenkova I.S.

National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The article is devoted to the development and evaluation of the efficiency of photodynamic therapy (PDT) with photosensitizer photolon with additional interstitial laser irradiation in patients with head and neck basal cell skin cancer (BCSC). Treatment was performed in 55 patients. On the first stage, all patients underwent photodynamic therapy with interstitial irradiation using flexible optical fibers with cylindrical diffuser, on the second stage PDT with distant delivery of laser at a dose of 50-300 J/cm² was carried out.

During the follow-up period of 6 months to 4 years in 13 (23.6%) of the 55 patients a recurrence of the disease was diagnosed. A higher rate of recurrence was in the group of patients who underwent PDT for recurrent neoplasms compared with patients with primary disease (37.5% and 4.3%, respectively), in patients with endophytic growth of the tumor compared to patients with exophytic component (30.0% and 16.0%, respectively) and in patients with large tumors (up to 2.0 cm – 14.3%, from 2.0 to 5.0 cm – 16.7% and more than 5.0 cm – 54.4%).

Key words: photodynamic therapy, photolon, interstitial laser irradiation, basal cell skin carcinoma.

For citations: Kapinus V.N., Kaplan M.A., Yaroslavtseva-Isayeva E.V., Spichenkova I.S. Photodynamic therapy for head and neck basal cell skin cancer with additional interstitial laser irradiation, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 4, pp. 20-26 (in Russian).

Contacts: Kapinus V.N., e-mail: kapinus70@mail.ru

Введение

Проблема лечения рака кожи остается весьма актуальной, что обусловлено уровнем заболеваемости, рецидивирующим характером течения, частой локализацией на открытых участках кожного покрова, недостаточной эффективностью существующих методов терапии, значимыми косметическими дефектами.

В последние десятилетия в многочисленных отечественных и зарубежных публикациях приводятся результаты успешного использования фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении злокачественных новообразований кожи различной локализации и гистологической структуры [1-5]. Исследованы различные способы введения сенсibilизирующих веществ: внутривенный, внутритканевой, аппликационный [6-8]. Дана оценка эффективности ФДТ с применением фотосенсибилизаторов (ФС) различных групп, а также определены оптимальные режимы воздействия [9-13].

Однако одним из главных ограничивающих факторов применения ФДТ при лечении онкологических заболеваний является недостаточная глубина проникновения светового излучения (0,8-0,9 см). Поэтому возможности дистанционной ФДТ крупных узловых форм опухолей кожи, а также опухолей, расположенных подкожно и в мягких тканях, значительно ограничены. Для реализации фотодинамического эффекта в данном случае целесообразно использование внутритканевого облучения, что может улучшить результаты лечения [14-17].

При проведении внутритканевой ФДТ используют оголенный конец светового волокна или световоды с цилиндрическим диффузором на конце, которые вводятся непосредственно в толщу опухолевой ткани.

Длина активной части диффузора может составлять от 0,5 до 5 см [18-20]. В толщу опухолевой ткани под контролем УЗИ, компьютерной или магниторезонансной томографии вводят иглу с мандреном, затем мандрен извлекают и по каналу иглы вводят световод. Количество используемых диффузоров зависит от объема облучаемой ткани.

Развивающийся в результате воздействия света на молекулы ФС фотодинамический эффект приводит к развитию некроза опухолевой ткани радиусом до 7-15 мм вокруг конца волокна [18, 21-23]. При этом использование диффузоров различной длины и/или одновременное применение нескольких диффузоров позволяет облучать образования гораздо большего объема, чем при использовании дистанционной ФДТ.

Таким образом, применение ФДТ с дополнительным внутритканевым воздействием лазерного света может улучшить результаты лечения и реабилитации больных раком кожи, особенно при наличии экзо-

фитного компонента новообразования и/или при выраженной опухолевой инфильтрации подлежащих тканей.

Целью исследования являлась разработка методики и оценка эффективности ФДТ с фотолоном с дополнительным внутритканевым воздействием лазерного света у больных базальноклеточным раком кожи (БКРК) головы и шеи.

Материал и методы

Лечение было проведено 55 больным БКРК в возрасте от 55 до 88 лет, имеющим так называемую «неудобную» локализацию рака кожи лицевой области (угол глаза, параорбитальная область, крыло носа, носогубные складки, ушная раковина), что представляет трудности не только для хирургического и/или лучевого лечения, но и для проведения ФДТ (формирование полей облучения, равномерное распределение лазерного излучения) (табл. 1).

Все новообразования были морфологически верифицированы, распространенность процесса была следующей: до 2,0 см у 14 (25,5%) больных, от 2,1 до 5,0 см – у 30 (54,5%) пациентов, более 5,0 см – у 11 (20,0%) человек.

Экзофитный тип роста отмечен у 25 (45,6%) пациентов, а инфильтрация подлежащих тканей – у 30 (54,6%). У 23 (41,8%) пациентов был впервые диагностирован рак кожи, у 32 (58,2%) – имели место рецидивы заболевания.

Для проведения ФДТ использовали инъекционную форму фотолона (комплекс тринатриевой соли хлорина e_6 и низкомолекулярного медицинского поливинилпирролидона, РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь, регистрационное удостоверение П №15948/01 от 30.11.2012). Препарат применяли в дозе 1,1-1,6 мг/кг массы тела больного. Рассчитанную дозу фотолона растворяли в 100-200 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида и вводили внутривенно капельно в течение 30-50 мин. Лазерное облучение опухолевых очагов проводили через 3 ч после введения фотосенсибилизатора на лазерном аппарате «Латус-2», длина волны лазерного излучения 662 нм (ЗАО «Полупроводниковые приборы», Россия).

Все пациенты дали информированное согласие на проведение ФДТ с внутривенным введением фотолона в условиях стационара.

На 1-ом этапе всем больным было проведено внутритканевое облучение с использованием световодов с гибким цилиндрическим диффузором длиной 1,0 и 2,0 см (ООО «Полиороник», Россия) с диаметром световода 600 мкм и с диаметром диффузора 900 мкм. Количество позиций диффузоров – 1-4, выходная мощность – 200-400 мВт, время воздействия – 15-25 мин (рис. 1, 2).

Таблица 1
Распределение пациентов в зависимости от локализации опухоли
Table 1
Distribution of patients according to tumor localization

Локализация опухолевых очагов Tumor site	Количество пациентов, абс. (%) Number of patients, abs. (%)
Параорбитальная область Paraorbital region	20 (36,4%)
Нос и носогубные складки Nose and nasolabial folds	3 (5,5%)
Лобная и височная области Forehead, temporal region	5 (9,1%)
Щечная область Cheek	6 (10,9%)
Ушная раковина, наружный слуховой канал Auricle, external auditory canal	5 (9,1%)
Волосистая часть головы Scalp	7 (12,7%)
Верхняя губа Upper lip	4 (7,3%)
Шея Neck	5 (9,1%)
Всего Total	55 (100%)

На 2-ом этапе, который начинался непосредственно после завершения внутритканевого облучения, проводили облучение с дистанционным подведением лазерного света в дозах 50-300 Дж/см² при плотности мощности 300-400 мВт/см², с формированием одного или нескольких полей облучения в зависимости от размеров новообразования.

Результаты и их обсуждение

Непосредственные результаты лечения больных раком кожи оценивали через 2 мес после окончания лечения по критериям ВОЗ:

1. полная регрессия (ПР) – полное исчезновение всех проявлений болезни, установленное клинически и подтвержденное результатами морфологических исследований;
2. частичная регрессия (ЧР) – уменьшение размеров опухоли (или опухолевых образований) на 50% и более, а также в случае, когда при внешнем полном отсутствии опухоли при морфологическом исследовании выявились опухолевые клетки;
3. отсутствие эффекта (БЭ) – уменьшение опухоли меньше, чем на 50%, или отсутствие изменения размеров опухоли.

Из 23 больных с впервые установленным диагнозом базальноклеточного рака кожи полная регрессия опухолевых очагов была зарегистрирована у 20 (87,0%) пациентов, частичная регрессия – у 3 (13,0%). При лечении рецидивных новообразований полная регрессия была получена у 21 (65,6%) из 32 пациентов, частичная – у 11 (34,4%). При этом процент полных регрессий у больных с экзофитным типом роста был выше, чем у пациентов с эндофитным компонентом новообразования (84,0% и 67,7% соответственно). При анализе непосредственных результатов лечения новообразований небольших размеров (до 2,0 см) частичная регрессия была получена в 14,3% наблюдений, а при лечении более обширных образований процент частичной регрессии составил 30,0% (при лечении новообразований от 2,0 до 5,0 см) и 27,3% (при лечении новообразований более 5,0 см).

На сроках наблюдения от 6 мес до 4 лет у 13 (23,6%) из 55 пациентов были диагностированы рецидивы заболевания.

Более высокий процент рецидивов был в группе больных, которым проводили ФДТ по поводу рецидива заболевания, чем у больных с первичными новообразованиями (37,5% и 4,3% соответственно); у больных с эндофитным типом роста опухоли по сравне-

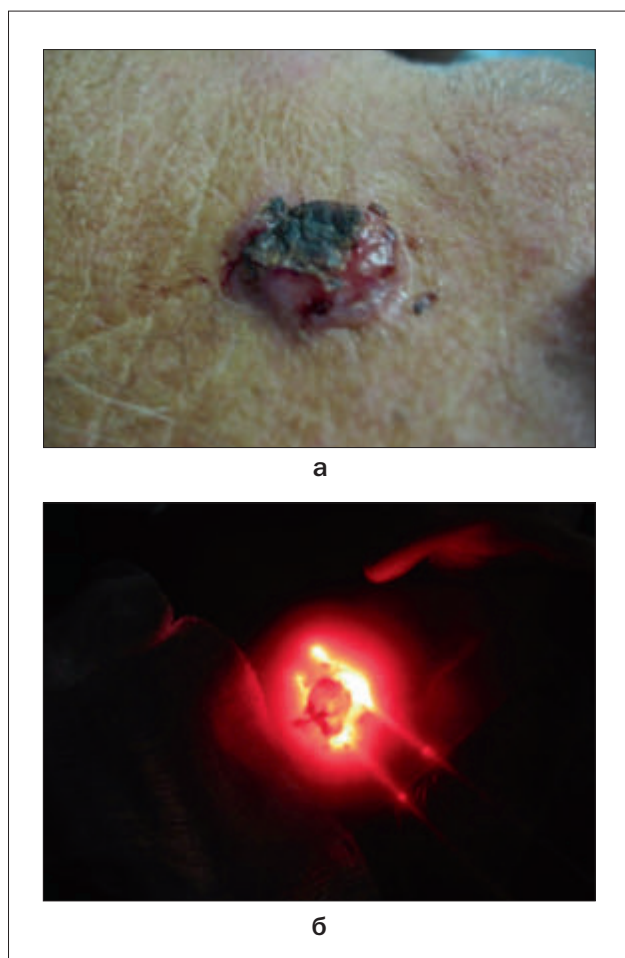


Рис. 1. Базальноклеточный рак кожи шеи:
 а – опухоль до ФДТ;
 б – сеанс внутритканевого облучения опухоли
Fig.1. Basal cell carcinoma of neck:
 а – tumor before PDT;
 б – interstitial tumor irradiation

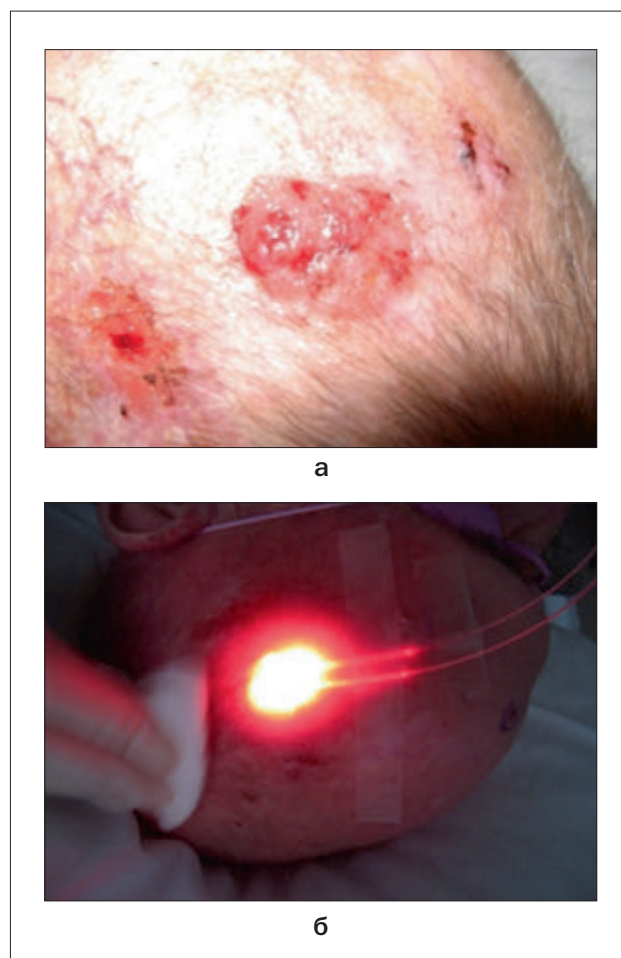


Рис. 2. Базальноклеточный рак кожи волосистой части головы:
 а – опухоль до ФДТ;
 б – сеанс внутритканевого облучения опухоли
Fig. 2. Basal cell carcinoma of scalp:
 а – tumor before PDT;
 б – interstitial tumor irradiation

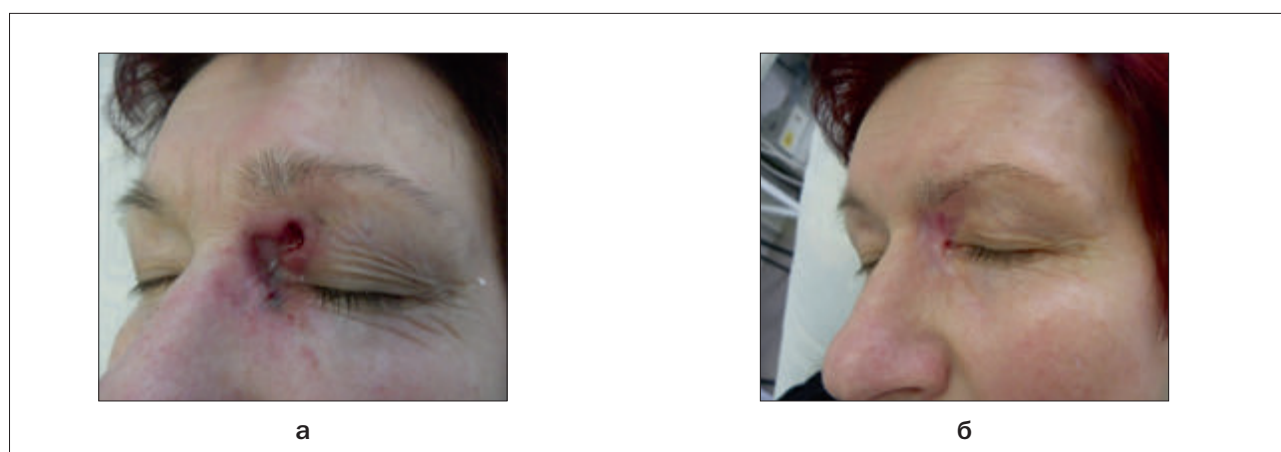


Fig. 3. Базальноклеточный рак кожи угла глаза, T2N0M0:
 а – опухоль до ФДТ;
 б – полная регрессия опухоли через 24 мес после ФДТ
Рис. 3. Basal cell skin carcinoma of the corner of the eye, T2N0M0:
 а – tumor before PDT;
 б – complete regression of the tumor 24 months after PDT

Таблица 2

Распределение пациентов с рецидивами после ФДТ в зависимости от характеристик опухоли

Table 2

Distribution of patients with relapses after PDT according to the characteristics of the tumor

Характеристика опухоли до ФДТ Characteristics of tumor before PDT	Всего больных Total number of patients	Количество больных с рецидивом после ФДТ, абс. (%) Number of patients with recurrence after PDT, abs. (%)
Первичный рак Primary cancer	23	1 (4,3%)
Рецидивный рак Recurrent cancer	32	12 (37,5%)
до 2,0 см up to 2.0 cm	14	2 (14,3%)
Размер опухоли: Size of the tumor		
от 2,1 см до 5,0 см from 2.1 cm to 5.0 cm	30	5 (16,7%)
более 5,0 см more than 5.0 cm	11	6 (54,4%)
Экзофитный тип роста опухоли Exophytic type of tumor growth	25	4 (16,0%)
Эндофитный тип роста опухоли Endophytic type of tumor growth	30	9 (30,0%)
Всего Total	55	13 (23,6%)

нию с больными с экзофитным компонентом образования (30,0% и 16,0%, соответственно) и у пациентов с распространенными формами (до 2,0 см – 14,3%, от 2,0 до 5,0 см – 16,7% и более 5,0 см – 54,4%) (табл. 2).

После дополнительного применения внутритканевого лазерного облучения новообразований парарбитальной области у пациентов не пострадала функция зрения (не изменились цветоощущение и острота зрения), сохранились веки, ресницы, размеры глазной щели и функции этих органов, после ФДТ рака носа, ушных раковин в некоторых случаях развивалась минимальная деформация хрящевых структур.

Клинические примеры, демонстрирующие результаты лечения БКРК методом ФДТ с фотолоном с внутритканевым и дистанционным лазерным облучением, представлены на рис. 3, 4.

