

Исследование изменений в спектре поглощения современных хлоринсодержащих препаратов для фотодинамической терапии и метиленового синего в результате воздействия светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm

© А.В. Беликов^{1,2}, Ю.В. Семяшкина^{1,¶}, С.Н. Смирнов¹, А.Д. Тавалинская¹

¹ Университет ИТМО,
197101 Санкт-Петербург, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова,
197022 Санкт-Петербург, Россия

¶e-mail: yvsemyashkina@mail.ru

Поступила в редакцию 14.01.2020 г.

В окончательной редакции 13.02.2020 г.

Принята к публикации 28.02.2020 г.

Исследованы изменения в спектрах поглощения водных растворов современных хлоринсодержащих фотосенсибилизирующих препаратов для фотодинамической терапии „Revixan“ (Ареал, Россия) и „Chloderm“ (Хлодерм, Россия) в диапазоне 600–700 nm в зависимости от интенсивности и времени воздействия светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm. Исследованы параметры цветовой модели CIE Lab изображения водного раствора „Revixan“ до и после светодиодного воздействия. В диапазоне 400–900 nm исследованы изменения в спектрах поглощения водного раствора метиленового синего с различной начальной концентрацией после воздействия светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm и интенсивностью 180 ± 20 mW/cm². Показано, что воздействие светодиодного излучения изменяет спектры поглощения исследованных веществ и увеличивает параметр L (светлота) цветовой модели CIE Lab для „Revixan“. Увеличение интенсивности светодиодного излучения и времени воздействия приводит к уменьшению поглощения для „Revixan“ и „Chloderm“ в диапазоне 600–700 nm и смещению пика полосы поглощения, лежащей в этом диапазоне, в ИК область. Воздействие светодиодного излучения на водный раствор метиленового синего приводит к уменьшению его поглощения в диапазоне 400–900 nm.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, Revixan, Chloderm, метиленовый синий, спектр поглощения.

DOI: 10.21883/OS.2020.07.49570.55-20

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой современный малоинвазивный метод, который продемонстрировал эффективность для широкого спектра клинических применений [1,2]. В основе метода лежит способность фотосенсибилизатора накапливаться в патогенных клетках, а затем, поглощая свет, вызывать фотохимические реакции, в том числе с генерацией активных форм кислорода. Следствием ФДТ является цитотоксический эффект и некроз. Селективность накопления фотосенсибилизатора обеспечивает избирательность повреждения патогенных клеток и минимальное поражение здоровых тканей.

Наиболее востребованными приложениями ФДТ являются онкология [3] и дерматология [4], но в последнее время этот метод начинают применять в неврологии, стоматологии, эндокринологии, пульмонологии и других областях медицины [1]. Обзорные статьи говорят о положительных результатах использования ФДТ в онкологии. Например, в работе [5] проанализированы и систематизированы результаты основных клинических исследований в области флуоресцентной диагностики и

интраоперационной ФДТ при первичных, рецидивных и метастатических формах злокачественных новообразований головного мозга. Отмечается, что в последние годы достигнуты определенные успехи в лечении пациентов с данной тяжелой патологией. Результаты представленных исследований в области применения ФДТ в клинической нейроонкологии позволяют отнести данное направление к высокоэффективным методам лечения. В исследовании [6] приведены результаты клинического наблюдения за пациенткой с плоскоклеточным раком кожи щеки. Получен положительный результат в виде частичной регрессии опухоли. В работе [7] представлено клиническое наблюдение пациентки с диагнозом рак молочной железы III стадии. Результатом является восьмилетний срок безрецидивного наблюдения, что говорит об успешности комплексного лечения с использованием интраоперационной ФДТ. В дерматологии ФДТ успешно используется для лечения гнойного гидраденита [8]. Традиционные методы лечения гнойного гидраденита ограничены и неудовлетворительны. В стоматологии ФДТ используют для лечения лейкоплакии. Результаты ФДТ лейкоплакии [9] говорят о том, что ФДТ обладает малой инвазивностью, высокой чувствительностью

к измененным тканям, малым рубцеванием, меньшими побочными эффектами, отсутствием боли во время и после операции, но требует значительной продолжительности лечения. Фотодинамическая терапия в полости рта с метиленовым синим в качестве фотосенсибилизатора [10] показала, что ФДТ является многообещающей поддерживающей терапией таких хронических и распространенных заболеваний полости рта, как пародонтит и гингивит. Фотодинамическая терапия может также использоваться для заживления открытых ран, например, при сахарном диабете. В этом случае ФДТ вокруг границы и внутри области поражения с метиленовым синим в качестве фотосенсибилизатора является перспективной для лечения ран, инфицированных как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями, что сводит к минимуму время заживления [11]. Фотодинамическая терапия не так давно стала применяться для лечения онихомикоза — инфекционного заболевания ногтей грибковой этиологии, вызываемого дерматомицетами, дрожжевыми или плесневыми грибами. Это одно из наиболее распространенных дерматологических заболеваний [12]. Использование ФДТ при онихомикозе [13] существенно сокращает сроки лечения, в ряде случаев до одного визита к врачу. Фотосенсибилизатор не имеет тяжелых токсических эффектов, которые наблюдаются при системной терапии. К сожалению, в большинстве исследований на сегодняшний день отсутствуют плацебо или стандартные контрольные группы, сообщается о различных пороговых значениях параметров излучения, необходимых для удаления грибка ногтя [14,15]. Однако обзорные исследования [16,17] показывают, что ФДТ онихомикоза все-таки эффективна, при этом основными проблемами считаются низкая проницаемость фотосенсибилизатора через ногтевую пластину и побочные болевые эффекты. Некоторые исследователи основой эффективности ФДТ онихомикоза считают правильную обработку (истончение) ногтевой пластины до терапии. В работе [18] описан способ лечения микозов, состоящий в том, что на пораженные участки наносят фотосенсибилизатор, защищают место нанесения светонепроницаемой повязкой и выдерживают в таком состоянии 0.5–3 h, после чего проводят лазерное воздействие с длиной волны, соответствующей максимуму поглощения фотосенсибилизатора при световой дозе от 200 до 400 J/cm².

