

ОБОСНОВАНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОДУКТОВ ФОТОЛИЗА ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ХЛОРИНОВОГО РЯДА ДЛЯ АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Ю.В. Алексеев¹, В.С. Ширяев¹, И.В. Шевченко², Ф.М. Шветский¹

¹ Научно-практический центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина
ФМБА России, Москва

² Госпиталь ветеранов войны № 2 ДЗМ, Москва

SUBSTANTIATION AND PROSPECTS OF THE APPLICATION OF CHLORINE PHOTOSENSITIZER PHOTOLYSIS PRODUCTS FOR ANTIMICROBIAL THERAPY IN CLINICAL PRACTICE

Yu.V. Alekseev¹, V.S. Shiryaev¹, I.V. Shevchenko², F.M. Shvetskiy¹

¹ O.K. Skobelkin Scientific and Practical Center of Laser Medicine, FMBA, Moscow, Russia

² Municipal Hospital of War Veterans No. 2, Moscow, Russia

Реферат

Цель: Определение перспектив применения фотоактивированных производных хлорина Е6 в клинической практике на основе выявления чувствительности к ним различных микроорганизмов.

Материал и методы: Установка для облучения фотосенсибилизатора (ФС), изготовленная по нашему техническому заданию ООО “Новые хирургические технологии” (Москва), состоящая из блока питания и 12 кольцевидных светодиодов с $\lambda \approx 405$ нм и с номинальной мощностью 450 мВт, обеспечивающих плотность мощности 420–480 мВт/см². В кольцо из светодиодов помещали по три пробирки с ФС “Радахлорин” производства ООО “РАДА-ФАРМА” (Москва), как в неразведенном виде, так и разведенном в физиологическом растворе 1:10 и 1:20 и облучали в течении 15 мин. Затем ФС наносили в количестве 10 и 50 мкл на высеянные колонии бактерий в чашках Петри непосредственно после облучения и через 24 часа. Контролем являлся необлученный ФС. Всего исследовано 20 видов микроорганизмов, высеянных от 27 госпитальных больных с различными инфекционными заболеваниями.

Результаты: В экспериментах на культурах микроорганизмов показан бактерицидный эффект фотоактивированного радахлорина, зависящий от его концентрации и количества. Установлено, что фотоактивированный радахлорин активен в отношении большинства грамположительных микроорганизмов и не активен в данных концентрациях и количествах к грамотрицательным культурам. В отношении некоторых штаммов микроорганизмов одного и того-же вида чувствительность существенно различалась, что нуждается в дальнейшем изучении. Также выявлен и темновой эффект ФС. Показано, что продукты фотолиза радахлорина могут сохранять свою активность по меньшей мере до 24 часов.

Заключение: Полученные результаты подтверждают возможность достижения антимикробного и антимикотического эффектов при лечении инфекционных больных с применением фотоактивированных ФС и дают основания для продолжения исследований в этом направлении с целью определения оптимальных параметров фотоактивации и подбора наиболее эффективных ФС на основе выявления чувствительности к ним различных микроорганизмов.

Ключевые слова: фотоактивированные фотосенсибилизаторы, продукты фотолиза порфиринов, радахлорин, антимикробная терапия

Abstract

Purpose: To find out prospects for the application of photoactivated chlorine derivatives E6 in the clinical practice after analyzing sensitivity of various microorganisms to them.

Material and methods: A device for photosensitizer irradiation was manufactured by LLC "New Surgical Technologies" (Moscow, Russia) in compliance with the authors' technical task. The device includes a power supply unit and 12 ring-shaped LEDs with $\lambda \approx 405$ nm; nominal power 450 mW, power density of 420-480 mW/cm². Three tubes with photosensitizer (FS) Radachlorin (manufactured by LLC RADA-PHARMA, Moscow, Russia, registration number LS-001868) in both undiluted and diluted forms in physiological solution in ratio 1:10 and 1:20 were placed in LEDs ring; irradiation lasted for 15 minutes. Then 10 and 50 μ l of FS were put on Petri dishes with seeded bacterial colonies immediately after irradiation and 24 hours later. Controls were not irradiated with FS. In total, 20 species of microorganisms isolated from 27 hospitalized patients with various infectious diseases were tested.

Results: In experiments, the bactericidal effect of photoactivated Radachlorin at microorganism cultures depending on its concentration and amount was shown. It was also found that photoactivated Radachlorin is active against most Gram-positive microorganisms and is not active against Gram-negative cultures in tested concentrations and amounts. Besides, the defined sensitivity differed significantly for some strains of microorganisms of the same species which needs further research. FS dark effect was also revealed. It was also found that Radachlorin photolysis products can retain their activity for, at least, 24 hours.

