

Фотодинамическое воздействие излучения с длиной волны 405 нм на клетки микроорганизмов при их сенсibilизации металлопорфириновыми соединениями

М.В.Корченлова, Е.С.Тучина, В.Ю.Швайко, А.Г.Гюльханданян, А.А.Закоян, Р.К.Казарян, Г.В.Гюльханданян, Б.М.Джагаров, В.В.Тучин

Изучалась фотодинамическая активность фотосенсибилизаторов на основе металлопорфиринов. Созданы и охарактеризованы новые металлопорфириновые соединения, проанализированы квантовые выходы образования синглетного кислорода. Показано, что использование металлопорфиринов с ионами Zn и бутилового радикала в 3-м и 4-м положениях пиридинового кольца при фотодинамическом воздействии эффективно уменьшает (на 90%–99%) численность условно-патогенных бактерий, таких как Staphylococcus aureus (антибиотико-чувствительный и антибиотико-устойчивый штаммы), Staphylococcus simulans, Escherichia coli.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, излучение с длиной волны 405 нм, микроорганизмы, S. aureus, S. simulans, E. coli, металлопорфирины.

1. Введение

Вот уже два десятилетия метод фотодинамической терапии (ФДТ) находит широкое применение как в лечении ряда заболеваний онкологической и бактериальной природы, так и для профилактики и коррекции физиологических изменений в организме человека. Фотодинамическая терапия основана на фотохимической реакции, катализатором которой является кислород, активированный оптическим излучением с определенной длиной волны и фотосенсибилизатором [1–10].

Фиолетовое излучение (405–415 нм) активизирует эндогенные или экзогенные фотосенсибилизаторы и включает их в фотохимическую реакцию. Из-за неглубокого проникновения излучения в ткани (менее 1 мм) [4] фиолетовое излучение в основном применяется в дерматологии, стоматологии и офтальмологии [5–7]. Для ФДТ используются как лазерные, так и нелазерные источники света; в последние годы благодаря высокой эффективности и сравнительно малой стоимости широко применяются диодные лазеры и светодиоды, линейки и решетки на их основе. В ряде случаев лазерные источники имеют существенные преимущества, обусловленные их высокой

яркостью, монохроматичностью (при условии совпадения максимума полосы поглощения фотосенсибилизатора с длиной волны лазера) и возможностью эффективной доставки излучения к внутренним органам с помощью световодов. Для ряда задач, например для подавления бактериальной флоры на больших поверхностях (кожа, раневые поверхности, операционное поле и пр.), светодиодные источники оказываются оптимальными.

Эффективность фиолетового света значительно усиливается при использовании экзогенных фотосенсибилизаторов, включая порфириновые соединения и индуцируемый в ткани протопорфирин IX в случае местного применения аминолевулиновой кислоты (АЛК), которые за счет сильного поглощения в области 405–415 нм обеспечивают примерно в 40 раз большую эффективность действия этих длин волн по сравнению с обычно используемым красным излучением на $\lambda = 630$ нм [8–10].

Одними из первых веществ, фотосенсибилизирующая природа которых проявилась под влиянием излучения УФ и фиолетового спектров, являются порфириновые соединения. Порфирины (ПФ) широко распространены в живой природе и необходимы для оптимального протекания основных биологических процессов, таких как фотосинтез, клеточное дыхание и обмен веществ. Поэтому интерес к их изучению, несмотря на долгие годы исследований, только усиливается [11, 12].

Таким образом, целью настоящего исследования стала оценка чувствительности грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов к фотодинамическому воздействию фиолетового (405 нм) светодиодного излучения при их сенсibilизации катионными порфиринами и металлопорфиринами.

2. Материалы и методы

Катионные порфирины и металлопорфирины были химически синтезированы в Ереванском государственном медицинском университете (Армения). Методика синтеза, описанная ранее в [13, 14], позволяет получать

М.В.Корченлова, Е.С.Тучина, В.Ю.Швайко. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: kliany@gambler.ru

А.Г.Гюльханданян, А.А.Закоян, Г.В.Гюльханданян. Институт биохимии им. Г.Х.Бунниатяна НАН Армении, Армения, 10014 Ереван, ул. Севака, 5/1

Р.К.Казарян. Ереванский государственный медицинский университет им. Мхитаря Гераца, Армения, 0025 Ереван, ул. Корюна, 2

Б.М.Джагаров. Институт физики им. Б.И.Степанова НАНБ, Белоруссия, 22072 Минск, просп. Независимости, 70

В.В.Тучин. Научно-образовательный институт оптики и биофотоники СГУ им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Томский государственный университет, Россия, 634050 Томск, ул. Ленина, 36; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая 24; e-mail: tuchin@sgu.ru

Поступила в редакцию 21 апреля 2016 г.