В большинстве случаев для ФДТ используют красители, эффективно поглощающие свет в диапазоне длин волн 600–700 nm. Этот диапазон попадает в так называемое „терапевтическое окно“, в котором биоткани наиболее прозрачны, что обусловлено низким поглощением крови в этой области [19]. При этом следует помнить, что при интенсивности светового воздействия с длиной волны из вышеназванного диапазона, превышающей 200 mW/cm², возникает гипертермия, вызывающая покраснение ткани, связанное с расширением или разрывом микрокапилляров [20]. В ряде случаев световое воздействие с интенсивностью, близкой к 200 mW/cm²,

относят к предельно высокоинтенсивной фото- или фотодинамической терапии [21]. В настоящее время для ФДТ широко используются хлоринсодержащие фотосенсибилизирующие препараты [22] с максимумом поглощения в диапазоне 600–700 nm, к которым следует отнести „Радахлорин“ („РАДА-ФАРМА“, Россия), „Фотодитазин“ („Вета-Гранд“, Россия), „Revixan“ („Ареал“, Россия) и „Chloderm“ („Хлодерм“, Россия). Метиленовый синий (МС) также широко используется для ФДТ. Он относится к катионным азинам, к химической группе фенотиазина [22]. Характерный цвет МС обусловлен сильной полосой поглощения, лежащей в диапазоне 550–700 nm с максимальной молярной поглощающей способностью 85 000 M⁻¹cm⁻¹ при 664 nm [23]. Метиленовый синий обладает быстрым фунгицидным эффектом благодаря образованию при облучении светом активных форм кислорода (например, синглетного кислорода), при этом обладает низкой токсичностью. Фотодинамическая терапия с использованием МС, в том числе в онкологии, обсуждается в [24–26]. В [26] отмечается, что не было никаких экспериментальных или клинических осложнений во время или после ФДТ.

Многолетние и многочисленные исследования в области ФДТ позволили сформулировать следующие требования к оптимальному фотосенсибилизатору: наличие пика поглощения, лежащего в области спектра, соответствующей наиболее глубокому проникновению света в биоткань, постоянный химический состав, устойчивость при хранении и введении в организм, низкая токсичность, селективность накопления [27], высокая эффективность образования синглетного кислорода. В настоящее время сохраняется интерес к постоянному выявлению новых сенсibilizаторов, и большая часть этого интереса направлена на хлорины (восстановленные порфирины), которые обычно сильно поглощают в области 600–700 nm.

Для ФДТ широко используются лазеры, но в последнее время значительный интерес вызывает использование для ФДТ светодиодов. Этот интерес связан с возросшей интенсивностью излучения светодиодов, которая позволяет компенсировать потери от воздействия на фотосенсибилизатор, связанные с более широкой по сравнению с лазерами спектральной линией излучения.

Известно, что световое воздействие приводит к фоторазрушению (фотообесцвечиванию) фотосенсибилизатора, в результате чего уменьшаются поглощение на длине волны возбуждающего света и способность к образованию синглетного кислорода. Фотообесцвечивание фотосенсибилизаторов, используемых для ФДТ, широко изучалось *in vitro* [28–32] и *in vivo* [33–36], включая клинические случаи [37]. Отмечается, что это явление очень важно для дозиметрии ФДТ [38]. Высокая степень фотообесцвечивания фотосенсибилизатора предполагает соответствующую тактику воздействия света при низкой интенсивности света и нескольких сеансах освещения [39,40]. Вместе с тем появление новых и расширение

области применения уже известных фотосенсибилизаторов делают исследование их фотообесцвечивания по-прежнему весьма актуальными, так как кинетическое поведение кривых фотообесцвечивания новых препаратов или известных препаратов в новых условиях может предоставить информацию о механизме ФДТ и позволяет более точно оценить эффективность ФДТ с их использованием.

Наряду с изучением спектров поглощения полезную информацию об изменениях, происходящих в красителях в результате светового воздействия, можно получить из анализа их цвета [41,42]. При ФДТ этот анализ может быть полезен для визуальной или аппаратной оценки состояния фотосенсибилизатора перед применением, так как оно может быть изменено в результате неправильного хранения препарата. Кроме того, анализ цвета может дать дополнительную информацию о состоянии красителя в процессе или после ФДТ, так как в результате светового воздействия цвет красителя может измениться, что позволит оценить эффективность его использования в данной процедуре.

Целью настоящей работы было исследование изменений в спектре поглощения современных хлоринсодержащих препаратов: „Revixan“ („Ареал“, Россия), „Chloderm“ („Хлодерм“, Россия) и МС, используемых для фотодинамической терапии, до и после воздействия светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm, лежащей в области „терапевтического окна“, и интенсивностью до 180 ± 20 mW/cm², исключающей гипертермию тканей; изучение поведения спектров поглощения хлоринсодержащих препаратов, находящихся в диапазоне 600–700 nm, в зависимости от интенсивности и времени воздействия светодиодного излучения; исследование CIE Lab модели цвета водного раствора („Revixan“) до и после светодиодного воздействия.

Материалы и методы

В экспериментах исследовались водные растворы фотосенсибилизирующих препаратов „Revixan“, „Chloderm“ и метиленового синего („ЛенРеактив“, Россия). Объемная концентрация (С) „Revixan“ в воде составляла 4, 3.5 и 1.4%, а „Chloderm“ — 4 и 1.7%, что позволяет учесть возможное падение концентрации препарата по мере его проникновения в биоткань. Объемная концентрация МС в воде составляла 0.001, 0.01 и 1%, что обусловлено широким использованием последней концентрации в медицинской практике, уменьшением концентрации по мере проникновения МС в биоткань и связанным с этим изменением конформационного состояния красителя в растворах, что следует учитывать при планировании его использования в ФДТ и может быть актуально для будущих исследований. Следует также учитывать, что при проникновении в биоткань плотность мощности излучения уменьшается в результате поглощения и рассеяния света биотканью. В

этой связи необходимо исследовать поведение спектров поглощения фотосенсибилизирующих препаратов при различной интенсивности излучения, возбуждающего фотодинамические процессы.

Для регистрации спектров пропускания-поглощения использовался двухлучевой спектрофотометр „Т-90“ („PG Instruments Ltd“, Великобритания), работающий в диапазоне длин волн от 200 до 900 nm. Образцы водных растворов препаратов помещались в кварцевую кювету с размерами $10 \times 10 \times 45$ mm (ширина \times глубина \times высота). В опорное плечо спектрометра помещалась идентичная по размерам кварцевая кювета с дистиллированной водой. Каждое измерение проводилось с шагом 1 nm и длилось порядка 3 min. Для каждого образца выполнялось по десять измерений. Для статистической обработки полученных данных использовался программный пакет „StatGraphics Plus“ („Statgraphics Technologies, Inc“, США), в результате обработки вычислялись среднее значение и доверительный интервал коэффициента поглощения для каждого значения длины волны спектра.

