

УДК 57.085.21

DOI: 10.37895/2071-8004-2021-25-2-41-47

ВОЗМОЖНОСТИ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОРОГОВЫХ ДОЗ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ

Ю.В. Алексеев¹, О.В. Миславский^{1,2}, В.А. Дуванский^{1,3}, Р.А. Дуванский^{1,4}, Н.В. Дроздова¹¹ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства», г. Москва, Россия²ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» Федерального медико-биологического агентства, г. Москва, Россия³ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия⁴ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Лечебно-реабилитационный центр»» Минздрава России, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. В статье описана методика определения эффективности фотосенсибилизаторов порфиринового ряда на основе подбора их концентрации, вызывающих гемолиз эритроцитов (порог гемолиза). Порог гемолиза определяется при условиях: облучение в полосе Соре при стандартных параметрах – плотность мощности, экспозиционная доза, время облучения.

Материалы и методы. Фототерапевтический аппарат на базе лазерных диодов «АСТ» (ООО «Панков-медикл»), с выходной мощностью 0,5 Вт, длиной волны ≈ 405 нм. Эритроциты крови крыс. Аппарат Multiscan MS производства фирмы Labsystems, Финляндия. Препарат «Димегин», производное гематопорфирина, препарат «Фотодитазин» (ООО «ВЕТА-ГРАНД»), производное хлорина Е6.

Результаты. Анализ результатов на примере этих препаратов показал высокую эффективность предложенной методики. При облучении в полосе Соре выяснилось, что исследуемые фотосенсибилизаторы по эффективности не уступают друг другу.

Заключение. Методика является простой в исполнении и может быть применена для оценки эффективности различных фотосенсибилизаторов, что облегчит подбор их необходимых концентраций при терапии различных заболеваний.

Ключевые слова: фотосенсибилизаторы, оценка эффективности фотосенсибилизаторов, порог гемолиза эритроцитов, фотодинамический эффект, фотодинамическая терапия

Для цитирования: Алексеев Ю.В., Миславский О.В., Дуванский В.А., Дуванский Р.А., Дроздова Н.В. Возможности оценки эффективности фотосенсибилизаторов на основе определения пороговых доз, вызывающих гемолиз эритроцитов. Лазерная медицина. 2021; 25 (2): 41–47. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2021-25-2-41-47>

Контакты: Алексеев Ю.В., e-mail: ural377@mail.ru

ASSESSMENT OF PHOTOSENSITIZER EFFICACY AFTER DETERMINATION OF THE THRESHOLD DOSES INITIATING ERYTHROCYTE HEMOLYSIS

Alekseev Yu.V.¹, Mislavsky O.V.^{1,2}, Duvanskiy V.A.^{1,3}, Duvanskiy R.A.^{1,4}, Drozdova N.V.¹¹Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, Moscow, Russia²National Research Center – Institute of Immunology, Moscow, Russia³Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia⁴Treatment and Rehabilitation Center of National Medical Research Center, Moscow, Russia

Abstract

Purpose: To find out a technique for determining the effectiveness of porphyrin-type photosensitizers with concentrations which cause hemolysis in erythrocytes (hemolysis threshold). The hemolysis threshold is found under the following conditions: irradiation in the Soret band with standard parameters – power density, exposure dose, irradiation time.

Material and methods. Phototherapeutic device “AST” (LLC “Pankov-medical”) – average power 0.5 W, wavelength ≈ 405 nm. Rat blood erythrocytes. “Multiscan MS” device manufactured by Labsystems, Finland. Preparation “Dimegin”, hematoporphyrin derivative; preparation “Photoditazine” (LLC “VETA-GRAND”), chlorine E6 derivative.

Results. On analyzing the results obtained after experimentation with the abovementioned two preparations, it was shown that the developed technique has a high efficacy. It was also shown that the studied photosensitizers are equally effective when irradiated in the Soret band.

Conclusion. The developed technique is simple and easy to use. It helps to assess the efficacy of various photosensitizers thus, facilitating the selection of their necessary concentrations for managing different diseases.

Key words: photosensitizers, assessment of photosensitizer efficiency, threshold of erythrocyte hemolysis, photodynamic effect, photodynamic therapy

For citations: Alekseev Yu.V., Mislavsky O.V., Duvanskiy V.A., Duvanskiy R.A., Drozdova N.V. Assessment of the photosensitizer efficacy after determination of threshold doses initiating erythrocyte hemolysis. Lazernaya medicina. 2021; 25(2): 41–47. [In Russ.]. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2021-25-2-41-47>

Contacts: Alekseev Yu.V., e-mail: ural377@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Изучение биологического действия фотосенсибилизаторов (ФС) с облучением терапевтическими лазерными источниками необходимо рассматривать в прикладном аспекте в доклинических исследованиях.

