

BIOMEDICAL PHOTONICS

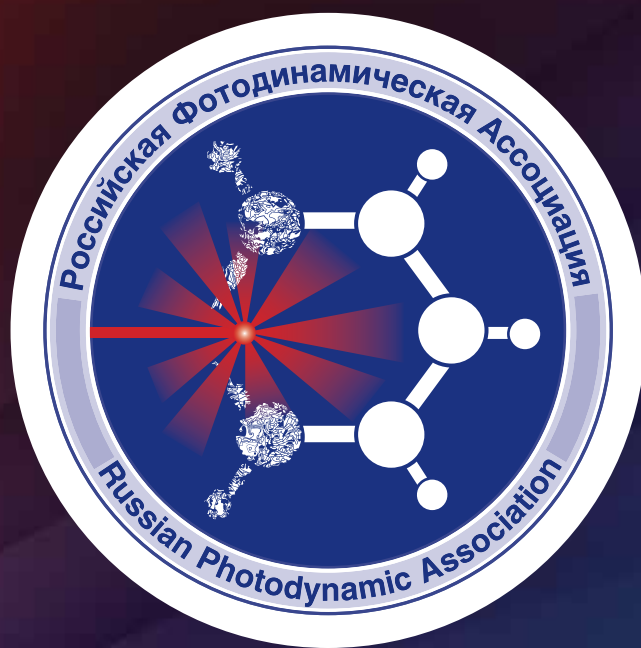
Том 13, № 2, 2024

В номере:

- Оценка качества электрохимического исследования в диагностике инфицирования кист поджелудочной железы
- Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизаторами метиленовый синий и хлорин е6: исследование на мышинной модели карциномы Эрлиха
- Влияние состава комбинированных твердых липидных частиц с гефитинибом и фотосенсибилизатором на их размер, стабильность и цитотоксическую активность
- Бактерицидная эффективность использования высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения при лечении инфицированных ран
- Эффективность паллиативной фотодинамической терапии нерезектабельных злокачественных новообразований желчевыводящей системы. Систематический обзор и метаанализ
- Роль трансмембранных переносчиков в накоплении 5-АЛК-индуцированного протопорфирина IX в опухолевых клетках

BMP

Российская Фотодинамическая Ассоциация



www.pdt-association.com

BIOMEDICAL PHOTONICS

FOUNDERS:

Russian 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:

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)

Romanko Yu.S., Dr. Sci. (Med.), professor of the department of Oncology, radiotherapy and plastic surgery named after L.L. Lyovshina in I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Stranadko E.Ph., Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of laser oncology and photodynamic therapy of State Research and Clinical Center of Laser Medicine named by O.K. Skobelcin of FMBA of Russia (Moscow, Russia)

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

Bolotine 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	Kalyagina N.A.
Computer design	Kreneva E.I.
Desktop publishing	Shalimova N.M.

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.

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 МОРЭ».
Москва, Хохловский пер., д. 9

Редакция:

Зав. редакцией	Иванова-Радкевич В.И.
Научный редактор	проф. Мамонтов А.С.
Литературный редактор	Моисеева Р.Н.
Переводчики	Калягина Н.А.
Компьютерный дизайн	Кренева Е.И.
Компьютерная верстка	Шалимова Н.М.

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 содержа-
ние рекламных материалов.

В статьях представлена точка зрения авторов,
которая может не совпадать с мнением редак-
ции журнала.

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

Полное или частичное воспроизведение матери-
алов, опубликованных в журнале, допускается
только с письменного разрешения редакции.

УЧРЕДИТЕЛИ:

Российская 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:

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

Романко Ю.С., доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии,
радиотерапии и пластической хирургии им. Л.Л. Лёвшина Первого Москов-
ского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова
(Москва, Россия)

Странацко Е.Ф., доктор медицинских наук, профессор, руководитель Отде-
ления лазерной онкологии и фотодинамической терапии ФГБУ «Государствен-
ный научный центр лазерной медицины им. О.К.Скобелкина ФМБА России»

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)

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Оценка качества электрохимического исследования в диагностике инфицирования кист поджелудочной железыА.В. Герасимов, В.И. Никольский,
А.Н. Митрошин, К.И. Сергацкий

4

Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизаторами метиленовый синий и хлорин е6: исследование на мышинной модели карциномы ЭрлихаД.В. Поминова, А.В. Рябова, А.С. Скобельцин,
И.В. Маркова, И.Д. Романишкин

9

Влияние состава комбинированных твердых липидных частиц с gefitinib и фотосенсибилизатором на их размер, стабильность и цитотоксическую активностьЛ.Л. Николаева, Е.В. Санарова, А.П. Колпаксиди,
С.Д. Щеглов, А.А. Рудакова,
М.А. Барышникова, А.В. Ланцова

19

Бактерицидная эффективность использования высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения при лечении инфицированных ранХ.А. Абдувосидов, С.М. Чудных, В.С. Егоров,
А.Ю. Филимонов, И.А. Королёва, А.С. Камруков,
В.В. Багров, А.В. Кондратьев

26

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Эффективность паллиативной фотодинамической терапии нерезектабельных злокачественных новообразований желчевыводящей системы. Систематический обзор и метаанализА.Е. Цеймах, А.Н. Мищенко, В.А. Куртуков,
Я.Н. Шойхет, И.В. Кулешова

34

Роль трансмембранных переносчиков в накоплении 5-АЛК-индуцированного протопорфирина IX в опухолевых клеткахВ.И. Иванова-Радкевич, О.М. Кузнецова,
Е.В. Филоненко

43

ORIGINAL ARTICLES

Evaluation of the quality of electrochemical study in the diagnosis of infection of pancreatic cystsGerasimov A.V., Nikolskiy V.I., Mitroshin A.N.,
Sergatskiy K.I.

4

Photodynamic therapy with methylene blue and chlorin e6 photosensitizers: study on Ehrlich carcinoma mice modelPominova D.V., Ryabova A.V., Skobeltsin A.S.,
Markova I.V., Romanishkin I.D.

9

Effect of the composition of combined solid lipid particles with gefitinib and a photosensitizer on their size, stability and cytotoxic activityNikolaeva L.L., Sanarova E.V., Kolpaksidi A.P.,
Shcheglov S.D., Rudakova A.A.,
Baryshnikova M.A., Lantsova A.V.

19

Bactericidal effectiveness of high-intensity pulsed broadband irradiation in treating infected woundsAbduvosidov Kh.A., Chudnykh S.M., Egorov V.S.,
Filimonov A.Yu., Korolyova I.A., Kamrukov A.S.,
Bagrov V.V., Kondrat'ev A.V.

26

REVIEWS OF LITERATURE

Effectiveness of palliative photodynamic therapy for unresectable biliary cancer. Systematic review and meta-analysisTseimakh A.E., Mitshenko A.N.,
Kurtukov V.A., Shoikhet Ia.N., Kuleshova I.V.

34

The role of membrane transport proteins in 5-ALA-induced accumulation of protoporphyrin IX in tumor cellsIvanova-Radkevich V.I., Kuznetsova O.M.,
Filonenko E.V.

43

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ КИСТ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Герасимов, В.И. Никольский, А.Н. Митрошин, К.И. Сергацкий

ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», Медицинский институт,
г. Пенза, Россия

Резюме

Образование кист поджелудочной железы является серьёзным осложнением острого и хронического панкреатита, а также травм поджелудочной железы. Джоульметрия – интегральный метод оценки электрохимических свойств биологических объектов. На сегодняшний день этот метод еще не использовали в изучении электрохимических свойств содержимого кист поджелудочной железы. Целью исследования явилась оценка качества электрохимического исследования в диагностике инфицирования содержимого постнекротических кист поджелудочной железы. Электрохимическое исследование выполнили 106 пациентам с постнекротическими кистами поджелудочной железы. В 1-ю группу вошли 84 пациента без признаков инфицирования кист поджелудочной железы, во 2-ю группу – 22 пациента с признаками инфицирования кист поджелудочной железы. Электрохимическое исследование выполняли следующим образом: содержимое кисты поджелудочной железы забирали в количестве 10 мл и вводили внутрь жидкостного проточного датчика джоульметрического прибора, где за короткий промежуток времени на него действовал ток. Средством диагностического исследовательского комплекса оценивали полученные результаты. В ходе исследования электрохимических свойств содержимого постнекротических кист поджелудочной железы с помощью джоульметрии было выявлено, что показатель работы тока у больных 1-й группы колебался в пределах от 0,92 до 18,31 мкДж (в среднем $5,86 \pm 5,02$ мкДж), у пациентов 2-й группы – от 19,01 до 26,3 мкДж (в среднем $22,32 \pm 1,92$ мкДж). При оценке качества джоульметрического исследования в определении ранних признаков воспаления содержимого постнекротических кист поджелудочной железы доказано, что пороговое дифференциально-диагностическое значение равно 19,1 мкДж обеспечивает чувствительность предложенного метода в 81,8% и специфичность в 80,7% ($AUC = 91,3$) при статистически значимой разнице показателей работы тока ($p < 0,001$).

Ключевые слова. Постнекротические кисты поджелудочной железы, панкреатит, джоульметрия, инфицирование, электрохимические свойства.

Контакты: Герасимов А.В., gerasimov-av30@yandex.ru

Для цитирования: Герасимов А.В., Никольский В.И., Митрошин А.Н., Сергацкий К.И. Оценка качества электрохимического исследования в диагностике инфицирования кист поджелудочной железы // *Biomedical photonics*. – 2024. – Т.13, № 2. – С. 4-8. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-4-8.

EVALUATION OF THE QUALITY OF ELECTROCHEMICAL STUDY IN THE DIAGNOSIS OF INFECTION OF PANCREATIC CYSTS

Gerasimov A.V., Nikolskiy V.I., Mitroshin A.N., Sergatskiy K.I.

Medical Institute, Penza State University, Penza, Russia

Abstract

The formation of pancreatic cysts is a serious complication of acute pancreatitis, chronic pancreatitis and pancreatic injuries. Joulemetry is an integral method for evaluating the electrochemical properties of biological objects. To date, this method has not been used in the study of the electrochemical properties of the contents of pancreatic cysts. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of electrochemical analysis in the detection of infection in the contents of necrotic pancreatic cysts. An electrochemical study of contents of necrotic pancreatic cysts carried out on 106 patients. Group 1 included 84 patients without signs of infection of pancreatic cysts; group 2 included 22 patients with signs of infection of pancreatic cysts. The electrochemical study was conducted as follows: 10 ml of the contents of a pancreatic cyst was injected into a liquid flow sensor of a joule meter, where it was exposed to a electrical current for a short period of time. The resulting data was analyzed using a diagnostic research complex. During the study of the electrochemical properties of the contents of postnecrotic pancreatic cysts by using joulemetry, it was revealed that the current work in patients of group 1 ranged from 0.92 to 18.31 mJ (on average 5.86 ± 5.02 mJ), in patients of group 2 – from 19.01 to 26.3 mJ (on average 22.32 ± 1.92 mJ). When evaluating the quality of the joulemetric study in determining the early signs of inflammation of the contents of postnecrotic pancreatic cysts, it was proved that the threshold differential diagnostic value of 19.1 mJ provides 81.8% sensitivity of the proposed method and 80.7% specificity ($AUC = 91.3$) with a statistically significant difference in current work ($p < 0.001$).

Keywords: Postnecrotic pancreatic cysts, pancreatitis, joulemetry, infection, electrochemical properties.

Contacts: Gerasimov A. V., gerasimov-av30@yandex.ru

For citations: Gerasimov A.V., Nikolskiy V.I., Mitroshin A.N., Sergatskiy K.I. Evaluation of the quality of electrochemical study in the diagnosis of infection of pancreatic cysts, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 2, pp. 4–8. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-4-8.

Введение

Образование кист поджелудочной железы является серьёзным осложнением острого и хронического панкреатита, а также травм поджелудочной железы (ПЖ) [1, 2, 3, 4]. Формирование кист при остром панкреатите наблюдают почти в 20% случаев, этот показатель увеличивается в 4 раза при деструктивных формах; при хроническом панкреатите частота встречаемости кист ПЖ находится в пределах от 20% до 40%, при травмах ПЖ кисты возникают у 20-30% пострадавших [4, 5]. Стоит отметить, что за время формирования кисты могут наблюдаться довольно серьёзные осложнения, встречающиеся почти в 40% случаев: кровотечение в полость кисты, нагноение, перфорация, сдавление соседних органов с соответствующей клинической картиной.

Тактический подход к лечению пациентов данной категории включает выявление ранних признаков инфицирования содержимого панкреатической кисты и наличие связи кисты с протоковой системой ПЖ [4, 5, 6]. Однако существующие на сегодняшний момент методы диагностики инфицирования постнекротических кист ПЖ имеют ряд недостатков: большой промежуток времени до получения результата (при бактериологическом исследовании до 3-5 дней), низкая информативность, ограничение в использовании ввиду противопоказаний и др.

Доказано, что при действии различных факторов внешней и внутренней среды организма, таких как изменение температуры, объёма, концентрации электролитов, появление признаков нагноения или элементов крови и др., изменяются электрические свойства любых биологических объектов [7]. Вместе с тем, при использовании микротоков силой в пределах 10–100 мкА не происходит изменений в физико-химических процессах исследуемого объекта. Джоульметрия – это интегральный метод, основанный на оценке значений работы тока, которую затрачивает внешний источник электрической энергии в то время, когда изменяется состояние исследуемого объекта.

К преимуществам джоульметрии относятся: простота в реализации метода, малые затраты времени, широкое применение (для всех типов биологических тканей), высокая чувствительность метода, позволяющая увеличить количество необходимых информативных признаков.

Следует отметить, что именно своевременная и точная диагностика ранних признаков воспаления содержимого постнекротических кист ПЖ позволяет правильно выбрать необходимый метод хирургического лечения и определить тактический поход в целом [5, 6].

Целью исследования являлась оценка качества электрохимического исследования в диагностике инфицирования содержимого постнекротических кист поджелудочной железы.

Материал и методы

С целью определения ранних признаков воспаления содержимого постнекротических кист ПЖ был разработан и внедрён в клиническую практику способ экспресс-диагностики, основанный на джоульметрическом исследовании (Патент РФ на изобретение №2684424 от 09.04.2019).

Исследование выполнено на базе Медицинского института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пензенский государственный университет» и хирургических отделений ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко».

За период с 2016 по 2023 гг. включительно в хирургических отделениях ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко» проходили лечение 106 пациентов с постнекротическими кистами ПЖ.

В зависимости от наличия признаков воспаления больные были разделены на две группы. В 1-ю группу вошли 84 (79,2%) пациента с кистами ПЖ без признаков воспаления, во 2-ю группу – 22 (20,8%) пациента с кистами ПЖ и наличием признаков воспаления. Такое разделение было основано на клинико-лабораторных данных и данных инструментальных методов исследования (УЗИ, СКТ, МРТ).

Учеными Пензенского государственного университета разработаны способ джоульметрии и устройство для диагностики состояния биологических объектов (Патент РФ № 2033606 от 20.04.95), получено разрешение Минздрава РФ (протокол заседания комиссии по новой медицинской технике № 10 от 18.11.93) для использования в клинической практике (Герасимов С.И., Никольский В.И., Волчихин В.И., 1993). Джоульметрический прибор «Диво» и программное обеспечение IPC 2000 разработаны сотрудниками кафедры «Медицинские приборы и оборудование» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет».

Электрохимическое (другое название: джоульметрическое) исследование содержимого постнекротических кист ПЖ выполняли следующим образом: полученное при пункции или наружном дренировании под контролем УЗИ содержимое кисты ПЖ больного забирали в количестве 10 мл; затем это содержимое вводили внутрь жидкостного проточного датчика джоульметрического прибора «Диво» (г. Пенза); за время менее 8 с через жидкостной проточный датчик джоульметрического прибора пропускали ток 0,1 мА. Посредством диагностического исследовательского комплекса (рис. 1), в который входили джоульметрический прибор, жидкостной проточный датчик, компьютерная программа для анализа информации (IPC 2000), оценивали результаты.

В программе IPC 2000 оценивали полученные зависимости, которые представляли собой кривые с определенными значениями изменения потенциала во времени. По полученным зависимостям рассчитывали

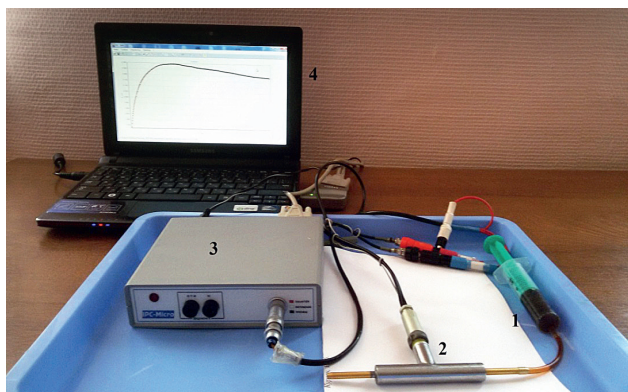


Рис. 1. Диагностический исследовательский комплекс: 1 – шприц для нагнетания содержимого кисты; 2 – жидкостной проточный датчик; 3 – джоульметрический прибор; 4 – компьютер с установленной программой IPC 2000.

Fig. 1. Diagnostic research complex: 1 – a syringe for pumping cyst contents; 2 – a liquid flow sensor; 3 – a joule meter; 4 – a computer with the IPC 2000 program installed.

работу для каждого значения тока, строили графики, позволяющие судить об активности воспалительного процесса кист ПЖ.

Статистический анализ выполняли на IBM-PC совместимом компьютере с помощью лицензионной программы BioStat 2010 5.8.3.0 и IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Для оценки качества модели предложенного метода экспресс-диагностики инфицирования кист ПЖ на основе джоульметрии выполнен ROC-анализ (receiver operating characteristic).

Результаты и обсуждение

Для формирования двух групп пациентов с предварительной оценкой инфицирования или отсутствия инфицирования кист ПЖ были определены критерии, основанные на клинко-лабораторных и инструментальных данных.

К признакам воспаления постнекротических кист ПЖ относили следующие критерии клинко-лабораторных данных и данных инструментальных методов исследования:

Таблица 1

Работа тока у больных с признаками воспаления кист поджелудочной железы и без признаков воспаления кист поджелудочной железы

Table 1

Electric current work in patients with signs of inflammation of pancreatic cysts and without signs of inflammation of pancreatic cysts

Исследуемые группы пациентов The studied groups of patients	Количество пациентов, n=106 Number of patients, n=106		Работа тока, мкДж Electric current work, μJ	Среднее значение The average value
	Абс.	%		
1 группа – больные без признаков воспаления кист поджелудочной железы 1 group – patients without signs of inflammation of pancreatic cysts	84	79,2	от 0,92 до 18,31	5,86 $\pm$ 5,02
2 группа – больные с признаками воспаления кист поджелудочной железы 2 group – patients with signs of inflammation of pancreatic cysts	22	20,8	от 19,01 до 26,3	22,32 $\pm$ 1,92
Итого / Total	106	100	-	-
Достоверность / Reliability	-		-	< 0,001

- повышение температуры тела;
- наличие перитонеальных симптомов;
- лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево;
- по данным УЗИ: неоднородное содержимое кисты (мелкодисперстная гиперэхогенная взвесь с наличием перегородок), неравномерное утолщение стенки кисты, признаки инфильтрации парапанкреатической клетчатки;
- по данным СКТ: неоднородная структура с гиподенсивными включениями (плотность содержимого от +20 до +30 ед. НУ), отечность и тяжесть парапанкреатической клетчатки;
- по данным МРТ: образование, имеющее повышенный МР-сигнал по T2-взвешенным изображениям и повышенный МР-сигнал по T1-взвешенным изображениям, парапанкреатическая клетчатка неоднородная с признаками отёка.

Постнекротические кисты ПЖ без признаков воспаления имели следующие клинко-лабораторные и инструментальные данные:

- постоянной гипертермии не наблюдали;
- отсутствие перитонеальных симптомов;
- отсутствовали признаки воспаления в клиническом анализе крови;
- по данным УЗИ: однородное анэхогенное содержимое полости кисты или неоднородное содержимое с пристеночным компонентом, ровный четкий контур образования, признаков инфильтрации парапанкреатической клетчатки нет;
- по данным СКТ: однородная структура кисты (плотность содержимого от +5 до +18 НУ), признаков инфильтрации парапанкреатической клетчатки нет;
- по данным МРТ: образование, имеющее повышенный МР-сигнал по T2-взвешенным изображениям и пониженный МР-сигнал по T₁-взвешенным изображениям, без отёка парапанкреатической клетчатки.

В ходе исследования электрохимических свойств содержимого постнекротических кист ПЖ с помощью

джоульметрии было выявлено, что показатель работы тока (табл. 1) у больных 1-й группы находился в пределах от 0,92 до 18,31 мкДж (в среднем $5,86 \pm 5,02$ мкДж), у пациентов 2-й группы – от 19,01 до 26,3 мкДж (в среднем $22,32 \pm 1,92$ мкДж).

Следовательно, получены статистически значимые данные об инфицировании постнекротических кист ПЖ ($p < 0,001$): у больных 1-й группы без признаков воспаления содержимого кист ПЖ диагностировали низкий показатель работы тока (в среднем $5,86 \pm 5,02$ мкДж), тогда как у больных 2-й группы с признаками воспаления содержимого кист ПЖ был высокий показатель работы тока (в среднем $22,32 \pm 1,92$ мкДж).

На рис. 2 и 3 представлены измеренные электрохимические параметры в графической форме, которые свидетельствовали о наличии либо отсутствии признаков воспаления содержимого постнекротических кист ПЖ.

На рис. 2 видно, что точка насыщения достигается при времени в 3,8 с, величина потенциала в данной точке равна 4200 мВ, тогда как на рис. 3 – точка насыщения достигается при времени в 0,9 с, величина потенциала в данной точке равна 2850 мВ. Таким образом, для электрохимической реакции у больных с инфицированными кистами ПЖ требуется большее напряжение тока, количество времени и как результат большая работа тока для достижения точки насыщения, чем у пациентов

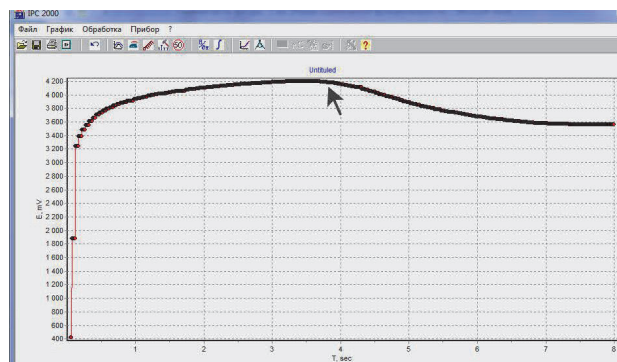


Рис. 2. Характерная кривая для кисты с признаками воспаления; стрелкой указана точка насыщения.

Fig. 2. A typical curve for a cyst with signs of inflammation, with the arrow indicating the saturation point.

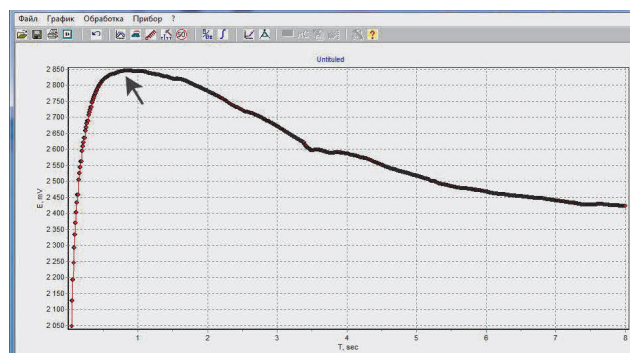


Рис. 3. Характерная кривая для кисты без признаками воспаления; стрелкой указана точка насыщения.

Fig. 3. A typical curve for a cyst without signs of inflammation, with the arrow indicating the saturation point.

с кистами ПЖ без признаков воспаления, что подтверждается вышеприведенными данными.

Все полученные результаты электрохимического исследования содержимого кист ПЖ были подтверждены бактериологическим исследованием: у 22 больных с признаками воспаления кист ПЖ и высоким показателем работы тока (в среднем $22,32 \pm 1,92$ мкДж) наблюдали рост микроорганизмов, у 84 пациентов без признаков воспаления кист ПЖ и низким показателем работы тока (в среднем $5,86 \pm 5,02$ мкДж) роста микрофлоры не было.

Проведен анализ качества модели предложенного метода экспресс-диагностики инфицирования постнекротических кист ПЖ с помощью джоульметрии. Для этого проведён анализ ROC-кривых (рис. 4).

Представленный график наглядно демонстрирует, что численный показатель площади под кривой ($AUC = 91,3$) стремится к 1,0, что характеризует отличное качество модели предложенного метода на основе джоульметрии.

На рис. 5 представлен график зависимости признаков инфицирования постнекротических кист ПЖ

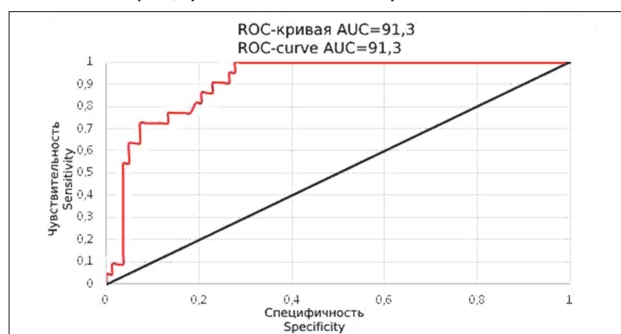


Рис. 4. ROC-кривая исследования работы тока у больных с постнекротическими кистами поджелудочной железы при определении их инфицирования на основе джоульметрии. На графике красным цветом показана ROC-кривая, черным – положительная диагональ.

Fig. 4. The ROC curve of the study of the electrical current in patients with postnecrotic pancreatic cysts in determining their infection based on joulemetry. The graph shows the ROC-curve in red, and the positive diagonal in black.

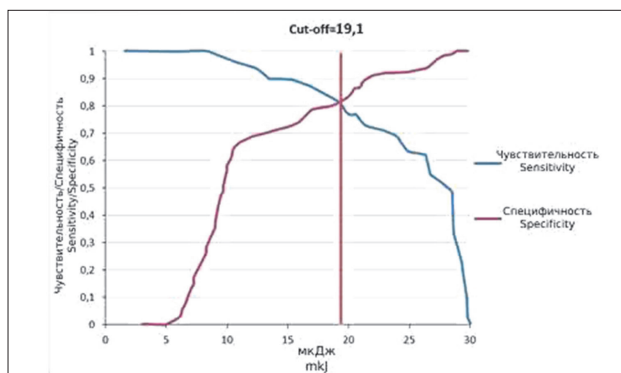


Рис. 5. Значение точки отсечения (cut-off) наличия/отсутствия признаков инфицирования содержимого постнекротической кисты ПЖ при джоульметрии.

Fig. 5. The value of the cut-off point for the presence/absence of signs of infection of the contents of a postnecrotic pancreatic cyst during joulemetry.

от показателей работы тока, полученных при джоульметрии.

В ходе исследования было определено значение точки отсечения (cut-off) наличия/отсутствия признаков инфицирования содержимого постнекротической кисты ПЖ: 19,1 мкДж (если показатель работа тока $> 19,1$ мкДж, то киста с признаками инфицирования; если работа тока $\leq 19,1$ мкДж, то киста неинфицированная).

В табл. 2 представлен фрагмент таблицы координат ROC-кривой исследования работы тока у больных с постнекротическими кистами ПЖ при определении инфицирования их содержимого джоульметрическим методом.

Исходя из таблицы координат ROC-кривой исследования работы тока у больных с постнекротическими кистами ПЖ при определении их инфицирования на основе джоульметрии, пороговым дифференциально-диагностическим значением был принят показатель работы тока, равный 19,1 мкДж. Данное значение обеспечивает чувствительность предложенного метода экспресс-диагностики инфицирования экссудата при местном панкреатогенном перитоните на основе джоульметрии, равную 81,8%, и специфичность, равную 80,7% ($AUC = 91,3$).

Все полученные результаты электрохимического исследования содержимого кист ПЖ были подтверждены бактериологическим исследованием: у 22 больных с признаками воспаления кист ПЖ и высоким показателем работы тока (в среднем $22,32 \pm 1,92$ мкДж) наблюдали рост микроорганизмов, у 84 пациентов без признаков воспаления кист ПЖ и низким показателем работы тока (в среднем $5,86 \pm 5,02$ мкДж) роста микрофлоры не наблюдали.

Заключение

В ходе электрохимического исследования содержимого постнекротических кист поджелудочной железы

Таблица 2

Фрагмент таблицы координат ROC-кривой исследования работы тока у пациентов с постнекротическими кистами ПЖ при определении инфицирования их содержимого

Table 2

A fragment of the coordinate table of the ROC-curve of the study of electrical current work in patients with post-necrotic pancreatic cysts in determining infection of their contents

Работа тока, мкДж Electric current work, μJ	Чувствительность Sensitivity	Специфичность Specificity
10,1	0,9789	0,6378
13,42	0,9213	0,7066
16,91	0,8708	0,7853
19,1	0,8182	0,8072
20,14	0,7835	0,8113
22,76	0,7412	0,8810
23,1	0,7244	0,9227

получены статистически значимые данные об инфицировании содержимого кисты ($p < 0,001$). При работе тока от 19,01 до 26,3 мкДж (в среднем $22,32 \pm 1,92$ мкДж) диагностировали инфицирование постнекротической кисты поджелудочной железы; показатель работы тока от 0,92 до 18,31 мкДж (в среднем $5,86 \pm 5,02$ мкДж) свидетельствует об отсутствии инфицирования.

При оценке качества джоульметрического исследования в определении ранних признаков воспаления содержимого постнекротических кист поджелудочной железы доказано, что пороговое дифференциально-диагностическое значение равное 19,1 мкДж обеспечивает чувствительность предложенного метода в 81,8% и специфичность в 80,7% ($AUC = 91,3$) при статистически значимой разнице показателей работы тока ($p < 0,001$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Корымасов Е.А., Хорошилов М.Ю. «Молниеносный» острый панкреатит: диагностика, прогнозирование, лечение // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2021. – Т. 26, № 2. – С. 50-59. doi: 10.16931/1995-5464.2021-2-50-60.
2. Зурнадзьянц В.А., Кчибеков Э.А., Гасанов К.Г. и др. Оптимизация диагностических подходов деструктивного панкреатита // *Пермский медицинский журнал*. – 2023. – Т. 40, №4. – С. 82-91. doi: 10.17816/pmj40482-91.
3. Стяжкина С.Н., Воробьева А.С., Наумова О.Н. Частота встречаемости диагноза «Острый панкреатит» среди пациентов хирургического отделения 1 РКБ УР // *Наука и образование сегодня*. – 2019. – №1. – С. 89-92.
4. Ramsey M.L., Conwell D.L., Hart P.A. Complications of chronic pancreatitis // *Dig. Dis. Sci.* – 2017. – Vol. 32(7). – P. 1746-1750. doi: 10.1007/s10620-017-4518-x
5. Соболев Ю.А., Беляева А.И. Эффективность транскутанного пункционного дренирования кист поджелудочной железы под ультразвуковым контролем // *Вестник Волгоградского Государственного Медицинского университета*. – 2021. – №77. – С. 52-55. doi: 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-52-55.
6. García de Paredes A.G., López-Durán S., José Olcina R.F., et al. Management of pancreatic collections: an update // *Rev. Esp. Enferm. Dig.* – 2020. – Vol. 112(6). – P. 483-490. doi: 10.17235/reed.2020.6814/2019.
7. Геращенко, С. И. Джоульметрия и джоульметрические системы: теория и приложение: монография // Пенза: Изд-во ПГУ, 2002. – 184 с.

REFERENCES

1. Korymasov E.A., Khoroshilov M.Yu. "Fulminant" acute pancreatitis: diagnosis, prognosis, treatment, *Annals of Surgical Hepatology*, 2021, vol. 26(2), pp. 50-59. doi: 10.16931/1995-5464.2021-2-50-60.
2. Zurnadzhyants V.A., Kchibekov E.A., Gasanov K.G. et al. Optimization of diagnostic approaches for destructive pancreatitis, *Perm Medical Journal*, 2023, vol. 40(4), pp. 82-91. doi: 10.17816/pmj40482-91.
3. Styazhkina S.N., Vorobyova A.S., Naumova O.N. Frequency of occurrence of the diagnosis "Acute pancreatitis" among patients of the surgical department of the 1st RCH UR, *Science and Education Today*, 2019, vol. 1, pp. 89-92.
4. Ramsey M.L., Conwell D.L., Hart P.A. Complications of chronic pancreatitis, *Dig. Dis. Sci.*, 2017, vol. 32(7), pp. 1746-1750. doi: 10.1007/s10620-017-4518-x
5. Sobolev Yu.A., Belyaeva A.I. Efficiency of transcutaneous puncture drainage of pancreatic cysts under ultrasound control, *Bulletin of the Volgograd State Medical University*, 2021, vol. 77, pp. 52-55. doi: 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-52-55.
6. García de Paredes A.G., López-Durán S., José Olcina R.F., et al. Management of pancreatic collections: an update, *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 2020, vol. 112(6), pp. 483-490. doi: 10.17235/reed.2020.6814/2019.
7. Gerashchenko, S.I. Joulemetry and joulemetric systems: theory and application: monograph, Penza: PSU Publishing House, 2002, 184 p.