Во время введения диффузоров и в процессе ФДТ у части пациентов был отмечен болевой синдром от незначительного до умеренного, который купировали наркотическими и ненаркотическими анальгетиками.

Особо следует отметить следующие моменты, связанные с проведением ФДТ. Технически процедура ФДТ выполнима достаточно просто, не требует

анестезиологического пособия, может применяться у пожилых пациентов и у соматически ослабленных больных. Лечение непродолжительное: сеанс ФДТ длится максимально до 2 ч, в стационаре больные находятся в течение 5-7 сут, соблюдая непродолжительный (в течение 2-3 сут) световой режим. Случаев проявления кожной фототоксичности зарегистрировано не было. Не было отмечено значимых изменений в гемограммах и в биохимическом составе крови пациентов, а регистрируемые колебания некоторых показателей были в пределах физиологических норм, что не отражалось на общем состоянии пациентов и не требовало медикаментозной терапии. Этот факт характеризует ФДТ как нетоксичный метод, который можно применять неоднократно и с незначительными интервалами между курсами.

Заключение

Методика последовательного применения внутритканевой и дистанционной ФДТ расширяет возможности проведения консервативного органосохраняющего лечения БКРК, локализованного на коже областей со сложным анатомическим рельефом и наличием жизненно важных органов без развития побочных эффектов и осложнений с максимальным

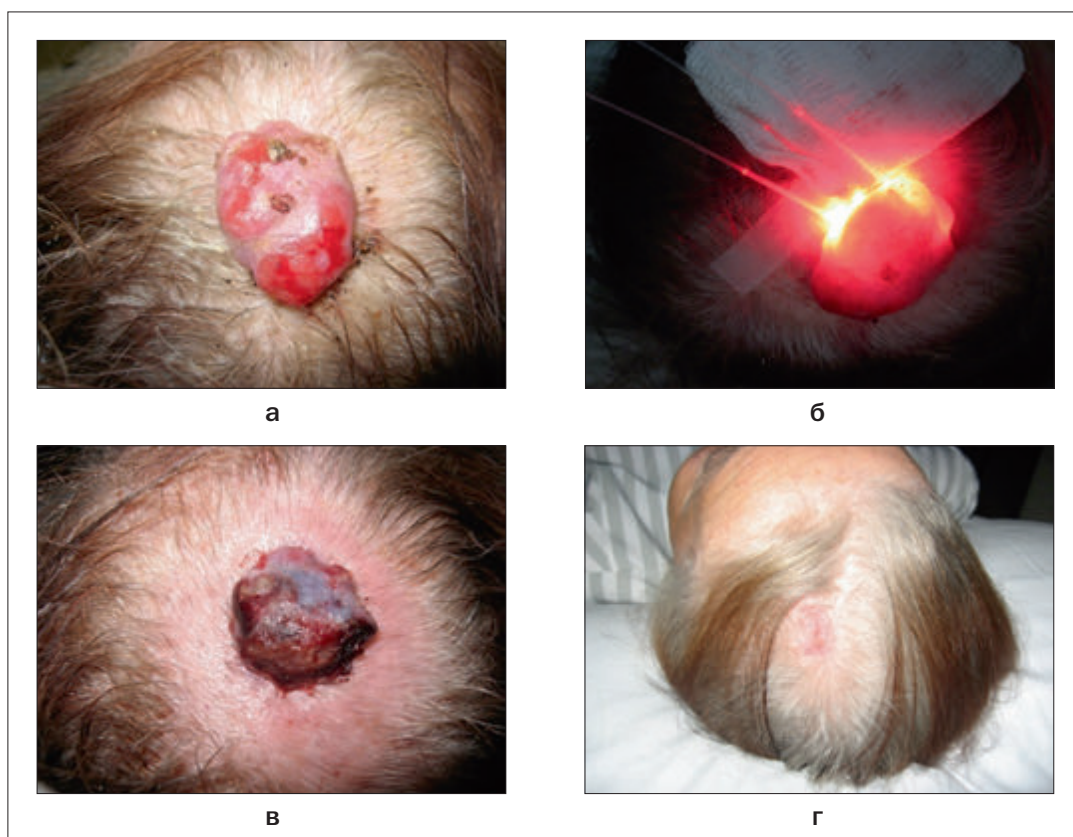


Рис. 4. Базальноклеточный рак кожи волосистой части головы, T2N0M0:

- а – опухоль до ФДТ;
 б – сеанс внутритканевого облучения опухоли;
 в – состояние через 7 сут после ФДТ;
 г – полная регрессия опухоли через 5 мес после ФДТ

Fig. 4. Basal cell carcinoma of scalp, T2N0M0:

- а – tumor before PDT;
 б – interstitial tumor irradiation;
 в – condition 7 days after PDT;
 г – complete regression 5 months after PDT

сохранением жизнеспособности окружающих здоровых тканей.

ФДТ с дополнительным внутритканевым воздействием лазерного света показана больным раком кожи при наличии экзофитного компонента новообразования более 0,5 см и/или при выраженной опухолевой инфильтрации подлежащих тканей (более 0,5 см).

Результаты лечения зависят от стадии заболевания, клинко-морфологических особенностей процесса и от предшествующего вида лечения, т.е., повторный рецидив заболевания чаще возможен у пациентов с распространенными стадиями заболевания и при эндофитном типе роста новообразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В. Фотодинамическая терапия. – М.: МИА, 2009. – 195 с.
2. Странадко Е.Ф., Рябов М.В. Двадцатилетний опыт фотодинамической терапии рака кожи // Лазерная медицина. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 19–25.
3. Капинус В.Н., Каплан М.А., Спиченкова И.С. и др. Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотолон плоскоклеточного рака кожи // Лазерная медицина. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 31–35.
4. Капинус В.Н., Каплан М.А., Спиченкова И.С. и др. Возможности фотодинамической терапии при лечении рецидивов базальноклеточного рака кожи // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2013. – № 4. – С. 40–44.

REFERENCES

1. Tsyb A.F., Kaplan M.A., Romanko Yu.S., Popuchiev V.V. *Fotodinamicheskaya terapiya* [Photodynamic therapy]. Moscow, MIA Publ., 2009. 195 p. (in Russian)
2. Stranadko E.F., Ryabov M.V. Twenty-year experience of photodynamic therapy in skin cancer, *Lazernaya meditsina*, 2012, Vol. 16, No. 2, pp. 19–25. (in Russian)
3. Kapinus V.N., Kaplan M.A., Spichenkova I.S., Shubina A.M., Yaroslavtseva-Isaeva E.V. Photodynamic therapy of cutaneous squamous cell carcinoma with photosensitizer photolon, *Lazernaya meditsina*, 2012, Vol. 16, No. 2, pp. 31–35. (in Russian)
4. Kapinus V.N., Kaplan M.A., Spichenkova I.S., Yaroslavtseva-Isaeva E.V., Shubina A.M., Goranskaya E.V. Possibilities of photodynamic

5. Savoia P, Deboli T., Previgliano A., Broganelli P. Usefulness of Photodynamic Therapy as a Possible Therapeutic Alternative in the Treatment of Basal Cell Carcinoma // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16(10). – P. 23300-23317.
6. Волгин В.Н. Фотодинамическая терапия базально-клеточного рака кожи при интерстициальном введении фотодитазина: методические рекомендации. – Москва: ГВКГ им. Н. Н. Бурденко, 2008. – 67 с.
7. Calzavara-Pinton P., Arisi M., Sereni E., Ortel B. A critical reappraisal of off-label indications for topical photodynamic therapy with aminolevulinic acid and methylaminolevulinate // *Rev. Recent. Clin. Trials.* – 2010. – Vol. 5, No. 2. – P. 112-116.
8. Sidoroff A., Thaler P. Taking treatment decisions in non-melanoma skin cancer - the place for topical photodynamic therapy (PDT) // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2010. – Vol. 7, No. 1. – P. 24-32.
9. Волгин В.Н., Странадко Е.Ф., Ламоткин И.А., Рябов М.В. Оптимизация режимов фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи с фотосенсом // *Лазерная медицина.* – 2007. – Т. 11, № 1. С. 50-54.
10. Странадко Е.Ф., Волгин В.Н., Рябов М.В. Фотодинамическая терапия базально-клеточного рака кожи с применением фотосенса // *Клиническая дерматология и венерология.* – 2008. – № 6. – С. 28-33.
11. Странадко Е.Ф., Волгин В.Н., Ламоткин И.А. и др. Фотодинамическая терапия базально-клеточного рака кожи с фотосенсибилизатором фотодитазином // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 7-11.
12. Betz C.S., Rauschnig W., Stranadko E.P., et al. Long-term outcomes following Foscan®-PDT of basal cell carcinomas // *Lasers Surg Med.* – 2012. – Vol. 44(7). – P. 533-540.
13. Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика с аласенсом у больных раком кожи // *Лазерная медицина.* – 2016. – Т. 16, № 3. – С. 32-34.
14. Lou P.J., Jager H.R., Jones L., et al. Interstitial photodynamic therapy as salvage treatment for recurrent head and neck cancer // *Br. J. Cancer.* – 2004. – Vol. 91, No. 3. – P. 441-446.
15. Jager H.R., Taylor M.N., Theodossy T., Hopper C. MR imaging-guided interstitial photodynamic laser therapy for advanced head and neck tumors // *AJNR Am J Neuroradiol.* – 2005. – Vol. 26, No. 5. – P. 1193-1200.
16. Biel M. Advances in photodynamic therapy for the treatment of head and neck cancers // *Lasers Surg. Med.* – 2006. – Vol. 38, No. 5. – P. 349-355.
17. Jerjes W., Upile T., Hamdoon Z., et al. Ultrasound-guided photodynamic therapy for deep seated pathologies: prospective study // *Lasers Surg. Med.* – 2009. – Vol. 41, No. 9. – P. 612-621.
18. Huang Z., Xu H., Meyers A.D., et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors - potential and technical challenges // *Technol. Cancer Res. Treat.* – 2008. – Vol. 7, No. 4. – P. 309-320.
19. Burch S., London C., Seguin B., et al. Treatment of canine osseous tumors with photodynamic therapy: a pilot study // *Clin Orthop Relat Res.* – 2009. – Vol. 467, No. 4. – P. 1028-1034.
20. Rendon A., Beck J.C., Lilge L. Treatment planning using tailored and standard cylindrical light diffusers for photodynamic therapy of the prostate // *Phys Med Biol.* – 2008. – Vol. 53, No. 4. – P. 1131-1149.
21. Tanaka H., Hashimoto K., Yamada I., et al. Interstitial photodynamic therapy with rotating and reciprocating optical fibers // *Cancer.* – 2001. – Vol. 91, No. 9. – P. 1791-1796.
22. Vogl T.J., Eichler K., Mack M.G., et al. Interstitial photodynamic laser therapy in interventional oncology // *Eur Radiol.* – 2004. – Vol. 14, No. 6. – P. 1063-1073.
23. Lou P.J., Jager H.R., Jones L., et al. Interstitial photodynamic therapy as salvage treatment for recurrent head and neck cancer // *Br. J. Cancer.* – 2004. – Vol. 91, No. 3. – P. 441-446.
- therapy in the treatment of recurrent basal cell carcinoma, *Onkologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena*, 2013, No. 4, pp. 40-44. (in Russian)
5. Savoia P, Deboli T., Previgliano A., Broganelli P. Usefulness of Photodynamic Therapy as a Possible Therapeutic Alternative in the Treatment of Basal Cell Carcinoma, *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, Vol. 16(10), pp. 23300-23317.
6. Volgin V.N. *Fotodinamicheskaya terapiya bazal'no-kletochnogo raka kozhi pri interstitsial'nom vvedenii fotoditazina: metodicheskie rekomendatsii* [Photodynamic therapy of basal cell skin cancer with interstitial introduction of photoditazine: guidelines]. Moscow, GVKG im. N. N. Burdenko Publ., 2008. 67 p. (in Russian)
7. Calzavara-Pinton P., Arisi M., Sereni E., Ortel B. A critical reappraisal of off-label indications for topical photodynamic therapy with aminolevulinic acid and methylaminolevulinate, *Rev. Recent. Clin. Trials*, 2010, Vol. 5, No. 2, pp. 112-116.
8. Sidoroff A., Thaler P. Taking treatment decisions in non-melanoma skin cancer - the place for topical photodynamic therapy (PDT), *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2010, Vol. 7, No. 1, pp. 24-32.
9. Volgin V.N., Stranadko E.F., Lamotkin I.A., Ryabov M.V. Optimization of photodynamic therapy regimes applied for treating basal-cell skin cancer with Photosens, *Lazernaya meditsina*, 2007, Vol. 11, No. 1, pp. 50-54. (in Russian)
10. Stranadko E.F., Volgin V.N., Ryabov M.V. Photodynamic therapy for basal cell skin cancer with Photohem, *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*, 2008, No. 6, pp. 28-33. (in Russian)
11. Stranadko E.F., Volgin V.N., Lamotkin I.A., Ryabov M.V., Sadovskaya M.V. Photodynamic therapy for basal cell skin cancer with photosensitizer Photoditazin, *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*, 2008, Vol. 7, No. 4, pp. 7-11. (in Russian)
12. Betz C.S., Rauschnig W., Stranadko E.P., Riabov M.V., Volgin V.N., Albrecht V., Nifantiev N.E., Hopper C. Long-term outcomes following Foscan®-PDT of basal cell carcinomas, *Lasers Surg Med*, 2012, Vol. 44(7), pp. 533-540.
13. Filonenko E.V. Fluorescent diagnostics with alasense in patients with skin cancer, *Lazernaya meditsina*, 2016, Vol. 16, No. 3, pp. 32-34. (in Russian)
14. Lou P.J., Jager H.R., Jones L., Theodossy T., Bown S.G., Hopper C. Interstitial photodynamic therapy as salvage treatment for recurrent head and neck cancer, *Br. J. Cancer*, 2004, Vol. 91, No. 3, pp. 441-446.
15. Jager H.R., Taylor M.N., Theodossy T., Hopper C. MR imaging-guided interstitial photodynamic laser therapy for advanced head and neck tumors, *AJNR Am J Neuroradiol*, 2005, Vol. 26, No. 5, pp. 1193-1200.
16. Biel M. Advances in photodynamic therapy for the treatment of head and neck cancers, *Lasers Surg. Med.*, 2006, Vol. 38, No. 5, pp. 349-355.
17. Jerjes W., Upile T., Hamdoon Z., Nhembe F., Bhandari R., Mackay S., Shah P., Mosse C. A., Brookes J. A., Morley S., Hopper C. Ultrasound-guided photodynamic therapy for deep seated pathologies: prospective study, *Lasers Surg. Med.*, 2009, Vol. 41, No. 9, pp. 612-621.
18. Huang Z., Xu H., Meyers A.D., Musani A.I., Wang L., Tagg R., Barqawi A.B., Chen Y.K. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors - potential and technical challenges, *Technol. Cancer Res. Treat.*, 2008, Vol. 7, No. 4, pp. 309-320.
19. Burch S., London C., Seguin B., Rodriguez C., Wilson B.C., Bisland S.K. Treatment of canine osseous tumors with photodynamic therapy: a pilot study, *Clin Orthop Relat Res*, 2009, Vol. 467, No. 4, pp. 1028-1034.
20. Rendon A., Beck J.C., Lilge L. Treatment planning using tailored and standard cylindrical light diffusers for photodynamic therapy of the prostate, *Phys Med Biol*, 2008, Vol. 53, No. 4, pp. 1131-1149.
21. Tanaka H., Hashimoto K., Yamada I., Masumoto K., Ohsawa T., Murai M., Hirano T. Interstitial photodynamic therapy with rotating and reciprocating optical fibers, *Cancer*, 2001, Vol. 91, No. 9, pp. 1791-1796.
22. Vogl T.J., Eichler K., Mack M.G., Zangos S., Herzog C., Thalhammer A., Engelmann K. Interstitial photodynamic laser therapy in interventional oncology, *Eur Radiol*, 2004, Vol. 14, No. 6, pp. 1063-1073.
23. Lou P.J., Jager H.R., Jones L., Theodossy T., Bown S.G., Hopper C. Interstitial photodynamic therapy as salvage treatment for recurrent head and neck cancer, *Br. J. Cancer*, 2004, Vol. 91, No. 3, pp. 441-446.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В БИОПЛЕНКАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ БАКТЕРИОХЛОРИНА

И.Г. Тиганова¹, Е.А. Макарова², Г.А. Меерович^{3,4}, Н.В. Алексеева¹, Э.Р. Толордава¹, Ю.С. Жижимова¹, Е.А. Лукьянец², Ю.М. Романова^{1,5}

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

²ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва, Россия

³Институт общей физики имени А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

⁴Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

⁵Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Резюме

Производные бактериохлорина, как антимикробные фотосенсибилизаторы, имеют серьезные перспективы в связи с растущей множественной антибиотикорезистентностью бактерий. В работе было изучено *in vitro* влияние количества положительно заряженных заместителей и липофильности молекулы синтетических производных бактериохлорина на эффективность фотодинамической инактивации бактерий в биопленках с целью определить оптимальное соотношение этих параметров. Были исследованы четыре синтетических производных бактериохлорина, синтезированные во ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»: гидрофобный нейтральный мезо-тетра(3-пиридил)бактериохлорин (BC1), амфифильный тетракатионный мезо-тетра(1-ундецил-3-пиридил)бактериохлорин тетрабромид (BC2), гидрофильные тетракатионный мезо-тетра[1-(4'-бромбутил)-3-пиридил]бактериохлорин тетрабромид (BC3) и октакатионный мезо-тетра[1-(4'-пиридилиобутил)-3-пиридил]бактериохлорин октабромид (BC4). Наибольшую эффективность в фотоинактивации бактерий в биопленках показали водорастворимые катионные производные бактериохлорина. Полную гибель бактерий в биопленках (99,999% и более) вызывали для *S. aureus* 15 тетракатионный BC3, а для *P. aeruginosa* 32 октакатионный BC4. В отношении грамотрицательных бактерий в биопленках увеличение числа катионных групп у фотосенсибилизатора от 4 до 8 усиливало бактерицидное действие. Отсутствие заряда и высокая липофильность молекулы фотосенсибилизатора оказывали негативное влияние на фотодинамическую инактивацию бактерий в биопленках. Проведенные эксперименты показали, что одним из механизмов бактерицидного действия фотосенсибилизаторов может быть разрушение мембран бактерий в результате фотодинамического воздействия.