Эффективность ФС можно оценивать по различным критериям, таким как их физико-химические свойства (фотостабильность, интенсивность флуоресценции, эффективность генерации синглетного кислорода и т. д.) [1]. Эти критерии очень важны для последующего производства и определения перспектив применения ФС.

Однако они не позволяют определить степень воздействия на биологические мишени. Оценка эффективности ФС на биологических объектах *in vitro* (клетки водорослей, микроорганизмы, культуры клеток различных тканей, в том числе и опухолевых) дает возможность более полно оценить ожидаемые от них эффекты *in vivo*, подобрать необходимые концентрации препаратов и параметры облучения, провести их скрининг для дальнейшего клинического применения [2–9]. В наше время уже имеются ФС различных классов (синтетические ФС, такие как фталоцианины, производные гематопорфирина, хлорина Е6, бактериохлоринов и т. д.), которые успешно применяются в клинике. В связи с расширением практики применения фотодинамической терапии (ФДТ) продолжается поиск и разработка все новых и новых ФС с улучшенными качествами для лечения онкологических и неонкологических заболеваний [10–13].

Также продолжается поиск новых источников излучения в спектре действия этих ФС. Надо учитывать, что дальнейшее развитие медицины будет связано с развитием нанотехнологий, и это будет отражаться на способах воздействия на биологические мишени при патологических процессах и способах доставки лекарственных веществ к этим мишеням. Таким образом, фотодинамическое воздействие в перспективе будет осуществляться как на уровне целого организма, так на органном, тканевом, клеточном и, возможно, молекулярном уровнях. Для этого требуется

использовать фотосенсибилизаторы и мощность излучения применяемых источников с оценкой безопасных и эффективных параметров.

Можно проводить оценку сравнительной эффективности ФС и при клиническом применении с помощью лазерной биофотометрии, капилляроскопии, флуоресцентной спектроскопии (в том числе оценивается и степень снижения флуоресценции в процессе ФДТ), а также фотоплетизмографии и лазерной доплеровской флуоресценции по измерению кровотока [14–17]. Но нет сомнений, что оценка эффективности имеет наибольший смысл в доклинических исследованиях, что позволяет определить наиболее подходящие и безопасные методики ФДТ. Это не отменяет учет критериев сравнения уже используемых ФС для каждой нозологической формы.

Работами отечественных исследователей показано, что эритроциты крови являются эффективным объектом оценки ФС по их гемолитической активности, так как последние имеют тропность к клеточным мембранам [18–21]. Мы предлагаем использовать гемолитическую модель действия фотосенсибилизаторов в качестве биологического эквивалента фотодинамического воздействия в упрощенном варианте. Таким образом, можно сравнительно оценивать необходимые дозы облучения и количество ФС по их воздействию на гемолиз эритроцитов, то есть эти параметры можно принять за биологическую единицу фотодинамического действия. При этом эквивалент этих параметров можно переносить на различные длины волн в зависимости от спектра их поглощения, так как речь идет в основном о фотосенсибилизаторах порфиринового ряда, у которых максимум поглощения приходится на полосу Soret.

Нами предложено определение концентрации ФС, являющейся пороговой для начала гемолиза эритроцитов, которая фиксируется измерением оптической плотности продуктов гемолиза эритроцитов (выход гемоглобина) [22].

Для этого нужен стандартный источник излучения со стандартной мощностью и плотностью облучения в диапазоне 390–410 нм (полоса Soret).

Цель нашего исследования: подтверждение эффективности пороговой дозы гемолиза эритроцитов при воздействии на различные ФС.

В качестве примера, подтверждающего эффективность данной методики, нами произведена оценка фотодинамического эффекта производного гематопорфирина – водорастворимая соль 2,4-ди-(альфа-метоксиэтил)-дейтеропорфирина-IX (Димегина) (рис. 1) и производного хлорина Е6 (Фотодитазина).

Димегин предназначен для лечения онкологических и неонкологических заболеваний, но пока не прошел клинических испытаний. В то же время препарат Фотодитазин разрешен для клинического применения (производство ООО «ВЕТА-ГРАНД»). Оба препарата имеют также спектры поглощения в применяемом в широкой клинической практике красном диапазоне: Димегин – 625–630 нм, Фотодитазин – 650–660 нм.