Conclusion: The obtained results confirm possible antimicrobial and antimycotic effects of photoactivated FS when being applied to infected patients what gives grounds to continue research in this direction in order to determine optimal parameters of photoactivation and selection of the most effective photosensitizers depending on their sensitivity to various microorganisms.

Key words: photoactivated photosensitizers, porphyrin photolysis products, Radachlorin, antimicrobial therapy

E-mail: ural377@mail.ru

<https://doi.org/10.52775/1810-200X-2024-103-3-92-101>

Введение

В последнее время появились публикации об эффективности применения фотоактивированных ФС в клинической практике для лечения внутрибольничных пневмоний, где они применялись в виде ингаляций с хорошим эффектом. Как известно, подавляющее воздействие фотосенсибилизаторов (ФС) на жизнедеятельность микроорганизмов в присутствии света было показано еще в начале XX века, которое затем получило название фотодинамического эффекта (ФДЭ) [1, 2]. С тех пор не прекращались исследования по изучению механизмов ФДЭ на различных биологических объектах для его использования в клинической практике в виде терапии целого ряда заболеваний – фотодинамической терапии (ФДТ). Появление эффективных антибиотиков ранее не вызывало необходимости в поисках альтернативных методов антимикробной терапии, и исследования

в этой области не имели особой актуальности. Но в дальнейшем была отмечена постепенно возрастающая к создаваемым антибиотикам резистентность патогенных микроорганизмов, особенно их госпитальных штаммов, которая начала превращаться в большую проблему. И если в 1970 гг. только отмечались микроорганизмы, устойчивые к некоторым группам антибиотиков, то в 1990 гг. появились штаммы с устойчивостью к большинству из них [3, 4].

Устойчивость различных бактерий к антибиотикам определяется множеством факторов, связанных с особенностями их генетического аппарата, который для их выживания быстро приспосабливается к неблагоприятным для себя воздействиям как за счет спонтанных, так и за счет индуцируемых мутаций. Приспособление может происходить за счет выработки специальных ферментов, изменения состава клеточной стенки и т.д. [5].

В связи с этим поиск альтернативных способов борьбы с инфекционными заболеваниями приобрел особую актуальность. Способность ФДТ оказывать антимикробное действие определило ее интенсивное развитие в виде антимикробной фотодинамической терапии (АФДТ).

АФДТ основана на селективном накоплении в микробных клетках ФС, видимо за счет их пролиферативной активности и особенностей метаболизма. В одной из первых публикаций в этой области сообщалось о бактерицидном действии ФДЭ на грамположительные, грамотрицательные бактерии и дрожжевые грибы [6]. Была показана и фотоинаktivация некоторых оболочечных вирусов, в том числе и ВИЧ. Фотосенсибилизаторы при поглощении света с длиной волны в спектре их действия приводят к передаче энергии эндогенному кислороду с переводом его в высокоактивную форму – синглетный кислород. Как считается, вследствие этого, а также образующихся при его участии гидроксильных радикалов и перекисей происходит повреждение и гибель микроорганизмов [7]. Следует обратить внимание на то, что выраженное воздействие на биологические объекты оказывает не только генерируемый фотосенсибилизатором синглетный кислород, но и продукты фотолиза самого фотосенсибилизатора. Например, рядом авторов применялись предварительно активированные лазерным излучением мероцианин и фотофрин-II, где была показана их противоопухолевая и противовирусная активность в отношении определенных опухолевых клеток и вирусов при минимальном повреждении в идентичных условиях нормальных клеток и тканей [8–10].

Перекисный характер образующихся промежуточных продуктов таких ФС как порфирины, при генерации синглетного кислорода, как выяснилось позже, обуславливающих их биологическую активность, был подтвержден в работах по фотохемолуминесценции А.А. Красновским с соавт. еще в 1974 г. [11]. Подтверждением выраженного образования продуктов фотолиза порфиринов является снижение флуоресценции ФС, в значительных количествах связанное с их фотомодификацией [12].