В качестве источника светодиодного излучения использовался светодиодный аппарат для предельно высокоинтенсивной ФДТ „LED Forester 660“ („НЕЛА“, Россия) с длиной волны излучения 656 ± 10 nm и интенсивностью излучения до 180 ± 20 mW/cm². Технические особенности данного прибора отражены в работе [43].

Кювета с водным раствором (4%) „Revixan“ фотографировалась цифровой камерой „Nikon D80“ („Nikon Corporation“, Япония) до и после светодиодного воздействия, при этом условия фоторегистрации (освещение, выдержка и т.д.) не изменялись. Для определения параметров цветовой модели CIE Lab полученного в эксперименте цифрового изображения водного раствора „Revixan“ использовалась программа Adobe Photoshop CC 2018 („Adobe Inc“, США). В цветовой модели CIE Lab параметр L отвечает за светлоту, параметр a — за красноту, параметр b — за желтизну.

Результаты и обсуждение

На рис. 1, a и 2, a представлены спектры поглощения 4% водных растворов „Revixan“ и „Chloderm“ в диапазоне 200–900 nm соответственно. На рис. 1, b и 2, b представлены спектры поглощения 4% водных растворов „Revixan“ и „Chloderm“ в диапазоне 600–700 nm соответственно. Видно, что в красной области спектра пик поглощения „Revixan“ и „Chloderm“ соответствует длине волны 654 ± 1 nm. Исследование поведения спектров поглощения этих фотосенсибилизирующих препаратов при различных концентрациях в воде показало, что положение пика поглощения, соответствующего 654 nm, не сдвигается. Коэффициент поглощения ($k_{\text{вещество_длина волны}}$) на длине волны 654 nm ($k_{\text{вещество_654}}$) линейно возрастает при изменении концентрации C препарата в водном растворе от 0.1 до 100% в соответствии

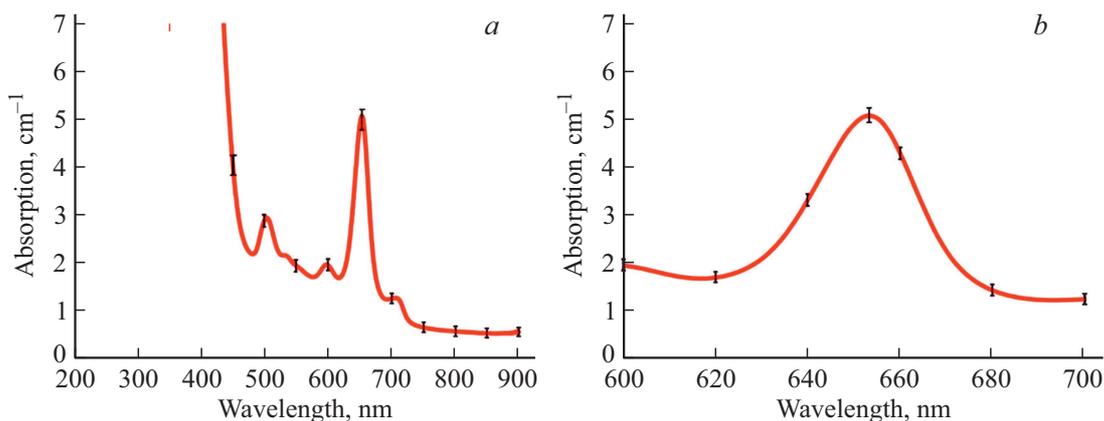


Рис. 1. Спектр поглощения водного раствора „Revixan“ ($C = 4\%$) в диапазонах 200–900 (a) и 600–700 nm (b).

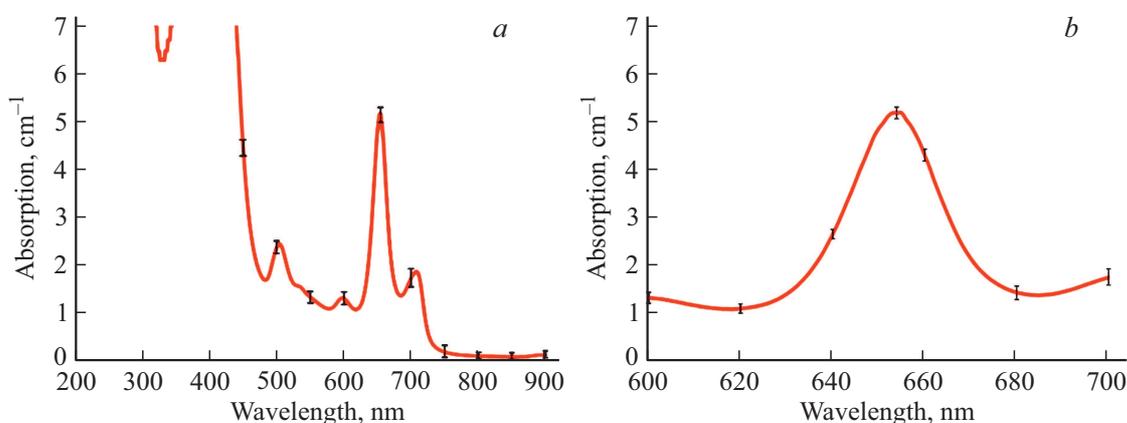


Рис. 2. Спектр поглощения водного раствора „Chloderm“ ($C = 4\%$) в диапазоне 200–900 (a) и 600–700 nm (b).

с выражением

$$k_{\text{вещество}_{654}} = A_{\text{вещество}_{654}}C + B_{\text{вода}_{654}}, \quad (1)$$

где коэффициенты $A_{R_{654}} = 127.5 \text{ cm}^{-1}$ (для „Revixan“), $A_{Ch_{654}} = 30.0 \text{ cm}^{-1}$ (для „Chloderm“) и $B_{\text{вода}_{654}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

Следует отметить, что в исследуемых образцах водных растворов препаратов присутствовало достаточно сильное рассеяние. Это было связано с тем, что исходно препараты находились в форме геля. В этом случае оптическая плотность исследуемых водных растворов складывается из оптических плотностей фотосенсибилизирующего препарата и воды, а также вклада, обусловленного рассеянием. В этой связи коэффициент поглощения, о котором идет речь, включает в себя вклад как поглощения, так и рассеяния. Коэффициент поглощения (при $C = 4\%$) для „Revixan“ составляет $k_{R_{654}} = 5.1 \pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ и $k_{Ch_{654}} = 5.2 \pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ для „Chloderm“.