Ключевые слова: биопленки бактерий, фотосенсибилизатор, фотодинамическая инактивация, бактериохлорин.

Для цитирования: Тиганова И.Г., Макарова Е.А., Меерович Г.А., Алексеева Н.В., Толордава Э.Р., Жижимова Ю.С., Лукьянец Е.А., Романова Ю.М. Фотодинамическая инактивация патогенных бактерий в биопленках с использованием новых синтетических производных бактериохлорина // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 27-36.

Контакты: Тиганова И. Г., e-mail: iraida1tig@mail.ru

PHOTODYNAMIC INACTIVATION OF PATHOGENIC BACTERIA IN BIOFILMS USING NEW SYNTHETIC BACTERIOCHLORIN DERIVATIVES

Tiganova I.G.¹, Makarova E.A.², Meerovich G.A.^{3,4}, Alekseeva N.V.¹, Tolordava E.R.¹, Zhizhimova Yu.S.¹, Lukyanets E.A.², Romanova Yu.M.^{1,5}

¹N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

²Organic Intermediates and Dyes Institute, Moscow, Russia

³A.M. Prokhorov General Physics Institute of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴National research nuclear university MEPhI, Moscow, Russia

⁵I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Abstract

Bacteriochlorins as the antimicrobial photosensitizers have a promising future in the face of the unrelenting increase in antimicrobial resistance. The goal of this study was to investigate the influence of lipophilicity and number of positively charged substituents in these molecules on the photodynamic inactivation (PDI) of biofilm bacteria *in vitro*. Testing how bacteriochlorin derivatives with different properties affect microbes will allow to determine the optimal ratio of these parameters within a single molecule.

We have investigated 4 bacteriochlorin derivatives, all of which were synthesized in Organic Intermediates and Dyes Institute. These were: hydrophobic neutral meso-tetra(3-pyridyl) bacteriochlorin (BC1), amphiphilic tetracationic meso-tetra(1-undecyl-3-pyridyl)bacteriochlorin tetrabromide (BC2), hydrophilic tetracationic meso-tetra[1-(4'-bromobutyl)-3-pyridyl]bacteriochlorin tetrabromide (BC3) and octacationic meso-tetra[1-(4'-pyridiniobutyl)-3-pyridyl]bacteriochlorin octabromide (BC4). The water-soluble cationic bacteriochlorin derivatives showed the most effective PDI of bacteria in biofilms. While tetracationic BC3 caused total inactivation of *S. aureus* 15, octacationic BC4 was bactericidal for *P. aeruginosa* 32 to the same degree (>99.999%). Interestingly, increasing the number of cationic substituents from 4 to 8 in bacteriochlorin molecules enhances bactericidal action against gram-negative bacteria in biofilms. The lack of charge-carrying groups and high degree of lipophilicity of PS have negative impact on PDI of biofilm bacteria. Bacterial membrane damage as a result of PDI can be one of the causes of cell death.

Key words: bacterial biofilms, photosensitizer, photodynamic inactivation, bacteriochlorin.

For citations: Tiganova I.G., Makarova E.A., Meerovich G.A., Alekseeva N.V., Tolordava E.R., Zhizhimova Yu.S., Lukyanets E.A., Romanova Yu.M. Photodynamic inactivation of pathogenic bacteria in biofilms using new synthetic bacteriochlorin derivatives, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 4, pp. 27-36 (in Russian).

Contacts: Tiganova I.G., e-mail: iraida1tig@mail.ru

Введение

Все более широкое распространение множественной резистентности к антибиотикам и дезинфектантам среди патогенных бактерий заставляет искать альтернативные способы борьбы с инфекциями. В последние годы большое внимание исследователей привлекает метод антимикробной фотодинамической терапии (АФДТ). Метод основан на использовании фотосенсибилизаторов (ФС), которые вводят в организм пациента и активируют световым излучением. Под действием энергии света происходит фотохимическая реакция с образованием синглетного кислорода и свободных радикалов, которые приводят к гибели бактерий, накопивших ФС. Преимущество АФДТ состоит в том, что она, в отличие от антибиотикотерапии, не приводит к возникновению резистентности у бактерий. АФДТ перспективна в отношении локальных очагов инфекции, таких как инфицированные раны, тонзиллиты, синуситы, пародонтоз и др. При всех этих заболеваниях патогенные микроорганизмы формируют биопленки – сообщества одного или нескольких видов, прикрепленные к какой-либо поверхности и покрытые полимерным матриксом, который они продуцируют. Бактерии в биопленках обладают повышенной устойчивостью не только к антибиотикам и дезинфектантам, что затрудняет их лечение традиционными методами, но и к АФДТ. Факторами, способными снизить эффективность АФДТ, могут быть условия гипоксии в биопленке, а также то, что полимеры матрикса могут связывать активные формы кислорода, которые образуются при фотохимической реакции, и, возможно, сами молекулы ФС, которые не достигают бактерий. В связи с этим актуальным является поиск оптимальной химической структуры ФС для фотодинамической инактивации бактерий в биопленках.

Известно, что против грамположительных бактерий могут быть эффективны анионные, нейтральные и катионные ФС, в то время как против грамотрицательных бактерий эффективны только катионные. Грамотрицательные бактерии более устойчивы к АФДТ, это связано со строением и зарядом их клеточной стенки [1]. Как правило, в локальных очагах инфекции биопленки имеют мультивидовую природу, и часто включают грамположительные и грамотрицательные бактерии (например, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*), поэтому ФС широкого спектра действия должен быть катионным.

Количество и распределение катионных зарядов влияет на эффективность связывания молекул ФС с бактериями и их фотодинамическую инактивацию [2]. Исследования влияния на эффективность фотодинамической инактивации планктонных грамотрицательных бактерий количества катионных групп n_k в молекуле ФС показали, что усиление фотоинактивации бактерий при возрастании n_k от 1 до 4 достаточно велико, а при дальнейшем увеличении n_k выражено в значительно меньшей степени [3]. Частично это может быть связано и с тем, что катионные ФС в меньшей степени подвержены агрегации при высоких концентрациях, снижающей фотодинамическую эффективность [3,4].

Хотя размеры бактерий сопоставимы с длиной пробега синглетного кислорода, все же более эффективными оказываются ФС, которые могут преодолеть клеточную стенку грамотрицательных бактерий [5]. Небольшие гидрофильные и липофильные молекулы проникают внутрь грамотрицательных бактерий разными путями, и определенная амфифильность молекулы ФС может позволить молекуле преодолеть мем-

брану, следовательно, это свойство может оказаться важным при выборе эффективного ФС.

В ряде работ описаны исследования фотодинамической инактивации бактерий в биопленках *in vitro*, причем ее эффективность варьирует от 30% до 99,999% в зависимости от вида и штамма бактерий, использованного ФС, источника света и других параметров эксперимента, что говорит о необходимости дальнейших исследований в этой области [6, 7, 8]. В частности, неизвестно, как величина положительного заряда молекулы ФС влияет на фотодинамическую инактивацию бактерий в биопленках, поскольку в состав матрикса также входят заряженные макромолекулы, например, ДНК, имеющая отрицательный заряд.

В настоящей работе в качестве ФС исследовали соединения класса бактериохлоринов. Метод получения устойчивых синтетических бактериохлоринов был описан в литературе [9, 10, 11]. Синтезированные J.S. Lindsey и соавт. катионные производные бактериохлорина показали высокую антимикробную эффективность в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и грибов рода *Candida* [12], однако синтез этих соединений оказался настолько сложным и многостадийным, что вряд ли может быть использован для получения ФС в больших количествах.

Две другие работы посвящены исследованию фотодинамической активности тетракаationного производного мезо-тетра(3-пиридил)бактериохлорина в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий [13, 14]. Эти работы подтвердили перспективность использования производных бактериохлорина в качестве ФС для АФДТ. Однако в них изучали фотоинактивацию планктонных бактерий и не затрагивали биопленки, в то время как известно, что бактерии в биопленках намного (в сотни раз) более резистентны к ФДТ, чем свободноживущие (планктонные), что было показано, в частности, для *Pseudomonas aeruginosa* с использованием 5-аминолевулиновой кислоты и метиленового синего в качестве ФС [15, 16].

Синтетические производные бактериохлорина, использованные в настоящей работе, имеют максимум поглощения в ближней инфракрасной области спектра. ФС с максимумом поглощения в инфракрасной области спектра могут быть востребованы для терапии глубоких очагов инфекции, т.к. свет этого диапазона проникает на большую глубину (более 12 мм) в ткани без значительной потери энергии [17]. Это важно, например, для терапии ран, инфицированных синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*), поскольку эти бактерии могут распространяться на глубину до 1,5 см [18].

В работе была поставлена задача изучить влияние количества положительно заряженных заместителей и липофильности (или амфифильности) молекул синтетических производных бактериохлорина на фото-

динамическую инактивацию бактерий в биопленках *in vitro* с целью определить оптимальное соотношение этих параметров.

Материал и методы

Фотосенсибилизаторы

Были исследованы четыре синтетических производных бактериохлорина, синтезированные во ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»:

- гидрофобный нейтральный мезо-тетра(3-пиридил)бактериохлорин (BC1) [19];
- амфифильный тетракаationный мезо-тетра(1-ундецил-3-пиридил)бактериохлорин тетрабромид (BC2);
- гидрофильный тетракаationный мезо-тетра[1-(4'-бромбутил)-3-пиридил]бактериохлорин тетрабромид (BC3);
- гидрофильный октакаationный мезо-тетра[1-(4'-пиридиниобутил)-3-пиридил]бактериохлорин октабромид (BC4) [20].

Синтез и характеристики BC1, а также BC3 и BC4 описаны в публикациях [19,20]. BC2 был синтезирован взаимодействием BC1 с избытком бромистого ундецила в кипящем нитрометане в течение 3 ч в инертной атмосфере с выходом 72,8%. Электронный спектр поглощения, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ), метанол: 349 (4,89), 373 (4,87), 428 (4,07), 515 (4,65), 760 (4,97). Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ , м.д.: -1,21 (с, 2H, NH), 0,82 (т, 12H, CH_3), 1,22 – 1,40 (м, 64H, CH_2), 2,08 – 2,13 (м, 8H, CH_2), 4,02 – 4,12 (м, 4H, β -H), 4,86 (ш, 8H, CH_2), 8,24 (с, 4H, β -H), 8,55 (т, 4H, H-5 (Py)), 9,14 – 9,17 (м, 4H, H-6 (Py)), 9,52 (д, 4H, H-4 (Py)), 9,83 – 9,87 (м, 4H, H-2 (Py)). Найдено, %: C 64,27, 64,37; H 8,11, 8,07; N 7,24, 7,30. $\text{C}_{84}\text{H}_{122}\text{Br}_4\text{N}_8$. Вычислено, %: C 64,53; H 7,86; N 7,17. Химическое строение изучаемых производных бактериохлорина изображено на рис. 1.

BC1 и BC2 использовали в виде водной дисперсии в 8%-ом и 4%-ом Кремофоре ELP (BASF), а тетра- и октакаationные ФС BC3 и BC4 растворяли в дистиллированной воде.

Все эти соединения поглощают в ближней инфракрасной области спектра: BC1 имеет максимум поглощения при $\lambda=747$ нм, остальные – при $\lambda=760$ нм.

Бактерии

Исследования проводили на клинических изолятах *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые часто являются этиологическими агентами заболеваний, ассоциированных с биопленками. Бактерии выращивали в питательном бульоне LB или на 1% агаре LB (Difco, США).

Источники света

В качестве источников света использовали галогеновую лампу с ситалловым фильтром, пропускающим длины волн от 600 до 850 нм, а также светодиодный

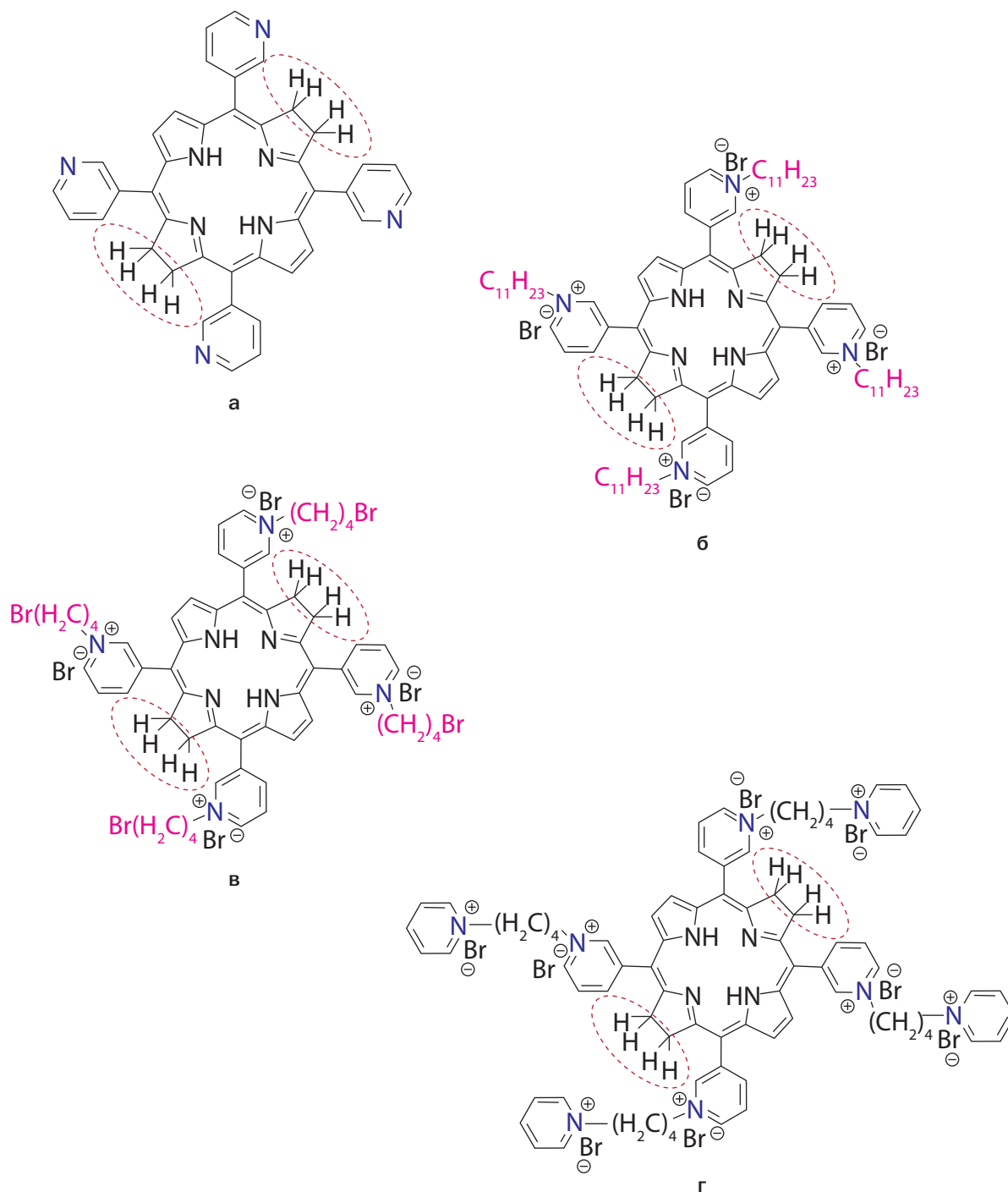


Рис. 1. Химические формулы изучаемых ФС:

- а – гидрофобный нейтральный мезо-тетра(3-пиридил) бактериохлорин (BC1);
- б – амфифильный тетракаатионный мезо-тетра(1-ундецил-3-пиридил) бактериохлорин тетрабромид (BC2);
- в – гидрофильный тетракаатионный мезо-тетра[1-(4'-бромбутил)-3-пиридил] бактериохлорин тетрабромид (BC3);
- г – гидрофильный октакаатионный мезо-тетра[1-(4'-пиридилиобутил)-3-пиридил] бактериохлорин октабромид (BC4)

Fig. 1. Chemical structure of PS in study:

- а – hydrophobic neutral meso-tetra(3-pyridyl) bacteriochlorin (BC1);
- б – amphyphilic tetracationic meso-tetra(1-undecyl-3-pyridyl)bacteriochlorin tetrabromide (BC2);
- в – hydrophilic tetracationic meso-tetra[1-(4'-bromobutyl)-3-pyridyl]bacteriochlorin tetrabromide (BC3);
- г – hydrophilic octacationic meso-tetra[1-(4'-pyridinylbutyl)-3-pyridyl]bacteriochlorin octabromide (BC4)

источник с длиной волны спектрального максимума излучения 760 нм. Плотность мощности контролировали с помощью измерителя мощности «Coherent labmax» («Coherent», США), и она составляла для галогеновой лампы 6 мВт/см², а для светодиодного источника – 20 мВт/см².