Следует отметить, что к антибактериальному действию ФДТ не развивается устойчивости [13, 14]. При правильном подборе параметров АФДТ (площадь облучаемой поверхности, типа фотосенсибилизатора, плотности мощности и длины волны излучения, а также экспозиционной дозы) не наблюдается каких-либо значимых побочных эффектов. Наоборот, заживление на месте поврежденных тканей происходит гораздо быстрее. Все это позволяет применять при необходимости ФДТ многократно. Этого же, повидимому, следует ожидать и при применении фотоактивированных ФС. Однако проведение АФДТ требует дорогостоящей аппаратуры и ограничивается возможностью подведения светового излучения к патологически измененным тканям, тогда как фотоактивированные ФС могут найти свое применение для тех же целей в тех участках организма, которые остаются недоступными для подведения к ним светового излучения. Поэтому, исследования чувствительности различных патогенных микроорганизмов в зависимости от вида ФС, их концентрации и способов фотоактивации являются актуальными.

С нашей точки зрения, наибольший интерес в сфере применения фотоактивированных ФС представляют широко применяемые для ФДТ ФС порфиринового ряда. Известно, что ФС порфиринового ряда сами по себе обладают некоторым антимикробным и цитотоксическим действием – “темновой эффект”. К настоящему времени получены данные о биологической активности фотоактивированных *in vitro* порфиринов, а именно, продуктов их фотолиза, воздействие которых на исследуемые объекты значительно более выражено, чем темновое [15, 16].

Так, в патенте на способ применения ФС, активированного волновой энергией вне организма человека с использованием радахлорина приводятся отдельные клинические примеры его эффективности при различных способах введения: ингаляции при туберкулезе легких, в виде ингаляций и инфузий у онкологических больных и даже при пероральном приеме при псориазе. Авторы для фотоактивации, помимо светового излучения предлагают и другие способы физического воздействия на ФС, в том числе источников радио-, магнитного и ультразвукового излучений [17].

Как нам представляется, механизмы темнового эффекта зависят от химической формулы ФС, объекта исследования, условий проведения эксперимента и до конца не выяснены.

А.В. Решетников в 2007 г. отмечает, что при облучении порфиринов хлоринового ряда (радахлорин) образуются долгоживущие перекиси как самого препарата, так и его субстратов. Время жизни этих перекисей, по данным

хемилюминесценции, составляет от минут до десятков часов. Перекиси сохраняют способность к накоплению в патологических очагах и переносят атом кислорода (либо электрон) на биомолекулы патологически измененных клеток или микроорганизмов. Вследствие этого, по его мнению, клетки становятся узнаваемыми для иммунной системы организма. При этом повышается уровень иммунитета в целом. Им же предложен термин для подобного способа лечения – фотоиммунотерапия, как новое направление фотодинамической терапии [18].

Было установлено, что продукты фотолиза производного гематопорфирина при его облучении в полосе Соре приводили к подавлению роста музейных штаммов *E. coli*, *S. enteritidis*, *E. faecalis*, *S. aureus* in vitro в концентрациях, не обладающих темновым эффектом [19]. Также было отмечено подавляющее действие фотоактивированного в полосе Соре хлорофилл-содержащего фотосенсибилизатора на музейные штаммы *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* [20].

Ранее нами показано, что фотоактивированный излучением с $\lambda \approx 662$ нм и $\lambda \approx 405$ нм фотосенсибилизатор радахлорин может применяться для лечения внутрибольничных пневмоний в виде ингаляций, где он проявил свою эффективность по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus Coagulase Negative group* (грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов) при отсутствии нежелательных побочных эффектов.

Однако, наблюдаемые при этом клинические эффекты, а именно снижение (вплоть до полной элиминации) высеваемых у пациентов микроорганизмов, выраженное при посевах в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ), снижение С-реактивного белка и прокальцитонина по сравнению с контрольной группой, могут быть объяснены различными причинами. Например, как непосредственным антимикробным эффектом ингаляций фотоактивированного ФС, так и каким-либо воздействием ФС на клеточную стенку и метаболизм патогенной флоры, обеспечивающим снижение устойчивости к применяемым в виде фоновой терапии антибиотикам, а также иммуномодулирующим эффектом. При этом наибольший эффект оказывал ФС, активированный излучением с $\lambda \approx 405$ нм (полоса Соре), что повидимому связано с большей энергией кванта и, соответственно, с большим обра-

зованием активных фотопродуктов, чем при облучении в красном диапазоне спектра [21, 22]. Поэтому нами проведены дальнейшие исследования чувствительности различных микроорганизмов к фотоактивированному ФС в зависимости от вида ФС, его концентрации, количества, а также с попыткой выяснения продолжительности сохранения его активности и наличия темнового эффекта.