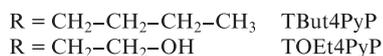
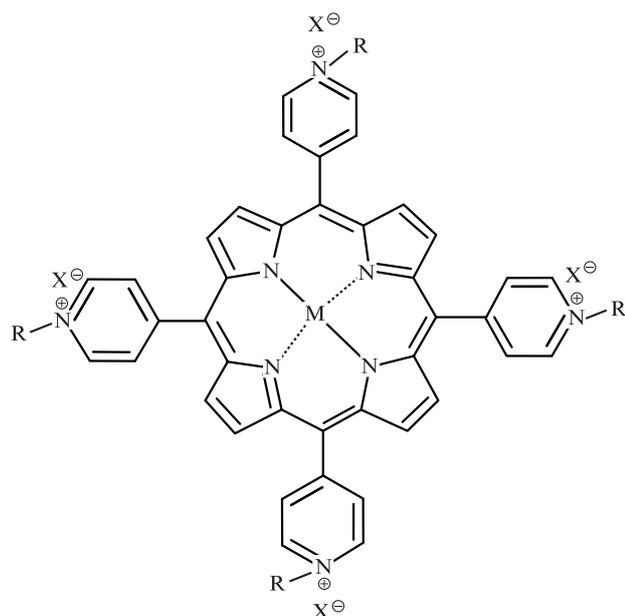


Рис.1. Новые катионные порфирины и металлопорфирины с различными периферическими группами (-R) в 4-м положении пиридинового кольца; М – металл; X – галоген, R – радикал; TBut4PyP – мезо-тетра[4-N-бутилпиридил]порфирин; TOEt4PyP – мезо-тетра[4-N-(2-оксиэтил)пиридил]порфирин.

соединения, в которых активные гидроксиэтил- и бутилпериферические группы (-R) связываются в 3-м или 4-м положении пиридинового кольца и имеют разную степень гидрофобности (рис.1, табл.1). Все исследованные порфирины обладают высокими квантовыми выходами образования синглетного кислорода (~80%) при уровне собственной флуоресценции в несколько процентов [15]. Квантовый выход образования синглетного кислорода γ_{Δ} регистрировали в водных растворах при 20°C (табл.1).

Спектры поглощения регистрировались на спектрофотометре MC122 (Proscan, Белоруссия). Все исследуемые порфирины имели максимальное поглощение в фиолетово-синей области спектра. На рис.2 приведен спектр поглощения порфирина TOEt4PyP как наиболее характерный. Остальные исследуемые порфириновые соединения имели аналогичные по форме спектры. Длины волн максимумов поглощения λ_{\max} в области полосы Soret (400–440 нм) исследуемых порфиринов и значения поглощения в относительных единицах на этих длинах волн и на $\lambda = 405$ нм приведены в табл.1. Отметим, что менее выраженные пики поглощения регистрируются в зелено-

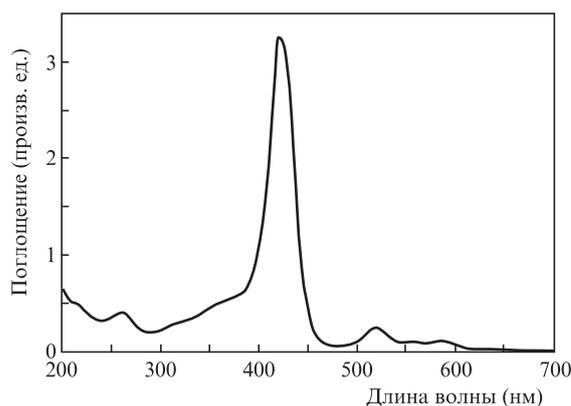


Рис.2. Оптический спектр поглощения раствора порфирина TOEt4PyP в дистиллированной воде; [C] = 2×10^{-5} М.

желтой (525–570 нм) и в красной (630–640 нм) областях спектра (рис.2).

В качестве исследуемых микроорганизмов были выбраны метициллин-чувствительный штамм *S. aureus* 209P (MSSA), метициллин-устойчивый *S. aureus* (MRSA), *E. coli* 113-13 и *S. simulans* (ГИСК им. Л.А.Тарасевича, Москва). Микроорганизмы выращивали при температуре 37°C на ГРМ-агаре (Оболонск, Россия).

Источником излучения служил светодиодный источник света (СДИС) с максимумом спектра на $\lambda = 405 \pm 15$ нм и плотностью мощности излучения 47 мВт/см². Во всех экспериментах режим излучения был непрерывным, время облучения варьировали от 5 до 30 мин.

Порфириновые соединения использовали в концентрациях 0.01 и 0.1 мкг/мл при растворении в физиологическом растворе. При проведении экспериментов следовали ранее разработанному протоколу (рис.3) [10]. Для создания асептических условий полистирольный 96-луночный планшет помещали в пластиковый корпус, источник света располагали над ячейками планшета. При постановке опытов использовали суточные культуры исследуемых штаммов. Бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе; конечная концентрация составляла 5 тыс. микробных клеток (м.к.) на 1 мл. Из взвеси с концентрацией 10^4 м.к./мл отбирали 0.1 мл и вносили в 0.9 мл раствора порфирина. Затем полученную смесь инкубировали без доступа света в течение 15 мин и из этого разведения с концентрацией 10^3 м.к./мл в ячейки планшета вносили бактериальную взвесь в объеме 0.1 мл, которую облучали в течение 5, 10, 15 и 30 мин.

После облучения взвесь бактерий переносили на чашки Петри с плотной питательной средой и инкубировали в термостате при температуре 37°C. Учет результатов

Табл.1. Используемые в работе порфириновые соединения; [C] = 2×10^{-5} М.