В полосе $656 \pm 10 \text{ nm}$, соответствующей ширине спектральной линии излучения светодиодного аппарата „LED Forester 660“, поглощение изменяется от $k_{R_{646}} = 4.8 \pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ на длине волны 646 nm

до $k_{R_{666}} = 3.2 \pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ на длине волны 666 nm для „Revixan“ и от $k_{Ch_{646}} = 4.0 \pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ до $k_{Ch_{666}} = 2.9 \pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ для „Chloderm“. Близость спектров поглощения фотосенсибилизирующих препаратов в диапазоне 600–700 nm очевидно связана с использованием в обоих препаратах вещества „Chlorine e6“ в качестве фотодинамического агента.

Зависимости, характеризующие поведение спектра поглощения „Revixan“ при изменении интенсивности светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$ и фиксированном времени воздействия, представлены на рис. 3. Интенсивность I излучения может быть представлена в нормированном виде и определена как

$$I = I_T / I_{\text{max}}, \quad (2)$$

где I_T — текущее среднее арифметическое значение интенсивности, I_{max} — максимальное среднее арифметическое значение интенсивности.

Внешний вид и параметры изображения CIE Lab „Revixan“, полученные при аналогичном воздействии, представлены в табл. 1. В экспериментах интенсивность излучения изменялась от $I = 0$ (0 mW/cm^2 , до воздействия) до $I = 1.0$ ($180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$) с шагом 0.25, время воздействия составляло 10 min.

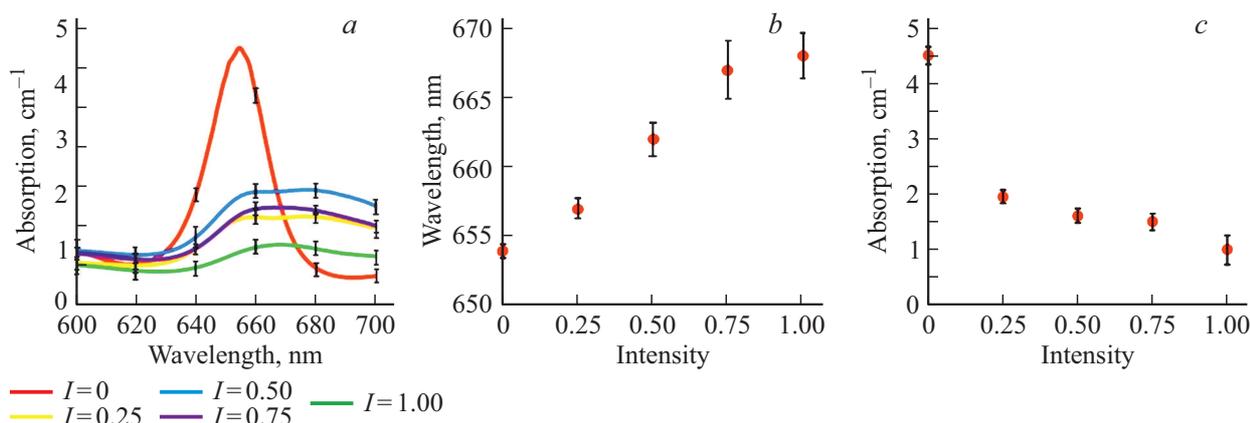


Рис. 3. Спектры поглощения в диапазоне 600–700 nm (a), длина волны положения максимума полосы поглощения (b) и коэффициент поглощения на длине волны 654 nm (c) водного раствора „Revixan“ ($C = 3.5\%$) в зависимости от интенсивности излучения „LED Forester 660“ при фиксированном времени воздействия светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm (10 min).

Таблица 1. Внешний вид и параметры изображения CIE Lab водного раствора „Revixan“ ($C = 3.5\%$) при различной интенсивности светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm (время воздействия 10 min)

Интенсивность излучения I	0	0.25	0.50	0.75	1.0
Внешний вид					
L	137	138	141	155	156
a	116	116	123	123	122
b	167	167	173	159	164

Видно, что при фиксированном времени воздействия увеличение интенсивности светодиодного излучения приводит к нелинейному падению коэффициента поглощения „Revixan“ на длине волны 654 nm ($k_{R_{654}}$), которая соответствует пику полосы поглощения препарата в начальном состоянии (при отсутствии светодиодного облучения). Наиболее заметное падение поглощения наблюдается при изменении интенсивности излучения I от 0 до 0.25. При максимальной интенсивности светодиодного воздействия 180 ± 20 mW/cm² и времени воздействия 10 min (световая доза 108 ± 12 J/cm²) коэффициент поглощения $k_{R_{654}}$ ($C = 3.5\%$) уменьшается в 4.1 раза, а положение пика поглощения сдвигается на 14 nm в ИК область и становится равным 668 nm.

С увеличением интенсивности излучения „LED Forester 660“ цветовые параметры изображения CIE Lab водного раствора „Revixan“ ($C = 3.5\%$) изменяются. При световой дозе 108 ± 12 J/cm² параметр L (светлота) увеличивается в 1.14 раза, параметр a увеличивается в 1.05 раза, параметр b уменьшается в 1.02 раза.

Зависимости, характеризующие поведение спектра поглощения „Revixan“ при изменении времени светодиодного воздействия t с длиной волны 656 ± 10 nm и фиксированной интенсивностью, представлены на рис. 4. Внешний вид и параметры изображения CIE Lab „Revixan“, полученные при аналогичном воздействии представлены в табл. 2. Время воздействия излучения равнялось 0, 1, 5, 10 и 20 min, при этом интенсивность излучения составляла 180 ± 20 mW/cm² ($I = 1.0$ отн.ед.). Следует отметить, что световая доза при $I = 1.0$ за 20 min достигает 216 ± 24 J/cm², что достаточно для ФДТ микоза [18].

Видно, что при фиксированной интенсивности увеличение времени светодиодного воздействия приводит к нелинейному падению коэффициента поглощения „Revixan“ на длине волны 654 nm ($k_{R_{654}}$). При максимальной интенсивности светодиодного воздействия 180 ± 20 mW/cm² и времени воздействия 20 min коэффициент поглощения $k_{R_{654}}$ ($C = 1.4\%$) уменьшается в 2.2 раза, а положение пика поглощения сдвигается на 12 nm в ИК область и становится равным 666 nm.