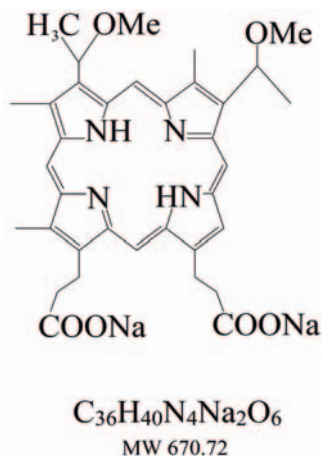


Рис. 1. Формула Димегина

Fig. 1. Dimegin formula

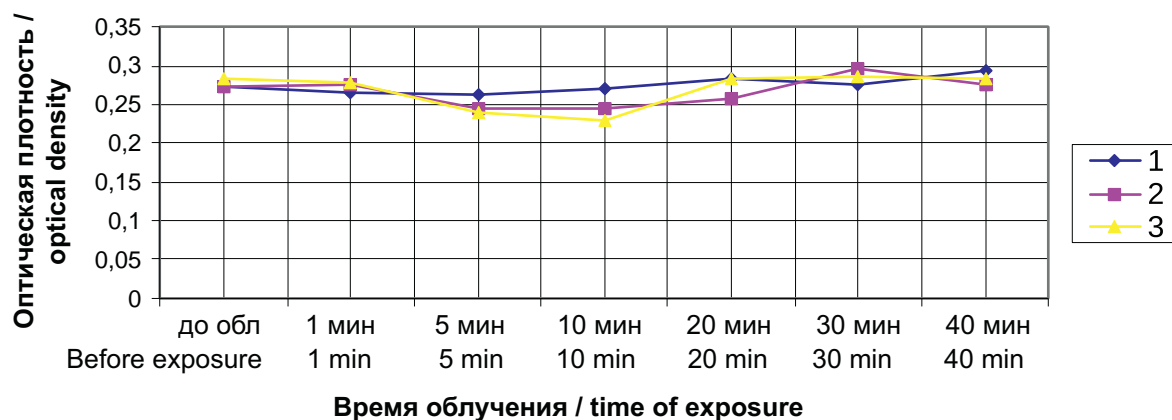


Рис. 2. Динамика фотогемолиза суспензии эритроцитов при воздействии Димегина в дозе 0,975 мкг/мл с облучением при длине волны 405 нм и с облучением без Димегина, измеряемая по оптической плотности при 690 нм. **1** – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе без облучения, **2** – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с облучением, **3** – экспериментальный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с добавлением раствора Димегина с облучением

Fig. 2. Dynamics of photohemolysis of erythrocyte suspension when exposed to Dimegin at dose 0.975 µg/ml with irradiation at 405 nm and with irradiation without Dimegin, measured by the optical density at 690 nm. **1** – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution without irradiation, **2** – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution with irradiation, **3** – experimental sample, suspension of erythrocytes in the saline solution with added Dimegin solution with irradiation