Материал и методы

Установка для облучения ФС, изготовленная по нашему техническому заданию ООО “Новые хирургические технологии” (Москва), состоит из блока питания и кольцевидных светодиодов, в которых устанавливается нужный ограничительный ток; номинальные токи соответствуют плотности мощности 420–480 мВт/см² при включении кольца светодиодов; в устройстве используются 12 светодиодов с длиной волны ~ 405 нм номинальной мощностью 450 мВт. В кольцо из светодиодов помещаются стеклянные пробирки с фотосенсибилизатором. Фотография установки представлена на рис. 1.



Рис. 1. Установка для облучения фотосенсибилизатора

ФС радахлорин производства ООО «РАДА-ФАРМА» (Москва) во флаконах по 10 мл 0,35 %. Питательные среды на основе агара Мюллер–Хинтон в чашках Петри. Бактериальные культуры, высеянные от 27 госпитальных больных с различными инфекционными заболеваниями. Радахлорин в количестве 4,0 мл в 3 пробирках облучали в течении 15 мин. Исходный раствор радахлорина составлял 35 мг в 10 мл раствора. В пробирки для фотоактивации отбирались по 4 мл р-ров: фотоактивированный исходный радахлорин (14 мг в 4 мл р-ра); фотоактивированный разбавленный физ. р-ром (1:10) радахлорин (0,14 мг в 4 мл физ. р-ра); фотоактивированный разбавленный физ. р-ром (1:20) «Радахлорин» (0,044 мг в 4 мл физ. р-ра). В тех же концентрациях контролем являлись необлученный радахлорин; необлученный разбавленный физ. р-ром (1:10) радахлорин; необлученный разбавленный физ. р-ром (1:20) радахлорин; не облученный исходный радахлорин.

Затем ФС наносили в количестве 10 и 50 мкл на высеянные колонии бактерий в чашках Петри непосредственно после облучения и через 24 часа. Посевы инкубировались в термостате при 37°C. Метод, которым мы пользовались в исследовании, аналогичен методу определения чувствительности микроорганизмов к бактериофагам. Из отобранных культур готовился инокулюм 0,5 по МакФарланду, который засеивался газоном на среду Мюллер–Хинтона. Как и в случае с бактериофагами, оценивалась зона непосредственного взаимодействия препарата и культуры. Результаты учитывались через 24 часа после инкубации. Зона полного лизиса культуры (зона полного просветления) интерпретировалась как чувствительная. Результат считался резистентным, если зона лизиса отсутствовала.

Всего исследовано 20 видов микроорганизмов. Эксперимент проводился неоднократно, в том числе для одних и тех же возбудителей, высеянных от разных больных с инфекционными заболеваниями для определения к ФС чувствительности штаммов одного и того же вида.

Результаты

При добавлении облученного ФС непосредственно после облучения чувствительными к фотоактивированному ФС в данных раз-

ведениях и количествах оказались грамположительные микроорганизмы, где наблюдался бактерицидный эффект: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* и грибы: *Candida spp*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida non albicans*. К некоторым штаммам ФС добавлялся через 24 часа после облучения для выяснения времени сохранения его активности, где чувствительность сохранялась. К *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis* его активность сохранялась.

Резистентными оказались грамотрицательные микроорганизмы: *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli ESBL*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae CRS*, *Morganella morgani*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa CRS*, *Acinetobacter lwoffii* и один грамположительный – *Streptococcus agalactia*.

Эффективность бактерицидного действия в обоих случаях зависела от концентрации и количества препарата. Однако в экспериментах, проведенных через 24 часа, эта зависимость была наиболее выраженной, что говорит о некотором снижении активности продуктов фотолиза ФС с течением времени.

В контроле исследуемые штаммы, как правило, оставались резистентными, за исключением некоторых случаев, когда те же штаммы, но высеянные от других пациентов, проявляли свою чувствительность к необлученному ФС. Это говорит о наличии темного эффекта фотосенсибилизатора. Полученные результаты представлены в табл. 1, 2 и проиллюстрированы на рис. 2.