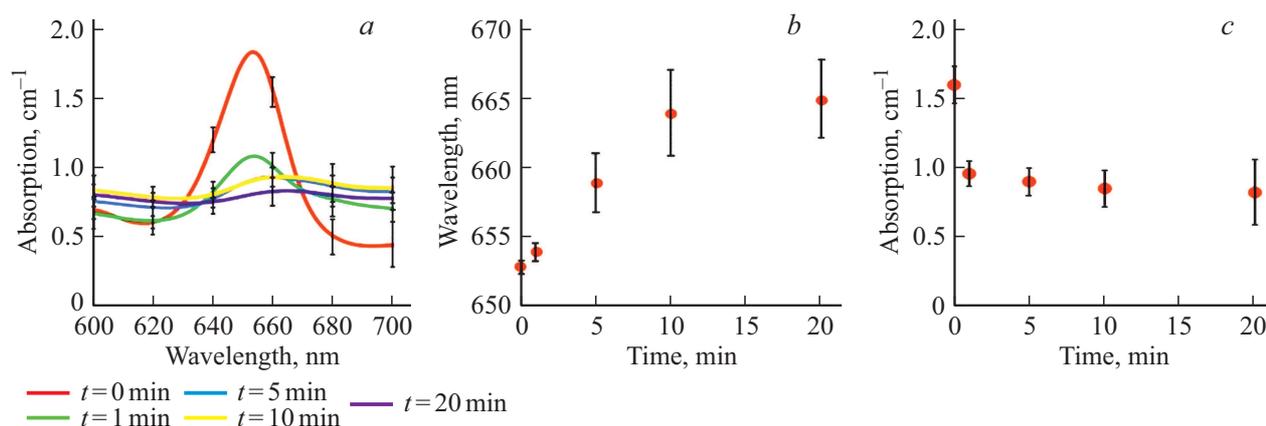


Рис. 4. Спектры поглощения в диапазоне 600–700 nm (a), длина волны положения максимума полосы поглощения (b) и коэффициент поглощения на длине волны 654 nm (c) водного раствора „Revixan“ ($C = 1.4\%$) в зависимости от времени воздействия излучения „LED Forester 660“ при фиксированной интенсивности ($180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$) светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$.

Таблица 2. Внешний вид и параметры изображения CIE Lab водного раствора „Revixan“ ($C = 1.4\%$) при различном времени светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$ ($I = 1.0$)

Время воздействия, min	0	1	5	10	20
Внешний вид					
L	138	151	155	155	172
a	116	120	122	122	122
b	168	165	159	164	163

Следует отметить, что изменение начальной концентрации „Revixan“ с 3.5% до 1.4% существенно не отразилось на величинах CIE Lab параметров, что может быть связано с малой чувствительностью модели CIE Lab к таким изменениям. С ростом времени воздействия светодиодного излучения от 0 до 20 min цветовые параметры изображения CIE Lab водного раствора „Revixan“ ($C = 1.4\%$) изменяются. При световой дозе 216.24 J/cm^2 параметр L увеличивается в 1.25 раза, параметр a увеличивается в 1.05 раза, параметр b уменьшается в 1.03 раза. Очевидно, что наиболее чувствительным к изменению интенсивности и времени воздействия светодиодного излучения параметром CIE Lab является L . Таким образом, спектральные изменения сопровождаются осветлением раствора, которое может быть связано как со сдвигом положения пика поглощения в ИК область, так и с уменьшением его амплитуды в результате светодиодного воздействия, и является дополнительным визуально- и программно-различимым эффектом, характеризующим изменение „Revixan“ под

действием светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$.

Зависимости, характеризующие поведение спектра поглощения водного раствора „Chloderm“ при изменении интенсивности и времени светодиодного воздействия с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$, представлены на рис. 5 и 6 соответственно.

При фиксированном времени воздействия увеличение интенсивности светодиодного воздействия приводит к нелинейному уменьшению коэффициента поглощения „Chloderm“ на длине волны 654 nm (k_{Ch_654}), которая соответствует пику полосы поглощения фотосенсибилизирующего препарата в начальном состоянии. При фиксированной интенсивности воздействия увеличение времени светодиодного воздействия также приводит к нелинейному падению коэффициента поглощения k_{Ch_654} на этой длине волны. В течение 10 min облучения наиболее существенное уменьшение k_{Ch_654} (на 2.2 cm^{-1}) наблюдается при изменении интенсивности излучения I от 0 до 0.25, в то время как при изменении интенсивности излучения от 0.75 до 1.0

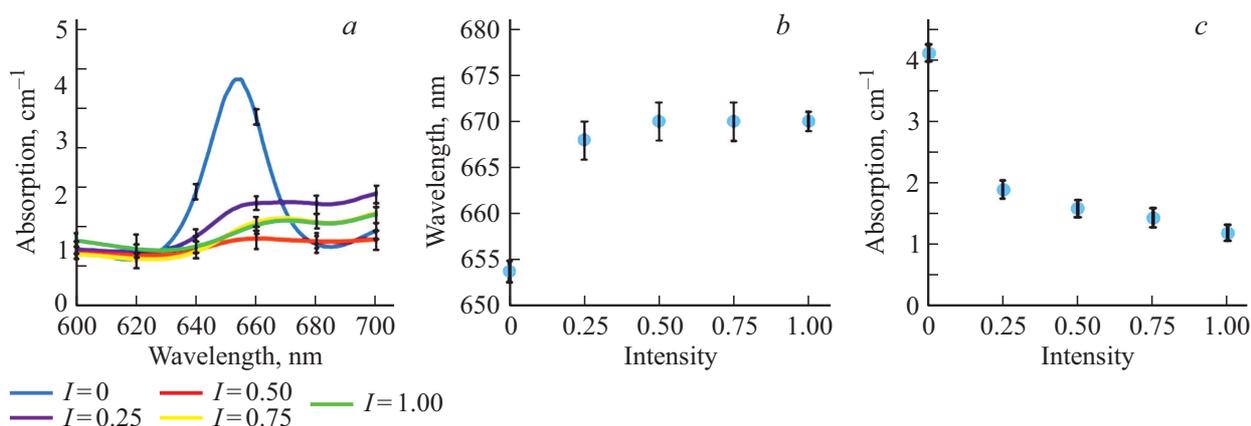


Рис. 5. Спектры поглощения в диапазоне 600–700 nm (a), длина волны положения максимума полосы поглощения (b) и коэффициент поглощения на длине волны 654 nm (c) водного раствора „Chloderm“ ($C = 1.7\%$) в зависимости от интенсивности излучения „LED Forester 660“ при фиксированном времени (10 min) воздействия светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm.