Фотодинамическая инактивация планктонных бактерий

Для планктонных культур определяли минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) ФС в стандартных условиях: инкубация бактерий с ФС 30 мин, плотность энергии 30 Дж/см². Исходный титр бактерий – 1х10⁸ КОЕ/мл. Использовали двукратные разведения ФС, начиная с 100 мкМ, а для ВС1 – с 1мМ. После инкубации бактериальную суспензию центрифугировали, ФС удаляли, бактерии ресуспендировали в физиологическом растворе и разливали по 100 мкл из каждой концентрации и контроля без ФС в лунки двух 96-луночных плоскодонных планшетов: 1 – для последующего облучения, 2 – необлучаемый контроль.

После облучения 50 мкл суспензии из каждой лунки высевали на чашки Петри с LB агаром, инкубировали в темноте при 37°C в течение 20 ч. Отмечали наименьшую концентрацию ФС, высев из которой не давал роста. Эту концентрацию принимали за МБК.

Фотодинамическая инактивация бактерий в биопленках

Биопленки бактерий выращивали 18 ч на стеклянных пластинках 7х12 мм в чашке Петри, в которую наливали LB бульон с засеянной культурой бактерий. Затем стекла переносили в 24-луночный планшет, промывали дистиллированной водой, заливали растворами ФС различной концентрации, инкубировали 1 ч в термостате при 37°C, ФС удаляли и стекла помещали в физиологический раствор и облучали. После облучения стекла и жидкость из лунки переносили в пробирку Эппендорф, биопленку снимали зондом-щеточкой и вместе со щеточкой обрабатывали 10 мин на Вортексе. Микроскопический контроль показал, что конгломератов бактерий после такой обработки очень мало, в основном видны одиночные бактерии. 10-кратные разведения суспензии бактерий высевали на чашки с LB агаром для подсчета колоний и определения титра КОЕ.

Окраска биопленок Live/Dead Biofilm Viability Kit

Биопленку бактерий выращивали на покровных стеклах в чашках Петри диаметром 35 мм в течение 3 ч при 37°C. Затем жидкость отбирали и вносили в чашку 800 мкл раствора ФС в концентрации 200 мкМ, в контроль – 800 мкл дистиллированной воды. После 1 ч инкубации при 37°C в темноте растворы отбирали, стекла с биопленками помещали в 1,5 мл воды и облучали световым излучением с плотностью энер-

гии 70 Дж/см². Необлученный контроль в это время инкубировали в темноте. После облучения стекла тщательно промывали дистиллированной водой и окрашивали 15 мин раствором красителя Live/Dead Biofilm Viability Kit согласно инструкции. Стекла анализировали в световом микроскопе Nikon H600L (Eclipse Ni) (Япония) с флуоресцентным объективом.

Результаты и обсуждение

Фотодинамическая инактивация планктонных бактерий

Биологическую активность ФС исследовали на планктонных культурах патогенных бактерий: грамположительных *S. aureus* 15 и грамотрицательных *P. aeruginosa* 32. Определение МБК ФС для стандартных условий (инкубация бактерий с ФС 30 мин, плотность дозы световой энергии 30 Дж/см²) показало, что нейтральный ВС1 неэффективен до концентрации 1 мМ в отношении планктонных бактерий как *S.aureus*, так и *P.aeruginosa*. Наибольшей активностью обладают заряженные водорастворимые ВС3 и ВС4, близкой к ним активностью обладает амфифильный ВС2 (табл.).

Фотодинамическая инактивация бактерий в биопленках

При облучении излучением галогеновой лампы с фильтром, формирующим полосу с равномерной спектральной плотностью в диапазоне 650-850 нм, было проведено фотодинамическое воздействие на биопленки всех четырех ФС в одном опыте. Определение титра КОЕ после фотодинамического воздействия на биопленки показало, что в отношении биопленок *S. aureus* наибольшей активностью обладает тетракатинный водорастворимый ВС3, нейтральный и амфифильный ФС малоактивны. В то же время биопленки *P. aeruginosa* наиболее чувствительны к октакатионному ВС4, остальные ФС менее активны (рис. 2, 3).

Таблица
 Минимальные бактерицидные концентрации ФС для планктонных бактерий

Table
 Minimal bactericidal concentrations of PS for planktonic bacteria

ФС PS	МБК (мкМ) МВС (μМ)	
	<i>S. aureus</i> 15	<i>P. aeruginosa</i> 32
BC1	1000	1000
BC2	100	25
BC3	25	6,2
BC4	50	25

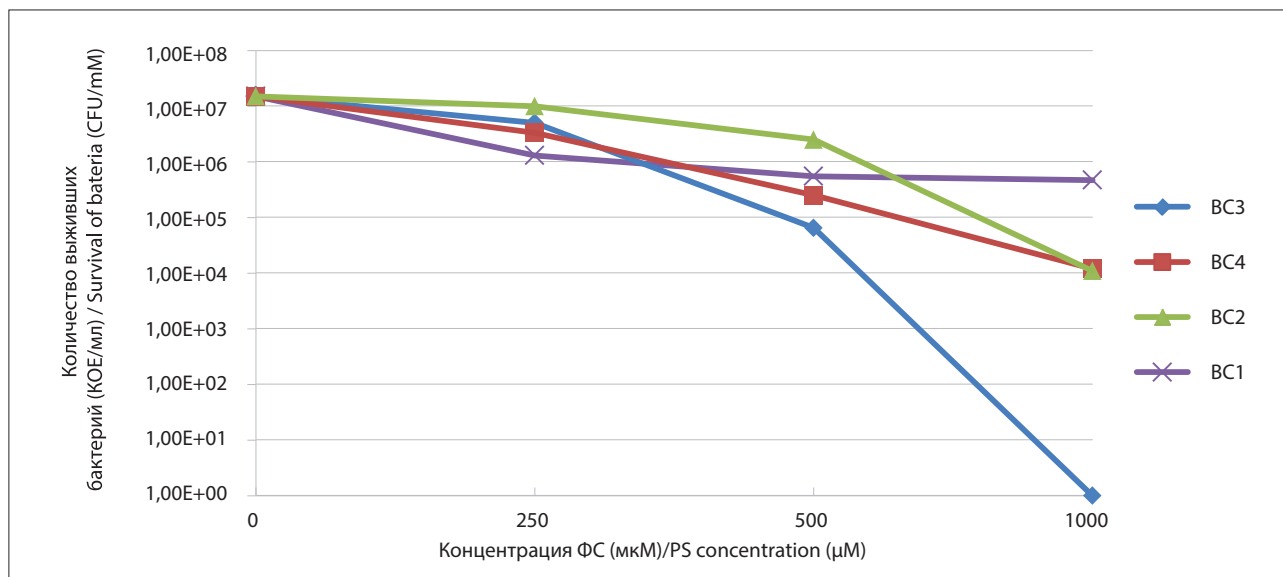


Рис. 2. Антимикробная фотодинамическая активность производных бактериохлорина в отношении *S. aureus* 15 в биопленках (галогеновая лампа с фильтром 600-850 нм, экспозиция раствора ФС 1 ч, плотность энергии 70 Дж/см²)
Fig. 2. Photodynamic inactivation of *S. aureus* 15 in biofilms (incubated with PS for 1 h, halogen lamp with 650-850 nm bandpass filter, light dose 70 J/cm²)

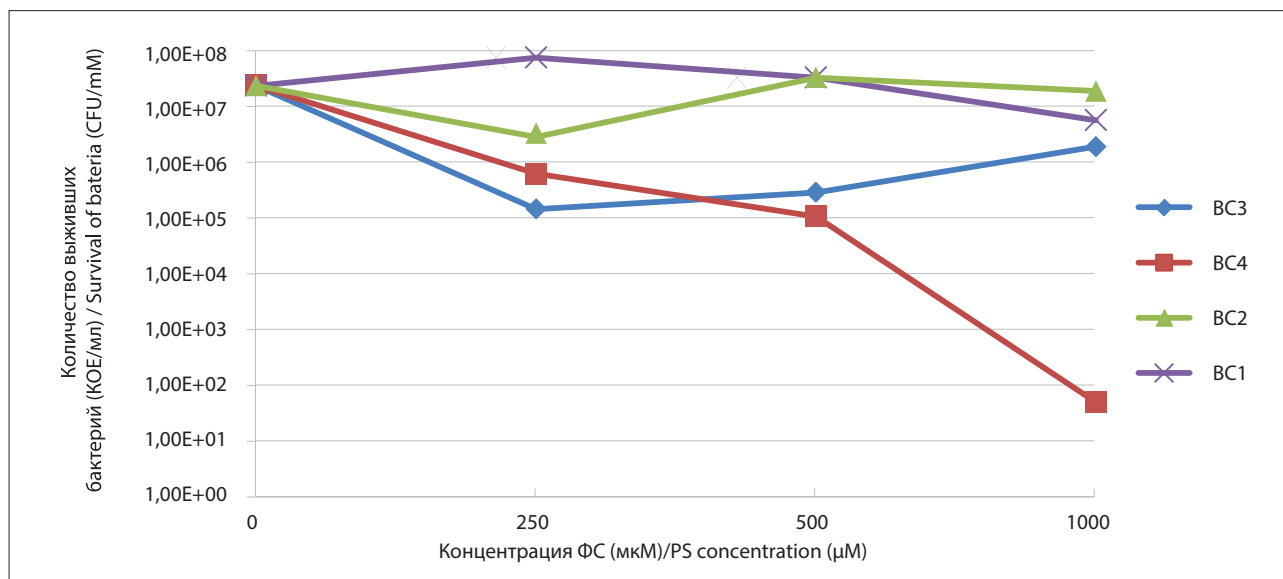


Рис. 3. Антимикробная фотодинамическая активность производных бактериохлорина в отношении *P. aeruginosa* 32 в биопленках (экспозиция раствора ФС 1 ч, галогеновая лампа с фильтром 600-850 нм, плотность энергии 70 Дж/см²)
Fig. 3. Photodynamic inactivation of *P. aeruginosa* 32 in biofilms (incubated with PS for 1 h, halogen lamp with 650-850 nm bandpass filter, light dose 70 J/cm²)

Поскольку BC1, имеющий пик поглощения при 747 нм, не показал антибактериальной активности в отношении биопленок, эти же опыты были повторены только для BC2, BC3 и BC4 с использованием в качестве источника света светодиодного источника с узкой полосой со спектральным максимумом около 760 нм. При таком облучении получены качественно те же результаты, что и при использовании галогеновой

лампы с фильтром, но благодаря более эффективному поглощению сенсibilизированной биопленкой монохроматического излучения с длиной волны, близкой к спектральному максимуму поглощения, при сенсibilизации BC4 в концентрации 1 мМ и облучении с плотностью энергии 70 Дж/см² удалось добиться полной инаktivации бактерий *P. aeruginosa* 32 в биопленках.

Полная фотодинамическая инаktivация *S. aureus* 15

в биопленках наблюдалась при сенсibilизации BC3 в той же концентрации и при той же дозе света. Результаты одного из трех аналогичных опытов приведены на рис. 4 и 5. Инкубация биопленок с ФС без облучения не приводила к заметному снижению титра жизнеспособных бактерий (данные не приведены).

Использование флуоресцентного красителя Live/Dead Biofilm Viability Kit и флуоресцентной микроскопии позволило продемонстрировать гибель бактерий *S. aureus* 15 и *P. aeruginosa* 32 в составе биопленки под действием водорастворимых тетра- и октационных

ФС. Один компонент красителя, SYTO 9, окрашивает в флуоресцирующий зеленый цвет всю ДНК, другой компонент (пропидиум иодид) не проникает через целостные мембраны и окрашивает в флуоресцирующий красный цвет только ДНК мертвых клеток с поврежденными мембранами. В наших опытах использовались «молодые» биопленки, сформированные за 3 ч, они не содержат внеклеточной ДНК, которая окрашивается пропидиум иодидом, что ухудшает визуализацию бактерий. Исчезновение зеленой и появление красной окраски свидетельствует о повреждении мембран и гибели бак-

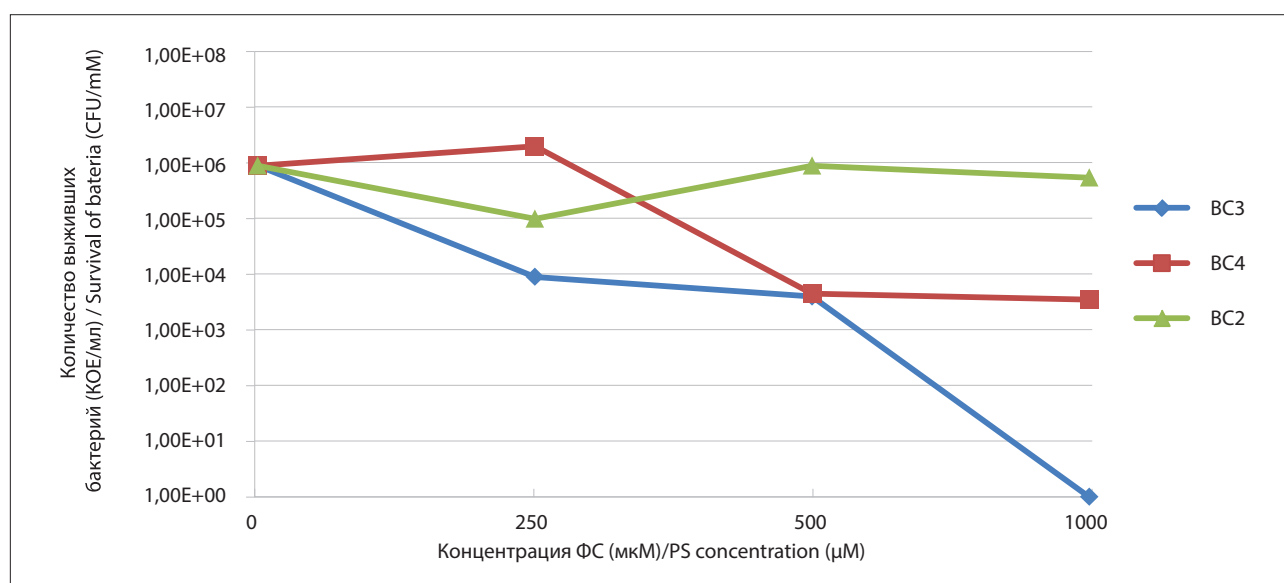


Рис. 4. Антимикробная фотодинамическая активность производных бактериохлорина в отношении *S. aureus* 15 в биопленках (экспозиция раствора ФС 1 ч, светодиодный источник 760 нм, плотность энергии 70 Дж/см²)
Fig. 4. Photodynamic inactivation of *S. aureus* 15 in biofilms (incubated with PS for 1 h, LED light source 760 nm, light dose 70 J/cm²)

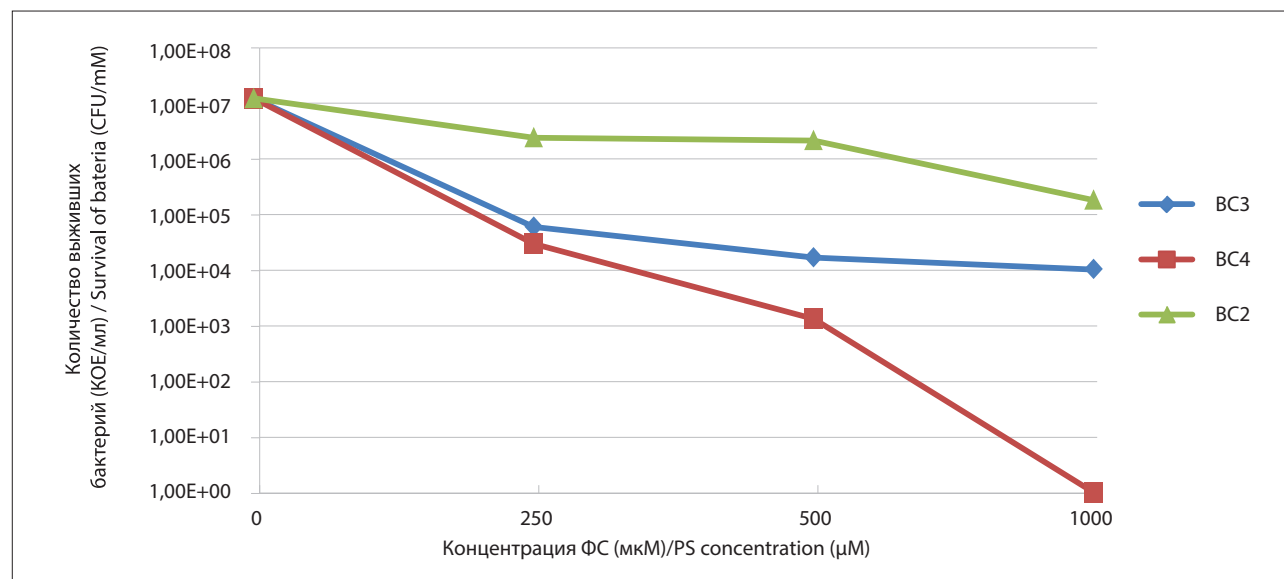


Рис. 5. Антимикробная фотодинамическая активность производных бактериохлорина в отношении *P. aeruginosa* 32 в биопленках (экспозиция раствора ФС 1 ч, светодиодный источник 760 нм, плотность энергии 70 Дж/см²)
Fig. 5. Photodynamic inactivation of *P. aeruginosa* 32 in biofilms (incubated with PS for 1 h, LED light source 760 nm, light dose 70 J/cm²)