Обсуждение

Таким образом, на основе полученных результатов можно констатировать, что фотоактивированный данным способом препарат радахлорин, как и другие порфирины, обладает антимикробным и антимикотическим действием. При данном способе постановки эксперимента, *in vitro*, в очень небольшой концентрации и в минимальных количествах он оказался весьма эффективным в отношении большинства исследуемых грамположительных бактерий и грибов, и не эффективным в отношении грамотрицательных бактерий, где бактерицидный эффект не проявлялся. Причем

Таблица 1

Результаты определения чувствительности различных микроорганизмов к фотосенсибилизатору при нанесении на культуры непосредственно после фотоактивации

№	Культура	№ 1		№ 2		№ 3		№ 4		№ 5		№ 6	
		10 МКЛ	50 МКЛ	10 МКЛ	50 МКЛ	10 МКЛ	50 МКЛ	10 МКЛ	50 МКЛ	10 МКЛ	50 МКЛ	10 МКЛ	50 МКЛ
1	Acinetobacter baumannii	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	Escherichia coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	Escherichia coli ESBL	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	Klebsiella pneumoniae	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
5	Klebsiella pneumoniae CRS	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	Morganella morgani	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
7	Proteus mirabilis	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
8	Pseudomonas aeruginosa	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	Pseudomonas aeruginosa CRS	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	Acinetobacter lwoffii	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
11	Streptococcus agalactia	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	Candid spp	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
13	Candida albicans	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
14	Candida krusei	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
15	Candida non albicans	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
16	Enterococcus faecalis	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
17.1	Staphylococcus aureus	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
17.2	Staphylococcus aureus	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
17.3	Staphylococcus aureus	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17.4	Staphylococcus aureus	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S
17.5	Staphylococcus aureus	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	S	S
18.1	Staphylococcus epidermidis	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
18.2	Staphylococcus epidermidis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18.3	Staphylococcus epidermidis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
19	Streptococcus pneumoniae	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	Streptococcus pyogenes	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Примечание: см. табл. 2

активность препарата сохранялась, по меньшей мере, до 24 часов с некоторым ослаблением в течение времени. Следует отметить, что в цитируемых выше работах установлено, что фотоактивированный радахлорин при применении в клинической практике проявляет свое антимикробное действие и против грамотрицательных микроорганизмов в разведениях 1:20, которое использовалось в данном эксперименте. По-видимому, это обусловлено способом его применения (в виде ингаляций при

внутрибольничных пневмониях) и его количеством (1–2 раза в день, 5 мл на процедуру в течении 3 дней).

Воздействие продуктов фотолиза различных фотосенсибилизаторов порфиринового ряда на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы *in vitro* отмечено и в других цитируемых работах, при этом оно было более выражено в отношении грамположительных. Рядом авторов наблюдался и темновой эффект (порфирины без фотоактивации), кото-

Таблица 2

Результаты определения чувствительности различных микроорганизмов к фотосенсибилизатору при нанесении на культуры через 24 часа после фотоактивации

№	Культура	№ 1		№ 2		№ 3		№ 4		№ 5		№ 6	
		10 мкл	50 мкл	10 мкл	50 мкл	10 мкл	50 мкл	10 мкл	50 мкл	10 мкл	50 мкл	10 мкл	50 мкл
1	<i>Candida albicans</i>	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	<i>Candida krusei</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	<i>Candida non albicans</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	<i>Candid spp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	S	S
6.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Примечание:

R – резистентный штамм; S – чувствительный штамм

1-10 грамотрицательные микроорганизмы, 11-20 грамположительные микроорганизмы

№ 1 Фотоактивированный исходный радахлорин (14 мг в 4 мл р-ра)

№ 2 Фотоактивированный разбавленный физ. р-ром (1:10) радахлорин (0,14 мг в 4 мл физ. р-ра)

№ 3 Фотоактивированный разбавленный физ. р-ром (1:20) радахлорин (0,044 мг в 4 мл физ. р-ра)

В тех же концентрациях контролем являлся не облученный радахлорин

Контроль:

№ 4 Не облученный разбавленный физ. р-ром (1:10) радахлорин

№ 5 Не облученный разбавленный физ. р-ром (1:20) радахлорин

№ 6 Не облученный исходный радахлорин

рый также был значительно слабее. Следует отметить, что определение наличия у ФС темного эффекта в эксперименте, для его сравнения с фотоактивированными порфиринами, требует тщательного соблюдения ряда условий. Так, нами отмечено, что даже без предварительного облучения ФС при пребывании его в условиях естественного освещения в течение некоторого времени, может происходить его активация. Однако механизмы воздействия как облученных, так и не облученных порфиринов на клетки, причем не только на микробные, до сих пор окончательно не изучены. Фотоактивация порфиринов значительно усиливает их воздействие на биологические объекты за счет увеличения химической активности ФС. При этом их токсичность зависит от химической формулы, концентрации, количества, способа фотоактивации, доставки к исследуемым объектам и условий проведения эксперимента (исходное состояние объекта).

