

Научная статья

УДК 616-08-031.84

DOI: 10.17816/pmj423109-119

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПОРФИРИНОВ ПРИ АНТИМИКРОБНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ ОЖОГОВЫХ РАН

**Д.В. Квашнина¹*, И.Ю. Широкова¹, Н.А. Белянина¹, С.А. Сырбу², Н.Ш. Лебедева²,
Ж.В. Боева¹, А.А. Бурашникова¹, О.В. Ковалишена¹, Н.В. Саперкин¹, Д.К. Лазарев¹**

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород,

²Институт химии растворов имени Г.А. Крестова Российской академии наук, г. Иваново,
Российская Федерация

© Квашнина Д.В., Широкова И.Ю., Белянина Н.А., Сырбу С.А., Лебедева Н.Ш., Боева Ж.В., Бурашникова А.А., Ковалишена О.В., Саперкин Н.В., Лазарев Д.К., 2025

e-mail: daria_tsariova@mail.ru

[Квашнина Д.В. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины, ORCID: 0000-0001-9317-4816; Широкова И.Ю. – кандидат медицинских наук, врач-бактериолог, заведующая бактериологической лабораторией Университетской клиники, ORCID: 0000-0002-8387-6344; Белянина Н.А. – биолог бактериологической лаборатории Университетской клиники, ORCID: 0000-0002-8578-3600; Сырбу С.А. – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией «Новые материалы на основе макроциклических соединений», ORCID: 0000-0003-1482-2809; Лебедева Н.Ш. – доктор химических наук, доцент, заведующая лабораторией «Физическая химия супрамолекулярных систем на основе макроциклических соединений и полимеров», ORCID: 0000-0001-7260-3239; Боева Ж.В. – лаборант научно-исследовательского отдела, ORCID: 0009-0008-6594-4471; Бурашникова А.А. – лаборант научно-исследовательского отдела, ORCID: 0009-0009-7102-4791; Ковалишена О.В. – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины, ORCID: 0000-0002-9595-547X; Саперкин Н.В. – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины, ORCID: 0000-0002-3629-4712; Лазарев Д.К. – студент, ORCID: 0009-0002-2069-5367].

© Kvashnina D.V., Shirokova I.Yu., Belyanina N.A., Syrbu S.A., Lebedeva N.Sh., Boeva Zh.V., Burashnikova A.A., Kovalishena O.V., Saperkin N.V., Lazarev D.K., 2025

e-mail: daria_tsariova@mail.ru

[Kvashnina D.V. (*contact person) – PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, ORCID: 0000-0001-9317-4816; Shirokova I.Yu. – PhD (Medicine), Bacteriologist, Head of the Bacteriological Laboratory of the University Clinic, ORCID: 0000-0002-8387-6344; Belyanina N.A. – Biologist of the Bacteriological Laboratory of the University Clinic, ORCID: 0000-0002-8578-3600; Syrbu S.A. – DSc (Chemistry), Professor, Head of the Laboratory "New Materials Based on Macrocyclic Compounds", ORCID: 0000-0003-1482-2809; Lebedeva N.Sh. – DSc (Chemistry), Associate Professor, Head of the Laboratory "Physical Chemistry of Supramolecular Systems Based on Macrocyclic Compounds and Polymers", ORCID: 0000-0001-7260-3239; Boeva Zh.V. – Laboratory Assistant of the Research Department, ORCID: 0009-0008-6594-4471; Burashnikova A.A. – Laboratory Assistant of the Research Department, ORCID: 0009-0009-7102-4791; Kovalishena O.V. – DSc (Medicine), Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, ORCID: 0000-0002-9595-547X; Saperkin N.V. – PhD (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, ORCID: 0000-0002-3629-4712; Lazarev D.K. – Student, ORCID: 0009-0002-2069-5367].

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE EFFECT OF PORPHYRINS IN ANTIMICROBIAL PHOTODYNAMIC INACTIVATION OF BURN WOUNDS

D.V. Kvasbnina^{1}, I.Yu. Shirokova¹, N.A. Belyanina¹, S.A. Syrbu², N.Sh. Lebedeva², Zh.V. Boeva¹, A.A. Burashnikova¹, O.V. Kovalishena¹, N.V. Saperkin¹, D.K. Lazarev¹*

¹*Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod,*

²*G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation*

Цель. Изучение и оценка влияния порфиринов на микробную обсемененность инфицированной ожоговой раны у экспериментальных животных при антимикробной фотодинамической инактивации (ФДИ).