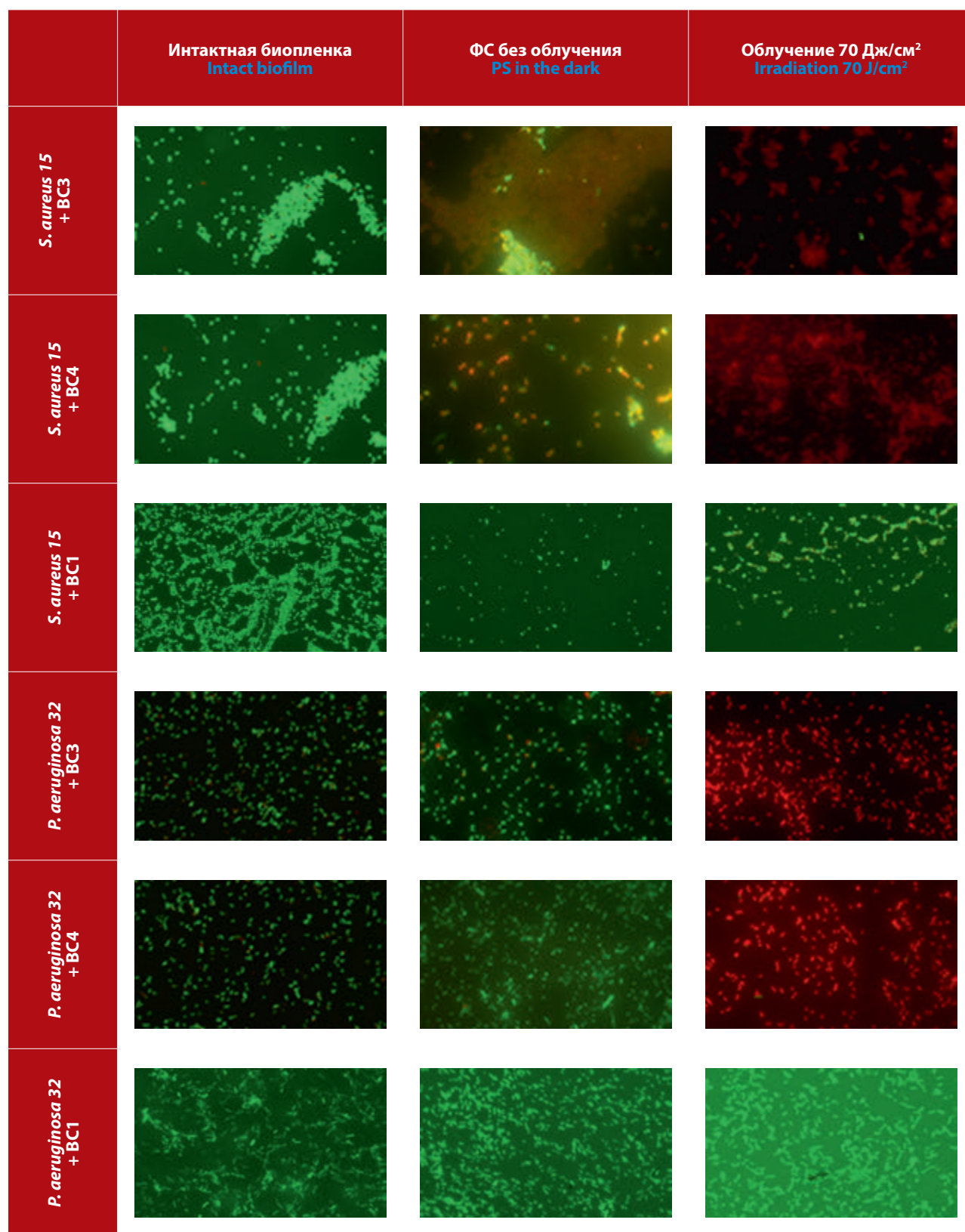


Рис. 6. Флуоресцентная микроскопия биопленок *S. aureus* 15 и *P. aeruginosa* 32 после ФДТ с BC1, BC3 и BC4 и окраски Live/Dead Biofilm Viability Kit
 Инструментальное увеличение 600x

Fig. 6. Fluorescent microscopy of *S. aureus* 15 and *P. aeruginosa* 32 biofilms after PDT with BC1, BC3 and BC4 and staining with Live/Dead Biofilm Viability Kit
 Instrumental magnification 600x

терий, что и наблюдается при воздействии ВС3 и ВС4 с облучением на биопленки *S. aureus* 15 и *P. aeruginosa* 32 (рис. 6). Отдельные красные бактерии при воздействии этих ФС без облучения являются результатом их некоторой темновой токсичности. После воздействия незапряженного ВС1 и облучения бактерии не меняли окраску, что говорит об отсутствии повреждения мембран. Таким образом, данные флуоресцентной микроскопии подтвердили результаты опытов с определением числа жизнеспособных бактерий путем посева и позволяют заключить, что, по крайней мере, один из механизмов бактерицидного действия ФС – разрушение мембран бактерий в результате фотодинамического воздействия.

Заключение

Проведенные эксперименты свидетельствуют о том, что наиболее эффективны для фотоинаktivации бактерий в биопленках водорастворимые катионные ФС: тетраакатионный ВС3 в отношении *S. aureus* 15, октакатионный ВС4 – в отношении *P. aeruginosa* 32. Увеличение числа катионных групп ФС от 4 до 8 усиливает бактерицидное действие по отношению к грамотрицательным бактериям в биопленках. Отсутствие заряда и высокая липофильность молекулы ФС оказывают негативное действие на фотодинамическую инаktivацию бактерий в биопленках.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-04-04363). Авторы выражают благодарность н.с. ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» Дудкину С.В. за участие в синтезе ВС2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Malik Z., Ladan H., Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions // *J. Photochem. Photobiol.* – 1992. – Vol. 14. – P. 262-266.
2. Simões C., Gomes M.C., Neves M.G.P.M.S., et al. Photodynamic inactivation of *Escherichia coli* with cationic meso-tetraarylporphyrins – The charge number and charge distribution effects // *Catalysis Today*. – 2016. – Vol. 266. – P. 197-204.
3. Страховская М.Г., Антоненко Ю.Н., Пашковская А.А. и др. Электростатическое связывание замещенных металлофталонинов с клетками энтеробактерий: роль в фотодинамической инаktivации // *Биохимия*. – 2009. – Т. 74, Вып. 12. – С. 1603-1614.
4. Meerovich G.A., Tiganova I.G., Makarova E.A., et al. Photodynamic inactivation of bacteria and biofilms using cationic bacteriochlorins // *J. of Physics: Conference Series*. – 2016. – Vol. 691. doi: 10.1088/1742-6596/691/1/012011
5. Usacheva M.N., Teichert M.C., Biel M.A. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms // *Lasers Surg. Med.* – 2001. – Vol. 29(2). – P. 165-173.
6. Li X., Guo H., Tian Q., et al. Effects of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy on antibiotic-resistant staphylococcal biofilm: an *in vitro* study // *J.Surg.Res.* – 2013. – Vol. 184. – P.1013-1021.
7. Wang Y., Zhou Q., Wang Y., et al. In vitro photodynamic inactivation effects of Ru(II) complexes on clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* planktonic and biofilm cultures // *Photochem. Photobiol.* – 2015. – Vol. 91. – P. 124-133.
8. Cieplik F., Späth A., Regensburger J., et al. Photodynamic biofilm inactivation by SAPYR – an exclusive singlet oxygen photosensitizer // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2013. – Vol. 65. – P. 477-487.
9. Kim H.-J., Lindsey J.S. De novo synthesis of stable tetrahydroporphyrinic heterocycles: bacteriochlorins and a tetrahydrocorrin // *J. Org. Chem.* – 2005. – Vol. 70. – P. 5475-5486.
10. Kraymer M., Ptaszek M., Kim H.J., et al. Expanded scope of synthetic bacteriochlorins via improved acid catalysis conditions and diverse dihydrodipyrin-acetals // *J. Org. Chem.* – 2010. – Vol. 75. – P. 1016-1039.
11. Mass O., Lindsey J.S. A trans-AB-bacteriochlorin building block // *J. Org. Chem.* – 2011. – Vol. 76. – P. 9478-9487.

REFERENCES

1. Malik Z., Ladan H., Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions, *J. Photochem. Photobiol.*, 1992, Vol. 14, pp. 262-266.
2. Simões C., Gomes M.C., Neves M.G.P.M.S., Cynha A., Tomé J.P.C., Tomé A.C., Cavaleiro J.A.S., Almedia A., Faustino M.A.F. Photodynamic inactivation of *Escherichia coli* with cationic meso-tetraarylporphyrins – The charge number and charge distribution effects, *Catalysis Today*, 2016, Vol. 266, pp. 197-204.
3. Strakhovskaya M.G., Antonenko Yu.N., Pashkovskaya A.A., Kotova E.A., Kireev V., Zhukhovitskii V.G., Kuznetsova N.A., Yuzhakova O.A., Negrimovskii V.M., Rubin A.B. Electrostatic binding of substituted metallophthalocyanines to enterobacteria cells: role in photodynamic inactivation, *Biokhimiya*, 2009, Vol. 74, Is. 12, pp. 1603-1614. (in Russian)
4. Meerovich G.A., Tiganova I.G., Makarova E.A., Meerovich I.G., Romanova Ju.M., Tolordova E.R., Alekseeva N.V., Stepanova T.V., Koloskova Yu., Luk'anets E.A., Krivospitskaya N.V., Sipailo I.P., Baikova T.V., Lostchenov V.B., Gonchukov S.A. Photodynamic inactivation of bacteria and biofilms using cationic bacteriochlorins, *J. of Physics: Conference Series*, 2016, Vol. 691. doi: 10.1088/1742-6596/691/1/012011
5. Usacheva M.N., Teichert M.C., Biel M.A. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms, *Lasers Surg. Med.*, 2001, Vol. 29(2), pp. 165-173.
6. Li X., Guo H., Tian Q., Zheng G., Hu Y., Fu Y., Tan H. Effects of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy on antibiotic-resistant staphylococcal biofilm: an *in vitro* study, *J.Surg.Res.*, 2013, Vol. 184, pp. 1013-1021.
7. Wang Y., Zhou Q., Wang Y., Ren J., Zhao H., Wu S., Yang J., Zhen J., Luo Y., Wang X., Gu Y. In vitro photodynamic inactivation effects of Ru(II) complexes on clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* planktonic and biofilm cultures, *Photochem. Photobiol.*, 2015, Vol. 91, pp. 124-133.
8. Cieplik F., Späth A., Regensburger J., Gollmer A., Tabenski L., Hiller K.A., Bäuml W., Maisch T., Schmalz G. Photodynamic biofilm inactivation by SAPYR – an exclusive singlet oxygen photosensitizer, *Free Radical Biology and Medicine*, 2013, Vol. 65, pp. 477-487.

12. Huang L., Huang Y.Y., Mroz P., et al. Stable synthetic cationic bacteriochlorins as selective antimicrobial photosensitizers // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2010. – Vol. 54. – P. 3834-3841.
13. Schastak S., Gitter B., Handzel R., et al. Improved photoinactivation of gram-negative and gram-positive methicillin-resistant bacterial strains using a new near-infrared absorbing meso-tetrahydroporphyrin: a comparative study with a chlorine e6 photosensitizer Photolon // *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 30. – P. 129-133.
14. Schastak S., Ziganshyna S., Gitter B., et al. Efficient photodynamic therapy against Gram-positive and Gram-negative bacteria using THPTS, a cationic photosensitizer excited by infrared wavelength // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5. – e11674.
15. Lee C.F., Lee C.J., Chen C.T., Huang C.T. delta-Aminolaevulinic acid mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Pseudomonas aeruginosa* planktonic and biofilm cultures // *J Photochem Photobiol B.* – 2004. – Vol. 75. – P. 21-25.
16. Street C.N., Gibbs A., Pedigo L., et al. In vitro photodynamic eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in planktonic and biofilm culture // *Photochemistry and Photobiology.* – 2009. – Vol. 85. – P. 137-143.
17. Плотникова Е.А., Лукьянец Е.А., Якубовская Р.И. Сравнительная оценка глубины проникновения светового луча в опухолевую ткань при использовании фотосенсибилизаторов хлоринового и бактериохлоринового рядов // *Biomedical Photonics.* - Спец. Выпуск «Материалы V Всероссийской конференции «Фотодинамическая терапия и Фотодиагностика». – 2016. – С. 12.
18. *Biofilm infections* / by ed. Bjarnsholt T. – Heidelberg: Springer, 2011. – 314 p.
19. Макарова Е.А., Якубовская Р.И., Ворожцов Г.Н. и др. Фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии // Патент России № 254995. – 2013.
20. Dudkin S.V., Makarova E.A., Slivka L.K., Lukyanets E.A. Synthesis and properties of tetra- and octacationic meso-tetrakis(3-pyridyl)bacteriochlorin derivatives // *J. Porphyrins Phthalocyanines.* – 2014. – Vol. 18. – P. 107-114.
9. Kim H.-J., Lindsey J.S. De novo synthesis of stable tetrahydroporphyrinic heterocycles: bacteriochlorins and a tetrahydrocorrin, *J Org. Chem.*, 2005, Vol. 70, pp. 5475-5486.
10. Kraye M., Ptaszek M., Kim H.J., Meneely K.R., Fan D., Secor K., Lindsey J.S. Expanded scope of synthetic bacteriochlorins via improved acid catalysis conditions and diverse dihydrodipyrin-acetals, *J Org. Chem.*, 2010, Vol. 75, pp. 1016-1039.
11. Mass O., Lindsey J.S. A trans-AB-bacteriochlorin building block, *J. Org. Chem.*, 2011, Vol. 76, pp. 9478-9487.
12. Huang L., Huang Y.Y., Mroz P., Tegos G.P., Zhiyentayev T., Sharma S.K., Lu Z., Balasubramanian T., Kraye M., Ruzié C., Yang E., Kee H.L., Kirmaier C., Diers J.R., Bocian D.F., Holten D., Lindsey J.S., Hamblin M.R. Stable synthetic cationic bacteriochlorins as selective antimicrobial photosensitizers, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010, Vol. 54, pp. 3834-3841.
13. Schastak S., Gitter B., Handzel R., Hermann R., Wiedemann P. Improved photoinactivation of gram-negative and gram-positive methicillin-resistant bacterial strains using a new near-infrared absorbing meso-tetrahydroporphyrin: a comparative study with a chlorine e6 photosensitizer Photolon, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 2008, Vol. 30, pp. 129-133.
14. Schastak S., Ziganshyna S., Gitter B., Wiedemann P., Claudepierre T. Efficient photodynamic therapy against Gram-positive and Gram-negative bacteria using THPTS, a cationic photosensitizer excited by infrared wavelength, *PLoS One*, 2010, Vol. 5, e11674.
15. Lee C.F., Lee C.J., Chen C.T., Huang C.T. delta-Aminolaevulinic acid mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Pseudomonas aeruginosa* planktonic and biofilm cultures, *J Photochem Photobiol B*, 2004, Vol. 75, pp. 21-25.
16. Street C.N., Gibbs A., Pedigo L., Andersen D., Loebel N.G. In vitro photodynamic eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in planktonic and biofilm culture, *Photochemistry and Photobiology*, 2009, Vol. 85, pp. 137-143.
17. Plotnikova E.A., Lukyanets E.A., Yakubovskaya R.I. Comparative evaluation of the light beam penetration depth into tumor tissue using chlorin and bacteriochlorin series photosensitizers, *Biomedical Photonics, Sp. Is. Materialy V Vserossiiskoi konferentsii Fotodinamicheskaya terapiya i Fotodiagnostika*, 2016, p. 12. (in Russian)
18. *Biofilm infections*, by ed. Bjarnsholt T. Heidelberg, Springer, 2011. 314 p.
19. Makarova E.A., Yakubovskaya R.I., Vorozhtsov G.N., Morozova N.B., Lukyanets E.A., Lastovoi A.P., Plotnikova E.A. *Fotosensibilizator dlya fotodinamicheskoi terapii* [Photosensitizer for photodynamic therapy]. Patent RF, no 254995, 2013.
20. Dudkin S.V., Makarova E.A., Slivka L.K., Lukyanets E.A. Synthesis and properties of tetra- and octacationic meso-tetrakis(3-pyridyl)bacteriochlorin derivatives, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2014, Vol. 18, pp. 107-114.

ИНАКТИВАЦИЯ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНОГО *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ИЗЛУЧЕНИЕМ ДИАПАЗОНА 400-470 НМ

О.В. Кузьмин^{1,2}, Н.И. Фасхутдинова^{1,2}

¹Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

²Laser BioMed LLC, Краснодар, Россия

Резюме

Staphylococcus aureus является одной из основных причин внутрибольничных инфекций, часто вызывая послеоперационные инфекционные раневые осложнения. Широкое распространение в стационарах, а также появление во внебольничной среде клинических изолятов *Staphylococcus aureus*, устойчивых к метициллину (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), оставляет врачей без эффективных средств контроля над инфекцией. Осложнения, вызываемые MRSA, приводят к увеличению сроков госпитализации и показателей летальности. Сложность лечения инфицированных ран и высокая летальность определяют актуальность внедрения в практику стационаров хирургического и ожогового профиля эффективных, альтернативных традиционным способам профилактики и лечения раневых инфекций, к которым бактерии не способны легко развить устойчивость.