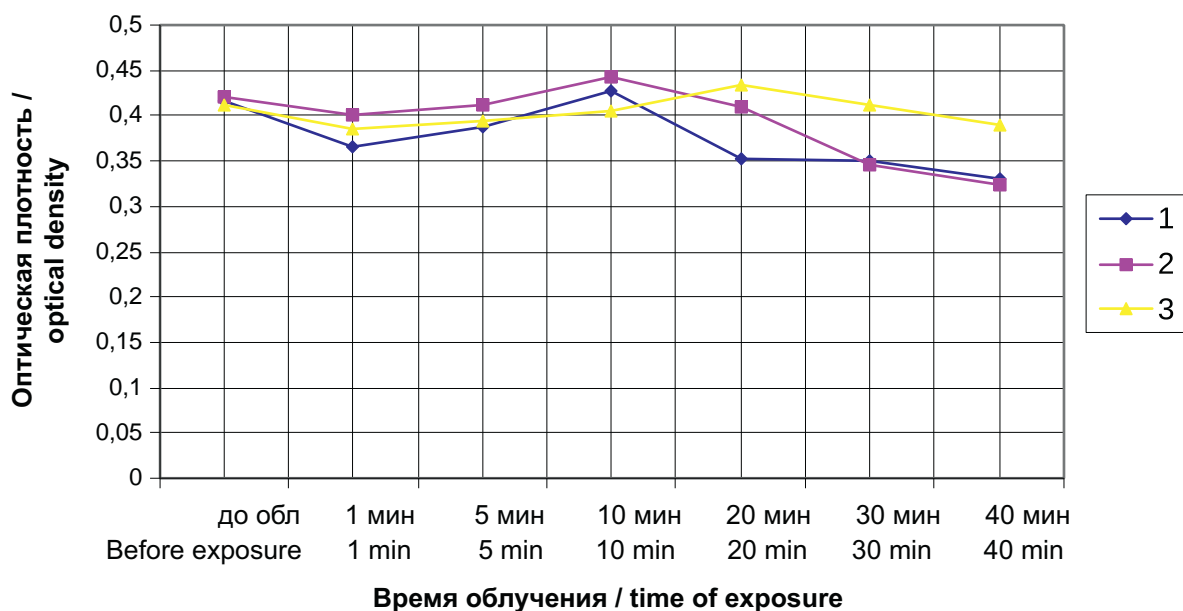


Рис. 3. Динамика фотогемолиза суспензии эритроцитов при воздействии Фотодитазина в дозе 0,975 мкг/мл с облучением при длине волны 405 нм и с облучением без Фотодитазина, измеряемая по оптической плотности при 690 нм. **1** – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе без облучения, **2** – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с облучением, **3** – экспериментальный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с добавлением раствора Фотодитазина с облучением

Fig. 3. Dynamics of photohemolysis of erythrocyte suspension when exposed to 0.975 µg/ml Photoditazine with irradiation at 405 nm and with irradiation without Photoditazine, measured by optical density at 690 nm. **1** – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution without irradiation, **2** – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution with irradiation, **3** – experimental sample, suspension of erythrocytes in the saline solution with added Photodetazine solution with irradiation

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании применялся аппарат фототерапевтический на базе лазерных диодов «АСТ» производства ООО «Панков-медикл», с выходной мощностью 0,5 Вт и длиной волны ≈ 405 нм. Эксперимент проводился на эритроцитах крови, взятой из подъязычной

вены у крыс самцов массой 400–450 г. Брали 1 мл крови в мерную пробирку, содержащую 3 мл физиологического раствора. Далее осаждали эритроциты на центрифуге, удаляли тромб и отмывали. Отмытые эритроциты разводили физиологическим раствором до оптической плотности 0,6–0,7, измеряемой

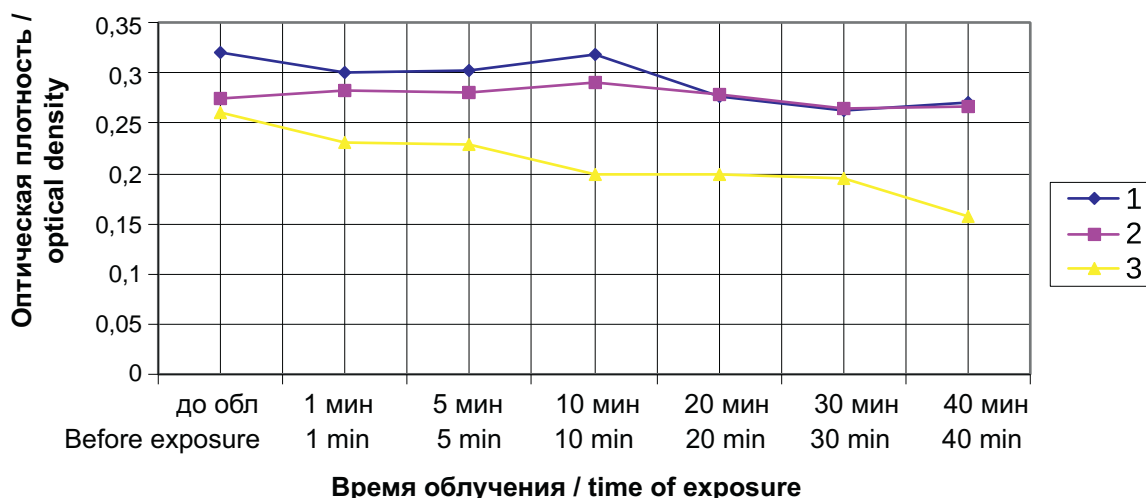


Рис. 4. Динамика фотогемолиза суспензии эритроцитов при воздействии Димегина в дозе 1,95 мкг/мл с облучением при длине волны 405 нм и с облучением без Димегина, измеряемая по оптической плотности при 690 нм. 1 – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе без облучения, 2 – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с облучением, 3 – экспериментальный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с добавлением раствора Димегина с облучением

Fig. 4. Dynamics of photohemolysis of erythrocyte suspension when exposed to Dimegin at dose of 1.95 µg/ml with irradiation at wavelength 405 nm and with irradiation without Dimegin, measured by optical density at 690 nm. 1 – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution without irradiation, 2 – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution with irradiation, 3 – experimental sample, suspended erythrocytes in the saline solution with added Dimegin solution with irradiation