Порфирин	Наименование порфирина	Мол. масса (Да)	λ_{\max} (нм)	Поглощение (отн. ед.)		γ_{Δ} (%)
				$\lambda = \lambda_{\max}$	$\lambda = 405$ нм	
ПФ I	Мезо-тетра[4-N-(2-оксиэтил) пиридил]порфирин (TOEt4PyP)	940	421	3.53	1.41	77
ПФ II	Цинк мезо-тетра[4-N-(2-оксиэтил)пиридил] порфирин (Zn-TOEt4PyP)	1003	~440	2.89	0.52	85
ПФ III	Цинк мезо-тетра(4-N-бутилпиридил)порфирин (Zn-TBut4PyP)	1229	437	3.09	0.52	97
ПФ IV	Цинк мезо-тетра(3-N-бутилпиридил)порфирин (Zn-TBut3PyP)	1229	431	3.33	0.66	97

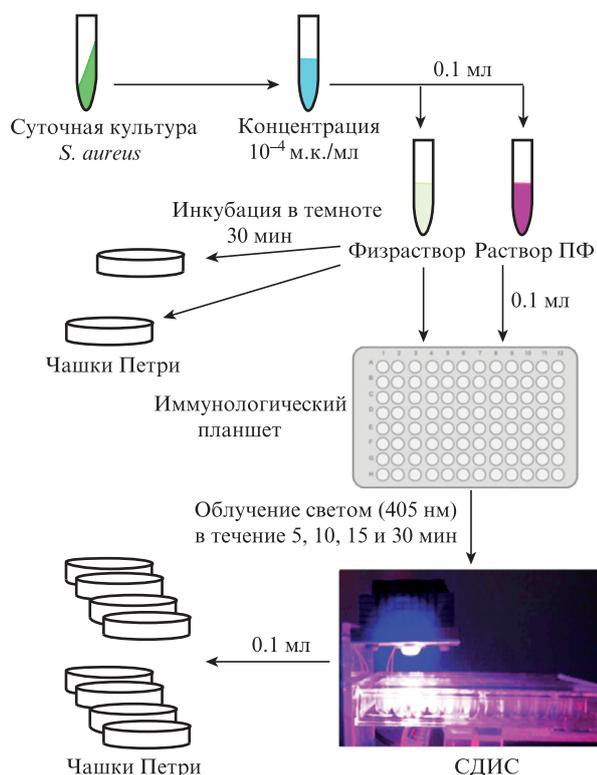


Рис.3. Схема проведения экспериментов по фотодинамическому воздействию светодиодного излучения ($\lambda = 405$ нм) на микроорганизмы, сенсibilизированные порфириновыми соединениями.

проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24 ч. Контролем служили взвеси бактерий, не обработанные порфиринами и не подвергнутые облучению. Каждый эксперимент повторяли пять раз. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Microsoft Excel 2010.

3. Результаты исследований и их обсуждение

Проверка порфириновых соединений на темновую токсичность (рис.4) показала, что обработка клеток антибиотико-чувствительного штамма *S. aureus* MS порфиринами с концентрацией 1% вызывала снижение числа КОЕ в среднем на 35%. Обработка клеток порфиринами с более низкими концентрациями (0.1%, 0.01% и 0.001%) не приводила к достоверному сокращению численности бактерий.

Сходные результаты были получены при оценке темновой токсичности порфиринов для устойчивого к антибиотикам штамма *S. aureus* MS и сапрофитного *S. simulans*.

В случае *E. coli* обработка клеток порфиринами с концентрацией 1% вызывала снижение числа КОЕ в среднем на 65%. Статистически значимых отличий от контрольных значений в изменении численности бактериальных популяций после обработка порфиринами с концентрациями 0.1%, 0.01% и 0.001% выявлено не было.

Исходя из полученных данных, для дальнейших экспериментов по фотодинамическому воздействию были выбраны концентрации порфиринов 0.01% и 0.1%, которые не оказывали токсического влияние на бактериальные клетки в отсутствие воздействия света.

На следующем этапе работы было установлено, что излучение СДИС (405 нм) незначительно подавляло рост большинства исследуемых микроорганизмов (рис.5).

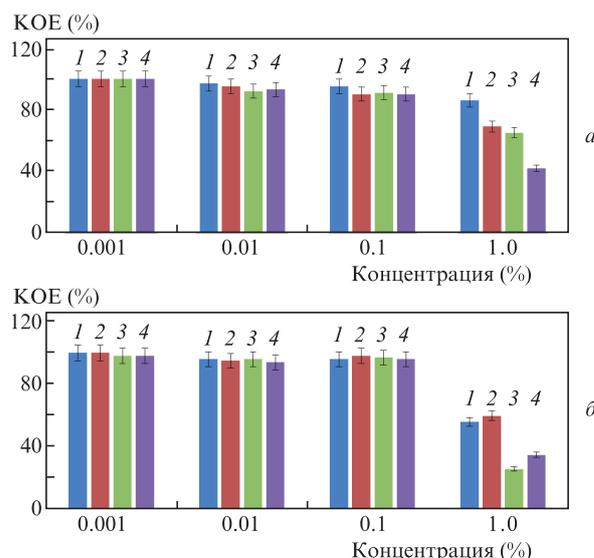


Рис.4. Влияние различных концентраций порфириновых соединений ПФИ (1), ПФП (2), ПФП (3) и ПФИВ (4) на численность микроорганизмов *S. aureus* MS (а) и *E. coli* (б).

В случае метициллин-чувствительного *S. aureus* MS достоверное снижение числа КОЕ на 19% отмечено после 10 мин облучения, на 49% – после 30 мин. Действие синего света на метициллин-устойчивый штамм *S. aureus* MR носило сходный характер. На кишечную палочку синий свет действовал еще слабее: в первые 10 мин достоверного изменения численности микроорганизма не происходило. При увеличении времени облучения с 15 до 30 мин численность бактериальных популяций *E. coli* снижалась на 11% и 40% соответственно. Интересно, что при облучении клеток *S. simulans* наблюдали статистически значимое снижение количества бактериальных колоний. Уже после 5 мин облучения число КОЕ уменьшалось на 33%, через 10 мин – на 62%, а с увеличением времени облучения до 15 мин рост микроорганизмов практически полностью подавлялся. Чувствительность бактерий к синему свету обусловлена наличием эндогенных хромофоров, в основном порфиринов [3,12,16–23]. При этом известно, что клетки стафилококков ввиду особенностей среды обитания и эволюции факторов устойчивости содержат большее количество данных соединений, чем энтеробактерии [3, 12].