Противомикробное действие излучения диапазона 400-470 нм в последнее время привлекает много внимания. Излучение коротковолнового видимого диапазона спектра имеет явное преимущество перед излучением в ультрафиолетовой области UVC (100-280 нм) и UVB (280-315 нм) в связи с общепризнанными рисками повреждения кожи и развития раковых заболеваний вследствие воздействия ультрафиолета. Если сравнивать с фотодинамической терапией, то в данном случае нет необходимости в использовании экзогенных фотосенсибилизаторов, доставка которых к глубоко залегающей в ткани биопленке является довольно затруднительной. И хотя исследования находятся в зачаточном состоянии, проведенные эксперименты *in vitro* и *in vivo* по инактивации клинически значимых изолятов бактерий, характеризующихся резистентностью к антибиотикам, позволяют предполагать, что технология фототерапии с использованием излучения диапазона 400-470 нм может быть весьма перспективна для профилактики и лечения ожоговых и хирургических раневых инфекций. В данной статье анализируется эффективность использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации штаммов бактерий MRSA.

Ключевые слова: MRSA, каротиноиды, стафилоксантин, антиоксидант, порфирины.

Для цитирования: Кузьмин О.В., Фасхутдинова Н.И. Инактивация метициллинрезистентного *Staphylococcus aureus* излучением диапазона 400-470 нм // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 37-43.

Контакты: Кузьмин О.В., e-mail: kuzmin@laser-biomed.com

400-470 NM RADIATION INACTIVATION OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Kuzmin O.V.^{1,2}, Faskhutdinova N.I.^{1,2}

¹Kuban State University, Krasnodar, Russia

²Laser BioMed LLC, Krasnodar, Russia

Abstract

Staphylococcus aureus is one of the major reasons for nosocomial infections that often cause post-surgery wound infectious complications. Prevalence in hospitals as well as occurrence in the community of the clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) leave health professionals without effective means of control over the infection. Complications caused by MRSA lead to longer hospital stay and higher lethality rates. Due to the infected wounds treatment issues and high mortality rate it is important to introduce efficient alternatives to traditional means of treating and preventing wound infections into the clinical practice of inpatient surgical units and burn care facilities. It should be hard for bacteria to develop resistance to these treatment methods and measures of preventive care. Antimicrobial action of the 400-470 nm radiation attracts a lot of attention lately. Shortwave visible radiation has distinct advantages over UVC and UVB given the generally acknowledged skin injury risks and risks of development of cancer resulting from the ultraviolet exposure. In comparison with the photodynamic therapy the 400-470 nm radiation does not require exogenous photosensitizers with their challenging delivery to a biofilm lying deep within a tissue. Despite research being in its infancy, *in vitro* and *in vivo* studies performed to inactivate clinically significant isolates of bacteria characterized by antibiotic resistance suggest that the phototherapy technology using the 400-470 nm radiation has the potential to treat and prevent surgical and burn wound infections. In this paper effectiveness of 400-470 nm radiation for the inactivation of strains of MRSA is analyzed.

Key words: MRSA, biosynthesis, carotenoids, staphyloxanthin, antioxidant, porphyrins.

For citations: Kuzmin O.V., Faskhutdinova N.I. 400-470 nm radiation inactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 4, pp. 37-43 (in Russian).

Contacts: Kuzmin O.V., e-mail: kuzmin@laser-biomed.com

Введение

В последнее десятилетие проблема внутрибольничных инфекций приобрела глобальное значение для всех стран мира. Это обусловлено значительным ростом числа госпитальных штаммов микроорганизмов, обладающих устойчивостью к широкому ряду антимикробных препаратов. Несмотря на значительный недоучет, в Российской Федерации ежегодно регистрируется около 30 тыс. случаев внутрибольничных инфекций. По ориентировочным расчетам ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, в 2015 г. экономический ущерб для РФ только от 35 наиболее актуальных нозологических форм инфекционных заболеваний превысил 549 млрд. руб. (2014 г. – 468 млрд. руб., 2013 г. – 440 млрд. руб.) [1]. Среди возбудителей внутрибольничных инфекций одно из первых мест принадлежит микроорганизмам рода *Staphylococcus*, из которых наиболее патогенным является *Staphylococcus aureus*, способный вызывать более 100 нозологических форм заболеваний.

Эпидемиологическая ситуация осложняется в связи с широким распространением в стационарах, а также появлением и во внебольничной среде клинических изолятов *S. aureus*, устойчивых к метициллину (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA). Наибольшая частота выделения MRSA отмечается в реанимационных, ожоговых, травматологических и хирургических отделениях стационаров. Одной из основных причин этой закономерности является

концентрация в таких стационарах пациентов с нарушениями целостности кожных покровов и поврежденным иммунологическим барьером. Основным местом локализации инфекции являются послеоперационные и ожоговые раны, при этом первичные и вторичные бактериемии наблюдаются примерно у 20% инфицированных больных. Развитие бактериемии значительно увеличивает вероятность летального исхода. Особенно высокая смертность, обусловленная бактериемией, наблюдается среди пациентов, находящихся в ожоговых отделениях и отделениях интенсивной терапии, где она может достигать 50%. Риск развития летального исхода возрастает почти в три раза среди пациентов, у которых бактериемия обусловлена MRSA, по сравнению с пациентами, инфицированными метициллинчувствительными штаммами *S. aureus* [2].

Высокой жизнеспособности *S. aureus* способствует синтезируемый бактерией стафилоксантин, который представляет собой тритерпеноид, C_{30} -каротиноид. Он расположен в клеточной мембране и действует как антиоксидант.

Биосинтез стафилоксантина *S. aureus*

S. aureus имеет золотистый или желтый цвет (рис. 1), обусловленный пигментами из группы каротиноидов, основным из которых является стафилоксантин – β -D-глюкопиранозил-1-O-(4,4'-диапоневроспорен-4-окта)-6-O-(12-метилтетрадеканоат).

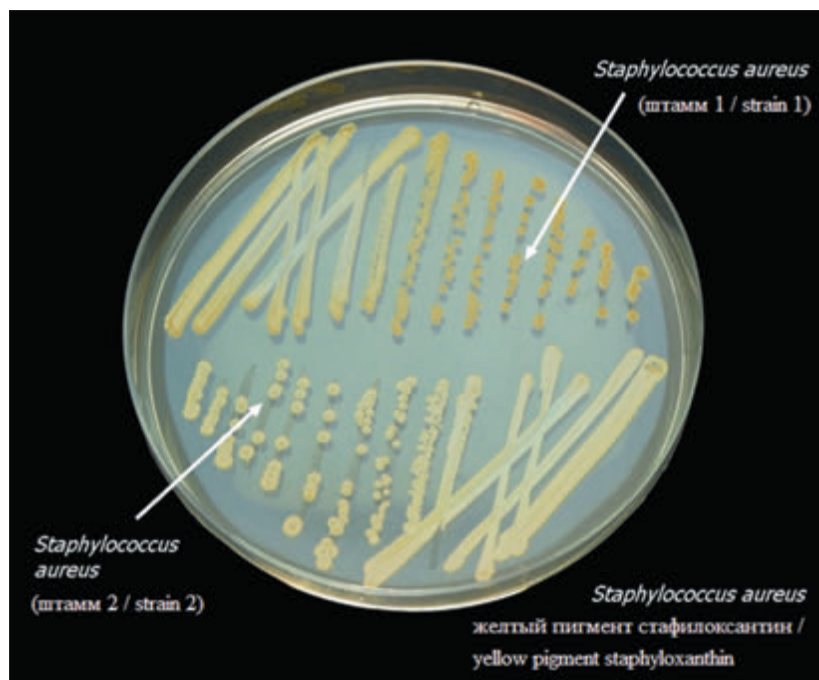
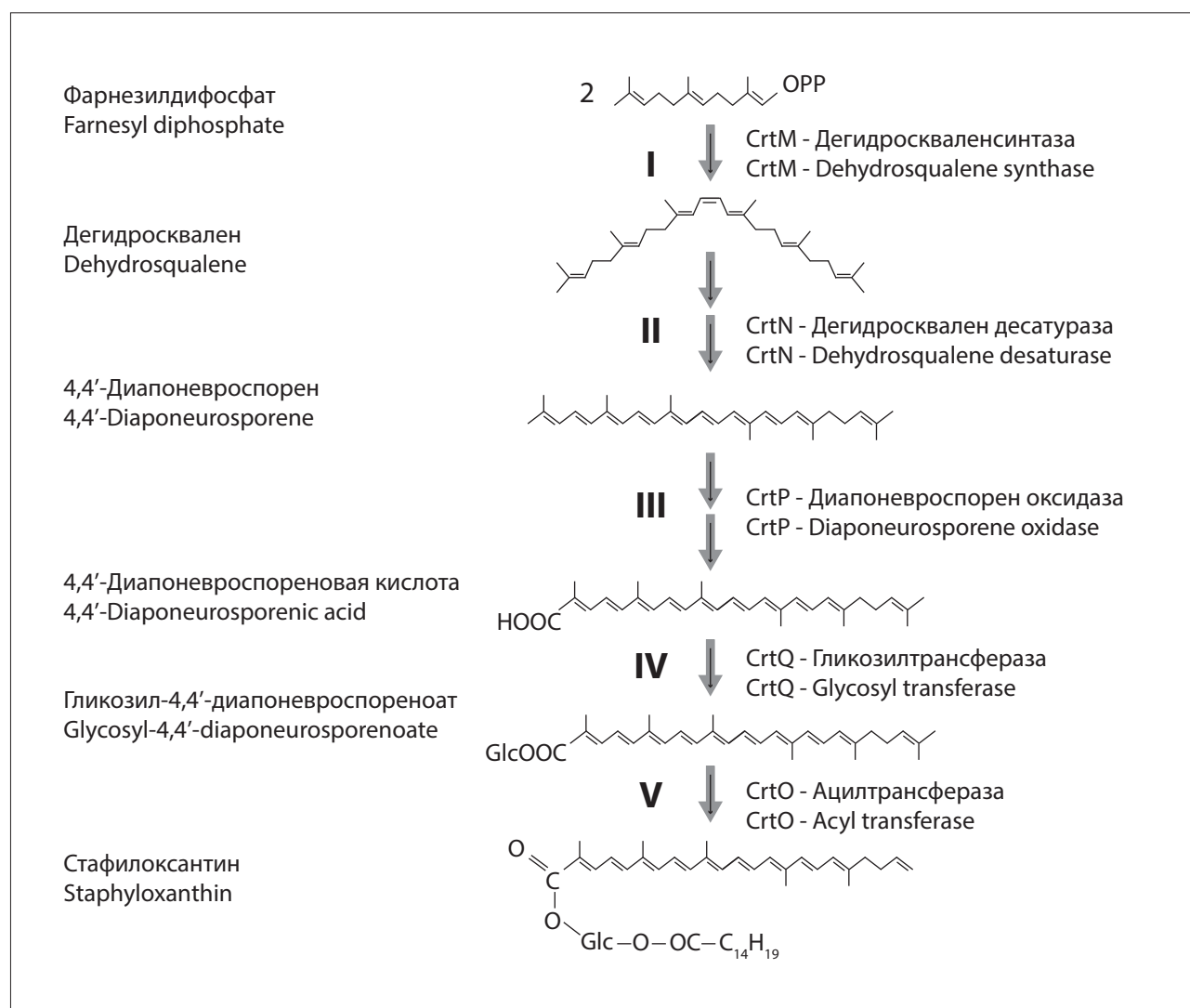


Рис. 1. Два штамма *Staphylococcus aureus* на триптическом соевом агаре. Выращивание 24 ч, аэробная атмосфера, 37°C (по данным сайта www.bacteriainphotos.com)

Fig. 1. Two strains of *Staphylococcus aureus* on Tryptic Soy Agar. Cultivation for 24 hours, aerobic atmosphere, 37°C (from www.bacteriainphotos.com)

**Рис. 2.** Путь биосинтеза стафилоксантина (Pelz A. с соавт., 2005)**Fig. 2.** Staphyloxanthin biosynthesis pathway (Pelz A. et al., 2005)

Синтез стафилоксантина является сложным биохимическим процессом. Он осуществляется в клетках бактерий и протекает с участием различных энзиматических систем, контролируемых многими генами. Постулированный путь биосинтеза стафилоксантина (рис. 2) начинается с конденсации двух молекул фарнезилдифосфата по типу «голова к голове» дегидроскваленсинтазой (CrtM) с образованием дегидросквалена (4,4'-диапофитоена). Дегидросквален десатураза (CrtN) дегидрирует дегидросквален с образованием первого желтого промежуточного соединения 4,4'-диапоневроспорена. Диапоневроспорен оксидаза (CrtP) представляет собой смешанную функциональную оксидазу, которая окисляет концевую метильную группу 4,4'-диапоневроспорена с образованием 4,4'-диапоневроспореновой кислоты. Гликозилтрансфераза (CrtQ) этерифицирует глюкозу в положении C₁' с карбоксильной группой 4,4'-диапо-

невроспореновой кислоты с получением гликозил-4,4'-диапоневроспореноата. На заключительной стадии, ацилтрансфераза (CrtO) этерифицирует глюкозу в положении C₆' с карбоксильной группой 12-метилтетрадекановой кислоты с образованием стафилоксантина [3].

Стафилоксантин может быть критическим фактором вирулентности инфекций, вызванных *S. aureus* из-за его способности нейтрализовать антисептические субстраты различных химических групп, таких как супероксид, перекись водорода, гипохлорная кислота, альдегидсодержащие препараты. Стафилоксантин позволяет бактерии детоксифицировать реактивные формы кислорода, генерируемые, главным образом, нейтрофилами. Мутантные колонии штамма *S. aureus* с отсутствием стафилоксантина быстро погибают под воздействием нейтрофилов [4].

Фотоинактивация MRSA

Традиционный подход к ликвидации раневой инфекции сводится к применению антибиотиков в комбинации с антисептическими средствами, которые стали малоэффективными из-за развития устойчивых видов бактерий. Кроме того, ограниченное проникновение лекарств в бактериальную биопленку приводит к снижению эффективности такого вида лечения. Очевидно, что растет потребность в новых инновационных подходах, ведущих к уничтожению бактерий. Одной из областей, представляющей интерес, является использование технологий обработки ран с использованием излучения коротковолнового видимого диапазона спектра.

Бактерицидное действие излучения УФ диапазона спектра хорошо известно, но даже минимальная передозировка УФ опасна для здоровой биоткани. Излучение коротковолнового видимого диапазона спектра имеет явное преимущество в связи с общепризнанными рисками повреждения кожи и развития раковых заболеваний вследствие воздействия ультрафиолета.

Противомикробное действие излучения диапазона 400–470 нм в последнее время привлекает много внимания. По данным отдельных авторов, по сравнению с фотодинамической терапией, подавление активности патогенных бактерий излучением диапазона 400–470 нм технически выполнить проще, поскольку при этом нет необходимости в использовании экзогенных фотосенсибилизаторов, доставка которых к микробам-мишеням, находящимся глубоко в примыкающей к ткани биопленке, является довольно затруднительной. Многочисленные исследования подтверждают существование терапевтического окна фиолетово-синего излучения для лечения бактериальных инфекций, где активность бактерий селективно подавляется, в то время как клетки тканей организма-хозяина сохраняют свою структуру. Механизм бактерицидного действия фиолетово-синего излучения пока не изучен, но объясняется тем, что излучение этого диапазона спектра поглощается продуцируемыми бактериями порфиринами, в результате чего повышается уровень свободных радикалов, которые могут разрушать цитоплазматические мембраны и ДНК бактерий. Порфирины имеют интенсивную полосу поглощения в видимом диапазоне спектра с максимумом около 400 нм, известной как полоса Соре или В, что является отличительной чертой порфиринового кольца и характерно для всех порфиринов, независимо от присутствующих боковых цепей. Излучение диапазона 400–470 нм также может вызывать гибель бактерий за счет его воздействия на светочувствительные пигменты, вырабатываемые бактериями [5].

Проведенные М. Maclean с соавт. исследования чувствительности штамма NCTC 4135 *S. aureus* к видимому

свету с использованием высокоинтенсивной ксеноновой лампы и фильтрами LP, SP и BP продемонстрировали бактерицидный эффект, а также идентифицировали длины волн в диапазоне 400–420 нм, обладающие бактерицидным эффектом [6]. Результаты показали, что инактивация штамма NCTC 4135 *S. aureus* очевидна, и наиболее эффективной бактерицидной активностью обладает диапазон 405 нм. При облучении со световой дозой 23,5 Дж/см² суспензии NCTC 4135 *S. aureus* с плотностью популяции 2,0·10⁵ КОЕ/мл удалось снизить популяцию на 2,4 log₁₀. Хотя колонию бактерий полностью уничтожить не удалось, эксперименты с использованием узкополосных фильтров позволили оценить эффективность узкополосного света в пределах 10 нм в диапазоне 400–420 нм.

Первые исследования *in vivo* были проведены Т. Dai с соавт., которые показали, что излучение фиолетового диапазона спектра быстро сокращает бактериальный груз инфекций, вызванных метициллин-резистентным золотистым стафилококком USA300 LAC (клон штамма CA-MRSA) на ранних и верифицированных стадиях [7].