PHOTODYNAMIC THERAPY WITH METHYLENE BLUE AND CHLORIN e6 PHOTOSENSITIZERS: STUDY ON EHRlich CARCINOMA MICE MODEL

Pominova D.V.^{1,2}, Ryabova A.V.^{1,2}, Skobeltsin A.S.¹, Markova I.V.², Romanishkin I.D.¹

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

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

Abstract

Hypoxia negatively affects the effectiveness of all types of anticancer therapy, in particular photodynamic therapy (PDT). In this regard, various approaches to overcome the limitations associated with hypoxia are widely discussed in the literature, one of them is the use of photosensitizers (PS) operating through the first mechanism of the photodynamic reaction, such as methylene blue (MB). Previously, we have demonstrated that MB can have a positive effect on tumor oxygenation. In this work, we investigated the photodynamic activity of MB and a combination of MB with chlorin e6 on a tumor *in vivo* using a model of Ehrlich carcinoma. PDT was studied with the joint and separate administration of chlorin e6 and MB. The accumulation and localization of MB and its combination with chlorin e6 *in vivo* was assessed using video fluorescence and spectroscopic methods, and the effect of laser exposure on accumulation was analyzed. After the PDT with chlorin e6, MB and a combination of MB with chlorin e6, a good therapeutic effect and a decrease in the tumor growth rate were observed compared to the control, especially in groups with PDT with MB and with the simultaneous administration of chlorin e6 and MB. The level of tumor oxygenation on days 3 and 5 after PDT was higher for groups with irradiation, the highest oxygenation on the 5th day after PDT was observed in the group with PDT only with MB. Phasor diagrams of tumors after PDT show a deviation from the metabolic trajectory and a shift towards a longer lifetimes compared to the control tumor, which indicates the presence of lipid peroxidation products. Thus, tumor regression after PDT is associated with the direct destruction of tumor cells under the influence of reactive oxygen species formed during PDT. Thus, the effectiveness of PDT with the combined use of MB and chlorin e6 has been demonstrated, and the main mechanisms of the antitumor effect of the combination of these PS have been studied.

Keywords: photodynamic therapy, methylene blue, inhibition of tumor growth.

Contacts: Pominova D.V., e-mail: pominovadv@gmail.com

For citations: Pominova D.V., Ryabova A.V., Skobeltsin A.S., Markova I.V., Romanishkin I.D. Photodynamic therapy with methylene blue and chlorin e6 photosensitizers: study on Ehrlich carcinoma mice model, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 2, pp. 9–18. doi: 10.24931/2413–9432–2024–13–2–9–18.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ МЕТИЛЕНОВЫЙ СИНИЙ И ХЛОРИН e6: ИССЛЕДОВАНИЕ НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Д.В. Поминова^{1,2}, А.В. Рябова^{1,2}, А.С. Скобельцин¹, И.В. Маркова², И.Д. Романишкин¹

¹Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук, Москва, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

Резюме

Гипоксия негативно влияет на эффективность всех видов противоопухолевой терапии, в частности фотодинамической терапии (ФДТ). В связи с этим в литературе широко обсуждаются разные подходы для преодоления ограничений, связанных с гипоксией. Одним из них является использование фотосенсибилизаторов (ФС), работающих по первому механизму фотодинамической реакции, таких как метиленовый синий (МС). Ранее нами было показано, что МС может положительно влиять на оксигенацию опухоли. В данной работе мы провели исследование фотодинамической активности МС и МС в комбинации с хлорином e6 на опухоли *in vivo* на модели карциномы Эрлиха. Была исследована ФДТ при совместном и раздельном введении хлорина e6 и МС. Выполнена оценка накопления и локализации МС и МС в комбинации с хлорином e6 *in vivo* при помощи видеофлуоресцентных и спектроскопических методов, проанализировано влияние лазерного воздействия на накопление. После проведения ФДТ с хлорином e6, МС и комбинации МС с хлорином e6 отмечен хороший терапевтический эффект и уменьшение скорости роста опухоли по сравнению с контролем, особенно

в группах с ФДТ с МС и при одновременном введении хлорина е6 и МС. Уровень оксигенации опухоли на 3-е и 5-е сутки после ФДТ был выше в группах с облучением, самая высокая оксигенация на 5-е сутки после ФДТ отмечена в группе с ФДТ с МС. На фазорных диаграммах опухолей после проведения ФДТ наблюдается отклонение от метаболической траектории и сдвиг в сторону более длинного времени жизни по сравнению с контрольной опухолью, что указывает на наличие продуктов перекисного окисления липидов. Следовательно, регрессия опухоли после ФДТ связана с прямым разрушением опухолевых клеток под воздействием активных форм кислорода, образующихся при ФДТ. Таким образом, продемонстрирована эффективность ФДТ при совместном применении МВ и хлорина е6 и исследованы основные механизмы противоопухолевого действия комбинации этих ФС.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, метиленовый синий, подавление роста опухоли.

Контакты: Поминова Д.В., e-mail: pominovadv@gmail.com

Для цитирования: Поминова Д.В., Рябова А.В., Скобельцин А.С., Маркова И.В., Романишкин И.Д. Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизаторами метиленовый синий и хлорин е6: исследование на мышиной модели карциномы Эрлиха // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 9–18.. doi: 10.24931/2413–9432–2024–13–2–9–18.

Introduction

Hypoxia is commonly associated with poor outcome in most cancer types and treatment modalities [1, 2, 3]. In recent years, it was shown that hypoxia plays an important role in the interaction between cancer cells, stroma and immune cells [4, 5, 6]. Hypoxia inducible factors (HIFs) are the major regulators of cancer cell survival [7, 8, 9, 10] and the role of hypoxia can be crucial in treatment resistance [11, 12].

Strategies to overcome hypoxia are widely discussed in many papers and reviews [13, 14, 15]. Strategies to increase oxygenation during photodynamic therapy (PDT), a promising approach for cancer treatment with low systemic toxicity and minimal invasiveness that has already demonstrated efficacy and safety in clinical use, are gaining increasing attention [16, 17, 18, 19]. During PDT, a special drug – photosensitizer (PS) – generates reactive oxygen species (ROS) under the action of light, which can damage biological structures and act as regulators of cell proliferation, metabolism, and apoptosis [20]. There are two types of reactions that result in the formation of ROS: the participation of PS in electron transfer reactions initiating the formation of hydroxyl radicals and hydroperoxides (type I photochemical reaction) and the energy transfer from PS to molecular oxygen, which results in the creation of singlet oxygen (type II photochemical reaction) [21]. The majority of clinically approved photosensitizers utilize the type II photochemical reaction, but less oxygen-dependent type I PDT is discussed as a strategy for the treatment of hypoxic tumors [22, 23]. Other strategies to overcome tumor hypoxia for enhancing PDT efficacy were summarized in recent review [24] and include delivering exogenous oxygen to tumor, generation of oxygen in tumor, reducing tumor oxygen consumption, normalizing tumor vasculature and inhibiting HIF-1 signaling pathway to relieve tumor hypoxia.

Our previous studies have shown that the methylene blue (MB) PS can be used to increase oxygenation of tumors via its redox properties [25, 26]. We assume that

the changes in oxygenation are caused by interaction of MB with NADH [26, 27, 28]. A high ratio NADH/NAD⁺ has been reported to be a key feature of malignant cells [29] and can reflect the inhibition of the electron transport chain [30]. When interacting with NADH, MB is reduced to the leucoform, while NADH is oxidized to NAD⁺, providing an increase of pyruvate:lactate (associated with shift from glycolysis to oxidative phosphorylation) and alpha-ketoglutarate (α -KG) to 2- hydroxyglutarate (HG) ratio (associated with decrease of reductive stress), suppression of 2-HG production [31] and reactivation of electron transport chain [30, 32]. The negative aspect is that the leucoform lacks absorption in the red part of the spectrum, making it photodynamically inactive. Consequently, the idea of utilizing a combination of two photosensitizers, MB and chlorin e6, to enhance the effectiveness of PDT arose. The intent is to increase the tumor oxygenation through the use of MB, and then carry out PDT with chlorin e6. In addition, the mutual influence of photosensitizers when administered together was studied, in particular, the effect of chlorin e6 on the transition of MB to the leucoform, as well as the synergistic effects caused by the use of two PS.

According to systematic review of preclinical studies [33] photodynamic therapy with MB is effective against different types of cancer including colorectal tumor, carcinoma, and melanoma. However, the results were promising not for all tumor types, a modest decrease in tumor size was observed for breast cancer and HeLa models, as well as no inhibition of osteosarcoma growth in mice [34]. Authors of review hypothesized that the bioavailability of MB in different target tissues is not equal. We assume that this may also be due to the transition of MB to the leucoform, which reduces its photodynamic activity.

Chlorin e6 is a second generation photosensitizer approved by FDA which has demonstrated high ROS generation ability and anticancer potency against many types of cancer [35]. It is commercially available and widely used for PDT in medical institutions in Russia [36, 37, 38].

Interest in the combined use of MB and chlorin e6 is due to the proximity of their absorption wavelengths in the near-infrared I part of the spectrum: 660 nm for chlorin e6 [39] and 664 nm for MB [40]. Excitation in this range allows for the reduction of autofluorescence and scattering from the biological tissue, thus facilitating deeper penetration into the tumor. The use of a single laser wavelength for both PS excitation is convenient and results in a production of a large number of ROS in the tumor cells and more effectively induces apoptosis, as was shown by Alimu et al [41]. However, this study was conducted on cells *in vitro* under normoxia conditions. In addition, liposomes loaded with two PS were studied, which, on the one hand, ensures simultaneous accumulation of drugs in the target area, but excludes the possibility of taking advantage of the effect of MB on tumor metabolism.

In this work, we conducted a study of PDT with the use of a combination of MB and chlorin e6 *in vivo* in a mouse model of Ehrlich carcinoma. *In vivo* research is of great importance because the oxygen distribution in tumors is highly heterogeneous, with hypoxia levels ranging from mild, almost non-hypoxic, to severe and anoxic levels [42]. The dynamic pattern of hypoxia levels that induces cellular responses and controls interactions between tumor cells, stroma and immune cells in the microenvironment cannot be simulated *in vitro* and at the same time is critical for assessing the effectiveness of photodynamic treatment. Intravenous joint and separate administration makes it possible to study the effect of each PS on the microenvironment and oxygenation, as well as the synergistic effects when two PS are used together.

Materials and methods

The photosensitizer used was a 0.35% solution of radachlorin (OOO RADAPHARMA, Russia) and a 1% aqueous solution of methylene blue (OJSC Samaramedprom, Russia).

Male BALB/c mice weighing 25–30 g and aged 8–10 weeks were used in experiments. The mice were kept in standard cages at a temperature of 21°C with a 12-hour light-dark cycle. They were given *ad libitum* access to standard laboratory feed and water. Ehrlich carcinoma was used as a model tumor; experiments were carried out on the 12th day after intramuscular grafting of the tumor onto the right hind paw. Tumor size was determined by direct measurement of its dimensions, and the volume was calculated using the formula: $V = 0.5 (L \times W^2)$, where V – volume, L – length and W – width. Tumor growth was assessed at the beginning of the experiment and on the third and fifth days after therapy. All measurements were done in triplicate. At the beginning of the experiment, the tumor size for all mice was about 1 cm³.

The mice were divided into five groups based on concentrations of MB and chlorin e6 and irradiation dose.

There were 4 groups with irradiation (wavelength 660 nm, light dose 60 J/cm²): 1) with intravenous injection of 10 mg/kg of MB, 2) 5 mg/kg of e6, 3) 10 mg/kg of MB and 5 mg/kg of e6 simultaneously, 4) 5 mg/kg of e6 and 10 mg/kg of MB separately with the time interval between injection. The 200 µl of photosensitizer aqueous solution in saline with concentration calculated to achieve a total dose were administered intravenously into the tail vein under fluorescence control. Irradiation was carried out an hour after the introduction of photosensitizers. In the group with separate administration of MB and e6, chlorin e6 was first administered intravenously, an hour later MB and immediately irradiated. Groups with administration of 10 mg/kg MB, 5 mg/kg e6 without irradiation, as well as mice without administration of photosensitizers and irradiation were used as controls. Each group consisted of three mice.

The accumulation of MB, e6 and its combination in tumor was measured spectroscopically using a LESA-01-Biospec fiber-optic spectrometer (Biospec, Russia) with fiber-optic probe, consisting of a central illuminating fiber and six peripheral collecting fibers for the scattered and fluorescence radiation. MB fluorescence was excited with a He-Ne laser at 632.8 nm and 5 mW. Using an optical filter, the fluorescence was observed in the same dynamic range as the backscattered laser radiation. Fluorescence measurements were taken at five locations in tumor. After this, the data was averaged and STD was calculated. As a quantitative characteristic, we used the fluorescence index, calculated as the ratio of the area under the fluorescence peak in the range of 660–800 nm to the area under the laser peak in the range of 620–645 nm. The concentration of the PS in the tissues was calculated by matching the fluorescence index to the values from optical phantoms that mimic the scattering and absorption properties of biological tissues and contain a 0 to 10 mg/kg and 0 to 5 mg/kg range of MB and e6 concentrations, respectively.

For *in vivo* video imaging the PS fluorescence was excited using 660 nm laser radiation and detected by a black-and-white MQ013RG-ON camera (Ximea, Korea) with a 700–750 nm bandpass optical filter. The fluorescent signal was recorded in a video file, which was further processed. After the injection of the PS, the mouse remained under low-intensity laser irradiation for 5 minutes, during which the fluorescence signal was recorded to the video file. For the selected time-frames of the recorded video file, the average brightness in the tumor area was calculated. The brightness value in a pixel was normalized and took values from zero to one.

The degree of hemoglobin oxygenation *in vivo* was examined using a hemoglobin optical absorption method [43] with a halogen lamp as a light source. LESA-01-Biospec fiber-optic spectrometer was used to register the diffuse reflectance spectra. The degree of hemoglobin

oxygenation was calculated as the ratio of oxygenated hemoglobin absorption to total hemoglobin absorption, derived from the absorption spectrum. Oxygenation measurements were taken at five locations in both tumor and normal muscle tissue for each mouse.

The used spectroscopic methods and setup are described in more detail in the work [25].

To evaluate the effect of photodynamic therapy at the cellular level, the fluorescence microscopy and fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) were used. Mice were euthanized on the fifth day after PDT. Tumors, subcutaneous tissue, skin, and muscle were excised en bloc and frozen. Sections of 50 μm were examined on a laser scanning confocal microscope LSM-710-NLO (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany). The spectrally resolved images were acquired under simultaneous 488 nm and 633 nm laser excitation. Acridine orange (AO) and propidium iodide (PI) staining was used to assess the number of dead cells.

Time-resolved images of autofluorescence and MB fluorescence were recorded under two-photon 740 nm excitation with a Chameleon Ultra II femtosecond laser (Coherent, Saxonburg, Pennsylvania, USA), with a pulse width of 140 fs and a repetition rate of 80 MHz. Optical bandpass filters FB450-40 (Thorlabs, Newton New Hersey, USA) and BP 640/30 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany) were used to isolate fluorescence signals from NADH and MB, respectively. The images were processed with SPCImage 8.0 software (Becker & Hickl GmbH, Berlin, Germany). NADH metabolic index was calculated as a_1/a_2 ratio with fixed lifetimes: $\tau_1 = 0.4$ ns, $\tau_2 = 2.5$ ns [44].

Results and discussions

The therapeutic effects of MB and MB with chlorin e6 on tumors were investigated. *In vivo* fluorescence video imaging has shown that after intravenous administration, MB accumulates very quickly both in the tumor and in normal tissue, and then rapidly decreases in tumor, Fig. 1.

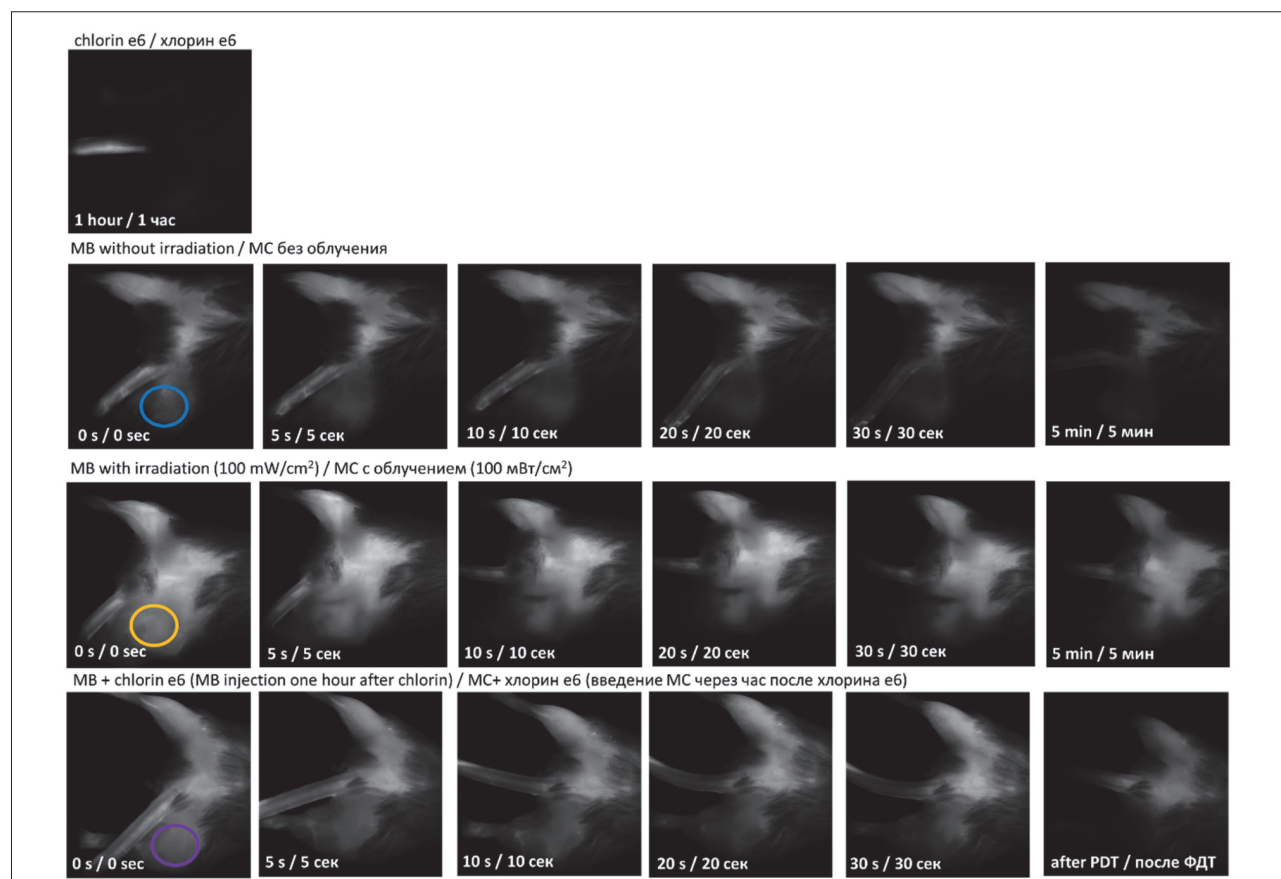


Рис. 1. Флуоресцентная визуализация MC *in vivo* с использованием возбуждения 660 нм: изображения, полученные через 5, 10, 20, 30 с и 5 мин после внутривенного введения MC в дозе 10 мг/кг и MC в комбинации с хлорином е6 (10 мг/кг + 5 мг/кг, введение MC произведено через 1 ч после введения хлорина е6). В группе с облучением каждые 5 с включали второй источник излучения с длиной волны 660 нм, плотность мощности 100 мВт/см². Цветные круги показывают области, в которых была рассчитана яркость.

Fig. 1. Fluorescence imaging of MB *in vivo* using 660 nm excitation: images obtained at 5, 10, 20, 30 seconds and 5 minutes after intravenous administration of MB at a dose of 10 mg/kg and MB in combination with chlorin e6 (10 mg/kg + 5 mg/kg, injection of MB was performed one hour after chlorin e6). In the irradiation group, a second radiation source with a wavelength of 660 nm and a power density of 100 mW/cm² was turned on every 5 seconds. The colored circles show the areas in which the brightness was calculated.

The fluorescence intensity of MB in normal tissues decreases slightly and remains constant throughout the entire measurement (5 minutes). These results are similar to the MB pharmacokinetics obtained in experiments on Lewis lung carcinoma [26].

The effect of laser irradiation and the second PS on the transition of MB to the leucoform was also analyzed. For quantitative assessment, the average brightness normalized to the initial value was used. The time dependences of the average brightness of tumor areas, normalized to the initial value, are presented in Fig. 2.

It can be seen that under the laser irradiation of MB, the decrease in fluorescence intensity occurs more slowly than for MB without irradiation. The same effect, but even more pronounced, was observed when MB is administered in combination with chlorin e6. We assume that irradiation prevents the transition of MB to the leucoform; during irradiation, the leucoform is reoxidized back to the MB upon interaction with reactive oxygen species.

Quantitative assessment of the accumulation of MB and chlorin e6 in the tumor was carried out using spectroscopic methods based on the fluorescence intensity in the red region of the spectrum recorded *in vivo*. The dependence of the fluorescence index on the accumulation time for tumors with intravenous administration is shown in Fig. 3.

The fluorescence intensity of chlorin e6 in the tumor gradually increases over time and reaches a plateau an hour after intravenous administration. The accumulation time of 1 hour for chlorin e6 was chosen for further experiments. The concentration of chlorin e6 in the tumor, determined by spectroscopic methods one hour after administration, was 0.7 mg/kg. An increase in the concentration of MB in the tumor was observed

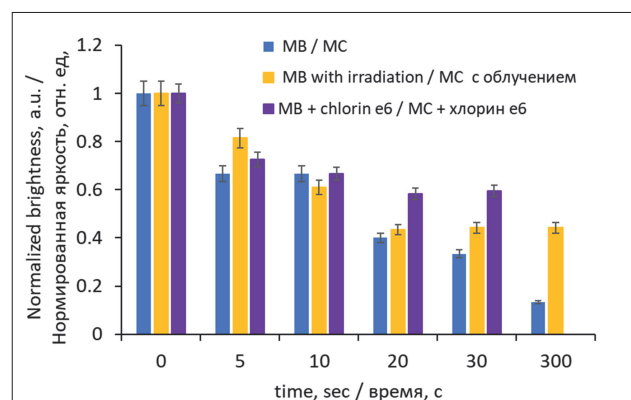


Рис. 2. Временные зависимости средней яркости опухоли, нормированной на начальное значение, для МС без облучения, МС с облучением (каждые 5 с включали второй источник излучения с длиной волны 660 нм, плотность мощности 100 мВт/см²) и комбинации МС с хлорином е6.

Fig. 2. Time dependences of the average tumor brightness normalized to the initial value for MB without irradiation, MB with irradiation (every 5 seconds a second radiation source with a wavelength of 660 nm was turned on, power density 100 mW/cm²) and a combination of MB with chlorin e6.

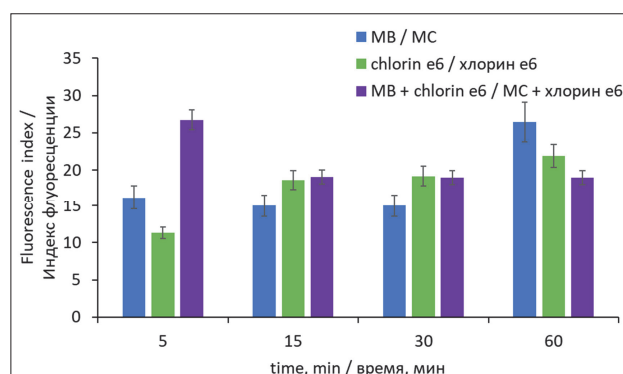


Рис. 3. Зависимость индекса флуоресценции МС, хлорина е6 и их комбинации в опухоли от времени накопления.

Fig. 3. Dependence of the fluorescence index for MB chlorin e6 and their combination in the tumor on the accumulation time.

only an hour after intravenous administration, which is presumably due to the transition to the leucoform 5 in minutes after administration, recorded using video fluorescent methods.

An interesting effect was observed for the combination of chlorin e6 and MB. Maximum of MB fluorescence was recorded immediately after the administration of PS, which corresponds to the data obtained using video fluorescent methods. The prevention of MB transition to the leucoform may also be due to the photodamaging effect of chlorin e6 on blood vessels, which occurred under low-intensity laser illumination during fluorescence imaging of PS accumulation. Another explanation for this effect could be a change in mitochondrial potential under the influence of chlorin e6, which leads to a disruption of MB reduction to the leucoform.

Changes in tumor oxygenation *in vivo* during PS accumulation were also assessed. For this study, a large tumor size was chosen; the volume before therapy was about 1 cm³, oxygenation was significantly reduced relative to normal tissues and amounted to about 35%. The dependence of tumor oxygenation on PS accumulation time is shown in Fig. 4.

It has been shown that for Ehrlich carcinoma after intravenous administration of MB and a combination of MB with chlorin e6, a temporary decrease in oxygenation is observed, and then an increase in the level of oxygenation above the initial one. For the combination of chlorin e6 and MB, the increase in oxygenation levels occurred more quickly, as early as 30 minutes after administration, which correlates with faster accumulation of the PS combination. At the same time, the change in the level of oxygenation with the joint administration of MB and chlorin e6 was more pronounced, which confirms the assumption of the vascular effects of chlorin e6. Thus, it was previously shown that preliminary irradiation of a tumor with low-intensity laser radiation promotes more efficient accumulation of chlorin e6 [45].

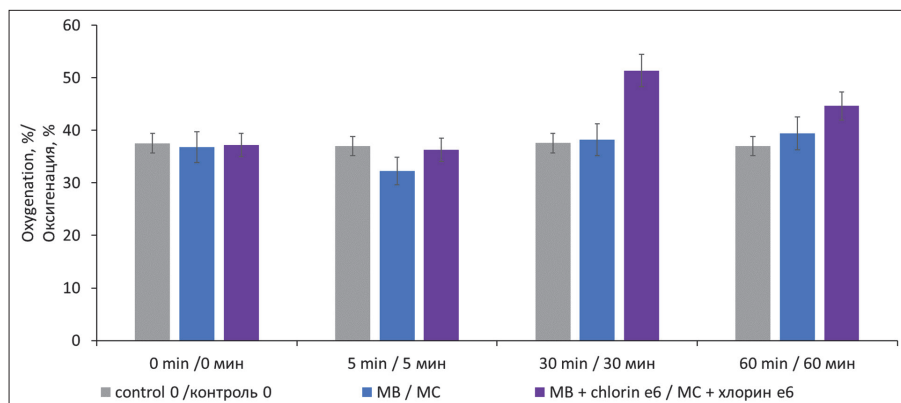


Рис. 4. Оксигенация опухоли, определенная по поглощению гемоглобина до, через 5, 30 мин и через 1 ч после внутривенного введения MC в дозе 10 мг/кг и комбинации MC с хлорином е6 (10 мг/кг + 5 мг/кг). Контроль – без введения ФС.
Fig. 4. Tumor oxygenation, determined by hemoglobin absorption before, after 5, 30 minutes and 1 hour after intravenous administration of MB at a dose of 10 mg/kg and a combination of MB with chlorin e6 (10 mg/kg + 5 mg/kg). Control – without administration of PS.

We have studied PDT with the combined use of chlorin e6 and MB. Based on the results obtained on the accumulation and effect on oxygenation, the following options for the joint use of drugs were chosen: joint administration of MB and chlorin e6 and laser irradiation an hour after administration (an increase in the tumor oxygenation and a more pronounced photodynamic effect was expected) and separate administration of PS, first chlorin e6 was injected, after an hour MB and immediately after MB administration was performed irradiation, until MB passes into a colorless form (an enhanced photodynamic effect was assumed due to a higher concentration of PS). In addition, the generation of singlet oxygen by chlorin e6 can lead to the oxidation of the colorless leucoform of MB back to blue, and chlorin e6 can have an effect on blood vessels.

The characteristic appearance of tumors in groups on days 3 and 5 after PDT is presented in Fig. 5.

The effectiveness of therapy was assessed by the rate of tumor growth. After therapy, the fastest growth of tumors was observed in the control group; on day 5 the tumor volume exceeded 3.5 cm³, Fig. 6.

In the groups without irradiation, there was no significant decrease in tumor growth rate compared to the control group without any therapy. We hypothesize that the effect of MB on tumor oxygenation after a single administration is too short-lived for therapeutic effect.

A good therapeutic effect was observed in all groups with irradiation. After PDT with chlorin e6, MB and a combination of MB with chlorin e6 a decrease in the tumor growth rate were observed compared to the control. The most pronounced therapeutic effect was observed

	3 days / 3 дня	5 days / 5 дней	lambda coded/цветовая кодировка по длинам волн	AO and PI staining/окрашивание АО и ПИ
Control 0 / Контроль 0				
chlorin e6 / хлорин е6			NA	NA
MB / MC				
MB PDT / MC ФДТ				
chlorin e6 PDT / хлорин е6 ФДТ				
MB+e6 separately PDT / MC+e6 раздельное введение ФДТ				
MB+e6 simultaneously / MC+e6 совместное введение ФДТ				

Рис. 5. Характерный вид опухоли в группах на 3-й и 5-й день после ФДТ. Флуоресцентные изображения криосрезов опухолей в режиме цветовой кодировки по длинам волн и после окрашивания акридиновым оранжевым и йодидом пропидия (АО и ПИ).
Fig. 5. Characteristic appearance in groups on the 3rd and 5th day after PDT. Fluorescent images of cryosections of tumors in wave-length-color-coded mode (lambda mode) and after staining with acridine orange and propidium iodide (AO and PI).

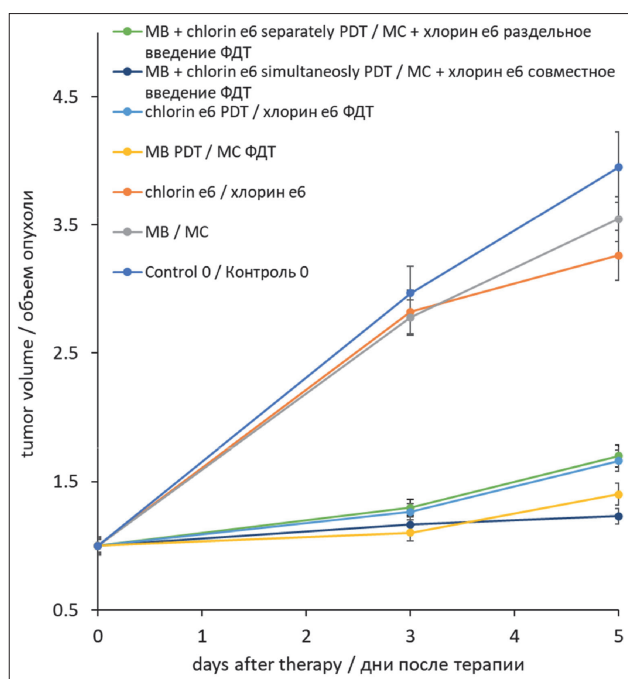


Рис. 6. Характерный размер опухоли в группах на 3-й и 5-й дни после ФДТ.

Fig. 6. Characteristic tumor size in groups on the 3rd and 5th day after PDT.

in groups with PDT with MB and with the simultaneous administration of chlorin e6 and MB (to increase tumor oxygenation before therapy) followed by irradiation an hour later. In both groups with the introduction of chlorin e6 and MB, the appearance of ulcers and more pronounced tissue necrosis in the area of photodynamic exposure were observed, however, the suppression of tumor growth was more significant in the group with the combined administration of MB and chlorin e6.

Oxygenation measurements were used as an additional parameter to assess the effectiveness of the therapy. The dependence of tumor oxygenation on time after PDT is shown in Fig. 7.

In all groups with irradiation, the level of tumor oxygenation on days 3 and 5 was higher than in the control group and groups without irradiation. The highest oxygenation on day 5 after PDT was observed for the group with MB and irradiation of 60 J/cm². The lower oxygenation for groups receiving chlorin e6 alone or in combination with MB is presumably due to the photodamaging effect of chlorin e6 on blood vessels.