Материалы и методы. Объекты: несимметричные водорастворимые порфирины, содержащие на периферии порфиринового цикла гетероциклические фрагменты: остатки бензоксазола (O-por), N-метил бензимидазола (N-por) и бензотиазола (S-por). Исследование проведено на животных – белых беспородных крысах линии Wistar массой 250–300 г (самцы, $n = 20$), которым был сформирован контактный ожог III степени, контаминированный тест-культурой *S. aureus* ATCC 29213. Животных разделили на четыре группы: № 1 – ФДИ с O-por ($n = 5$); № 2 – ФДИ с S-por ($n = 5$); № 3 – ФДИ с N-por ($n = 5$); № 4 (контрольная) – ФДИ с 0,9 % стерильным раствором натрия хлорида ($n = 5$). Параметры ФДИ: источник света – светодиодная LED-лампа (белый свет), максимальная мощность 20 Вт, световой поток в максимуме 1500–1800 Лм, время фотооблучения 10 мин. Проводилось два сеанса ФДИ. Микробная обсемененность ран изучалась в микробиологических исследованиях раневого отделяемого. Результаты микробиологического исследования носили качественный (выделение возбудителя инфекции, его идентификация) и количественный характер (определение количества колониеобразующих единиц (КОЕ/мл)). Для оценки эффективности ФДИ вычисляли значения коэффициента логарифмического снижения КОЕ выделенных микроорганизмов. Статистическая обработка данных проводилась в среде R 4.2.1 (Rstudio 1.1.463).

Результаты. Для всех изучаемых соединений произошло снижение титра микроорганизмов после первого и второго сеанса ФДИ. Изменение обсемененности раны в сторону очищения от возбудителя за первый день эксперимента было статистически значимо для всех тестируемых соединений порфирина (O-por, $p = 0,0126$; S-por, $p = 0,0377$; N-por, $p = 0,0128$) в сравнении с данными контрольной группы. По показателю все три типа порфиринов показали эффективность ≥ 90 %. Показатель логарифмического снижения КОЕ варьировался от 1 до 2 в зависимости от соединения порфиринов, что соответствует инактивации от 90 до 99 % микроорганизмов в биоматериале.

Выводы. Наибольшее и статистически значимое снижение количества микроорганизмов наблюдалось в группах животных, у которых применялись фотосенсибилизаторы с гетероциклическим фрагментами бензимидазола (N-por) и бензотиазол (S-por), показатели логарифмического снижения КОЕ составляли 2 ($p = 0,0065$) и 1,3 ($p = 0,0232$) соответственно.

Ключевые слова. Антимикробная фотодинамическая инактивация, фотохимия, порфиринов, антибиотикорезистентность, раневая инфекция, животные.

Objective. To study and evaluate the effect of porphyrins on the microbial contamination of infected burn wounds in experimental animals during antimicrobial photodynamic inactivation (PDI).

Materials and methods. Objects: asymmetric water-soluble porphyrins containing heterocyclic fragments on the periphery of the porphyrin cycle: benzoxazole residues (O-por), N-methyl benzimidazole (N-por) and benzothiazole (S-por). Animals: white mongrel Wistar rats weighing 250–300 g. (males, $n=20$), which received a III-degree contact burn contaminated with a test strain of *S. aureus* ATCC 29213. All animals are divided

into four groups: No. 1 - PDI with O-por ($n=5$); No.2 – PDI with S-por ($n=5$); No. 3 – PDI with N-por ($n=5$); No. 4 (control) – PDI with 0.9% sterile sodium chloride solution ($n=5$). PDI parameters: LED light source (white light), maximum power: 20 W, maximum luminous flux: 1500-1800 lm, photo-irradiation time: 10 minutes. Two PDI sessions were conducted. Microbial contamination of wounds was studied in microbiological examination of wound discharge. The results of the microbiological study were qualitative (isolation of the causative agent of infection, its identification) and quantitative (determination of the number of colony-forming units (CFU/ml)). To evaluate the effectiveness of PDI, the values of the coefficient of logarithmic decrease in CFU of isolated microorganisms were calculated. Statistical data processing was performed in the R 4.2.1 environment (Rstudio 1.1.463).

Results. There was a decrease in the titer of microorganisms after the first and second sessions of PDI for all the studied compounds. The change in wound contamination towards pathogen clearance on the first day of the experiment was statistically significant for all porphyrin compounds tested (O-por $p=0.0126$; S-por $p=0.0377$; N-por $p=0.0128$) compared with the control group. According to the indicator, all three types of porphyrins showed an efficiency of $\geq 90\%$. The logarithmic decrease in CFU ranged from 1 to 2 depending on the porphyrin compound, which corresponds to the inactivation of 90 to 99% of microorganisms in the biomaterial.

Conclusions. The largest and statistically significant decrease in the number of microorganisms was observed in the groups of animals in which photosensitizers with heterocyclic fragments of benzimidazole (N-por) and benzothiazole (S-por) were used, the indicators of logarithmic decrease in CFU was 2 ($p=0.0065$) and 1.3 ($p=0.0232$), respectively.