В качестве источника излучения использовали светодиодную матрицу с длиной волны 415 нм. В экспериментах *in vitro* использовали суспензию USA300 LAC с плотностью популяции 10⁷ КОЕ/мл, подавление бактериальной активности на 4,75 log₁₀ было достигнуто после воздействия излучения со световой дозой 168,3 Дж/см². Морфологические и структурные изменения, индуцированные в клетках USA300 LAC после воздействия излучения на 415 нм исследовали трансмиссионным электронным микроскопом (рис. 3).

Для исследований *in vivo* авторы использовали взрослых самцов мышей инбредной линии BALB/c, в возрасте 7–8 нед и весом 16–18 г. Перед бактериальной инокуляцией мышам делали две внутрибрюшинные инъекции циклофосфида, обладающего выраженным иммуносупрессивным действием, что уменьшило количество нейтрофилов в периферической крови, делая мышей более уязвимыми для инфекции.

Далее мышей анестезировали, кожу выбривали и истирали, используя лезвие скальпеля, удаляя при этом большую часть эпидермиса. В рану размером ~ 1,2х1,2 см каждой мыши инокулировали одну каплю подготовленной бактериальной суспензии. Одной партии мышей инокулировали в раны бактериальную суспензию USA300 LAC, содержащую 3·10⁶ КОЕ/мл, другой партии – суспензию USA300 LAC, содержащую 3·10⁵ КОЕ/мл. Для мониторинга в реальном масштабе времени степени заражения мышей использовалась биолюминесцентная визуализация.

Мышей, в рану которых инокулировали бактериальную суспензию, содержащую 3·10⁶ КОЕ/мл, выдерживали 30 мин, после чего рану облучали светодиодной матрицей. Сокращение бактериальной люминес-

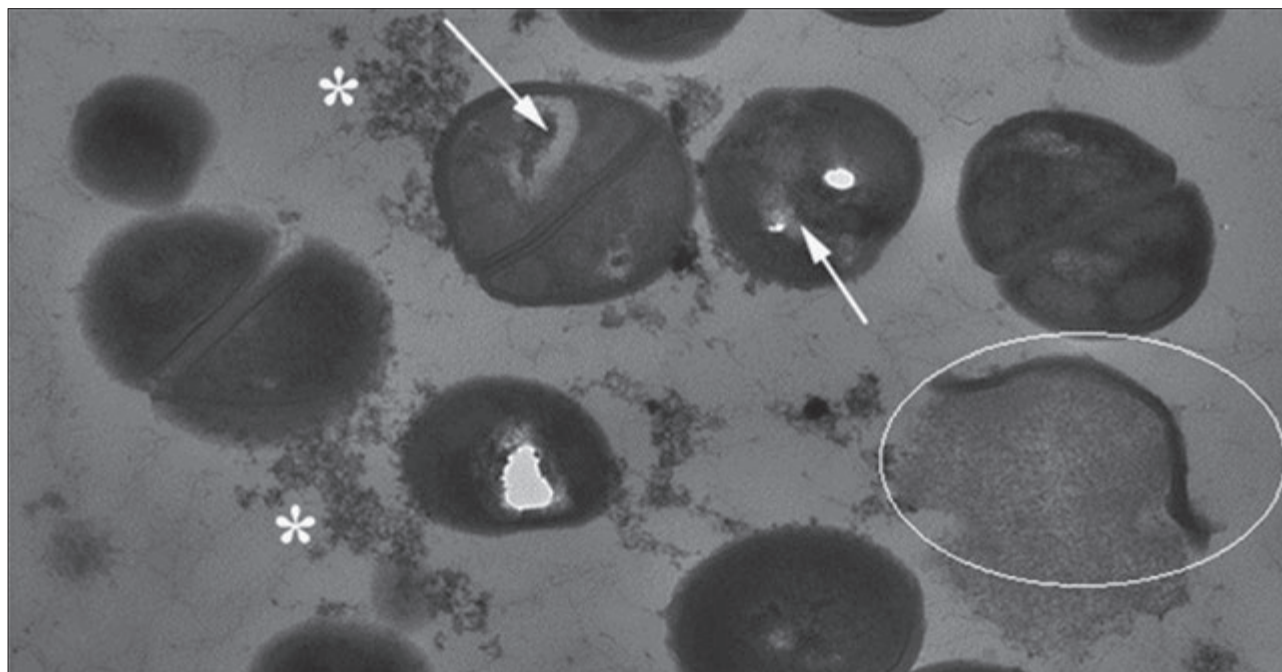


Рис. 3. Изображение, полученное с помощью трансмиссионного электронного микроскопа (TEM). Клетки MRSA: стрелки – нарушение цитоплазматического содержимого; звездочки – клеточный мусор; овал – нарушение целостности и разрушение клеточных стенок бактерий (Dai T. с соавт., 2013)

Fig. 3. Transition electron microscopy (TEM) image. MRSA cells: arrows – disruption of cytoplasmic contents; asterisks – cell debris; oval – disruption and breakage of bacterial cell wall (Dai T. et al., 2013)

ценции более, чем на $2 \log_{10}$ было достигнуто после воздействия излучения со световой дозой $41,4 \text{ Дж/см}^2$ (46-минутная экспозиция при мощности излучения $15,0 \text{ мВт/см}^2$). Мышей, бактериальная инокуляция ран которых составляла $3 \cdot 10^5$ КОЕ/мл, перед обработкой излучением выдерживали в течение 24 ч. Для сокращения бактериальной инфекции более чем на $2 \log_{10}$ потребовалась световая доза облучения 108 Дж/см^2 (экспозиция в течение 120 мин при мощности излучения $15,0 \text{ мВт/см}^2$). Поскольку в ранах обеих групп мышей инфекция полностью не была устранена, бактериальный рост, отмеченный рецидивом бактериальной люминесценции, наблюдался в ранах через 24 ч после светотерапии.

Интересным результатом настоящего исследования является то, что фотоинактивация бактериальной популяции *in vivo* была более эффективной, чем инактивация бактериальной популяции *in vitro*. Это различие T. Dai с соавт. связывают с окружающей средой *in vivo*, которая, возможно, благоприятствует метаболизму бактериальных клеток и способствует биосинтезу внутриклеточных порфиринов, делая бактерии более светочувствительными.

Было также установлено, что раны, обработанные через 24 ч после бактериальной инокуляции, были более устойчивыми к фототерапии, чем обработанные через 30 мин после инокуляции инфекции, поскольку бактериальные клетки могли распростра-

ниться в более глубокие слои ткани, такие как дерма, где светопроницаемость была ослаблена.

Чтобы предотвратить рост бактерий, особенно у нейтропенических мышей (используемых для имитации пациентов с ослабленным иммунитетом), где отсутствует защита хозяина, более длинная обработка раны излучением требуется даже после того, как бактериальная люминесценция почти полностью устранена. Другим вариантом предотвращения повторного роста может быть синергетическая комбинация антибиотиков с фототерапией.

Возможность подавления роста MRSA на 100% *in vitro* была продемонстрирована V. Vumah с соавт. [8]. Они культивировали бактериальные суспензии, содержащие $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл и $7 \cdot 10^6$ КОЕ/мл штамма USA300 MRSA, а затем культуральные планшеты облучали светодиодными матрицами с длиной волны 405 нм и 470 нм.

При популяции колонии бактерий $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл для 100% подавления роста понадобилось двойное облучение со световой дозой 60 Дж/см^2 как на 405 нм, так и на 470 нм.

Популяция колонии бактерий $7 \cdot 10^6$ КОЕ/мл требовала нескольких или более высоких световых доз облучения для подавления MRSA. Наилучший результат дало тройное облучение со световой дозой $45\text{--}60 \text{ Дж/см}^2$ независимо от длины волны, но оно не привело к полному подавлению бактериального роста. 100%-

ное подавление роста было достигнуто при облучении на 470 нм со световой дозой 220 Дж/см². Полностью подавить рост бактерий излучением на 405 нм удалось только двукратным облучением со световой дозой 220 Дж/см², повторяемым с интервалом 6 ч.

Анализ эффективности использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации штаммов бактерий MRSA

Безусловно, вышеперечисленные исследования доказывают перспективность использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации штаммов MRSA.

Однако во всех исследованиях авторы связывают антибактериальное действие излучения с присутствием в *S. aureus* эндогенных порфиринов.

Бактерии *S. aureus* вырабатывают порфирины: копропорфирин (главным образом, тип III) в среду и уропорфирин (главным образом, тип I) внутри клеток [9]. Наиболее интенсивная полоса поглощения перечисленных порфиринов находится в диапазоне 350-420 нм с максимумами на 385 и 400 нм (рис. 4).

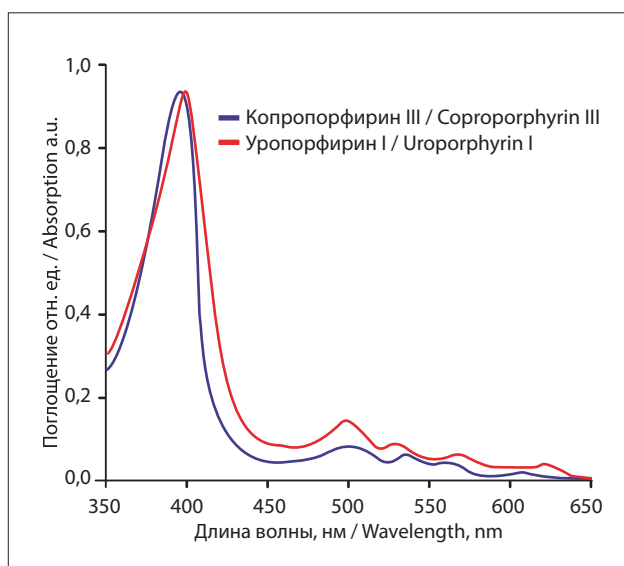


Рис. 4. Спектры поглощения порфиринов (De la Fuente R. с соавт., 1986)
Fig. 4. Porphyrins absorption spectra (De la Fuente R. et al., 1986)

T. Dai с соавт. облучали популяцию колонии бактерий 10⁷ КОЕ/мл светодиодной матрицей на 415 нм. Подавление бактериальной активности на 4,75 log₁₀ было достигнуто после воздействия излучения со световой дозой 168,3 Дж/см².

Исследования V. Vumah с соавт. были более успешны: популяцию колонии бактерий 7·10⁶ КОЕ/мл удалось полностью инактивировать облучением на 470 нм со световой дозой 220 Дж/см² и только двукратным облучением с той же световой дозой излучения на 405 нм, повторяемой с интервалом 6 ч.

Если в инактивации MRSA участвуют порфирины, то, исходя из спектров поглощения порфиринов, самым эффективным должно быть излучение на 405 нм, затем излучение на 415 нм. Однако V. Vumah с соавт. в своих исследованиях показали, что синее излучение на 470 нм, слабо поглощаемое порфиринами, эффективнее инактивирует MRSA, чем фиолетовое излучение на 405 нм и 415 нм.

Спектр поглощения стафилоксантина (рис. 5) имеет широкую полосу поглощения от 350 до 550 нм с максимумами на 463 нм и 490 нм. Излучение на 405 нм и 415 нм попадает в край полосы поглощения, в то время как излучение на 470 нм поглощается стафилоксантином наиболее эффективно.

Поэтому логично предположить, что в инактивации MRSA в качестве основного фоторецептора выступает именно стафилоксантин, поскольку прослеживается линейная связь между поглощенной стафилоксантином световой дозой излучения на 470 нм и эффективностью воздействия – снижением популяции колонии бактерий MRSA.

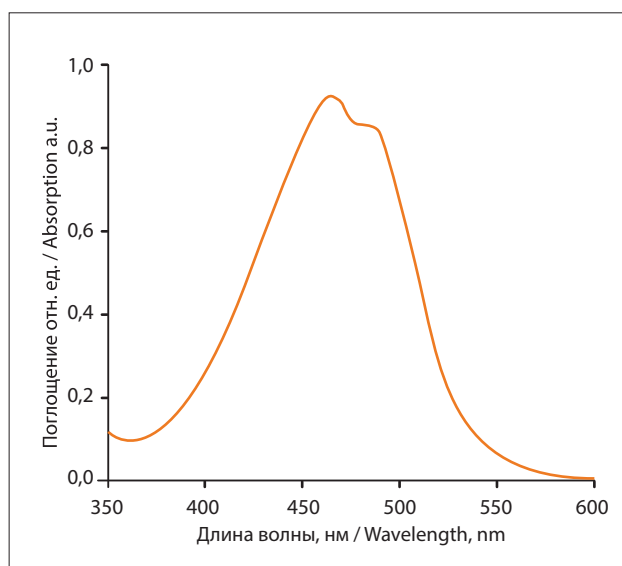


Рис. 5. Спектр поглощения стафилоксантина (Kim S.H., Lee P.C., 2012)
Fig. 5. Staphyloxanthin absorption spectrum (Kim S.H., Lee P.C., 2012)

Если же в инактивации MRSA участвуют и продуцируемые бактериями порфирины, то воздействие сочетанного излучения на 385-400 нм и 460-470 нм будет много эффективнее при более низких дозах облучения.

Обзор литературных источников позволяет сделать вывод о перспективности использования излучения диапазона 400-470 нм для инактивации MRSA и необходимости продолжения работ по оптимизации параметров излучения фиолетово-синего диапазона спектра для успешной инактивации MRSA при более низких дозах облучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оценка экономического ущерба, наносимого вакциноуправляемыми болезнями: Отчет о НИР ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. – М., – 2016. – 19 с.
2. Лазикова Г.Ф., Мельникова А.А., Фролова Н.В. Метициллин-резистентные стафилококки – возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование: методические рекомендации / М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора – 2006. – 43 с.
3. Pelz A., Wieland K.P., Putzbach K., et al. Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus* // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280(37). – P. 32493-32498.
4. Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., et al. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 202(2). – P. 209-215.
5. Vatansever F., Ferraresi C., de Sousa M.V., et al. Can biowarfare agents be defeated with light? // *Virulence*. – 2013. – Vol. 4(8). – P. 796-825.
6. Maclean M., MacGregor S.J., Anderson J.G., Woolsey G. High-intensity narrow-spectrum light inactivation and wavelength sensitivity of *Staphylococcus aureus* // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2008. – Vol. 285(2). – P. 227-232.
7. Dai T., Gupta A., Huang Y.Y., et al. Blue Light Eliminates Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Infected Mouse Skin Abrasions // *Photomed. Laser Surg.* – 2013. – Vol. 31(11). – P. 531-538.
8. Bumah V.V., Masson-Meyers D.S., Cashin S., Enwemeka C.S. Optimization of the antimicrobial effect of blue light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro // *Lasers Surg. Med.* – 2015. – Vol. 47(3). – P. 266-272.
9. De la Fuente R., Schleifer K.H., Götz F., Köst H.-P. Accumulation of porphyrins and pyrrole pigments by *Staphylococcus aureus* ssp. *anaerobius* and its aerobic mutant // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1986. – Vol. 35. – P. 183-188.

REFERENCES

1. *Otsenka ekonomicheskogo ushcherba, nanosimogo vaksinoupravlyаемymi boleznyami. Otchet o NIR FBUN TsNII Epidemiologii Rospotrebнадзора* [Assessment of the economic costs caused by vaccines-controlled diseases. Research report Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology" of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance]. Moscow, 2016. 19 p. (in Russian)
2. Lazikova G.F., Mel'nikova A.A., Frolova N.V. *Metitsillinrezistentnye stafilokokki – vzbuditeli vnutribol'nichnykh infektsii: identifikatsiya i genotipirovanie. Metodicheskie rekomendatsii* [Methicillin-Resistant *Staphylococci* – healthcare-associated infections agents: identification and genotyping: methodological recommendations]. Moscow, Federal'nyi tsentr gigieny i epidemiologii Rospotrebнадзора, 2006. 43 p. (in Russian)
3. Pelz A., Wieland K.P., Putzbach K., Hentschel P., Albert K., Götz F. Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*, *J. Biol. Chem.*, 2005, Vol. 280(37), pp. 32493-32498.
4. Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., Datta V., Hoffman H.M., Bastian J.F., Fierier J., Nizet V. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity, *J. Exp. Med.*, 2005, Vol. 202(2), pp. 209-215.
5. Vatansever F., Ferraresi C., de Sousa M.V., Yin R., Rineh A., Sharma S.K., Hamblin M.R. Can biowarfare agents be defeated with light?, *Virulence*, 2013, Vol. 4(8), pp. 796-825.
6. Maclean M., MacGregor S.J., Anderson J.G., Woolsey G. High-intensity narrow-spectrum light inactivation and wavelength sensitivity of *Staphylococcus aureus*, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2008, Vol. 285(2), pp. 227-232.
7. Dai T., Gupta A., Huang Y.Y., Sherwood M.E., Murray C.K., Vrahas M.S., Kielian T., Hamblin M.R. Blue Light Eliminates Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Infected Mouse Skin Abrasions, *Photomed. Laser Surg.*, 2013, Vol. 31(11), pp. 531-538.
8. Bumah V.V., Masson-Meyers D.S., Cashin S., Enwemeka C.S. Optimization of the antimicrobial effect of blue light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro, *Lasers Surg. Med.*, 2015, Vol. 47(3), pp. 266-272.
9. De la Fuente R., Schleifer K.H., Götz F., Köst H.-P. Accumulation of porphyrins and pyrrole pigments by *Staphylococcus aureus* ssp. *anaerobius* and its aerobic mutant, *FEMS Microbiol. Lett.*, 1986, Vol. 35, pp. 183-188.