Also, after animal euthanasia and preparation of cryosections of the studied tumors, FLIM was performed to study the effect of MB administration on the metabolic type of tumor tissues. The distribution of MB fluorescence

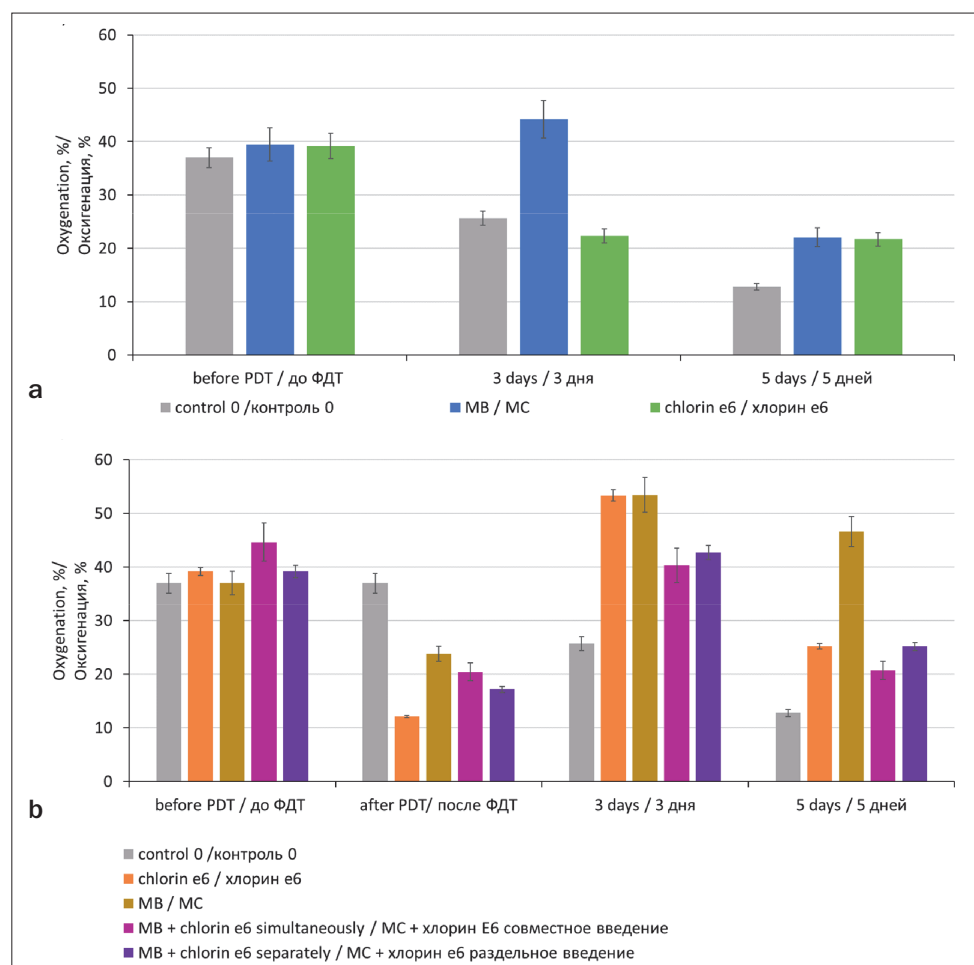


Рис. 7. Оксигенации опухоли, определенная по поглощению гемоглобина до ФДТ, сразу, на 3-й и 5-й дни после ФДТ для групп: а – с облучением; б – без облучения.

Fig. 7. The tumor oxygenation, determined by hemoglobin absorption before PDT, immediately, on days 3 and 5 after PDT for groups: a – without irradiation; b – with irradiation.

and the lifetime of the metabolic cofactor NADH were analyzed on cryosections of tumors.

Fig. 8 shows phasor diagrams of fluorescence in the spectral range of NADH from tumor sections.

Phasor diagrams of the FLIM for tumors after PDT show a deviation from the metabolic trajectory and a shift towards a longer lifetime compared to the control tumor without any therapy. This shift in the metabolic index indicates the presence of lipid peroxidation products [46]. Thus, tumor regression after PDT with studied PS is associated with the direct destruction of tumor cells under the influence of reactive oxygen species formed during PDT. Interestingly, more severe damage does not contribute to more effective suppression of tumor growth. Thus, in the group with PDT only with MB, for which the smallest shift in phasor was observed relative to the control, the suppression of tumor growth was most pronounced, along with the highest level of oxygenation on day 5 after therapy.

Conclusion

A study was conducted of the therapeutic effects of MB and MB in combination with chlorin e6 on tumors *in vivo*.

Using spectroscopic methods, the optimal time for chlorin e6 accumulation in the tumor was estimated to be 1 hour. For MB, a smooth increase in concentration was observed with increasing accumulation time, which corresponds to the time dependence of MB concentration obtained previously for Lewis lung carcinoma. For the combination of chlorin e6 and MB, maximum accumulation was observed already 5 minutes after co-administration of the drugs, which is possibly due to the vascular effect of chlorin e6 during irradiation. Another explanation for this effect could be a change in mitochondrial potential under the influence of chlorin e6, which leads to a disruption in the reduction of MB to the leukemic form.

Study with help of video fluorescent methods confirmed previously obtained for Lewis carcinoma results: after intravenous administration, MB very quickly accumulates both in the tumor and in normal tissue. Irradiation of MB prevents the transition of MB to the leucoform, which is presumably due to the oxidation of LMB to MB upon interaction with reactive oxygen species. The same effect, but even more pronounced, is observed when MB is administered in combination with chlorin e6.

A study of the photodynamic activity of MB and MB in combination with chlorin e6 has demonstrated a good therapeutic effect and a decrease in the tumor growth rate for groups with PDT with chlorin e6, MB and a combination of MB with chlorin e6, a decrease in the tumor growth rate were observed in all groups with PDT compared to the control and groups without irradiation. The most pronounced therapeutic effect was observed in groups with MB and irradiation and with the combined

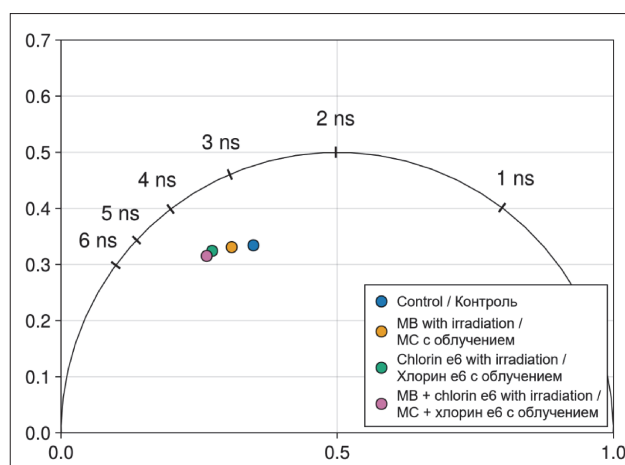


Рис. 8. Средние фазовые значения на разрешенных во времени флуоресцентных изображениях НАДН в срезах опухоли после терапии.

Fig. 8. Mean phasor values for time-resolved fluorescence images of NADH in tumor cryosections after therapy.

administration of chlorin e6 and MB (to increase tumor oxygenation before therapy) followed by irradiation an hour later. In both groups with the introduction of chlorin e6 and MB, the appearance of ulcers and more pronounced tissue necrosis in the area of photodynamic exposure were observed, however, the suppression of tumor growth was more significant in the group with the combined administration of MB and chlorin e6.

The level of tumor oxygenation on days 3 and 5 was higher in groups with PDT compared to control and groups without irradiation. The highest oxygenation on day 5 after PDT was observed for the group with PDT with MB. The lower oxygenation for groups receiving chlorin e6 alone or in combination with MB is presumably due to the photodamaging effect of chlorin e6 on blood vessels.

Phasor diagrams of the FLIM for tumors after PDT show a deviation from the metabolic trajectory and a shift towards a longer lifetime compared to the control tumor. This shift in the metabolic index indicates the presence of lipid peroxidation products. Thus, tumor regression after PDT with studied PS is associated with the direct destruction of tumor cells under the influence of reactive oxygen species formed during PDT.

Thus, the effectiveness of PDT with combined use of MB and chlorin e6 was demonstrated. According to obtained results, the most promising approach among studied is the combined administration of chlorin e6 and MB to increase tumor oxygenation before therapy followed by irradiation an hour later. Further study is needed to optimize MB and chlorin e6 concentrations and accumulation time, as well as irradiation dose.

Acknowledgment

The study was funded by a grant from the Russian Science Foundation (project N 22-72-10117).

REFERENCES

- Hockel M., Vaupel P. Tumor Hypoxia: Definitions and Current Clinical, Biologic, and Molecular Aspects, *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 2001, vol. 93 (4), pp. 266–276. doi:10.1093/jnci/93.4.266.
- Vaupel P., Harrison L. Tumor Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanisms, and Cellular Response, *The Oncologist*, 2004, vol. 9 (S5), pp. 4–9. doi:10.1634/theoncologist.9-90005-4.
- Robert Grimes D., Partridge M. A Mechanistic Investigation of the Oxygen Fixation Hypothesis and Oxygen Enhancement Ratio, *Biomed. Phys. Eng. Express*, 2015, vol. 1 (4), pp. 045209. doi:10.1088/2057-1976/1/4/045209.
- Casazza A., Di Conza G., Wenes M. et al. Tumor Stroma: A Complexity Dictated by the Hypoxic Tumor Microenvironment, *Oncogene*, 2014, vol. 33 (14), pp. 1743–1754. doi:10.1038/ncr.2013.121.
- Bader S.B., Dewhirst M.W., Hammond E.M. Cyclic Hypoxia: An Update on Its Characteristics, Methods to Measure It and Biological Implications in Cancer, *Cancers*, 2020, vol. 13 (1), pp. 23. doi:10.3390/cancers13010023.
- Vaupel P., Flood A.B., Swartz H.M. Oxygenation Status of Malignant Tumors vs. Normal Tissues: Critical Evaluation and Updated Data Source Based on Direct Measurements with pO₂ Microsensors, *Appl Magn Reson*, 2021, vol. 52 (10), pp. 1451–1479. doi:10.1007/s00723-021-01383-6.
- Zhang Q., Yan Q., Yang H. et al. Oxygen Sensing and Adaptability Won the 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine, *Genes & Diseases*, 2019, vol. 6 (4), pp. 328–332. doi:10.1016/j.gendis.2019.10.006.
- Rankin E.B., Giaccia A.J. Hypoxic Control of Metastasis, *Science*, 2016, vol. 352 (6282), pp. 175–180. doi:10.1126/science.aaf4405.
- LaGory E.L., Giaccia A.J. The Ever-Expanding Role of HIF in Tumour and Stromal Biology, *Nat Cell Biol*, 2016, vol. 18 (4), pp. 356–365. doi:10.1038/ncb3330.
- Semenza G.L. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine, *Cell*, 2012, vol. 148 (3), pp. 399–408. doi:10.1016/j.cell.2012.01.021.
- Jin M.-Z., Jin W.-L. The Updated Landscape of Tumor Microenvironment and Drug Repurposing, *Sig Transduct Target Ther*, 2020, vol. 5 (1), pp. 166. doi:10.1038/s41392-020-00280-x.
- Krisnawan V.E., Stanley J.A., Schwarz J.K. et al. Tumor Microenvironment as a Regulator of Radiation Therapy: New Insights into Stromal-Mediated Radioresistance, *Cancers*, 2020, vol. 12 (10), pp. 2916. doi:10.3390/cancers12102916.
- Sahu A., Kwon I., Tae G. Improving Cancer Therapy through the Nanomaterials-Assisted Alleviation of Hypoxia, *Biomaterials*, 2020, vol. 228, pp. 119578. doi:10.1016/j.biomaterials.2019.119578.
- Ravichandran G., Yadav D.N., Murugappan S. et al. "Nano Effects": A Review on Nanoparticle-Induced Multifarious Systemic Effects on Cancer Theranostic Applications, *Mater. Adv.*, 2022, vol. 3 (22), pp. 8001–8011. doi:10.1039/D2MA00784C.
- Zhao L., Fu C., Tan L. et al. Advanced Nanotechnology for Hypoxia-Associated Antitumor Therapy, *Nanoscale*, 2020, vol. 12 (5), pp. 2855–2874. doi:10.1039/C9NR09071A.
- Mansoori B., Mohammadi A., Amin Doustvandi M. et al. Photodynamic Therapy for Cancer: Role of Natural Products, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2019, vol. 26, pp. 395–404. doi:10.1016/j.pdpdt.2019.04.033.
- Correia J.H., Rodrigues J.A., Pimenta S. et al. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions, *Pharmaceutics*, 2021, vol. 13 (9), pp. 1332. doi:10.3390/pharmaceutics13091332.
- Jiang W., Liang M., Lei Q. et al. The Current Status of Photodynamic Therapy in Cancer Treatment, *Cancers*, 2023, vol. 15 (3), pp. 585. doi:10.3390/cancers15030585.
- Olyushin V.E., Kukanov K.K., Nechaeva A.S. et al. Photodynamic Therapy in Neurooncology, *Biomedical photonics*, 2023, vol. 12 (3), pp. 25–35. doi:10.24931/2413-9432-2023-12-3-25-35.
- Villalpando-Rodriguez G.E., Gibson S.B. Reactive Oxygen Species (ROS) Regulates Different Types of Cell Death by Acting as a Rheostat, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, vol. 2021, pp. 1–17. doi:10.1155/2021/9912436.
- Krasnovskii A.A. [Photodynamic activity and singlet oxygen], *Biofizika*, 2004, vol. 49 (2), pp. 305–321.
- Zhao X., Liu J., Fan J. et al. Recent Progress in Photosensitizers for Overcoming the Challenges of Photodynamic Therapy: From Molecular Design to Application, *Chem. Soc. Rev.*, 2021, vol. 50 (6), pp. 4185–4219. doi:10.1039/D0CS00173B.
- Baptista M.S., Indig G.L. Effect of BSA Binding on Photophysical and Photochemical Properties of Triarylmethane Dyes, *J. Phys. Chem. B*, 1998, vol. 102 (23), pp. 4678–4688. doi:10.1021/jp981185n.

ЛИТЕРАТУРА

- Hockel M., Vaupel P. Tumor Hypoxia: Definitions and Current Clinical, Biologic, and Molecular Aspects. // *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. – 2001. – Т. 93, № 4. – С. 266–276.
- Vaupel P., Harrison L. Tumor Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanisms, and Cellular Response. // *The Oncologist*. – 2004. – Т. 9, № 55. – С. 4–9.
- Robert Grimes D., Partridge M. A mechanistic investigation of the oxygen fixation hypothesis and oxygen enhancement ratio. // *Biomedical Physics & Engineering Express*. – 2015. – Т. 1, № 4. – С. 045209.
- Casazza A., Di Conza G., Wenes M., Finisguerra V., Deschoemaeker S., Mazzone M. Tumor stroma: a complexity dictated by the hypoxic tumor microenvironment. // *Oncogene*. – 2014. – Т. 33, № 14. – С. 1743–1754.
- Bader S. B., Dewhirst M. W., Hammond E. M. Cyclic Hypoxia: An Update on Its Characteristics, Methods to Measure It and Biological Implications in Cancer. // *Cancers*. – 2020. – Т. 13, № 1. – С. 23.
- Vaupel P., Flood A. B., Swartz H. M. Oxygenation Status of Malignant Tumors vs. Normal Tissues: Critical Evaluation and Updated Data Source Based on Direct Measurements with pO₂ Microsensors. // *Applied Magnetic Resonance*. – 2021. – Т. 52, № 10. – С. 1451–1479.
- Zhang Q., Yan Q., Yang H., Wei W. Oxygen sensing and adaptability won the 2019 Nobel Prize in Physiology or medicine. // *Genes & Diseases*. – 2019. – Т. 6, № 4. – С. 328–332.
- Rankin E. B., Giaccia A. J. Hypoxic control of metastasis. // *Science*. – 2016. – Т. 352, № 6282. – С. 175–180.
- LaGory E. L., Giaccia A. J. The ever-expanding role of HIF in tumour and stromal biology. // *Nature Cell Biology*. – 2016. – Т. 18, № 4. – С. 356–365.
- Semenza G. L. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine. // *Cell*. – 2012. – Т. 148, № 3. – С. 399–408.
- Jin M.-Z., Jin W.-L. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing. // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2020. – Т. 5, № 1. – С. 166.
- Krisnawan V. E., Stanley J. A., Schwarz J. K., DeNardo D. G. Tumor Microenvironment as a Regulator of Radiation Therapy: New Insights into Stromal-Mediated Radioresistance. // *Cancers*. – 2020. – Т. 12, № 10. – С. 2916.
- Sahu A., Kwon I., Tae G. Improving cancer therapy through the nanomaterials-assisted alleviation of hypoxia. // *Biomaterials*. – 2020. – Т. 228. – С. 119578.
- Ravichandran G., Yadav D. N., Murugappan S., Sankaranarayanan S. A., Revi N., Rengan A. K. "Nano effects": a review on nanoparticle-induced multifarious systemic effects on cancer theranostic applications. // *Materials Advances*. – 2022. – Т. 3, № 22. – С. 8001–8011.
- Zhao L., Fu C., Tan L., Li T., Zhong H., Meng X. Advanced nanotechnology for hypoxia-associated antitumor therapy. // *Nanoscale*. – 2020. – Т. 12, № 5. – С. 2855–2874.
- Mansoori B., Mohammadi A., Amin Doustvandi M., Mohammadnejad F., Kamari F., Gjerstorff M. F., Baradaran B., Hamblin M. R. Photodynamic therapy for cancer: Role of natural products. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2019. – Т. 26. – С. 395–404.
- Correia J. H., Rodrigues J. A., Pimenta S., Dong T., Yang Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. // *Pharmaceutics*. – 2021. – Т. 13, № 9. – С. 1332.
- Jiang W., Liang M., Lei Q., Li G., Wu S. The Current Status of Photodynamic Therapy in Cancer Treatment. // *Cancers*. – 2023. – Т. 15, № 3. – С. 585.
- Olyushin V. E., Kukanov K. K., Nechaeva A. S., Sklyar S. S., Vershinin A. E., Dikonenko M. V., Golikova A. S., Mansurov A. S., Safarov B. I., Rynda A. Y., Papayan G. V. Photodynamic therapy in neurooncology. // *Biomedical Photonics*. – 2023. – Т. 12, № 3. – С. 25–35.
- Villalpando-Rodriguez G. E., Gibson S. B. Reactive Oxygen Species (ROS) Regulates Different Types of Cell Death by Acting as a Rheostat. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2021. – Т. 2021. – С. 1–17.
- Krasnovskii A. A. [Photodynamic activity and singlet oxygen]. // *Biofizika*. – 2004. – Т. 49, № 2. – С. 305–321.
- Zhao X., Liu J., Fan J., Chao H., Peng X. Recent progress in photosensitizers for overcoming the challenges of photodynamic therapy: from molecular design to application. // *Chemical Society Reviews*. – 2021. – Т. 50, № 6. – С. 4185–4219.
- Baptista M. S., Indig G. L. Effect of BSA Binding on Photophysical and Photochemical Properties of Triarylmethane Dyes. // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 1998. – Т. 102, № 23. – С. 4678–4688.
- Wan Y., Fu L., Li C., Lin J., Huang P. Conquering the Hypoxia Limitation for Photodynamic Therapy. // *Advanced Materials*. – 2021. – Т. 33, № 48. – С. 2103978.

24. Wan Y, Fu L, Li C. et al. Conquering the Hypoxia Limitation for Photodynamic Therapy, *Advanced Materials*, 2021, vol. 33 (48), pp. 2103978. doi:10.1002/adma.202103978.
25. Pominova D.V., Ryabova A.V., Skobeltsin A.S. et al. Spectroscopic Study of Methylene Blue in Vivo: Effects on Tissue Oxygenation and Tumor Metabolism, *Biomedical photonics*, 2023, vol. 12 (1), pp. 4–13. doi:10.24931/2413-9432-2023-12-1-4-13.
26. Pominova D., Ryabova A., Skobeltsin A. et al. The Use of Methylene Blue to Control the Tumor Oxygenation Level, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2024, vol. 46, pp. 104047. doi:10.1016/j.pdpdt.2024.104047.
27. Sevcik P, Dunford H.B. Kinetics of the Oxidation of NADH by Methylene Blue in a Closed System, *J. Phys. Chem.*, 1991, vol. 95 (6), pp. 2411–2415. doi:10.1021/j100159a054.
28. Engbersen J.F.J., Koudijs A., Van Der Plas H.C. Reaction of NADH Models with Methylene Blue, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 2010, vol. 104 (5), pp. 131–138. doi:10.1002/recl.19851040503.
29. Chiarugi A., Dölle C., Felici R. et al. The NAD Metabolome — a Key Determinant of Cancer Cell Biology, *Nat Rev Cancer*, 2012, vol. 12 (11), pp. 741–752. doi:10.1038/nrc3340.
30. Jiang H., Jedoui M., Ye J. The Warburg Effect Drives Dedifferentiation through Epigenetic Reprogramming, *Cancer Biol Med*, 2020, vol. 20 (12), pp. 891–897. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0467.
31. Jiang H., Greathouse R.L., Tiche S.J. et al. Mitochondrial Uncoupling Induces Epigenome Remodeling and Promotes Differentiation in Neuroblastoma, *Cancer Research*, 2023, vol. 83 (2), pp. 181–194. doi:10.1158/0008-5472.CAN-22-1029.
32. Komlódi T., Tretter L. Methylene Blue Stimulates Substrate-Level Phosphorylation Catalysed by Succinyl-CoA Ligase in the Citric Acid Cycle, *Neuropharmacology*, 2017, vol. 123, pp. 287–298. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.05.009.
33. Taldaev A., Terekhov R., Nikitin I. et al. Methylene Blue in Anticancer Photodynamic Therapy: Systematic Review of Preclinical Studies, *Front. Pharmacol.*, 2023, vol. 14, pp. 1264961. doi:10.3389/fphar.2023.1264961.
34. Matsubara T., Kusuzaki K., Matsumine A. et al. Methylene Blue in Place of Acridine Orange as a Photosensitizer in Photodynamic Therapy of Osteosarcoma, *In Vivo*, 2008, vol. 22 (3), pp. 297–303.
35. Hak A., Ali M.S., Sankaranarayanan S.A. et al. Chlorin E6: A Promising Photosensitizer in Photo-Based Cancer Nanomedicine, *ACS Appl. Bio Mater.*, 2023, vol. 6 (2), pp. 349–364. doi:10.1021/acsabm.2c00891.
36. Rynda A.Yu., Rostovtsev D.M., Olyushin V.E. et al. Therapeutic Pathomorphosis in Malignant Glioma Tissues after Photodynamic Therapy with Chlorin E6 (Reports of Two Clinical Cases), *Biomedical photonics*, 2020, vol. 9 (2), pp. 45–54. doi:10.24931/2413-9432-2020-9-2-45-54.
37. Filonenko E.V. Clinical Implementation and Scientific Development of Photodynamic Therapy in Russia in 2010–2020, *Biomedical photonics*, 2022, vol. 10 (4), pp. 4–22. doi:10.24931/2413-9432-2021-9-4-4-22.
38. Panaseykin Y.A., Kapinus V.N., Filonenko E.V. et al. Photodynamic Therapy Treatment of Oral Cavity Cancer in Patients with Comorbidities, *Biomedical photonics*, 2023, Vol. 11 (4), pp. 19–24. doi:10.24931/2413-9432-2022-11-4-19-24.
39. Adimoolam M.G., A.V., Nalam M.R. et al. Chlorin E6 Loaded Lactoferrin Nanoparticles for Enhanced Photodynamic Therapy, *J. Mater. Chem. B*, 2017, vol. 5 (46), pp. 9189–9196. doi:10.1039/C7TB02599H.
40. Lim D.-J. Methylene Blue-Based Nano and Microparticles: Fabrication and Applications in Photodynamic Therapy, *Polymers*, 2021, vol. 13 (22), pp. 3955. doi:10.3390/polym13223955.
41. Alimu G., Yan T., Zhu L. et al. Liposomes Loaded with Dual Clinical Photosensitizers for Enhanced Photodynamic Therapy of Cervical Cancer, *RSC Adv.*, 2023, Vol. 13 (6), pp. 3459–3467. doi:10.1039/D2RA03055A.
42. Hompland T., Fjeldbo C.S., Lyng H. Tumor Hypoxia as a Barrier in Cancer Therapy: Why Levels Matter, *Cancers*, 2021, vol. 13 (3), pp. 499. doi:10.3390/cancers13030499.
43. Strattonnikov A.A., Loschenov V.B. Evaluation of Blood Oxygen Saturation in Vivo from Diffuse Reflectance Spectra, *J. Biomed. Opt.*, 2001, vol. 6 (4), pp. 457. doi:10.1117/1.1411979.
44. Atamna H., Kumar R. Protective Role of Methylene Blue in Alzheimer's Disease via Mitochondria and Cytochrome c Oxidase, *JAD*, 2010, vol. 20 (s2), pp. S439–S452. doi:10.3233/JAD-2010-100414.
45. Efendiev K.T., Alekseeva P.M., Shiryayev A.A. et al. Preliminary Low-Dose Photodynamic Exposure to Skin Cancer with Chlorin E6 Photosensitizer, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2022, vol. 38, pp. 102894. doi:10.1016/j.pdpdt.2022.102894.
46. Datta R., Alfonso-García A., Cinco R. et al. Fluorescence Lifetime Imaging of Endogenous
25. Pominova D. V., Ryabova A. V., Skobeltsin A. S., Markova I. V., Romanishkin I. D., Loschenov V. B. Spectroscopic study of methylene blue in vivo: effects on tissue oxygenation and tumor metabolism. // *Biomedical Photonics*. – 2023. – T. 12, № 1. – С. 4–13.
26. Pominova D., Ryabova A., Skobeltsin A., Markova I., Linkov K., Romanishkin I. The use of methylene blue to control the tumor oxygenation level. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2024. – T. 46. – С. 104047.
27. Sevcik P, Dunford H.B. Kinetics of the oxidation of NADH by methylene blue in a closed system. // *The Journal of Physical Chemistry*. – 1991. – T. 95, № 6. – С. 2411–2415.
28. Engbersen J. F. J., Koudijs A., Van Der Plas H. C. Reaction of NADH models with methylene blue. // *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. – 2010. – T. 104, № 5. – С. 131–138.
29. Chiarugi A., Dölle C., Felici R., Ziegler M. The NAD metabolome — a key determinant of cancer cell biology. // *Nature Reviews Cancer*. – 2012. – T. 12, № 11. – С. 741–752.
30. Jiang H., Jedoui M., Ye J. The Warburg effect drives dedifferentiation through epigenetic reprogramming. // *Cancer Biology & Medicine*. – 2024. – T. 20, № 12. – С. 891–897.
31. Jiang H., Greathouse R. L., Tiche S. J., Zhao M., He B., Li Y., Li A. M., Forgo B., Yip M., Li A., Shih M., Banuelos S., Zhou M.-N., Gruber J. J., Rankin E. B., Hu Z., Shimada H., Chiu B., Ye J. Mitochondrial Uncoupling Induces Epigenome Remodeling and Promotes Differentiation in Neuroblastoma. // *Cancer Research*. – 2023. – T. 83, № 2. – С. 181–194.
32. Komlódi T., Tretter L. Methylene blue stimulates substrate-level phosphorylation catalysed by succinyl-CoA ligase in the citric acid cycle. // *Neuropharmacology*. – 2017. – T. 123. – С. 287–298.
33. Taldaev A., Terekhov R., Nikitin I., Melnik E., Kuzina V., Klochko M., Reshetov I., Shiryayev A., Loschenov V., Ramenskaya G. Methylene blue in anticancer photodynamic therapy: systematic review of preclinical studies. // *Frontiers in Pharmacology*. – 2023. – T. 14. – С. 1264961.
34. Matsubara T., Kusuzaki K., Matsumine A., Satonaka H., Shintani K., Nakamura T., Uchida A. Methylene blue in place of acridine orange as a photosensitizer in photodynamic therapy of osteosarcoma. // *In Vivo (Athens, Greece)*. – 2008. – T. 22, № 3. – С. 297–303.
35. Hak A., Ali M. S., Sankaranarayanan S. A., Shinde V. R., Rengan A. K. Chlorin e6: A Promising Photosensitizer in Photo-Based Cancer Nanomedicine. // *ACS Applied Bio Materials*. – 2023. – T. 6, № 2. – С. 349–364.
36. Rynda A. Yu., Rostovtsev D. M., Olyushin V. E., Zabrodskaya Yu. M. Therapeutic pathomorphosis in malignant glioma tissues after photodynamic therapy with chlorin e6 (reports of two clinical cases). // *Biomedical Photonics*. – 2020. – T. 9, № 2. – С. 45–54.
37. Filonenko E. V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010–2020. // *Biomedical Photonics*. – 2022. – T. 10, № 4. – С. 4–22.
38. Panaseykin Y. A., Kapinus V. N., Filonenko E. V., Polkin V. V., Sevrukov F. E., Isaev P. A., Ivanov S. A., Kaprin A. D. Photodynamic therapy treatment of oral cavity cancer in patients with comorbidities. // *Biomedical Photonics*. – 2023. – T. 11, № 4. – С. 19–24.
39. Adimoolam M. G., A. V., Nalam M. R., Sunkara M. V. Chlorin e6 loaded lactoferrin nanoparticles for enhanced photodynamic therapy. // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2017. – T. 5, № 46. – С. 9189–9196.
40. Lim D.-J. Methylene Blue-Based Nano and Microparticles: Fabrication and Applications in Photodynamic Therapy. // *Polymers*. – 2021. – T. 13, № 22. – С. 3955.
41. Alimu G., Yan T., Zhu L., Du Z., Ma R., Fan H., Chen S., Alifu N., Zhang X. Liposomes loaded with dual clinical photosensitizers for enhanced photodynamic therapy of cervical cancer. // *RSC Advances*. – 2023. – T. 13, № 6. – С. 3459–3467.
42. Hompland T., Fjeldbo C. S., Lyng H. Tumor Hypoxia as a Barrier in Cancer Therapy: Why Levels Matter. // *Cancers*. – 2021. – T. 13, № 3. – С. 499.
43. Strattonnikov A. A., Loschenov V. B. Evaluation of blood oxygen saturation in vivo from diffuse reflectance spectra. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2001. – T. 6, № 4. – С. 457.
44. Atamna H., Kumar R. Protective Role of Methylene Blue in Alzheimer's Disease via Mitochondria and Cytochrome c Oxidase. // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2010. – T. 20, № s2. – С. S439–S452.
45. Efendiev K. T., Alekseeva P. M., Shiryayev A. A., Skobeltsin A. S., Solonina I. L., Fatyanova A. S., Reshetov I. V., Loschenov V. B. Preliminary low-dose photodynamic exposure to skin cancer with chlorin e6 photosensitizer. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2022. – T. 38. – С. 102894.
46. Datta R., Alfonso-García A., Cinco R., Gratton E. Fluorescence lifetime imaging of endogenous biomarker of oxidative stress. // *Scientific Reports*. – 2015. – T. 5, № 1. – С. 9848.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА КОМБИНИРОВАННЫХ ТВЕРДЫХ ЛИПИДНЫХ ЧАСТИЦ С ГЕФИТИНИБОМ И ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ НА ИХ РАЗМЕР, СТАБИЛЬНОСТЬ И ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Л.Л. Николаева^{1,2}, Е.В. Санарова¹, А.П. Колпаксиди¹, С.Д. Щеглов^{1,2},
А.А. Рудакова¹, М.А. Барышникова¹, А.В. Ланцова¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский
Университет), Москва, Россия

Резюме

Создание комбинированных нанолекарств и их контролируемое высвобождение под воздействием фотоиндукции активно развивающаяся отрасль научных исследований. Данная работа посвящена разработке моделей твердых липидных наночастиц для известного противоопухолевого препарата – гефитиниба в комбинации с фотоиндицирующим агентом – фотосенсибилизатор из группы фталоцианинов. Наночастицы получали несколькими методами: горячей гомогенизацией со стеариновой кислотой, кунжутным маслом и твином 80 и путем одностадийного диспергирования с сополимерами молочной и гликолевой кислот и поливиниловым спиртом. В опытах *in vitro* при облучении частиц лазером в ближнем инфракрасном диапазоне (около 730 нм) было доказано преимущество применения комбинированных наночастиц с гефитинибом и фотосенсибилизатором по сравнению с монотерапией, при этом активность по показателю ИК₅₀ была выше в 5,1–8,7 раз для гефитиниба и в 1,5–1,8 раз для фотосенсибилизатора.

Ключевые слова: твердые липидные наночастицы, алюминия фталоцианин, гефитиниб, *in vitro*, фотоиндуцированная активность

Контакты: Николаева Л.Л., e-mail: alima91@yandex.ru

Для цитирования: Николаева Л.Л., Санарова Е.В., Колпаксиди А.П., Щеглов С.Д., Рудакова А.А., Барышникова М.А., Ланцова А.В. Влияние состава комбинированных твердых липидных частиц с гефитинибом и фотосенсибилизатором на их размер, стабильность и цитотоксическую активность // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 19–25. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-19-25.

EFFECT OF THE COMPOSITION OF COMBINED SOLID LIPID PARTICLES WITH GEFITINIB AND A PHOTSENSITIZER ON THEIR SIZE, STABILITY AND CYTOTOXIC ACTIVITY

Nikolaeva L.L.^{1,2}, Sanarova E.V.¹, Kolpaksidi A.P.¹, Shcheglov S.D.^{1,2}, Rudakova A.A.¹,
Baryshnikova M.A.¹, Lantsova A.V.¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia,
Moscow, Russia

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

The creation of combined nanomedicines and their controlled release under the influence of photoinduction is an actively developing branch of scientific research. This work is devoted to the development of models of solid lipid nanoparticles for a well-known antitumor drug – gefitinib in combination with a photoindicating agent – a photosensitizer from the phthalocyanine group. Nanoparticles were obtained by several methods: hot homogenization with stearic acid, sesame oil and Tween 80 and by one-step dispersion with copolymers of lactic and glycolic acids and polyvinyl alcohol. In vitro experiments when irradiating particles with a laser in the near-infrared range (about 730 nm) proved the advantage of using combined nanoparticles with gefitinib and a photosensitizer compared to monotherapy, while the activity in terms of IC₅₀ was 5.1–8.7 times higher for gefitinib and 1.5–1.8 times for the photosensitizer.