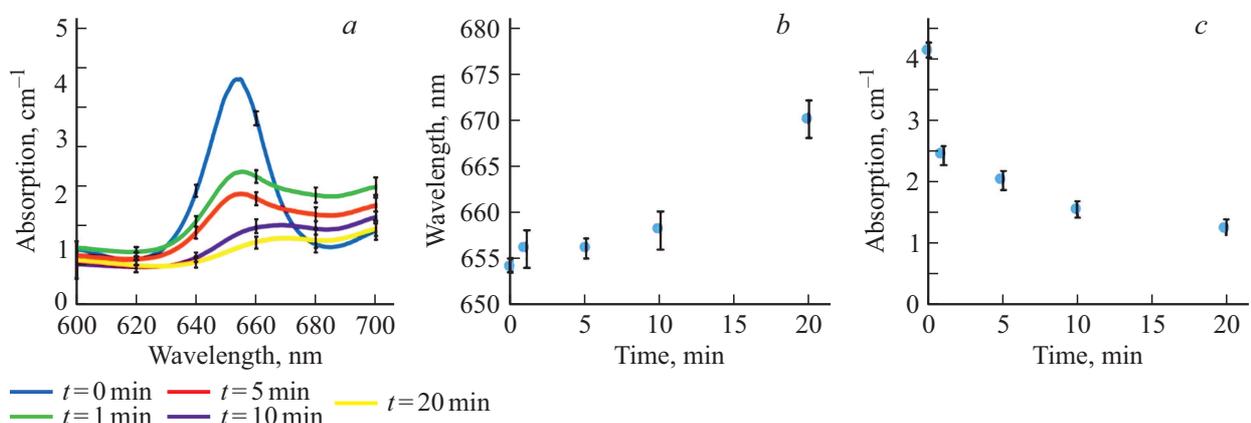


Рис. 6. Спектры поглощения в диапазоне 600–700 nm (a), длина волны положения максимума полосы поглощения (b) и коэффициент поглощения на длине волны 654 nm (c) водного раствора „Chloderm“ ($C = 1.7\%$) в зависимости от времени воздействия излучения „LED Forester 660“ при фиксированной интенсивности (180 ± 20 mW/cm²) светодиодного излучения с длиной волны 656 ± 10 nm.

$k_{\text{Ch}_{654}}$ уменьшается только на 0.25 cm^{-1} . Облучение при максимальной интенсивности приводит к тому, что в диапазоне 0–1 min коэффициент поглощения $k_{\text{Ch}_{654}}$ изменяется на величину, большую, чем в диапазоне 10–20 min. При максимальной интенсивности светодиодного воздействия $180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$ и времени воздействия 10 min (световая доза $108 \pm 12 \text{ J/cm}^2$) коэффициент поглощения $k_{\text{Ch}_{654}}$ ($C = 1.7\%$) уменьшается в 2.7 раза, а положение пика поглощения сдвигается на 16 nm в ИК область и становится равным 670 nm. При максимальной интенсивности светодиодного воздействия $180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$ и времени воздействия 20 min (световая доза $216 \pm 24 \text{ J/cm}^2$) коэффициент поглощения $k_{\text{Ch}_{654}}$ ($C = 1.7\%$) уменьшается в 3.4 раза, а положение пика поглощения, так же как и при световой дозе $108 \pm 12 \text{ J/cm}^2$, сдвигается на 16 nm в ИК область и становится равным 670 nm.

Спектры водных растворов МС до и после светодиодного воздействия с длиной волны 656 ± 10 nm представлены на рис. 7.

Видно, что спектр поглощения МС изменяется в зависимости от концентрации (C) красителя в воде. При низкой объемной концентрации ($C = 0.001\%$) в спектре наблюдаются две полосы с максимумами на 623.1 и 672.1 nm, которые можно отнести к димерам и мономерам соответственно. При этом коэффициент поглощения МС ($k_{\text{МВ}_{\text{длина волны}}}$) на длине волны 672 nm составляет $26 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ и превышает коэффициент поглощения на длине волны 623 nm ($k_{\text{МВ}_{623}} = 22.5 \text{ cm}^{-1}$). При концентрации $C = 0.01\%$ в спектре также наблюдаются две полосы с максимумами на 623.1 и 672.1 nm, однако в этом случае соотношение коэффициентов поглощения изменяется — поглощение на длине волны 672 nm увеличивается до $55 \pm 7 \text{ cm}^{-1}$, но становится ниже поглощения на длине волны 623 nm ($k_{\text{МВ}_{623}} = 60.7 \text{ cm}^{-1}$).