Keywords. Antimicrobial photodynamic inactivation, photochemistry, porphyrin, antibiotic resistance, wound infection, animals.

ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость к антибиотикам является глобальной проблемой здравоохранения¹. Эта угроза становится особенно актуальной в контексте лечения раневых инфекций, когда традиционные антимикробные методы, такие как антибиотикотерапия, уже не всегда эффективны. В связи с этим возрастает необходимость поиска новых подходов к этиотропному лечению и преодолению резистентности к антимикробным препаратам, например, переключение внимание на альтернативные методы.

Одним из таких методов, интерес к которым сильно возрос за последнее время, является антимикробная фотодинамическая терапия [1; 2], основой которой является антимикробная фотодинамическая инактивация (ФДИ). Принцип антимикробной ФДИ основан на динамическом взаимодействии

между фотосенсибилизатором, светом с определенной длиной волны и молекулярным кислородом, что способствует избирательному разрушению микробных клеток. Суть метода состоит в том, что микроорганизмы накапливают определенные фотосенсибилизаторы, в результате чего они становятся чувствительными к воздействию света соответствующей длины волны. В сенсibilизированных клетках развивается фотохимическая реакция с выделением синглетного кислорода и свободных радикалов – высокоактивных биологических окислителей, которые являются цитотоксичными для большинства микроорганизмов [2; 3].

Возможность преодоления множественной лекарственной устойчивости, минимизация повреждения здоровых тканей и отсутствие убедительных данных о развитии нечувствительности к этому виду воздействия являются преимуществами метода [3; 4].

Осознание того, что ФДИ является ценным инструментом для борьбы с возбудителями инфекционных болезней, дало новый

¹ World health statistics 2024: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva, World Health Organization 2024. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

импульс в разработке препаратов фотосенсибилизаторов, способных эффективно инактивировать бактерии в планктонной и биопленочной формах в условиях низкой токсичности для клеток млекопитающих. За прошедшие годы было изучено несколько классов новых фотосенсибилизаторов: содержащие макроциклические ядра тетрапирролов (такие как порфирины, фталоцианины, хлорины и бактериохлорины), тексафирины, фенотиазины (класс метиленового синего), наночастицы, фуллерены и другие [3; 5; 6]. Тем не менее порфирины являются одними из наиболее широко используемых [5; 6].

Порфирины обладают интересными особенностями и преимуществами для антимикробной ФДИ, а именно низкой темновой токсичностью *in vitro* или *in vivo*, высокой эффективностью для внутриклеточной генерации активных форм кислорода, структурной универсальностью, позволяющей модулировать их характеристики, способствуя биодоступности и взаимодействию с клеточными структурами [6; 7].

Для обоснования дальнейшего изучения и применения соединений моногетерилзамещенных порфиринов для лечения инфицированных ран проведен эксперимент на животных.

Цель исследования – изучение и оценка влияния порфиринов на микробную обсемененность инфицированной ожоговой раны у экспериментальных животных при антимикробной ФДИ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование запланировано как комплексное, поисковое, многоэтапное. Представляемая экспериментальная часть является продолжением лабораторных микробиологических исследований [8], в которых была определена высокая антимикробная активность порфиринов в отношении анти-

биотикорезистентных грамположительных клинических штаммов, возбудителей раневых инфекций.

Базы исследования:

1) синтез химических соединений: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук, г. Иваново;

2) эксперименты на животных: вивария НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, г. Нижний Новгород;

3) микробиологические исследования: бактериологическая лаборатория Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, г. Нижний Новгород.

В серии экспериментов основными объектами изучения стали химические соединения водорастворимых несимметричных катионных порфиринов и животные с инфицированными ожоговыми ранами.

Исследовались три разных соединения моногетерилзамещенных порфиринов:

1) триодид: 5-[4'-(1'',3''-бензотиазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(N-метилпиридин-3'-ил) порфирина (S-por). PBS (7.4) $M = 1176.73$ $C = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л;

2) триодид: 5-[4'-(1'',3''-бензоксазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(N-метилпиридин-3'-ил) порфирина (O-por). PBS (7.4) $M = 1160.67$ $C = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л;

3) триодид: 5-[4-(N-метил-1'',3''-бензимидазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(N-метилпиридин-3'-ил)-порфирина (N-por). PBS (7.4) $M = 1173.74$ $C = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Исследование выполнено на белых беспородных крысах линии Wistar массой 250–300 г (самцы, $n = 20$). Общая анестезия животных происходила на каждом этапе эксперимента с помощью препаратов для внутримышечного введения: золетил 100 – 40 мг/кг (250 мг тилетамина гидрохлорида и 250 мг золазепам гидрохлорида), роме-

тар – 4 мг/кг (20 мг ксилазина). Препараты вводились требуемым объемом и кратностью с учетом массы животного, продолжительности и травматичности процедуры.