Key words: solid lipid nanoparticles, aluminum phthalocyanine, gefitinib, *in vitro*, photoinduced activity

Contacts: Nikolaeva L.L., e-mail: alima91@yandex.ru

For citation: Nikolaeva L.L., Sanarova E.V., Kolpaksidi A.P., Shcheglov S.D., Rudakova A.A., Baryshnikova M.A., Lantsova A.V. Effect of the composition of combined solid lipid particles with gefitinib and a photosensitizer on their size, stability and cytotoxic activity, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 1, pp. 19–25. doi: 10.24931/2413-9432-2023-13-1-19-25.

Введение

После открытия первого ингибитора тирозинкиназы (ИТК) – иматиниба, последовали исследования по синтезу различных веществ с аналогичным механизмом действия. Большинство ИТК являются противоопухолевыми агентами, а некоторые используются как противовоспалительные. Однако, в процессе изучения ИТК было выяснено, что несмотря на свою эффективность, данные соединения гепатотоксичны, интенсивно метаболизируются и имеют ограниченную биодоступность, а при их приеме быстро развивается резистентность. Эти негативные аспекты могут быть нивелированы путем разработки новых поколений ИТК или за счет создания наиболее эффективных и безопасных лекарственных форм (ЛФ), в т.ч. избирательного действия [1]. Кроме того, активность ИТК может быть повышена с помощью применения в комбинации с другими противоопухолевыми препаратами.

Различные нано- и микроструктуры, в т.ч. гибридные [2] показали огромный потенциал для разработки биомаркеров и химиопрепаратов за счет их многофункциональной регулируемости и биосовместимости [3, 4]. Одним из перспективных направлений развития противоопухолевой терапии считается создание наносистем с контролируемым выделением. Например, фотоиндуцированным высвобождением, за счет включения в состав наноносителя фотосенсибилизатора (ФС), который при воздействии светом с длиной волны, поглощаемой этим ФС, активируется, что приводит к высвобождению химиопрепарата, оказывая сочетанное воздействие на опухоль. Наиболее предпочтительным при разработке подобных наноструктур является использование в качестве фотоиндуктора ФС с излучением в ближнем ИК-диапазоне спектра 700–850 нм, обладающего наибольшей способностью проникновения в биологические ткани и с низкой интенсивностью ниже 30 мВт/см² [5].

Целью настоящего исследования являлась разработка наносистемы на основе твердых липидных наночастиц (ТЛН) с химиопрепаратом гефитиниб (ГФТ) и ФС алюминия фталоцианин (АФЦ). ГФТ является ИТК и широко используется при лечении рака легких как в монотерапии, так и в сочетании с другими агентами. ГФТ плохо растворим в воде, в связи с этим в клинической практике применяется в форме таблеток, за счет этого обладает недостаточно высокой биодоступностью. Данную проблему можно решить разработкой ЛФ с ГФТ в виде наночастиц, обеспечивающей доставку лекарственного средства в опухоль за счет наноразмера, эффекта повышенной проницаемости и удержания (EPR), основанного на неоваскуляризации опухоли [6], и за счет контролируемого выхода ГФТ из наночастиц при фотовоздействии.

Материалы и методы

Материалы

ГФТ (MSN Laboratories Private Limited), АФЦ (Merck Life Science LLC), стеариновая кислота (СК, Himedia), кунжут-

ное масло (KM, Merck Life Science LLC), твин-80 (Montanox 80, Seppic), фосфатидилхолин S 100, SPC (ФХ, Lipoid), сополимер молочной и гликолевой кислот Purasorb PDLG 5010 (СПМГ, Corbion), хитозан экстра чистый (Х, Sisco Research Laboratories), поливиниловый спирт гидролизированный 88% (ПВС, Acros Organics), сахароза, чистый для анализа, трегалоза дигидрат, особо чистый, маннит, чистый для анализа (Химмед), хлороформ, химически чистый (Вектон).

Оборудование

Весы лабораторные DL-120 (AND), весы аналитические OHAUS Analytical Plus AP 100S (OHAUS Corporation), магнитная мешалка IKA® C-MAG HS 4 (IKA Werke GmbH & Co KG), вакуумный насос Büchi V-700 (BÜCHI Labortechnik AG), погружной гомогенизатор Polytron PT 1200 E (Kinematica), УЗ-гомогенизатор Bandelin Sonopuls HD 2070 (Bandelin), сублимационная сушка Edwards Minifast DO.2 (Ero Electronic S.p.A.), pH-метр HANNA pH 2211 (Hanna Instruments), спектрофотометр Cary 100 (Agilent Technologies).

Методы получения модельных комбинаций

- 1) Методом горячей гомогенизации [7] с использованием СК и КМ в качестве липидной фазы и твин-80 в качестве водной фазы в различных соотношениях (ТЛН-1). Приготовление композиций начинали с расплавления СК при 70–100°C на магнитной мешалке, далее по массе добавляли КМ и в полученной смеси при перемешивании (300 об/мин) и постоянном нагревании растворяли ГФТ и АФЦ. Стакан с полученным композитом диспергировали на погружном гомогенизаторе с постепенным добавлением водного раствора твин-80 в течение 1 ч, полученные частицы измельчали на УЗ-диспергаторе и фильтровали под давлением. Схема получения представлена на рис. 1.
- 2) Методом одностадийного диспергирования [8, 9] с СПМГ и ФХ под вакуумом, в качестве органической фазы использовали хлороформ, а водной фазы – 1–2 % раствор ПВС с хитозаном или без (ТЛН-2). Метод получения частиц заключался в длительном перемешивании (в течение 24–32 ч) хлороформного раствора ГФТ и АФЦ и водного раствора ПВС и хитозана под вакуумом, после испарения хлороформа полученную дисперсию измельчали и фильтровали под давлением. Схема получения представлена на рис. 2. Измельчение частиц проводили с помощью комбинирования методов гомогенизации (5 000 об/мин, 60 мин) и ультразвукового диспергирования (5 мин, 60%). Для увеличения срока хранения наночастиц проводили лиофильное высушивание по методике [10].

Контроль качества всех полученных ТЛН проводили путем измерения количественного содержания, pH, размера частиц, ζ-потенциала [10, 11] и изучения стабиль-

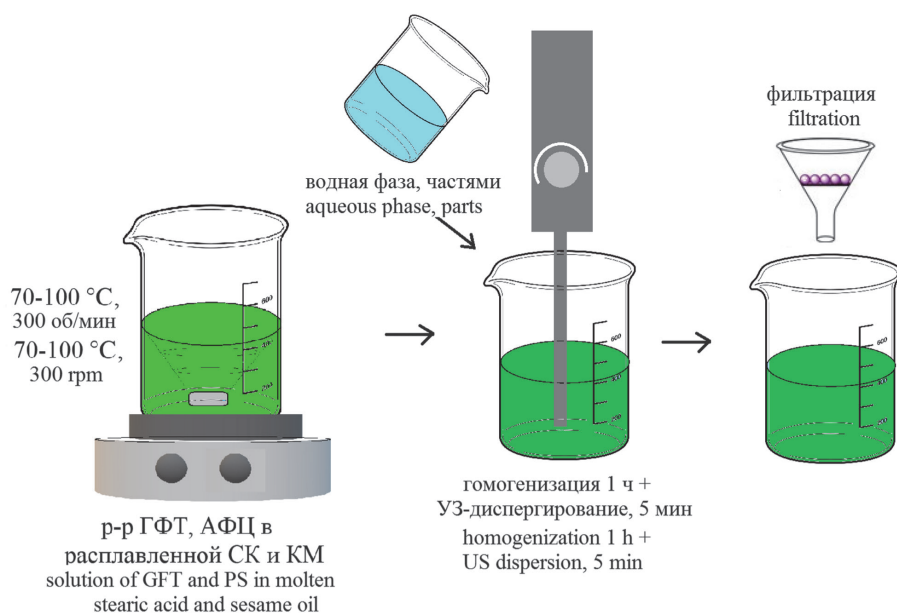


Рис. 1. Схема получения моделей ТЛН-1 методом горячей гомогенизации.
Fig. 1. Scheme for producing SLN-1 models by hot homogenization.

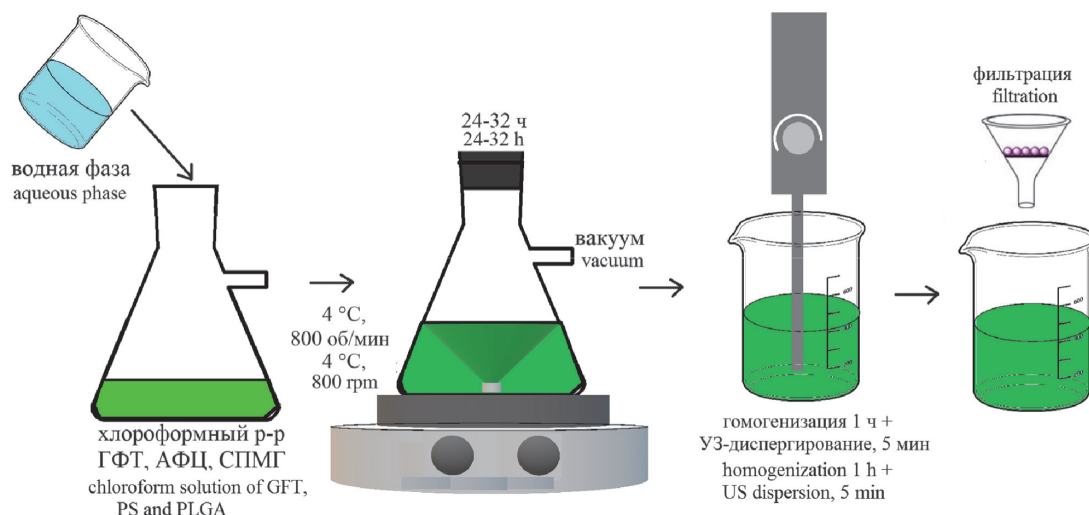


Рис. 2. Схема получения моделей ТЛН-1 методом горячей гомогенизации.
Fig. 2. Scheme for producing SLN-1 models by hot homogenization.

ности в процессе хранения. Анализ количественного содержания ГФТ и АФЦ в ТЛН проводили спектрофотометрически при длинах волн 338 ± 3 и 717 ± 3 нм, для ГФТ и АФЦ соответственно.

Цитотоксическая активность

Исследование цитотоксической активности ТЛН включало изучение темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности на клеточной линии карциноме легкого A549, полученной из Банка клеточных линий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Клеточные линии культивировали по стандартной методике [12]. МТТ-тест проводили рутинным методом [13], облучение проводили через 24 ч после введения препарата в течение 20 мин светодиодным источником с длиной волны 730 нм, далее клетки инкубировали в течение 24 ч.

Статистическая обработка проведена с использованием стандартных пакетов Microsoft Excel 2007 и программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.). Каждый эксперимент повторяли не менее трех раз, результаты представляли как среднее $\pm$ стандартное отклонение (SD). Концентрации IC_{50} рассчитывали методом нелинейной регрессии. Статистическую значимость определяли при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждения

Состав ТЛН-1 сделан на основе СК и КМ, т.к. включение жидкого липида в твердый липид позволяет встраиваться соединениям как между цепями жирных кислот, так и между липидными слоями [7], что увеличивает емкость загрузки действующих веществ и уменьшает взрывное высвобождение соединений. Для подбора

оптимального состава наночастиц готовили модельные смеси с различным соотношением вспомогательных веществ (табл. 1).

По данным табл. 1 видно, что существенное влияние на образование стабильной коллоидной системы оказывает содержание ПАВ и СК, так увеличение содержания твин-80 с 0,4% (№1) до 2,0% (№4) позволяет получить образцы дисперсии без осадка, а уменьшение СК с 2,0% (№1) до 0,7% (№4) предотвращает загустевание, т.е. наиболее оптимальным оказался состав 4 со средним размером частиц 236 ± 4 нм, ζ -потенциалом $-20 \pm 2,0$ мВ и значением pH=6,1. Для стабилизации выбранного состава проводили лиофилизацию с использованием криопротекторов – маннит, трегалоза, а затем изучали полученные образцы по основным показателям качества, наиболее оптимальным с позиции образования «таблетки» лиофилизата оказалось применение 5% растворов криопротекторов (табл. 2).

В образцах без криопротектора не происходило образование лиофильной структуры, образцы с маннитом и трегалозой в концентрации 5%, не только образовывали однородную сухую пористую массу

при лиофилизации, но и сохраняли показатели ТЛН-1 после регидратации лиофилизата (время регидратации 1 мин). Однако состав ТЛН-1 с трегалозой после регидратации оставался стабильным более длительное время (около 30 сут) по внешнему виду (однородная суспензия без признаков расслоения и выпадения осадка).

ТЛН-2 получали с использованием СПМГ, которые широко изучаются в настоящее время в связи с их биосовместимостью и биodeградируемостью в организме. На основании опыта приготовления моделей ТЛН-1 составы ТЛН-2 готовили в соотношении ГФТ:АФЦ 4:1 (табл. 3, рис. 3).

По данным табл. 3 и рис. 3 видно, что стабильность получаемой суспензии напрямую зависит от количества СПМГ и ФХ. Попытки уменьшения количества СПМГ и ФХ приводили к уменьшению включения ГФТ и АФЦ на 6-30% и выпадению субстанций в осадок. Модель ТЛН-2 состава №1 оказалось наиболее оптимальной с включением ГФТ 87%, АФЦ 99%, средним размером частиц 243 ± 11 нм, нейтральным ζ -потенциалом и pH 5,5. Контроль данной модели во времени по приведенным

Таблица 1
Составы ТЛН-1

Table 1
Compositions of SLN-1

№	Массовое соотношение Ratio			Внешний вид Appearance of samples	
	ГФТ:АФЦ GFT:AphC	ГФТ:СК GFT:SA	СК:КМ:твин-80 SA:S.oil:twin-80	после получения after receipt	через 24 ч after 24 h
1	4,5:1	1:11	2,2:1:0,4	неоднородная дисперсия с осадком, быстро загустевает heterogeneous dispersion with sediment, thickens quickly	неоднородная густая дисперсия с осадком heterogeneous thick dispersion with sediment
2	3,3:1	1:17	2,2:1:4,3	однородная дисперсия, быстро загустевает homogeneous dispersion, thickens quickly	густая дисперсия thick dispersion
3	3,7:1	1:10	2,2:1:4,3		
4	4:1	1:7	1,3:1:3,7	однородная дисперсия homogeneous dispersion	однородная дисперсия homogeneous dispersion

Таблица 2
Влияние криопротекторов на показатели качества ТЛН-1

Table 2
The influence of cryoprotectors on the quality indicators of SLN-1

Криопротектор Cryoprotector	Внешний вид лиофилизата Appearance of the lyophilisate	pH	Размер частиц, нм Nanoparticle size, nm	ζ -потенциал, мВ ζ -potential, mV	Эффективность включения ГФТ/АФЦ, % Entrapment efficiency GFT/AphC, %
маннит 5% mannitol 5%	однородная сухая пористая масса светлого-зеленого цвета homogeneous dry porous mass of light green color	6,4-6,8	220 ± 13	$-16 \pm 1,1$	100/40
трегалоза 5% trehalose 5%		7,3-7,4	245 ± 15	$-15 \pm 1,2$	92/44
-	прозрачная пленка transparent film	6,8-7,0	235 ± 11	$-14 \pm 0,9$	90/48

Таблица 3
Составы ТЛН-2

Table 3
Compositions of SLN-2

№	Массовое соотношение Ratio		Внешний вид Appearance of samples	
	ГФТ:СМПГ GFT:CPLG	СМПГ:ФХ:ПВС:Х CPLG:PhC:PA:Ch	после получения after receipt	через 24 ч after 24 h
1	1:30	60:40:40:1 ФХ — SPC PhC — SPC	однородная суспензия homogeneous suspension	однородная суспензия homogeneous suspension
2	1:30	60:16:40:1 ФХ — S100 PhC — S100		осадок sediment
3	1:20	40:15:40:1 ФХ — SPC PhC — SPC		однородная суспензия, осадок через 5 сут homogeneous suspension, sediment after 5 days
4	1:15	30:15:40:1 ФХ — SPC PhC — SPC		однородная суспензия, осадок через 3 сут homogeneous suspension, sediment after 3 days
5	1:15	30:15:20 ФХ — SPC, безХ PhC — SPC, without Ch		осадок sediment

выше показателям показал её стабильность в течение 14 сут при температуре хранения 2-8°C. В дальнейшем планируется лиофилизация данного состава.

Цитотоксическую активность выбранных моделей ТЛН-1 (состава 4 с 5% трегалозой) и ТЛН-2 (состав 1) изучали в экспериментах *in vitro* на модели опухолевых клеток рака легкого A549 (рис. 4, 5, табл. 4).

При исследовании темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности комбинированные ТЛН-1 и 2, а также монопрепараты (субстанцию ГФТ и модели ТЛН-1 и 2 только с АФЦ) вносили в клетки в концентрациях по ГФТ в дозах 1,56-100 мкг/мл. Субстанция ГФТ не обладает фототоксичностью, разница между ИК₅₀ субстанции с облучением и без составляет ~3%. По

ИК₅₀ фотоиндуцированная цитотоксичность при воздействии лазером с плотность дозы 33 Дж/см² на обеих моделях была выше темновой токсичности в 3,5-4,6 раз, что указывает на синергический эффект препарата и ФДТ. По сравнению с монотерапией комбинации были эффективнее в 5,1-8,7 по ГФТ и 1,5-1,8 раз по АФЦ. Близкие показатели ИК₅₀ между ТЛН-2 без облучения и субстанцией ГФТ указывают на фотоиндуцированное высвобождения ГФТ из ЛФ и на низкую токсичность вспомогательных веществ в данной композиции, в то время как ТЛН-1 достаточно цитотоксична и без облучения. Представленные данные указывают на перспективность дальнейшего изучения модели наночастиц ТЛН-2 на других клеточных линиях.

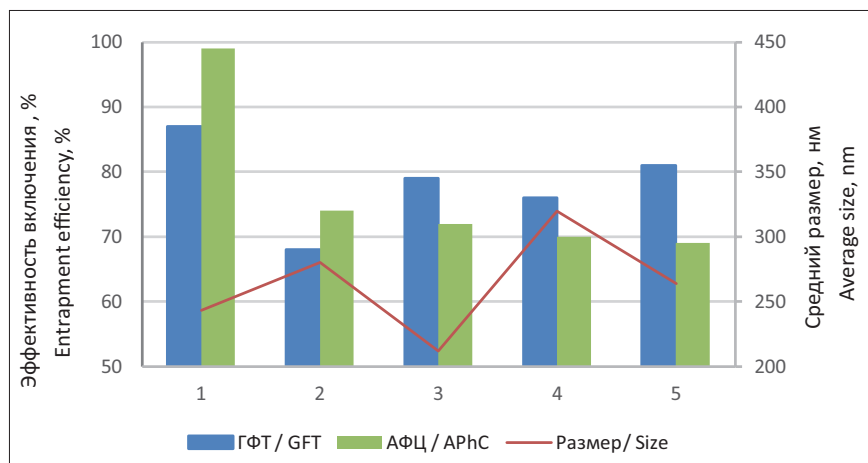


Рис. 3. Влияние состава вспомогательных веществ на эффективность включения ГФТ, АФЦ и на средний размер частиц в ТЛН-2.

Fig. 3. The influence of the composition of excipients on the efficiency of the inclusion of GFT, APhC and on the average particle size in SLN-2.

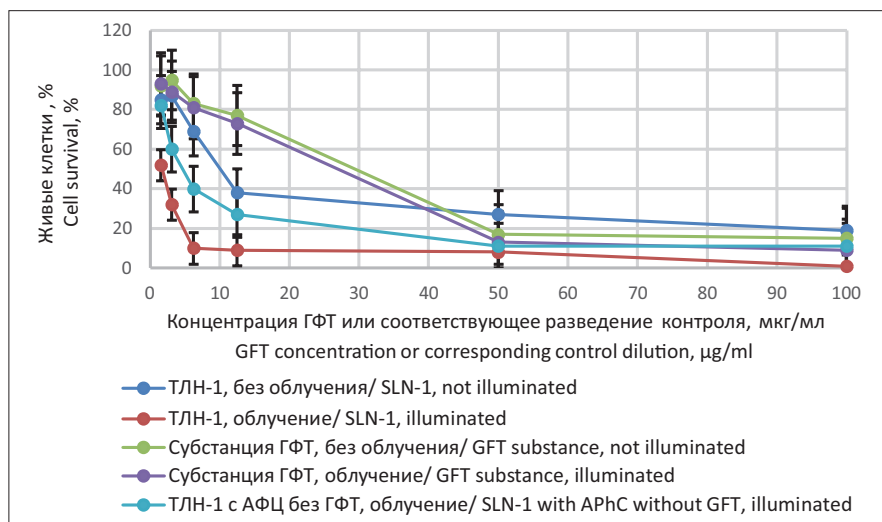


Рис. 4. Цитотоксическая активность ТЛН-1 на клетках A549, время инкубации 24 ч, для значений $ИК_{50}$ $p \leq 0,05$.

Fig. 4. Cytotoxic activity of SLN-1 on A549 cells, incubation time 24 h, for IC_{50} values $p \leq 0,05$.

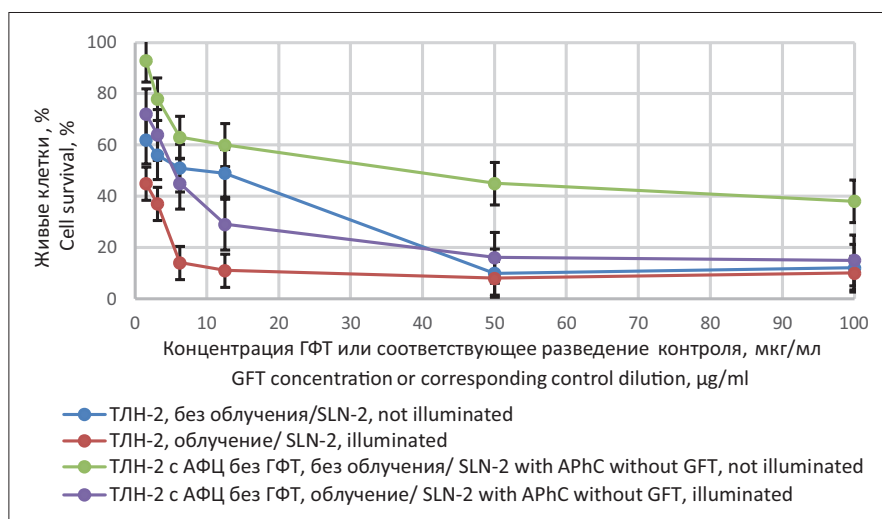


Рис. 5. Цитотоксическая активность ТЛН-2 на клетках A549, время инкубации 24 ч

Для значений ТЛН-2 $ИК_{50}$ и ТЛН-2с АФЦ без ГФТ (без облучения и с облучением) $p \leq 0,05$.

Fig. 5. Cytotoxic activity of SLN-2 on A549 cells, incubation time 24 h, for IC_{50} values $p \leq 0,05$.

Таблица 4

$ИК_{50}$ исследуемых образцов на модели A549

Table 4

IC_{50} of tested samples on model A549

Образец препарата Drug sample	ТЛН-1*, мкг/мл SLN-1, µg/ml	ТЛН-2*, мкг/мл SLN-1, µg/ml
ТЛН без облучения SLN not illuminated	8,5	19,0
ТЛН с облучением SLN illuminated	2,4	4,1
Субстанция ГФТ без облучения GFT substance, not illuminated	21,6	
Субстанция ГФТ с облучением GFT substance, illuminated	20,9	
ТЛН с АФЦ без ГФТ без облучения SLN with APhC without GFT, not illuminated	-	22,5
ТЛН с АФЦ без ГФТ с облучением SLN with APhC without GFT, illuminated	4,3	6,2

* $p \leq 0,05$

Закключение

В результате комплексных исследований по созданию комбинированных фотоиндуцированных наносистем ГФТ и ФС с высокой цитотоксической активностью были получены и изучены две модели ТЛН-1 и ТЛН-2, показатель $ИК_{50}$ составил 2,4 и 4,1 мкг/мл, соответственно. В дальнейших исследованиях планируется усовершенствовать композицию на основе СПМГ и ФХ и изучить ее фототоксичность на других клеточных линиях, а так же осуществить подбор оптимально режима облучения.

Данные по получению и изучению ТЛН с фотоиндуцированным высвобождением могут послужить методическим под-

ходом для разработки различных химиопрепаратов со стимул чувствительным высвобождением.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-75-01026

«Разработка таргетных комбинированных структур на основе фосфолипидных наносистем для терапии рака легких».

ЛИТЕРАТУРА

1. Jampilek J., Kralova K. Insights into Lipid-Based Delivery Nanosystems of Protein-Tyrosine Kinase Inhibitors for Cancer Therapy // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14(12). – P. e2706. doi: 10.3390/pharmaceutics14122706.
2. Nadaf S.J., Killedar S.G., Kumbar V.M., Bhagwat D.A., Gurav S.S. Pazopanib-laden lipid based nanovesicular delivery with augmented oral bioavailability and therapeutic efficacy against non-small cell lung cancer // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 628. – P. e122287. doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.122287.
3. Kumar V., Khan I., Gupta U. Lipid-dendrimer nanohybrid system or dendrosomes: evidences of enhanced encapsulation, solubilization, cellular uptake and cytotoxicity of bortezomib // *ApplNanosci*. – 2020. – Vol. 10. – P. 4049-4062. doi: 10.1007/s13204-020-01515-7.
4. Gracias S., Ayyanar M., Peramaiyan G., Kalaskar M., Redasani V., Gurav N., Nadaf S., Deshpande M., Bhole R., Khan M.S., Chikhale R., Gurav S. Fabrication of chitosan nanocomposites loaded with biosynthetic metallic nanoparticles and their therapeutic investigation // *Environmental Research*. – 2023. – Vol. 234. – P. e116609. doi: 10.1016/j.envres.2023.116609.
5. Meerovich I., Nichols M.G., Dash A.K. Low-intensity light-induced paclitaxel release from lipid-based nano-delivery systems // *Journal of Drug Targeting*. – 2019. – Vol. 27(9). – P. 971-983. doi: 10.1080/1061186X.2019.1571066.
6. Yang T., Zhai J., Hu D., Yang R., Wang G., Li Y., Liang G. «Targeting Design» of Nanoparticles in Tumor Therapy // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14(9). – P. 1919. doi: 10.3390/pharmaceutics14091919.
7. Makeen H.A., Mohan S., Al-Kasim M.A., Attafi I.M., Ahmed R.A., Syed N.K., Sultan M.H., Al-Bratty M., Alhazmi H.A., Saffi M.M., Ali R., Alam M.I. Gefitinib loaded nanostructured lipid carriers: characterization, evaluation and anti-human colon cancer activity in vitro // *Drug Delivery*. – 2020. – Vol. 27(1). – P. 622-631. doi: 10.1080/10717544.2020.1754526.
8. Sapelnikov M.D., Nikolskaya E.D., Morozova N.B., Plotnikova E.A., Efremenko A.V., Panov A.V., Grin M.A., Yakubovskaya R.I. Development of the technology for obtaining PLGA and dipropoxybateriopurpurinimide-based nanoparticles. Evaluation of physicochemical and biological properties of the obtained delivery system // *Biomedical Photonics*. – 2019. – Vol. 8(1). – P. 4-17. doi:10.24931/2413-9432-2019-8-1-4-17.
9. Кедик С.А., Омельченко О.А., Суслов В.В., Шняк Е.А. Разработка способа получения налтрексона основания, инкапсулированного в полимерные микрочастицы // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. – 2018. – Т. 7(1). – С. 32-35. Kedik S.A., Omelchenko O.A., Suslov V.V., Shnyak E.A. Development of a method for the preparation of the naltrexone base encapsulated in polymeric microparticles // *Drug development & registration*. – 2018. – Vol. 7(1). – P. 32-35.
10. Kolpaksidi A. P., Dmitrieva M. V., Orlova O. L., Ektova L. V., Krasniuk I. I. Application of solid dispersion technology to obtain a model of injectable dosage form of indolocarbazole derivative // *Drug development & registration*. – 2022. – Vol. 11(4). – P. 73-78. doi:10.33380/2305-2066-2022-11-4-73-78.
11. Sanarova E.V., Lantsova A.V., Nikolaeva L.L., Oborotova N.A., Litvinenko Ya.E., Solov'eva N.L. Creation of a Model of a Complex Delivery Nanosystem Containing a Tyrosine Kinase Inhibitor and a Photosensitizer // *Pharm Chem J*. – 2023. – Vol. 57. – P. 1075-1079. doi:10.1007/s11094-023-02986-y.
12. Abo Qoura L., Morozova E.A., Koval V.S., Kulikova V.V., Spirina T.S., Demidkina T.V., Pokrovsky V.S. Cytotoxic and antitumor properties of methionine γ -lyase conjugate in combination with S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides // *Russian Journal of Biotherapy*. – 2022. – Vol. 21(4). – P. 62-70. doi:10.17650/1726-9784-2022-21-4-62-70.
13. Ionov N.S., Baryshnikova M.A., Bocharov E.V., Pogodin P.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Karpova R.V., Kosorukov V.S., Stilidi I.S., Matveev V.B., Bocharova O.A., Poroikov V.V. Possibilities of in silico estimations for the development of pharmaceutical composition phytoadaptogene cytotoxic for bladder cancer cells // *Biomed Khim*. – 2021. – Vol. 67(3). – P. 278-288. doi:10.18097/PBMC20216703278.

REFERENCES

1. Jampilek J., Kralova K. Insights into Lipid-Based Delivery Nanosystems of Protein-Tyrosine Kinase Inhibitors for Cancer Therapy. *Pharmaceutics*, 2022, vol. 14(12), pp. e2706. doi: 10.3390/pharmaceutics14122706.
2. Nadaf S.J., Killedar S.G., Kumbar V.M., Bhagwat D.A., Gurav S.S. Pazopanib-laden lipid based nanovesicular delivery with augmented oral bioavailability and therapeutic efficacy against non-small cell lung cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 2022, vol. 628, pp. e122287. doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.122287.
3. Kumar V., Khan I., Gupta U. Lipid-dendrimer nanohybrid system or dendrosomes: evidences of enhanced encapsulation, solubilization, cellular uptake and cytotoxicity of bortezomib. *ApplNanosci*, 2020, vol. 10, pp. 4049-4062. doi: 10.1007/s13204-020-01515-7.
4. Gracias S., Ayyanar M., Peramaiyan G., Kalaskar M., Redasani V., Gurav N., Nadaf S., Deshpande M., Bhole R., Khan M.S., Chikhale R., Gurav S. Fabrication of chitosan nanocomposites loaded with biosynthetic metallic nanoparticles and their therapeutic investigation. *Environmental Research*, 2023, vol. 234, pp. e116609. doi: 10.1016/j.envres.2023.116609.
5. Meerovich I., Nichols M.G., Dash A.K. Low-intensity light-induced paclitaxel release from lipid-based nano-delivery systems. *Journal of Drug Targeting*, 2019, vol. 27(9), pp. 971-983. doi: 10.1080/1061186X.2019.1571066.
6. Yang T., Zhai J., Hu D., Yang R., Wang G., Li Y., Liang G. «Targeting Design» of Nanoparticles in Tumor Therapy. *Pharmaceutics*, 2022, vol. 14(9), pp. 1919. doi: 10.3390/pharmaceutics14091919.
7. Makeen H.A., Mohan S., Al-Kasim M.A., Attafi I.M., Ahmed R.A., Syed N.K., Sultan M.H., Al-Bratty M., Alhazmi H.A., Saffi M.M., Ali R., Alam M.I. Gefitinib loaded nanostructured lipid carriers: characterization, evaluation and anti-human colon cancer activity in vitro. *Drug Delivery*, 2020, vol. 27(1), pp. 622-631. doi: 10.1080/10717544.2020.1754526.
8. Sapelnikov M.D., Nikolskaya E.D., Morozova N.B., Plotnikova E.A., Efremenko A.V., Panov A.V., Grin M.A., Yakubovskaya R.I. Development of the technology for obtaining PLGA and dipropoxybateriopurpurinimide-based nanoparticles. Evaluation of physicochemical and biological properties of the obtained delivery system. *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8(1), pp. 4-17. doi:10.24931/2413-9432-2019-8-1-4-17.
9. Kedik S.A., Omelchenko O.A., Suslov V.V., Shnyak E.A. Development of a method for the preparation of the naltrexone base encapsulated in polymeric microparticles. *Drug development & registration*, 2018, vol. 7(1), pp. 32-35.
10. Kolpaksidi A. P., Dmitrieva M. V., Orlova O. L., Ektova L. V., Krasniuk I. I. Application of solid dispersion technology to obtain a model of injectable dosage form of indolocarbazole derivative. *Drug development & registration*, 2022, vol. 11(4), pp. 73-78. doi:10.33380/2305-2066-2022-11-4-73-78.
11. Sanarova E.V., Lantsova A.V., Nikolaeva L.L., Oborotova N.A., Litvinenko Ya.E., Solov'eva N.L. Creation of a Model of a Complex Delivery Nanosystem Containing a Tyrosine Kinase Inhibitor and a Photosensitizer. *Pharm Chem J*, 2023, vol. 57, pp. 1075-1079. doi:10.1007/s11094-023-02986-y.
12. Abo Qoura L., Morozova E.A., Koval V.S., Kulikova V.V., Spirina T.S., Demidkina T.V., Pokrovsky V.S. Cytotoxic and antitumor properties of methionine γ -lyase conjugate in combination with S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides. *Russian Journal of Biotherapy*, 2022, vol. 21(4), pp. 62-70. doi:10.17650/1726-9784-2022-21-4-62-70.
13. Ionov N.S., Baryshnikova M.A., Bocharov E.V., Pogodin P.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Karpova R.V., Kosorukov V.S., Stilidi I.S., Matveev V.B., Bocharova O.A., Poroikov V.V. Possibilities of in silico estimations for the development of pharmaceutical composition phytoadaptogene cytotoxic for bladder cancer cells. *Biomed Khim*, 2021, vol. 67(3), pp. 278-288. doi:10.18097/PBMC20216703278.

БАКТЕРИЦИДНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОГО ИМПУЛЬСНОГО ШИРОКОПОЛОСНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН

Х.А. Абдувосидов^{1,2,3}, С.М. Чудных^{2,3,4}, В.С. Егоров^{3,4}, А.Ю. Филимонов³,
И.А. Королёва³, А.С. Камруков⁵, В.В. Багров⁵, А.В. Кондратьев⁵

¹ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России, Тверь, Россия

³ГБУЗ Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ, Москва, Россия

⁴ФГБОУ ВО Российский университет медицины Минздрава России, Москва, Россия

⁵ФГБОУ Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет), Москва, Россия

Резюме

Целью исследования явилось изучение бактерицидной эффективности высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения при лечении инфицированных ран. Проведено экспериментальное исследование на 90 половозрелых крысах-самцах линии Wistar (3 группы). Моделировали инфицированную рану контаминированием *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*. Животным 1-й группы проводили высокоинтенсивное импульсное широкополосное облучение. Животным 2-й группы проводили традиционное УФ облучение. Животным 3-й группы проводили туалет раны раствором хлоргексидина 0,1%. Проведенное исследование показало, что к 3-му дню лечения у животных, которым проводили импульсное высокоинтенсивное широкополосное облучение ран, имело место существенное уменьшение контаминации *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* по сравнению с 3-й группой. К 7-му дню лечения в 1-й и во 2-й группах у большинства животных наблюдали полную деконтаминацию ран в отношении *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. У большинства животных 1-й группы выявлено полное очищение ран от *Pseudomonas aeruginosa*. К 10-му дню практически у всех животных 1-й группы отмечена полная деконтаминация ран. Статистический анализ показал, что к 10-му дню лечения у животных 1-й и 2-й групп по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* выявлена существенная разница в снижении степени контаминации ран по сравнению с результатами у животных 3-й группы. Таким образом, применение импульсного высокоинтенсивного широкополосного облучения ран снижает степень контаминации патогенных микроорганизмов в более ранние сроки.

Ключевые слова: инфицированная рана, ультрафиолетовое облучение, импульсное высокоинтенсивное широкополосное облучение, местное лечение ран, бактериологический контроль.

Контакты: Абдувосидов Х.А., e-mail: sogdiana99@gmail.com

Для цитирования: Абдувосидов Х.А., Чудных С.М., Егоров В.С., Филимонов А.Ю., Королёва И.А., Камруков А.С., Багров В.В., Кондратьев А.В. Бактерицидная эффективность использования высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения при лечении инфицированных ран // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 26–33. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-26-33.

BACTERICIDAL EFFECTIVENESS OF HIGH-INTENSITY PULSED BROADBAND IRRADIATION IN TREATING INFECTED WOUNDS

Abduvosidov Kh.A.^{1,2,3}, Chudnykh S.M.^{2,3,4}, Egorov V.S.^{3,4}, Filimonov A.Yu.³,
Korolyova I.A.³, Kamrukov A.S.⁵, Bagrov V.V.⁵, Kondrat'ev A.V.⁵

¹FSBEI HE «Russian Biotechnological University», Moscow, Russia

²FSBEI HE «Tver State Medical University» of MOH of Russia, Tver, Russia

³FSBEI HE «Russian University Of Medicine» of MOH of Russia, Moscow, Russia

⁴Moscow Clinical Scientific Center n.a. A.S. Loginov, Moscow, Russia

⁵FSBEI HE «Bauman Moscow State Technical University», Moscow, Russia

Abstract

The study aimed to investigate the bactericidal efficacy of high-intensity pulsed broadband irradiation in the treatment of infected wounds. An experimental study was conducted on 90 mature male Wistar rats. An infected wound model was created by contaminating with *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Candida albicans*. Animals in Group 1 received high-intensity pulsed broadband irradiation. Animals in Group 2 received traditional UV irradiation. Animals in Group 3 had their wounds cleaned with 0.1% chlorhexidine solution. By the 3rd day of treatment, animals that received pulsed high-intensity broadband irradiation showed a significant reduction in contamination by *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* compared to Group 3. By the 7th day of treatment, half or the majority of animals in Groups 1 and 2 showed complete decontamination of wounds concerning *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. Most animals in Group 1 showed complete wound clearance of *Pseudomonas aeruginosa*. By the 10th day, nearly all animals in Group 1 demonstrated complete decontamination of wounds. Statistical analysis revealed a significant difference in the reduction of wound contamination with *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* by the 10th day in Groups 1 and 2 compared to Group 3. Thus, the use of high-intensity pulsed broadband irradiation of wounds reduces the degree of pathogenic microorganism contamination in a shorter time frame.

Keywords: infected wound, ultraviolet irradiation, high-intensity pulsed broad-spectrum irradiation, local wound treatment, bacteriological control.

Contacts: Abduvosidov Kh.A., e-mail: sogdiana99@gmail.com

For citations: Abduvosidov Kh.A., Chudnykh S.M., Egorov V.S., Filimonov A.Yu., Korolyova I.A., Kamrukov A.S., Bagrov V.V., Kondrat'ev A.V. Bactericidal effectiveness of high-intensity pulsed broadband irradiation in treating infected wounds, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 2, pp. 26–33. doi: 10.24931/2413–9432–2023–13-2-26–33.

Введение

В современной хирургии важным вопросом является профилактика и лечение инфекций. В первой половине XX века благодаря научным трудам А. Fleming, H.W. Florey и E.B. Chain началась новая эпоха в медицине, которая ознаменовалась появлением антибиотиков, за открытие которых ученым была присуждена Нобелевская премия. Несомненно, первым и важным звеном в лечении инфекций, в том числе и раневой инфекции, является антибактериальная терапия. Но широкое применение антибактериальных препаратов, привело к эволюционированию микроорганизмов и появлению новых видов патогенов с устойчивостью к антибиотикам. По данным ВОЗ отмечается рост антибактериальной резистентности к антибиотикам, так 50% штаммов *Escherichia coli* устойчивы к метициллину, *Staphylococcus aureus* (MRSA) и *Klebsiella pneumoniae* – к цефалоспорином третьего поколения и фторхинолонам [1, 2]. Многие виды микроорганизмов, в том числе и грибы, вырабатывают защитный внеклеточный полимерный матрикс, так называемые биопленки, в которые в достаточной степени трудно проникнуть современным системным противомикробным препаратам. Возникает необходимость назначения высоких доз антимикробных препаратов, что может увеличить риск появления побочных эффектов [3, 4, 5]. В литературе встречается много работ, посвященных вопросу антибактериальной устойчивости и поиску новых препаратов для лечения инфекций с антибактериальной резистентностью [2, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Тем не менее, вопрос лечения раневой инфекции остается актуальным. При этом многие авторы делают акцент на дополнительные методы лечения, которые могут позволить добиться полной деконтаминации

ран или в достаточной мере снизить их контаминацию. К таким методам относятся воздействие экзогенного оксида азота, вакуум-терапия, гидрохирургическая обработка ран, применение ультразвуковой кавитации, а также фотодинамическая терапия [12, 13, 14, 15]. Световые технологии представляют собой совокупность развивающихся методов в лечении ран. При этом низкочастотная лазерная терапия и фотодинамическая терапия на сегодняшний день имеют широкое применение для лечения раневой инфекции [16, 17, 18, 19, 20]. К ультрафиолетовому диапазону относится электромагнитное излучение с длинами волн от 100 до 400 нм, которое подразделяют на четыре самостоятельные спектральные области. Диапазон длин волн от 315 до 400 нм определяется как УФ-А, диапазон от 280 до 315 нм как УФ-В, излучение с длинами волн от 200 до 280 нм относят к УФ-С диапазону, а область от 100 до 200 нм – к вакуумному ультрафиолету. Коротковолновое УФ излучение диапазонов УФ-С и УФ-В обладает выраженным бактерицидным действием с максимумом эффективности на длинах волн от 250 до 270 нм и позволяет инактивировать различные виды микроорганизмов, в том числе антибиотико-резистентные штаммы патогенных бактерий [21, 22, 23].

Большой выбор методов физического воздействия с использованием световых технологий на раневую инфекцию при нарастающей антибактериальной резистентности обуславливают актуальность совершенствования методов фототерапии и подбора оптимальных эффективных режимов их применения.

Целью исследования являлось изучения бактерицидной эффективности высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения при лечении инфицированных ран.

Материалы и методы

Проведено экспериментальное исследование, одобренное Межвузовским комитетом по этике (выписка из протокола № 06-23 от 15.06.23). Эксперимент выполнен на половозрелых крысах-самцах линии Wistar, массой тела 220-250 г, в условиях вивария ФГБОУ ВО Российский университет медицины Минздрава России. Все животные проходили карантин в течение 2 нед.

Манипуляции на животных проводили при общем обезболивании. Предварительно проводили премедикацию 2% раствором ксилазина. Далее проводили общее обезбоживание раствором зоветила 100.

После достижения анестезии в асептических условиях моделировали инфицированную рану. Выполняли разрез кожи в области холки, размером 20х20 мм. В рану вносили триггер в виде марлевого шарика со взвесью культур из контрольных штаммов *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* в равных объемах и разведениях, содержащий в 1 мл 10^9 микробных тел. Рану ушивали полипропиленовой нитью накладыванием двух узловых швов. В послеоперационном периоде все животные имели доступ к жидкости для питья и получали стандартное питание. Через 1 день после моделирования раны производили снятие швов. Затем все животные были случайным образом разделены на три группы по тридцать особей.

Животным 1-й группы (n=30) в послеоперационном периоде после снятия швов проводили ежедневный туалет раны раствором хлоргексидина 0,1% с последующим высокоинтенсивным импульсным широкополосным облучением и наложением на рану повязки с раствором хлоргексидина 0,1%. Облучение проводилось в течение 10 дней.

Животным 2-й группы (n=30) после ежедневного туалета раны раствором хлоргексидина 0,1% проводили традиционное УФ облучение с наложением на рану повязки с раствором хлоргексидина 0,1%. Облучение проводилось в течение 10 дней.

Животным 3-й группы (n=30) проводили ежедневный туалет раны раствором хлоргексидина 0,1% и наложение на рану повязки с раствором хлоргексидина 0,1%.

Высокоинтенсивное импульсное широкополосное облучение проводили аппаратом, разработанным НИИ энергетического машиностроения МГТУ им. Н.Э. Баумана. Принцип действия аппарата основан на импульсном облучении пораженных участков высокоинтенсивным оптическим излучением сплошного спектра, генерируемым малогабаритной импульсной ксеноновой лампой типа ИНП 5/60. Лампа работает в импульсно-периодическом режиме с частотой импульсов 5 Гц и средней электрической мощностью 100 Вт. Средняя мощность излучения лампы в УФ-С диапазоне спектра (200-280 нм) составляла 3 Вт, импульсная мощность УФ-С излучения – 24 кВт.

В аппарате было предусмотрено три режима: режим 1 – длительность цикла облучения 10 с (50 импульсов); режим 2 – 20 с (100 импульсов); режим 3 – 40 с (200 импульсов). Нами была подобрана следующая методика обработки ран, в зависимости от степени контаминации и стадии раневого процесса: в первые пять дней лечения применяли режим 3 (200 импульсов с длительностью цикла облучения 40 с) с расстоянием облучения 5 см от раны, начиная с шестого дня лечения последующие пять дней использован режим 2 (100 импульсов с длительностью цикла 20 с) на расстоянии 10 см.

Традиционное УФ облучение проводили при помощи ОУФК-01 «Солнышко» -УФ кварцевый облучатель на основе ртутной бактерицидной лампы типа ДКБУ-7 с электрической мощностью 7 Вт; мощность излучения в УФ-С диапазоне составляла 1,2 Вт. Облучение проводили ежедневно в течение 10 дней по 3 мин с расстояния от облучателя до раны 10 см.

Для оценки бактерицидной эффективности применения высокоинтенсивного импульсного широкополосного излучения и традиционного УФ облучения при лечении инфицированных ран в день снятия швов (до лечения), на 3-й, 7-й, 10-й, 14-й и 21-й дни от начала лечения проводили бактериологическое исследование.

Выполнен анализ степени контаминации и динамики деконтаминации ран различной микрофлорой. Для этого на каждом сроке контроля учитывалось количество животных с разной степенью контаминации четырех видов микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*) 10^8 , 10^6 и $<10^4$ на поверхности ран. Посев проб осуществляли методом секторных посевов (По Голду-Родоману) на чашки Петри с кровяным агаром, а также со средами Эндо и Сабуро. Исследование проведено в бактериологической лаборатории ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ. Результаты представлены в процентном соотношении. Сравнительная оценка качественных признаков внутри групп и между группами выполнена при помощи критерия χ^2 Пирсона, для чего предварительно строили и оценивали таблицы сопряжения. Признак считали статистически различным при $p < 0,05$. Множественные сравнения проведены с использованием поправки Бонферрони. При сравнении между группами $k=0,05/3=0,0167$.

Результаты исследования

До начала лечения бактериологическое исследование поверхности ран показало, что статистически значимого различия между исследуемыми группами по степени контаминации микрофлорой не выявлено. Практически у всех животных наблюдалась контаминация *Staphylococcus aureus* 10^8 КОЕ. Обсемененность ран *Pseudomonas aeruginosa* (10^8 КОЕ) отмечена у 90% животных в трех исследованных группах.

К 3-му дню лечения у животных 1-й группы по сравнению со 2-й и 3-й группами выявлено статистически значимое снижение степени обсемененности ран *Staphylococcus aureus* (табл. 1). В отношении снижения степени контаминации ран *Klebsiella pneumoniae* на 3-й день наблюдали положительную динамику во всех группах. К 3-му дню контроля нами выявлена существенная разница результатов лечения между 1-й и 3-й группами ($p=0,0025$, $\chi^2=14,3$ и $p=0,01$, $\chi^2=11$ соответственно) в отношении обсемененности ран *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*. Также отмечена положительная динамика в виде деконтаминации и снижения степени контаминации поверхности ран *Candida albicans*. Статистической разницы между группами в этот период по обсемененности *Candida albicans* не выявлено ($p=0,33$, $\chi^2=4,58$).

К 7-му дню лечения наблюдали положительную динамику в отношении снижения степени контаминации всех микроорганизмов (табл. 2). При этом нами отмечено, что ни в одной группе контаминации в 10^8 КОЕ не было. Анализ обсемененности ран

Staphylococcus aureus к этому сроку показал, что имела существенная разница результатов деконтаминации и снижения степени контаминации между 1-й и 3-й группами ($p<0,0001$, $\chi^2=41,14$), а также выявлена разница между 2-й и 3-й группами ($p<0,0001$, $\chi^2=29,14$). В то же время обсемененность *Klebsiella pneumoniae* была снижена во всех группах животных (табл. 2). Показатели обсемененности ран *Pseudomonas aeruginosa* у животных 1-й группы к 7-му дню лечения отличались от таковых во 2-й и 3-й группах ($p=0,01$, $\chi^2=8,93$, $p<0,0001$, $\chi^2=25,84$ соответственно). Имелась положительная динамика в отношении *Candida albicans*, во всех группах отмечалась полная деконтаминация ран *Candida albicans* у большинства животных. При этом между группами статистически достоверной разницы к этому сроку не выявлено (табл. 2).

К 10-мудню лечения обсемененность *Staphylococcus aureus* между группами существенно различалась (табл. 3). Количество животных с деконтаминацией ран *Staphylococcus aureus* в 1-й группе достоверно было меньше по сравнению со 2-й и 3-й группами

Таблица 1

Контаминация ран различной микрофлорой у животных в трех группах на 3-й день лечения

Table 1

Contamination of wounds by various microflora in animals across three groups on day 3 of treatment

Микрофлора Microflora	КОЕ CFU	Группы Groups						P
		1		2		3		
		Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	
Staphylococcus aureus	10 ⁸	2	6,67	6	20	11	36,67	p=0,0014, χ ² =21,64; P1-2 p=0,043, χ ² =8,13; P1-3 p=0,0003, χ ² =18,6; P2-3 p=0,25, χ ² =4,07
	10 ⁶	7	23,33	13	43,33	13	43,33	
	<10 ⁴	13	43,33	9	30	6	20	
	Нет роста No growth	8	26,67	2	6,67	0		
Klebsiella pneumoniae	10 ⁸	0		1	3,33	6	20	p=0,0071, χ ² =17,65; P1-2 p=0,26, χ ² =4; P1-3 p=0,0025, χ ² =14,3; P2-3 p=0,13, χ ² =5,5
	10 ⁶	4	13,33	8	26,67	10	33,33	
	<10 ⁴	12	40	13	43,33	10	33,33	
	Нет роста No growth	14	46,67	8	26,67	4	13,33	
Pseudomonas aeruginosa	10 ⁸	5	16,67	9	30	14	46,67	p=0,034, χ ² =13,48 P1-2 p=0,28, χ ² =3,82; P1-3 p=0,01, χ ² =11; P2-3 p=0,17, χ ² =4,95
	10 ⁶	8	26,67	6	20	9	30	
	<10 ⁴	8	26,67	11	36,67	6	20	
	Нет роста No growth	9	30	4	13,33	1	3,33	
Candida albicans	10 ⁸	0		0		0		p=0,33, χ ² =4,58
	10 ⁶	2	6,67	4	13,33	5	16,67	
	<10 ⁴	6	20	9	30	11	36,67	
	Нет роста No growth	22	73,33	17	56,67	14	46,67	

($p=0,01$, $\chi^2=6,4$ и $p<0,0001$, $\chi^2=22,33$ соответственно). Во 2-й группе результаты достоверно отличались по сравнению с 3-й группой ($p=0,01$, $\chi^2=9,13$). Снижение степени обсемененности *Klebsiella pneumoniae* среди животных 1-й группы было значимо больше чем во 2-й и 3-й группах ($p=0,01$, $\chi^2=9,23$ и $p<0,0001$, $\chi^2=25,71$ соответственно). Также показатели очищения ран во 2-й группе существенно отличались от 3-й группы ($p=0,0002$, $\chi^2=17,01$). При анализе обсемененности ран *Pseudomonas aeruginosa* к 10-му дню лечения имелась статистически значимая разница между группами ($p=0,0001$, $\chi^2=29,03$). Результаты в 1-й группе были существенно лучше по сравнению с 3-й группой ($p=0,0001$, $\chi^2=23,81$). К 3-му дню контроля выявлена деконтаминация ран *Candida albicans* у всех животных 1-й и 2-й групп, только у 2 (6,67%) животных 3-й группы выявлена обсемененность в 10^4 КОЕ.

На 14-й день лечения отмечена положительная динамика по сравнению с предыдущими днями контроля. У всех животных 1-й группы наблюдали полную деконтаминацию ран по отношению ко всем микроорганизмам. Во 2-й группе у 27 животных выявлена полная деконтаминация в отношении *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*, и у 26 животных по отношению к *Pseudomonas aeruginosa*. В 3-й группе также наблюдалась положительная динамика, у большинства крыс выявлено полное очищение ран.

К 21-му дню среди животных 2-й группы только у 1 животного наблюдали рост *Staphylococcus aureus*, у остальных животных выявлена полная деконтаминация ран. В 3-й группе у 1 животного отмечена контаминация в 10^6 КОЕ, у 5 животных рост *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* в 10^4 КОЕ, у 2 – рост *Klebsiella pneumoniae* в 10^4 КОЕ.

Таблица 2

Контаминация ран различной микрофлорой у животных в трех группах на 7-й день лечения

Table 2

Contamination of wounds by various microflora in animals across three groups on day 7 of treatment

Микрофлора Microflora	КОЕ CFU	Группы Groups						P
		1		2		3		
		Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	
Staphylococcus aureus	10 ⁸	0		0		0		p<0,0001, χ ² =54,62; P1-2 p=0,051, χ ² =5,8; P1-3 p<0,0001, χ ² =41,14; P2-3 p<0,0001, χ ² =29,14
	10 ⁶	0		4	13,33	24	80	
	<10 ⁴	8	26,67	11	36,67	0		
	Нет роста No growth	22	73,33	15	50	6	20	
Klebsiella pneumoniae	10 ⁸	0		0		6	20	p<0,0001, χ ² =48,82; P1-2 p=0,35, χ ² =0,88; P1-3 p<0,0001, χ ² =32,87; P2-3 p<0,0001, χ ² =28,68
	10 ⁶	0		0		10	33,33	
	<10 ⁴	5	16,67	8	26,67	10	33,33	
	Нет роста No growth	25	83,33	22	73,33	4	13,33	
Pseudomonas aeruginosa	10 ⁸	0		0		2	6,67	p<0,0001, χ ² =27,91 P1-2 p=0,01, χ ² =8,93; P1-3 p<0,0001, χ ² =25,84; P2-3 p=0,047, χ ² =7,94
	10 ⁶	0		7	23,33	14	46,67	
	<10 ⁴	9	30	10	33,33	9	30	
	Нет роста No growth	21	70	13	43,33	5	16,67	
Candida albicans	10 ⁸	0		0		0		p=0,052, χ ² =5,88
	10 ⁶	0		0		0		
	<10 ⁴	1	3,33	2	6,67	5	16,67	
	Нет роста No growth	29	96,67	28	93,33	25	83,33	

Таблица 3

Контаминация ран различной микрофлорой у животных в трех группах на 10-й день лечения

Table 3

Contamination of wounds by various microflora in animals across three groups on day 10 of treatment

Микрофлора Microflora	КОЕ CFU	Группы Groups						P
		1		2		3		
		Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	
Staphylococcus aureus	10 ⁸	0		0		0		p<0,0001, χ ² =26,86; P1-2 p=0,01, χ ² =6,4; P1-3 p<0,0001, χ ² =22,33; P2-3 p=0,01, χ ² =9,13
	10 ⁶	0		0		5	16,67	
	<10 ⁴	1	3,33	8	26,67	13	43,33	
	Нет роста No growth	29	96,67	22	73,33	12	40	
Klebsiella pneumoniae	10 ⁸	0		0		0		p<0,0001, χ ² =35,46; P1-2 p=0,01, χ ² =9,23; P1-3 p<0,0001, χ ² =25,71; P2-3 p=0,0002, χ ² =17,01
	10 ⁶	0		0		5	16,67	
	<10 ⁴	0		3	10	13	43,33	
	Нет роста No growth	30	100	27	90	12	40	
Pseudomonas aeruginosa	10 ⁸	0		0		1	3,33	p=0,0001, χ ² =29,03; P1-2 p=0,01, χ ² =8,93; P1-3 p=0,0001, χ ² =23,81; P2-3 p=0,026, χ ² =9,25
	10 ⁶	0		1	3,33	9	30	
	<10 ⁴	0		7	23,33	6	20	
	Нет роста No growth	30	100	22	73,33	14	46,67	
Candida albicans	10 ⁸	0		0		0		p=0,12, χ ² =4,09
	10 ⁶	0		0		0		
	<10 ⁴	0		0		2	6,67	
	Нет роста No growth	30	100	30	100	28	93,33	

Обсуждение

В литературе имеются научные исследования, посвященные эффективности применения импульсного высокоинтенсивного оптического облучения в эксперименте. Так некоторые авторы отмечают бактерицидный эффект использования импульсного высокоинтенсивного оптического облучения при лечении линейных ран у экспериментальных животных, при этом стоит отметить, что моделированные раны не подвергали исходному инфицированию, они были практически асептическими [24].

Также имеются сведения о клинической эффективности использования высокоинтенсивного оптического облучения в эксперименте *in vitro* и *in vivo* [25, 26]. Авторы исследования утверждают, что высокоинтенсивное оптическое облучение обладает выраженными бактерицидным и ранозаживляющим действи-

ями и достоверно обеспечивает более высокие темпы заживления ран по сравнению с применением только типового антибактериального и ранозаживляющего средства – мази левомеколь [25, 26]. Необходимо подчеркнуть, что моделируемые раны инфицировали одним микроорганизмом в низкой контаминации 10^3 КОЕ. Вместе с тем нет данных о контроле обсемененности раны и, более того, сразу после нанесения на рану патогенной флоры начата антибактериальная терапия.

В нашем исследовании экспериментальное инфицирование раны выполнено четырьмя патогенными штаммами в равных объемах и разведениях, содержащих в 1 мл 10^9 микробных тел. Был проведен бактериологический контроль, который подтвердил патогенное инфицирование ран, после чего животные были разделены на три группы в зависимости от методики лечения. Нами проведен сравнительный анализ

эффективности деконтаминации и снижения степени контаминации инфицированных ран между импульсным высокоинтенсивным широкополосным облучением, традиционным ультрафиолетовым облучением и медикаментозным местным лечением. В процессе лечения выполнен бактериологический контроль. Выявлено, что импульсное высокоинтенсивное широкополосное облучение имеет более высокую антибактериальную активность по сравнению с традиционным облучением и местным лечением.

Заключение

Таким образом, проведенное бактериологическое исследование показало, что на фоне проводимого лечения получена положительная динамика на каждом контрольном сроке в виде снижения степени контаминации или полной деконтаминации ран во всех группах. При этом к 3-му дню лечения на фоне импульсного высокоинтенсивного широкополосного облучения ран имелось статистически значимое снижение степени контаминации ран *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* по сравнению с группой, где проводилось традиционное местное лечение ран антисептиком ($p=0,0003$, $\chi^2=18,6$, $p=0,0025$, $\chi^2=14,3$ и $p=0,01$, $\chi^2=11$ соответственно). К 3-му дню контроля не выявлено существенной разницы в результатах лечения инфицированных ран между группой животных, которым проводилось традиционное ультрафиолетовое облучение ран, и группой животных, которым применяли местную медикаментозную терапию.

На 7-й день динамика результатов лечения между группами статистически значимо различалась. В 1-й и во 2-й группе в результате лечения у большинства животных получена полная деконтаминация ран по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. У большинства животных, при лечении которых применяли импульсное высокоинтенсивное широкополосное облучение, выявлено полное очищение ран от *Pseudomonas aeruginosa*.

По сравнению с предыдущими сроками контроля к 10-му дню практически у всех животных 1-й группы получена полная деконтаминация ран от всех видов микрофлоры. В этот период во 2-й группе у большинства животных наблюдали снижение степени бактериальной контаминации, а также полное очищение ран. Статистический анализ показал, что при импульсном высокоинтенсивном широкополосном или традиционном УФ облучении ран на 10-й день выявлена достоверная разница в эффективности лечения в отношении *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* по сравнению с местной медикаментозной терапией.

Следовательно, применение импульсного высокоинтенсивного широкополосного облучения ран заявленным способом снижает контаминацию патогенных микроорганизмов, как грамотрицательных, так и грамположительных, в более ранние сроки в отличие от традиционных медикаментозных методов местного лечения и традиционного ультрафиолетового облучения ран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hariyanto H., Yahya C.Q., Cucunawangsih C., Pertiwi C.L.P. Antimicrobial resistance and mortality // *Afr J Infect Dis.* – 2022. – Vol. 16 (2). – P. 13-20. doi: 10.21010/Ajid.v16i2.2.
2. Reyes J., Komarow L., Chen L., Ge L., Hanson B.M., et al. Antibacterial Resistance Leadership Group and Multi-Drug Resistant Organism Network Investigators. Global epidemiology and clinical outcomes of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and associated carbapenemases (POP): a prospective cohort study // *Lancet Microbe.* – 2023. – Vol. 4(3). – P. 159-170. doi: 10.1016/S2666-5247(22)00329-9.
3. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases // *Nat Rev Microbiol.* – 2004. – Vol. 2 (2). – P. 95-108. doi: 10.1038/nrmicro821.
4. Stewart P.S., Costerton J.W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms // *Lancet.* – 2001. – Vol. 358 (9276). – P. 135-138. doi: 10.1016/S0140-6736(01)05321-1.
5. St Denis T.G., Dai T., Izikson L., Astrakas C., Anderson R.R., Hamblin M.R., Tegos G.P. All you need is light: antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease // *Virulence.* – 2011. – Vol. 2 (6). – P. 509-20. doi: 10.4161/viru.2.6.17889. Epub 2011 Nov 1.
6. Karbalaeei-Heidari H.R., Budisa N. Combating Antimicrobial Resistance With New-To-Nature Lanthipeptides Created by Genetic Code Expansion // *Front Microbiol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 590522. doi: 10.3389/fmicb.2020.590522.
7. Aguda O.N., Lateef A. Recent advances in functionalization of nanotextiles: A strategy to combat harmful microorganisms and emerging pathogens in the 21st century // *Heliyon.* – 2022. – Vol. 8(6). – P. e09761. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09761.
8. Oli A.N., Eze D.E., Gugu T.H., Ezeobi I., Maduagwu U.N., Ihekwereme C.P. Multi-antibiotic resistant extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria pose a challenge to the effective treatment of

REFERENCES

1. Hariyanto H., Yahya C.Q., Cucunawangsih C., Pertiwi C.L.P. Antimicrobial resistance and mortality. *Afr J Infect*, 2022, vol. 16 (2), pp. 13-20. doi: 10.21010/Ajid.v16i2.2.
2. Reyes J., Komarow L., Chen L., Ge L., Hanson B.M., et al. Antibacterial Resistance Leadership Group and Multi-Drug Resistant Organism Network Investigators. Global epidemiology and clinical outcomes of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and associated carbapenemases (POP): a prospective cohort study. *Lancet Microbe*, 2023, vol. 4(3), pp. 159-170. doi: 10.1016/S2666-5247(22)00329-9.
3. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*, 2004, vol. 2 (2), pp. 95-108. doi: 10.1038/nrmicro821.
4. Stewart P.S., Costerton J.W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 2001, vol. 358 (9276), pp. 135-138. doi: 10.1016/S0140-6736(01)05321-1.
5. St Denis T.G., Dai T., Izikson L., Astrakas C., Anderson R.R., Hamblin M.R., Tegos G.P. All you need is light: antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease. *Virulence*, 2011, vol. 2 (6), pp. 509-20. doi: 10.4161/viru.2.6.17889. Epub 2011 Nov 1.
6. Karbalaeei-Heidari H.R., Budisa N. Combating Antimicrobial Resistance With New-To-Nature Lanthipeptides Created by Genetic Code Expansion. *Front*, 2020, vol. 11, pp. 590522. doi: 10.3389/fmicb.2020.590522.
7. Aguda O.N., Lateef A. Recent advances in functionalization of nanotextiles: A strategy to combat harmful microorganisms and emerging pathogens in the 21st century. *Heliyon*, 2022, vol. 8(6), pp. e09761. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09761.
8. Oli A.N., Eze D.E., Gugu T.H., Ezeobi I., Maduagwu U.N., Ihekwereme C.P. Multi-antibiotic resistant extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria pose a challenge to the effective treatment of