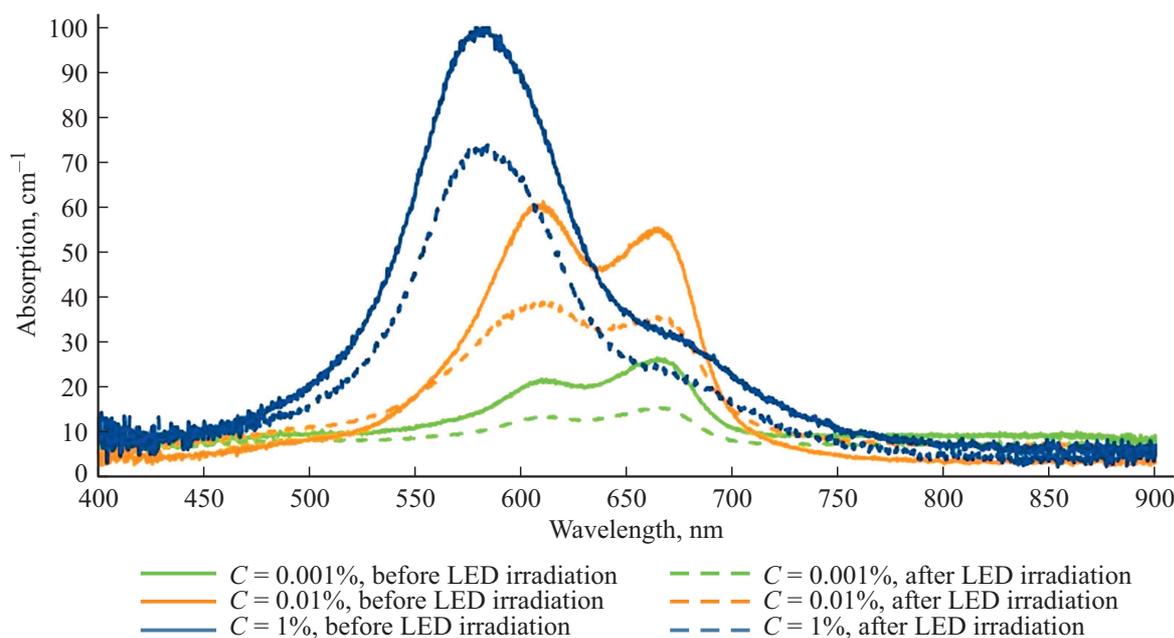


Рис. 7. Спектры поглощения водных растворов МС с различной начальной концентрацией до и после воздействия излучения „LED Forester 660“ (10 min) с фиксированной интенсивностью $180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$.

При высокой концентрации ($C = 1\%$) в спектре доминирует полоса поглощения с максимумом на длине волны $580 \pm 1 \text{ nm}$ ($k_{\text{МВ}_580} = 99 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$), которую можно отнести к тримерам, полоса поглощения $623 \pm 1 \text{ nm}$ ($k_{\text{МВ}_623} = 79 \pm 8 \text{ cm}^{-1}$) не разрешается, а коэффициент поглощения на длине волны 672 nm падает до $32 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$.

Воздействие светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$ интенсивностью $180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$ в течение 10 min (световая доза $108 \pm 12 \text{ J/cm}^2$) приводит к изменению спектра поглощения водного раствора МС с различной начальной концентрацией. На длине волны 672 nm поглощение уменьшилось на 38.9, 36.9 и 25.7% для концентраций 0.001, 0.01 и 1% соответственно. На длине волны 623 nm поглощение уменьшилось на 33.8%, 35.9% и 27.7% для концентраций 0.001%, 0.01% и 1% соответственно. На длине волны 580 nm (для концентрации $C = 1\%$) поглощение уменьшилось на $26 \pm 7\%$. Уменьшение поглощения для всех концентраций МС может быть вызвано фоторазрушением красителя и связанным с этим уменьшением его концентрации. При этом после светодиодного воздействия мы не наблюдали изменений формы спектра для каждой из исследованных начальных концентраций красителя. В этой связи можно сделать вывод о том, что воздействие с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$ и интенсивностью $180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$ в течение 10 min не вызывает падения концентрации, достаточного для изменения конформационного состояния МС.

Заключение

Исследованы изменения в спектре поглощения водных растворов современных хлоринсодержащих фотосенсибилизирующих препаратов для фотодинамической терапии „Revixan“ („Ареал“, Россия) и „Chloderm“ („Хлодерм“, Россия) в зависимости от интенсивности и времени воздействия светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$. Исследованы параметры цветовой модели CIE Lab изображения водного раствора „Revixan“ до и после светодиодного воздействия. Исследованы изменения в спектре поглощения водного раствора МС с различной начальной концентрацией после воздействия светодиодного излучения с длиной волны $656 \pm 10 \text{ nm}$ и интенсивностью $180 \pm 20 \text{ mW/cm}^2$.

Для хлоринсодержащих фотосенсибилизирующих препаратов светодиодное воздействие привело к нелинейному в зависимости от интенсивности и времени воздействию, уменьшению коэффициента поглощения пика полосы поглощения, соответствующего длине волны $654 \pm 1 \text{ nm}$, и смещению этого пика в ИК область. Оба исследованных хлоринсодержащих препарата продемонстрировали схожий характер спектральных зависимостей и реакции на светодиодное воздействие, что обусловлено использованием в этих препаратах вещества „Chlorine e6“ в качестве фотодинамического агента.

Для МС светодиодное воздействие привело к уменьшению поглощения в диапазоне 400–900 nm, при этом не наблюдалось смещение максимумов полос поглощения на длинах волн, соответствующих определенным конформационным состояниям красителя.

Полученные в работе результаты могут быть полезны для более полного понимания процессов, происходящих при ФДТ различных заболеваний, в том числе при ФДТ онихомикоза, при построении моделей, описывающих взаимодействие света с фотосенсибилизаторами в биоткани, а также при выработке рекомендаций, касающихся сценария ФДТ, учитывающего процесс фотообесцвечивания фотодинамического агента и динамику его поглощения на длине волны возбуждающего излучения. Наблюдаемое в работе изменение параметров CIE Lab может быть полезно при экспресс-диагностике состояния хлоринсодержащего препарата до и после светодинамического воздействия. Например, отклонение параметра L от значения, соответствующего норме, может помочь при входном контроле и улучшить качество лечения. Знание изменений коэффициента поглощения фотосенсибилизатора, связанных с изменением его поглощения вследствие светового воздействия или в результате изменений его концентрации при проникновении в биоткань, в сочетании с учетом ослабления интенсивности возбуждающего излучения при его распространении в биоткани позволит адекватно определить поглощенную фотосенсибилизатором дозу светового излучения и наилучшим образом подобрать длину волны, интенсивность и время действия излучения, необходимые для наиболее эффективной ФДТ новообразований, локализованных на различных глубинах в биоткани.