Ход эксперимента *in vivo*:

1. Моделирование ожоговой раны. Формирование контактного ожога происходило по методике, описанной в модели ожога А. Orenstein [9]. Всем животным в межлопаточной области, к выбритой коже прикладывали металлическую пластину размером 7×4×1 см, нагретую до ≈150°C на 10 с. Таким образом, на теле животного моделировался ожог III степени. После проведения процедуры и далее до окончания эксперимента крысы содержались в индивидуальных клетках, для снижения риска последующей незапланированной эндогенной и экзогенной контаминации раны.

2. Некрэктомия. Через 3 суток от момента травмирования в зоне контактного ожога сформировался плотный светло-коричневый струп, который подлежал фасциальной некрэктомии, после которой у животного была сформирована открытая ожоговая рана.

3. Инфицирование ожоговой раны. Сразу после некрэктомии происходило инфицирование раны тест-культурой *S. aureus* ATCC 29213.

3.1. Подготовка тест-культуры. Стандартизация бактериальной взвеси была скорректирована в микропланшетном спектрофотометре для получения оптической плотности, соответствующей 0,5 стандарта Макфарланда, с мутностью, эквивалентной приблизительной концентрации бактерий $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл.

3.2. На открытую рану наносили 0,5 мл микробной взвеси, давали время для впитывания 5 мин, укрывали открытую рану прозрачным гипоаллергенным стерильным фиксирующим пластырем из полиуретановой пленки, сверху накладывали повязку из ветеринарного самофиксирующегося бинта.

4. Фотодинамическая инактивация порфиринами. Через 3 суток после инфицирования проводили микробиологическое обследование раны и первый сеанс ФДИ. Через сутки после первого сеанса проводили второй сеанс ФДИ. Каждый раз после снятия фиксирующей повязки и стерильного пластыря проводили туалет раны: стерильной марлевой повязкой удаляли детрит, некротические массы, гной.

4.1. Микробиологическое исследование раневого отделяемого. Взятие раневого отделяемого происходило два раза: сразу после снятия повязки (для подтверждения инфицирования, качественного и количественного изучения обсемененности раны) и после сеанса фотооблучения (для качественного и количественного изучения обсеменности раны после ФДИ). Таким образом, за один сеанс ФДИ у каждого животного забиралось два мазка. Каждый раз посев забирался стандартно, единообразно, в соответствии с правилами забора и доставки биоматериала с помощью стерильного тампона². Нагруженный материалом тампон помещался в полистироловую пробирку со средой Amies с углем и в течение 1 ч доставлялся в микробиологическую лабораторию.

Дальнейшее изучение смыва с раны происходило в соответствии со стандартной операционной процедурой «Микробиологическое (культуральное) количественное исследование обсеменности ожоговой раны на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы». Результаты микробиологического исследования в данном случае носили качественный (выделение возбудителя инфекции, его идентификация) и количественный характер (определением концентрации выделенного микроорганизма (КОЕ/мл)). Видовая иден-

² МУ 4.2.2039-05. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: Утв. и введены в действие Главным государственным санитарным врачом РФ 23 декабря 2005 г.

тификация микроорганизмов проводилась методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на соответствующем оборудовании (MALDI-TOF MS (Германия) и MALDI-TOF AUTO MS1000 (Autobio, Китай)).

4.2. Фотооблучение. Всех животных случайным образом разделили на четыре группы в зависимости от того, какой фотосенсибилизатор применялся. Группа № 1 – ФДИ с O-por ($n = 5$); группа № 2 – ФДИ с S-por ($n = 5$); группа № 3 – ФДИ с N-por ($n = 5$); группа № 4 (контрольная) – ФДИ с 0,9 % стерильным раствором натрия хлорида ($n = 5$). Источник света: светодиодная LED-лампа (белый свет), максимальная мощность 20 Вт, световой поток в максимуме 1500–1800 Лм. Время фотооблучения (экспозиции): 10 мин. Расстояние от источника света до животного – 22 см.

После туалета раны и взятия раневого отделяемого животным из групп № 1, 2, 3 на сформированную инфицированную рану наносили 400 мкл соответствующего фотосенсибилизатора, животным из группы № 4 – 400 мкл физиологического раствора; далее было впитывание в течение 15 мин в затемненном коробе. Затем все животные подвергались облучению только в свете LED-лампы без дополнительного естественного и общего искусственного освещения при комнатной температуре. После экспозиции светом незамедлительно был забран материал для микробиологического исследования.

Второй сеанс ФДИ проводился в той же последовательности этапов, как и первый сеанс. Таким образом, за два сеанса ФДИ у каждого животного было забрано 80 мазков.