Обработка микроорганизмов порфириновыми соединениями значительно усиливала угнетающее действие излучения на длине волны 405 нм. Исследование действия

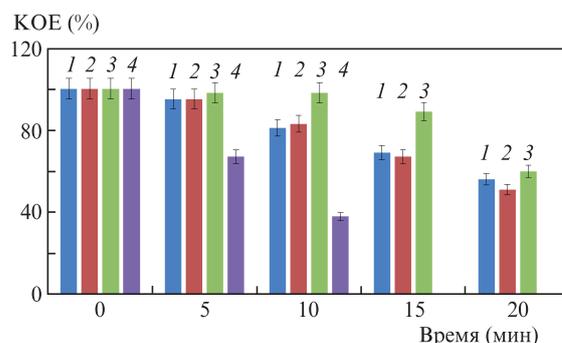


Рис.5. Влияние времени облучения ($\lambda = 405$ нм) на жизнеспособность микроорганизмов *S. aureus* MS (1), *S. aureus* MR (2), *E. coli* (3) и *S. simulans* (4).

металлопорфиринов в концентрации 0.01% на *S. aureus* дало следующие результаты. Облучение чувствительного к антибиотику стафилококка MSSA в течение 5 мин после обработки четырьмя видами порфиринов (ТОEt4PyP, Zn-ТОEt4PyP, Zn-TBut4PyP, Zn-TBut3PyP) приводило к незначительному снижению численности бактериальной популяции – менее $0.8 \log_{10}$ (на 11%, 25%, 81% и 87%). Увеличение времени облучения с 10 до 30 мин снижало число КОЕ на $2.9 \log_{10}$ (на 60%–99%) (рис.6,а).

В ходе обработки метициллин-чувствительного стафилококка порфириновыми соединениями в концентрации 0.1% было отмечено более выраженное сокращению числа КОЕ: облучение в течение первых 5 мин приводило к уменьшению бактериальной популяции на $1 \log_{10}$ (на 60%, 67%, 86% и 90%). Увеличение времени облучения с 10 до 30 мин снижало число КОЕ на $2.9 \log_{10}$ (на 91%–99%) (рис.6,б).

Сходное действие оказывали порфириновые соединения на метициллин-устойчивый штамм стафилококка MRSA при концентрации 0.01%: в течение первых 5 мин наблюдалось уменьшение численности бактериальных колоний на $0.9 \log_{10}$ (на 22%, 30%, 88% и 83%). Дальнейшее увеличение времени облучения с 10 до 30 мин снижало число КОЕ на $(2-2.9) \log_{10}$ (на 61%–99%) (рис.7,а). При более высокой концентрации красителей (0.1%) в течение первых 5 мин облучения число бактерий уменьшилось на $1 \log_{10}$ (на 60%, 67%, 90%, 87%). Дальнейшее увеличение

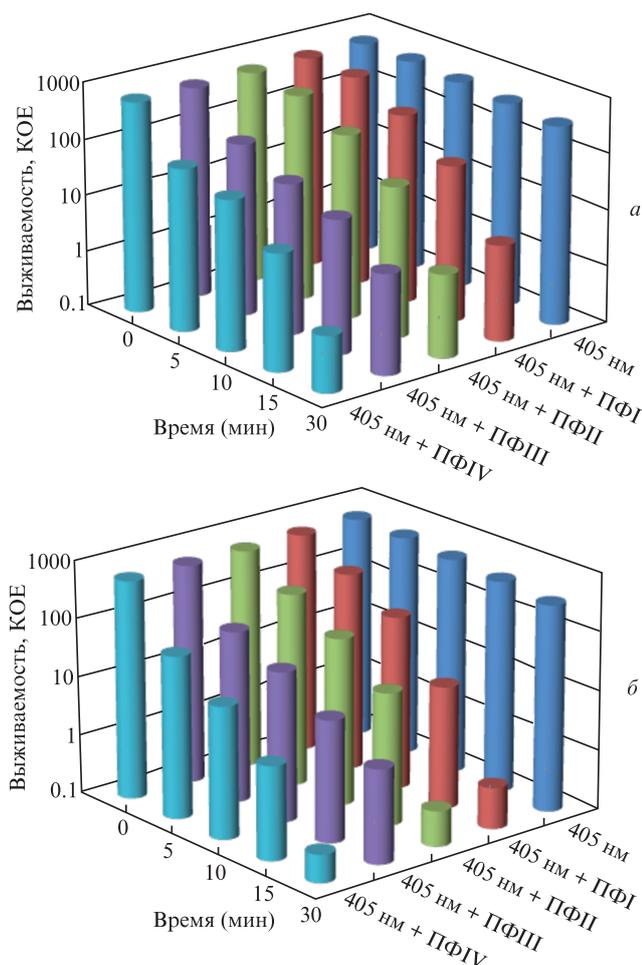


Рис.6. Изменение жизнеспособности клеток стафилококка MSSA при воздействии излучения с $\lambda = 405$ нм и порфириновых соединений с концентрацией 0.01% (а), 0.1% (б).