- wound and skin infections // *Pan Afr Med J.* – 2017. – Vol. 27. – P. 66. doi: 10.11604/pamj.2017.27.66.10226.
9. Park S.C., Nam J.P., Kim J.H., Kim Y.M., Nah J.W., Jang M.K. Antimicrobial action of water-soluble β -chitosan against clinical multi-drug resistant bacteria // *Int J Mol Sci.* – 2015. – Vol. 16(4). – P. 7995-8007. doi: 10.3390/ijms16047995.
10. Sanyasi S., Majhi R.K., Kumar S., Mishra M., Ghosh A., et al. Polysaccharide-capped silver Nanoparticles inhibit biofilm formation and eliminate multi-drug-resistant bacteria by disrupting bacterial cytoskeleton with reduced cytotoxicity towards mammalian cells // *Sci Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 24929. doi: 10.1038/srep24929.
11. Kortright K.E., Chan B.K., Koff J.L., Turner P.E. Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria // *Cell Host Microbe.* – 2019. – Vol. 25 (2). – P. 219-232. doi: 10.1016/j.chom.2019.01.014.
12. Табалдыев А.Т. Современные методы лечения гнойных ран и их эффективность // *Бюллетень науки и практики.* – 2022. – Т.8, №12. – С. 311-319.
13. Чепурная Ю.Л., Мелконян Г.Г., Гульмуродова Н.Т., Сорокин А.А. Улучшение результатов лечения пациентов с гнойными заболеваниями пальцев и кисти при использовании лазерного излучения и фотодинамической терапии // *Лазерная медицина.* – 2021. – Т.25, №2. – С. 28-40.
14. Топчиев М.А., Паршин Д.С., Пьянков Ю.П., Топчиев А.М., Чухнина Ю.Г. Оксигенированные лекарственные препараты и экзогенный оксид азота в комплексном лечении гнойно-некротических поражений синдрома диабетической стопы // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2018. – Т.21, №1. – С.148-152.
15. Часнойть А.Ч., Жилинский Е.В., Серебряков А.Е., Лещенко В.Т. Механизмы действия вакуумной терапии ран // *Медицинские новости.* – 2015. – №7. – С. 12-16.
16. Wang D., Kuzma M.L., Tan X., He T.C., Dong C. et al. Phototherapy and optical waveguides for the treatment of infection // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2021. – Vol. 179. – P. 114036. doi: 10.1016/j.addr.2021.114036.
17. Dai T., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Photodynamic therapy for localized infections--state of the art // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2009. – Vol. 6(3-4). – P. 170-88. doi: 10.1016/j.pdpdt.2009.10.008.
18. Cesar G.B., Winyk A.P., Sluchensci Dos Santos F., Queiroz E.F. et al. Treatment of chronic wounds with methylene blue photodynamic therapy: A case report // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2022. – Vol. 39. – P. 103016. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.103016. Epub 2022 Jul 14.
19. Permatasari P.A., Astuti S.D., Yaqubi A.K., Paisei E.A., Pujiyanto, Anuar N. Effectiveness of katuk leaf chlorophyll (Sauropus androgynus (L) Merr) with blue and red laser a ctivation to reduce Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Enterococcus faecalis biofilm // *Biomedical Photonics.* – 2023. – Vol. 12(1). – P. 14-21. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-1-14-21
20. Semyonov D.Yu., Vasil'ev Yu.L., Dydykin S.S., Stranadko E.F., Shubin V.K., Bogomazov Yu.K., Morokhotov V.A., Shcherbyuk A.N., Morozov S.V., Zakharov Yu.I. Antimicrobial and antimycotic photodynamic therapy (review of literature) // *Biomedical Photonics.* – 2021. – Vol. 10(1). – P. 25-31. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31
21. Yin R., Dai T., Avci P., Jorge A.E., de Melo W.C. et al. Light based anti-infectives: ultraviolet C irradiation, photodynamic therapy, blue light, and beyond // *Curr Opin Pharmacol.* – 2013. – Vol. 13(5). – P. 731-62. doi: 10.1016/j.coph.2013.08.009.
22. Song C., Wen R., Zhou J., Zeng X., Kou Z. et al. UVC Light from a Light-Emitting Diode at 275 Nanometers Shortens Wound Healing Time in Bacterium- and Fungus-Infected Skin in Mice // *Microbiol Spectr.* – 2022. – Vol. 10 (6). – P. e0342422. doi: 10.1128/spectrum.03424-22.
23. Panzures A. 222-nm UVC light as a skin-safe solution to antimicrobial resistance in acute hospital settings with a particular focus on methicillin-resistant Staphylococcus aureus and surgical site infections: a review // *J Appl Microbiol.* – 2023. – Vol. 134 (3). – P. lxad046. doi: 10.1093/jambio/lxad046. PMID: 36869801.
24. Архипов В.П., Багров В.В., Бяловский Ю.Ю., Камруков А.С., Куспаналиева Д.С. и др. Организация доклинических исследований бактерицидного и ранозаживляющего действия импульсного фототерапевтического аппарата «Заря» // *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины.* – 2021. – Т.29, №5. – С. 1156-1162. doi: 10.32687/0869-866X-2021-29-5-1156-1162.
25. Багров В.В., Бухтияров И.В., Володин Л.Ю. и др. Аппарат высокоинтенсивного оптического облучения для терапии ран и раневой инфекции // *Медицинская техника.* – 2023. – №2(338). – С. 1-4.
26. Bagrov V.V., Bukhtiyarov I.V., Volodin L.Y., Zibarev E.V., Kamrukov A.S. et al. Preclinical Studies of the Antimicrobial and Wound-Healing Effects of the High-Intensity Optical Irradiation "Zarnitsa-A" Apparatus // *Applied Sciences.* – 2023. – Vol. 13(19). – P. 10794. doi: 10.3390/app131910794
- wound and skin infections. *Pan Afr Med J*, 2017, vol. 27, pp. 66. doi: 10.11604/pamj.2017.27.66.10226.
9. Park S.C., Nam J.P., Kim J.H., Kim Y.M., Nah J.W., Jang M.K. Antimicrobial action of water-soluble β -chitosan against clinical multi-drug resistant bacteria. *Int J Mol Sci*, 2015, vol. 16(4), pp. 7995-8007. doi: 10.3390/ijms16047995.
10. Sanyasi S., Majhi R.K., Kumar S., Mishra M., Ghosh A., et al. Polysaccharide-capped silver Nanoparticles inhibit biofilm formation and eliminate multi-drug-resistant bacteria by disrupting bacterial cytoskeleton with reduced cytotoxicity towards mammalian cells. *Sci Rep*, 2016, vol. 6, pp. 24929. doi: 10.1038/srep24929.
11. Kortright K.E., Chan B.K., Koff J.L., Turner P.E. Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Host Microbe*, 2019, vol. 25 (2), pp. 219-232. doi: 10.1016/j.chom.2019.01.014.
12. Tabaldyev A.T. Modern methods of treatment of purulent wounds and their effectiveness. *Bulletin of science and practice*, 2022, vol. 8(12), pp. 311-319.
13. Chepurnaya Yu.L., Melkonyan G.G., Gulmuradova N.T., Sorokin A.A. Improving the results of treatment of patients with purulent diseases of the fingers and hand using laser radiation and photodynamic therapy. *Laser medicine*, 2021, vol. 25(2), pp. 28-40.
14. Tophchiev M.A., Parshin D.S., Pyankov Yu.P., Tophchiev A.M., Chukhnina Yu.G. Oxygenated drugs and exogenous nitric oxide in the complex treatment of purulent-necrotic lesions of diabetic foot syndrome. *Tavrichesky medico-biological Bulletin*, 2018, vol. 21(1), pp.148-152.
15. Chasnoyt A.Ch., Zhilinsky E.V., Serebryakov A.E., Leshchenko V.T. Mechanisms of action of vacuum therapy of the Russian Academy of Sciences. *Medical news*, 2015, vol.7, pp. 12-16.
16. Wang D., Kuzma M.L., Tan X., He T.C., Dong C. et al. Phototherapy and optical waveguides for the treatment of infection. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, vol. 179, pp. 114036. doi: 10.1016/j.addr.2021.114036.
17. Dai T., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Photodynamic therapy for localized infections--state of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2009, vol. 6(3-4), pp. 170-88. doi: 10.1016/j.pdpdt.2009.10.008.
18. Cesar G.B., Winyk A.P., Sluchensci Dos Santos F., Queiroz E.F. et al. Treatment of chronic wounds with methylene blue photodynamic therapy: A case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2022, vol. 39, pp. 103016. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.103016.
19. Permatasari P.A., Astuti S.D., Yaqubi A.K., Paisei E.A., Pujiyanto, Anuar N. Effectiveness of katuk leaf chlorophyll (Sauropus androgynus (L) Merr) with blue and red laser a ctivation to reduce Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Enterococcus faecalis biofilm. *Biomedical Photonics*, 2023, vol. 12(1), pp. 14-21. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-1-14-21
20. Semyonov D.Yu., Vasil'ev Yu.L., Dydykin S.S., Stranadko E.F., Shubin V.K., Bogomazov Yu.K., Morokhotov V.A., Shcherbyuk A.N., Morozov S.V., Zakharov Yu.I. Antimicrobial and antimycotic photodynamic therapy (review of literature). *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10(1), pp. 25-31. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31
21. Yin R., Dai T., Avci P., Jorge A.E., de Melo W.C. et al. Light based anti-infectives: ultraviolet C irradiation, photodynamic therapy, blue light, and beyond. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, vol. 13(5), pp.731-62. doi: 10.1016/j.coph.2013.08.009.
22. Song C., Wen R., Zhou J., Zeng X., Kou Z. et al. UV C Light from a Light-Emitting Diode at 275 Nanometers Shortens Wound Healing Time in Bacterium- and Fungus-Infected Skin in Mice. *Microbiol Spectr*, 2022, vol. 10 (6), pp. e0342422. doi: 10.1128/spectrum.03424-22.
23. Panzures A. 222-nm UVC light as a skin-safe solution to antimicrobial resistance in acute hospital settings with a particular focus on methicillin-resistant Staphylococcus aureus and surgical site infections: a review. *J Appl Microbiol*, 2023, vol. 134(3), pp. lxad046. doi: 10.1093/jambio/lxad046. PMID: 36869801.
24. Arkhipov V.P., Bagrov V.V., Byalovsky Yu.Yu., Kamrukov A.S., Kusanpalieva D.S., etc. Organization of preclinical studies of the bactericidal and wound healing effects of the pulsed phototherapy apparatus "Zarya". *Problems of social hygiene, healthcare and the history of medicine*, 2021, vol.2(5), pp. 1156-1162. doi: 10.32687/0869-866X-2021-29-5-1156-1162.
25. Bagrov V.V., Bukhtiyarov I.V., Volodin L.Yu., etc. A high-intensity optical irradiation device for the treatment of wounds and wound infection. *Medical equipment*, 2023, vol. 2(338), pp. 1-4.
26. Bagrov V.V., Bukhtiyarov I.V., Volodin L.Y., Zibarev E.V., Kamrukov A.S. et al. Preclinical Studies of the Antimicrobial and Wound-Healing Effects of the High-Intensity Optical Irradiation "Zarnitsa-A" Apparatus. *Applied Sciences*. 2023. vol. 13(19), pp. 10794. https://doi.org/10.3390/app131910794

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПАЛЛИАТИВНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕРЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ. СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР И МЕТААНАЛИЗ

А.Е. Цеймах¹, А.Н. Мищенко², В.А. Куртуков², Я.Н. Шойхет¹, И.В. Кулешова¹

¹Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

²Городская больница №5, Барнаул, Россия

Резюме

Систематический обзор и метаанализ направлены на оценку эффективности паллиативной фотодинамической терапии (ФДТ) у пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы с целью обоснования целесообразности включения ФДТ в комплексное лечение данной категории пациентов. Рассмотрены публикации в базах PubMed Central, библиографической базе данных научного цитирования РИНЦ, библиотеке Cochrane. Гетерогенность оценивали графически, используя лесные диаграммы, и статистически, используя статистику τ^2 и I^2 . Метаанализ пятилетней выживаемости выявил статистически значимо большую общую выживаемость при объединенной оценке в группах, где применяли ФДТ – 339 ± 161 дней (95% ДИ 25-710; $p < 0,001$) по сравнению с группами, где ФДТ не применяли – 83 ± 16 дней (95% ДИ 33-100; $p < 0,001$). Гетерогенность исследований была признана статистически незначимой ($I^2 = 29\%$, $p = 0,23$). Метаанализ разницы рисков нежелательных явлений выявил статистически значимо меньший риск ($-0,2306$; 95% ДИ $-0,3917-0,0696$; $p = 0,005$) нежелательных явлений после ФДТ по сравнению с группой сравнения. Гетерогенность исследований была признана статистически незначимой ($I^2 = 0\%$, $p = 0,35$). Значимых публикационных ошибок и предвзятости в обоих метаанализах выявлено не было. Представленный метаанализ продемонстрировал, что ФДТ может быть методом выбора при паллиативном комплексном лечении пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящих протоков, увеличивающим пятилетнюю выживаемость пациентов наряду с отсутствием повышенных рисков послеоперационных осложнений в сравнении с другими методами паллиативного хирургического лечения.

Ключевые слова: злокачественные новообразования желчевыводящей системы, фотодинамическая терапия, метаанализ.

Контакты: Цеймах А.Е., e-mail: alevtsei@rambler.ru

Для цитирования: Цеймах А.Е., Мищенко А.Н., Куртуков В.А., Шойхет Я.Н., Кулешова И.В. Эффективность паллиативной фотодинамической терапии нерезектабельных злокачественных новообразований желчевыводящей системы. Систематический обзор и метаанализ // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 34–42. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-34-42.

EFFECTIVENESS OF PALLIATIVE PHOTODYNAMIC THERAPY FOR UNRESECTABLE BILIARY CANCER. SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Tseimakh A.E.¹, Mitshenko A.N.², Kurtukov V.A.², Shoykhet Ia.N.¹, Kuleshova I.V.¹

¹Altai State Medical University, Barnaul, Russia

²State hospital №5, Barnaul, Russia

Abstract

A systematic review and meta-analysis was aimed to assess the effectiveness of palliative photodynamic therapy for unresectable malignant tumors of the biliary system in order to justify the feasibility of including photodynamic therapy (PDT) in the complex treatment of this category of patients. Publications in the databases PubMed Central, the bibliographic database of scientific citations of the RSCI, and the Cochrane library were considered. Heterogeneity was assessed graphically using forest plots and statistically using τ^2 and I^2 statistics. A meta-analysis of 5-year survival revealed a statistically significantly longer pooled estimate of the survival period in groups where PDT was used – 339 ± 161 days (95% CI 25-710; $p < 0.001$) compared to groups where PDT was not used – 83 ± 16 days (95% CI 33-100; $p < 0.001$). Heterogeneity among studies was found to be statistically insignificant ($I^2 = 29\%$, $p = 0.23$). A meta-analysis of the risk difference for adverse events revealed a statistically significantly lower risk (-0.2306 ; 95% CI $-0.3917-0.0696$; $p = 0.005$) of adverse events after PDT compared with the comparison group.

Heterogeneity among studies was found to be statistically insignificant ($I^2 = 0\%$, $p = 0.35$). There were no significant publication biases in either meta-analysis. The presented meta-analysis demonstrated that PDT may be the method of choice in the palliative complex treatment of patients with unresectable cholangiocarcinomas, increasing the five-year survival of patients along with the absence of increased risks of postoperative complications in comparison with other methods of palliative surgical treatment.

Key words: cholangiocarcinoma, photodynamic therapy, meta-analysis.

Contacts: Tseimakh A.E., e-mail: alevtsei@rambler.ru

For citations: Tseimakh A.E., Mitshenko A.N., Kurtukov V.A., Shoikhet Ia.N., Kuleshova I.V. Effectiveness of palliative photodynamic therapy for unresectable biliary cancer. Systematic review and meta-analysis, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 2, pp. 34–42. doi: 10.24931/2413–9432–2024–13–2–34–42.

Введение

Рак билиарного тракта является редкой онкологической патологией, в которую входят дистальная и проксимальная холангиокарцинома, рак желчного пузыря [1, 2, 3]. Структура заболеваемости и летальность при билиарном раке оценивается совместно с гепатоцеллюлярным раком [1]. Являясь одной из наиболее редких онкологических патологий, оцениваемой совместно с гепатоцеллюлярным раком с распространенностью всего 6,7 случаев на 100 тыс. населения, злокачественные новообразования желчевыводящих протоков имеют одну из наиболее высоких общих летальностей (35,2%) и летальностей на первом году с момента установления диагноза (66,8%) [1, 2, 3, 4, 5].

Несмотря на развитие методов лучевой и химиотерапии, основным методом лечения билиарного рака остается хирургический. Однако на момент постановки диагноза 57,3% пациентов уже имеют запущенную IV стадию основного заболевания, а 80,3% пациентов имеют запущенный или местно распространенный процесс [1, 2]. Таким образом, более 80% пациентов возможно проведение лишь паллиативного лечения, главным компонентом которого является устранение жизнеугрожающих осложнений основного заболевания, таких как обструктивная желтуха и холангит [4, 5, 6].

Одним из методов паллиативного лечения, дополняющих хирургическое лечение, является фотодинамическая терапия (ФДТ). ФДТ – это метод лечения злокачественных новообразований, при котором проводится облучение опухоли светом определенной длины волны, приводящим молекулы избирательно накапливающегося в ткани опухоли специального вещества – фотосенсибилизатора, в возбужденное состояние в присутствии кислорода. Образующиеся в результате этого активные формы кислорода приводят опухолевые клетки к гибели путем апоптоза, некроза и аутофагии. Первым успешным применением ФДТ при паллиативном лечении рака билиарного тракта был опубликованный McCaughan и соавторами клинический пример [7], с которого началось изучение влияния ФДТ на злокачественные новообразования желчевыводящих протоков. Проведенные в 2015–2023 гг. исследования эффективности ФДТ при раке билиарного тракта дали обнадеживающие резуль-

таты, говорящие о перспективности метода ФДТ в паллиативном лечении данной категории пациентов [8, 9, 10, 11, 12, 13]. К основным преимуществам ФДТ относят ее безопасность и отсутствие побочных эффектов по сравнению с химиотерапевтическими методами лечения при наличии терапевтического эффекта, превосходящего результаты лечения без использования ФДТ.

Настоящий систематический обзор и метаанализ направлены на оценку эффективности паллиативной ФДТ у пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы с целью обоснования целесообразности включения ФДТ в комплексное лечение данной категории пациентов. Для реализации поставленной при подготовке систематического обзора и метаанализа цели необходимо было решить задачи:

- 1) оценить безопасность ФДТ при паллиативном лечении пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы;
- 2) оценить пятилетнюю выживаемость после применения паллиативной ФДТ у пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы.

Материалы и методы

Систематический обзор проведен в соответствии с рекомендациями «Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses» (PRISMA) [15]. Для включения в систематический обзор были рассмотрены публикации в открытых источниках на русском и английском языках в базах PubMed Central (интернет-адрес: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>), библиографической базе данных научного цитирования РИНЦ (интернет-ресурс e-library.ru), библиотеке Cochrane (интернет-адрес: <https://www.cochranelibrary.com/>). Поиск статей в этих базах проводился с использованием ключевых слов – фотодинамическая терапия (photodynamic therapy), холангиокарцинома (cholangiocarcinoma). Стратегия поиска включала выявление полнотекстовых статей, представляющих материалы и результаты клинических исследований. Заголовки, аннотации и полные тексты потенциально подходящих статей были проверены двумя исследова-

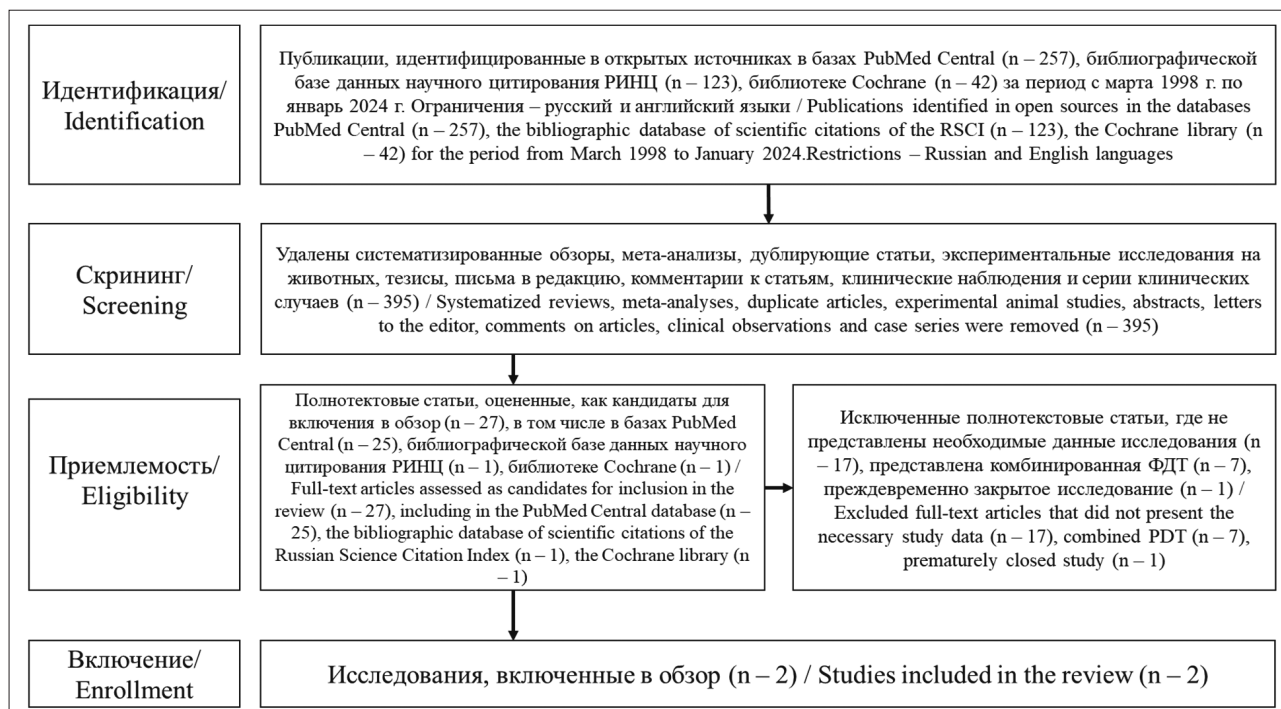


Рис. 1. Схема проведения систематического обзора и метаанализа в соответствии с рекомендациями PRISMA [15].
Fig. 1. Scheme for conducting a systematic review and meta-analysis according to PRISMA guidelines [15].

телями независимо друг от друга. Разногласия разрешились третьим исследователем.

На этапе идентификации было отобрано 422 опубликованных полнотекстовых статей, опубликованных в период с марта 1998 г. по январь 2024 г. (рис. 1) На этапе скринирования были исключены 395 публикаций: удалены систематизированные обзоры, мета-анализы, дублирующие статьи, экспериментальные исследования на животных, тезисы, письма в редакцию, комментарии к статьям, клинические наблюдения и серии клинических случаев. В результате многоэтапного отбора были включены 27 научных публикаций.

Приемлемыми считались опубликованные исследования, соответствующие следующим критериям включения:

- 1) в исследовании проводилась оценка эффективности ФДТ при паллиативном лечении нерезектабельной холангиокарциномы в рамках адъювантного воздействия. Исследования воздействия ФДТ в рамках неоадъювантного лечения, либо у пациентов с резектабельной холангиокарциномой исключались;
- 2) в исследовании проводилась оценка эффективности монотерапии ФДТ. Исследования комбинированного воздействия ФДТ и других методов воздействия, таких как химиотерапия и лучевая терапия, без монотерапии ФДТ, исключались;
- 3) в исследовании приводилось достаточно данных для оценки пятилетней выживаемости, анализа нежелательных явлений согласно методике метаанализа, оценке риска систематических ошибок, а также были описаны все параметры проводимой ФДТ.

На этапе оценки критериев приемлемости были исключены 25 статей в том числе 17 публикаций в связи с недостающими данными (набор в исследование не был завершён, не указаны нежелательные явления, не контролировалась пятилетняя выживаемость, не представлен полный дизайн исследования); 7 публикаций – в связи с исследованием ФДТ в сочетании с методами химиотерапии и/или другого лучевого воздействия; 1 исследование – в связи с преждевременным закрытием исследования и невозможностью корректного расчета пятилетней выживаемостью. Таким образом, анализу в систематическом обзоре и метаанализе было подвергнуто 2 научных публикации.

При оценке методологического качества исследований проводили анализ соответствия дизайна задачам исследования, оценку корректности статистического анализа и его соответствия дизайну исследования, оценку риска систематических ошибок в исследовании. Оценка риска систематических ошибок (смещения результатов) в рандомизированных исследованиях проведена с использованием адаптированной и валидизированной русской версии вопросника Кокрановского сотрудничества [16]. Анализ риска систематических ошибок в нерандомизированных сравнительных исследованиях «случай-контроль» осуществляли с применением соответствующих вопросников Ньюкасл-Оттава [17].

Статистический анализ выполнен с помощью пакета программ Sigma Plot, версия 14.0 (Регистрационный номер 775400014), мета-анализ выполнен с дополнительным использованием графического редактора Cochrane RevMan Web Version: 7.5.0. Доли индивидуальных иссле-

дований с показателями выживаемости (в днях), нежелательными явлениями была объединены с помощью двойного арксинусного преобразования (преобразования Фримана-Тьюки). Гетерогенность оценивали графически, используя лесные диаграммы, и статистически, используя статистику τ^2 и I^2 . Использовали модель с фиксированными эффектами, поскольку неоднородность была статистически незначительной. Статистика τ^2 отражает степень вариации распространенности, наблюдаемой в разных исследованиях. I^2 0%-39% считалась статистически незначимой гетерогенностью, 40-75% как умеренная гетерогенность и 76%-100% как значительная неоднородность сравниваемых исследований. Значение $p \geq 0,05$ было принято, как отвергающее нулевую гипотезу о том, что исследования неоднородны. Эффект публикации и систематическая ошибка отбора в сводных оценках были проверены с помощью теста Бегга-Мазумдара. Предвзятость публикации оценивали путем построения воронкообразных графиков. Значение $p < 0,05$ было принято, как статистически значимое для подтверждения нулевой гипотезы.

Результаты исследования

Все исследования, удовлетворявшие критериям отбора, были сравнительными проспективными. Из двух исследований, включенных в систематический обзор и мета-анализ, одно было рандомизированным, одно было когортным нерандомизированными. При оценке риска систематических ошибок все исследования характеризовались высоким методологическим качеством (табл. 1). Все исследования характеризовались адекватными методами статистической обработки результатов исследований в соответствии с задачами и дизайном их выполнения.

Характеристика методов ФДТ в исследованиях, включенных в систематический обзор и метаанализ, представлена в табл. 2.

В исследовании Цеймаха А.Е. и соавт. (2023) была изучена эффективность интралюминальной локальной и системной ФДТ у пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы. В основной группе было 5 пациентов с III и 5 пациентов с IV стадией по классификации TNM.

Таблица 1

Оценка риска систематических ошибок в исследованиях эффективности исследований эффективности ФДТ нерезектабельных злокачественных новообразований желчевыводящей системы

Table 1

Assessing the risk of bias in efficacy studies of PDT efficacy studies of unresectable biliary tumors

Критерий риска систематической ошибки (оценка в баллах) в когортных нерандомизированных исследованиях [17] / Risk of bias criterion (score) in non-randomized cohort studies [17]	Цеймах А.Е. и др. (2023) / Tseimakh A.E. and others (2023)	Критерий риска систематической ошибки (оценка в баллах) в рандомизированных исследованиях [16] / Risk of bias criterion (score) in randomized trials [16]	Ortner M.E.J. et al. (2003)
Является ли экспонированная когорта репрезентативной? / Is the exposed cohort representative?	1	Метод рандомизации (систематическая ошибка распределения пациентов по группам) / Randomization method (systematic error in the distribution of patients into groups)	Низкий риск / Low risk
Каким образом была сформирована неэкспонированная когорта? / How was the unexposed cohort formed?	1	Соккрытие рандомизационной последовательности (систематическая ошибка распределения пациентов по группам) / Concealment of the randomization sequence (systematic error in the allocation of patients to groups)	Низкий риск / Low risk
Каким образом был установлен факт воздействия изучаемого фактора? / How was the fact of the influence of the studied factor established?	1	«Ослепление» пациентов и медперсонала (маскирование/сокрытие вмешательства от пациентов и медперсонала) в процессе лечения (систематическая ошибка исполнения; может оцениваться отдельно от каждого исхода) / Blinding of patients and staff (masking/concealing the intervention from patients and staff) during treatment (performance bias; may be assessed separately for each outcome)	Низкий риск / Low risk
Было ли подтверждено отсутствие интересующего исхода в начале исследования? / Was the absence of the outcome of interest confirmed at baseline?	1		
Являются ли сравниваемые когорты сопоставимыми? / Are the comparing cohorts comparable?	1	Пропуски в данных об исходах (систематическая ошибка пропуска данных; может оцениваться отдельно для каждого исхода) / Missing outcome data (missing data bias; may be assessed separately for each outcome)	Низкий риск / Low risk
Какой источник информации об исходах использовался? / What source of outcome information was used?	1	Представление результатов исследования (систематическая ошибка представления результатов исследования) / Presentation of research results (systematic error in the presentation of research results)	Низкий риск / Low risk

Была ли продолжительность наблюдения достаточной для возникновения интересующих исходов? / <i>Was the duration of follow-up sufficient for the outcomes of interest to occur?</i>	1	Другие возможные источники систематических ошибок / <i>Other possible sources of systematic errors</i>	Низкий риск / <i>Low risk</i>
Каково было выбывание пациентов? / <i>What was the patient attrition rate?</i>	1	Дополнительный источник систематических ошибок: конфликт интересов / <i>Additional source of bias: conflict of interest</i>	Неопределенный риск / <i>Uncertain risk</i>
Общая оценка методологического качества / <i>Overall assessment of methodological quality</i>	Высокое / <i>High</i>	Общая оценка методологического качества / <i>Overall assessment of methodological quality</i>	Высокое / <i>High</i>
Высокое методологическое качество – 8-9 баллов / <i>High methodological quality – 8-9 points</i>		Высокое методологическое качество, при низком риске всех ошибок или неопределенном риске одной систематической ошибки / <i>High methodological quality, with low risk of all biases or uncertain risk of one bias</i>	
Удовлетворительное методологическое качество – 6-7 баллов / <i>Satisfactory methodological quality – 6-7 points</i>		Удовлетворительное методологическое качество, при неопределенном риске двух и более систематических ошибок / <i>Satisfactory methodological quality, with an uncertain risk of two or more systematic errors</i>	
Низкое методологическое качество – 0-5 баллов / <i>Low methodological quality – 0-5 points</i>		Низкое методологическое качество, при высоком риске одной и более систематической ошибки / <i>Low methodological quality, with a high risk of one or more systematic errors</i>	

Таблица 2

Характеристика исследований эффективности ФДТ нерезектабельных злокачественных новообразований желчевыводящей системы, включенных в систематический обзор и метаанализ

Table 2

Characteristics of studies on the effectiveness of PDT for unresectable malignant tumors of the biliary system included in the systematic review and meta-analysis

Исследование/Дизайн/ <i>Study/Design</i>	Доза фотосенсибилизатора и техника ФДТ/ <i>Photosensitizers dose and PDT technique</i>	Выживаемость основной группы/группы сравнения и нежелательные явления основной группы/группы сравнения/ <i>Survival of main/comparison group and adverse events of main/comparison group</i>
1. Цеймах А.Е. и др. (2023) [18] / Открытое нерандомизированное сравнительное / 1. Tseimakh A.E. et al. (2023) [18] / Open non-randomized comparative	Фотодитазин 1-1,4 мг/кг за 5 ч до экспозиции с длиной волны 662 нм с экспозиционной дозой света 220 Дж/см ² , плотностью мощности излучения 0,22 Вт/см ² / Photoditazine 1-1.4 mg/kg 5 hours before exposure to a wavelength of 662 nm with an exposure light dose of 220 J/cm ² , radiation power density 0.22 W/cm ²	170±100 (95% ДИ/CI 25-365)/ 66±17 (95% ДИ/CI 33-99) p < 0,05 1/3
2. Ortnier M.E.J. et al. (2003) [19] / Открытое рандомизированное сравнительное / 2. Ortnier M.E.J. et al. (2003) [19] / Open randomized comparative	Фотоприн 2 мг/кг за 48 ч до экспозиции с длиной волны 630 нм с экспозиционной дозой света 180 Дж/см ² , плотностью мощности излучения 0,24 Вт/см ² / Photofrin 2 mg/kg 48 hours before exposure to a wavelength of 630 nm with an exposure light dose of 180 J/cm ² , radiation power density 0.24 W/cm ²	493±217 (95% ДИ/CI 276-710)/ 98±15 днями (95% ДИ/CI 83-100) p < 0,001 9/13 Серьезные нежелательные явления: 2 случая холангита, осложненного сепсисом. / Serious adverse events: 2 cases of cholangitis complicated by sepsis.

Примечание: p – статистическая значимость различий между основной группой и группой сравнения.

Note: p – statistical significance of differences between the main group and the comparison group.

Из них 5 пациентов с проксимальной холангиокарциномой: 2 больных с типом II, 2 больных с типом IIIa/IIIb, 1 больной с типом IV по классификации Bismuth-Corlette. В группе сравнения было 14 пациентов с III и 6 пациентов с IV стадией по классификации TNM. Из них 6 пациентов с проксимальной холангиокарциномой: 1 больной с типом II, 5 больных с типом IIIa/IIIb по классификации Bismuth-Corlette. Установлено статистически значимое увеличение выживаемости у пациентов, которые получали ФДТ с медианой общей выживаемости 170±100 дней (95% ДИ 25-365; p < 0,05)

по сравнению с группой сравнения, не получавшей ФДТ с медианой общей выживаемости 66±17 дней (95% ДИ 33-99; p < 0,05). Нежелательных явлений, связанных с применением ФДТ, выявлено не было [18]. У одного пациента была острая постгеморрагическая анемия после чрескожного чреспеченочного монолобарного дренирования желчных протоков по поводу механической желтухи. В группе сравнения у 2 пациентов группы сравнения было выявлено выпадение чрескожного чреспеченочного дренажа с развитием желчного перитонита, у 1 пациента наблюдалась

послеоперационная острая геморрагическая анемия после проведенного чрескожного чреспеченочного монолобарного дренирования желчных протоков по поводу механической желтухи [18].