Вопрос о том, почему различные штаммы микроорганизмов одного и того же вида имели различную устойчивость к ФС, остается открытым. И этот факт нуждается в дальнейшем изучении.

Если вообще говорить о чувствительности микроорганизмов к фотосенсибилизаторам, то стоит также обратить внимание на следующие факты. Так, казалось бы, обитающие в организме у животных и человека порфиринообразующие бактерии, не только имеют, естественно, устойчивость к порфиринам, но и их продуцируют. Возникает вопрос: для чего? По нашему мнению, они могут продуцировать порфирины для подавления конкурирующих с ними микроорганизмов, а для человека и животных являющихся патогенными или условно-патогенными и находясь с организмом в симбиотических отношениях. Возможно, виды этих бактерий, как и другие виды симбиотов, участвуют таким образом в сохранении нормального микробиоценоза и обеспечивают им-

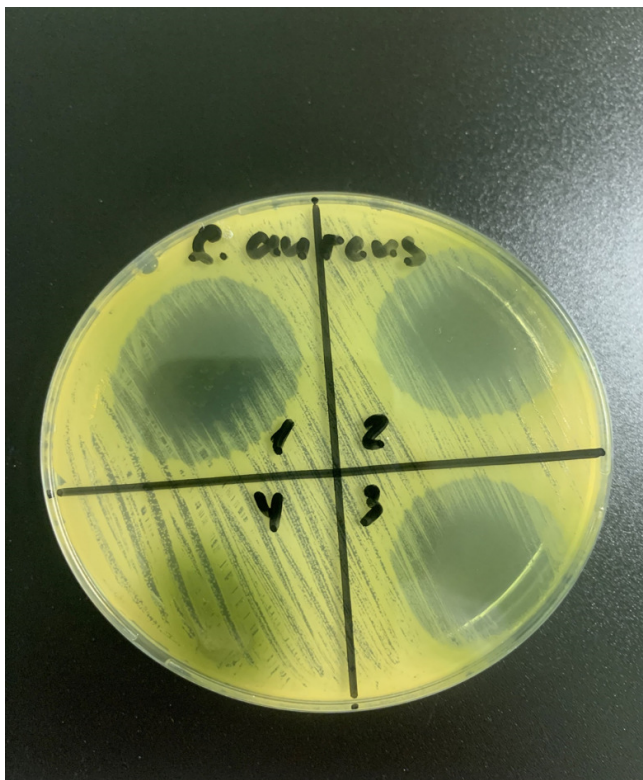


Рис. 2. Чувствительность культуры *S. aureus* к фотосенсибилизатору. 1-й сектор – бактерицидный эффект, отсутствие роста *S. aureus* (чувствительная культура), при нанесении 10 мкл фотоактивированного радахлорина (исходный раствор); 2-й сектор – бактерицидный эффект, отсутствие роста *S. aureus* (чувствительная культура), при нанесении 10 мкл фотоактивированного радахлорина (разведение 1:10); 3-й сектор – бактерицидный эффект, отсутствие роста *S. aureus* (чувствительная культура), при нанесении 10 мкл фотоактивированного радахлорина (разведение 1:20); 4-й сектор – рост культуры (отсутствие чувствительности) при нанесении 10 мкл исходного р-ра необлученного радахлорина

мунную защиту организма-хозяина. Представляет большой интерес изучение причин такой устойчивости.

Мы полагаем, что в дальнейшем этот метод лечения нуждается в углубленном изучении механизмов его реализации и способов применения в виде подбора наиболее эффективных и экономически выгодных при производстве фотосенсибилизаторов, обладающих низкой токсичностью к здоровым клеткам и высокой к патологически измененным и пато-

генным микроорганизмам. Это позволит открыть новую страницу в клиническом подходе к успешному лечению целого ряда заболеваний.

Выводы

Таким образом, полученные результаты и литературные данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Продукты фотолиза радахлорина, даже в минимальных количествах, обладают антимикробной и антимикотической активностью. Вопрос о механизмах их иммуномодулирующего эффекта и влияния на антибиотикорезистентность остается открытым и нуждается в дальнейшем изучении.
2. Эффективность зависит от количества, концентрации фотоактивированного фотосенсибилизатора, от его химической структуры, способов фотоактивации и методики применения.
3. Фотоактивированный ФС может сохранять свою активность, по меньшей мере, до 24 часов, но она постепенно уменьшается.
4. Основываясь на клинических данных, предполагаем, что антимикробное действие облученного радахлорина может распространяться не только на грамположительные микроорганизмы, но и грамотрицательные, при увеличении количества, концентрации данного ФС, способа его фотоактивации и применения.
5. Применение фотоактивированных ФС возможно в виде ингаляций, аппликаций и введения в различные полости организма, вплоть до внутривенного.
6. Необходимо дальнейшее проведение исследований в этом направлении с целью подбора наиболее эффективных ФС, оптимальных способов фотоактивации и их применения при различных заболеваниях.