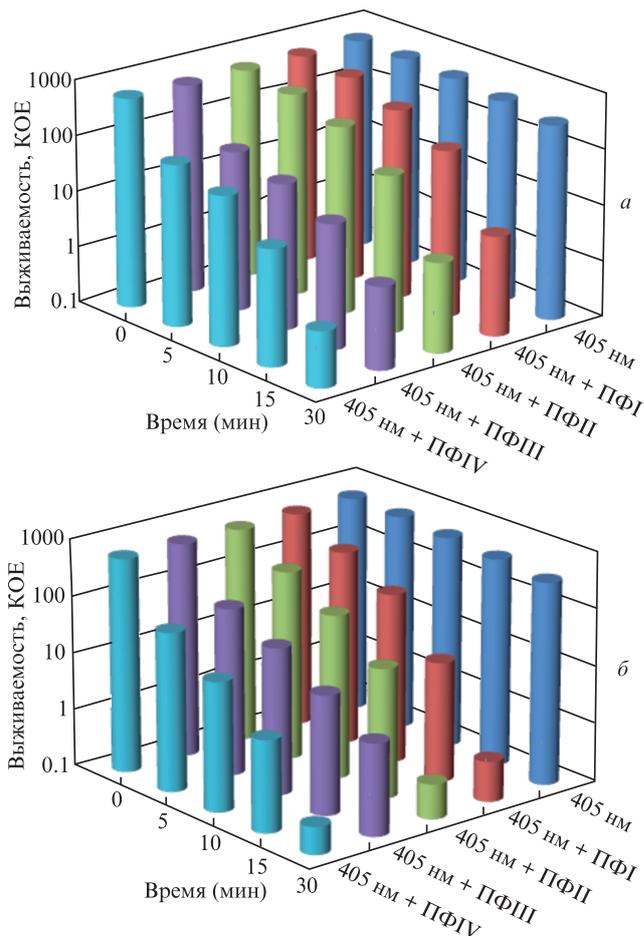


Рис.7. Изменение жизнеспособности клеток стафилококка MRSA при воздействии излучения с $\lambda = 405$ нм и порфириновых соединений с концентрацией 0.01% (а), 0.1% (б).

времени облучения с 10 до 30 мин снижало число КОЕ до $2.8 \log_{10}$ (90%–99%) (рис.7,б).

При изучении комплексного воздействия светодиодного излучения и порфириновых соединений на *E. coli* были получены следующие результаты (рис.8): обработка микроорганизма порфиринами в концентрации 0.01% приводила к изменению КОЕ в пределах $2 \log_{10}$ (на 25%–48%). При повышении концентрации до 0.1% численность популяции снижалась до $2.8 \log_{10}$ (на 99%).

Также было показано, что комбинированное действие излучения на $\lambda = 405$ нм и металлопорфиринов в концентрации 0.01% и 0.1% на *S. simulans* уже в ходе пятиминутной экспозиции приводило к значительному (в пределах $2 \log_{10}$) уменьшению численности микроорганизма, а на 15-й минуте облучения численность популяции снижалась на $3 \log_{10}$ (на 99.99%) (рис.9).

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что исследуемые порфириновые соединения в сочетании с источником излучения СДИС ($\lambda = 405 \pm 15$ нм) обеспечивали эффективную деструкцию различных микроорганизмов. При этом снижение численности бактерий во всех случаях носило дозозависимый характер. Наиболее выраженное подавление численности микроорганизмов наблюдалось при концентрации порфиринов 0.1% и 30-минутном облучении при заданной плотности мощности излучения 47 мВт/см^2 : в случае MSSA погибло 99.6% бактерий, MRSA – 99.7%, *E. coli* – 98.9% и *S. simulans* – 100%.

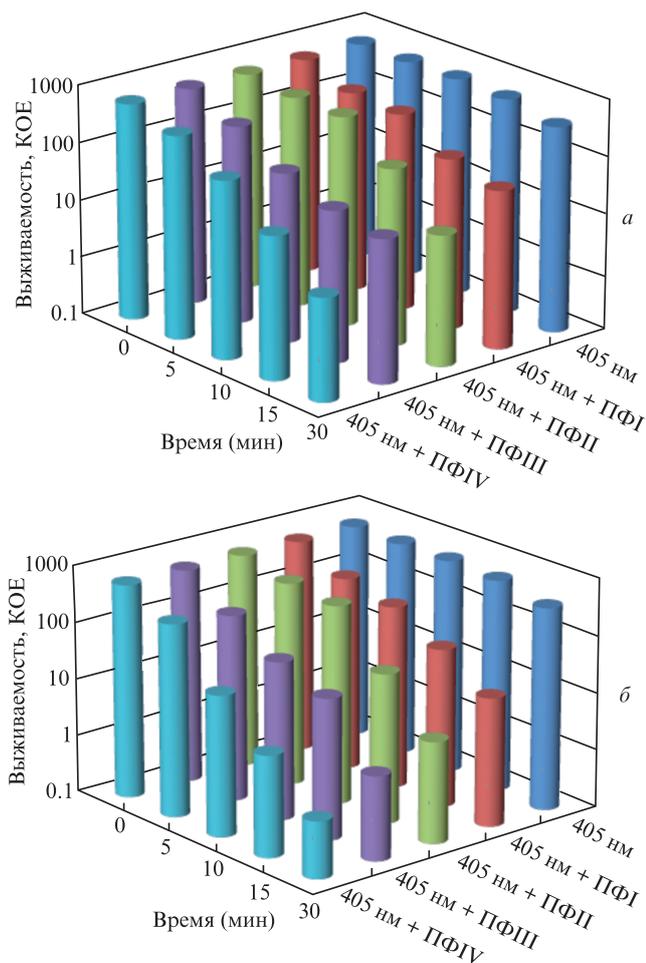


Рис.8. Изменение жизнеспособности клеток *E. coli* при воздействии излучения с $\lambda = 405$ нм и порфириновых соединений с концентрацией 0.01% (а), 0.1% (б).