В исследовании Ortner M.E.J. et al. (2003) 20 пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящих протоков получали интралюминальную локальную и системную монотерапию ФДТ, 19 пациентов группы сравнения не получали ФДТ. В основной группе было 4 пациента с III и 16 пациентов с IV стадией по классификации TNM. Из них 20 пациентов с проксимальной холангиокарциномой: 4 больных с типом IIIa/IIIb, 16 больных с типом IV по классификации Bismuth-Corlette. В группе сравнения было 3 пациента с III и 16 пациентов с IV стадией по классификации TNM. Из них 19 пациентов с проксимальной холангиокарциномой: 2 больной с типом II, 2 больных с типом IIIa/IIIb, 15 больных с типом IV по классификации Bismuth-Corlette. Установлено статистически значимое увеличение общей выживаемости у пациентов, которые получали ФДТ, с медианой общей выживаемости 493 ± 217 дней (95% ДИ 276-710; $p < 0,05$) по сравнению с 98 ± 15 днями (95% ДИ 83-100; $p < 0,05$) при монотерапии ФДТ [19]. В основной группе было 2 случая реакции фоточувствительности, 5 случаев холангита (из них 2 холангита, осложненных сепсисом), 2 случая стеноза после применения ФДТ. В группе сравнения было 13 случаев холангита.

Был проведен метаанализ с фиксированными эффектами пропорций отдельных исследований и объединенной оценкой общей выживаемости после монотерапии ФДТ (рис. 2).

Метаанализ выявил статистически значимо большую общую выживаемость при объединенной оценке в основных группах, где применялась ФДТ, – 339 ± 161 дней (95% ДИ 25-710; $p < 0,001$) по сравнению с группами сравнения, где ФДТ не применялась, – 83 ± 16 дней (95% ДИ 33-100; $p < 0,001$). Гетерогенность исследований была признана статистически незначимой ($I^2 = 29\%$, $p = 0,23$).

Вероятность наличия публикационной ошибки оценена при визуальном анализе воронкообразного графика (рис. 3), где не было обнаружено визуальной значимой асимметрии или нарушения структуры графика, а точка перекреста находится в области отсутствия асимметрии ($p < 0,01$). Тест Бегга-Мазумдара так же показал отсутствие публикационной ошибки (Kendall's tau b -1,0000; $p = 0,3173$).

Затем был проведен метаанализ разницы рисков нежелательных явлений в сравниваемых группах (рис. 4), выявивший статистически значимо меньший риск (-0,2306; 95% ДИ -0,3917-0,0696; $p = 0,005$) нежелательных явлений после монотерапии ФДТ по сравнению с группой сравнения. Гетерогенность исследований была признана статистически незначимой ($I^2 = 0\%$, $p = 0,35$).

Вероятность наличия публикационной ошибки оценена при визуальном анализе воронкообразного гра-

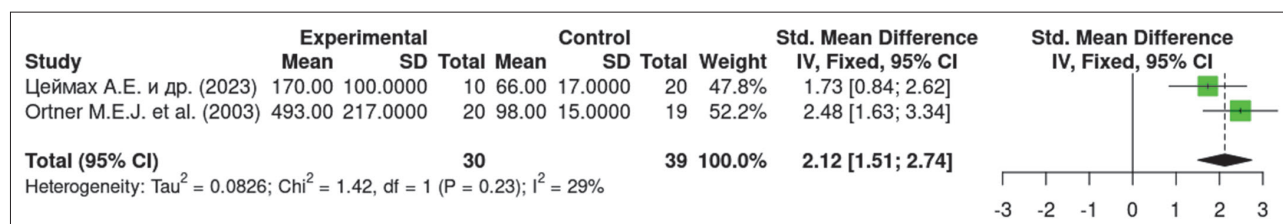


Рис. 2. Древовидная диаграмма с фиксированными эффектами, демонстрирующая анализ пропорций отдельных исследований и объединенную оценку общей выживаемости после монотерапии ФДТ.

Fig. 2. Forest plot of fixed effects demonstrating analysis of individual study proportions and pooled estimates of survival time following PDT monotherapy.

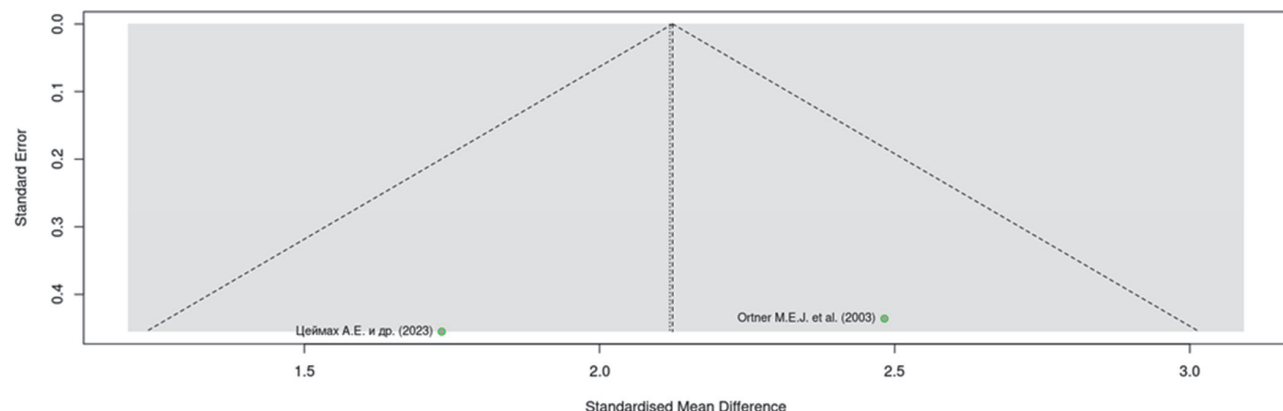


Рис. 3. Воронкообразный график для оценки вероятности наличия публикационной ошибки в объединенной оценке общей выживаемости после монотерапии ФДТ.

Fig. 3. Funnel plot to assess the likelihood of a publication error in pooled estimates of survival time following PDT monotherapy.

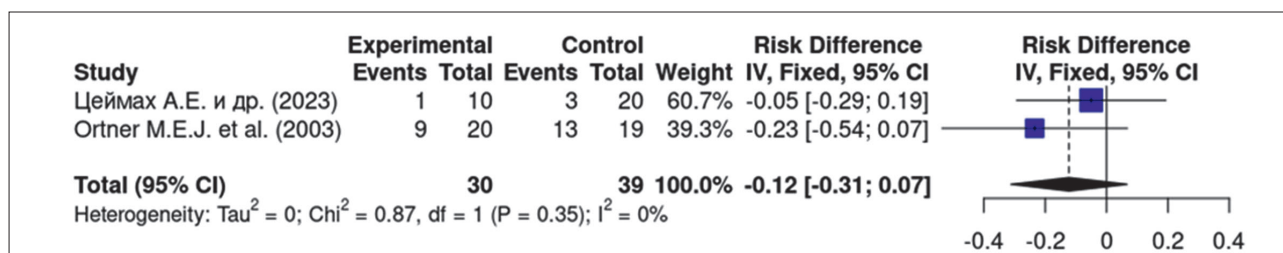


Рис. 4. Древоидная диаграмма с фиксированными эффектами, демонстрирующая анализ пропорций отдельных исследований и объединенного риска нежелательных явлений после монотерапии ФДТ.

Fig. 4. Forest plot of fixed effects demonstrating analysis of individual study proportions and pooled risk of adverse events after PDT monotherapy.

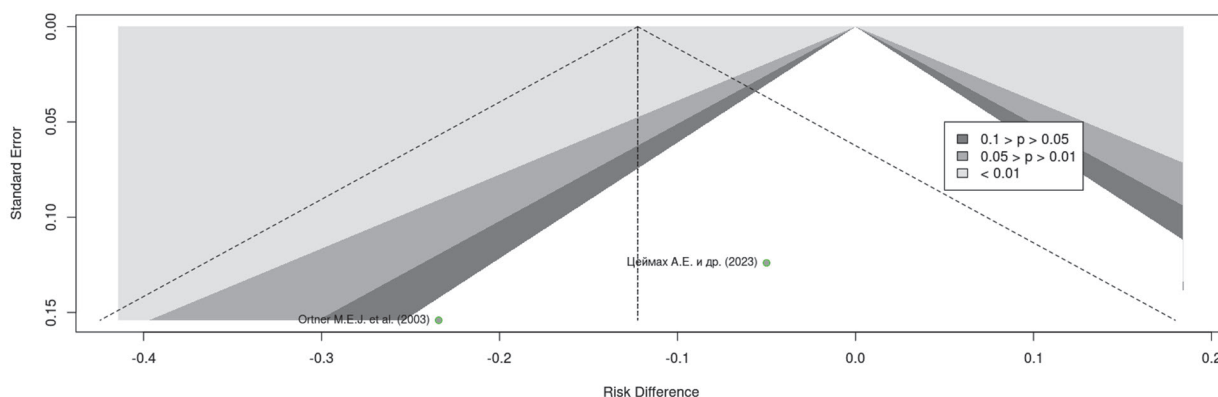


Рис. 5. Воронкообразный график для оценки вероятности наличия публикационной ошибки в объединенной оценке разницы рисков нежелательных явлений после монотерапии ФДТ.

Fig. 5. Funnel plot to assess the likelihood of a publication error in pooled estimates of risk difference of adverse events after PDT monotherapy.

фика (рис. 5), где не было обнаружено визуальной значимой асимметрии или нарушения структуры графика, а точка перекреста находится в области отсутствия асимметрии ($p < 0,01$). Тест Бегга-Мазумдара так же показал отсутствие публикационной ошибки (Kendall's tau b - 1,0000; $p = 0,3173$).

Обсуждение

Холангиокарцинома – редкое злокачественное новообразование, характеризующееся одним из самых плохих прогнозов среди опухолей органов пищеварительной системы [1, 3-5, 22-24]. Около 80% случаев холангиокарцины диагностируют на поздней стадии, когда радикальное хирургическое лечение невозможно [1, 3-5, 22-24, 25-26]. Химиотерапия и лучевая терапия без хирургического лечения не способствуют значимому увеличению общей выживаемости пациентов [1, 3-5, 22-24]. Эффективное паллиативное лечение путем декомпрессии желчных путей для ликвидации клиники механической желтухи и предотвращения холангита и сепсиса являются основной целью хирургического лечения и для большинства пациентов являются финальным вмешательством [1, 3-5, 22]. ФДТ – многообещающий метод лечения при нерезектабельной холангиокарциноме. Пациенты с нерезектабельной холангиокарцино-

мой имеют медиану общей выживаемости 3 мес без вмешательства и 4-10 мес при проведенной декомпрессии желчевыводящих протоков [1, 3-5, 22]. Представленный систематический обзор и метаанализ показывают, что ФДТ может повысить общую выживаемость пациентов при нерезектабельной холангиокарциноме наряду с отсутствием повышенных рисков нежелательных явлений по сравнению с другими методами миниинвазивного хирургического лечения. Особую роль играет таргетное воздействие на ткань-мишень путем проведения холедохоскопии с интралюминальным подведением лазера к холангиокарциноме под визуальным контролем.

Целью настоящего метаанализа было оценить эффективность паллиативной ФДТ нерезектабельных злокачественных новообразований желчевыводящей системы. Метаанализ выживаемости выявил статистически значимо большую общую выживаемость при объединенной оценке в основных группах, где применялась ФДТ, – 332 ± 229 дней (95% ДИ 25-710; $p < 0,001$) по сравнению с группами сравнения, где ФДТ не применялась, – 82 ± 23 дней (95% ДИ 33-100; $p < 0,001$). Метаанализ разницы рисков нежелательных явлений в сравниваемых группах выявил статистически значимо меньший риск (-0,2306; 95% ДИ -0,3917-0,0696; $p = 0,005$) нежелательных явлений после монотерапии ФДТ по сравнению с

группой сравнения. Сильной стороной проведенного метаанализа является высокая однородность и достоверность полученных результатов, достигнутая путем тщательного отбора исследований с однородным четко описанным дизайном, результатами исследований и одинаковым таргетным доступом для проведения локальной ФДТ – интралюминальным под визуальным контролем. Таким образом, проведенный метаанализ позволяет с высокой статистической достоверностью говорить о том, что ФДТ является перспективным и безопасным методом хирургического воздействия, способным увеличить общую выживаемость у пациентов с нерезектабельной холангиокарциномой, и может быть включен в комплексное лечение данной категории пациентов. Недостатками проведенного метаанализа является малое число пациентов в выборках исследований, обусловленное редкой встречаемостью злокачественных новообразований желчевыводящей системы. Другой слабой стороной метаанализа является малое число исследований, включенных в систематический обзор и метаанализ. Это обусловлено тем, что большинство опубликованных исследований эффективности ФДТ оценивают ФДТ в комбинированном лечении с химиотерапией и/или лучевой терапией. При этом не до конца изучена синергия ФДТ и химиотерапии, их возможный антагонизм, связанный с иммуносупрессией при химиотерапевтическом лечении и вовлеченности механизмов стимуляции иммунного ответа при ФДТ, а

также отсутствует консенсус по протоколам облучения ФДТ в комбинированном лечении с лучевой терапией. Все эти факторы обусловили включение комбинированного ФДТ, как критерия исключения из систематического обзора и метаанализа. Так же слабой стороной метаанализа являются различия в технике ФДТ, характерные для всех исследований в данной области. Это связано как с различными фотосенсибилизаторами, так и с различными параметрами облучения холангиокарциномы.

Таким образом, учитывая приведенные выше недостатки, с целью получения более достоверных результатов и улучшения качества последующих метаанализов требуется проведение крупных рандомизированных исследований эффективности ФДТ при нерезектабельной холангиокарциноме. При этом проведенный метаанализ доказывает перспективность ФДТ в лечении данной категории пациентов.

Заключение

Проведенный метаанализ продемонстрировал, что ФДТ может быть методом выбора при паллиативном комплексном лечении пациентов с нерезектабельными злокачественными новообразованиями желчевыводящих протоков, увеличивающим пятилетнюю выживаемость пациентов наряду с отсутствием повышенных рисков послеоперационных осложнений в сравнении с другими методами паллиативного хирургического лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. – 2021. – С. 239.
2. Zhang X. et al. Comparison of current guidelines and consensus on the management of patients with cholangiocarcinoma: 2022 update // *Intractable Rare Dis Res*. – 2022. – Vol. 11(4). – P. 161-172.
3. Общероссийский национальный союз «Ассоциация онкологов России». Рак желчевыводящей системы // Клинические рекомендации. – 2020. – С. 51.
4. Zerem E., Imširović B., Kunosić S. et al. Percutaneous biliary drainage for obstructive jaundice in patients with inoperable, malignant biliary obstruction // *Clin Exp Hepatol*. – 2022. – Vol. 8(1). – P. 70-77.
5. Shah R., John S. Cholestatic Jaundice // In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – 2022. – PMID: 29489239.
6. Цеймах А.Е., Лазарев А.Ф., Куртуков В.А. и соавт. Способ комплексного мини-инвазивного лечения механической желтухи, холангита, внутрипеченочных абсцессов опухолевого генеза с применением локальной и системной фотодинамической терапии. – Патент РФ №2704474. – 2019.
7. McCaughan J.S. Jr., McCaughan J.S., Mertens B.F. et al. Photodynamic therapy to treat tumors of the extrahepatic biliary ducts. A case report // *Arch Surg*. – 1991. – Vol. 126(1). – P. 111-113. doi: 10.1001/archsurg.1991.01410250119022.
8. Haider H., Chapman C.G., Siddiqui U.D. Maximizing survival in hilar cholangiocarcinoma patients using multi-modality therapy: photodynamic therapy (pdt) with stenting, chemotherapy, and radiation // *Gastrointestinal Endoscopy*. – 2020. – Vol. 91(6). – P. 1-5. doi: 10.1016/j.gie.2020.03.2226

REFERENCES

1. The state of oncological care for the population of Russia in 2020 / edited by Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. M.: Herzen Moscow State Medical Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution «NMIRC» of the Ministry of Health of Russia, 2021, pp. 239.
2. Zhang X. et al. Comparison of current guidelines and consensus on the management of patients with cholangiocarcinoma: 2022 update. *Intractable Rare Dis Res*, 2022, vol. 11(4), pp. 161-172.
3. All-Russian National Union «Association of Oncologists of Russia». Cancer of the biliary system. *Clinical recommendations*, 2020, pp. 51.
4. Zerem E., Imširović B., Kunosić S. et al. Percutaneous biliary drainage for obstructive jaundice in patients with inoperable, malignant biliary obstruction. *Clin Exp Hepatol*, 2022, vol. 8(1), pp. 70-77.
5. Shah R., John S. Cholestatic Jaundice. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022, PMID: 29489239.
6. Tseymakh A.E., Lazarev A.F., Kurtukov V.A. and coauthors. A method of complex mini-invasive treatment of mechanical jaundice, cholangitis, intrahepatic abscesses of tumor genesis using local and systemic photodynamic therapy. Patent of the Russian Federation No.2704474, 2019.
7. McCaughan J.S. Jr., McCaughan J.S., Mertens B.F. et al. Photodynamic therapy to treat tumors of the extrahepatic biliary ducts. A case report. *Arch Surg*, 1991, vol. 126(1), pp. 111-113. doi: 10.1001/archsurg.1991.01410250119022.
8. Haider H., Chapman C.G., Siddiqui U.D. Maximizing survival in hilar cholangiocarcinoma patients using multi-modality therapy: photodynamic therapy (pdt) with stenting, chemotherapy, and radiation. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2020, vol. 91(6), pp. 1-5. doi: 10.1016/j.gie.2020.03.2226

9. Lu Y et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: A meta-analysis // *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. – 2015. – Vol. 39(6). – P. 718-724. doi: 10.1016/j.clinre.2014.10.015.
10. Li Z. et al. Long-Term Results of ERCP- or PTCS-Directed Photodynamic Therapy for Unresectable Hilar Cholangiocarcinoma // *Surg Endosc*. – 2021. – Vol. 35(10). – P. 5655-5664. doi: 10.1007/s00464-020-08095-1
11. Moole H. et al. Success of Photodynamic Therapy in Palliating Patients With Nonresectable Cholangiocarcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis // *World J Gastroenterol*. – 2017. – Vol. 23(7). – P. 1278-88. doi: 10.3748/wjg.v23.i7.1278
12. Pereira S.P. et al. PHOTOSTENT-02: Porfimer Sodium Photodynamic Therapy Plus Stenting Versus Stenting Alone in Patients With Locally Advanced or Metastatic Biliary Tract Cancer // *ESMO Open*. – 2018. – Vol. 3(5). – P. e000379. doi: 10.1136/esmoopen-2018-000379
13. Maswikiti E.P., Chen H. Photodynamic therapy combined with systemic chemotherapy for unresectable extrahepatic cholangiocarcinoma: A systematic review and meta-analysis // *Photodiagnosis Photodyn Ther*. – 2023. – Vol. 2 (41). – P. 103318. doi: 10.1016/j.pdpdt.2023.103318.
14. Цеймах А.Е., Мищенко А.Н., Куртуков В.А., Шойхет Я.Н. Паллиативное хирургическое лечение с применением фотодинамической терапии больных со злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы, осложненными обструктивной желтухой // *Biomedical Photonics*. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 4-10. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-4-10.
15. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J. et al. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement // *PLoS Med*. – 2009. – Vol. 6(7). – P. e1000097. doi: 10.1371/journal.pmed.1000097.
16. Реброва О.Ю., Федяева В.К., Хачатрян Г.Р. Адаптация и валидизация вопросника для оценки риска систематических ошибок в рандомизированных контролируемых испытаниях // *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. – 2015. – Т. 19, №1. – С. 9-17.
17. Реброва О. Ю., Федяева В. К. Вопросник для оценки риска систематических ошибок в нерандомизированных сравнительных исследованиях: русскоязычная версия шкалы Ньюкасл-Оттава. *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. 2016. – Т. 25, № 3. – С. 14-19.
18. Цеймах А.Е., Мищенко А.Н., Куртуков В.А., Шойхет Я.Н. Паллиативное хирургическое лечение с применением фотодинамической терапии больных со злокачественными новообразованиями желчевыводящей системы, осложненными обструктивной желтухой // *Biomedical Photonics*. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 4-10. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-4-10.
19. Ortner M.E., Caca K., Berr F. et al. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study // *Gastroenterology*. – 2003. –Vol. 125(5). – P. 1355-1363. doi: 10.1016/j.gastro.2003.07.015.
20. Surya H., Abdullah M., Nelwan E.J., et al. Current Updates on Diagnosis and Management of Cholangiocarcinoma: from Surgery to Targeted Therapy // *Acta Med Indones*. – 2023. –Vol. 55(3). – P. 361-370.
21. Peirce V., Paskow M., Qin L., et al. A Systematised Literature Review of Real-World Treatment Patterns and Outcomes in Unresectable Advanced or Metastatic Biliary Tract Cancer // *Target Oncol*. – 2023. –Vol. 18(6). – P. 837-852.
22. Vogel A., Bridgewater J., Edeline J., Kelley R.K., Klumpen H.J., Malka D., et al. Biliary tract cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up // *Ann Oncol*. – 2023. –Vol. 34(2). – P. 127-40.
23. Trifylli E.M., Kriebardis A.G., Koustas E., et al. The Arising Role of Extracellular Vesicles in Cholangiocarcinoma: A Rundown of the Current Knowledge Regarding Diagnostic and Therapeutic Approaches // *Int J Mol Sci*. – 2023. –Vol. 24(21). – P. 15563.
24. Zhao D.Y., Lim K.H. Current biologics for treatment of biliary tract cancers // *J Gastrointest Oncol*. – 2017. –Vol. 8(3). – P. 430-40.
25. Baria K., De Toni E.N., Yu B., Jiang Z., Kabadi S.M., Malvezzi M. Worldwide incidence and mortality of biliary tract cancer. *Gastro Hep Adv*. –2022. –Vol. 1(4). – P.618-26.
26. Zamani Z., Fatima S. Biliary tract cancer // *Treasure Island: Stat-Pearls*. – 2021.
9. Lu Y et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: A meta-analysis. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 2015, vol. 39(6), pp. 718-724. doi: 10.1016/j.clinre.2014.10.015.
10. Li Z. et al. Long-Term Results of ERCP- or PTCS-Directed Photodynamic Therapy for Unresectable Hilar Cholangiocarcinoma. *Surg Endosc*, 2021. vol. 35(10), pp. 5655-5664. doi: 10.1007/s00464-020-08095-1
11. Moole H. et al. Success of Photodynamic Therapy in Palliating Patients With Nonresectable Cholangiocarcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World J Gastroenterol*, 2017, vol. 23(7), pp. 1278-88. doi: 10.3748/wjg.v23.i7.1278
12. Pereira S.P. et al. PHOTOSTENT-02: Porfimer Sodium Photodynamic Therapy Plus Stenting Versus Stenting Alone in Patients With Locally Advanced or Metastatic Biliary Tract Cancer. *ESMO Open*, 2018, vol. 3(5), pp. e000379. doi: 10.1136/esmoopen-2018-000379
13. Maswikiti E.P., Chen H. Photodynamic therapy combined with systemic chemotherapy for unresectable extrahepatic cholangiocarcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2023, vol. 2 (41), pp. 103318. doi: 10.1016/j.pdpdt.2023.103318.
14. Tseimakh A.E., Mishchenko A.N., Kurtukov V.A., Shoikhet Ya.N. Palliative surgical treatment using photodynamic therapy in patients with malignant neoplasms of the biliary system complicated by obstructive jaundice. *Biomedical Photonics*, 2023, vol. 12 (2), pp. 4-10. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-4-10.
15. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J. et al. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*, 2009, vol. 6(7), pp. e1000097. doi: 10.1371/journal.pmed.1000097.
16. Rebrova O.Yu., Fedyaeva V.K., Khachatryan G.R. Adaptation and validation of the questionnaire to assess the risk of systematic errors in randomized controlled trials. *Medical technologies. Assessment and selection*, 2015, vol. 19(1), pp. 9-17.
17. Rebrova O. Yu., Fedyaeva V. K. Questionnaire for assessing the risk of systematic errors in non-randomized comparative studies: the Russian version of the Newcastle-Ottawa scale. *Medical technologies. Assessment and selection*, 2016, vol. (3), pp. 14-19.
18. Tseimakh A.E., Mishchenko A.N., Kurtukov V.A., Shoikhet Ya.N. Palliative surgical treatment using photodynamic therapy in patients with malignant neoplasms of the biliary system complicated by obstructive jaundice. *Biomedical Photonics*, 2023, vol. 12(2), pp. 4-10. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-4-10.
19. Ortner M.E., Caca K., Berr F. et al. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology*, 2003, vol.125(5), pp. 1355-1363. doi: 10.1016/j.gastro.2003.07.015.
20. Surya H., Abdullah M., Nelwan E.J., et al. Current Updates on Diagnosis and Management of Cholangiocarcinoma: from Surgery to Targeted Therapy. *Acta Med Indones*, 2023, vol. 55(3), pp. 361-370.
21. Peirce V., Paskow M., Qin L., et al. A Systematised Literature Review of Real-World Treatment Patterns and Outcomes in Unresectable Advanced or Metastatic Biliary Tract Cancer. *Target Oncol*, 2023, vol. 18(6), pp. 837-852.
22. Vogel A., Bridgewater J., Edeline J., Kelley R.K., Klumpen H.J., Malka D., et al. Biliary tract cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 2023, vol. 34(2), pp. 127-40.
23. Trifylli E.M., Kriebardis A.G., Koustas E., et al. The Arising Role of Extracellular Vesicles in Cholangiocarcinoma: A Rundown of the Current Knowledge Regarding Diagnostic and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci*, 2023, vol. 24(21), pp. 15563.
24. Zhao D.Y., Lim K.H. Current biologics for treatment of biliary tract cancers. *J Gastrointest Oncol*, 2017, vol. 8(3), pp. 430-40.
25. Baria K., De Toni E.N., Yu B., Jiang Z., Kabadi S.M., Malvezzi M. Worldwide incidence and mortality of biliary tract cancer. *Gastro Hep Adv*, 2022, vol. 1(4), pp. 618-26.
26. Zamani Z., Fatima S. Biliary tract cancer. *Treasure Island: Stat-Pearls*, 2021.

РОЛЬ МЕМБРАННЫХ ПЕРЕНОСЧИКОВ В НАКОПЛЕНИИ 5-АЛК-ИНДУЦИРОВАННОГО ПРОТОПОРФИРИНА IX В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

В.И. Иванова-Радкевич¹, О.М. Кузнецова¹, Е.В. Филоненко²

¹Российский Университет дружбы народов, Москва, Россия

²«Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Резюме

Одной из причин различий в эффективности фотодинамической терапии с применением 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) при различных типах злокачественных новообразований могут быть особенности экспрессии в этих тканях мембранных транспортеров, участвующих в переносе самой 5-АЛК в опухолевые и нормальные клетки, а также в выведении из клеток предшественников фотоактивного протопорфирина IX (ПPIX) – уро-, копро- и протопорфириногенов. Повышенная экспрессия первых связана с увеличением интенсивности синтеза ПPIX. При повышении экспрессии вторых наблюдается снижение скорости синтеза ПPIX. В настоящем обзоре описаны основные транспортеры 5-АЛК, уро-, копро- и протопорфириногенов, приведены данные об их экспрессии в различных тканях, обсуждены возможности прогнозирования эффективности фотодинамической терапии с учетом экспрессии указанных транспортеров в злокачественных тканях.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, 5-аминолевулиновая кислота, протопорфирин IX, трансмембранные переносчики.

Контакты: Иванова-Радкевич В.И., e-mail: ivanova-radkevich-vi@rudn.ru

Для цитирования: Иванова-Радкевич В.И., Кузнецова О.М., Филоненко Е.В. Роль трансмембранных переносчиков в накоплении 5-АЛК-индуцированного протопорфирина IX в опухолевых клетках // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 43–48. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-43-48.

THE ROLE OF MEMBRANE TRANSPORT PROTEINS IN 5-ALK-INDUCED ACCUMULATION OF PROTOPORPHYRIN IX IN TUMOR CELLS

Ivanova-Radkevich V.I.¹, Kuznetsova O.M.¹, Filonenko E.V.²

¹Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

²P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRС of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Features of the expression of membrane importers of 5-ALA, as well as transporters involved in the removal of photoactive precursors of protoporphyrin IX (PPIX) (uro-, copro- and protoporphyrinogens), may cause differences in the effectiveness of photodynamic therapy of malignant neoplasms using 5-aminolevulinic acid (5-ALA). Increased expression of ALA transporters is associated with an increase in the intensity of PPIX synthesis. When the expression of PPIX exporters increases, there is a decrease in PPIX concentration. The review describes the main transporters of 5-ALA, uro-, copro- and protoporphyrinogens, provides data on their expression in various tissues, and discusses the possibility of predicting the effectiveness of photodynamic therapy considering the expression of the corresponding transport proteins in malignant tissues.

Key words: photodynamic therapy, 5-aminolevulinic acid, protoporphyrin IX, transmembrane transporters.

Contacts: Ivanova-Radkevich V.I., e-mail: ivanova-radkevich-vi@rudn.ru

For citations: Ivanova-Radkevich V.I., Kuznetsova O.M., Filonenko E.V. The role of membrane transport proteins in 5-ALA-induced accumulation of protoporphyrin IX in tumor cells, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 2, pp. 43–48. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-43-48.

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) широко применяется в России и во всем мире для лечения опухолевых и других опасных заболеваний [1,2,3,4,5]. В основе противоопухолевой ФДТ лежит селективное накопление в патологической ткани фотосенсибилизатора, который при облучении светом с длиной волны, соответствующей максимуму его поглощения, вызывает образование синглетного кислорода и других цитотоксических соединений, вызывающих повреждение структурных элементов опухолевой ткани [1,6].

Фотосенсибилизатор в составе лекарственного препарата может быть введен в организм пациента, а может быть синтезирован внутри клеток-мишеней из экзогенного предшественника. К таким предшественникам (профотосенсибилизаторам) относится 5-аминолевулиновая кислота (5-АЛК). 5-АЛК – эндогенное не фотоактивное соединение, промежуточный метаболит биосинтеза гема. После введения в организм пациента 5-АЛК попадает в опухолевые клетки и включается в синтез гема. При этом в нормальных клетках 5-АЛК быстро превращается в гем и используется для построения гемопroteинов. В то время как в опухолевых клетках синтез тормозится на последней стадии вследствие дефицита фермента феррохелатаза, который катализирует последнюю реакцию синтеза гема. Как результат, в клетке накапливается промежуточный продукт – фотоактивный протопорфирин IX (ППИХ) [1,6].

Способность экзогенной 5-АЛК индуцировать синтез фотоактивного ППИХ зависит от типа ткани (в частности, важно, насколько хорошо эта ткань васкуляризована) и от типа клеток. Одним из возможных объяснений разной интенсивности накопления ППИХ в разных клетках может быть разница в скорости поглощения клетками 5-АЛК и выведения клетками промежуточных продуктов синтеза гема (уропорфириногены, копропорфириногены, протопорфириногены) [7].

Экзогенная 5-АЛК может попадать в клетку путем активного транспорта через несколько транспортеров, в том числе через пептидные транспортеры PEPT1 и PEPT2, переносчик аминокислот PAT1, а также TauT и GAT2 [7]. Возникает вопрос, будет ли увеличенная экспрессия этих транспортеров способствовать повышенному поглощению 5-АЛК опухолевыми клетками по сравнению с нормальными и повлияет ли это на интенсивность накопления ППИХ. Также нельзя забывать о роли транспортеров, которые выводят из клеток промежуточные метаболиты синтеза гема [7]. В нашем обзоре мы хотели бы обсудить роль различных трансмембранных переносчиков в накоплении фотоактивного ППИХ.

PEPT1 (SLC15A1)

Пептидный транспортер PEPT1 наиболее широко известен, как переносчик образующихся при переваривании пищевых белков дипептидов и трипептидов через апикальную мембрану в энтероциты [8]. С технической точки зрения, все химические соединения, имеющие достаточ-

ное стерическое сходство с дипептидами или трипептидами, являются потенциальными субстратами для PEPT1 [8]. Вследствие этого PEPT1 может участвовать в трансмембранном переносе многих лекарств. 5-АЛК, хотя и не обладает пептидной связью в более узком смысле, но имеет кетометиленовую группу, которая представляет собой высокоаффинный субстрат для PEPT1/2 [8].

Еще в 1998 г. в исследовании Döring и соавт. был продемонстрирован прямой перенос 5-АЛК через мембрану ооцитов *Xenopus laevis* и дрожжевых клеток *Pichia pastoris*, экспрессирующих PEPT1 [9].

Считается, что PEPT1 вносит наибольший вклад в транспорт 5-АЛК через кишечный эпителий [10]. В 2016 г. исследованиях на мышах дикого типа по гену *Pept1* была показана значительная проницаемость клеток двенадцатиперстной кишки, тощей кишки и подвздошной кишки для 5-АЛК при ее пероральном приеме. При этом у мышей с нокаутом *Pept1* проницаемость клеток тонкого кишечника была снижена в 10 раз, а пиковая концентрация 5-АЛК в плазме в 2 раза по сравнению с животными дикого типа [11]. Авторы исследования отмечают, что транспорт 5-АЛК в клетки органов ЖКТ происходил без видимого вклада других транспортеров, включая связанный с протоном аминокислотный транспортер 1 (PAT1). Вместе с тем PEPT1 оказывал незначительное влияние на распределение 5-АЛК по периферии тканей [11]. Это может свидетельствовать о том, что периферических тканях вклад других транспортеров в поступление 5-АЛК может быть более существенным.