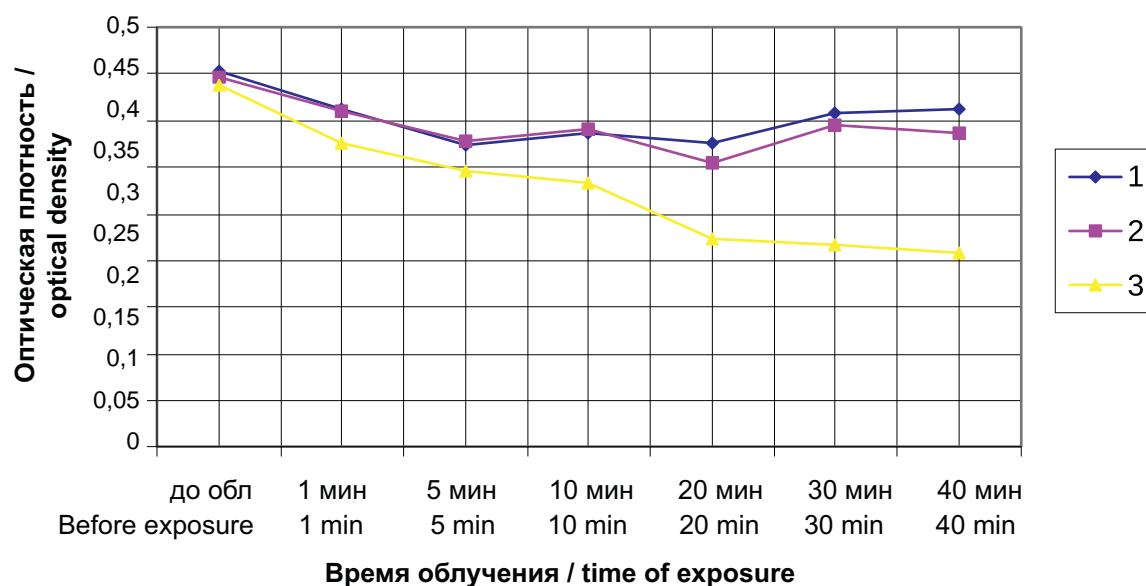


Рис. 5. Динамика фотогемолиза суспензии эритроцитов при воздействии Фотодитазина в дозе 1,95 мкг/мл с облучением при длине волны 405 нм и с облучением без Фотодитазина, измеряемая по оптической плотности при 690 нм. 1 – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе без облучения, 2 – контрольный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с облучением, 3 – экспериментальный образец, взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с добавлением раствора Фотодитазина с облучением

Fig. 5. Dynamics of photohemolysis of erythrocyte suspension when exposed to Photoditazine at dose 1.95 µg/ml with irradiation at wavelength 405 nm and with irradiation but without Photoditazine, measured by optical density at 690 nm. 1 – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution without irradiation, 2 – control sample, erythrocyte suspension in the saline solution with irradiation, 3 – experimental sample, erythrocyte suspension in the saline solution with added Photoditazine solution with irradiation

с помощью аппарата Multiscan MS (Labsystems, Финляндия). В пластиковую чашку диаметром 57 мм, высотой 14 мм к 1 мл взвеси разведенных эритроцитов добавляли 1 мл Димегина, растворенного

в физиологическом растворе в одном эксперименте, а в другом эксперименте – 1 мл Фотодитазина в физиологическом растворе. Контролями в данной работе служили: 1) взвесь эритроцитов

в физиологическом растворе без облучения, 2) взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с облучением. Экспериментальные образцы: 3) взвесь эритроцитов в физиологическом растворе с добавлением раствора Димегина (или Фотодитазина) с облучением. Объем экспериментальной смеси составлял 2 мл с концентрацией $\sim 7 \times 10^6$ клеток в 1 мл. Облучение проводили с экспозиционной дозой 1,2 Дж/см², в течение 1 мин с расстояния 5 см. Площадь облученной поверхности равнялась 25,5 см². Регистрацию оптической плотности вели до облучения и после облучения через 1, 5, 10, 20, 30 и 40 минут.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результатом проведенного исследования явилось то, что были определены концентрации Димегина и Фотодитазина (рис. 2, 3), не вызывающие гемолиза эритроцитов, которые соответствовали значению 0,975 мкг/мл. Концентрации Димегина и Фотодитазина, при которых наблюдалось проявление гемолиза суспензии эритроцитов, составляли 1,95 мкг/мл. На рисунках 4 и 5 видно, что на 10-й минуте после воздействия облучения совместно с фотосенсибилизаторами, происходит уменьшение оптической плотности по сравнению с контролями 1 и 2, которое свидетельствует о начале гемолиза суспензии эритроцитов.