ПРОФЕССОРУ ЕВГЕНИЮ ФИЛИППОВИЧУ СТРАНАДКО – 80 ЛЕТ

14 июля 2017 г. исполнилось 80 лет со дня рождения выдающегося ученого, доктора медицинских наук, академика Лазерной академии наук, лауреата Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники Евгения Филипповича Странадко.

После окончания Горьковского медицинского института Евгений Филиппович работал сначала хирургом, потом возглавил хирургическое отделение в одной из больниц Владимирской области. В 1965 г. поступил в аспирантуру на кафедру онкологии Центрального ордена Ленина института усовершенствования врачей на базе Института экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР (в настоящее время – Онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН), где работал в качестве младшего научного сотрудника. В 1969 г. после защиты диссертации, посвященной лечению рака легкого, Евгений Филиппович перешел на работу во Всесоюзный НИИ клинической и экспериментальной хирургии Минздрава СССР. В 1979 г. Е.Ф. Странадко защитил докторскую диссертацию по теме «Осложнения пищеводных анастомозов».

В 1978 г. Евгений Филиппович начал работать в Московском научно-исследовательском онкологическом институте им. П.А. Герцена, в дальнейшем возглавив отделение эффективности противораковой борьбы МНИОИ им. П.А. Герцена.

В 1988 г. Е.Ф. Странадко занял должность главного онколога Главного управления здравоохранения Мосгорисполкома, провел большую работу по организации онкологической службы Москвы, уделяя особое внимание профилактике онкологических заболеваний и усилению амбулаторной помощи. В 1991 г. был избран по конкурсу на должность руководителя отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии (ФДТ) в НИИ Лазерной медицины (в настоящее время – ФГБУ ГНЦ лазерной медицины им. О.К. Скобелкина ФМБА). Работая в этой должности, Евгений Филиппович применил ФДТ для лечения онкологических больных, став одним из основоположников клинического применения этого метода в России.



В 1997 г. Е.Ф. Странадко получил ученую степень профессора по специальности «Онкология». В этом же году Евгений Филиппович стал академиком Лазерной академии наук, а в 2005 г. – академиком Российского отделения Международной академии семейной медицины.

Е.Ф. Странадко – автор более 800 научных работ, в том числе более 40 монографий, учебных пособий и методических рекомендаций по вопросам хирургического лечения злокачественных опухолей пищеварительного тракта, комбинированного и комплексного лечения рака молочной железы, дыхатель-

ных путей и сарком мягких тканей, организации противораковой борьбы и мониторинга онкологических заболеваний на ранних стадиях, а также применению лазерной медицины и ФДТ при лечении опухолевых и неопухолевых заболеваний различной локализации.

Евгений Филиппович был в числе первых практикующих врачей, применивших отечественные фотосенсибилизаторы фотогем и фотодитазин для лечения пациентов. С 1992 г. он является постоянным участником конгрессов и конференций по онкологии, лазерной медицине и ФДТ, проходящих в России, Европе и по всему миру.

Профессор Е.Ф. Странадко – член ученых и диссертационных советов, проблемных и аттестационных комиссий, член редакционного совета журнала «Фотобиология и фотомедицина», член редколлегии журналов «Лазерная медицина» и «Biomedical photonics», также Евгений Филиппович является членом Всемирной фотодинамической ассоциации, членом Российской фотодинамической ассоциации, а также членом Международного общества оптической техники.

В 2011 г. выдающиеся профессиональные достижения Е.Ф. Странадко были отмечены вручением государственной премии Правительства РФ в области науки и техники «За разработку и внедрение медицинских технологий флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии в онкологическую практику», а в 2017 г. – вручением профессиональной награды «За вклад в развитие фотодинамической терапии и фотодиагностики».

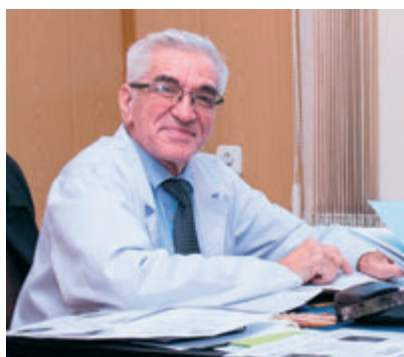
Редколлегия журнала «Biomedical photonics», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Евгения Филипповича, искренне желают ему долгих лет активной жизни, будущих профессиональных успехов и открытий!

ПРОФЕССОРУ НИКОЛАЮ НИКОЛАЕВИЧУ ПЕТРИЩЕВУ – 80 ЛЕТ

17 декабря 2017 г. отмечает свой 80-летний юбилей заслуженный деятель науки РФ, академик Международной академии высшей школы, академик Российской академии естественных наук Петрищев Николай Николаевич. Николай Николаевич родился в Ленинграде и в период Великой Отечественной войны все 900 блокадных дней находился в городе. В 1955 г. поступил в 1-ый Ленинградский медицинский институт им. акад. И.П. Павлова. В 1961 г. после окончания института и получения диплома с отличием он был оставлен в аспирантуре на кафедре патофизиологии. В 1964 г. Н.Н. Петрищев успешно защитил кандидатскую диссертацию «Значение щитовидной железы в кроветворении при лучевой болезни», а в 1976 г. – докторскую диссертацию «Реактивность системы свёртывания крови и гормональная регуляция».

В 1977 г. он был избран профессором и заведующим кафедрой патофизиологии Ленинградского медицинского института. В должности заведующего кафедрой профессор Н.Н. Петрищев проработал более 30 лет (с 1977 по 2008 гг.). Успешному развитию научных исследований на кафедре в этот период способствовало серьезное техническое переоснащение лабораторий кафедры, традиционным стало комплексирование научных исследований с клиническими кафедрами, Научно-исследовательскими институтами Санкт-Петербурга и других городов. Преподавательскую деятельность Николай Николаевич совмещал с работой в деканате: с 1977 по 1987 гг. был деканом стоматологического факультета, а с 1987 по 2012 гг. – деканом лечебного факультета. С 2014 г. является советником ректора по учебной работе. Николая Николаевича отличают доброжелательное отношение к студентам и сотрудникам, высокий профессионализм, готовность оказать эффективную помощь, поэтому многие поколения выпускников относятся к Николаю Николаевичу с уважением и любовью.

В Центре лазерной медицины ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, которым Николай Николаевич руководит с 1996 г., научные сотрудники исследуют фундаментальные вопросы взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями, механизмы фотодинамической терапии, а также разрабатывают



новые методы диагностики и лечения с применением лазерного излучения. Н.Н. Петрищев является ведущим специалистом в области патофизиологии микроциркуляции и гемостаза. Под его руководством получены новые данные о механизмах тромборезистентности сосудов, выявлены типовые нарушения тромбогенных свойств сосудов при различных патологических процессах, обосновано положение о роли

дисфункции эндотелия в патогенезе ряда заболеваний, изучены механизмы фотореактивности сосудов микроциркуляторного русла при лазерном и фотодинамическом воздействии. В последние годы под руководством и при непосредственном участии Николая Николаевича развивается новое научное направление – фотодинамическая терапия.

Отличительными чертами Николая Николаевича как ученого, являются удивительная оригинальность научных идей в сочетании с научной прозорливостью, а также его открытость, готовность к сотрудничеству. Им опубликовано более 300 научных и методических работ. Он является автором и редактором ряда сборников научных работ, нескольких учебников и монографий, 12 изобретений, патентов и авторских свидетельств, награжден памятной медалью «Автору научного открытия», является главным редактором журнала «Регионарное кровообращение и микроциркуляция» и членом редколлегии ряда других научных журналов. Под руководством профессора Н.Н. Петрищева подготовлено 15 докторов и 32 кандидата наук.

Научно-исследовательская и организационная деятельность Н.Н. Петрищева получили широкое признание научной общественности. Н.Н. Петрищев одним из первых патофизиологов Российской Федерации удостоен медали «В.В. Пашутин». Ему присвоены почётные звания заслуженный деятель науки РФ, заслуженный работник Высшей школы РФ, Почётный доктор ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, академик Международной академии высшей школы, академик Российской академии естественных наук. С 1985 по 2008 гг. являлся председателем Правления Санкт-Петербургского общества патофизиологов, является членом Международных научных обществ патофизиологии, микроциркуляции.

Редколлегия журнала «Biomedical photonics», коллеги и ученики от всего сердца поздравляют Николая Николаевича, искренне желают крепкого здоровья, профессионального и жизненного долголетия, успехов в научной деятельности и управлении образовательным процессом!

ПРЕСС-РЕЛИЗ VI ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ФОТОДИАГНОСТИКА»

14-16 сентября 2017 г., в год 25-летнего юбилея клинического применения фотодинамической терапии в России, в Ростове-на-Дону прошла VI Всероссийская конференция с международным участием «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика».



«Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» является главной тематической конференцией, которая освещает последние достижения российских ученых в области флуоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ). Докладчиками и слушателями конференции выступают представители разных профессий, от ученых-разработчиков активных веществ и инженеров, занимающихся созданием оборудования для ФД и ФДТ, до врачей-клиницистов, применяющих методики для диагностики и

лечения конкретных заболеваний на практике. Такое разнообразие участников создает уникальные условия для обсуждения последних достижений в данной области, результатов применения разрабатываемых методик, а также поиска необходимых составляющих для продолжения дальнейших исследований и внедрения разработок в жизнь. Поэтому неудивительно, что конференция вызывает высокую степень заинтересованности со стороны специалистов в области ФДТ. За последние два года количество участников



конференции увеличилось в два раза: с 300 до более чем 600 человек. А количество представителей стран-участников выросло до 6.

Среди докладчиков и слушателей конференции в 2017 г. выступили специалисты из 20 практикующих организаций медицинского профиля, 15 научно-исследовательских институтов, 11 образовательных учреждений и 7 научно-производственных фармацевтических компаний и компаний-разработчиков лазерного оборудования. На съезде присутствовали представители всех 9 Федеральных округов Российской Федерации (Центральный, Северо-Западный, Сибирский, Приволжский, Южный, Уральский, Северо-Кавказский и Дальневосточный, Крымский) и 11 экономических районов Российской Федерации (Центральный, Централь-

Черноземный, Восточно-Сибирский, Дальневосточный, Северный, Северо-Кавказский, Северо-Западный, Поволжский, Уральский, Волго-Вятский и Западно-Сибирский), 25 из 85 субъектов Российской Федерации (6 республик – Северная Осетия, Кабардино-Балкария, Чувашия, Саха (Якутия), Татарстан, Чечня; 4 края – Алтайский, Камчатский, Краснодарский, Ставропольский; 12 областей – Астраханская, Архангельская, Амурская, Ивановская, Нижегородская, Новосибирская, Калужская, Ростовская, Саратовская, Томская, Челябинская, Московская; 3 города федерального значения – Москва, Санкт-Петербург и Севастополь. Также в конференции приняли участие специалисты из стран ближнего и дальнего зарубежья: Германии, Чехии, Франции, республики Беларусь, Киргизии и Казахстана.

Продолжительность конференции составила три дня. За этот период было проведено 4 пленарных и 11 секционных заседаний, заслушано и обсуждено 77 устных докладов. Торжественная церемония открытия конференции была завершена вручением профессору Е.Ф. Странадко, профессору А.А. Красновскому и профессору С.Д. Никонову почетного знака «За вклад в развитие фотодинамической терапии». На пленарных заседаниях обсуждались итоги 25-летнего периода развития ФДТ в России; были заслушаны доклады из Беларуси, Чехии и Германии, представляющие опыт этих стран в данной области; фундаментальные вопросы ФД и ФДТ. За три дня работы конференции проведены секционные заседания: «Нанопотенсибилизаторы для биомедицинской фотоники»; «Новые фотосенсибилизаторы и системы доставки»; «Механизмы ФД и ФДТ»; «ФД и ФДТ опухолей органов головы и шеи, нейроонкология»; «ФД и ФДТ в гинекологии и урологии»; «Опыт применения ФД и ФДТ в регионах, диспансерах, клиниках»; «ФД и ФДТ неонкологических и инфекционных заболеваний»; «ФД и ФДТ в онкодерматологии»; «ФД и ФДТ в дерматологии и косметологии»; «ФД и ФДТ в торакальной и абдоминальной онкологии»; «Эндоскопическая ФД и ФДТ».

Третий день конференции был посвящен заседанию, на котором гости конференции могли стать свидете-

лями различных врачебных манипуляций с применением ФД и ФДТ технологий в режиме онлайн. На протяжении 4,5 ч было проведено четыре прямых включения из операционных, в течение которых зрители наблюдали за эндоскопической ФДТ рака гортаноглотки; эндоскопической ФДТ рецидива рака правого легкого; эндоскопической ФДТ стенозирующего рецидивного рака пищевода и комбинированной эндоскопической ФДТ рака левого трахеобронхиального угла, осложненной рубцовым стенозом левого главного бронха.

В период работы всей конференции были организованы постерная сессия и проведена выставка оборудования для ФД и ФДТ. Третий год подряд в рамках конференции проводился конкурс молодых ученых – специалистов в области ФД и ФДТ. Победители конкурса молодых ученых были награждены грамотами и ценными призами в заключительный день конференции.

VI конференция «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» традиционно закончилась заседанием Президиума Правления Российской Фотодинамической Ассоциации, на котором были подведены итоги конференции, утверждена принятая резолюция, отмечены достижения и существующие проблемы, намечены основные направления дальнейшего развития и внедрения в медицинскую практику методов ФД и ФДТ.



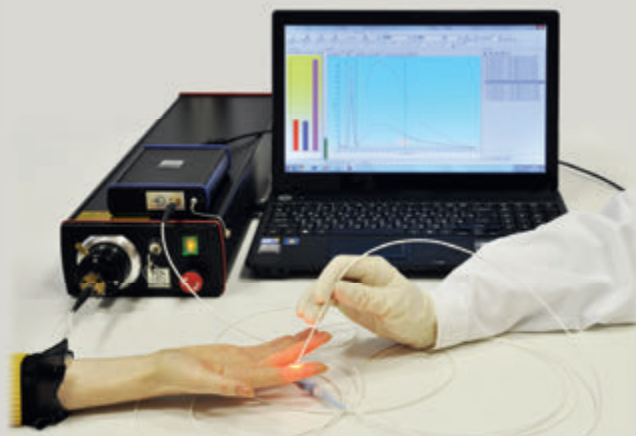
Кабинет для проведения фотодинамической терапии*

ЛЭСА-01-"БИОСПЕК"

Установка лазерная электронно-спектральная для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии

- Позволяет локально определять степень накопления фотосенсибилизатора в любых органах пациента, доступных для волоконно-оптического зонда
- Диаметр стандартного зонда 1.8 мм, подходит для эндоскопического и лапароскопического оборудования

Установка для локальной спектроскопии



Регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03784 от 12.12.2008

Сертификат соответствия РОСС RU.ИМ32.Н00344 от 24.12.2012

ЛФТ-630/675-01-"БИОСПЕК"

Установка лазерная фото динамической терапии

- Длина волны 635, 662, или 675 нм оптимизирована для проведения терапии с использованием применяемых в РФ фотосенсибилизаторов.
- Установка комплектуется набором световодов для различных локализаций.

Лазерная терапевтическая установка для фотодинамической терапии



Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/04649 от 26.03.2009

Сертификат соответствия РОСС RU.ИМ32.Н00345 от 24.12.2012

Видеоэндоскопические комплексы

Расширяем функциональность ваших видеоэндоскопических систем (эндоскопов, лапароскопов) с помощью адаптации к ним одной или нескольких сертифицированных установок собственного производства для наблюдения и анализа цифрового флуоресцентного изображения. Предлагаем аналогичные варианты дооснащения операционных микроскопов, кольпоскопов, щелевых ламп.

* - Соответствует Стандарту оснащения диагностических отделений онкологического диспансера (онкологической больницы) по Приложению № 12 к Порядку оказания медицинской помощи населению по профилю «онкология», утвержденному приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 915н от 15 ноября 2012 г. (оснащение других медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь больным с онкологическими заболеваниями, осуществляется с учетом данного стандарта).

ЗАО "БИОСПЕК"
Россия, 119991, Москва,
ул. Вавилова, д. 38, корп. 5



Тел./факс: 8-499-135-1489
E-mail: biospec@nsc.gpi.ru
<http://www.biospec.ru>



ФОТОДИТАЗИН® [fotoditazin]

фотосенсибилизатор хлоринового ряда

«ФОТОДИТАЗИН®» гель - РУ № ФСР 2012/130043 от 03.02.2012 г.

«ФОТОДИТАЗИН®» концентрат для приготовления раствора для инфузий - РУ № ЛС 001246 от 18.05.2012 г.



«ФОТОДИТАЗИН®» применяется для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии онкологических заболеваний различных нозологических форм, а так же патологий не онкологического характера в следующих областях медицины:

- дерматология
- гинекология
- урология
- торакальная хирургия
- стоматология
- нейрохирургия
- офтальмология,
- травматология и ортопедия
- комбустиология
- гнойная хирургия
- ангиология

В соответствии с приказами МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ:

Приказ № 1629н от 29 декабря 2012 г.

«Об утверждении перечня видов высокотехнологичной медицинской помощи»

Приказ № 915н от 15 ноября 2012 г. «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «онкология»

ООО «ВЕТА-ГРАНД»

123056, Россия, г.Москва, ул. Красина, д.27, стр.2

тел.: +7(499)253-61-81, +7(499)250-40-00

e-mail: fotoditazin@mail.ru

 www.fotoditazin.com
www.фотодитазин.pdf