Интересно, что у мышей дикого типа скорость переноса 5-АЛК через мембрану в двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишке была в 9-14 раз ниже, чем в толстой кишке, и эта разница соответствует паттерну экспрессии белка PEPT1, наблюдаемому у мышей [11,12].

Кроме энтероцитов PEPT1 также экспрессируется и в других периферических тканях: в желудке, мочевом пузыре, внепеченочных желчных протоках.

В 2003 г. было показано, что 5-АЛК проникает в клетки клетками холангиокарциномы человека SK-ChA-1 посредством транспортера PEPT1 [13]. Спустя 10 лет Chung и соавт. в своем исследовании подтвердили трансмембранный перенос 5-АЛК с участием PEPT1 в клеточных линиях холангиоцитов, полученных из карциномы желчных протоков [14].

В исследованиях на клетках рака желудка человека KCLS, NKPS и TMK-1 эффективность 5-АЛК-индуцированной ФДТ также была связана с высокой экспрессией PEPT1 и одновременно низкой экспрессией АТФ-связывающего кассетного транспортера ABCG2 (участвует в выведении ППИХ через мембрану), которые совместно определяют эффективное образование и накопление ППИХ после экзогенного введения 5-АЛК [15]. Аналогичные результаты были получены и при исследовании образцов опухоли мочевого пузыря – накопление ППИХ было обусловлено повышенной экспрессией PEPT1 и пониженной – ABCG2 [10].

Интересное наблюдение было проведено в исследовании Lai и соавт. [16]: при высокой экспрессии PEPT1 в нормальных клетках легких W138, в клетках немелкоклеточного рака легких A549 PEPT1 не экспрессировался.

PEPT2 (SLC15A2)

PEPT2 широко экспрессируется в периферических тканях, особенно в почках, головном мозге и легких [11]. Показано, что PEPT2 играет центральную роль в реабсорбции 5-АЛК из клубочкового фильтрата в клетках проксимальных канальцев почек человека [17], а также участвует в поглощении 5-АЛК астроцитами новорожденных мышей [18].

PAT1 (SLC36A1)

Транспортер аминокислот PAT1 участвует в переносе через мембрану небольших нейтральных аминокислот, таких как пролин и γ -аминомасляная кислота (ГАМК). По своей химической структуре 5-АЛК имеет сходство с ГАМК. На этом основана возможность переноса 5-АЛК через мембранные транспортеры, основным субстратом которых является ГАМК [19]. Несколько экспериментальных работ доказывают участие PAT1 в транспорте 5-АЛК. Так, ооциты *Xenopus laevis*, экспрессирующие PAT1, активнее поглощают 5-АЛК [20].

В исследовании Lai и соавт. [16] также, как и для PEPT1, была показана разница в экспрессии PAT1 в нормальных и злокачественных клетках, произошедших из одного органа: в здоровых клетках предстательной железы PrEC экспрессия была достаточно высокая, в то время как в клетках рака предстательной железы DU145 она практически отсутствовала.

TauT (SLC6A6) и GAT2 (SLC6A13)

Кроме PAT1, ГАМК также является субстратом для транспортеров TauT и GAT2, что вызывает вопросы о том, участвуют ли они в трансмембранном переносе 5-АЛК [7]. По некоторым данным, оба транспортера высоко экспрессируются во многих тканях человека, особенно в клетках головного мозга и печени [21]. Исследования других авторов показывают, что самые высокие уровни мРНК GAT2 обнаруживаются в печени и почках, тогда как уровни в мозжечке и коре головного мозга низкие [22]. Кроме того, высокие уровни транспортера обнаружены в желудке и сетчатке глаза [23].

В своем исследовании Tran и соавт. оценили 5-АЛК-индуцированное накопление протопорфирина в клетках рака толстой кишки DLD-1, клетках HeLa и HEK293. В отсутствие экзогенной 5-АЛК ППХ не синтезировался. Авторами были использованы гомологи ГАМК для оценки эффективности переноса 5-АЛК. Ингибирующее действие гомологов ГАМК на 5-АЛК-индуцированное накопление ППХ в клетках HeLa было меньше, чем это наблюдалось в случае клеток DLD-1. Нокдаун GAT2 в клетках HeLa приводил к незначительному снижению уровня ППХ, что позволяет предположить, наличие альтернативных транспортеров в этих клетках. Нокдаун одновременно TauT и GAT2 в клетках HeLa приводил к

значительному снижению уровня ППХ, что указывает на важную роль TauT в транспорте 5-АЛК в этих клетках [24]. Авторы также отмечают, что клетки почечной аденокарциномы HEK293 при избыточной экспрессии либо TauT, либо GAT2 индуцировали значительное увеличение продукции ППХ. Результаты описанных экспериментов подтверждают значительный вклад транспортеров TauT и GAT2 в проникновение 5-АЛК в клетку [24,25].

Неопластические клетки проявляют повышенную потребность в определенных метаболитах, включая аминокислоты, и адаптируются к этой потребности не только за счет усиленной экспрессии транспортеров, но также за счет экспрессии изоформ, не обнаруженных в нормальных тканях. Основываясь на перекрывающихся специфичностях переносчиков аминокислот и нейромедиаторов, повышенная экспрессия этих транспортеров может объяснять большее накопление ППХ в различных раковых клетках, включая клетки HeLa [24].

TSPO1/2

В трансмембранном переносе 5-АЛК участвует также белок TSPO. Он существует в виде двух изоформ: TSPO1 в основном локализуется во внешней мембране митохондрий, тогда как TSPO2 встречается в плазматической мембране эритроцитов. В работе Manseau и соавт. [26] было показано, что интенсивность 5-АЛК-индуцированного накопления ППХ в клетках эритролейкемии (UT-7 и K562) снижалась при добавлении в среду специфического конкурентного ингибитора TSPO1/2 (шифр ингибитора PK 11195). PK 11195 не изменял активность ферментов биосинтеза гема. Из полученных данных авторы исследования сделали вывод, что лимитирующим фактором в синтезе гема было проникновение 5-АЛК через плазматическую мембрану. Вместе с тем PK 11195 не влиял на индуцированное порфобилиногеном (PBG) накопление ППХ, что позволяет предположить, что TSPO2 является селективным переносчиком 5-АЛК. Еще одним доказательством роли TSPO2 в переносе 5-АЛК через мембрану является тот факт, что сверхэкспрессия TSPO2 на плазматической мембране клеток эритролейкемии увеличивала индуцированное 5-АЛК накопление ППХ [26]. Описанные закономерности скорее важны для определения механизма и возможности влияния на развитие врожденной сидеробластной анемии, однако потенциально данные об экспрессии TSPO2 в других тканях могут быть использованы для прогнозирования эффективности ФДТ в тканях, экспрессирующих TSPO.

ABCG2

ABCG2 – белок, используемый для транспорта соединений против градиента их концентрации с использованием гидролиза АТФ в качестве источника энергии, идентифицирован как экспортер ППХ и гема у млекопитающих [27]. Эти данные подтверждаются экспериментами с эктопически экспрессируемым ABCG2, который экспортирует ZnMP (цинк-содержащий мезопорфирин, используется как аналог гема в экспериментальных моделях)

в клетки K562 [28]. ABCG2 экспрессируется в широком спектре тканей, включая гемопоэтические стволовые клетки и эритроидные клетки-предшественники. Высокие концентрации белка обнаруживаются в двенадцатиперстной кишке, тонком и толстом кишечнике, прямой кишке, семенных пузырьках и эндометрии. Распределение транспортера в тканях, которые имеют преимущественно секреторную или барьерную функцию, приводит к мысли о том, что ABCG2 играет существенную роль в контроле распределения и воздействия на ткани эндобиотиков и ксенобиотиков, таких как антибиотики, стероиды, иммунодепрессанты (включая препараты против ВИЧ), флуоресцентные красители (например, Hoechst 33342), фотосенсибилизаторы (феофорбид А и ППІХ). Повышенную экспрессию ABCG2 связывают со множественной лекарственной устойчивостью при раке [29].

Уровень экспрессии ABCG2 особенно высок на ранних стадиях гемопоэза [30]. Так же, как и в FLVCR1-опосредованном экспорте гема, ABCG2, возможно, экспортирует и переносит гем к внеклеточным гем-связывающим белкам, таким как альбумин [31]. Однако, в отличие от FLVCR1, ABCG2 имеет широкий спектр субстратов, включая порфириновые и непорфириновые субстраты, что предполагает, что ABCG2 может не быть функциональной резервной копией FLVCR1.

Активность ABCG2, который используется для транспорта ППІХ, также влияет на интенсивность флуоресценции ППІХ. Так совместное применение 5-АЛК и Ko143, специфического ингибитора ABCG2, на модели культивируемых раковых клеток MCF-7 и MDA-MB 231 повышало интенсивность флуоресценции ППІХ по сравнению с культивируемыми нераковыми клетками MCF10A [32]. А в исследовании Nagiу и соавт. [10] было показано, что селективное накопление ППІХ в клетках рака мочевого пузыря обусловлено именно повышением экспрессии PEPT1 и снижением экспрессии ABCG2.

ABCB6

ABCB6 является гем-связывающим АТФ-зависимым транспортным белком, который способен взаимодействовать с различными тетрапирролами, такими как гем, копропорфин III, ППІХ и растительный порфирин, феофорбид А. ABCB6 может быть локализован как во внешней митохондриальной мембране, так и в плазматической [33]. Базальный уровень метаболитов метаболитов синтеза гема поддерживается АТФ-независимыми транспортерами, этого уровня достаточно для выживания организма. Но в условиях стресса необходима работа АТФ-зависимых транспортеров, таких как ABCB6. При низком уровне транспортера происходит синтез цинк-протопорфирина IX, поэтому можно предположить участие этого транспортера и в гомеостазе железа [33].

Высокие концентрации транспортера обнаруживаются в желчном пузыре, яйцках и придатках яйцек [23].

FLVCR1

FLVCR1 является белком-экспортером и имеет узкий

спектр субстратов, включающий гем, ППІХ и копропорфин. FLVCR1 локализован на поверхности плазматической мембраны [34]. FLVCR1 активно экспрессируется в различных кроветворных клетках, экспрессия на низком уровне обнаруживается в печени, поджелудочной железе и почках плода [35]. Эктопическая экспрессия FLVCR1 снижает внутриклеточные концентрации ППІХ. Это доказывают эксперименты с использованием ZnMP, который опосредует отток ППІХ в эпителиальных и кроветворных клетках почек крысы K562 [34]. Предполагается, что FLVCR1 в норме экспортирует гем, когда макрофаги фагоцитируют стареющие эритроциты. С учетом того, что ППІХ также является субстратом FLVCR1, вполне возможно, что отток ППІХ осуществляется с помощью этого транспортного белка. Alves и соавт. показали, что в ядродержащих предшественниках эритроцитов из костного мозга человека экспрессия FLVCR1 увеличивалась во время эритропоэза и достигала максимального уровня на промежуточной стадии созревания в условиях, при которых система гемоксигеназы была дефектна [36]. Вероятно, FLVCR1 может экспортировать избыток ППІХ или гема для предотвращения токсичности в условиях, при которых деградация гема не полностью индуцируется.

В одном из исследований транспортеров показано, что в дополнение к полноразмерному FLVCR1 (FLVCR1a) существует еще одна изоформа, FLVCR1b, которая представляет собой меньший белок, возможно локализованный в митохондриях [37]. Сверхэкспрессия FLVCR1b увеличивает концентрацию цитозольного гема, тогда как нокдаун FLVCR1b приводит к накоплению гема в митохондриях, указывая на то, что FLVCR1b является экспортером митохондриального гема и, возможно, ППІХ [37].

Повышенная экспрессия FLVCR1 по данным целого ряда авторов обнаруживается при гепатоцеллюлярной карциноме и связана с более высокой стадией заболевания и сосудистой инвазией. FLVCR1 также играет ключевую роль в выживании, росте и миграции клеток при плоскоклеточной карциноме пищевода [38]. Учитывая высокую степень гомологии между FLVCR2 и FLVCR1 [39], возможно, что FLVCR2 также способствует оттоку ППІХ и гема. FLVCR2 экспрессируется в широком спектре тканей человека, включая печень, мозг и почки плода [40]. Однако в настоящее время прямая физиологическая роль FLVCR2 в транспорте ППІХ и гема не ясна.

MFRN

Митоферрины (MFRN) – транспортеры, участвующие в переносе ионов железа в митохондрии. Транспортируемые ионы железа в том числе используются для внутримитохондриального синтеза гема. По данным Hayashi и соавт. [41] уровень ионов железа в митохондриях опухолевых клеток может быть существенно ниже, чем в нормальных клетках. Это одна из причин (кроме низкой активности феррохелатазы), по которой избыток ППІХ, образовавшегося при экзогенном введении 5-АЛК, в нормальных клетках быстро утилизируется, а в опухо-

левых клетках сохраняется в течение более длительного срока. Такая разница в уровнях ионов железа объясняется пониженной экспрессией в опухолевых клетках митоферринов, переносящих железо через митохондриальную мембрану. Практическим применением результатов этого исследования может быть увеличение эффективности ФДТ путем дополнительного введения препаратов железа в период проведения лечения: в нормальных клетках это приведет к снижению ППІХ, индуцированного экзогенным введением 5-АЛК, а в опухолевых клетках (за счет низкой экспрессии митоферринов) такого эффекта не будет [41].

Практическое применение

Оценка уровней экспрессии генов белков-транспортеров 5-АЛК и порфириногенов (прежде всего PEPT1 и ABCG2) при определенных условиях может быть использована для прогнозирования скорости и интенсивности накопления 5-АЛК-индуцированного ППІХ [8], при этом в

опухолевых тканях уровень накопления ППІХ может коррелировать с эффективностью ФДТ.

Кроме того, как показывают некоторые исследования [16], уровень экспрессии транспортеров 5-АЛК в нормальных клетках может быть выше или соответствовать таковому в опухолевых клетках аналогичного происхождения. Так, например, нормальные клетки легких (WI38) экспрессируют гораздо больше PEPT1, чем их злокачественные аналоги (A549) [16]. По мнению авторов исследования [16], для таких клеток ФДТ будет менее эффективна и будет выше риск развития фототоксичности. Авторы исследования предполагают, что может оказаться перспективным подход, при котором одновременно с ФДТ могут быть применены ингибиторы соответствующих транспортеров. Как показывают результаты экспериментов, подобная стратегия приводит к увеличению флуоресцентной контрастности между злокачественными и нормальными клетками: в нормальных клетках с высокой экспрессией транспортера ингибирующее действие проявляется сильнее [16].

ЛИТЕРАТУРА

1. Filonenko E. V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020 // *Biomed. Photonics*. – 2021. – Т. 10. – С. 4-22.
2. Zharkova N. N. et al. Fluorescence observations of patients in the course of photodynamic therapy of cancer with the photosensitizer PHOTOSENS // *Photodynamic Therapy of Cancer II*. – SPIE, 1995. – Т. 2325. – С. 400-403.
3. Sokolov V. V. et al. Clinical fluorescence diagnostics in the course of photodynamic therapy of cancer with the photosensitizer PHOTOGEM // *Photodynamic Therapy of Cancer II*. – SPIE, 1995. – Т. 2325. – С. 375-380.
4. Filonenko E. V. et al. Photodynamic therapy in the treatment of intraepithelial neoplasia of the cervix, vulva and vagina // *Biomedical Photonics*. – 2021. – Т. 9. – №. 4. – С. 31-39. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2020-9-4-31-39>.
5. Filonenko E. V., Ivanova-Radkevich V. I. Photodynamic therapy of psoriasis // *Biomedical Photonics*. – 2023. – Т. 12. – №. 1. – С. 28-36. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-1-28-36.
6. Ivanova-Radkevich V. I. Biochemical basis of selective accumulation and targeted delivery of photosensitizers to tumor tissues // *Biochemistry (Moscow)*. – 2022. – Т. 87. – №. 11. – С. 1226-1242. <https://doi.org/10.1134/S0006297922110025>.
7. Lai H. W., Nakayama T., Ogura S. Key transporters leading to specific protoporphyrin IX accumulation in cancer cell following administration of aminolevulinic acid in photodynamic therapy/diagnosis // *International Journal of Clinical Oncology*. – 2021. – Т. 26. – С. 26-33.
8. Brandsch M. Drug transport via the intestinal peptide transporter PepT1 // *Current opinion in pharmacology*. – 2013. – Т. 13. – №. 6. – С. 881-887.
9. Döring F. et al. Delta-aminolevulinic acid transport by intestinal and renal peptide transporters and its physiological and clinical implications // *The Journal of clinical investigation*. – 1998. – Т. 101. – №. 12. – С. 2761-2767.
10. Hagiya Y. et al. Expression levels of PEPT1 and ABCG2 play key roles in 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced tumor-specific protoporphyrin IX (PpIX) accumulation in bladder cancer // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. – 2013. – Т. 10. – №. 3. – С. 288-295.
11. Xie Y., Hu Y., Smith D. E. The proton-coupled oligopeptide transporter 1 plays a major role in the intestinal permeability and absorption of 5-aminolevulinic acid // *British journal of pharmacology*. – 2016. – Т. 173. – №. 1. – С. 167-176.
12. Jappard D. et al. Significance and regional dependency of peptide transporter (PEPT) 1 in the intestinal permeability of glycylsarcosine: in situ single-pass perfusion studies in wild-type and PepT1 knockout mice // *Drug metabolism and disposition*. – 2010. – Т. 38. – №. 10. – С. 1740-1746.
13. Neumann J., Brandsch M. δ -Aminolevulinic acid transport in cancer cells of the human extrahepatic biliary duct // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2003. – Т. 305. – №. 1. – С. 219-224.
14. Chung C. W. et al. Aminolevulinic acid derivatives-based photodynamic therapy in human intra- and extrahepatic cholangiocarcinoma cells //

REFERENCES

1. Filonenko E. V. Clinical implementation and scientific development of photodynamic therapy in Russia in 2010-2020, *Biomedical Photonics*, 2021, Vol. 10, pp. 4-22.
2. Zharkova N. N. et al. Fluorescence observations of patients in the course of photodynamic therapy of cancer with the photosensitizer PHOTOSENS, *Photodynamic Therapy of Cancer II*, SPIE, 1995, Vol. 2325, pp. 400-403.
3. Sokolov V. V. et al. Clinical fluorescence diagnostics in the course of photodynamic therapy of cancer with the photosensitizer PHOTOGEM, *Photodynamic Therapy of Cancer II*, SPIE, 1995, Vol. 2325, pp. 375-380.
4. Filonenko E. V. et al. Photodynamic therapy in the treatment of intraepithelial neoplasia of the cervix, vulva and vagina, *Biomedical Photonics*, 2021, Vol. 9(4), pp. 31-39. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2020-9-4-31-39>.
5. Filonenko E. V., Ivanova-Radkevich V. I. Photodynamic therapy of psoriasis, *Biomedical Photonics*, 2023, Vol. 12(1), pp. 28-36. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-1-28-36.
6. Ivanova-Radkevich V. I. Biochemical basis of selective accumulation and targeted delivery of photosensitizers to tumor tissues, *Biochemistry (Moscow)*, 2022, Vol. 87(11), pp. 1226-1242. <https://doi.org/10.1134/S0006297922110025>.
7. Lai H. W., Nakayama T., Ogura S. Key transporters leading to specific protoporphyrin IX accumulation in cancer cell following administration of aminolevulinic acid in photodynamic therapy/diagnosis, *International Journal of Clinical Oncology*, 2021, Vol. 26, pp. 26-33.
8. Brandsch M. Drug transport via the intestinal peptide transporter PepT1, *Current opinion in pharmacology*, 2013, Vol. 13(6), pp. 881-887.
9. Döring F. et al. Delta-aminolevulinic acid transport by intestinal and renal peptide transporters and its physiological and clinical implications, *The Journal of clinical investigation*, 1998, Vol. 101(12), pp. 2761-2767.
10. Hagiya Y. et al. Expression levels of PEPT1 and ABCG2 play key roles in 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced tumor-specific protoporphyrin IX (PpIX) accumulation in bladder cancer, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 2013, Vol. 10(3), pp. 288-295.
11. Xie Y., Hu Y., Smith D. E. The proton-coupled oligopeptide transporter 1 plays a major role in the intestinal permeability and absorption of 5-aminolevulinic acid, *British journal of pharmacology*, 2016, Vol. 173(1), pp. 167-176.
12. Jappard D. et al. Significance and regional dependency of peptide transporter (PEPT) 1 in the intestinal permeability of glycylsarcosine: in situ single-pass perfusion studies in wild-type and PepT1 knockout mice, *Drug metabolism and disposition*, 2010, Vol. 38(10), pp. 1740-1746.
13. Neumann J., Brandsch M. δ -Aminolevulinic acid transport in cancer cells of the human extrahepatic biliary duct, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003, Vol. 305(1), pp. 219-224.
14. Chung C. W. et al. Aminolevulinic acid derivatives-based photodynamic therapy in human intra- and extrahepatic cholangiocarcinoma

- European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2013. – Т. 85. – № 3. – С. 503-510.
15. Hagiya Y. et al. Pivotal roles of peptide transporter PEPT1 and ATP-binding cassette (ABC) transporter ABCG2 in 5-aminolevulinic acid (ALA)-based photocytotoxicity of gastric cancer cells in vitro // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. – 2012. – Т. 9. – № 3. – С. 204-214.
 16. Lai H. W. et al. Novel strategy to increase specificity of ALA-Induced PpIX accumulation through inhibition of transporters involved in ALA uptake // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2019. – Т. 27. – С. 327-335.
 17. Tchernitchko D. et al. A variant of peptide transporter 2 predicts the severity of porphyria-associated kidney disease // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2017. – Т. 28. – № 6. – С. 1924-1932.
 18. Xiang J. et al. PEPT2-mediated transport of 5-aminolevulinic acid and carnosine in astrocytes // *Brain research*. – 2006. – Т. 1122. – № 1. – С. 18-23.
 19. Anderson C. M. H. et al. Transport of the photodynamic therapy agent 5-aminolevulinic acid by distinct H⁺-coupled nutrient carriers coexpressed in the small intestine // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2010. – Т. 332. – № 1. – С. 220-228.
 20. Boll M. et al. Functional characterization of two novel mammalian electrogenic proton-dependent amino acid cotransporters // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Т. 277. – № 25. – С. 22966-22973.
 21. Kristensen A. S. et al. SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function, and regulation // *Pharmacological reviews*. – 2011. – Т. 63. – № 3. – С. 585-640.
 22. Zhou Y. et al. Deletion of the γ -aminobutyric acid transporter 2 (GAT2 and SLC6A13) gene in mice leads to changes in liver and brain taurine contents // *Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Т. 287. – № 42. – С. 35733-35746.
 23. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000115657-ABCB6/tissue>
 24. Tran T. T. et al. Neurotransmitter Transporter Family Including SLC 6 A 6 and SLC 6 A 13 Contributes to the 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-Induced Accumulation of Protoporphyrin IX and Photodamage, through Uptake of ALA by Cancerous Cells // *Photochemistry and photobiology*. – 2014. – Т. 90. – № 5. – С. 1136-1143.
 25. Bermudez Moretti M. et al. δ -aminolevulinic acid transport in murine mammary adenocarcinoma cells is mediated by BETA transporters // *British journal of cancer*. – 2002. – Т. 87. – № 4. – С. 471-474.
 26. Manceau H. et al. TSP02 translocates 5-aminolevulinic acid into human erythroleukemia cells // *Biology of the Cell*. – 2020. – Т. 112. – № 4. – С. 113-126.
 27. Krishnamurthy P, Schuetz J. D. The ABC transporter Abcg2/Bcrp: role in hypoxia mediated survival // *Biometals*. – 2005. – Т. 18. – С. 349-358.
 28. Desuzinges-Mandon E. et al. ABCG2 transports and transfers heme to albumin through its large extracellular loop // *Journal of biological chemistry*. – 2010. – Т. 285. – № 43. – С. 33123-33133.
 29. Horsey A. J. et al. The multidrug transporter ABCG2: still more questions than answers // *Biochemical Society Transactions*. – 2016. – Т. 44. – № 3. – С. 824-830.
 30. Wu X. G., Peng S. B., Huang Q. Transcriptional regulation of breast cancer resistance protein // *Yi Chuan = Hereditas*. – 2012. – Т. 34. – № 12. – С. 1529-1536.
 31. Krishnamurthy P. et al. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Т. 279. – № 23. – С. 24218-24225.
 32. Morita M. et al. Fluorescence-based discrimination of breast cancer cells by direct exposure to 5-aminolevulinic acid // *Cancer medicine*. – 2019. – Т. 8. – № 12. – С. 5524-5533.
 33. Boswell-Casteel R. C., Fukuda Y., Schuetz J. D. ABCB6, an ABC transporter impacting drug response and disease // *The AAPS journal*. – 2018. – Т. 20. – С. 1-10.
 34. Quigley J. G. et al. Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis // *Cell*. – 2004. – Т. 118. – № 6. – С. 757-766.
 35. Quigley J. G. et al. Cloning of the cellular receptor for feline leukemia virus subgroup C (FeLV-C), a retrovirus that induces red cell aplasia // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2000. – Т. 95. – № 3. – С. 1093-1099.
 36. Alves L. R. et al. Heme-oxygenases during erythropoiesis in K562 and human bone marrow cells // *PLoS One*. – 2011. – Т. 6. – № 7. – С. e21358.
 37. Chiabrando D. et al. The mitochondrial heme exporter FLVCR1b mediates erythroid differentiation // *The Journal of clinical investigation*. – 2012. – Т. 122. – № 12. – С. 4569-4579.
 38. Zhou S. et al. FLVCR1 predicts poor prognosis and promotes malignant phenotype in esophageal squamous cell carcinoma via upregulating CSE1L // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Т. 11. – С. 660955.
 39. Brown J. K., Fung C., Tailor C. S. Comprehensive mapping of receptor-functioning domains in feline leukemia virus subgroup C receptor FLVCR1 // *Journal of virology*. – 2006. – Т. 80. – № 4. – С. 1742-1751.
 40. Duffy S. P. et al. The Fowler syndrome-associated protein FLVCR2 is an importer of heme // *Molecular and cellular biology*. – 2010. – Т. 30. – № 22. – С. 5318-5324.
 41. Hayashi M. et al. The effect of iron ion on the specificity of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid // *PLoS One*. – 2015. – Т. 10. – № 3. – С. e0122351.
 - cells, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2013, Vol. 85(3), pp. 503-510.
 15. Hagiya Y. et al. Pivotal roles of peptide transporter PEPT1 and ATP-binding cassette (ABC) transporter ABCG2 in 5-aminolevulinic acid (ALA)-based photocytotoxicity of gastric cancer cells in vitro, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 2012, Vol. 9(3), pp. 204-214.
 16. Lai H. W. et al. Novel strategy to increase specificity of ALA-Induced PpIX accumulation through inhibition of transporters involved in ALA uptake, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2019, Vol. 27, pp. 327-335.
 17. Tchernitchko D. et al. A variant of peptide transporter 2 predicts the severity of porphyria-associated kidney disease, *Journal of the American Society of Nephrology*, 2017, Vol. 28(6), pp. 1924-1932.
 18. Xiang J. et al. PEPT2-mediated transport of 5-aminolevulinic acid and carnosine in astrocytes, *Brain research*, 2006, Vol. 1122(1), pp. 18-23.
 19. Anderson C. M. H. et al. Transport of the photodynamic therapy agent 5-aminolevulinic acid by distinct H⁺-coupled nutrient carriers coexpressed in the small intestine, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2010, Vol. 332(1), pp. 220-228.
 20. Boll M. et al. Functional characterization of two novel mammalian electrogenic proton-dependent amino acid cotransporters, *Journal of Biological Chemistry*, 2002, Vol. 277(25), pp. 22966-22973.
 21. Kristensen A. S. et al. SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function, and regulation, *Pharmacological reviews*, 2011, Vol. 63(3), pp. 585-640.
 22. Zhou Y. et al. Deletion of the γ -aminobutyric acid transporter 2 (GAT2 and SLC6A13) gene in mice leads to changes in liver and brain taurine contents, *Journal of Biological Chemistry*, 2012, Vol. 287(42), pp. 35733-35746.
 23. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000115657-ABCB6/tissue>
 24. Tran T. T. et al. Neurotransmitter Transporter Family Including SLC 6 A 6 and SLC 6 A 13 Contributes to the 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-Induced Accumulation of Protoporphyrin IX and Photodamage, through Uptake of ALA by Cancerous Cells, *Photochemistry and photobiology*, 2014, Vol. 90(5), pp. 1136-1143.
 25. Bermudez Moretti M. et al. δ -aminolevulinic acid transport in murine mammary adenocarcinoma cells is mediated by BETA transporters, *British journal of cancer*, 2002, Vol. 87(4), pp. 471-474.
 26. Manceau H. et al. TSP02 translocates 5-aminolevulinic acid into human erythroleukemia cells, *Biology of the Cell*, 2020, Vol. 112(4), pp. 113-126.
 27. Krishnamurthy P, Schuetz J. D. The ABC transporter Abcg2/Bcrp: role in hypoxia mediated survival, *Biometals*, 2005, Vol. 18, pp. 349-358.
 28. Desuzinges-Mandon E. et al. ABCG2 transports and transfers heme to albumin through its large extracellular loop, *Journal of biological chemistry*, 2010, Vol. 285(43), pp. 33123-33133.
 29. Horsey A. J. et al. The multidrug transporter ABCG2: still more questions than answers, *Biochemical Society Transactions*, 2016, Vol. 44(3), pp. 824-830.
 30. Wu X. G., Peng S. B., Huang Q. Transcriptional regulation of breast cancer resistance protein, *Yi Chuan = Hereditas*, 2012, Vol. 34(12), pp. 1529-1536.
 31. Krishnamurthy P. et al. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme, *Journal of Biological Chemistry*, 2004, Vol. 279(23), pp. 24218-24225.
 32. Morita M. et al. Fluorescence-based discrimination of breast cancer cells by direct exposure to 5-aminolevulinic acid, *Cancer medicine*, 2019, Vol. 8(12), pp. 5524-5533.
 33. Boswell-Casteel R. C., Fukuda Y., Schuetz J. D. ABCB6, an ABC transporter impacting drug response and disease, *The AAPS journal*, 2018, Vol. 20, pp. 1-10.
 34. Quigley J. G. et al. Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis, *Cell*, 2004, Vol. 118(6), pp. 757-766.
 35. Quigley J. G. et al. Cloning of the cellular receptor for feline leukemia virus subgroup C (FeLV-C), a retrovirus that induces red cell aplasia, *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2000, Vol. 95(3), pp. 1093-1099.
 36. Alves L. R. et al. Heme-oxygenases during erythropoiesis in K562 and human bone marrow cells, *PLoS One*, 2011, Vol. 6(7), e21358.
 37. Chiabrando D. et al. The mitochondrial heme exporter FLVCR1b mediates erythroid differentiation, *The Journal of clinical investigation*, 2012, Vol. 122(12), pp. 4569-4579.
 38. Zhou S. et al. FLVCR1 predicts poor prognosis and promotes malignant phenotype in esophageal squamous cell carcinoma via upregulating CSE1L, *Frontiers in Oncology*, 2021, Vol. 11, pp. 660955.
 39. Brown J. K., Fung C., Tailor C. S. Comprehensive mapping of receptor-functioning domains in feline leukemia virus subgroup C receptor FLVCR1, *Journal of virology*, 2006, Vol. 80(4), pp. 1742-1751.
 40. Duffy S. P. et al. The Fowler syndrome-associated protein FLVCR2 is an importer of heme, *Molecular and cellular biology*, 2010, Vol. 30(22), pp. 5318-5324.
 41. Hayashi M. et al. The effect of iron ion on the specificity of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid, *PLoS One*, 2015, Vol. 10(3), e0122351.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ



«ФОТОДИТАЗИН®» концентрат для приготовления раствора для инфузий — лекарственное средство (ПУ № ЛС 001246 от 18.05.2012 г.)
«ФОТОДИТАЗИН®» гель — изделие медицинского назначения (ПУ № ФСР 2012/13043 от 03.02.2012 г.)
«ФОТОДИТАГЕЛЬ®» — косметическое средство (ДС ЕАЭС № RU Д-RU.HB42.B.06108/20 от 24.09.2020 г.)

Препараты применяются для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии злокачественных новообразований, а также патологий неонкологического характера в следующих областях медицины:

- | | |
|------------------------|--------------------|
| ✓ гинекология | ✓ ортопедия |
| ✓ урология | ✓ комбустиология |
| ✓ нейрохирургия | ✓ гнойная хирургия |
| ✓ торакальная хирургия | ✓ дерматология |
| ✓ офтальмология | ✓ косметология |
| ✓ травматология | ✓ стоматология |

 www.fotoditazin.com
www.фотодитазин.рф

ООО «ВЕТА-ГРАНД»

123056, г. Москва, ул. Красина, д. 27, стр. 2
Тел.: +7 (499) 250-40-00, +7 (929) 971-44-46
E-mail: veta-grand@mail.ru



@FOTODITAZIN



@FOTODITAGEL_FDT