Благодарности

Авторы выражают благодарность проф. Гельфонду М.Л. (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова) за предоставленные образцы современных хлоринсодержащих фотосенсибилизирующих препаратов.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Университета ИТМО среди ведущих мировых научно-образовательных центров на 2013–2020 гг. (программа „5 в 100“, грант 08-08).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Shishkova N., Kuznetsova O., Berezov T. // *Cancer Bio Med.* 2012. V. 9. N 1. P. 9–17.
- [2] Frova G., Quintel M. // *Intensive Care Med.* 2002. V. 28. P. 299.
- [3] Maibach H.I., Bashir S.J., McKibbin A. // *BC Decter Inc.* 2002. P. 290.
- [4] Park Y-K., Park C-H. // *Obstet Gynecol Sci.* 2016. V. 59. Iss. 6. P. 479–488.
- [5] Церковский Д.А., Маслаков Е.А., Багринцев Д.А., Семак И.А., Протопович Е.З., Чиж А.Г., Татур А.А., Фоменков И.С., Ступак Д.С. // *Biomed. Photonics.* 2018. V. 7. N 2. P. 37–49.
- [6] Стрункин Д.Н., Жарикова И.П., Кожевников Ю.А., Задонцева Н.С. // *Biomed. Photonics.* 2017. V. 6. N 2. P. 38–40.
- [7] Каприн А.Д., Рассказова Е.А., Филоненко Е.В., Сарубеян Э.К., Зикиряходжаев А.Д., Чиссов В.И. // *Biomed. Photonics.* 2017. V. 6. N 2. P. 34–37.
- [8] Rodriguez-Prieto M.A., Valladares-Narganes L.M., Gonzalez-Sixto B., Noguerol-Cal M. // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2013. V. 68. N 5. P. 873–875.
- [9] Capocci M., Mohsen M., Lo Giudice R., Del Vecchio A., Gaimari G. et al. // *Proc. SPIE.* 2016. V. 9670. P. 967009-1.
- [10] Russo C., Palaia G., Loskutova E., Libotte F., Kornblit R. et al. // *Proc. SPIE.* 2016. V. 9670. P. 96700D-1.
- [11] Aureliano P.M.C., Andreani D.I., Morete V., Giraldeci S.I., Baptista A. et al. // *Proc. SPIE.* 2018. V. 10479. P. 104791L-1.
- [12] Юцковский А.Д., Кулагина Л.М., Паулов О.И. // *Материалы 2-го Съезда микологов России.* Национальная академия микологии, 2008. Т. 2. С. 548.
- [13] den Hollander C., Visser J., de Haas E., Incrocci L., Smijs T. // *J. Fungi.* 2015. V. 1. P. 138–153.
- [14] Liddell L.T., Rosen T. // *J. Fungi.* 2015. V. 1. P. 44–54.
- [15] Christenson J.K., Peterson G.M., Naunton M., Bushell M., Kosari S., Baby K.E., Thomas J. // *J. Fungi.* 2018. V. 4. N 3. P. 87.
- [16] Bhatta A.K. et al. // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2016. V. 15. P. 228–235.
- [17] Thatai P., Sapra B. // *Ann. Pharmacol. Pharm.* 2017. V. 2. N 2. P. 1014.
- [18] Юсупов А.С., Юсупова Д.А., Юсупова Н.А. Патент РФ № 2010113705/14, 2010.
- [19] Тучин В.В. // *УФН.* 1997. Т. 167. В. 5. С. 517–539.
- [20] Калинин М.Н., Румянцева В.А., Жмакина И.А., Давыдова Б.Н., Баканова К.Б., Тетарчука В.В., Артамонова А.А. // *Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию деятельности стоматологического факультета Тверской государственной медицинской академии на Тверской земле.* 2014.
- [21] Belikov A.V., Semyashkina Y.V., Modin M.A., Gelfond M.L., Sergeeva E.I. // *Proc. SPIE.* 2019. V. 11065. P. 1106517.
- [22] Курочкина А.Ю., Плавский В.Ю., Юдина Н.А. // *Медицинский журнал.* 2010. № 2. С. 131–133.
- [23] Junqueira H.C., Severino D., Dias L.G., Gugliotti M., Baptista M.S. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2002. V. 4. P. 2320–2328.
- [24] Pupo Y.M., Gomes G.M., Santos E.B., Chaves L., Michel M.D., Kozłowski V. Jr., Gomes O.M., Gomes J.C. // *Acta Odontol. Latinoam.* 2011. V. 24. N 2. P. 188–192.
- [25] Tardivo J.P., Giglio A.D., Paschoal L.H., Baptista M.S. // *Photomed. Las. Surg.* 2006. V. 24. N 4. P. 528–531.
- [26] Orth K., Rück A., Beck G., Stanescu A., Beger H.G. // *Z. Alle Gebiete. Operat. Med.* 1995. V. 66. N 12. P. 1254–1257.
- [27] Bugaj A., Kwitniewski M., Iani V., Juzeniene A., Juzenas P., Ma L.W., Moan J. // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2007. V. 4. N 4. P. 237–241.
- [28] James N.S., Cheruku R.R., Missert J.R., Sunar U., Pandey R.K. // *Molecules.* 2018. V. 23. N 8. P. 1842–1853.
- [29] Kurakina D. et al. // *Appl. Sci.* 2019. V. 9. P. 1918.

- [30] *Georgakoudi I., Foster T.H.* // Photochem. Photobiol. 1998. V. 67. P. 612–625.
- [31] *Georgakoudi I., Nichols M.G., Foster T.H.* // Photochem. Photobiol. 1997. V. 65. N 1. P. 35–144.
- [32] *Ishii K., Shiine M., Shimizu Y., Hoshino S., Abe H., Sogawa K., Kobayashi N.* // J. Phys. Chem. B. 2008. V. 112. V. 10. P. 3138-3143.
- [33] *Moan J., Iani V., Ma L.W.* // J. Photochem. Photobiol. 1998. V. 42. P. 100–103.
- [34] *Moan J., Iani V., Ma L.W., Peng Q.* // Proc. SPIE. 1996. V. 2625. P. 187–193.
- [35] *Ma L.W., Moan J., Grahn M.F., Iani V.* // Proc. SPIE. 1996. V. 2924. N 2. P. 19–225.
- [36] *Robinson D.J., de Bruijn H.S., van derVeen N., Stringer M.R., Brown S.B., Star W.M.* // Photochem. Photobiol. 1998. V. 67. P. 140–149.
- [37] *Forrer M., Glanzmann T., Braichotte D., Wagnieres G., van den Bergh H., Savary J.F., Monnier Ph.* // Proc. SPIE. 1996. V. 2627. P. 33–39.
- [38] *Potter W.R., Mang T.S., Dougherty T.J.* // Photochem. Photobiol. 1987. V. 46. P. 853–858.
- [39] *Wilson B.C., Patterson M.S., Lilge L.* // Las. Med. Sci. 1997. V. 12. P. 182–199.
- [40] *Hawkes R.P., Farrell T.J., Patterson M.S., Weersink R.A.* // Proc. SPIE. 1997. V. 2975. P. 208–221.
- [41] Цвет в промышленности / Под ред. Мак-Дональда Р. М.: Логос, 2002. 596 с.
- [42] *Юстова Е.Н.* Цветовые измерения (Колориметрия). СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского ун-та, 2000. 397 с.
- [43] *Беликов А.В., Семьяшкина Ю.В., Модин М.А., Жубрëв Д.Р.* // Научно-техн. вестник информ. технологий, механики и оптики. 2017. Т. 17. № 5. 111. С. 782–789.