Оценка влияния ФДИ с порфиринами происходила по количественным изменениям концентрации микроорганизмов, колонизирующих раны животных. Для обобщения данных об эффективности ФДИ после двух сеансов нами был применен показатель логарифмического снижения колониеобразующих единиц (КОЕ) [10], который рассчиты-

вался как минус десятичный логарифм отношения числа КОЕ в контроле (группа № 4) к числу КОЕ после воздействия для каждой из групп воздействия. Полученный показатель мог варьироваться от 1 до 6, что интерпретировалось как соответствующие им проценты снижения КОЕ: 1 – 90 %; 2 – 99 %; 3 – 99,9 %; 4 – 99,99 %; 5 – 99,999 %; 6 – 99,9999 %.

Статистическая обработка данных проводилась в среде R 4.2.1 (Rstudio 1.1.463)³. Характер распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка и построения графика квантилей (QQ). В соответствии с распределением количественных непрерывных данных и типом выборок (зависимые или независимые) нами использованы соответствующие параметрические и непараметрические критерии: для двух зависимых выборок – t -критерий Сьюдента или критерий Уилкоксона соответственно, для двух независимых выборок (результат по конкретному порфирину vs группа контроля) – t -критерий Сьюдента в нужной модификации или критерий Манна – Уитни соответственно. Для описания количественных данных, распределения которых отличаются от нормального, использовалась медиана (Me) с представлением межквартильного интервала ($Q_{25} - Q_{75}$). Процентные доли представлены в виде p , сопровождали 95%-ными доверительными интервалами (95%-ными ДИ). Расчет доверительных интервалов для частот (качественные данные) осуществлялся с помощью критериев Уилсона – Вальда с коррекцией по Агрести – Коулу. Уровень статистической значимости различий при проверке гипотез выбран при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первостепенным критерием эффективности любой антимикробной терапии является элиминация возбудителя из очага ин-

³ R Core Team; R Foundation for Statistical Computing (Hrsg.): R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2022

фекции. Не является исключением и лечение инфицированных ожоговых ран. В результатах нашего эксперимента *in vivo* представлены данные по микробной обсемененности раны до и после антимикробной ФДИ.

При изучении микробной обсемененности раны после инфицирования (один мазок) было выявлено, что во всех ранах ($n = 20$) протекал гнойный воспалительный процесс, вызванный *S. aureus*. Высеваемость данного микроорганизма из ран после инфицирования на 3-и сутки составила 100 %, начальная концентрация бактерий среди всех животных составила по медиане от $5 \cdot 10^5$ до $1 \cdot 10^6$ КОЕ/мл в разных группах (таблица). Статистически значимых различий между группами № 1–4 по степени обсемененности раны до начала воздействия выявлено не было (сравнение по *Me*, $p_{1-3} = 0,065$, $p_{2-3} = 0,178$).

На протяжении всего эксперимента из ран не выделялись никакие другие микроорганизмы, кроме *S. aureus*, искусственно внесенного в рану на первом этапе. Экзогенной и эндогенной контаминации раны другими сторонними

микроорганизмами удалось избежать путем соблюдения правил асептики и антисептики на каждом этапе воздействия на животных, содержанием животных в отдельных боксах, применением фиксирующих ветеринарных повязок на область раневого дефекта.

При изучении влияния ФДИ в группах воздействия было выявлено, что для всех изучаемых соединений произошло снижение титра микроорганизмов после первого и второго сеанса ФДИ (см. таблицу).

После первого сеанса ФДИ в группах № 1–3 концентрация микроорганизмов снизилась в 5–20 раз при сравнении по медиане титра до и после воздействия. Количество КОЕ не изменилось в группе № 4, где не был применен фотосенсибилизатор (см. таблицу). Изменение обсемененности раны в сторону очищения от возбудителя за первый день эксперимента было статистически значимо для всех тестируемых соединений порфирина (O-rog, $p = 0,0126$; S-rog, $p = 0,0377$; N-rog, $p = 0,0128$) в сравнении с данными контрольной группы.

Микробная обсемененность ожоговых ран на разных этапах ФДИ

Номер сеанса ФДИ/ срок проведения исследования	№ группы	Момент забора биоматериала относительно сеанса ФДИ	Медиана (<i>Me</i>) значений КОЕ/мл	Уровень p^*	Q_{25}	Q_{75}
Первый сеанс ФДИ / через 72 ч после инфицирования	1	До	$1 \cdot 10^6$	0,0099	$5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
		После	$5 \cdot 10^4$		$5 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$
	2	До	$1 \cdot 10^6$	0,0238	$5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
		После	$1 \cdot 10^5$		$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$
	3	До	$5 \cdot 10^5$	0,0010	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
		После	$1 \cdot 10^5$		$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$
	4	До	$1 \cdot 10^6$	**	$5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
		После	$1 \cdot 10^6$		$5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
Второй сеанс ФДИ / через 96 ч после инфицирования	1	До	$1 \cdot 10^6$	0,1666	$1 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$
		После	$1 \cdot 10^5$		$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$
	2	До	$5 \cdot 10^5$	0,0192	$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$
		После	$5 \cdot 10^4$		$1 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$
	3	До	$1 \cdot 10^6$	0,0181	$1 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^5$
		После	$1 \cdot 10^4$		$1 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$
	4	До	$1 \cdot 10^6$	_*	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
		После	$1 \cdot 10^6$		$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$