Изначальным маточным раствором для исследования фотогемолиза Димегина и Фотодитазина являлся раствор 1 мг/мл (1000 мкг/мл), который разводили в два раза, получая следующие концентрации: 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81, 3,9, 1,95, 0,975 мкг/мл. В качестве стартовой концентрации использовали концентрацию 125 мкг/мл, которая приводила к фотогемолизу суспензии эритроцитов, не приводя к сильному изменению окраски самой суспензии. Концентрацией, вызывающей эффективный фотогемолиз, для Димегина и Фотодитазина являлась концентрация 31,25 мкг/мл, после которой шло постепенное уменьшение эффективности фотогемолиза суспензии эритроцитов, определяемое показателями оптической плотности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предлагаемый метод исследования эффективности фотосенсибилизаторов порфиринового ряда является сравнительно простым и информативным. Оценивая эффективность исследуемых веществ с облучением в полосе Соре и зная их спектральные характеристики, можно оценить их эффективность и в других диапазонах длин волн по соотношению пиков поглощения. Метод подходит для стандартизации подобных препаратов. Полученные данные можно размещать в качестве справочной информации в каталогах для удобства при сравнении разных фотосенсибилизаторов. Возможно, вещества с известными молекулярными формулами будут модифицированы для усиления генерации синглетного кислорода

с облучением определенными длинами волн. Таким образом, можно будет определять фотогемолиз при их оптимальных концентрациях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дадеко А.В. Исследование фотофизических свойств димегина как фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики: автореф. дисс. ... канд. физ.-мат. наук. СПб.; 2018.
2. Козел Н.В., Шалыго Н.В. Способ оценки фототоксичности фотосенсибилизатора. Патент на изобретение ВУ 15504 С1, 28.02.2012. Заявка № 20081283 от 13.10.2008.
3. Якубовская Р.И., Плютинская А.Д., Лукьянец Е.А. Сравнительное изучение фотосенсибилизаторов различных классов в системе *in vitro*. Фталоцианины. *Российский биотерапевтический журнал*. 2014. 13 (4): 65–72.
4. Макарова Е.А., Якубовская Р.И., Ворожцов Г.Н., Ластовой А.П., Лукьянец Е.А., Морозова Н.Б., Плотникова Е.А. Фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии. Патент на изобретение RU 2549953 С2, 10.05.2015. Заявка № 2013157611/15 от 25.12.2013.
5. Бондаренко В.М., Алексеев Ю.В., Миславский О.В., Пономарев Г.В. Перспективы применения динатриевой соли 2,4-ди(1-метоксиэтил)-дейтеропорфирина-IX («димегина») для фотодинамической терапии неонкологических заболеваний. *Биомедицинская химия*. 2014; 60 (3): 338–347.
6. Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Turubanova V.D., Alzeibak R., Balalaeva I.V., Vedunova M.V., et al. Effect of photosensitizers Photosens, Photodithazine and Hypericin on glioma cells and primary neuronal cultures: A comparative analysis. *Modern Technologies in Medicine*. 2019; 11 (4): 52–63. DOI: 10.17691/stm2019.11.4.06
7. Jori G., Brown S.B. Photosensitized inactivation of microorganisms. *Photochem Photobiol Sci*. 2004; (3): 403–405. DOI: 10.1039/b311904c
8. Nitzan Y., Gutterman M., Malik Z., Ehrenberg B. Inactivation of gram-negative bacteria by photosensitized porphyrins. *Photochem Photobiol*. 1992; 55 (1): 89–96. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1992.tb04213.x
9. Плотникова Е.А., Грин М.А., Островерхов П.В., Пантюшенко И.В., Якубовская Р.И., Каприн А.Д. Первичный скрининг субстанций-фотосенсибилизаторов бактериохлоринового ряда для фотодинамической терапии злокачественных новообразований. *Биомедицинская химия*. 2018; 64 (3): 283–289. DOI: 10.18097/PBMC20186403283
10. Странадко Е.Ф. Основные этапы развития фотодинамической терапии в России. *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*. 2015; 4 (1): 3–10. DOI: 10.24931/2413-9432-2015-4-1-3-10
11. Филоненко Е.В., Серова Л.Г. Фотодинамическая терапия в клинической практике. *Biomedical Photonics*. 2016; 5 (2): 26–37.
12. Дуванский В.А., Попова Е.А. Первый опыт применения фотодинамической терапии в комплексном лечении дуоденальных язв. *Лазерная медицина*. 2004; 8 (3): 217.
13. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem J*. 2016; 473(4): 347–364. DOI: 10.1042/BJ20150942
14. Douvansky V.A., Kniazev M.B. Autofluorescent endoscopic diagnostics of epithelial neoplasms in the colon. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2015; 30 (4): 211.