Список литературы

1. Raab O. Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien Biol. 1900; 39: 524-9.
2. Tappeiner H v, Jesionek A. Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen. Muench Med Wochenschr 1903; 50: 2042-4.
3. Березняков И.Г., Страшный В.В. Антибактериальные средства: стратегия клиниче-

- ского применения. Харьков: Константа. 1997; 1-200.
- Berezhnyakov I.G., Strashny V.V. Antibacterial agents: strategy of clinical application. Kharkov: Konstanta. 1997; 1-200 (In Russ.).
4. Страчунский Л.С. Состояние антибиотикорезистентности в России. Клиническая фармакология и терапия. 2000; 9 (2): 6-9. Strachunsky L.S. State of antibiotic resistance in Russia. Clinical pharmacology and therapy. 2000; 9 (2): 6-9 (In Russ.).
 5. Рейзис А.Р. Госпитальные инфекции в современной медицине. М: Руди-Барс 1993; 8-20. Reisis A.R. Hospital infections in modern medicine. M: Rudy-Bars 1993; 8-20. (In Russ.).
 6. Malik Z, Hanania J, Nitzan Y. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins - an alternative approach to antimicrobial drugs. J Photochem Photobiol B. 1990 May; 5 (3-4): 281-93. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(90\)85044-w](https://doi.org/10.1016/1011-1344(90)85044-w).
 7. Баранов А.В., Цыганова Г.И., Пименова Л.Я., Картусова Л.Н. Состояние научных исследований в области фотодинамической терапии в Российской Федерации в 2016-2017 гг. Лазерная медицина. 2018; 22 (3): 44-9. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2018-22-3-44-49>.
Baranov A.V., Ziganova G.I., Pimenova L.Ya., Kartusova L.N. State-of-art of researches on photodynamic therapy in the Russian Federation in 2016-2017. Laser Medicine. 2018; 22 (3): 44-9. (In Russ.).
 8. Gulliya KS, Chanh T, Harriman A, Aronoff BL, Matthews JL. Preactivation: a new concept for generation of photoproducts for potential therapeutic applications. Semin Surg Oncol. 1992 Jul-Aug; 8 (4): 250-3. <https://doi.org/10.1002/ssu.2980080411>.
 9. Tran CC, Allan JS, Pervaiz S, Matthews JL, Trevino SR, Gulliya KS. Preactivated merocyanine 540 inactivates HIV-1 and SIV: potential therapeutic and blood banking applications. J Acquir Immune Defic Syndr (1988). 1992; 5 (2): 188-95.
 10. Pervaiz S. Reactive oxygen-dependent production of novel photochemotherapeutic agents. FASEB J. 2001 Mar; 15 (3): 612-7. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0555rev>.
 11. Красновский А.А. мл., Шапошникова М.Г. Фотохемилюминесценция хлорофилла в водных растворах детергента. Молекулярная биология. 1974 Сентябрь-октябрь; 8 (5): 666-75.
Krasnovsky A.A. Jr., Shaposhnikova M.G. The photochemiluminescence of chlorophyll in aqueous solutions of detergents. Mol Biol. 1974 Sep-Oct; 8 (5): 666-75. (In Russ.).
 12. Алексеев Ю.В., Лихачева Е.В., Терешкин Д.В., Пономарев Г.В., Мазур Е.М. Подбор эффективных фотосенсибилизаторов для лечения заболеваний ЛОР-органов на основе изучения их накопления в патологически измененных тканях. Биомедицинская химия. 2012; 58: 112-20. <https://doi.org/10.18097/PBMC20125801112>.
Alekseev YuV, Likhacheva EV, Tereshkin DV, Ponomarev GV, Mazur EM. Effective photosensibilizer selection for E.N.T.-organ diseases treatment, based on their accumulation in pathologically changed tissues. Biomed Chem. 2012 Jan-Feb; 58 (1): 112-20. (In Russ.).
 13. Biel MA. Photodynamic therapy of bacterial and fungal biofilm infections. Methods Mol Biol. 2010; 635: 175-94. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-697-9_13. PMID: 20552348.
 14. Huang L, Dai T, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation and photodynamic therapy for infections. Methods Mol Biol. 2010; 635: 155-73. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-697-9_12.
 15. Беличенко И.В. Цитотоксические и иммуномодулирующие эффекты продуктов фотолиза псоралена и порфиринов. Автореф. дис. канд. биол. наук. Москва, 1996.
Belichenko I.V. Cytotoxic and immunomodulatory effects of psoralen and porphyrins photolysis products. Res. Dis. PhD Biol. Moscow, 1996. (In Russ.).
 16. Мансурова Г.В. Скрининг гемолитической и иммуносупрессивной активности фотосенсибилизаторов порфиринового ряда. Автореф. дис. канд. биол. наук, Москва, 2007.
Mansurova G.V. Screening of hemolytic and immunosuppressive activity of photosensitizers of porphyrin series. Res. Dis. PhD Biol, Moscow. 2007. (In Russ.).
 17. Патент № RU 2345803 С2. Способ фототерапии фотосенсибилизатором, активируемым волновой энергией вне организма человека: № 2006142366/14; заявл. 30.11.2006; опубл. 10.02.2009 / Н.Е. Васильев, А.В. Решетников, И.Д. Залевский, С.Е. Гончаров; заявитель, патентобладатель ЗАО "Исследовательские лаборатории "РАДА-ФАРМА" – 21 с.