В работе использовались новые катионные порфирины и металлопорфирины [13–15], имеющие ряд существенных отличий от других порфиринов. Наиболее важное отличие заключается в том, что активные гидроксизтил- и бутилпериферические группы (–R) соединений могут связываться в 3-м или 4-м положении пиридинового кольца, а также в том, что эти группы могут иметь разную степень гидрофобности.

Металлопорфирины обладают способностью присоединять непосредственно к иону металла дополнительные аксиальные лиганды, что является одним из их важнейших функциональных свойств. Именно посредством такого взаимодействия обеспечивается связь хлорофилла и гема с белком, осуществляется обратимая оксигенация гемоглобина и миоглобина, катализируются и контролируются многие биохимические реакции.

В последнее время особое внимание уделяется синтезу модифицированных катионных пиридинных порфиринов и металлопорфиринов с дополнительными амфифильными концевыми группами, а также исследуется их потенциал как в ФДТ, так и в фотодинамической инактивации микроорганизмов [17–20].

Одним из важнейших параметров эффективности порфиринов является квантовый выход образования синглетного кислорода γ_{Δ} , который представляет собой отношение числа образовавшихся молекул синглетного кислорода к числу молекул фотосенсибилизатора–пор-

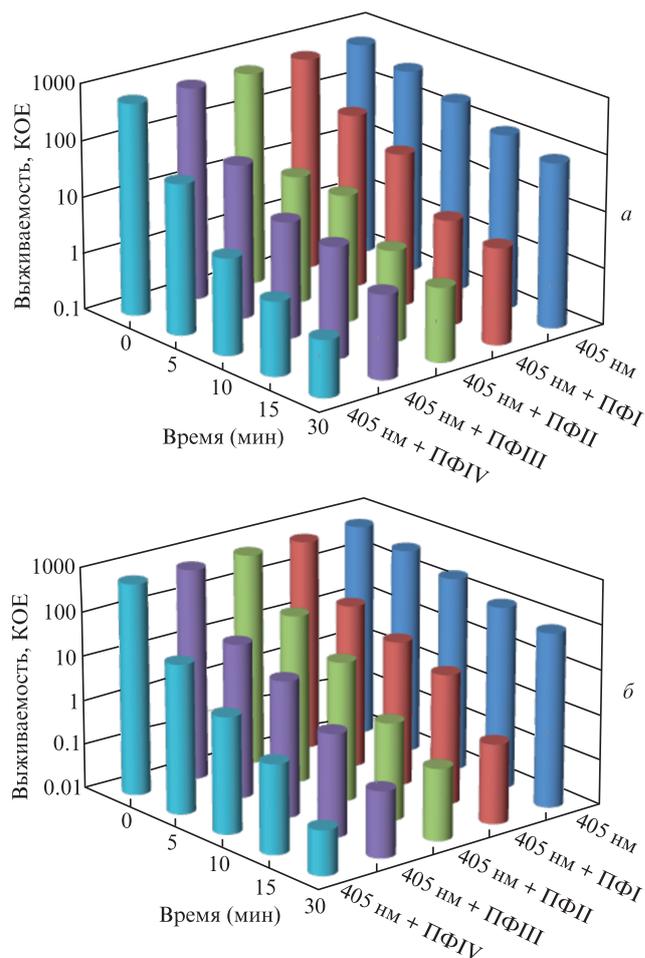


Рис.9. Изменение жизнеспособности клеток *S. simulans* при воздействии излучения с $\lambda = 405$ нм и порфириновых соединений с концентрацией 0.01% (а), 0.1% (б).

фирина, поглотившего кванты света в основном состоянии. Измерения γ_{Δ} проводились методом, подробно описанным в работе [15], который предполагает прямую регистрацию собственного свечения синглетного кислорода, образованного при тушении молекулярным кислородом триплетного состояния молекул изучаемого и эталонного фотосенсибилизаторов. В качестве эталонного соединения использовался TMe4PyP ($\gamma_{\Delta} = 77\%$). Квантовый выход генерации синглетного кислорода новых синтезированных порфиринов на 8%–20% больше, чем у известного фотосенсибилизатора 5,10,15,20-тетракис (4-N-метилпиридил) порфирина (H2TMe4PyP) [2]. Отметим, что значения γ_{Δ} для Zn-производных металлопорфиринов (ПФII, ПФIII, ПФIV) значительно выше, чем у свободных оснований порфиринов (ПФИ), из-за увеличения эффективности интеркомбинационной (внутрисистемной) конверсии, когда атом металла включается в порфириновый макроцикл [15].

Эти данные коррелируют с действием катионных порфиринов на микроорганизмы, т. к. как в ходе исследования была показана значительно более высокая эффективность Zn-производных металлопорфиринов.

Переход от [3-пиридил]порфиринов к [4-пиридил]-производным порфиринов приводит к небольшому увеличению константы скорости тушения молекулы порфирина в возбужденных триплетных состояниях: от $\sim 1.4 \times 10^9$ до $\sim 1.7 \times 10^9$ $M^{-1} \cdot c^{-1}$ [15]. Этим увеличением скоро-

сти тушения можно объяснить несколько меньшую эффективность металлопорфирина Zn-TBut4PyP по сравнению с Zn-TBut3PyP для обоих штаммов *S. aureus*.