15. Князев М.В., Дуванский В.А. Аутофлуоресцентная эндоскопия в диагностике колоректальных неоплазий. *Эндоскопическая хирургия*. 2014; (1): 186.
16. Макарова Ю.Б. Диагностика хронических воспалительных заболеваний кожи и оценка эффективности их терапии с помощью метода лазерной биофотометрии: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Тула; 2007.
17. 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 (1): 112–120. DOI: 10.18097/pbmc20125801112
18. Мансурова Г.В., Погребная О.Г., Пономарев Г.В., Решетников А.В., Потапенко А.Я., Бездетная Л.Н. и др. Фотогомолиз, сенсibilизированный производными дейтеропорфирина-IX: определение прочности связывания красителей с эритроцитами. *Биофизика*. 2003; 48 (2): 251–255.
19. Ларина Н.А. Исследование индуцированных продуктами фотоокисления фуракумаринами гемолиза эритроцитов человека и супрессии реакции контактной чувствительности у мышей: дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2001: 23–35.
20. Cook J.C. Some characteristics of hemolysis by ultraviolet light. *J Cell Comp Physiol*. 1956; 47 (1): 55–84. DOI: 10.1002/jcp.1030470105
21. Мансурова Г.В. Скрининг гемолитической и иммуносупрессорной активности фотосенсибилизаторов порфиринового ряда: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.; 2007.
22. Алексеев Ю.В., Миславский О.В., Пономарев Г.В., Иванов А.В., Давыдов Е.В. Способ определения эффективности фотосенсибилизаторов и параметров лазерного излучения 1264 нм на основе порога гемолиза эритроцитов. *Лазеры в науке, технике, медицине: Сборник научных трудов XXXI международной конференции*. М.; 2020: 106–107.
6. Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Turbanova V.D., Alzeibak R., Balalaeva I.V., Vedunova M.V., et al. Effect of photosensitizers Photosens, Photodithazine and Hypericin on glioma cells and primary neuronal cultures: A comparative analysis. *Modern Technologies in Medicine*. 2019; 11 (4): 52–63. DOI: 10.17691/stm2019.11.4.06
7. Jori G., Brown S.B. Photosensitized inactivation of microorganisms. *Photochem Photobiol Sci*. 2004; (3): 403–405. DOI: 10.1039/b311904c
8. Nitzan Y., Gutterman M., Malik Z., Ehrenberg B. Inactivation of gram-negative bacteria by photosensitized porphyrins. *Photochem Photobiol*. 1992; 55 (1): 89–96. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1992.tb04213.x
9. Plotnikova E.A., Grin M.A., Ostroverkhov P.V., Pantychenko I.V., Yakubovskaya R.I., Kaprin A.D. Primary screening of substances-photosensibilizers of the bacteriochlorin range for photodynamic therapy of malignant neoplasms. *Biomeditsinskaya himiya*. 2018; 64 (3): 283–289. DOI: 10.18097/PBMC20186403283. [In Russ.].
10. Stranadko E.F. Main stages of development of photodynamic therapy in Russia. *Photodynamic therapy and photodyagnosis*. 2015; 4 (1): 3–10. DOI: 10.24931/2413-9432-2015-4-1-3-10. [In Russ.].
11. Filonenko E.V., Serova L.G. Photodynamic therapy in clinical practice. *Biomedical Photonics*. 2016; 5 (2): 26–37. [In Russ.].
12. Duvansky V.A., Popova E.A. The first experience with photodynamic therapy in the complex treatment of duodenal ulcers. *Lazernaya medicina*. 2004; 8 (3): 217. [In Russ.].
13. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem J*. 2016; 473(4): 347–364. DOI: 10.1042/BJ20150942
14. Duvansky V.A., Kniazev M.B. Autofluorescent endoscopic diagnostics of epithelial neoplasms in the colon. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2015; 30 (4): 211.
15. Knyazev M.V., Duvansky V.A. Autofluorescent endoscopy in the diagnosis of colorectal neoplasia. *Endoskopicheskaya khirurgiya*. 2014; (1): 186. [In Russ.].
16. Makarova Yu.B. Diagnostics of chronic inflammatory skin diseases and assessment of the effectiveness of their care with the technique of laser biophotometry. *Abstract of Dissertation Thesis of Candidate of Medical Sciences*. Tula; 2007. [In Russ.].
17. Alekseev Yu.V., Likhacheva E.V., Tereshkin D.V., Ponomarev G.V., Mazur E.M. Selection of effective photosensitizers for the treatment of ENT diseases with studying their accumulation in pathologically altered tissues. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2012; 58 (1): 112–120. DOI: 10.18097/pbmc20125801112. [In Russ.].
18. Mansurova G.V., Pogrebnaya O.G., Ponomarev G.V., Reshetnikov A.V., Potapenko A.Ya., Bezdetnaya L.N., et al. Photohemolysis sensitized by deuteroporphyrin-IX derivatives: Strength of binding of dyes with erythrocytes. *Biofizika*. 2003; 48 (2): 251–255. [In Russ.].
19. Larina N.A. Hemolysis of human erythrocytes induced by the products of furacumarin photooxidation and suppression of contact sensitivity response in mice. *Dissertation Thesis of Candidate of Medical Sciences*. Moscow; 2001: 23–35. [In Russ.].
20. Cook J.C. Some characteristics of hemolysis by ultraviolet light. *J Cell Comp Physiol*. 1956; 47 (1): 55–84. DOI: 10.1002/jcp.1030470105
21. Mansurova G.V. Screening of hemolytic and immunosuppressive activity of photosensitizers of the porphyrin series.