- Patent No. RU 2345803 C2. Method of photoimmunotherapy with photosensitizer activated by wave energy outside the human body: No. 2006142366/14; avt. 30.11.2006; published 10.02.2009 / N.E. Vasiliev, A.V. Reshetnikov, I.D. Zalevsky, S. E. Goncharov; applicant, patentee CJSC "Research Laboratories 'RADA-FARMA' - 21 p. (In Russ.).
18. Решетников А.В. Фотоиммунотерапия (ФИТ) как направление фотодинамической терапии (ФДТ). Успехи современного естествознания. 2007; 6: 93-9.
Reshetnikov A.V. Photoimmunotherapy (FIT) as a direction of photodynamic therapy (PDT). Achievements of Modern Natural Science. 2007; 6: 93-9. (In Russ.).
19. Алексеев Ю.В., Давыдов Е.В., Пономарев Г.В., Шленский В.Ю., Иванов А.В. Перспективы применения продуктов фотолиза 2,4-ди(1-метоксиэтил)-дейтеропорфирина-IX (Димегина) в клинической практике. Российский биотерапевтический журнал. 2016; 15 (1): 6-9.
Alekseev Y.V., Davydov E.V., Ponomarev G.V., Shlensky V.Y., Ivanov A.V. Prospects for the application of photolysis products of 2,4-di(1-methoxyethyl)-deuteroporphyrin-IX (Dimegin) in clinical practice. Russian Journal of Biotherapy. 2016; 15 (1): 6-9. (In Russ.).
20. Артемова О.А. Лазерные технологии в стоматологии. Медицинская физика. 2023; (2): 24-5.
Artemova O.A. Laser technologies in stomatology. Medical Physics. 2023; (2): 24-5. (In Russ.).
21. Алексеев Ю.В., Ширяев В.С., Баранов А.В., Хосровян А.М., Бабушкин В.Ю. Применение продуктов фотолиза фотосенсибилизатора хлоринового ряда для лечения внутрибольничных пневмоний. Лазерная медицина. 2023; 27(1): 16-22. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2023-27-1-16-22>.
Alekseev Yu.V., Shiriaev V.S., Baranov A.V., Khosrovyan A.M., Babushkin V.Yu. Chlorin photosensitizer photolysis products for treating hospital-acquired pneumonia. Laser Medicine. 2023; 27 (1): 16-22. (In Russ.).
22. Алексеев Ю.В., Ширяев В.С., Хосровян А.М., Миславский О.В., Максимцева Е.А. Применение фотоактивированного излучением фотосенсибилизатора хлоринового ряда для лечения внутрибольничных пневмоний. Медицинская физика. 2024; (2): 9-11.
Alekseev Yu.V., Shiryaev V.S., Khosrovyan A.M., Mislavsky O.V., Maksimtseva E.A. Application of photoactivated by radiation photosensitizer of chlorine series for treatment of nosocomial pneumonias. Medical Physics. 2024; (2): 9-11. (In Russ.).