Примечание: * – уровень p для *Me* значения КОЕ/мл (сравнение до и после воздействия внутри одной группы); ** – сравнить невозможно, так как значения идентичные.

После второго сеанса воздействия фотосенсибилизатором и светом снижение титра микроорганизмов (по *Me*) произошло в группах № 1–3 в 10–100 раз до и после ФДИ. Наибольший эффект мы наблюдали для N-por – снижение концентрации произошло с $1 \cdot 10^6$ до $1 \cdot 10^4$ КОЕ/мл (см. таблицу).

Однако остается важным понять, эффективно ли фотовоздействие с разными типами порфиринов относительно отсутствия в ране фотосенсибилизатора. И при сравнении результатов бактериологического исследования третьего мазка после второго сеанса ФДИ в группах № 1–3 с данными контрольной группы было обнаружено, что по показателю логарифмического снижения колониеобразующих единиц все три типа порфиринов показали эффективность 90 % – 99 %, что соответствовало значению показателя от 1 до 2 (рисунок).

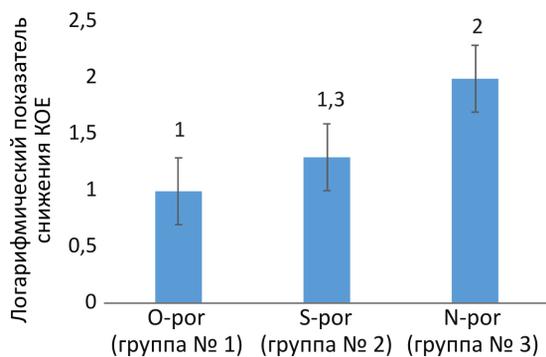


Рис. Показатель логарифмического снижения КОЕ в трех группах воздействия порфиринами

Таким образом, после нескольких нанесений на рану фотосенсибилизатора и облучения светом произошли количественные изменения микробной обсеменности в сторону понижения концентрации этиологически значимого микроорганизма по сравнению с начальным уровнем. Несимметричный водорастворимый порфирин, содержащий на периферии порфиринового цикла гетероциклический фрагмент бензоксазола (O-por, группа № 1), показал эф-

фект снижения КОЕ на 90 % (значение 1, $p = 0,4237$) от контрольного уровня и, несмотря на то что этот показатель оказался наименьшим в ряду аналогичных показателей двух других соединений (см. рисунок), есть все основания считать такой результат позитивным, так как при таком результате уже можно говорить о значимом эффекте вмешательства. Кроме того, в экспериментальной модели *in vivo* заведомо ожидается более серьезная проблема определения степени активности антимикробного воздействия из-за сложности биологической системы в ране, действия иммунной системы организма животного и др.

По результатам проведенного эксперимента становится понятно, что соединения моногетерилзамещенных порфиринов подтвердили свою антимикробную активность в условиях *in vivo*, что обосновывается результатами микробиологических исследований. Необходимо отметить, что с 1990-х гг. эффективность ФДИ в борьбе с микроорганизмами активно изучалась в многочисленных исследованиях *in vitro*. Многие из этих исследований продемонстрировали многообещающие результаты, часто достигая значительного уровня инактивации микроорганизмов, однако до следующего этапа – изучение действия в условиях живого организма – доходили не все изучаемые соединения фотосенсибилизаторов и/или фотооблучатели. Поэтому количество экспериментальных работ *in vivo* остается ограниченным⁴, что создает существенные препятствия для клинической реализации ФДИ [11–13].

Местная терапия раневых инфекций может проводиться в монорежиме или как часть комбинированного лечения. И здесь

⁴ Спокойный, А.Л. Оптимизация фотодинамической терапии гнойных ран мягких тканей (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2017; 20.

следует подчеркнуть, что при фотодинамическом воздействии происходит инактивация бактерий путем окисления и уничтожения микроорганизмов или ослабления их устойчивости к антибиотикам. Последний эффект может стать крайне интересным и важным для разработки комбинированного с препаратами системного действия варианта лечения ран, инфицированных резистентными микроорганизмами.