Ранее показано [16, 23–25], что реакция отдельных штаммов одного вида бактерий на комплексное воздействие излучения и фотосенсибилизаторов может быть различной, что выражается в степени подавления роста, но в то же время динамика изменения численности носит сходный характер. Иную тенденцию можно наблюдать при сравнении разных физиологических групп микроорганизмов, например обладающих грамположительным или грамотрицательным типом клеточной стенки.

Так, грамотрицательные бактерии демонстрируют большую устойчивость к ФДТ-воздействию. Клеточная стенка грамотрицательных микроорганизмов имеет многокомпонентную структуру с выраженным внешним липополисахаридным слоем [3]. Время существования свободных радикалов не превышает 10^{-6} с, и этого недостаточно для миграции грамотрицательных бактерий сквозь внешнюю мембрану и для стимуляции фотоокислительных процессов.

Известно, что гидрофильность и гидрофобность клеточных стенок микроорганизмов сильно варьируются в зависимости от видовой и штаммовой принадлежности, условий выделения и культивирования клеток [26]. Так, белок *S. aureus*, обуславливающий его патогенные свойства, усиливает гидрофобные свойства пептидогликана, а наличие капсулы и других полисахаридных структур повышает гидрофильность. Обычно принято считать, что клеточная стенка грамположительного типа обладает гидрофильностью, а клеточная стенка грамотрицательного типа за счет множества дополнительных компонентов – гидрофобностью [26, 27]. Следовательно, придавая новым порфириновым сенсибилизаторам те или иные свойства, можно избирательно контролировать эффективность фотодинамического воздействия. Более высокая эффективность бутил-производных порфиринов обусловлена, по-видимому, более глубоким встраиванием молекул порфиринов с бутил-гидрофобной группой в мембрану бактерий по сравнению с оксиэтил-группой (содержащей –ОН гидрофильный конец), что может приводить к деструкции клеток не только по поверхности, но и по всей толщине клеточной стенки.

Возможно, именно этим можно объяснить большую чувствительность грамположительных стафилококков по сравнению с грамотрицательной кишечной палочкой к комбинированному воздействию фиолетового (405 нм) излучения и порфириновых соединений.

По данным [5, 21] и данным, представленным на рис. 2, коэффициент возбуждения порфиринов в фиолетово-синей области в 20–40 раз больше, чем в красной области спектра (630 нм), поэтому применение фиолетового света оказывает более сильный фотодинамический эффект, чем красного света.

Уменьшение численности бактерий при комбинированном действии фиолетового света и металлопорфиринов для бактерий *MSSA* и *MRSA* носило сходный характер. Таким образом, разработанный метод может быть использован для эффективного уничтожения микроорганизмов с разной степенью устойчивости к антибиотикам.

Бактерия *S. simulans* является компонентом нормальной микрофлоры кожи человека. Значительное сокращение численности этого стафилококка уже на первых минутах фотодинамического воздействия может говорить

об отрицательном эффекте, т. к. это способно привести к увеличению вероятности заселения микрофлоры патогенными микроорганизмами. Поэтому в клинической практике методику следует использовать с осторожностью на тех этапах лечения ран, язв и ожогов, когда существует опасность неконтролируемого размножения устойчивых к антибиотикам патогенов.

Наибольшую эффективность демонстрировали металлопорфирины ПФШ и ПФIV, содержащие Zn и бутиловый радикал в 3-м положении пиридинового кольца: при их использовании число КОЕ микроорганизмов снижалось на $2\log_{10}$ уже после 5 мин облучения (на 70%–95%), а через 30 мин достигало 98% и даже 100%.

Отметим, что предлагаемая методика может быть реализована с использованием сравнительно недорогих диодных лазеров, работающих на длинах волн 405, 410 и 445 нм, что может существенно повысить эффективность антимикробной ФДТ. Кроме того, стандартное лазерное медицинское оборудование, разработанное для внутривенного лазерного облучения крови на длинах волн 405 и 445 нм (ВЛОК-405 и ВЛОК-445) [21], может быть эффективным инструментом для подавления патогенов, сенсибилизированных порфиринами, при лечении ран и язв на поверхности кожи или слизистых, а также при облучении крови.

Перспективным представляется также анализ *in vivo* уровня синглетного кислорода и накопления фотосенсибилизаторов в клетках микроорганизмов в ходе фотодинамического воздействия. Например, для микроорганизмов, населяющих биопленки, сформированные на поверхности мягких или твердых тканей (кожа, раневые поверхности, зубная и костная ткани), можно использовать метод обратного диффузного отражения, описанный в работе [28]. Эти данные позволят определить оптимальное время проведения ФДТ.

Использование новых порфириновых соединений в качестве составляющих нанокомпозитов и специфическая функционализация нанокомпозитов, направленная на селективное связывание с микроорганизмами должны существенно повысить эффективность антимикробной терапии [22–25].

4. Заключение

Анализ эффективности новых металлопорфириновых соединений в сочетании с действием излучения на длине волны 405 нм показал высокую чувствительность исследуемых микроорганизмов к ФДТ. Наиболее выраженное сокращение численности как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий отмечено после 15–30 мин воздействия с использованием раствора порфирина Zn-TBut3PyP (ПФIV) при концентрации 0.1%, а также других Zn-производных металлопорфиринов (ПФШ и ПФIII), у которых квантовый выход синглетного кислорода существенно выше, чем у свободных оснований порфиринов (ПФI). Кроме того, определенное значение может иметь эффективность связывания молекул красителей с клеточными структурами.