REFERENCES

1. Dadeko A.V. Photophysical properties of Dimegin as a photosensitizer for photodynamic therapy and fluorescence diagnostics. *Abstract of the dissertation thesis of Candidate of Physical and Mathematical Sciences*. Saint Petersburg; 2018. [In Russ.].
2. Kozel N.V., Shalygo N.V. A technique for assessing the photosensitizer phototoxicity. Patent for invention BY 15504 C1, 28.02.2012. Application N 20081283 dated 13.10.2008. [In Russ.].
3. Yakubovskaya R.I., Plyutinskaya A.D., Lukyanets E.A. Comparative study of photosensitizers of different classes in an *in vitro* system. Phthalocyanines. *Rossiyskiy bioterapevicheskiy zhurnal*. 2014. 13 (4): 65–72. [In Russ.].
4. Makarova E.A., Yakubovskaya R.I., Vorozhtsov G.N., Lastovoy A.P., Lukyanets E.A., Morozova N.B., Plotnikova E.A. Photosensitizer for photodynamic therapy. Patent for invention RU 2549953 C2, 05.10.2015. Application N 2013157611/15 dated 25.12.2013. [In Russ.].
5. Bondarenko V.M., Alekseev Yu.V., Mislavsky O.V., Ponomarev G.V. Prospects for the application of 2,4-di(1-methoxyethyl)-deuteroporphyrin-IX ("dimegin") disodium salt for photodynamic therapy of non-oncological diseases. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2014; 60 (3): 338–347. [In Russ.].

Abstract of Dissertation Thesis of Candidate of Biological Sciences. Moscow; 2007. [In Russ.].

22. Alekseev Yu.V., Mislavsky O.V., Ponomarev G.V., Ivanov A.V., Davydov E.V. A technique for determining the efficiency of photosensitizers and parameters of laser 1264 nm irradiation using erythrocyte hemolysis thresholds. *Proceedings of the International Conference "Lasers in science, technology and medicine"*. Moscow; 2020: 106–107. [In Russ.].

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Информация об авторах

Алексеев Юрий Витальевич – доктор медицинских наук, руководитель отделения экспериментальной лазерной медицины, ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства», e-mail: ural377@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4470-1960>

Миславский Олег Владимирович – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов аллергии, ФГБУ «Государственный научный центр "Институт иммунологии" Федерального медико-биологического агентства»; старший научный сотрудник отделения экспериментальной лазерной медицины, ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства», e-mail: olegmislavsky@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-5050>

Дуванский Владимир Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, руководитель отделения эндоскопической хирургии, ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства»; заведующий кафедрой эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии,

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», e-mail: rudnendo@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5880-2629>

Дуванский Роман Анатольевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения эндоскопической хирургии, ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства»; врач акушер-гинеколог, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России, e-mail: draendo@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9139-5498>

Дроздова Наталья Владимировна – младший научный сотрудник отделения экспериментальной лазерной медицины, ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства», e-mail: ttl1000@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6165-4022>

Information about the authors

Alekseev Yuriy – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Experimental Laser Medicine, Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, e-mail: ural377@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4470-1960>

Mislavsky Oleg – Cand. Sci. (Pharm.), Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Mechanisms of Allergy, National Research Centre Institute of Immunology, FMBA of Russia; Senior Researcher at the Department of Experimental Laser Medicine, Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, e-mail: olegmislavsky@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-5050>

Duvanskiy Vladimir – Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director, Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine; Head of the Department of Endoscopy, Endoscopic and Laser Surgery, RUDN University, e-mail: rudnendo@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5880-2629>

Duvanskiy Roman – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher at the Department of Endoscopic Surgery, Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine; Obstetrician-Gynecologist, Treatment and Rehabilitation Center of National Medical Research Center, Ministry of Health of Russian Federation, e-mail: draendo@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9139-5498>

Drozдова Natalya – Junior Researcher at the Department of Experimental Laser Medicine, Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, e-mail: ttl1000@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6165-4022>