Выводы

При изучении влияния метода ФДИ с тремя соединениями моногетерилзамещенных порфиринов в монорежиме нами были обнаружены изменения микробной обсеменности ожоговых ран у эксперименталь-

ных животных в сторону очищения от возбудителя уже после первого сеанса фотооблучения. Наибольшее и статистически значимое снижение количества микроорганизмов наблюдалось в группах животных, у которых применялись фотосенсибилизаторы с гетероциклическими фрагментами бензимидазола (N-por) и бензотиазол (S-por), показатель логарифмического снижения КОЕ составлял 2 ($p = 0,0065$) и 1,3 ($p = 0,0232$) соответственно. Полученные данные определяют дальнейшие перспективные пути изучения этих химических соединений с целью расширения арсенала методов борьбы с раневыми инфекциями, выработки комплексного подхода для фотодинамической инактивации с применением порфиринов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. *Tiago H.S. Souza, José F. Sarmiento-Neto, Sueden O. Souza, Bruno L. Raposo, Bruna P. Silva, Christiane P.F. Borges, Beate S. Santos, Paulo E. Cabral Filho, Júlio S. Rebouças, Adriana Fontes.* Advances on antimicrobial photodynamic inactivation mediated by Zn (II) porphyrins. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews.* 2021; 49. DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2021.100454
2. *Логунова Е.В., Наседкин А.Н.* Современный взгляд на антимикробную фотодинамическую терапию (обзор литературы). *Лазерная медицина* 2015; 19 (2): 44–52. / *Logunova E.V., Nasedkin A.N.* Modern view on antimicrobial photodynamic therapy (review of literature). *Laser Medicine* 2015; 19 (2): 44–52 (in Russian).
3. *Pérez-Laguna V., García-Luque I., Ballesta S., Rezusta A., Gilaberte Y.* Photodynamic therapy combined with antibiotics or antifungals against microorganisms that cause skin and soft tissue infections: A planktonic and biofilm approach to overcome resistances. *Pharmaceuticals (Basel)* 2021; 14 (7): 603. DOI: 10.3390/ph14070603
4. *Мишутина О.Л., Волченкова Г.В., Ковалева Н.С., Васильцова О.А., Фахрадова В.А.* Фотодинамическая терапия в стоматологии (обзор литературы). *Смоленский медицинский альманах* 2019; 3: 102–111. / *Mishutina O.L., Volchenkova G.V., Kovaleva N.S., Vasil'tsova O.A., Fakhradova V.A.* Photodynamic therapy in dentistry (literature review). *Smolensk Medical Almanac* 2019; 3: 102–111 (in Russian).
5. *Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönberr H., Lemerrier G., Montier T., Le Gall T.* Antimicrobial photodynamic therapy: latest developments with a focus on combinatory strategies. *Pharmaceutics* 2021; 13 (12): 1995. DOI: 10.3390/pharmaceutics13121995

6. Openda Y.I., Ngoy B.P., Nyokong T. Photodynamic antimicrobial action of asymmetrical porphyrins functionalized silver-detonation nanodiamonds nanoplatfoms for the suppression of *Staphylococcus aureus* planktonic cells and biofilms. *Front Chem* 2021; 9: 628316. DOI: 10.3389/fchem.2021.628316

7. Киселев А.Н., Лебедев М.А., Сырбу С.А., Юрина Е.С., Губарев Ю.А., Лебедева Н.Ш., Белянина Н.А., Широкова И.Ю., Ковалишена О.В., Койфман О.И. Синтез и исследование водорастворимых несимметричных катионных порфиринов как потенциальных фотоинактиваторов патогенов. Известия Академии наук. Серия химическая 2022; 71 (12): 2691–2700. / Kiselev A.N., Lebedev M.A., Syrbu S.A., Iurina E.S., Gubarev Yu.A., Lebedeva N.SH., Belianina N.A., Shirokova I.Iu., Kovalishena O.V., Koifman O.I. Synthesis and study of water-soluble asymmetric cationic porphyrins as potential photoinactivators of pathogens. *Russian Chemical Bulletin* 2022; 71 (12): 2691–2700 (in Russian).

8. Квашина Д.В., Широкова И.Ю., Белянина Н.А., Иванова О.В., Стифеева Н.В., Ковалишена О.В., Сырбу С.А., Лебедева Н.Ш. Фотодинамическая инактивация как перспективный метод борьбы с резистентными штаммами стафилококков. Эпидемиология и вакцинопрофилактика 2024; 23 (3): 19–26. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-3-19-26 / Kvasnina D.V., SHirokova I.Iu., Belianina N.A., Ivanova O.V., Stifeeva N.V., Kovalishena O.V., Syrbu S.A., Lebedeva N.Sh. Photodynamic inactivation as a promising method of combating resistant strains of staphylococci. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2024; 23 (3): 19–26. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-3-19-26 (in Russian).