Очевидно, что использование лазерного излучения с длинами волн 420–440 нм и более высокой плотностью мощности (100–200 мВт/см²), позволит существенно повысить антимикробную эффективность метода, сократив время воздействия до минут и даже секунд, что безусловно должно быть востребовано в биомедицинской практике.

Работа частично поддержана грантами НШ-7898. 2016.214 Президента РФ и Z50.31.0004 Правительства РФ, а также фондом им. Д.И. Менделеева Томского государственного университета.

1. Bonnett R. *Chem. Soc. Rev.*, **24**, 19 (1995).
2. Grinholc M., Szramka B., Kurlenda J., Graczyk A., Bielawski K. *J. Photochem. Photobiol. B*, **90**, 57 (2008).
3. Wainwright M.J. *Antimicrob. Chemotherapy*, **42**, 13 (1998).
4. Barolet D. *Semin. Cutan. Med. Surg.*, **27** (4), 227 (2008).
5. Babilas P., Schreml S., Landthaler M., Szeimies R.M. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, **26** (3), 118 (2010).
6. Gursoy H., Ozcakir-Tomruk C., Tanalp J., Yilmaz S. *Clin. Oral Investig.*, **17**, 1113 (2013).
7. Сидоренко Е.И., Филатов В.В., Филатова Н.В., Федоров А.А., Муравьев М.В. *Российская детская офтальмология*, **1**, 67 (2012).
8. Aroniene K., Luksiene Z. *J. Photochem. Photobiol. B*, **142**, 257 (2015).
9. Elsaie M.L.T. *Photodynamic Therapy—New Research* (New York: Nova Sci. Publ. Inc., 2013).
10. Шелест Н.А., Волкова Е.К., Козина К.В., Корченова М.В., Тучина Е.С., Захаревич А.М., Кочубей В.И., Тучин В.В. *Изв. Саратовского ун-та*, **4**, 62 (2014).
11. Гейниц А.В., Сорокатый А.Е., Ягудаев Д.М., Трухманов Р.С. *Лазерная медицина*, **11**, 42 (2007).
12. Странадко Е.Ф. *Лазерная медицина*, **6** (1), 4 (2002).
13. Мадакян В.Н., Казарян Р.К., Хачатрян М.А., Степанян А.С., Куртикян Т.С., Ордян М.Б. *Химия гетероциклических соединений*, **2**, 212 (1986).
14. Tovmasyan A., Ghazaryan R., Sahakyan L., Gasparyan G., Babayan N., Gyulkhandanyan G. *Techn. Abstr. Summaries. Europ. Conf. Biomed. Opt.* (Munich, Germany, 2007, p. 71).
15. Stasheuski A.S., Galievsky V.A., Knyukshto V.N., Ghazaryan R.K., Gyulkhandanyan A.G., Gyulkhandanyan G.V., Dzhagarov B.M. *J. Appl. Spectrosc.*, **80** (6), 823 (2013).
16. Тучина Е.С., Тучин В.В., Альтшулер Г.Б., Ярославский И.В. *Естественные и технические науки*, **34** (2), 90 (2008).
17. Gyulkhandanyan G.V., Ghambaryan S.S., Amelyan G.V., Ghazaryan R.K., Arsenyan F.H., Gyulkhandanyan A.G. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6139**, 613911 (2006).
18. Gyulkhandanyan G.V., Paronyan M.H., Hovsepyan A.S., Ghazaryan R.K., Tovmasyan A.G., Gyulkhandanyan A.G., Gyulkhandanyan A.G., Amelyan G.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **7380**, 73803I (2009).
19. Kovaleva O.A., Tsvetkov V.B., Shcholykina A.K., Borisova O.F., Ol'shevskaya V.A., Makarenkov A.V., Semeikin A.S., Shtil A.A., Kaluzhny D.N. *Europ. Biophys. J.*, **41**, 723 (2012).
20. Moan J., Iani V., Ma L.W. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **2625**, 544 (1996).
21. Москвин С.В. *Эффективность лазерной терапии* (М.–Тверь: Триада, 2014).
22. Khlebtsov B.N., Tuchina E.S., Khanadeev V.A., Panfilova E.V., Petrov P.O., Tuchin V.V., Khlebtsov N.G. *J. Biophotonics*, **6** (4), 338 (2013).
23. Тучина Е.С., Петров П.О., Козина К.В., Ратто Ф., Центи С., Пини Р., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **44** (7), 683 (2014).
24. Khlebtsov B., Tuchina E., Tuchin V., Khlebtsov N. *RSC Advances*, **5**, 61639 (2015).
25. Тучина Е.С., Тучин В.В., Хлебцов Б.Н., Хлебцов Н.Г. *Квантовая электроника*, **41** (4), 354 (2011).
26. Reifsteck F., Wee S., Wilkinson V.J. *J. Med. Microbiol.*, **24** (1), 65 (1987).
27. Rozgonyi F., Ljungh A., Mamo W., Hjerten S., Wadström T. *Bacterial Cell-Surface Hydrophobicity in Pathogenesis of Wound and Biomaterial-Associated Infections* (Berlin: Springer, 1990).
28. Стратонников А.А., Меерович Г.А., Рябова А.В., Савельева Т.А., Лощенов В.Б. *Квантовая электроника*, **36** (12), 1103 (2006).