9. Orenstein A., Klein D., Kopolovic J., Winkler E., Malik Z., Keller N., Nitzan Y. The use of porphyrins for eradication of *Staphylococcus aureus* in burn wound infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997; 19 (4): 307–314. DOI: 10.1111/j.1574-695X.1997.tb01101.x

10. Игнатова Н.И., Елагин В.В., Будруев И.А., Антонян А.Э., Стрельцова О.С., Каменский В.А. Применение фотодинамической инактивации в отношении возбудителей инфекций мочевыводящих путей. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2022; 24 (4): 395–400. DOI: 10.36488/cmasc.2022.4.395-400 / Ignatova N.I., Elagin V.V., Budruev I.A., Antonian A.E., Strel'tsova O.S., Kamenskii V.A. The use of photodynamic inactivation against pathogens of urinary tract infections. *Klinicheskaia mikrobiologiia i antimikrobnaiia khimioterapiia* 2022; 24 (4): 395–400. DOI: 10.36488/cmasc.2022.4.395-400 (in Russian).

11. Гейниц А.В., Мустафаев Р.Д., Тухов Г.В., Кизевадзе Р.И. Фотодинамическая терапия в лечении перитонита (экспериментальное исследование). Лазерная медицина 2012; 16 (2): 58–62. / Geinits A.V., Mustafaev R.D., Tikhov G.V., Kizevadze R.I. Photodynamic therapy in the treatment of peritonitis (experimental study). *Lazernaia meditsina* 2012; 16 (2): 58–62 (in Russian).

12. Вайнер Ю.С., Никонов С.Д., Атаманов К.В., Атаманов Д.К., Федорова Е.В. Разработка способа лечения распространенного гнойного перитонита (экспериментальное исследование). Лазерная медицина 2019; 23 (1): 46–52. DOI: 10.37895/2071-8004-2019-23-1-46-52 / Vainer Iu.S., Nikonov S.D., Atamanov K.V., Atamanov D.K., Fedorova E.V. Development of a treatment method for common purulent peritonitis (experimental study). *Lazernaia meditsina* 2019; 23 (1): 46–52. DOI: 10.37895/2071-8004-2019-23-1-46-52 (in Russian).

13. Sun Y., Ogawa R., Xiao B.H., Feng Y.X., Wu Y., Chen L.H., Gao X.H., Chen H.D. Antimicrobial photodynamic therapy in skin wound healing: A systematic review of animal studies. *Int Wound J* 2020; 17 (2): 285–299. DOI: 10.1111/iwj.13269

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-01087 (<https://rscf.ru/project/23-75-01087>).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов:

Квашнина Д.В. – концепция и дизайн исследования, координация исследования, написание текста рукописи, финальное утверждение рукописи.

Широкова И.Ю. – проведение микробиологических исследований, анализ и интерпретация результатов исследований.

Белянина Н.А. – проведение микробиологических исследований, анализ и интерпретация результатов исследований.

Сырбу С.А. – синтез химических соединений, анализ и интерпретация результатов исследований.

Лебедева Н.Ш. – синтез химических соединений, анализ и интерпретация результатов исследований.

Боева Ж.В. – проведение работ с животными, сбор и обработка данных, написание текста, редактирование.

Бурашникова А.А. – проведение работ с животными, сбор и обработка данных, написание текста, редактирование.

Ковалишена О.В. – обсуждение концепции и дизайна исследования, координация исследования, финальное утверждение рукописи.

Саперкин Н.В. – статистическая обработка данных.

Лазарев Д.К. – сбор и обработка данных.

Все авторы утвердили окончательный вариант текста статьи.

Ограничение исследования. Экспериментальное исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, протокол № 3 от 18.03.2025, выполнено в соответствии с Всемирной декларацией прав животных и Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

Поступила: 21.04.2025

Одобрена: 30.01.2025

Принята к публикации: 08.05.2025

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Экспериментальная оценка влияния порфиринов при антимикробной фотодинамической инактивации ожоговых ран / Д.В. Квашнина, И.Ю. Широкова, Н.А. Белянина, С.А. Сырбу, Н.Ш. Лебедева, Ж.В. Боева, А.А. Бурашникова, О.В. Ковалишена, Н.В. Саперкин, Д.К. Лазарев // Пермский медицинский журнал. – 2025. – Т. 42, № 3. – С. 109–119. DOI: 10.17816/pmj423109-119

Please cite this article in English as: Kvashnina D.V., Shirokova I.Yu., Belyanina N.A., Syrbu S.A., Lebedeva N.Sh., Boeva Zh.V., Burashnikova A.A., Kovalishena O.V., Saperkin N.V., Lazarev D.K. Experimental evaluation of the effect of porphyrins in antimicrobial photodynamic inactivation of burn wounds. *Perm Medical Journal*, 2025, vol. 42, no. 3, pp. 109-119. DOI: 10.17816/pmj423109-119